

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

TESE

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMA DE
LIBERAÇÃO CONTROLADA CONTENDO PIRIPROXIFEN PARA
CONTROLE DE *Haematobia irritans* EM BOVINOS.**

MELINA CARDILO CAMPOS ALVES

2024



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMA DE
LIBERAÇÃO CONTROLADA CONTENDO PIRIPROXIFEN PARA
CONTROLE DE *Haematobia irritans* EM BOVINOS.**

MELINA CARDILO CAMPOS ALVES

*Sob a orientação da professora
Yara Peluso Cid*

Tese submetida como requisito
parcial para a obtenção do grau de
Doutora em Ciências Veterinárias,
no Programa de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias.

Seropédica, RJ
Maio de 2024

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

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

A474d

Alves, Melina Cardilo Campos , 1993-
Desenvolvimento e caracterização de sistema de liberação controlada contendo piriproxifen para controle de haematobia irritans em bovinos / Melina Cardilo Campos Alves. - Volta Redonda, 2024.
80 f.: il.

Orientadora: Yara Peluso Cid. Tese(Doutorado). - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, 2024.

1. Filmes poliméricos. 2. Haematobia irritans. 3. Liberação controlada. I. Cid, Yara Peluso, 1982-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias III. Título.

ATA N° 2798/2024 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

Nº do Protocolo: 23083.035513/2024-40

Seropédica-RJ, 19 de julho de 2024.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

MELINA CARDILO CAMPOS ALVES

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor(a) em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

TESE APROVADA EM 17/05/2024

(Assinado digitalmente em 22/07/2024 14:16)
RENATA NUNES OLIVEIRA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DEQ (12.28.01.00.00.00.45)
Matrícula: ####987#0

(Assinado digitalmente em 19/07/2024 19:30)
THAIS RIBEIRO CORREIA AZEVEDO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptPA (12.28.01.00.00.00.55)
Matrícula: ###298#9

(Assinado digitalmente em 22/07/2024 19:06)
YARA PELUSO CID
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DCFar (12.28.01.00.00.00.47)
Matrícula: ####004#7

(Assinado digitalmente em 23/07/2024 10:44)
DIEGO FONTANA DE ANDRADE
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ####.###.500-##

(Assinado digitalmente em 26/07/2024 11:59)
DEBORA OMENA FUTURO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ####.###.417-##

DEDICATÓRIA

*Dedico a todos os pesquisadores que lutam diariamente pela educação e
acreditam na pesquisa como ferramenta transformadora da sociedade.*

AGRADECIMENTOS

A toda superioridade Divina pela proteção e direcionamento dos meus passos.
Agradeço aos meus pais, Sergio Alves e Rocely Alves por total apoio aos meus estudos e sonhos. Inevitavelmente, tornaram esta conquista possível.
Ao meu irmão Vinícius Alves e todos meus familiares, por todo acolhimento e amor partilhados nessa caminhada.
Ao meu companheiro Thadeu Nobres por todas as renúncias em favor do fim desse ciclo.
A minha orientadora Profa. Dra. Yara Cid, obrigada por me inspirar. Juntas, iniciamos nessa jornada, e além de desafiadora, nos serviu de grande aprendizado. Obrigada por todos os dias que não desistimos.
A Profa. Dra. Renata Nunes, por toda disponibilidade, atenção e carinho em cada olhar para finalização deste trabalho
A amiga e técnica Thais Paes, pelos sorrisos sinceros e amor no ambiente de trabalho.
Aos meus queridos amigos Diego Alves e Durval Mariano por incontáveis momentos que juntos compartilhamos.
Aos meus amigos de laboratório, Viviane Magalhães, Taynara Monsores e Ingrid Lins pelo apoio diário.
A toda equipe do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) pela colaboração, e em especial, ao Prof. Fábio Scott, por todo suporte e incentivo nas pesquisas.
Ao CETEM, a CAM-UFRJ e ao IMA-UFRJ pela parceria e apoio aos dados.
Por fim, agradeço a todos que torceram junto à mim, pelo fim desse ciclo.
O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, agradeço o financiamento desta pesquisa.

BIOGRAFIA

Melina Cardilo Campos Alves, filha de Rocely Cardilo Alves e Sérgio Campos Alves, nasceu em Volta Redonda, Rio de Janeiro em 20 de janeiro de 1993. Cursou o Ensino Fundamental no Colégio Nossa Senhora das Graças e o Ensino Médio no Colégio GARRA Vestibulares, concluído em 2010. Ingressou no curso de Farmácia na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em agosto de 2011 e, durante os cinco anos de graduação, dedicou-se na iniciação científica ao Desenvolvimento Farmacotécnico de Formulações Veterinárias no Laboratório de Quimioterapia e Parasitologia Veterinária. Assim que se formou em 2017, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, à nível de mestrado, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde buscou conhecimento acerca da tecnologia dos polímeros para aplicações terapêuticas, concluído em 2019, mesmo ano que ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, à nível de doutorado, na mesma universidade. Em 2021, concluiu o Curso Técnico de Polímeros no Instituto de Macromoléculas, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, e neste mesmo ano no mês de novembro até o presente momento, encontra-se como Analista Galênico Pleno na multinacional francesa Virbac do Brasil Indústria Veterinária, na qual não possui nenhum conflito de interesse com o presente trabalho.

RESUMO

ALVES, Melina Cardilo Campos. **Desenvolvimento e caracterização de sistema de liberação controlada contendo piriproxifen para controle de formas imaturas de *haematobia irritans* em bovinos.** 2024. 93p Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

Haematobia irritans é considerada a principal praga para a pecuária no Brasil e causa perdas econômicas à indústria pecuária mundial. Novas estratégias de controle baseiam-se em compostos mais seguros, como a classe dos reguladores de crescimento de insetos (IGRs), análogos aos hormônios juvenis, que inibem o desenvolvimento dos insetos. A eficácia oral do piriproxifen permite o desenvolvimento de formulações que garantam a segurança e extensão da ação farmacológica. Este estudo teve como objetivo desenvolver um Dispositivo Retículo-Rúmen (DRR) à base de piriproxifen, composto por filmes de poli(vinil)álcool (PVA) e carboximetilcelulose sódica (NaCMC) para controle da mosca dos chifres em bovinos. Os filmes foram obtidos pelo método de solvente casting por reticulação PVA/NaCMC. Foram submetidos à caracterização físico-química, variação de peso e medição de pH, teste do grau de inchamento (GI), determinação do teor do ativo, ensaio de liberação *in vitro*, análise de difração de raios X (DRX), espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), calorimetria de varredura diferencial (DSC) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os filmes foram submetidos individualmente à medição de variação de peso ($n=3$), com valor médio de $0,446 \pm 0,02$ mg e apresentaram valores de pH de $6,5 \pm 0,09$, próximos ao pH ruminal (6,5-7,5). O GI prevê a capacidade de absorção do filme no intervalo de tempo, e foi obtido 331,40% de capacidade de absorção. O método analítico por CLAE_UV determinou o teor do ativo nos filmes e o valor obtido foi de 104,81%. Os resultados de liberação *in vitro* sustentaram um perfil de liberação lenta, indicando cinética de pseudo-primeira ordem. A análise FTIR elucidou as bandas características de PVA, NaCMC e piriproxifen e demonstrou a ausência do fármaco após a liberação. As imagens de MEV mostraram alterações na distribuição de porosidade das amostras após a adição de piriproxifen, e a análise de DRX mostrou aumento na cristalinidade devido à presença de piriproxifen (X_c de 36,59%). A análise térmica elucidou que o piriproxifen sua liberação alteraram o empacotamento da cadeia polimérica, com valores de T_g de 74 °C e T_m de 208 °C. O DRR à base de piriproxifen desenvolvido, além de cumprir as características de liberação prolongada, permite ser enrolado (forma comprimida) facilitando a deglutição e posterior conversão para a forma expandida que fica retida no rúmen durante todo o período de tratamento.

Palavras-chave: filmes poliméricos, liberação intraruminal, mosca dos chifres.

ABSTRACT

ALVES, Melina Cardilo Campos. **Development and characterization of a controlled release system containing pyriproxyfen to control immature forms of *haematobia irritans* in cattle.** 2024. 93p Thesis (Doctorate in Veterinary Sciences). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

Haematobia irritans is considered a major livestock pest in Brazil and causes economic losses to the livestock industry globally. New control strategies are based on safer compounds, such as the class of insect growth regulators (IGRs), analogous to juvenile hormones that inhibit insect development. The oral efficacy of pyriproxyfen allows the development of formulations that guarantee the safety and extension of the pharmacological action. This study aimed to develop a pyriproxyfen-based Rumino-Reticulum Device (RRD) consisting of films of poly(vinyl)alcohol (PVA) and sodium carboxymethylcellulose (NaCMC) to control the horn fly in cattle. Films were obtained by the solvent casting method by PVA/NaCMC crosslinking. The assays included physical-chemical characterization, weight variation and pH measurement, swelling degree test (SD), drug content determination, *in vitro* drug release test, X rays diffraction analysis (XRD), fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), differential scanning calorimetry (DSC), and scanning electron microscopy (SEM). Films were subjected individually to weight variation measurement ($n=3$), with an average value of 0.446 ± 0.02 mg and presented basic pH values (6.5 ± 0.09), near the ruminal pH (6.5-7.5). The SD predicted by the absorption capacity of the film in the time interval obtained was 331,40% with an absorption capacity. HPLC determined the drug content of films, and the value obtained was 104.81%. The *in vitro* release results supported a slow-release profile, indicating pseudo-first-order kinetics. FTIR analysis elucidated the characteristic bands of PVA, NaCMC, and pyriproxyfen, and demonstrated the absence of the drug after release. SEM images showed changes in the porosity distribution of the samples after the addition of pyriproxyfen, and XRD analysis showed an increase in crystallinity due to the presence of pyriproxyfen (Xc of 36.59%). Thermal analysis revealed that pyriproxyfen and its delivery altered chain packing, with Tg values of 74 °C and Tm of 208 °C. The pyriproxyfen-based RRD developed, in addition to fulfilling the characteristics of prolonged release, allows it to be rolled up (compressed form) facilitating swallowing and subsequent conversion to an expanded form that is retained in the rumen throughout the treatment period.

Keywords: polymeric films, intra-ruminal release, horn fly.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico da mosca dos chifres. (1) Parasitismo; (2) Oviposição; (3) Desenvolvimento Larval. (Ilustração: Melina Alves. Adaptado de PIRES, 2015).....	8
Figura 2. Estrutura química da molécula de Piriproxifen (A) e do Hormônio Juvenil III (B). Fonte: Pubchem.....	13
Figura 3. Perfis plasmáticos em diferentes condições de administração: liberação convencional, liberação pulsátil (repetida) e liberação controlada (adaptada de PEPPAS, 2010).....	15
Figura 4. Representação da aplicação via bolus oral e os compartimentos do estômago dos ruminantes: (1) rúmen, (2) retículo, (3) omaso e (4) abomaso. (Ilustração: Melina Alves. Adaptado de OLIVEIRA, 2023).....	16
Figura 5. Paratect Flex (Pfizer).....	19
Figura 6. Estrutura química da carboximetilcelulose de sódio. (Fonte: Pubchem - https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/).....	21
Figura 7. Patentes publicadas de hidrogéis a base de celulose no intervalo de 2001 a 2017 (KABIR, 2018).....	22
Figura 8. Estrutura química do polímero PVA. (Fonte: Pubchem).....	23
Figura 9. Protótipo do filme polimérico composto por polinivilálcool, carboximetilcelulose de sódio e piriproxifen.....	30
Figura 10. Filme PVA/NaCMC/Piriproxifen escalonado. (a) na forma enrolada para administração via oral e (b) forma expandida para liberação intraruminal.	31
Figura 11. Curva de linearidade do padrão piriproxifen nos diluentes ACN e MAr	32
Figura 12. Análise cromatográfica do diluente (acetonitrila).....	32
Figura 13. Cromatograma da curva de linearidade do piriproxifen no diluente acetonitrila na concentração de 100 ppm.....	33
Figura 14. Cromatograma da curva de linearidade do piriproxifen no diluente meio ruminal artificial na concentração de 100 ppm.....	33
Figura 15. Perfil do grau de inchamento do filme de PVA-NaCMC-P em meio ruminal artificial.....	35
Figura 16. Protótipo do filme após ensaio do grau de inchamento.....	35

Figura 17. Perfil de liberação do ativo piriproxifen dos filmes de PVA-NaCMC-P em 100mL de meio de dissolução (Tampão fosfato, Meio ruminal artificial e Meio Rruminal) com SDS 5,0%	38
Figura 18. Difratogramas: (a) placebo e filmes; (b) filme, filme pós liberação em meio artificial (MAr) e filme pós liberação em meio ruminal (MR).	40
Figura 19. Representação dos dados de deconvolução, bem como as curvas das amostras placebo (a) e filme (b).....	42
Figura 20. Representação dos dados de deconvolução, bem como as curvas das amostras filme pós liberação meio artificial (c) e filme pós liberação meio ruminal (d).....	43
Figura 21. Espectro de infravermelho do PVA, NaCMC e Piriproxifen.....	44
Figura 22. Difratogramas da análise de FTIR: PVA, NaCMC e Placebo.	46
Figura 23. Difratogramas da análise de FTIR: filme placebo e filme contendo piriproxifen.	47
Figura 24. Difratogramas da análise de FTIR: filme e filme pós liberação em meio artificial.	47
Figura 25. Difratogramas da análise de FTIR: filme e filme pós liberação em meio ruminal.	48
Figura 26. Curva de Calorimetria diferencial de varredura de cada amostra.	49
Figura 27. Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura da superfície das amostras (a) placebo, (b) Filme, (c) Filme pós liberação em meio artificial e (d) Filme pós liberação em meio ruminal.	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número de patentes depositadas no Brasil das empresas veterinárias por classe terapêutica no ano de 2016 (adaptada SOUZA <i>et al.</i> , 2014)	6
Tabela 2. Preparo e concentração dos padrões da linearidade do piriproxifen.	27
Tabela 3. Resultados físico-químicos do filme (n=3).....	35
Tabela 4. Solubilidade ($\mu\text{g/mL}$) do piriproxifen obtido pelo ensaio de <i>shake flask</i>	37
Tabela 5. Determinação do fluxo (J) e cinética de liberação do filme PVA-NaCMC-P em diferentes meios de dissolução.	39
Tabela 6. Valores descritivos do comprimento de onda e suas respectivas atribuições do poli(álcool vinílico) (PVA).	45
Tabela 7. Valores descritivos do comprimento de onda e suas respectivas atribuições da carboximetilcelulose de sódio (NaCMC).....	45
Tabela 8. Valores descritivos do comprimento de onda e suas respectivas atribuições do ativo piriproxifen.....	46
Tabela 9. Valores obtidos a partir da curva de DSC.....	49

LISTA DE ABREVIAÇÕES, SIGLAS OU SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
µL	Microlitro
µm	Micrômetro
ABIEC	Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes
ACN	Acetonitrila
ANOVA	Análise de Variâncias
CLAE-UV	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência por detecção no ultravioleta
DP	Desvio Padrão
DPR	Desvio Padrão Relativo
DRR	Dispositivo retículo-rúmen
DSC	Calorimetria Exploratório Diferencial
DRX	Difração de Raios X
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
g	Gramas
GI	Grau de Inchamento
H	Hidrogênio
h	Hora
<i>H. irritans</i>	<i>Haematobia irritans</i>
HCl	Ácido clorídrico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IGR	Insect Growth Regulator
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
J	Fluxo
LQEPM	Laboratório de Quimioterapia Experimental e Parasitologia Veterinária
M	Molar (concentração molar)
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mg	miligramas
min	Minutos
mL	Mililitro (10^{-3} L)

mm	Milímetro
NaCMC	Carboximetilcelulose
N	Nitrogênio
O	Oxigênio
PVA	Poli(álcool vinílico)
SDS	Dodecil sulfato de sódio
SECEX	Secretaria do Comércio Exterior
SINDAN	Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal
t	Tempo
tg	Transição vítreia
TGA	Termogravimetria
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1	A PECUÁRIA BRASILEIRA.....	3
2.2	MERCADO DE SAÚDE ANIMAL	4
2.3	<i>HAEMATOBIA IRRITANS</i> : MOSCA DOS CHIFRES.....	7
2.3.1	Ciclo biológico	7
2.3.2	Impacto econômico e controle do parasitismo.....	9
2.4	REGULADORES DO CRESCIMENTO DE INSETOS.....	11
2.4.1	Agentes hormonais Anti-Juvenis (anti -HJ).....	11
2.4.2	Inibidores de síntese de quitina	11
2.4.3	Análogos do hormônio juvenil.....	12
2.5	FORMAS FARMACÊUTICAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA.....	14
2.5.1	Sistemas de Liberação Controlada por Erosão.....	17
2.5.2	Sistema de Osmose.....	17
2.5.3	Sistema de Dispersão em Matriz	18
2.6	POLÍMEROS	19
2.6.1	Carboximetilcelulose	21
2.6.2	Poli(álcool vinílico)	22
3	MATERIAIS E MÉTODOS	24
3.1	MATERIAL.....	24
3.1.1	Reagentes	24
3.1.2	Matérias-primas.....	24
3.1.3	Substâncias químicas de referência: Piriproxifen	24
3.1.4	Equipamentos e acessórios	24
3.2	DESENVOLVIMENTO DO FILME POLIMÉRICO DE LIBERAÇÃO CONTROLADA: (PVA/NACMC/PIRIPROXIFEN)	25
3.3	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	26
3.3.1	Método analítico para quantificação do Piriproxifen	26
3.3.2	Variação de peso, pH, teor	26
3.3.3	Grau de Inchamento (GI)	27
3.3.4	Ensaio de Solubilidade: Shake Flask.....	27
3.3.5	Estudo de liberação <i>in vitro</i>	27
3.3.6	Estudo de cinética de liberação <i>in vitro</i>	28
3.3.7	Difração de Raio X: DRX.....	28

3.3.8 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada Fourier: FTIR	28
3.3.9 Calorimetria Exploratória Diferencial: DSC.....	29
3.3.10 Microscopia Eletrônica de Varredura: MEV	29
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1 DESENVOLVIMENTO DO FILME POLIMÉRICO DE LIBERAÇÃO CONTROLADA: (PVA/NACMC/PIRIPROXIFEN)	30
4.1.1 Método analítico: Piriproxifen	31
4.1.2 Variação de peso, pH, teor	34
4.1.3 Grau de Inchamento.....	34
4.1.4 Estudo de Solubilidade: Shake Flask.....	36
4.1.5 Estudo de liberação <i>in vitro</i>	37
4.1.6 Estudo de cinética de liberação e análise do fluxo de liberação <i>in vitro</i>	39
4.1.7 Difração de Raio X: DRX.....	40
4.1.8 Espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	44
4.1.9 Calorimetria Exploratório Diferencial: DSC	48
4.1.10 Microscopia eletrônica de varredura: MEV	50
5 CONCLUSÃO	52
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54

1 INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira se destaca no cenário internacional representando o segundo maior rebanho bovino mundial. Neste contexto, os custos das atividades pecuárias são elevados, principalmente o investimento em produtos de saúde animal, como os antiparasitários, a fim de controlar os prejuízos ligados aos efeitos deletérios dos parasitos, com maior relevância para infestações por carrapatos e *Haematobia irritans*, conhecida como mosca dos chifres. O impacto econômico causado por parasitos reduz a rentabilidade das atividades pecuárias brasileiras.

Atualmente, o controle tradicional deste parasito utiliza-se do uso indiscriminado de inseticidas convencionais com amplo espectro, expondo animais, seres vivos e o meio ambiente a riscos tóxicos, acelerando o processo de resistência. O Piriproxifen, da classe dos reguladores de desenvolvimento de insetos (*Insect Grow Regulator* - IGR), é um composto bioracional, seletivo a insetos e surge no mercado com o propósito de apresentar menor efeito residual e baixa toxicidade, em comparativo aos pesticidas convencionais utilizados atualmente para o controle de *H. irritans*. Este composto é utilizado atualmente para o controle de pragas agrícolas, de insetos em águas residenciais e em animais de companhia com efeito carrapaticida e pulicida.

A eficácia oral do piriproxifen no controle de *H. irritans* foi descrita recentemente, e permitiu o delineamento e desenvolvimento de uma forma farmacêutica administrada pela via oral em bovinos.

Apropriando-se da tecnologia farmacêutica para corroborar estratégias de controle do perfil de liberação dos ativos, como a utilização de matrizes poliméricas a fim de aumentar o tempo de residência do fármaco no rúmen e, consequentemente, prolongar o tempo de ação do controle do inseto, o sistema de liberação controlada possui como principais propostas o aumento da segurança do produto e a extensão da ação farmacológica quando associadas aos polímeros, promovendo a dissolução gradual do fármaco, a fim de otimizar o regime posológico, aumentando o intervalo entre as administrações e promovendo facilidade de adesão ao tratamento.

Desenvolver novos produtos veterinários à demanda da sociedade, assegura a saúde animal e reduz as perdas econômicas geradas por parasitos. Garante-se assim a sanidade, a segurança do gado de corte, da produção de leite e couro em um rebanho com predomínio da pecuária extensiva.

Filmes poliméricos compostos por polivinilálcool (PVA) e carboximetilcelulose de sódio (NaCMC) e obtidos pelo método de *solvent casting* são comumente utilizados para liberação controlada e aprisionamento do fármaco na matriz tridimensional polimérica, permitindo uma liberação gradual e lenta, resultando em um tempo de cobertura maior do tratamento.

O desenvolvimento de uma formulação com perfil de liberação controlada aplicada a pecuária extensiva se faz útil e necessário. O objetivo é de aumentar o intervalo de administrações de produtos veterinários para controle de doenças, uma vez que, neste tipo de criação, o gado é criado de forma livre, sendo reunido poucas vezes ao ano, tornando difícil o controle de parasitas.

O desenvolvimento de um Dispositivo Retículo-Rúmen (DRR) deve levar em consideração dois fatores importantes: as condições do ambiente ruminal e os reflexos de regurgitação. A anatomia e fisiologia únicas dos ruminantes permitem a retenção de dispositivos no rúmen a longo prazo. No entanto, para evitar a regurgitação dos DRR, algumas estratégias podem ser utilizadas, como a utilização de uma forma geométrica específica que evita a regurgitação através do esôfago. Para alcançar tal estratégia, o dispositivo deve

apresentar propriedades físicas (resistência à ruptura e maleabilidade) que permitam ser enrolado para facilitar a deglutição quando administrado e depois convertido para uma forma expandida que é retida durante o tratamento no rúmen. Neste contexto, este estudo teve como objetivo desenvolver e caracterizar um DRR à base de piriproxifen composto por filmes de poli(vinil)álcool (PVA) e carboximetilcelulose sódica (NaCMC) para o controle de *H. irritans* em bovinos. As estruturas tridimensionais das cadeias poliméricas reticuladas de filmes com potencial de liberação controlada associadas à eficácia oral do piriproxifen contra *H. irritans* elucidadas apoiam a proposta do trabalho.

Diante da necessidade de controlar parasitoses e perdas econômicas associadas a mosca *H. irritans* em bovinos, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar filmes poliméricos de administração oral a base de PVA com NaCMC com liberação controlada ruminal do ativo piriproxifen para o controle das formas imaturas de *Haematobia irritans* em bovinos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Pecuária Brasileira

A pecuária brasileira apresenta cerca de 202 milhões de cabeças de gado, o que representa 12,18% do rebanho mundial, sendo o segundo maior rebanho e maior exportador de carne bovina do mundo com 27,7% das exportações mundiais. Se destaca também como o segundo maior produtor de carne mundial com 10.793,6 toneladas, equivalente a 14,34% da produção mundial (ABIEC, 2023). Esta representatividade da pecuária nacional no comércio internacional movimentou em 2021, 913,14 bilhões de reais (ABIEC, 2023).

Em 2022, exportação de carne bovina *in natura* brasileira teve o maior volume obtido em um 2º trimestre, considerando a série histórica da Secretaria de Comércio Exterior (SECEX/ME), com recordes para os meses de abril (157,39 mil toneladas) e junho (152,63 mil toneladas. Segundo dados da Secretaria de Comércio Exterior – Secex, no 2º trimestre de 2022 as exportações brasileiras de carne bovina *in natura* acumularam 462,61 mil toneladas, o que representou 30,9% do peso, em equivalente carcaça, produzido. Esse montante pode ser considerado o melhor resultado para o período, considerando a série histórica iniciada em 1997 (IBGE, 2022).

A Pesquisa Trimestral de Couro realizada no primeiro trimestre do ano de 2023 pelo IBGE relatou que foram recebidas 7,75 milhões de peças de couro. Esse total representa um aumento de 6,8% em relação ao mesmo trimestre do ano anterior e houve um aumento de 7,8% das exportações brasileiras no primeiro trimestre de 2023 em comparação ao mesmo período no ano passado, somando em exportações 563,8 milhões de dólares (IBGE, 2023; CICB, 2023).

O Brasil possui relevância social e econômica na produção de leite global e, conforme relatado pela Pesquisa Trimestral de Leite, realizada também no primeiro trimestre do ano de 2023, foram adquiridos 5.866.530 mil litros de leite industrializado, ocupando o terceiro lugar no ranking com mais de 34 bilhões de litros por ano, com produção em 98% dos municípios brasileiros, gerando aproximadamente 4 milhões de empregos (IBGE, 2023).

A importância, desempenho e desenvolvimento a nível mundial da pecuária brasileira está baseado em três fatores fundamentais, tais como: boas práticas de manejo e alimentação do rebanho, animais de boa genética e sanidade animal. Este último fator é afetado por agentes que causam doenças em bovinos, destacando-se os parasitos. E, considerando-se o rebanho Brasileiro como o maior rebanho mundial e com maior número de cabeças por hectares, são necessárias adotar medidas preventivas para manutenção da integridade e sanidade dos animais. Neste cenário, a carga parasitária é um dos fatores que alteram a saúde, qualidade e quantidade do rebanho brasileiro (SINDAN, 2024; BIANCHIN, 1990).

Esta conjuntura de parasitismo gera gastos elevados e possíveis prejuízos na rentabilidade das atividades pecuárias no Brasil, principalmente quando associados ao efeito dos helmintos e outros ectoparasitos, com maior relevância para infestações por carapatos e mosca dos chifres, com perdas anuais que podem chegar à R\$ 14 bilhões. O clima tropical e subtropical do Brasil proporciona condições ideais para o desenvolvimento e a sobrevivência de parasitas internos e externos no rebanho bovino (GRISI *et al.*, 2014).

A pecuária bovina brasileira é predominantemente da raça Nelore, somando 80,0% dos bovinos de corte (BIANCHIN *et al.*, 2004). Os ectoparasitas causam prejuízos à bovinicultura de corte, pois ocasionam perda de peso, danificam o couro e predispõem os animais à infecções secundárias, resultando em um impacto econômico no agronegócio (SILVA *et al.*, 2004). O gado nelore apresentou maior susceptibilidade à infestações por *Haematobia irritans* do que infestações por carapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*,

e consequentemente, a mosca dos chifres passa a ser o ectoparasita mais prejudicial para o gado de corte (SILVA *et al.*, 2004).

Segundo o Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA) a pecuária bovina é um dos grandes pilares econômicos do Brasil, oferecendo carne de qualidade para o país e gerando excedentes exportáveis que chegam a mais de 170 países. Portanto, a pecuária bovina de corte demanda cuidado e prevenção das possíveis doenças que podem gerar danos ao rebanho, e consequentemente, afetar a economia do setor (CEPEA, 2017).

Devido esta representatividade da pecuária brasileira no mercado mundial e diante dos crescentes desafios que os altos custos de produção trazem aos pecuaristas brasileiros, a adoção de tecnologias que auxiliem no aumento da eficiência produtiva se torna cada vez mais necessária, como, os investimentos e o desenvolvimento de medicamentos veterinários mais eficazes, seguros e com ação prolongada (MAGALHÃES, 2016).

2.2 Mercado de Saúde Animal

O setor de saúde animal enfrentou grandes desafios em 2022, porém manteve o crescimento. A saúde animal tem sido um pilar importante para a sustentabilidade de diversos setores, desde agropecuária até o mercado pet, tendo registrado um crescimento acima dos 11% em 2022, em comparação ao ano anterior e obteve o faturamento anual de R\$ 12 milhões de acordo com dados do Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal (SINDAN, 2023).

Apesar da pandemia do coronavírus, houve o aumento na demanda externa por proteína, que manteve o setor aquecido enquanto a crise econômica e a alta nas inflações afetavam o mercado brasileiro e direcionavam o consumo interno para tipos mais variados de carnes (SINDAN, 2023).

A atuação da indústria de saúde animal contribuiu de forma direta para garantir a sustentabilidade da pecuária no ano de 2022, com foco em inovações, a fim de promover e trazer soluções cada vez mais eficazes, seguras e sustentáveis aos produtores e aos tutores. Os medicamentos veterinários hoje são vistos como essenciais para uma pecuária sustentável (SINDAN, 2023).

De acordo com dados da *Health for Animals*, animais saudáveis, criados sob as melhores práticas e com acesso a tratamento e tecnologias em saúde, têm uma melhor conversão alimentar e emitem até 30% menos gases de efeito estufa. Porém, no contexto pandêmico a indústria de saúde animal experimentou, em 2022, os desafios macroeconômicos, com a elevação de custos de insumos de todo o processo de desenvolvimento e comercialização de um medicamento, como dos ingredientes ativos cotados em dólares até as embalagens (SINDAN, 2023).

Os dados disponibilizados pelo SINDAN no Relatório de Saúde Animal 2022, mostram que as indústrias de produtos para saúde animal apresentaram um faturamento líquido de R\$ 10.363 bilhões, aumento crescente comparado aos anos anteriores. A espécie animal que possuiu maior faturamento em 2022 foram os ruminantes, representando 51% da distribuição por espécie. Associado às classes terapêuticas, as que obtiveram maior faturamento no mesmo ano foram antiparasitários e biológicos, ambos com 25% da distribuição por classe (SINDAN, 2023).

O aumento da representatividade no faturamento da classe terapêutica biológica é devido a expansão da pecuária brasileira no cenário mundial, à medida que a exportação e a população consumidora crescem, a procura por carne bovina e produtos lácteos também aumentam, sendo necessário garantir a saúde animal. Outro fator associado a este aumento são as restrições sanitárias impostas por países importadores, e a vacinação é um dos métodos mais econômicos e eficazes de prevenção de doenças infecciosas bovinas (YAO, *et al.*, 2023).

Contudo, as perdas econômicas ligadas aos efeitos deletérios dos parasitos, como os carapatos e a mosca dos chifres (*Haematobia irritans*), justificam a porcentagem de produtos para saúde animal de ruminantes com predominância da classe antiparasitária.

O mercado nacional de produtos veterinários conta com 409 fabricantes, sendo segmentados em 379 fabricantes de produtos farmacêuticos e 45 de biológicos. E somam no total quase 15 mil comerciantes, com predominância também em produtos farmacêuticos, sendo totalizados 4.031 produtos ativos no MAPA. Destes produtos ativos, 969 são antiparasitários e 749 vacinas, e o restante divididos em outras classes terapêuticas (SINDAN, 2022; MAPA, 2022).

O mercado de saúde animal é dominado por empresas multinacionais com sede em países desenvolvidos como, por exemplo, Estados Unidos, França e Alemanha. Nota-se que apenas quatro das dez maiores empresas atuam exclusivamente no mercado de saúde animal, sendo elas, Zoetis®, Idexx®, Virbac® e Ceva®. As demais apresentam divisões entre saúde humana e saúde animal, devido à similaridade entre a cadeia produtiva e os fármacos na terapêutica da indústria farmacêutica veterinária e humana (CAPANEMA *et al.*, 2007; AHMED *et al.*, 2022).

A gestão da saúde animal é idealizada para otimizar a saúde física, comportamental e o bem-estar do rebanho. Inclui a prevenção, tratamento, controle de doenças e transtornos que afetam bovinos (MAPA, 2023). A pecuária extensiva no Brasil representa 81,98% do rebanho de bovinos, tendo a criação a pasto como principal cultivo do gado de corte, cujo regime de pastagens está distribuído em 167 milhões de hectares (ABIEC, 2023). As condições acerca do pasto, a carência da suplementação alimentar e o controle inadequado de parasitos são algumas desvantagens deste tipo de cultivo e, por isto, são necessárias à implementação de controle, inovação e tratamentos antiparasitários. O oposto da pecuária extensiva, a pecuária intensiva é a criação de animais em sistemas de confinamento e semiconfinamento em espaços reduzidos, que permite melhorar o peso das carcaças e reduzir as áreas de pastagens. É utilizada principalmente no rebanho leiteiro e atualmente representa 18,02% (ABIEC, 2023).

Neste contexto, as inovações no setor da indústria veterinária se tornam necessários, uma vez que o mercado é competitivo e os consumidores e produtores passam a exigir melhores produtos e serviços ofertados. A indústria protege suas fórmulas e inovações através de patentes, que constituiu um título temporário da propriedade com o objetivo de proteger novos produtos, novos processos e aperfeiçoamentos que tenha aplicação industrial (SOUZA, 2014). A Tabela 1. descreve o número de patentes depositadas no Brasil das empresas farmacêuticas veterinárias e a classe terapêutica representativa.

Tabela 1. Número de patentes depositadas no Brasil das empresas veterinárias por classe terapêutica no ano de 2016 (adaptada SOUZA *et al.*, 2014) Instituto Nacional da Propriedade Industrial – INPI. Base de patentes. Disponível em <<http://gru.inpi.gov.br/pePI/jsp/PatenteSearchBasico.jsp>>

Classe	Zoetis	Merial	Ourofino	Vallée	Bayer	Elanco	Total/Classe
Aditivo	1	0	1	1	1	0	4
Anestésico	0	0	1	0	0	0	1
Antimicrobiano	8	3	5	0	4	2	22
Antinflamatório	0	0	1	0	0	0	1
Antiparasitário	24	32	1	0	12	0	69
Biológicos	25	31	3	1	1	0	61
Liberação Controlada	0	1	0	0	7	0	8
Nanotecnologia	0	0	0	0	0	0	0
Outros	6	9	2	1	10	0	28
Reprodução	0	0	1	0	0	0	1
Total	64	76	15	3	35	2	195

Pode-se observar a predominância de patentes depositadas por multinacionais estrangeiras (Zoetis®, Merial® e Bayer®) frente as nacionais, e o número de patentes de produtos da classe terapêutica antiparasitária e biológica, corroborando com os dados disponibilizados pelo SINDAN, nos quais estas classes possuem maior representatividade de produtos no mercado nacional.

O aumento da expressividade de produtos antiparasitários no mercado ocorre principalmente pela predisposição de certos ativos ao processo de resistência. As principais causas de resistência antiparasitária são os tratamentos supressivos, onde se sugere intervalos de utilização, medicamentos com alta concentração residual, o uso combinado de compostos no qual os ativos não apresentam eficácia significativa quando testados isoladamente e o uso de doses baixas por períodos prolongados, promovendo o aparecimento de efeitos colaterais (MOLENTO, 2005).

O manejo feito com os animais impacta diretamente na parasitose do rebanho, consequência da manipulação inadequada e pela falta de conhecimento técnico da relação ecológica ambiente-bovino-parasito. Esta relação, e bem como a ciência acerca do ciclo biológico do parasito permite utilizar de forma estratégica compostos ativos em períodos ideais de combate, diminuindo a resistência parasitária e a contaminação do ambiente (AZEVEDO *et al.*, 2008)

O controle de antiparasitário é pautado na utilização de produtos químicos que podem gerar resíduos na carne e no leite, porém o uso em grande escala e indiscriminado pode desencadear a seleção dos parasitas no meio (FRAGA *et al.*, 2003). Diante deste cenário, a influência do parasitismo no Brasil demanda políticas de controle e a inovação e desenvolvimento de novas estratégias farmacêuticas, principalmente para controlar as pragas

que afetam o rebanho, cuja expressividade mundial é relatada, sendo predominada pelo carapato e mosca dos chifres (*Haematobia irritans*).

2.3 *Haematobia irritans*: Mosca dos chifres

A denominação “mosca do chifres” foi atribuída pelos seus hábitos de aglomeração na base dos chifres dos bovinos, sendo observados em regiões de clima temperado ou regiões brasileiras mais frias, como o sul do Brasil. A mosca *H. irritans* foi descrita pela primeira vez pelo professor, médico e biólogo Linnaeus (1758), e foi reconhecida como praga de bovinos em 1830 na França (HONER, M. R.; BIANCHIN, I.; GOMES, 1990). Pertence ao Reino Animalia, Filo Arthropoda, Classe Insecta, Ordem Diptera e Família Muscidae, sendo holometábolos com fases de ovo, larva, pupa e adulto (DELABONA; BICUDO, 2007).

Foi introduzida na América do Norte vinda da França em 1887 e atualmente a distribuição geográfica da mosca inclui as Américas, Europa, Ásia e regiões não tropicais da África (BRUCE, 1938). Esta espécie foi encontrada no Brasil pela primeira vez na década de 1980 em Roraima, se dispersando facilmente para outros estados (VALÉRIO, 1983).

Melo *et al.* (2020), relataram a incidência de *H. irritans* na forma imatura na região semiárida do Brasil, no estado da Paraíba, e demonstraram taxas relativamente elevadas de infestações em rebanhos ao longo do ano, e a predominância da população de moscas dos chifres ocorria após o início das chuvas, no mês de março e na estação seca (outubro/novembro), com infestações médias de 226,4 moscas/animal.

As moscas adultas possuem aproximadamente 3 a 4 mm de comprimento, coloração cinza com listras escuras na região do tórax e um par de olhos em tom vermelho escuro. A espécie tem dimorfismo sexual, sendo uma característica que os difere, olhos menores e mais separados nas fêmeas do que os machos, e os machos possuem o abdômen ligeiramente dobrado (TAYLOR, 2016) e ambos os parasitas têm aparelhos bucais sugadores e perfurantes e se alimentam exclusivamente de sangue (FITZPATRICK; KAUFMAN, 2011).

H. irritans é um parasito hematófago obrigatório de bovinos, que no ato da hematofagia gera picadas dolorosas que promovem uma irritação e estresse local, na região das costas ou pernas, resultando um impacto negativo sobre a produção e desempenho do gado, como a perda de apetite e, consequentemente, corpórea, diminuição da produção de leite e comprometimento com a qualidade do couro e queda dos índices reprodutivos (RODRIGUÉZ, 2018).

A mosca do chifre, se alimenta pelo ato da hematofagia em torno de 20 a 38 vezes por dia e é necessária para o acasalamento e produção de ovos (CUPP, 1998) e a infestação de populações adultas ocorre continuamente no gado nas regiões de São Paulo, no centro-leste, Santa Catarina e nas regiões costeiras do Sul, independente das mudanças climáticas sazonais (BIANCHIN, 2006). No Pantanal, na região centro-oeste, em torno de 64% dos bovinos são infestados pelas moscas dos chifres durante todo o ano (LIMA, 2003).

2.3.1 Ciclo biológico

O ciclo biológico deste inseto inclui a permanência e acasalamento dos adultos sobre os hospedeiros, os bovinos e, em condições favoráveis de temperatura e umidade, a fêmea faz a oviposição nas fezes frescas dos bovinos, na interface do bolo fecal com o solo, na borda lateral das fezes frescas, onde irá ocorrer o desenvolvimento larvar e pupação, até a emergência dos adultos (BRITO *et al.*, 2005). A Figura 1 elucida o ciclo biológico de *H. irritans*.

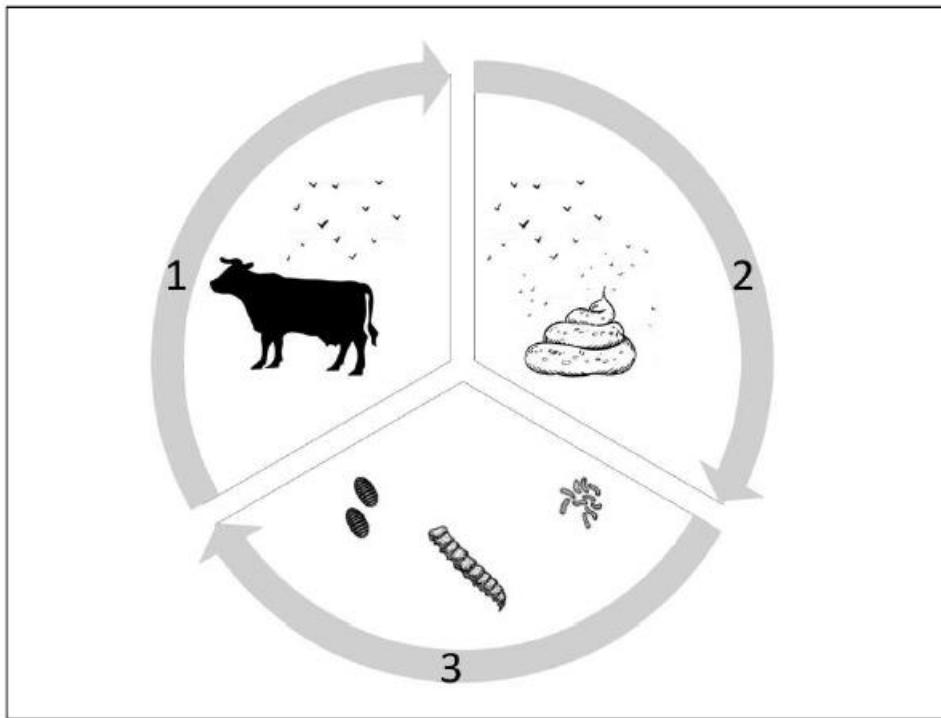


Figura 1. Ciclo biológico da mosca dos chifres. (1) Parasitismo; (2) Oviposição; (3) Desenvolvimento Larval. (Ilustração: Melina Alves. Adaptado de PIRES, 2015).

A primeira etapa do ciclo biológico é representada pelo processo de parasitismo (1), onde as moscas irão realizar o ato de hematofagia nos bovinos causando irritação local e estresse. Estas só se afastam do animal no momento da oviposição (2). A fêmea deposita seus ovos no bolo fecal fresco dos bovinos e liberam em média 400 (quatrocentos) ovos e, em condições de temperatura e umidade favoráveis, ocorre o desenvolvimento dos ovos a larvas. Os ovos da mosca dos chifres são de coloração acastanhada, amarelos ou brancos quando postos pela primeira vez, e adquirem uma cor marrom-avermelhada antes da eclosão, e possuem 1,2 mm de comprimento (FITZPATRICK; KAUFMAN, 2011; FORTES 2004).

Posteriormente, em temperaturas na faixa de 24°C e 26°C, as larvas eclodem em 24 horas e no período máximo de 17 dias em condições de temperatura de 19,4°C, devido a isso é observado menores infestações desta mosca em épocas mais frias e secas (ALMEIDA *et al.*, 2010). Ocorre o processo de metamorfose dos ovos a larvas (L1, L2 e L3) Figura 1 (3) que penetram mais profundamente a massa fecal para se proteger da luminosidade e procurar locais mais úmidos (FORTES, 2004). Esta etapa é dependente dos hormônios responsáveis pelo crescimento, como o análogo do hormônio juvenil (KUNZ *et al.*, 1970). As larvas recentemente eclodidas são de cor branca e possuem 1,5 mm de comprimento com cabeça delgada e pontiaguda (FITZPATRICK; KAUFMAN, 2011).

Após 6 a 8 dias as larvas se transformam em pupas e têm de 3 a 4 mm de comprimento, inicialmente possuem coloração branca e alteram sua cor para marrom-avermelhado com o endurecimento da cobertura externa da pupa (SIQUEIRA; AMARANTE, 2001). Ao imergirem, as moscas identificam o hospedeiro através de estímulos notáveis pela aproximação, como odores, umidade, calor do corpo e campo visual, para se alimentarem e continuarem o ciclo (CABRINI; ANDRADE, 2006). O ciclo biológico se completa com a influência de climas quentes, em média entre 10 e 15 dias, e em climas frios pode apresentar variação de tempo maiores (FORTES, 2004).

As características que interferem no ciclo estão relacionadas a fatores bióticos, como a predação, competição e parasitismo, e fatores abióticos como a dessecação ou liquidez da

massa fecal e baixas temperaturas. As condições climáticas correlacionadas ao parasitismo são a umidade, precipitação e temperatura do ambiente (MACEDO *et al.*, 2003).

2.3.2 Impacto econômico e controle do parasitismo

A picada dolorosa da mosca dos chifres gera uma hipersensibilidade no hospedeiro, resultando no estresse do animal. Estima-se que uma infestação gera uma perda de peso estimada em 3,25 Kg/bovino, em média, no Brasil por ano (BIANCHIN, 2002). Devido a representatividade da pecuária brasileira a nível global e a economia nacional, é preciso controlar o parasitismo por mosca dos chifres, a fim de evitar estas perdas da qualidade da carne, leite e couro.

Harvey e Brethour (1979) observaram que o ganho de peso foi superior a 14,3 Kg nos bovinos que utilizavam fármacos mosquicidas impregnados em brincos em comparativo àqueles animais que não foram submetidos a nenhum método de controle de *H. irritans*. O êxito no controle populacional de qualquer parasita está associado ao conhecimento da sua epidemiologia. Portanto, com base no seu ciclo evolutivo, a forma de controle mais efetiva deverá estar concentrada em atuar nas fezes, a fim de evitar o desenvolvimento e emergência do ovo e larvas.

Atualmente, medidas de controle de moscas-dos chifres em bovinos são pautadas no controle químico, com a utilização de pesticidas na forma de imersão, pulverização, pour on, spot on, brincos impregnados e bioinseticidas. A estratégia preconizada é a de rotação das classes inseticidas, com mecanismo de ação diferentes, à fim de retardar o processo de resistência. Esses inseticidas estão divididos em nove famílias principais: organofosforados, piretróides, fenilpirazóis, lactonas macrocíclicas, reguladores de crescimento, inibidores de crescimento, derivados de pirról, repelentes de extratos vegetais e óleo essenciais e atrativos com substâncias voláteis como feromônios para controle físico (VIVAS *et al.*, 2023).

Smith (2022) avaliou o custo e abordagens de manejo da mosca dos chifres de produtores de bezerros no Texas, e os custos aumentaram 24% para produtores que utilizavam brincos impregnados, enquanto aqueles que usaram inseticida por pulverização tiveram aumento de 32% em comparação aos que não usam nenhum método de controle e gerenciamento de moscas. Os custos médios documentados em Benavidez (2020), são de US\$ 2,19/cabeça para marcas auriculares e US\$ 8,46/cabeça para aplicação direta.

As classes piretróides e organofosforado são as mais significativas do mercado (MEDEIROS DE BARROS, 2005). Os organofosforados possuem efeito acumulativo e podem gerar efeitos neurotóxicos na saúde humana, e quando utilizado de forma irracional, contaminam cursos de água e geram resíduos agrícolas (MELLO; DA SILVEIRA, 2012), sendo pontuado como problema para a segurança alimentar e contaminação ambiental. As permetrinas da classe dos piretróides, tem efeito neurotóxico, gerando paralisia e morte dos parasitas (CASIDA E DURKIN, 2013). A consequência do uso deste método de controle é a aumento de populações de insetos resistentes e a toxicidade em humanos (SODERLUND, 2012; BRADBERRY *et al.*, 2005). A resistência genética de populações de *H. irritans* à permetrina foi relatado por Holderman *et al.* (2018).

A mosca dos chifres foi introduzida no Uruguai em 1991 vinda do Brasil, e a resistência por piretróides foi relatada cinco anos após (CARBALLO; MARTÍNEZ, 1991, MÁRQUEZ *et al.*, 1997).

Segundo Guglielmone *et al.* (2001), com os programas de controle pautados em compostos químicos, *H. irritans* desenvolveu novos mecanismos de repelência que incluem modificações comportamentais, pelos quais as moscas evitam o contato com o inseticida movendo-se longe de área com altas concentrações do ativo, retornando posteriormente quando

as concentrações do hospedeiro diminui. Além disso, as moscas tendem a se mover para áreas do corpo do hospedeiro onde as concentrações dos inseticidas são baixas. Apesar da contínua busca por opções alternativas, o controle de *H. irritans* ainda é extremamente dependente dos inseticidas. Com o passar dos anos, esta dependência tem levado à seleção de populações resistentes. De modo geral, a continuidade deste processo tem culminado em um crescente aumento dos níveis de resistência e no comprometimento de um maior número de inseticidas e de suas classes (OLIVEIRA *et al.*, 2021)

Em 1990, foi publicado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) o Programa de Controle das Moscas dos Chifres do Brasil, que tinha como objetivo atingir duas metas, reduzir as infestações da mosca e evitar o processo de resistência do inseto aos pesticidas utilizados. Desta forma, para a efetivação do programa na época era imprescindível a utilização racional de produtos químicos, como também buscar outros meios de controle o qual retarde a resistência. A utilização do besouro *Onthophagus gazela* foi associado ao programa como uma opção mais segura para auxiliar no controle das moscas, que ao destruir o bolo fecal dos bovinos, torna desfavoráveis as condições para o desenvolvimento do inseto (HONER; BIANCHIN; GOMES, 1990).

Em condições laboratoriais, o besouro *O. gazela* é capaz de reduzir a emergência de *H. irritans* de 98 a 100% e um estudo realizado na América do Norte elucidou que uma densidade de 40% de besouros adultos nas fezes de bovinos aumentou a porcentagem de pupas não emergidas da mosca dos chifres de 38 para 56% (LEGNER, 1991). Porém, o uso de inseticidas da classe lactonas macrocíclicas, como ivermectina e doramectina, pelo rebanho afeta negativamente a população de besouros, reduzindo sua capacidade reprodutiva. (PEREZ-COGOLLO, 2015; 2017).

A extensão territorial brasileira e a utilização indiscriminada de pesticidas de diversas classes no rebanho afetariam a manutenção da reprodução do besouro, devido a exposição e contaminação do solo. Portanto, a efetivação do Programa de Controle das Moscas dos Chifres do Brasil, utilizando como alternativa o besouro rola bosta foi dificultada, não sendo possível a disseminação destas espécies em quantidades suficientes para efetivação do programa (BRITO, 2005).

A utilização de compostos mais seguros e atóxicos surgem justamente dessa necessidade de reduzir estes efeitos negativos dos pesticidas convencionais (RESENDE; GAMA, 2006). Castro *et al.* (2023), avaliaram a eficácia *in vitro* de quatro óleos essenciais no controle da mosca dos chifres, o óleo essencial de *Mesosphaerum suaveolens* (L.) (bamburral), *Varronia curassavica* (erva baleeira), *Alpinia zerumbet* (colônia) e *Psidium guajava* L (goiabeira), e todos mostram eficácia *in vitro* contra *H. irritans*, atingindo 100% de mortalidade para colônia e 96,2% para o bamburral. O estudo sugere associações de óleos essenciais e o desenvolvimento de nanoemulsões para controle frente as condições do campo.

Outros óleos essenciais como *Eucalipto globulus* (GALLI, 2018) *Citronela* (AGNOLIN, 2019), *Pterodon ermaginatus* (SARTI, 1993), *Piper tuberculatum* (BRAGA, 2017) foram avaliados quanto à eficácia e surgem como alternativa natural e diminuem a agressão ao meio ambiente aos métodos de controle pautados com pesticidas convencionais para *H. irritans*.

Os biopesticidas se diferem dos pesticidas convencionais pelo mecanismo de ação atóxico sobre um organismo-alvo, que são geralmente seletivos a uma espécie específica, e pela sua ocorrência natural. O ativo pode ser resultado de uma mistura de moléculas naturais derivada de uma planta, óleo essencial ou de compostos isômericos estruturalmente muito semelhantes a hormônios de insetos (GREVAS E GRANT, 2011).

Os compostos orgânicos biologicamente ativos, que em grande maioria apresentam semelhança estrutural aos hormônios dos insetos compõem uma nova classe de biopesticidas, os reguladores de crescimento de insetos (Insect Grow Regulations - IGR's) conhecidos como

disruptores de desenvolvimento, que possuem atuam interferindo no desenvolvimento dos estágios imaturos da mosca *H. Irritans* (WALKER *et al.*, 2021).

Esta categoria de pesticidas surge como alternativa aos pesticidas químicos mais agressivos usados atualmente, minimizando os impactos da resistência de pragas, os efeitos no meio ambiente e na saúde do ser humano (KUMAR, 2015).

2.4 Reguladores do Crescimento de Insetos

O termo “reguladores de crescimento de insetos” (IGRs) (do inglês “insect growth regulators”) são uma classe de compostos bio-racionais, ou seja, são moléculas produzidas por produtos naturais, com propriedades resultantes bem similares a composição do hormônio natural (WILLIAMS, 1967; STAAL, 1975). Os IGR’s receberam muita atenção denominados inseticidas de terceira geração (GAD, 2021). Historicamente, desde 1975 os IGR’s vem sendo utilizado no controle de parasitos, como por exemplo o metopreno (Altosida®) e diflubenzuron (Dimilin®) nos Estados Unidos (JINDRA, 2020).

Atuam como análogo do hormônio juvenil de insetos, inviabilizando seu crescimento e desenvolvimento, principalmente nos estágios imaturos. Quando comparados às outras classes, possuem vantagem de atuarem de forma seletiva sob mecanismos fisiológicos específicos de insetos. Os IGR’s presentes no mercado para controle de *H. irritans*, são as benzilfenilureias, triazina, metoprene e piriproxifen (TAYLOR, 2017; SUN *et al.*, 2015).

Os reguladores de crescimento de insetos são constituídos por compostos químicos que não matam o parasita diretamente, mas interferem no desenvolvimento de estágios imaturos, não sendo adequados para o controle com resposta rápida de populações na fase adulta. Podem ser divididos em classes conforme seu mecanismo de ação: agentes hormonais anti-juvenis, análogos do hormônio juvenil e inibidores da síntese e ou deposição de quitina (benzoilfenil-uréias, derivados da triazina e da pirimidina); e (benzoilfenil-uréias) (GRAF, 1993).

2.4.1 Agentes hormonais Anti-Juvenis (anti -HJ)

Os agentes anti -HJ são compostos que atuam inibindo a ação ou síntese dos hormônios juvenis (HJs) em insetos. A principal razão para o desenvolvimento de compostos com este mecanismo de ação é interromper o crescimento e impedir que os insetos amadureçam e se tornem adultos reprodutivos, interferindo na muda e na metamorfose, resultando em insetos adultos não funcionais (precoce) (OLIVEIRA, 2024).

2.4.2 Inibidores de síntese de quitina

As benzoilfenilureias, derivados da triazina e da pirimidina são inibidores da síntese de quitina usados na agricultura, principalmente para controle de ectoparasitos em animais. A quitina é um polissacarídeo nitrogenado e é o principal componente do exoesqueleto dos insetos (COHEN, 1993). A estruturada quitina consiste em longas cadeias lineares de moléculas N-Acetylglucosamina (GlcNac) com ligações glicosídicas. Cada cadeia contém aproximadamente 20 unidades de açúcar, e essas cadeias tendem a formar uma estrutura fibrilar, que fornece suporte mecânico e força ao exoesqueleto e paredes celulares de insetos (OLIVEIRA, 2024).

A inibição da síntese de quitina por estes compostos, acarreta diversos efeitos nos insetos alvos: interrupção da muda, alteração no desenvolvimento larval, inibição da reprodução de adultos e danos diretos ao exoesqueleto. Os estágios imaturos dos parasitos,

quando expostos a compostos, não conseguem completar a muda e acabam morrendo (OLIVEIRA, 2024).

A eficácia do diflubenzuron foi avaliado por Silva e Mendes (2002) contra formas imaturas de *H. irritans*, e relataram redução na emergência das pupas para o estágio adulto, apresentando alta susceptibilidade ao ativo. Os derivados da triazina e da pirimidina agem alterando a deposição de quitina na cutícula dos insetos e seus ativos principais são a clofentezina e o nicomizina Z, respectivamente (OLIVEIRA, 2024).

2.4.3 Análogos do hormônio juvenil

Os principais análogos do hormônio juvenil são metoprene, fenoxicarbe e piriproxifen. Agem impedindo a metamorfose para o estágio adulto, se ligando aos receptores de hormônio juvenil, e por serem estruturalmente diferentes, não são destruídos. Assim, a metamorfose e o desenvolvimento para o estágio adulto não ocorrem (DHADIALLA; CARLSON, 1998).

O metoprene possui baixa toxicidade para mamíferos (TAYLOR, 2001) e é amplamente usado no controle de insetos, principalmente dípteros (WIJAYARATNE *et al.*, 2018) e já foi administrado via oral na forma farmacêutica de bolus de liberação intra-ruminal controlada para bovinos para o controle da mosca dos chifres (MILLER, 1973). O fenoxicarbe é indicado no controle de insetos, como pulgas, impedindo que as larvas consigam emergir dos ovos (TAYLOR, 2001).

O piriproxifen é usado no controle de insetos, principalmente mosquitos, demonstrando ação ovicida e larvicida (INVEST; LUCAS, 2008; PENER; DHADIALLA, 2012). Já *in vitro*, foi capaz de impedir a eclosão dos ovos e a sobrevivência das larvas de *H. irritans* (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

O hormônio juvenil é exclusivo dos insetos e este regula a metamorfose e reprodução. O processo de muda e metamorfose em insetos são reguladas por dois hormônios principais: ecdisona e hormônio juvenil (HJ). A ecdisona atua no crescimento através da sua ação nas mudas, ou seja, quando ocorre a troca do exoesqueleto quitinoso do inseto. O hormônio juvenil é responsável por manter o organismo em seus estágios larvais entre mudas, induzindo genes e proteínas necessárias para inibir a metamorfose. Por estímulos ambientais e hormonais, quando o inseto tiver preparado para realizar a muda, as concentrações de ecdisona na hemolinfa se elevam e as concentrações de HJ diminuem, favorecendo a ocorrência do processo (RIDDIFORD, 2008).

O piriproxifen atua mimetizando a ação do hormônio juvenil, portanto, tem como mecanismo de ação a inibição do processo de morfogênese dos insetos. A Figura 2 ilustra as estruturas químicas da molécula de piriproxifen e do seu análogo, hormônio juvenil III.

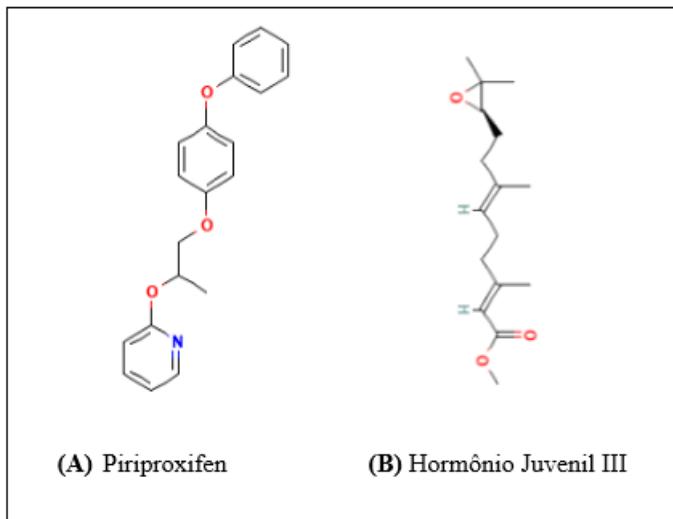


Figura 2. Estrutura química da molécula de Piriproxifen (A) e do Hormônio Juvenil III (B).
Fonte: Pubchem.

A nomenclatura da IUPAC para o ativo piriproxifen é 4-phenoxyphenyl (RS)-2-(2-pyridyloxy) propyl ether; 2-, pyridine, de fórmula molecular $C_{20}H_{19}NO_3$ e que possui como característica estrutural o anel piridínico, composto por um anel aromático de seis membros contendo o átomo de nitrogênio como heteroátomo, com peso molecular de 321,4 g/mol, disponíveis na forma de cristais incolores, sólido ceroso ou líquido amarelo pálido e possui odor fraco e característico (PUBCHEM, 2023).

As características físico-químicas do piriproxifen incluem: baixa pressão de vapor, dificultando a dispersão pelo ar; solubilidade baixa em água e alta solubilidade em solventes orgânicos (hexano, metanol e xileno) e temperatura de fusão de 48-50°C. O estudo realizado de hidrólise do piriproxifen em três diferentes meios com pH 5,0, 7,0 e 9,0 mostrou que é mais estável em pH mais básicos (KATAGI; TAKAHASHI, 1994).

Piriproxifen é o único inseticida recomendado pela Organização Mundial da Saúde para adição em água com finalidade de saúde pública (SULLIVAN, 2008). Portanto, a OMS concluiu que o piriproxifen não representa risco carcinogênico, teratogênico e genotóxico em humanos e animais em doses normais (WHO, 2008).

O piriproxifen é classificado como regulador do crescimento de insetos, de amplo espectro, com baixa toxicidade, com atividade inseticida contra *M. domestica*, mosquitos e baratas (WHO, 2006; WHO 2008). Foi registrado para uso em pesticidas pela Agência de Proteção Ambiental (EPA) desde 1995. Possui indicação de uso veterinário para tratamento de bezerros contra a mosca doméstica e pets com efeito carrapaticida e puguicida (ALBUQUERQUE *et al.*, 2016; KOCISOVA *et al.*, 2004; MEOLA *et al.*, 1996).

Atualmente no MAPA, possuem 11 registros ativos de produtos contendo piriproxifen para controle de carapatos e pulgas em espécies de cães e gatos e para uso domissanitário, como exemplo as marcas comerciais: Defend Pro®, Endeavor®, Fleegard®, Frontmax Coleira®, Kaotop SC®, Mypet Plus Spray®, Mypet Plus Strip On®, Poderoso®, Vectra® e Vectra 3D®. A maioria sob a forma farmacêutica líquida, coleira e aerossol e em associação com outros ativos, como fipronil, permetrina e deltametrina (MAPA, 2024).

Devido sua segurança, baixa toxicidade e baixa concentração eficaz, em 2014, o Ministério da Saúde passou a indicar o piriproxifen para uso domissanitário, para controle de formas imaturas do mosquito *Aedes aegypti* com o produto comercial Sumilarv® 0,5g, na forma farmacêutica de grânulos e são utilizadas em baixas concentrações e apresentam longa persistência de controle em grandes reservatórios de água potável. Estudos sugerem que o piriproxifen pode ser disseminado para outros criadouros pelas fêmeas, devido a adesão de

partículas do ativo no corpo no momento da oviposição (PESSOA, 2018).

Recentemente, foi realizado um estudo que avalia o potencial de piriproxifen administrado por via oral para controle de formas imaturas de *H. irritans* em fezes de bovinos. A análise da massa fecal e do plasma dos animais tratados oralmente mostrou que não ocorre metabolização do piriproxifen no organismo nas doses utilizadas, sendo excretado de forma inalterada pelas fezes. A concentração do ativo no plasma dos bovinos ficou abaixo dos limites mínimos de detecção e sua presença nas fezes comprovam a eliminação fecal da molécula de piriproxifen. Desta forma, quando empregado por via oral nas doses de 2,5 e 40,0 mg/animal, manifestou atividade IGR sobre *H. irritans*, pela mortalidade das pupas e, consequente, inibição da emergência em adultos (OLIVEIRA, 2021).

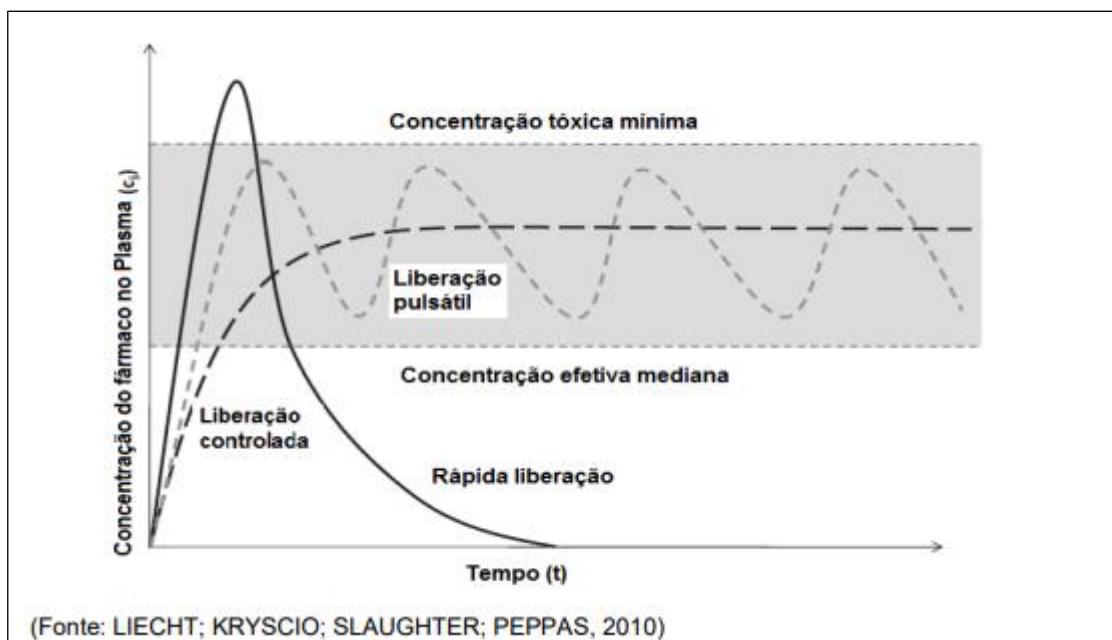
A partir destes estudos, associado com o aumento da demanda pública e da relevância do gado de corte no Brasil, vê-se a necessidade de desenvolver produtos veterinários antiparasitários que diminuam os riscos para organismos que não são o alvo do controle e que causem menor impacto ambiental. Cabe ainda ressaltar que os inseticidas químicos sofrerão restrição cada vez mais intensa por parte regulatória.

Os IGR's oferecem diversas vantagens no manejo de pragas agrícolas devido a sua ação direcionada aliada a toxicidade reduziada para organismos não-alvo. Do ponto de vista econômico, os IGR's são compostos mais caros que os inseticidas convencionais utilizados, e esta desvantagem pode ser compensada pelo desenvolvimento de uma formulação prolongada com menos aplicações exigidas e doses eficazes mais baixas para controle do parasitismo (SCHWARTZ, 2001).

A utilização de moléculas mais seguras, seletivas e eficazes para controle de parasitas em bovinos promove o desenvolvimento de formulações que atendam a demanda da pecuária extensiva e intensiva, apropriando-se de estratégias e tecnologias farmacêuticas. Dentre estas, os sistemas de liberação controlada se tornam uma alternativa promissora para a terapêutica veterinária.

2.5 Formas farmacêuticas de Liberação Controlada

Por definição, segundo a Farmacopeia dos Estados Unidos (The United States Pharmacopeia XXV, USP), os sistemas de liberação controlada possuem características de liberação do fármaco em relação ao tempo, para alcançar um resultado terapêutico que não é plausível obter com formas farmacêuticas convencionais, caracterizada por reduzir a frequência de administração ou aumentar positivamente a adesão ou a performance terapêutica (USP, 2023). A Figura 3 representa graficamente os perfis plasmáticos dos sistemas de liberação.



(Fonte: LIECHT; KRYSCIO; SLAUGHTER; PEPPAS, 2010)

Figura 3. Perfis plasmáticos em diferentes condições de administração: liberação convencional, liberação pulsátil (repetida) e liberação controlada (adaptada de PEPPAS, 2010).

A liberação convencional ou imediata é aquela que, após a administração do fármaco, a absorção ocorre de forma rápida, sendo de 75% da substância ativa absorvida em 45 minutos (ANVISA, 2010).

Na liberação repetida ou pulsátil, ocorre a liberação de uma dosagem individual após a administração e por possuírem baixas dosagens ou excreções rápidas, uma segunda ou terceira dose são liberadas (MARANHO, 2000; OJOE, 2003).

A manutenção da concentração plasmática constante por um período caracteriza um sistema de liberação controlado, ocorre uma prévia liberação do fármaco, suficiente para atingir o efeito terapêutico com seguinte sustentação do efeito, pela liberação gradual do fármaco (AULTON, 2008; KHAR, 2015).

O desenvolvimento de uma formulação com perfil de liberação controlado aplicada a pecuária se faz necessário, a fim de reduzir as administrações de produtos veterinários para controle de doenças, uma vez que neste tipo de criação o gado é criado de forma livre, sendo reunido poucas vezes ao ano, tornando difícil o controle de parasitos (PARANHOS DA COSTA, 2000).

O sistema de liberação controlado de fármacos, além de facilitar o controle de parasitos da pecuária extensiva, vem sendo amplamente utilizado pois no que se diz respeito à farmacocinética geralmente possuem tempo de circulação prolongado, vida útil aumentada, depuração reduzida e aumento do tempo médio de residência no trato gastrointestinal (LIN *et al.*, 2017).

A administração oral de bolus com liberação intraruminal é possível devido a fisiologia do bovino. Ruminantes como bovinos, ovinos e caprinos possuem um canal alimentar composto por: cavidade oral, faringe, esôfago estômago, intestino grosso e cólon. Porém, o estômago dos ruminantes é grande e complexo, sendo composto por quatro compartimentos (1) rúmen, (2) retículo, (3) omaso e (4) abomaso, em capacidade, estes 4 compartimentos somam 50 a 60 litros. Dentre estes, o rúmen é o que possui maior capacidade (20 a 50 litros), o pH é na faixa de 5,0 a 7,0 e a temperatura entre 38 e 42 °C. A absorção alimentar ocorre pela

fermentação microbiana, principalmente por protozoários e bactérias (CARDINAL, 2000). A estimativa é que em 1,0 mL do líquido ruminal contenha 10 a 50 milhões de bactérias, 1 milhão de protozoários e milhares de leveduras ou fungos, devido ao ambiente anaeróbico, e estes micro-organismos são os responsáveis pela degradação do material vegetal, como por exemplo a celulose (MACALLISTER, 2000). A Figura 4 ilustra a aplicação via bolus com o dispositivo polimérico administrado oral e os compartimentos do estômago dos ruminantes.

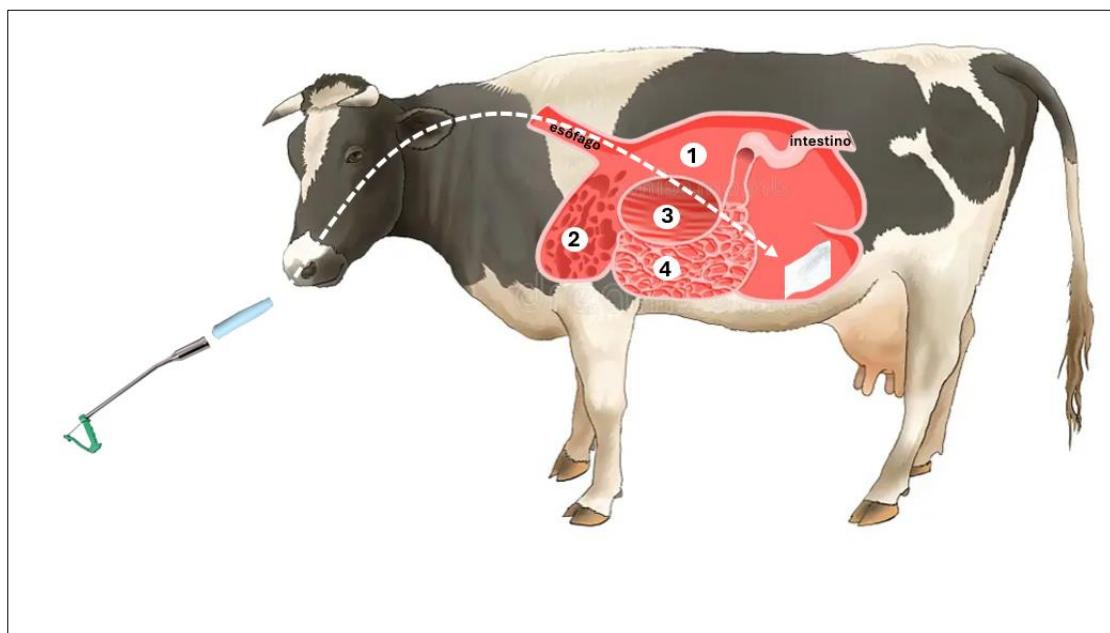


Figura 4. Representação da aplicação via bolus oral e os compartimentos do estômago dos ruminantes: (1) rúmen, (2) retículo, (3) omaso e (4) abomaso. (Ilustração: Melina Alves. Adaptado de OLIVEIRA, 2023).

A palavra “ruminante” é derivada do latim “ruminare”, que significa “mastigar novamente”, e é uma das características fisiológicas destes mamíferos, o ato de digerir alimentos vegetais e regurgitar a massa semidigerida, mastigando-a novamente, esse processo é chamado de ruminação (RATHBONE *et al.*, 2002).

Para o desenvolvimento de um dispositivo intraruminal são necessárias algumas características de design, como o tamanho e formato que possibilite a administração por via oral e impeça a regurgitação, outro fator é a confiabilidade de retenção a longo prazo no rúmen e a liberação controlada do ativo, impedindo níveis de subdosagem ou superdosagem (BELANI, 2011).

O projeto de um dispositivo de rúmen-retículo (DRR) deve levar em consideração dois fatores importantes: as condições do ambiente ruminal e os reflexos de regurgitação. A anatomia e fisiologia únicas dos ruminantes permitem a retenção a longo prazo de dispositivos no rúmen. No entanto, para evitar a regurgitação das DRRs, algumas estratégias podem ser utilizadas, como o uso de uma forma geométrica particular que impeça a regurgitação pelo esôfago. Para atingir tal estratégia, o dispositivo deve apresentar propriedades físicas (resistência à quebra e maleabilidade) que permitam comprimí-lo de forma a facilitar a deglutição quando administrado e, em seguida, converter para uma forma expandida que seja retida durante todo o tratamento no rúmen, conforme representado na Figura 7 (VANDAME, 2004).

A administração via oral de bolus se iniciou na pecuária com o fornecimento de nutrientes, antibióticos e anti-helmínticos (MARSTON 1962, REDNICK *et al.*, 1970).

A administração de dispositivo rúmen-reticulo depende da administração via oral e que o sistema seja projetado para administração com uma pistola “balling gun” ou aplicador de bolus, sendo uma ferramenta longa em forma de haste projetada para transportar o dispositivo através da cavidade oral e permitir que seja alocado na extremidade superior do esôfago (CARDEAL, 1997).

Existem três tipos mais comuns de liberação controlada em bolus para ruminantes: sistemas de erosão, sistemas de osmose e sistemas de dispersão em matriz.

2.5.1 Sistemas de Liberação Controlada por Erosão

O tipo mais comum de liberação controlada em bolus para ruminantes são os sistemas erodíveis, geralmente em formas de única dosagem composta por um núcleo contendo medicamento, sendo comprimido ou cápsula com uma barreira hidrofílica de revestimento, ou em casos mais inovadores um invólucro modificador de liberação. Este sistema é projetado para dissolver devido a presença do líquido intraruminal ou pela ação mecânica do rúmen, e foi utilizado em um dos primeiros exemplos de dispositivo de liberação controlada contendo cobalto para fornecimento de nutrientes (MARSTON, 1962).

Miller *et al.* (1977), desenvolveram um bolus de liberação controlada por difusão contendo 1,0% do ativo metopreno da classe dos análogos do hormônio juvenil para controle de *H. irritans* nas fezes. A administração de IGR's e a inibição do desenvolvimento de estágios imaturos já tinha sido demonstrado em ração moída (HARRIS *et al.* 1973), em blocos minerais (HARRIS *et al.* 1974) e na água potável (BEADLES *et al.* 1975), porém a variação de consumo destas formas farmacêuticas resulta na variabilidade da dose e por consequência, na eficácia do tratamento.

O bolus desenvolvido por Miller *et al.* (1977) é composto por metoprene e resinas plástica chamada Stretche® (Controlled Release Chemical Corp.) à base de água, que era utilizado para prolongar o tempo útil residual de inseticidas em culturas agrícolas (HARBESTON, 1975). Este tipo de sistema de liberação permite que ativos inseticidas sejam excretados gradualmente nas fezes por um período de 5-6 meses, ocasionando a morte de estágios imaturos de *H. irritans* (MILLER, 1973). Atualmente este produto não está disponível mais no mercado para comercialização, devido ao alto custo para a época.

Riner *et al.* (1982) avaliaram as alterações nas características de composição e liberação do dispositivo e concluíram que densidade maiores que 2,0 é suficiente para impedir a regurgitação dos bolus. As propriedades físico-químicas dos seus componentes poliméricos e excipientes (plasticante, formadores de poros, agente de volume) retardam o início da liberação do ativo através de diferentes mecanismos. Os exemplos deste sistema de difusão são Albon®S.R bolus (sulfadimetoxina), o Spanbolet II (sulfametazina) e em geral proporcionam a entrega sustentada de sulfas durante o período de 72 horas (CARDINAL, 2000).

2.5.2 Sistema de Osmose

Os sistemas osmóticos utilizam os princípios da pressão osmótica para a administração de medicamentos. A liberação do medicamento a partir desses sistemas é em grande parte independente do pH e de outros parâmetros fisiológicos e é possível modular as características de liberação otimizando as propriedades do medicamento e do sistema, como a solubilidade e pressão osmótica do componente ativo, tamanho do orifício de distribuição e natureza da membrana de controle da taxa. Estes sistemas são eficazes para liberação de ativos solúveis e insolúveis em água (VERMA, 2002; THEEUWES, 1985).

O bolus Ivomec SR® é um produto com sistema de administração de medicamento

acionado osmoticamente e desenvolvido com a liberação sustentada do ativo ivermectina para controle de antiparasitários em bovinos. A taxa de liberação de 12 mg/dia de ivermectina é mantida por um período de aproximadamente 135 dias (ZINGERMAN, 1997).

O produto é composto por uma bomba osmótica que possui os compartimentos do agente osmótico e do fármaco separados por um êmbolo de cera, o qual foi concebido para administração via oral e liberação intraruminal (BRAYDEN *et al.*, 2010; MILLER *et al.*, 2001; WRIGHT, 1999).

O Ivomec SR Bolus® foi registrado no MAPA no ano de 1994, com indicações antiparasitárias similares a Europa, nos Estados Unidos e no Canadá. Contudo, por questões de manejo, principalmente, pela falta de prática para administração de bolus por via oral em espécies bovinas, pela conveniência e prática das pessoas envolvidas na administração de injeções subcutâneas por anos, pela antiga necessidade de manejo para vacinações contra febre aftosa, e ainda à característica indócil da raça Nelore, o produto não teve a aceitação esperada, e na época, o preço era considerado elevado pelo pecuarista (GRISI; SCOTT, 2014).

2.5.3 Sistema de Dispersão em Matriz

O dispositivo de matriz dispersa é definido como um sistema no qual o princípio ativo é disperso dentro de uma matriz polimérica não biodegradável. Sob estas condições o fármaco é liberado através de processos de difusão pela lei da raiz quadrada do tempo, conforme descrito originalmente por Higuchi pela Equação 1 abaixo:

$$Mt = \frac{\sqrt{D\varepsilon}(2A - \varepsilon Cs)Cst}{\tau}$$

Equação 1. Lei de Higuchi

Esta equação aborda a taxa de liberação de um fármaco, a partir de uma matriz, geralmente um polímero, onde Mt é a quantidade total de medicamento liberado, D é o coeficiente de difusão do medicamento na matriz de difusão, ε é a porosidade da matriz, A é o peso do medicamento, Cs é a solubilidade de saturação do fármaco no polímero, τ é a tortuosidade da matriz e t é o tempo. Para dispositivos cujo perfil de liberação é descrito por esta equação, um gráfico da quantidade liberada versus tempo será linear. Isso significa que a taxa de liberação diminui com o tempo (CARDINAL, 2000).

O Paratect Flex® da Pfizer é um exemplo de um produto disperso em matriz e comercialmente bem-sucedido para tratamento de infestação parasitária gastrointestinal e fornece a liberação contínua por 90 dias do ativo através da difusão. O dispositivo tem a forma de uma grande folha que forma um cilindro e é enrolado e limitado por uma fita solúvel em água que se dissolve após a administração do dispositivo (CARDINAL, 2000).

O produto Paratect Flex®, é composto por um filme polimérico trilaminado com liberação controlada, de proporção 50:50 do ativo morantel e do polímero acetato de vinil de etileno (EVA) para tratamento anti-helmíntico em bovinos. Após a entrada no rúmen, o filme adesivo hidrofílico se dissolve e desenrola, impedindo a regurgitação, promovendo a liberação do ativo pelos poros através do gradiente de concentração (ROTHEN-WEINHOLD *et al.*, 2000). O bolus Paratect® foi originalmente comercializado na Europa e foi altamente eficaz (BELANI, 2011). Este produto não chegou a ser comercializado no mercado brasileiro devido o custo.

A Figura 5 ilustra o filme trilaminado (a) e a conformação cilíndrica para administração bolus oral (b).

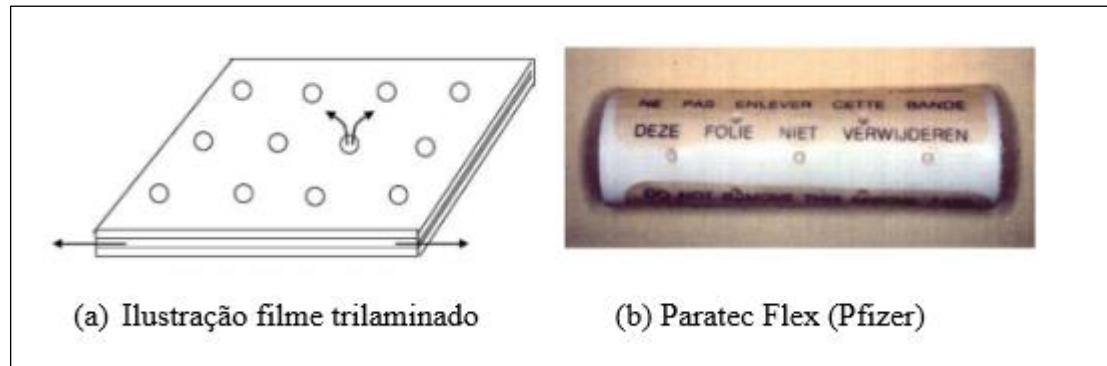


Figura 5. Paratect Flex (Pfizer).

Conrad *et al.* (1988) descrevem outro dispositivo com sistema de difusão da Elanco, o Monensin RDD®, era um dispositivo composto de um cilindro metálico com uma matriz alocada no interior formada do copolímero poliácido lático-poliglicólico na proporção 80/20 (p/p) (PLA/PLGA) com o ativo monensina. Após a exposição em meios aquosos o polímero sofre hidrólise liberando o ativo. Possui 11 cm de comprimento e 3,7 cm de diâmetro.

De forma geral, a administração via oral em bolus são através de dispositivos que permanecem no rúmen por períodos prolongados devido a sua densidade ou geometria e são desenvolvidos para não flutuarem e evitar a regurgitação. Os bolus orais de liberação convencional e de liberação sustentada são administrados com auxílio de uma pistola, denominada “*balling gun*”, onde o dispositivo é inserido na base da língua e entregue, passando pela faringe e engolido pela ação reflexa, se depositando no rúmen (TYLE, 1988).

As formas farmacêuticas de liberação modificada que já estiveram presentes no mercado para ruminantes são os dispositivos intraruminariais (Paratect Flex® Bolus, Ivomec® SR, Captec®, Panacur® SR bolus); dispositivos *bypass*, sistemas orais destinados a passar intacto pelo rúmen, como exemplo comercial o Megalac E® e Smartamine® e dispositivos implantáveis (Compudose®, Ralgro®, SABER™, Atroban®). Em sua grande maioria, são constituídos por polímeros biodegradáveis. (PRIETSCH *et al.*, 2014).

De acordo com dados divulgados do Ministério da Agricultura e Pecuária, os produtos, Rumesin Capsule®, o dispositivo transdérmico Formoped® e dispositivo tópico, como pour on Acatak®, possuem registro ativo para comercialização no Brasil.

2.6 Polímeros

No século XX, foi descoberto um grupo de produtos que consistia em moléculas com alto peso molecular que apresentavam unidades estruturais repetitivas (poli), denominada meros, constituindo uma cadeia longa designado polímero (MANO, 1991). O termo *polímero* foi inventado pelo químico alemão J. Berzelius no ano de 1832 (MORAWETZ, 1985).

A indústria de polímeros se desenvolveu basicamente com o domínio da tecnologia no processo de vulcanização da borracha natural e hoje é maior que as indústrias de cobre, aço e alumínio (AKAY, 2019). Atualmente, estes materiais possuem vasta aplicação, em especial na área de biomateriais (RUAN *et al.*, 2018).

Os produtos à base de polímero estão presentes no cotidiano, como roupas compostas de fibras sintéticas, fibras de vidro, copos de polietileno, tintas à base de polímeros, sacos plásticos, colas epóxi, espumas para almofadas de poliuretano, válvulas cardíacas de silicone, panelas revestidas com teflon, entre outros exemplos (BARROS, 2022). A tecnologia em constante desenvolvimento permitirá o surgimento de novas gerações de polímeros com características físicas e estruturais bem definidas e controladas para a aplicação de interesse

Na medicina humana, os polímeros (biológicos, sintéticos e híbridos) variam seus usos desde aplicações tradicionais como seringas, dispositivos extracorpóreos e cateteres, até matrizes para encapsulamento celular, regeneração de tecidos e administração e carreamento de medicamentos (LEE *et al.*, 2010)

Os polímeros são desenvolvidos para agirem como moduladores e direcionadores da liberação de fármacos com ação específica no organismo, podendo ser polímeros biodegradáveis, bioadesivos, bioativos ou biomiméticos. (VILLANOVA *et al.*, 2010).

Os polímeros podem ser classificados de acordo com a sua origem, sendo natural ou sintético. Os de origem natural são moléculas participantes de organismos vivos como os polissacarídeos e polinucleotídeos. Os de origem sintética são desenvolvidos em laboratórios e em sua maioria são derivados de materiais do petróleo. Embora os polímeros naturais excedam a quantidade dos sintéticos desenvolvidos pela indústria, os polímeros naturais reduziram sua importância econômica com a ciência e tecnologia dos polímeros. (SILVA; SILVA, 2003). Para otimizar estruturalmente estas moléculas, surgiram os polímeros semissintéticos, originados de modificações químicas dos polímeros naturais (CHIELLINI *et al.*, 2003).

A junção da ciência de polímeros com as ciências farmacêuticas permitiu o avanço na inovação e desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos (LIMA, 2006). Os polímeros estão entre os excipientes mais utilizados para a obtenção de formas farmacêuticas de liberação controlada do fármaco (RIOS, 2005).

Um sistema de liberação controlado por via oral, pode ser planejado e desenvolvido por diferentes métodos de processamento e diferentes polímeros, que possuem propriedades distintas, resultando em uma membrana ou matriz de liberação sustentada ou controlada do fármaco. O agente bioativo encontra-se envolvido por um filme, ou disperso uniformemente em uma matriz. Em ambos os casos, a difusão ocorre pelo gradiente de concentração (BIZERRA; SILVA, 2016). Estes materiais poliméricos farmacêuticos possuem baixa toxicidade e são usados como matrizes nos quais o ativo é incorporado. (ZHU, 2002).

As propriedades físico-químicas do fármaco, principalmente, solubilidade e permeabilidade interferem bastante na escolha do polímero da formulação (ZHU, 2002; RIOS, 2005). Além disso, os filmes são caracterizados quanto suas propriedades físico e químicas, como identificação de grupos funcionais (FTIR), grau de cristalinidade (DRX), propriedades térmicas (DSC) e morfológicas (MEV). A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier tem o objetivo de identificar nas amostras a composição e grupos funcionais através da absorção de energia na região do infravermelho pelo material. As ligações químicas dos componentes das amostras apresentam frequências de vibração específicas e correspondentes aos diferentes níveis de energia das moléculas. As bandas vibracionais reconhecidas e geradas pelo equipamento indicam o pico de absorção de acordo com o grupo funcional (ZENEBO, 2008).

Assim como os polímeros, os materiais sólidos e líquidos podem apresentar-se estruturalmente organizados, sendo capazes de difratar um feixe de raios X e devido a esta característica, a técnica de difração de raios X é a mais indicada para a determinação de fases cristalinas presentes em materiais poliméricos. (CANEVAROLO, 2006).

A análise térmica por calorimetria diferencial de varredura possibilita determinar a temperatura de transição vítreo (T_g) de um material, isto é, a temperatura nas quais as cadeias poliméricas da região amorfa ganham mobilidade, abaixo desta temperatura o material polímero se encontra em estado vítreo, ou seja, com mobilidade reduzida, e estas influenciam no comportamento do material (CANEVAROLO, 2006).

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) permite a obtenção de uma imagem ampliada e tridimensional da amostra, que possibilita identificar imperfeições, porosidades,

separação dos componentes dos filmes em camadas e a estrutura da superfície (CALLISTER, 2018).

Para utilização de polímeros em formulações farmacêuticas, certas propriedades físico-químicas do material precisam ser definidas, para garantir a funcionalidade do polímero. Alguns parâmetros abrangem: temperatura de transição vítrea, distribuição de massa e massa molecular, que são fundamentais para a determinação da cristalinidade e da capacidade de penetração do solvente, como a solubilidade e coeficiente de difusão (FLORENCE *et al.*, 2011).

Os polímeros biodegradáveis mais utilizados e potencialmente aplicáveis na medicina veterinária são os polissacarídeos naturais, como por exemplo, a quitina, a quitosana e a celulose, assim como vários poliésteres. Estes polímeros estão disponíveis comercialmente em diversas formas farmacêuticas: pó, esferas, fibras, filmes, entre outros e possuem pesos moleculares que facilitam o controle e a degradação do polímero quando for preciso, por exemplo, no sistema de administração controlada de medicamentos (BANERJEE *et al.*, 2012). Com o aumento da variedade de aplicações de polímero na medicina humana e mais recente, na medicina veterinária, torna-se necessário a utilização de polímeros biodegradáveis, a fim de mitigar o aumento da poluição ambiental com materiais não biodegradáveis (KIM *et al.*, 2008).

2.6.1 Carboximetilcelulose

A carboximetilcelulose de sódio (NaCMC), denominada pela IUPAC como sódio;2,3,4,5,6-pentahidroxihexanal;acetato, cas 9004-32-4, possui fórmula molecular $C_8H_{15}NaO_8$ e peso molecular de 262, 19 g/mol e está na forma de pó branco ou acinzentado higroscópico e inodoro. É solúvel em água e insolúvel em etanol, éteres e alguns solventes orgânicos (COVA, 2000) e produz uma solução coloidal viscosa com a água, possui pH não inferior a 5,0 e nem superior a 8,5 em uma solução coloidal a 1%. Tem propriedade espessante, ligante, estabilizante, agente de suspensão e retentor de água (COVA, 2000; PUCHEM, 2024).

A Figura 6 representa a estrutura química do polímero NaCMC.

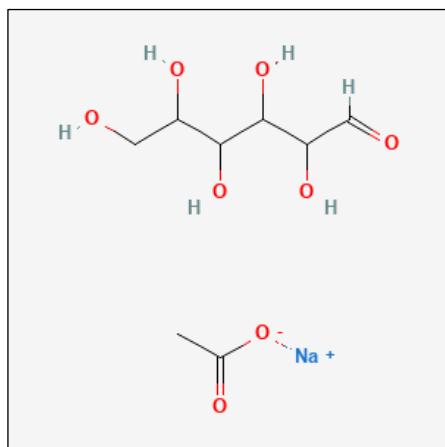


Figura 6. Estrutura química da carboximetilcelulose de sódio.
(Fonte: Pubchem - <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

NaCMC é um polímero sintético aniónico de alta massa molar, biocompatível, biodegradável, fisiologicamente inerte e composta por muitas hidroxilas e carboxilas, que conferem uma alta capacidade de inchamento em água e fluídos biológicos, mesmo em

pequenas concentrações, sendo interessante para a utilização em formulações de liberação controlada com o objetivo de absorver água pelo processo físico de inchamento e liberar o ativo por difusão (VILLANOVA, 2010; SANINO *et al.*, 2009). A tendência e a diversidade de aplicações de formulações compostas por hidrogéis a base de celulose, aumentaram significativamente a publicação de patentes devido o grande interesse na medicina humana, e consequentemente, aplicação para a medicina veterinária. A Figura 7 representa as patentes publicadas referente aos hidrogéis a base de celulose.

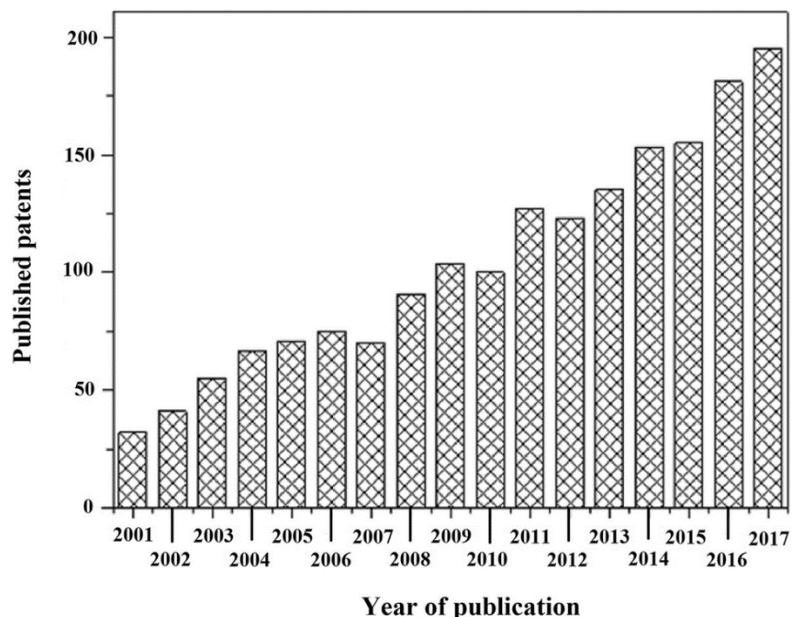


Figura 7. Patentes publicadas de hidrogéis a base de celulose no intervalo de 2001 a 2017 (KABIR, 2018).

Hidrogéis à base de celulose, reversíveis ou estáveis, são formados pela reticulação de soluções aquosas de éteres de celulose, e estão entre os derivados de celulose mais utilizados a metilcelulose (MC), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), etilcelulose (EC), hidroxietilcelulose (HEC) e carboximetilcelulose sódica (NaCMC) (SANNINO *et al.*, 2009).

Entre os éteres de celulose mencionados acima, apenas o NaCMC é um polieletrólito e portanto apresenta variações de comportamento frente a variações de pH e força iônica, fornecendo ao próprio hidrogel cargas eletroestáticas que aumentam a capacidade de inchamento. A natureza do NaCMC o torna ideal para o desenvolvimento de hidrogéis superabsorbentes (ESPOSITO *et al.*, 1996).

2.6.2 Poli(álcool vinílico)

O poli(álcool vinílico) (PVA), cas 9002-85-5, possui fórmula molecular $(C_2H_4O)_x$ e é uma polímero semicristalino sintético, com uma cadeia de carbono como estrutura e um grupo hidroxila como grupo funcional. É um polímero sintético, hidrofílico, biodegradável, atóxico, biocompatível e que apresenta boa capacidade de formação de filmes. É semicristalino com tendência a apresentar ligações inter e intramoleculares e suas propriedades dependem do grau de hidrólise e do grau de polimerização que possui. É comumente utilizado como matéria-prima adequada para o preparo de hidrogéis, pela facilidade de processamento, capacidade de intumescimento em água ou fluidos biológicos e características elástica e plástica (HASSAN, 2000).

É amplamente utilizado em estudos de liberação controlada devido sua natureza semicristalina e hidrofílica, ou seja, apresenta afinidade pela água. O polímero semicristalino quando fisicamente reticulado, processo que ocorre a interação entre as cadeias poliméricas por ligações covalentes, forma cristalito, ancorando as cadeias da parte amorfã, tornando o material polimérico pouco solúvel ou insolúvel em água (ANITA, 2010).

A estrutura química do polímero esta representada na Figura 8:

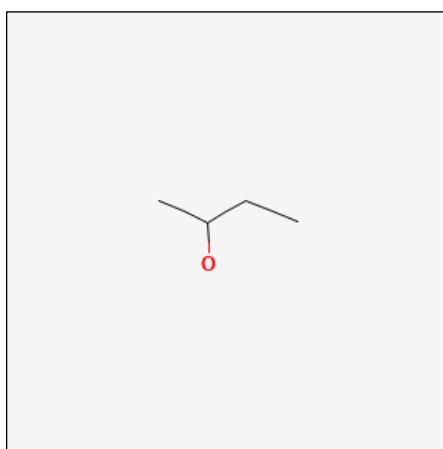


Figura 8. Estrutura química do polímero PVA.

Fonte: Pubchem - <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

Hidrogéis e filmes reticulados física ou quimicamente são amplamente aplicados na medicina humana em curativos para tratamento de feridas e podem ser sintetizado com um ou mais polímeros biocompatíveis, para controlar a liberação de substâncias terapêuticas (PARHI, 2017). Os hidrogéis compostos de CMC com PVA podem ser reticulados usando vários métodos, incluindo agentes químicos reticuladores, feixe de elétrons ou ciclagem fisicamente térmica (IVANOV *et al.*, 2007).

As cadeias poliméricas de NaCMC são emaranhadas com as cadeias de PVA por ligações cruzadas de hidrogênio. Ambos polímeros são solúveis em água e biocompatíveis o que os tornam potencialmente bons para aplicação em saúde (COSTA, 2012). A utilização de hidrogéis são utilizados para modular a liberação do fármaco, e sua adição é realizada após a reticulação ou simultaneamente, durante a formação da rede polimérica do hidrogel (DRURY & MOONEY, 2003).

A formação de um filme polimérico constituído por PVA com NaCMC, apresentará as vantagens dos dois componentes em um mesmo produto final. O PVA vai conferir uma boa resistência mecânica e o CMC aumentará a capacidade de inchamento do filme de PVA (SHEHAP, 2008). A obtenção desta mistura polimérica pode ser realizada através de métodos físicos, como a fusão dos polímeros ou a sua solubilização (PESCOLÍDO, 2012).

Atualmente, um dos campos de pesquisa mais importante de hidrogéis (filmes) é o sistema de liberação controlada de fármacos, devido ao desenvolvimento da farmacologia na última década associada à tecnologia. A associação de fármacos com hidrogéis apresentam benefícios como a liberação e eliminação de drogas ativas proporcionando uma permanência mais prolongada do fármaco, redução da degradação rápida dos componentes bioativos por enzimas fisiológicas, antes que atinjam o local desejado (XINMING *et al.*, 2018).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Reagentes

Foram empregados os seguintes reagentes de grau analítico de pureza:

- Lauril sulfato de sódio, Vetec, lote 1107519;
- Acetonitrila, Sigma-Aldrich, grau HPLC ≥99,9%, lote SHBF8238V;
- Acetato de Sódio, Merk, lote 106267;
- Fosfato de sódio dibásico, Vetec, lote 1102792;
- Fosfato de sódio monobásico Vetec, lote DCBC2256;

3.1.2 Matérias-primas

Foram empregadas as seguintes matérias-primas, de grau farmacêutico de pureza, no preparo da formulação:

- Piriproxifen Matéria Prima, Ourofino, lote 131114;
- Poli(álcool vinílico), 99% hidrolisado, Mw 85.000 – 124.000, lote MKCH7811, Sigma Aldrich
- Carboximetilcelulose de Sódio, Mw 90.000, lote MKCH7190, Sigma-Aldrich
- Fosfato dissódico (Na_2HPO_4)
- Bicarbonato de sódio (NaHCO_3)
- Cloreto de sódio (NaCl)
- Cloreto de potássio (KCl)
- Cloreto de cálcio (CaCl_2)
- Cloreto de Magnésio (MgCl_2)
- Sulfeto de ferro (II) (FeSO_4)
- Sulfato de manganês (MnSO_4)
- Ureia
- Água purificada
- Papel Filtro Qualy, diâmetro 9,0.

3.1.3 Padrão Analítico: Piriproxifen

A ativo Pyriproxyfen PESTANAL™ foi o padrão analítico utilizado nas determinações analíticas, lote BCCG0216 de teor declarado 98,0%, Sigma-Aldrich.

3.1.4 Equipamentos e acessórios

- Balança analítica Tecnal, modelo 210;
- Incubadora Shaker Digital Cienlab, modelo CE-720;
- Cromatógrafo líquido Dionex, modelo Ultimate 3000, equipado com duas bombas quaternárias, válvula de sete vias, forno para coluna, detector UV-VIS e software CHROMELEON 6.80 DIONEX;
- Coluna cromatográfica Inovation Chromoliter C18 100 x 4,6 mm x 3,5 μm ;
- Filtro Millex 0,45U, membrana durapore 13mm;
- Bomba à vácuo – Tecnal – modelo Eco;

- Peagâmetro Quimis, modelo Q400MT;
- Ultrapurificador acoplado ao sistema de purificação por osmose reversa OS 10 LZ (Gehaka);
- Vórtex Go Mixer MX-5;
- Pipeta automática 1000 μ L
- Centrífuga refrigerada Cientec, CT- 6000 R.
- MEV HITACHI, TM-3030 PLUS Microscópio Eletrônico de Varredura.
- FTIR, VERTEX 70; Espectrômetro de infravermelho.
- DSC – IMA UFRJ; Calorimetria Diferencial Exploratória
- Difratômetro Brucker AXS D8 Advance Eco (CETEM-UFRJ); Difração de Raio X

3.2 Desenvolvimento do Filme Polimérico de Liberação Controlada: (PVA/NaCMC/Piriproxifen)

O método utilizado para o desenvolvimento das amostras de filmes foi *solvent casting*. A solução filmogênica foi obtida pela dissolução de 2,5 g de PVA à 90°C por 6 horas em 25,0 mL de meio aquoso, sob agitação mecânica para completa solubilização. Posteriormente, foi adicionado 0,5g de NaCMC, em temperatura ambiente (27°C) sob agitação mecânica por 30 minutos, resultando em soluções contendo PVA 10,0% e NaCMC 2,0% (p/v). O ativo piriproxifen com massa 25,0 mg foi solubilizado em 1,0 mL de acetonitrila e adicionado na solução filmogênica exposta ao banho ultrassônico para desgaseificação.

Para cada protótipo foi usado um volume final de 5,0 mL de solução filmogênica. O volume de 26,0 mL da solução filmogênica final foram vertidas em placas de silicone (área 15,90 cm²) e secas na estufa com fluxo de ar constante à 35°C por 12 horas. As amostras com e sem o ativo, foram denominados filme e placebo, respectivamente. Para garantir a reproduzibilidade do método foram obtidos um *n* amostral de 12 filmes protótipos com concentração de 1,57 mg/cm² de piriproxifen e um filme escalonado de 144cm² com concentração de 226,41 mg de piriproxifen.

Foi realizado o escalonamento do filme para dimensões de área interna regular 18 cm (comprimento) x 8 cm (altura), totalizando 144 cm² contendo 226,41 mg de piriproxifen de para garantir a dose correta por kg de animal para causar a mortalidade das larvas de *H. irritans*, conforme descrita por Oliveira *et al.*, (2021). O escalonamento consistiu no preparo da solução filmogênica com a dissolução de 5,0 g de PVA, 1,0 g de NaCMC e 226,41 mg de piriproxifen no volume total de 45,0 mL de solução filmogênica, segundo os mesmos parâmetros descritos. As análises físico-químicas e os ensaios físicos foram realizados com os filmes protótipos (área=15,90 cm²).

O protótipo do filme de liberação controlada foi avaliado quanto suas características organolépticas, como aspecto visual, textura, homogeneidade e maleabilidade. Para a administração via oral através do aplicador de bolus para bovinos, é necessário uma forma compacta e enrolada para atravessar a cavidade esofágica do animal, e, portanto, a resistência a dobra e a maleabilidade são essenciais para o desenvolvimento inicial do dispositivo reticulo-rúmen (DRR). A forma geométrica expandida do filme ocorre pela interação do meio ruminal com as cadeias poliméricas, tornando-a maior e com maior peso, impedindo a regurgitação dos ruminantes.

3.3 Caracterização Físico-Química

3.3.1 Método analítico para quantificação do Piriproxifen

O desenvolvimento do método analítico envolve a otimização de diversos fatores como a preparação da amostra, a separação cromatográfica e a quantificação do ativo. Os parâmetros como a fase móvel, a vazão, a coluna cromatográfica e o comprimento de onda de detecção devem ser pré-estabelecidos com critério para garantir o método robusto. O método para quantificação do piriproxifen foi desenvolvido e baseado nas características químicas do ativo, testando inicialmente solventes como metanol e acetonitrila, com diferentes fluxos a fim de obter parâmetros satisfatórios.

As condições cromatográficas empregadas foram: coluna Inovation Chromoliter C18 100 x 4,6 mm (3,5 μ m), fase móvel ACN:H₂O (70:30), fluxo de 1,5 mL/min, λ : 254 nm e volume de injeção 10,00 μ L. O método foi utilizado para quantificação do piriproxifen nos ensaios de teor e no estudo de liberação, para essa correta leitura foram construídas curvas de calibração em ACN, e nos meios de liberação tampão fosfato (TF) e meio ruminal artificial (MRA), a fim de garantir a faixa de trabalho, seletividade e feito matriz.

A curva de calibração do padrão piriproxifen (lote 131114) foi realizada em acetonitrila e meio ruminal artificial, a fim de mapear as interferências do meio no padrão. Para o preparo da solução estoque (SE) (1mg/mL) foram pesados com exatidão, cerca de 25,0 mg do padrão de piriproxifen em um balão volumétrico de 25,0 mL, utilizando como diluente acetonitrila elevados ao ultrassom por 5 minutos para garantir a homogeneização.

A Tabela 2 representa o preparo e concentração dos padrões da linearidade do piriproxifen.

Tabela 1. Preparo e concentração dos padrões da linearidade do piriproxifen.

Concentração Padrão Estoque (mg/mL)	Volume pipetado de padrão estoque (mL)	Volume do Balão (mL)	Concentração teórica piriproxifen (μ g/mL)
1,0	0,10	5,0	20,0
	0,30	5,0	60,0
	0,50	5,0	100,0
	0,75	5,0	150,0
	1,25	5,0	250,0

3.3.2 Variação de peso, pH, teor

Na análise de variação de peso foi avaliada a homogeneidade do processo de secagem, através de cortes aleatórios de medição 1,0 cm² do filme e pesados individualmente. Os resultados foram representados em média \pm desvio padrão, possibilitando a verificação da homogeneidade de peso após preparo e secagem do filme.

O pH do filme polimérico foi medido pela adição de amostras do filme com peso de 0.0224 g \pm 0.01 em 5,0 mL de água destilada com o pHmetro PHS-3E Even.

O teor de ativo piriproxifen na formulação foi obtido pela diluição de amostras do filme (1cm²) em 10,0 mL do solvente acetonitrila e adicionados no ultrassom por 2 horas para extração. Pelos cálculos obtidos, cada 1cm² possui aproximadamente 2,0 mg do ativo. Uma alíquota foi retirada, filtrada e analisada por HPLC nas condições cromatográficas descritas. O ensaio de teor foi realizado em triplicata e expresso em média \pm desvio padrão.

3.3.3 Grau de Inchamento (GI)

O grau de inchamento é um ensaio que prediz a capacidade absorptiva da matriz polimérica, sendo possível relacionar através do processo de difusão, a liberação do ativo no meio selecionado. Cada amostra medindo 1,0 cm², em triplicata, foi imersa em 5,0 mL de meio artificial ruminal, composto por: Na₂HPO₄ (9,3g), NaHCO₃ (9,8g), NaCl (4,7g), KCl (5,7g), CaCl₂ (0,053g), MgCl₂ (0,128g), FeSO₄ (0,075g), MnSO₄ (0,004g), uréia 0,07g e água qsp 1000,0 mL, com pH fixado em 6,9 à 38°C (KNOWLTON, 1998) e depois pesados nos tempos de 0, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 120 minutos. O resultado é calculado conforme equação 2:

$$SD = 100 \left(\frac{W_s - W_d}{W_d} \right)$$

Equação 2. Cálculo do grau de inchamento.

Onde:

SD = grau de inchamento

W_s = filme inchado

W_d = filme seco

3.3.4 Ensaio de Solubilidade: *Shake Flask*

Os ensaios de solubilidade e dissolução foram realizados conforme as diretrizes da USP para aplicações veterinárias (USP, 2017). O ensaio de solubilidade foi realizado pelo método *shake flask*, nos meios comumente utilizados para ruminantes: Água destilada (H₂O, pH 5,6), Tampão fosfato (TF, pH 6,5) e Meio ruminal artificial (MAR, pH 6,9), na ausência e presença de 1,0% e 5,0% (p/v) de dodecilsulfato de sódio (SDS), sob a plataforma agitadora (Incubadora Shaker), com 38°C e 100 rpm. Um excesso de piriproxifen foi adicionado em erlenmeyers contendo 50,0 mL de cada meio a ser avaliado e alocados sob agitação constante por um período de 24 e 48 horas. As alíquotas foram coletadas nestes tempos, e centrifugadas a 3000 rpm por 20 minutos (CT6000r, Cientec), filtradas (membrana Durapore 0,45 µm × 13 mm) e analisadas por método CLAE-UV descrito no item 3.3.1. A análise estatística para a solubilidade em cada meio foi realizada através do teste One-wayAnova (teste de múltiplas comparações de Tukey) com intervalo de confiança de 95% pelo software estatístico Origin9®. O ensaio foi realizado em triplicata e os resultados são apresentados como média ± DP.

3.3.5 Estudo de liberação *in vitro*

O estudo de liberação *in vitro* foi realizado na plataforma agitadora (Incubadora Shaker), com temperatura controlada de 38°C e 100 rpm, mimetizando as condições ruminais, com volume de 100,0 mL dos meios (TF, MAR) selecionados anteriormente pela análise de *shake flask* e o meio ruminal (MR). O MR foi coletado via sonda oral de bovinos, por técnicos veterinários do Departamento de Parasitologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Após a coleta, foi medido o pH e o líquido foi acondicionado em caixa de isopor com placas de gelo com temperatura aproximadamente de 25°C, a fim de garantir a integridade dos infusórios ruminais. O líquido ruminal foi diluído (1:30) no meio ruminal artificial, acondicionado em frascos âmbar com vedação e entrada de CO₂, para a manutenção do meio (bactérias e infusórios). Em cada meio, foi adicionado um filme de 15,90cm²

contendo 1,57mg/cm² de piriproxifen e as coletas foram nos tempos: 0, 1, 2, 3, 7, 14, 21, 30, 37, 45, 52 e 60 dias. As amostras foram analisadas por CLAE_UV pelo método descrito e as porcentagens de liberação cumulativas foram calculadas.

3.3.6 Estudo de cinética de liberação *in vitro*

A cinética de liberação foi determinada através da análise de regressão linear do gráfico de dispersão xy e a partir do coeficiente linear (r) obtido para cada modelo (ordem zero, Higuchi (pseudo primeira ordem) e primeira ordem. A aplicação dos modelos está descrita abaixo:

- Ordem zero: quantidade liberada em $\mu\text{g/mL}$ *versus* tempo (min);
- Higuchi: quantidade liberada em $\mu\text{g/mL}$ *versus* raiz do tempo (min);
- Primeira ordem: log da quantidade liberada em $\mu\text{g/mL}$ *versus* tempo (min).

A partir da análise do coeficiente linear (r) obtido para cada um dos modelos, determinou-se a cinética de liberação. O modelo que apresentou maior valor de r foi o escolhido. A análise estatística foi realizada através do teste One-way Anova (teste de múltiplas comparações de Tukey) pelo software Origin9® com intervalo de confiança de 95%.

3.3.7 Difração de Raio X: DRX

A análise de DRX foi utilizada para identificar e quantificar fases cristalinas na amostra placebo, filme e filme pós liberação no MAr e MR. As amostras foram avaliadas por análise de difração de raios X utilizando equipamento Difratômetro Brucker-AXS D8 Advance Eco (CETEM-UFRJ), radiação CuK α a 40kV e 25mA.

As amostras foram alocadas na cavidade da porta amostra na forma de filme, de forma a preencher completamente a cavidade do porta amostra e rente ao plano superior. Os parâmetros utilizados foram: faixa de difração angular de $2\theta = 5^\circ$ - 70° , passo de $0,02^\circ$, tempo de passo de 2 s. As curvas foram suavizadas pelo Método Savitzky-Golay Ordem polinomial 2, sem condição de contorno, 15 pontos por janela, usando Origin-Pro Software. Para calcular o grau de cristalinidade das amostras por DRX, a equação 3 foi adaptada.

$$Xc(\%) = 100 \frac{A_c}{A_T}$$

Equação 3. Cálculo do grau de cristalinidade das amostras.

Onde:

Xc (%) = grau de cristalinidade

Ac = área cristalina

At = área total sob a curva

3.3.8 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada Fourier: FTIR

A Espectroscopia no Infravermelho com Transformada Fourier (FTIR) é considerada uma das técnicas experimentais mais importantes para a caracterização de polímeros, em termos de identificação estruturais e grupos funcionais da formulação.

As amostras foram analisadas na forme de filme placebo, filme e filme pós liberação e avaliadas físico-quimicamente por Fourier Transform Infrared Espectroscopia – FTIR, instrumento Vertex 70, Bruker®/EUA do Laboratório de Química Analítica do Instituto de Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. O ensaio não foi destrutivo e as amostras não sofreram alteração para serem analisadas. Os espectros foram analisados na faixa de número de onda de 400cm^{-1} – 4000 cm^{-1} , 32 varreduras por amostra no modo ATR. Para traçar os espectros, as curvas foram suavizadas (método Savitzky-Golay, janela de 20 pontos, ordem polinomial 2), pelo software ACD® 6.0 e Origin® 6.0.

3.3.9 Calorimetria Exploratória Diferencial: DSC

A calorimetria exploratória diferencial - análise DSC foi realizada no (IMA-UFRJ), com taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$, temperatura ambiente – 25°C . A Tg (temperatura de transição vítreia) e Tm (temperatura de fusão) das amostras foram obtidos no terceiro ciclo de aquecimento (para evitar o histórico térmico das amostras). O grau de cristalinidade do PVA foi calculado no terceiro ciclo de aquecimento de acordo com a equação 4.

$$X_{c_{PVA}} = 100 \frac{\Delta H_m}{w\Delta H_m^0}$$

Equação 4. Cálculo do grau de cristalinidade das amostras.

Onde:

W = peso das frações de PVA

ΔH_m (J/g) = calor de fusão da amostra

ΔH_m^0 = calor de fusão do PVA 100 cristalino

3.3.10 Microscopia Eletrônica de Varredura: MEV

Com as análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi possível ter um melhor detalhamento da microestrutura porosa do filme através de imagens de alta ampliação e resolução, e assim, diferenciar certos aspectos dos filmes polímeros (placebo e filme) antes e após a liberação *in vitro*. A morfologia das amostras foi avaliada em microscópio eletrônico de varredura Hitachi Tm 3030 Plus, sob alto vácuo, a 15 kV, revestido com ouro (Bal-tec SCD 005 sputter coater) (CETEM/UFRJ).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desenvolvimento do Filme Polimérico de Liberação Controlada: (PVA/NaCMC/Piriproxifen)

A obtenção de filmes poliméricos através do método de “*solvent casting*” é o mais utilizado por ser confiável e simples, de custo relativamente baixo. Este processo envolve a solubilização do polímero formador de filme em um solvente volátil e o ativo dissolvido ou disperso na solução filmogênica (KARKI, 2016). Neste caso, o polímero formador de filme é o PVA e o solvente é a água.

O espalhamento da solução sobre um molde e a remoção do solvente, provoca a orientação e interação molecular das cadeias poliméricas e a intercalação das moléculas do plastificante, resultando na formação de filme (DENG, 2018).

PVA e NaCMC foram misturados e reticulados fisicamente e carregados com piriproxifen e obtiveram soluções filmogênicas homogêneas, transparentes e com viscosidade dependente da temperatura, ou seja, com aquecimento o comportamento da solução era menos viscoso e sem aquecimento, a viscosidade era aumentada. A reproduzibilidade do método foi testada com o *n* amostral de 12 filmes e todos mantiveram as características acima descritas.

Após a secagem em estufa com recirculação de ar, que permite uma secagem mais branda, as características visuais são: filme opaco, levemente esbranquiçado, com bordas irregulares, rigidez e filmes de tamanhos 15,90 cm². A Figura 9 representa o protótipo do filme polimérico.

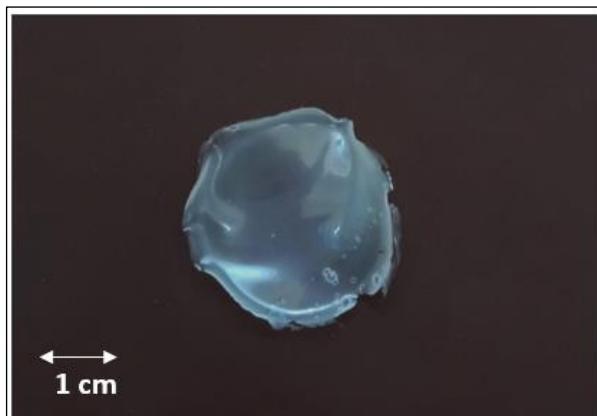


Figura 9. Protótipo do filme polimérico composto por polinivinalcool, carboximetilcelulose de sódio e piriproxifen.

O desenvolvimento inicial do método de obtenção do filme e os resultados da caracterização físico-químicos foram conclusivos e satisfatórios para o escalonamento do filme protótipo. O aumento do tamanho do filme protótipo (15,90 cm²) para o filme escalonado de tamanho retangular (144 cm²) permite maior incorporação e solubilização do ativo na solução filmogênica. Foram obtidas soluções filmogênicas com a mesma característica e filmes com coloração branca, devido ao aumento da concentração do ativo piriproxifen (226,41 mg), bordas regulares e com menor rigidez. A Figura 10 representa o filme escalonado em formato de Dispositivo Retículo-Rúmen para administração via oral com concentração de 1,57mg/cm².

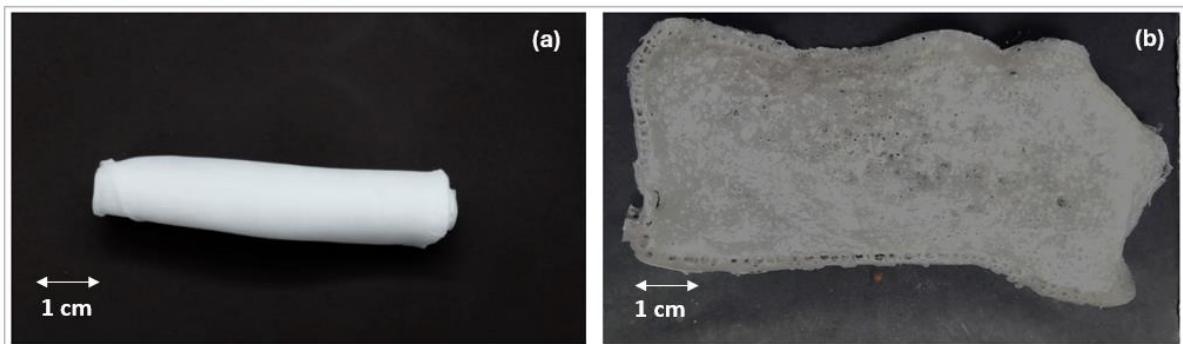


Figura 10. Filme PVA/NaCMC/Piriproxifen escalonado. (a) na forma enrolada para administração via oral e (b) forma expandida para liberação intraruminal.

Todos os ensaios físico-químicos e de caracterização foram realizados no protótipo do filme polimérico tamanho 15,90cm² (tamanho do filme após secagem).

O método de fundição em solvente (“*solvent casting*”) apresenta diversas vantagens como a facilidade de processamento, o baixo custo, ainda mais neste caso, que é utilizado água como solvente e não solvente orgânico, e a uniformidade de espessura adequada. Além disso, é um método capaz de incorporar os ativos termossensíveis, pois a temperatura de evaporação do solvente é relativamente baixa (MUKHOPADHYA, 2018). Outra vantagem, permite o ajuste das propriedades mecânicas do filme através da variação dos parâmetros de processamento, como tempo e temperatura de fundição no solvente, permitindo assim a produção de filmes com mais regiões cristalinas ou mais porosos (ANBUKARASU *et al.*, 2015), sendo, um método robusto e fácil de ampliar industrialmente.

A vantagem aplicada ao uso terapêutico está no desenvolvimento do protótipo do filme com maleabilidade suficiente para permitir a forma enrolada do filme, importante para administração via oral e passagem pela cavidade esofágica dos bovinos. Ao entrar em contato com o meio ruminal, as cadeias poliméricas se expandem e promovem a abertura do filme, aumentando a superfície de contato e liberação do ativo, que fica retida durante todo o tratamento.

Entretanto, como desvantagem apresentam alto tempo de secagem e a falta de controle da espessura do filme (ZENA, 2023).

4.1.1 Método analítico: Piriproxifen

Analisou-se a linearidade para faixa de trabalho de 5 pontos para o padrão de piriproxifen conforme Figura 11. A partir do método dos mínimos quadrados, com o auxílio do software Excel (Windows 2010), foi estimado a equação da reta (área versus concentração). A curva linear em azul refere-se ao diluente acetonitrila e em laranja ao meio ruminal artificial. O coeficiente de correlação da curva para o ativo (piriproxifen; $r = 0,9997$) para o diluente acetonitrila e o coeficiente de correlação da curva para o diluente meio ruminal artificial (piriproxifen; $r = 0,9955$) estão dentro do critério de aceitação ($r \geq 0,99$).

Comprovou-se a validade da regressão para o ativo através do método estatístico de análise de variâncias (ANOVA), pelo método dos mínimos quadrados, para um modelo linear.

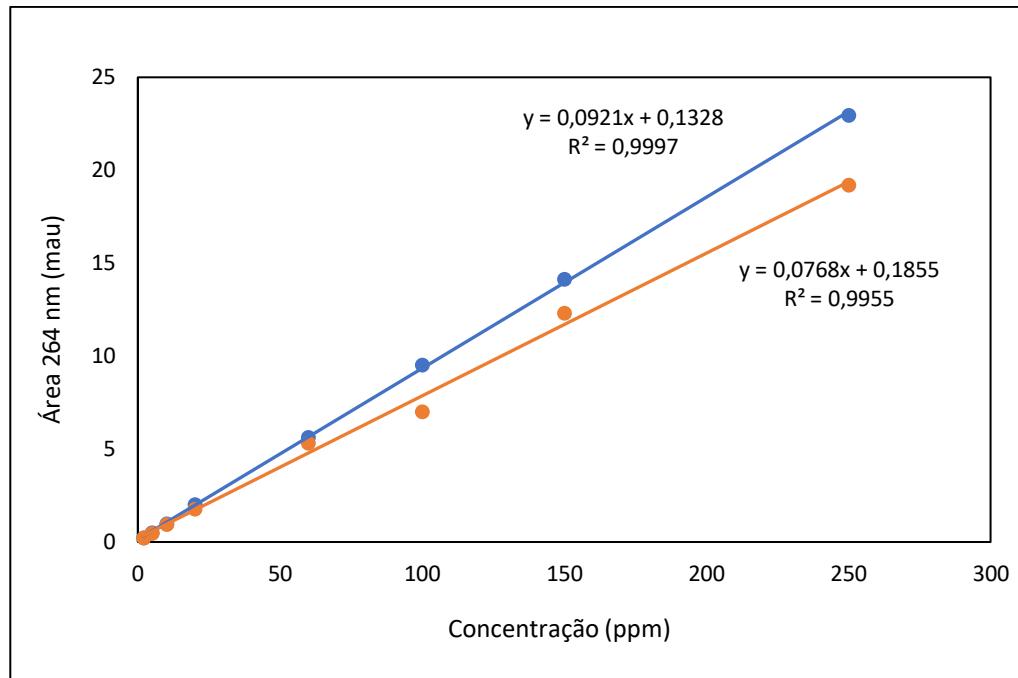


Figura 11. Curva de linearidade do padrão piriproxifen nos diluentes ACN e MAr

Para a avaliação da seletividade do método analítico o diluente utilizado no preparo das amostras e na fase móvel foi injetado nas mesmas condições para verificação da inexistência de co-eluição ou interferentes, o que foi confirmado conforme demonstração na Figura 12.

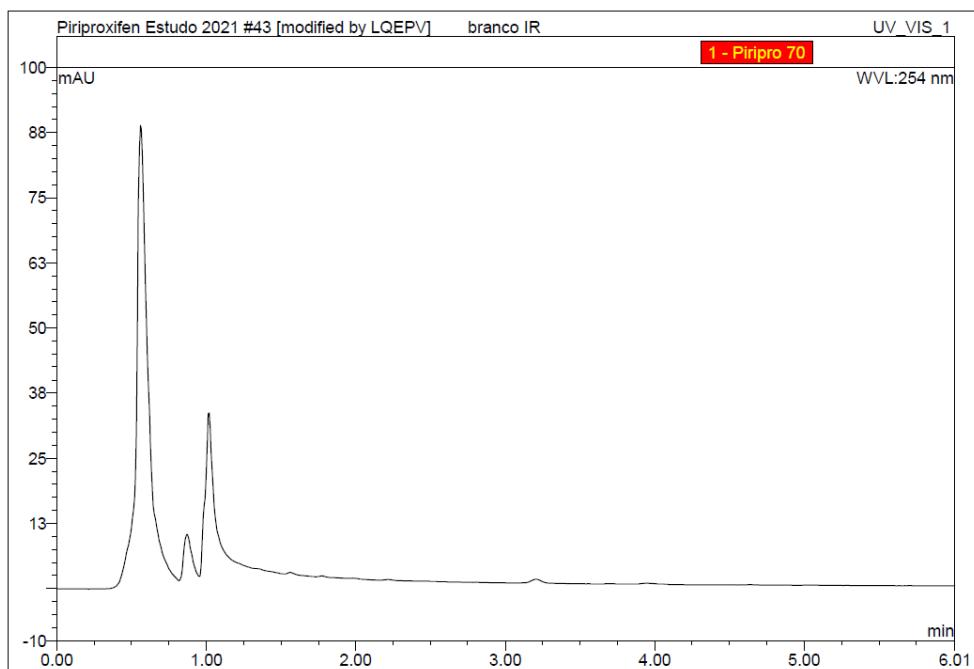


Figura 12. Análise cromatográfica do diluente (acetonitrila).

Os picos que são registrados foram eluidos antes do piriproxifen que apresenta o tempo de retenção de aproximadamente 4,65 minutos, conforme representado no cromatograma da Figura 13.

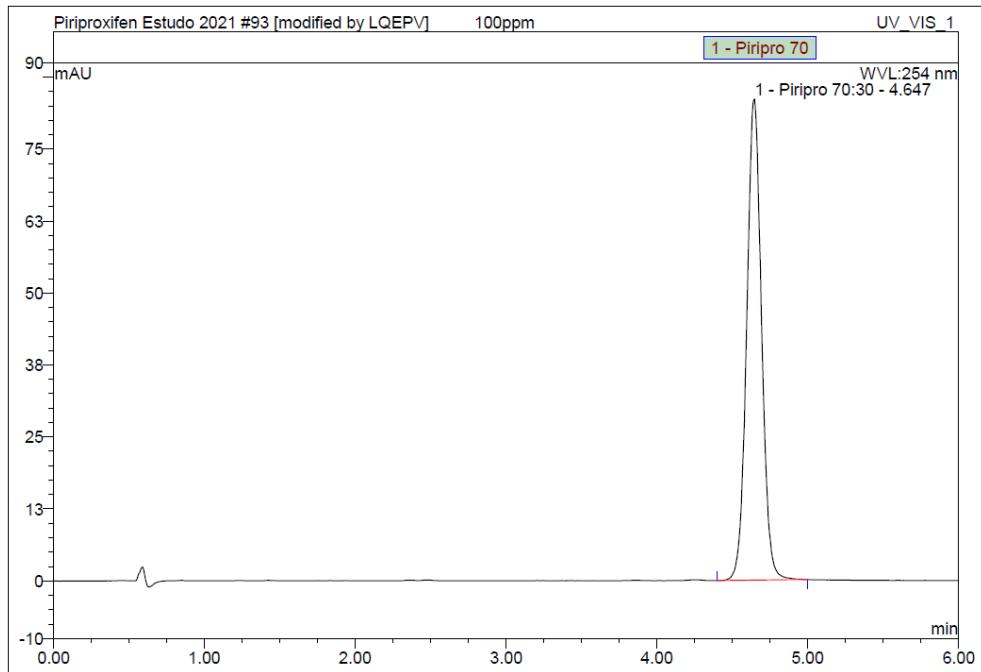


Figura 13. Cromatograma da curva de linearidade do piriproxifen no diluente acetonitrila na concentração de 100 ppm.

O pico do piriproxifen apresenta boa resolução, boa simetria, demonstrando ser um método seletivo para quantificação do ativo. Como o estudo de liberação foi realizado em três meios diferentes, para melhora resposta e confiabilidade dos resultados, foi realizada uma curva de linearidade no meio ruminal artificial e a Figura 14 abaixo, representa o chromatograma da concentração de 100 ppm da curva.

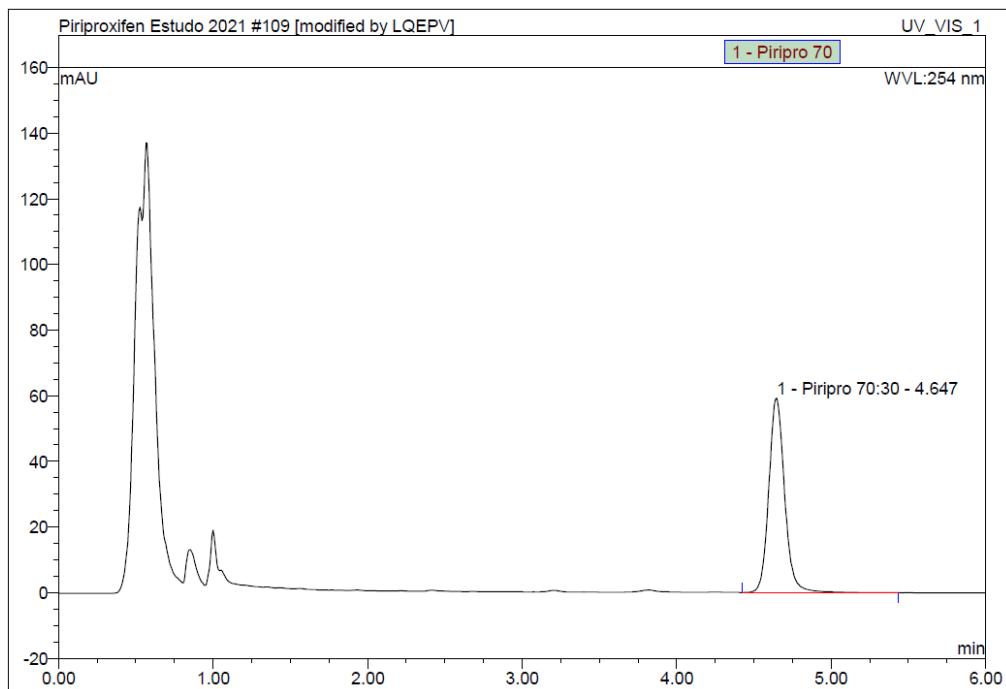


Figura 14. Cromatograma da curva de linearidade do piriproxifen no diluente meio ruminal artificial na concentração de 100 ppm.

O método analítico desenvolvido foi aplicado para quantificação do piriproxifen nos ensaios de *shake flask*, estudo de liberação e teor dos protótipos dos dispositivos reticulorúmen.

4.1.2 Variação de peso, pH, teor

Os ensaios de variação de peso demonstram a homogeneidade dos filmes e a reprodutibilidade do método de obtenção. Os valores de variação de peso, pH e teor encontram-se na Tabela 3.

Tabela 2. Resultados físico-químicos do filme (n=3).

Filmes	Variação de peso (g)*	pH*	Teor (%) *
PVA-NaCMC	0,0390 ± 0,01	6,80 ± 0,02	-
PVA-NaCMC-P	0,0446 ± 0,02	6,50 ± 0,14	104,81 ± 0,01

*média aritmética ± desvio padrão

A avaliação da variação de peso demonstrou a homogeneidade das amostras, com valores de $0,0390 \pm 0,01$ e $0,0446 \pm 0,02$ g para o placebo (PVA-NaCMC) e formulação (PVA-NaCMC-P), respectivamente.

O pH superficial ajudou a caracterizar os indicadores ácidos ou básicos dos filmes e não variou entre as amostras de PVA-NaCMC e PVA-NaCMC-P, obtendo valores de $6,80 \pm 0,02$ a $6,50 \pm 0,14$, indicando que o pH da superfície dos filmes é biocompatível com o pH ruminal e impedindo a degradação ácida do ativo piriproxifen.

O valor do teor obtido para PVA-NaCMC-P foi de $104,81 \pm 0,01$, estando de acordo com a faixa aceitável de 90,0 a 110,0% de princípio ativo na formulação preconizado pelos compêndios oficiais (90-110%) (MAPA, 2011).

4.1.3 Grau de Inchamento

O ensaio do grau de inchamento avalia a capacidade de absorção do filme, parâmetro importante para elucidar propriedades de dissolução e liberação do ativo por difusão. O grau de inchaço inicial foi de 147,93% em 1 minuto e aumentou ao longo do tempo, permanecendo estável aos 60 minutos, com 331,40%, conforme mostra a Figura 15.

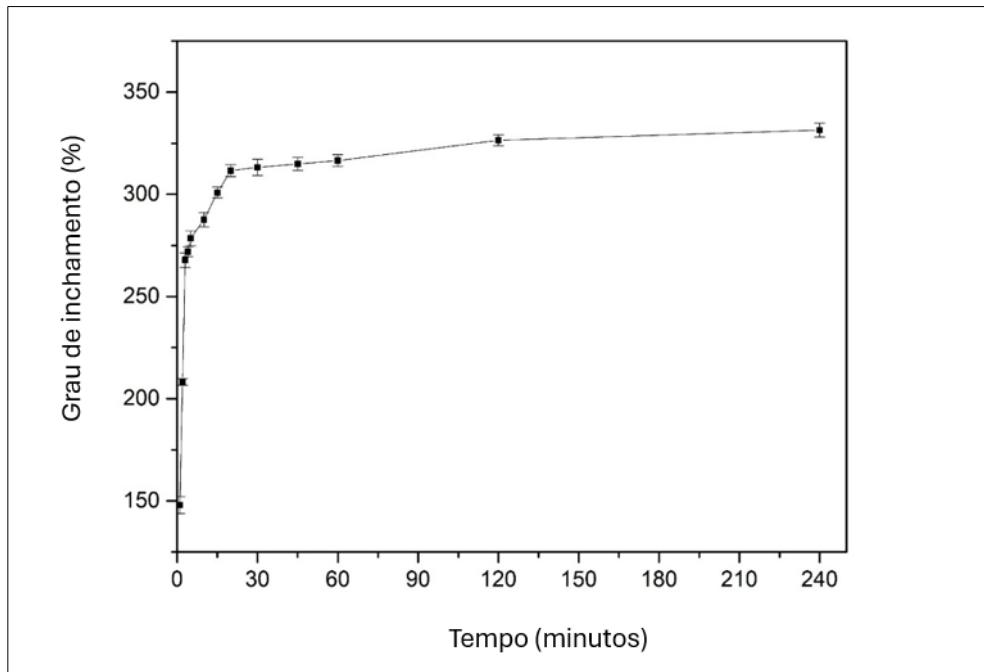


Figura 15. Perfil do grau de inchamento do filme de PVA-NaCMC-P em meio ruminal artificial.

A Figura 16 demonstra visualmente a capacidade absorptiva do protótipo do filme após o ensaio de grau de inchamento, inicialmente com 1 cm^2 e ao final do ensaio com área total de 4 cm^2 ($2 \times 2\text{ cm}$).

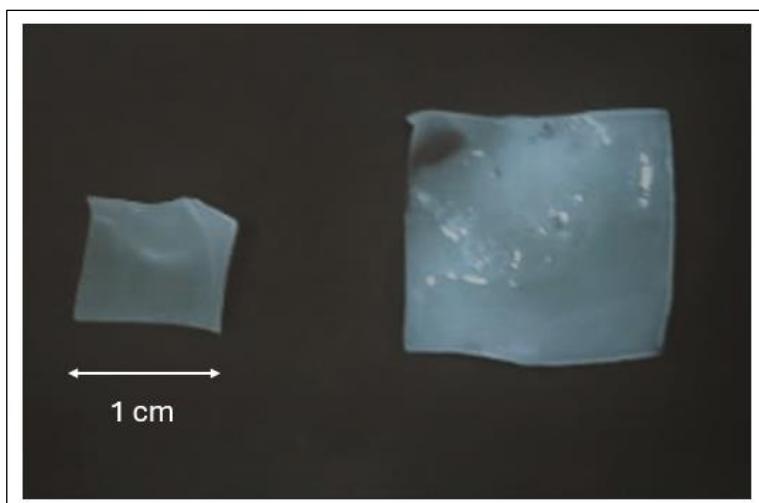


Figura 16. Protótipo do filme após ensaio do grau de inchamento.

Os filmes consistem em uma rede polimérica reticulada, com espaços entre as cadeias poliméricas. As malhas permitem a difusão de líquidos e pequenos solutos, e uma das estratégias para liberação de ativos aprisionados em filmes poliméricos é o inchaço controlado (LI; MOONEY, 2016). De acordo com os resultados, o filme PVA-NaCMC-P possui rápida capacidade de absorção, estabilizando em 1 hora. Para avaliar esse perfil e sua influência na liberação do ativo foi realizado um estudo de liberação *in vitro*.

Uma propriedade útil do hidrogel é sua capacidade de absorver água sem dissolução da rede polimérica (GANJI *et al.*, 2010). Os hidrogéis podem absorver água até 10–1000

vezes o seu peso seco (DEMITRI *et al.*, 2013) e o mecanismo de absorção de água na rede de hidrogel envolve duas etapas: primeiro, a absorção de água ocorre devido ao umedecimento dos grupos hidrofílicos da superfície e em seguida, devido à entrada desta água, a estrutura da rede de hidrogel começa a inchar, expondo os grupos hidrofóbicos dentro da rede. (GOSH, 2011). Assim, nesta fase o hidrogel atinge um nível de inchaço de equilíbrio.

Entre os hidrogéis disponíveis na literatura, os que possuem em sua composição NaCMC demonstraram maior capacidade de absorção de água, e que o aumento da concentração de NaCMC está diretamente ligada a capacidade de inchamento do hidrogel (Guo *et al.*, 2022). Por exemplo, Shin *et al.* (2019) avaliaram a taxa de inchaço do hidrogel PVA/NaCMC e constatou que o aumento do grau de inchamento foi de 114 para 162% com o aumento da concentração de NaCMC no método obtenção do hidrogel.

Em geral, a capacidade de absorção de água do hidrogel é influenciada por vários parâmetros, tais como a concentração de polímero e reticulante, pH e força iônica do solvente. Esses fatores afetam direta ou indiretamente a densidade da rede polimérica, que por sua vez afeta a capacidade de hidratação do hidrogel.

4.1.4 Estudo de Solubilidade: *Shake Flask*

Para o desenvolvimento de um método de dissolução discriminativo para fármacos pouco solúveis, a escolha do meio de dissolução é importante para o gerar resultados confiáveis. A escolha inadequada do meio pode ser incapaz de fornecer a resposta correta da formulação em relação ao tempo, discriminando de forma excessiva as variações normais do desempenho e qualidade do produto (ZONGYUN, 2018).

O piriproxifen sofre hidrólise em meio ácido, sendo mais estável em tampões com pH variando de 4,0 a 9,0 (TASSONE, 2020), como o meio ruminal bovino tem pH neutro (6,0 a 8,0), testar a solubilidade do piriproxifen sob essas condições mimetiza a solubilidade e a dissolução do agente ativo sob condições biológicas (APLEY, 2013).

A solubilidade do piriproxifen ($\mu\text{g/mL}$) nos diferentes meios de dissolução, com variação de pH (6,0 a 7,0), na ausência e presença de surfactante em diversas concentrações, está descrita na Tabela 4.

Tabela 3. Solubilidade ($\mu\text{g/mL}$) do piriproxifen obtido pelo ensaio de *shake flask*.

Meio	% SDS	Solubilidade ($\mu\text{g/mL}$)*
	-	$4,95 \pm 0,1^{\text{a}}$
Água	1	$414,31 \pm 0,8^{\text{c}}$
	5	$2088,53 \pm 1,5^{\text{d}}$
	-	$0,39 \pm 0,2^{\text{b}}$
Tampão Fosfato (TF)	1	$398,86 \pm 0,9^{\text{c}}$
	5	$2412,43 \pm 0,8^{\text{d}}$
	-	$0,63 \pm 0,2^{\text{b}}$
Ruminal Artificial (MAR)	1	$499,12 \pm 0,9^{\text{c}}$
	5	$2349,02 \pm 1,3^{\text{d}}$

*média \pm dp; Letras iguais não se diferem significativamente entre si $p > 0,05$ e letras diferentes se diferem significativamente $p < 0,05$

O meio de dissolução tampão fosfato e o meio ruminal artificial não apresentaram diferenças significativas nas três condições (0, 1,0% e 5,0%) de SDS. O meio de dissolução

composto por água apresentou diferença significativa na ausência e na presença do SDS a 5,0% para os outros meios.

O aumento da solubilidade esteve diretamente relacionado ao aumento da concentração de SDS no meio básico, sendo que a concentração de 5,0% apresentou a maior solubilidade nos três meios. A utilização de surfactantes em meios de dissolução é uma das principais estratégias para aumentar a solubilidade de fármacos insolúveis como o piriproxifen, além disso, o meio ruminal possui ácidos graxos que atuam como surfactantes (AGARWAL, 2013).

A utilização de surfactantes auxilia na redução da tensão superficial do meio e aumenta a molhabilidade das formas farmacêuticas sólidas (GIBALDI; FELDMAN, 1970). O SDS é um surfactante aniónico amplamente utilizado para testes de dissolução *in vitro* devido sua conformidade com o meio bio-relevante, boa capacidade de solubilizar fármacos poucos solúveis, baixo custo econômico e a facilidade de uso na forma de pó (TAUPITZ; KLEIN, 2010).

Com base nos resultados obtidos, o valor da condição *sink* calculado foi de aproximadamente nove vezes o volume total do meio de dissolução suficiente para evitar a saturação do fármaco e promover a liberação *in vitro* no meio ruminal artificial.

4.1.5 Estudo de liberação *in vitro*

Foram comparadas as condições e influência química de cada meio e a concentração de tensoativo, para determinação de um método que fosse mais discriminativo para o perfil de liberação do piriproxifen. A maior solubilidade foi encontrada na condição tampão fosfato e meio ruminal artificial, ambos com 5,0% de SDS. Para predizer qual seria o melhor meio de dissolução para o desenvolvimento de formulações orais em bovinos, foi preciso um estudo da fisiologia do rumen do animal. E, para este perfil, existe na literatura um guia de formulações orais descrito por Apley *et al.* (2013), o qual determina o meio, o pH e a rotação do ensaio para animais de grande porte. Portanto, com os resultados da solubilidade do ensaio *shake flask* e respaldado por este guia, optou-se por realizar a liberação *in vitro* no meio tampão fosfato, meio ruminal artificial e meio ruminal a 5,0% SDS. Embora o meio ruminal não tenha sido testado na análise de solubilidade do *shake flask*, foi assumido que 70,0% (v/v) deste meio é composto pelo meio ruminal artificial, enquanto 30,0% (v/v) é o líquido ruminal coletado via sonda, portanto, as interferências seriam inexpressivas, além de possuírem valores de pH próximos: TF (6,5), MAr (6,9) e MR (6,8).

O perfil de liberação *in vitro* de filmes de PVA-NaCMC-P no meio de dissolução tampão fosfato (TF), meio ruminal artificial (MAr) e meio ruminal (MR) é mostrado na Figura 17.

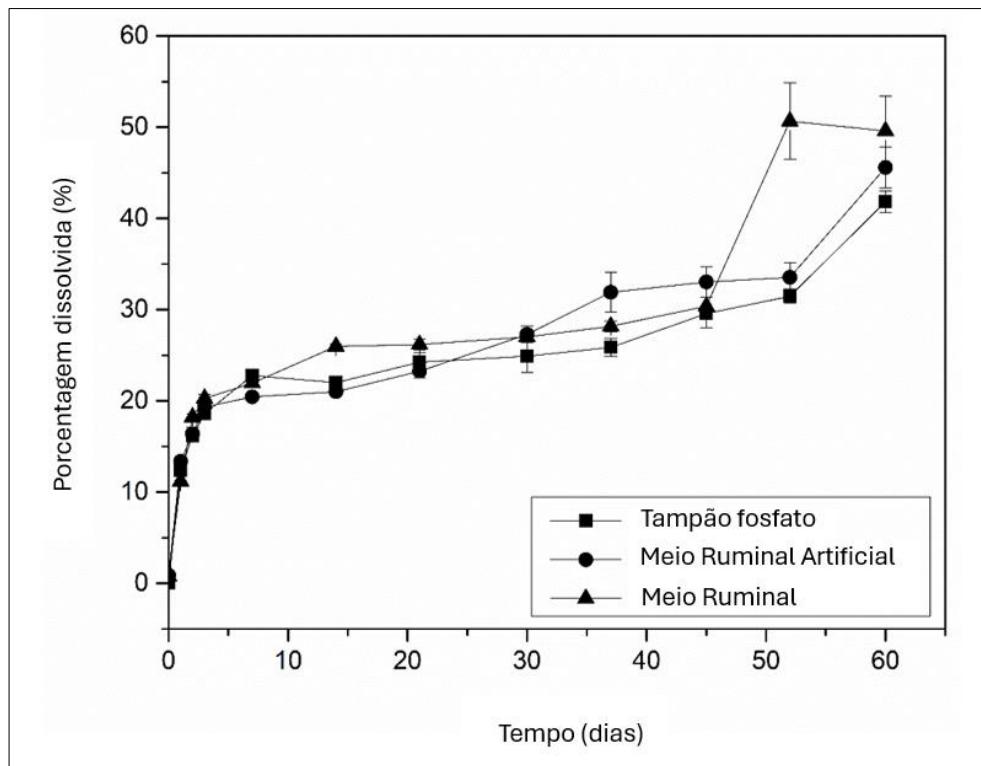


Figura 17. Perfil de liberação do ativo piriproxifen dos filmes de PVA-NaCMC-P em 100mL de meio de dissolução (Tampão fosfato, Meio ruminal artificial e Meio Ruminal) com SDS 5,0%.

O perfil de dissolução do filme PVA-NaCMC-P nos meios TF, MAr e MR iniciou com a coleta do tempo de 1 hora, com frações dissolvidas com valores de 4,09%, 3,58% e 6,11% respectivamente e apresentou frações dissolvidas em 24 horas correspondendo a 12,39% 13,37% e 11,18% e no dia 60 de 40,24% 46,43% e 49,39%, respectivamente. Pelo perfil de liberação apresentado foi observado uma liberação imediata e com velocidade crescente, nos tempos iniciais (5 a 10 dias), denominado “*burst effect*”, e posteriormente, a liberação demonstrou um perfil lento e constante até os 60 dias. Portanto, pelo estudo estatístico foi indicado que o meio utilizado não interferiu significativamente no perfil de liberação da formulação PVA-NaCMC-P. Alguns produtos de liberação intraruminal de administração via oral possuem liberação controlada de aproximadamente 130 dias, como o Ivomec SR® e 90 dias como o Paratect Flex®. A dissolução lenta pode ser esperada para medicamentos com baixa solubilidade na matriz, como no caso do piriproxifen.

Diversas formulações são desenvolvidas carregando um fármaco numa fase dissolvida ou dispersa dentro da matriz polimérica e quando este é colocado em contato com o meio, sendo um líquido termodinamicamente compatível, o polímero começa a liberar seu conteúdo para o meio circundante e o ativo inicia sua difusão através da matriz polimérica. E esta liberação pode ser controlada pela difusão do fármaco, pela penetração do meio e pela relaxação das cadeias poliméricas (NARASIMHAN; LANGER, 1997).

A liberação significativa inicial do ativo após a colocação do meio de liberação é conhecida como efeito de explosão ou “*burst effect*” e este fenômeno já foi observado em sistemas de liberação controlada, e foi estudado mecanismos para evitar este efeito e/ou utilizar como estratégia de administração de medicamentos, fornecendo uma taxa de liberação alta no início com posterior liberação lenta e controlada de frações do ativo (HUANG, 2001).

Devido aos resultados do perfil de liberação do ativo juntamente com o estudo cinético, pode-se afirmar que a formulação possui características próprias de um sistema de liberação controlada.

4.1.6 Estudo de cinética de liberação e análise do fluxo de liberação *in vitro*

A porção mais linear da curva de liberação *in vitro* de cada perfil, foi o intervalo entre 10 e 40 dias, escolhido para determinar a cinética de liberação da formulação, e os três modelos cinéticos foram aplicados. O modelo que apresentou maior valor de correlação linear foi escolhido como modelo cinético. Os valores de coeficiente de correlação linear (*r*) das formulações analisadas são apresentados na Tabela 5.

Tabela 4. Determinação da cinética de liberação do filme PVA-NaCMC-P em diferentes meios de dissolução.

Meio de Dissolução	Coeficiente de correlação linear (<i>r</i>)	Modelo Cinético
Tampão fosfato	0,9831	Pseudo- Primeira Ordem
Meio Ruminal Artificial	0,9089	
Meio Ruminal	0,8571	
Tampão fosfato	0,9511	Ordem Zero
Meio Ruminal Artificial	0,8497	
Meio Ruminal	0,7842	
Tampão fosfato	0,9171	Primeira Ordem
Meio Ruminal Artificial	0,8286	
Meio Ruminal	0,7109	

Estudos de liberação *in vitro* mostraram uma cinética de pseudo-primeira ordem (Higuchi), caracterizando um sistema de liberação controlada por difusão. O meio de dissolução não influenciou o perfil cinético. Hidrogéis PVA-NaCMC já foram descritos para transporte de fármacos com liberação sustentada e controlada, com diversas aplicações médicas. Entre suas aplicações está a liberação controlada de medicamentos de curativos transdérmicos (AGARWAL, 2013), liberação de medicamentos solúveis em água (YE, 2023) e liberação de peptídeos administrados por via oral no fluido intestinal (SCHOELER, 2020).

O Paratect Flex® é um dispositivo matricial trilaminado com matriz polimérica dispersa com o ativo morantel e o perfil de liberação segue a equação de pseudo primeira ordem, e, portanto, são liberadas pequenas frações dissolvidas do ativo durante o intervalo de tempo. Consequentemente, a taxa de liberação diminui com o tempo (CARDINAL, 1984). Esta mesma característica acerca da liberação foi observada no perfil de liberação do protótipo do filme, apresentando uma liberação imediata (menor que 7%) e a diminuição da taxa ao longo dos 60 dias, obtendo valores de correlação (*r*) satisfatórios e equivalentes a cinética de pseudo primeira ordem.

Os filmes foram analisados após a liberação para elucidar a influência da dissolução e do meio nas características mecânicas, térmicas e morfológicas. Eles foram denominados filme MAr (amostra carregada com piriproxifen após imersão em meio artificial) e filme MR (amostra carregada com piriproxifen após imersão em meio ruminal bovino).

4.1.7 Difração de Raio X: DRX

As curvas de DRX das amostras placebo, filme, filme pós liberação em meio artificial e filme pós liberação em meio ruminal, são exibidas na Figura 18.

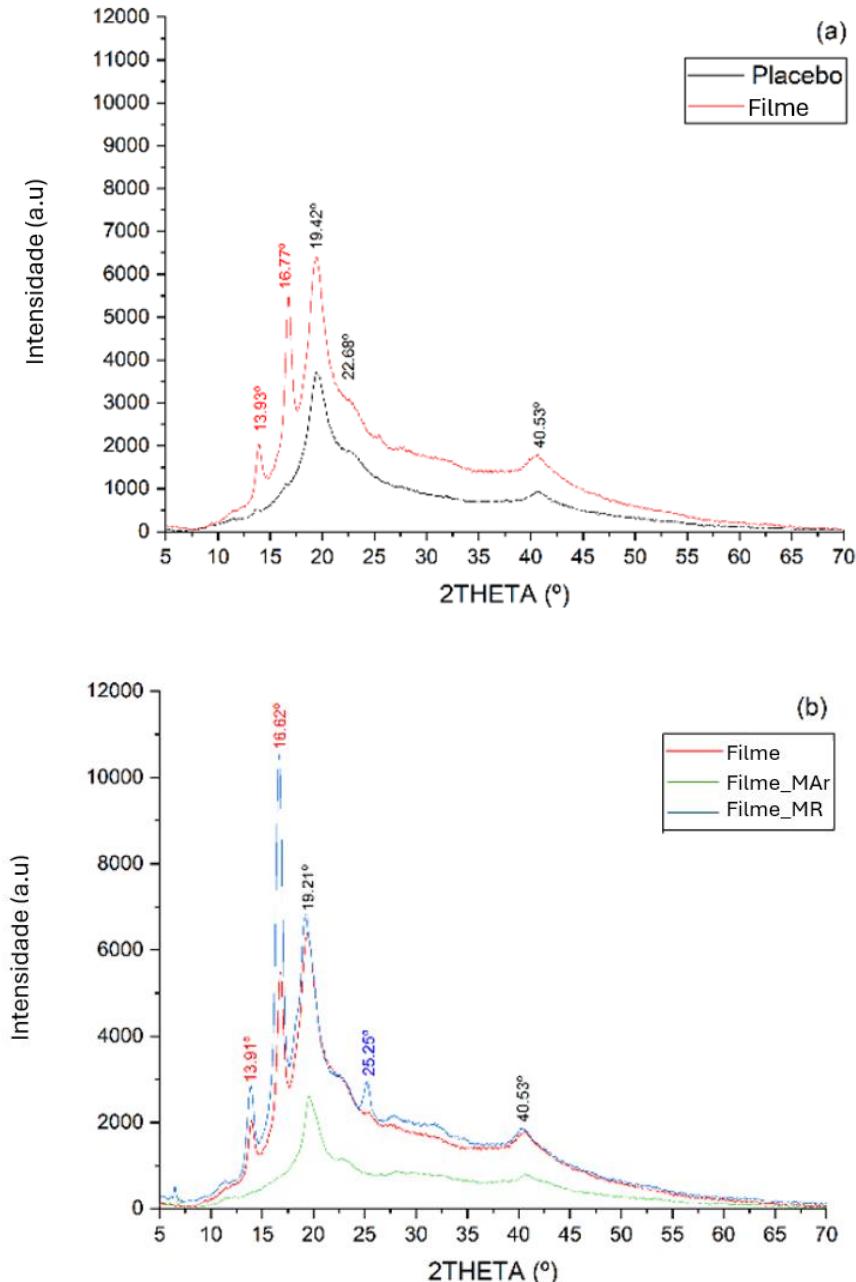


Figura 18. Difratogramas: (a) placebo e filmes; (b) filme, filme pós liberação em meio artificial (MAR) e filme pós liberação em meio ruminal (MR).

O aumento da cristalinidade da amostra do filme ocorre devido à presença do piriproxifen, atribuído ao elevado número de picos cristalinos na amostra. A presença de piriproxifen foi observada pelos picos de difração em $2\theta=13,93^\circ$ e $16,77^\circ$ e o pico de PVA aumentou de intensidade em $2\theta=19,42^\circ$.

O PVA-NaCMC-P pós liberação em meio ruminal artificial apresentou difratograma semelhante ao da amostra placebo, indicando liberação de piriproxifen, embora a amostra

filme PVA-NaCMC-P pós-liberação em meio ruminal tenha apresentado intensidade aumentada de picos de piriproxifen em $2\theta=13,91^\circ$ e $2\theta=16,62^\circ$, além de um pico extra em $2\theta=25,25^\circ$.

A composição do líquido ruminal são íons e gases inorgânicos, como o sódio, cloreto, potássio carbono, dióxido, metano, cálcio e oxigênio e os metabólitos orgânicos mais abundantes encontrados no rúmen são o acetato, propionato, butirato, ácido tricarbálico, valerato, glicose, isobutirato, isovalerato, glutamato, metilamina, fumarato, fenilacetato e hipoxantina. Os metabólitos menos abundantes incluem as fosfatidilcolinas e esfingomielinas (SALEEM, 2013). Os ácidos compõem em sua maioria no líquido ruminal, portanto, pode ter ocorrido uma reação química entre o grupo químico éter do piriproxifen com os ácidos presentes no meio ruminal, o que influenciou no aumento da cristalinidade do filme e no aparecimento do pico extra em $2\theta=25,25^\circ$. No entanto, esta reação não impediu a liberação *in vitro* deste ativo como demonstrado nos resultados de perfil de liberação.

O método adaptado de Machado *et al.* (2000) foi usado para o cálculo do grau de cristalinidade de cada amostra por DRX foram considerados cristalinos os picos do PVA-NaCMC em $2\theta=19,42^\circ$, $2\theta=22,68^\circ$ e $2\theta=40,53^\circ$, juntamente com os picos do piriproxifen em $2\theta=13,93^\circ$ e $16,77^\circ$, conforme demonstrado nas Figura 19 e 20.

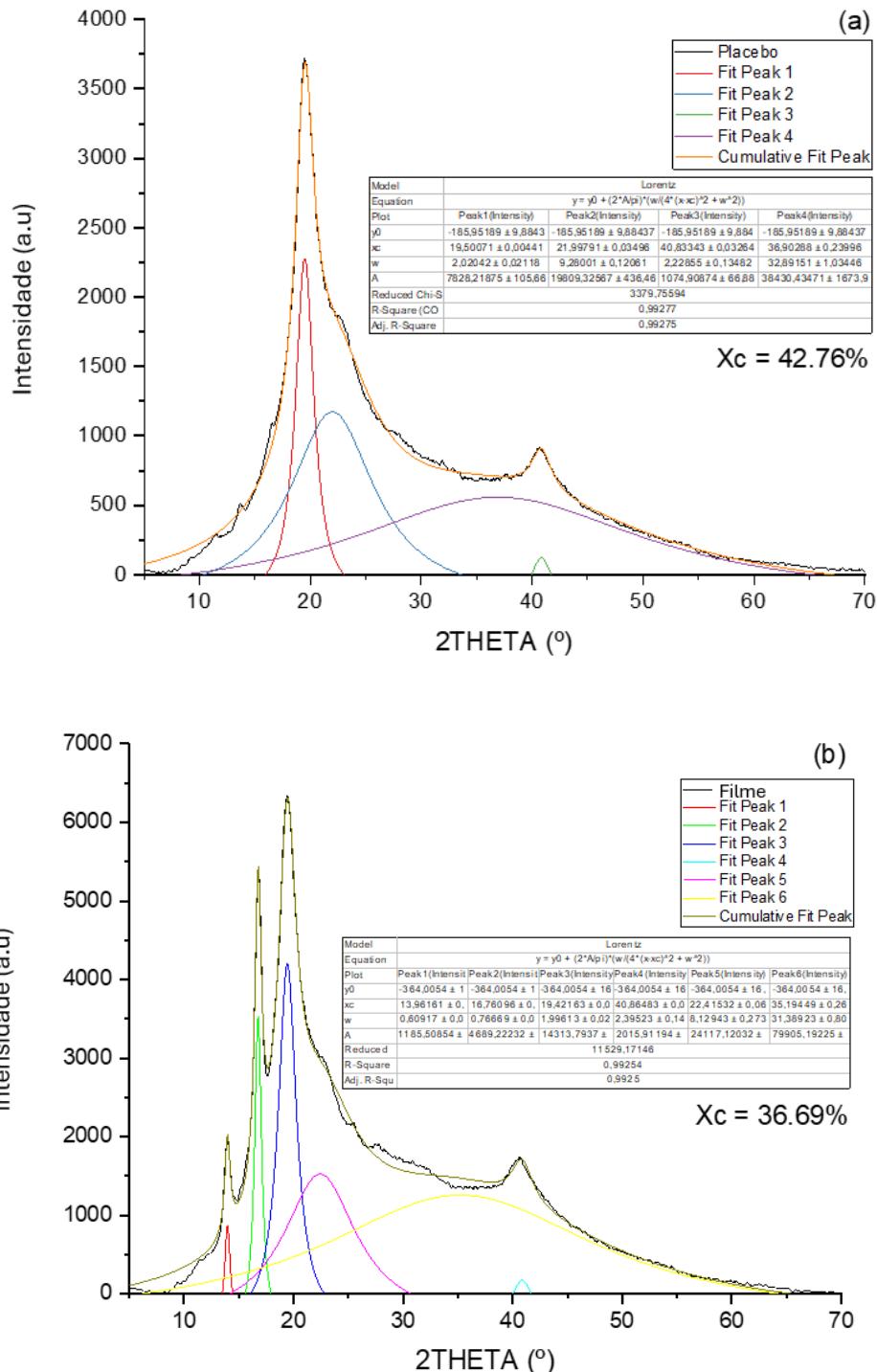


Figura 19. Representação dos dados de deconvolução, bem como as curvas das amostras placebo (a) e filme (b).

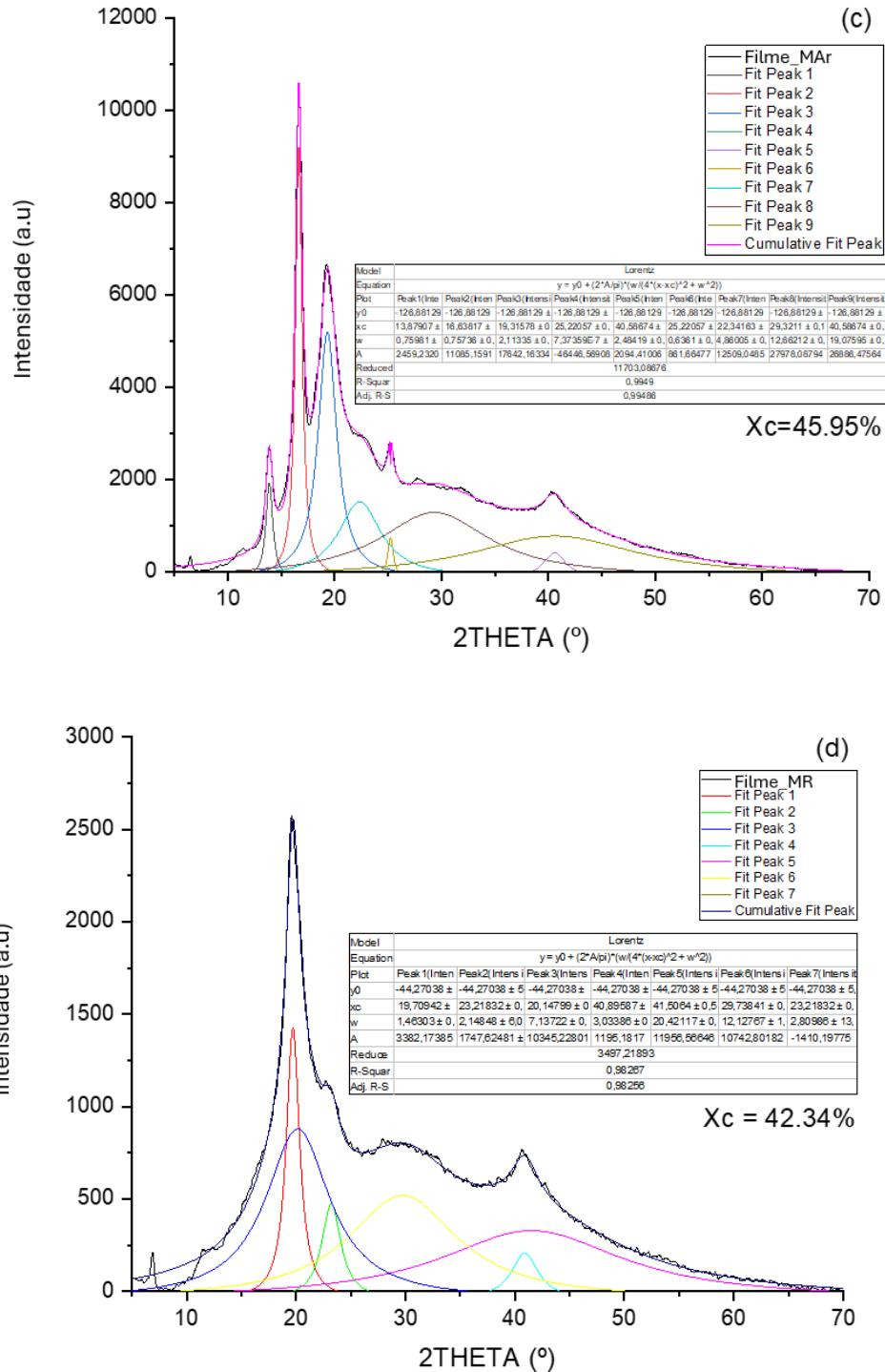


Figura 20. Representação dos dados de deconvolução, bem como as curvas das amostras filme pós liberação meio artificial (c) e filme pós liberação meio ruminal (d).

A amostra placebo é composta por PVA e NaCMC. O PVA apresentou um pico em $2\theta=19,42^\circ$, plano de difração (101), um ombro centrado em torno de $2\theta=22,68^\circ$, plano de difração (200), bem como um pico amplo em $2\theta=40,53^\circ$, uma provável contribuição da difração do PVA plano (110) ou plano de difração PVA (111) (SUNARDI *et al.*, 2017)

A carboximetilcelulose também pode ter contribuído para os picos em $2\theta=19,42^\circ$ e $2\theta=22,68^\circ$, já que a celulose tipo I apresenta picos cristalinos em $2\theta=17^\circ$, 21° e 23° enquanto a celulose tipo II apresenta picos de difração em $2\theta=20^\circ$ e 23° (CARDOSO, 2017) O próprio

Na-CMC apresenta picos amplos na região entre $2\theta=10^\circ$ e $2\theta=20^\circ$, relacionados aos planos de difração (002) e (101) (GURARSLAN, 2015).

A amostra do filme tem composição semelhante à amostra placebo, mas foi adicionado piriproxifen, gerando consideravelmente mais picos de difração, característicos de alguns medicamentos (OLIVEIRA, 2015). O piriproxifen apresentou picos de difração com alta intensidade na faixa de $2\theta=17^\circ$ - 25° (GURARSLAN, 2015). Apesar da cristalinidade do piriproxifen, a sua adição diminuiu o grau de cristalinidade das amostras.

Após imersão em meio artificial, o difratograma da amostra do filme foi semelhante ao placebo: os picos do piriproxifen estavam ausentes, indicando liberação do fármaco. Porém, após imersão em meio ruminal bovino, as amostras apresentaram picos de piriproxifen mais intensos e um pico extra a $2\theta=25,25^\circ$, a possível interação dos componentes orgânicos do rúmen, podem ter gerado este resultado.

Além disso, a cristalinidade da amostra foi maior após a imersão no meio artificial, provavelmente devido à liberação de piriproxifen, deixando as cadeias poliméricas com mais liberdade para se moverem e se acumularem em cristalitos (OLIVEIRA, 2013).

O grau de cristalinidade (X_c) do placebo foi semelhante ao grau de cristalinidade dos filmes pós liberação em ambos os meios (MAR e MR), indicando a liberação do ativo e a reorganização das cadeias poliméricas.

4.1.8 Espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Analizando separadamente os componentes do filme, é possível observar na Figura 21 as correlações entre as bandas principais observadas na faixa de 4000 - 500cm^{-1} . O espectro do componente PVA possui bandas características e suas atribuições referentes aos grupos químicos estão descritos na Tabela 6 (NERES SANTOS, 2019).

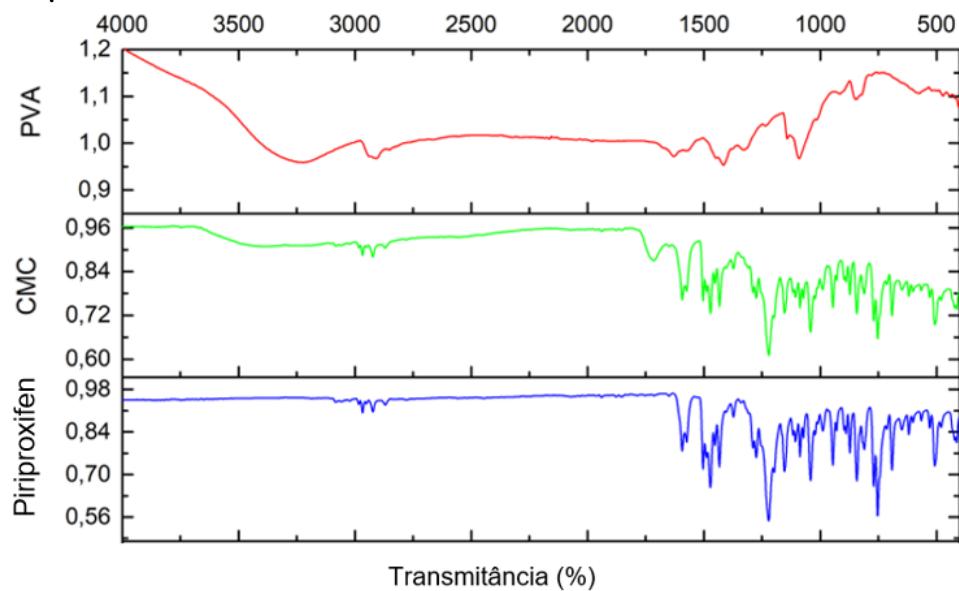


Figura 21. Espectro de infravermelho do PVA, NaCMC e Piriproxifen.

Tabela 5. Valores descritivos do comprimento de onda e suas respectivas atribuições do poli(álcool vinílico) (PVA).

Atribuição	Bande de absorção (cm ⁻¹)
Grupos hidroxilas (-OH)	3272
CH (CH ₂ e CH ₃ - estiramento)	2940
CH ₃ – OH (deformação)	1328
C–C e C–O–C (estiramento)	1143
CH ₂ (vibração)	834

O PVA é um polímero semicristalino composto por monômeros de (C₂H₄O)_x, com cadeia de hidrocarbonetos e um grupo hidroxila como grupo funcional, e o elevado número de hidroxilas (grupos hidrofílicos) permite a formação de ligações de hidrogênio que são fortes (RODRIGUES, 2012). Este grupo -OH são evidenciadas na banda de absorção em 3272cm⁻¹, visualmente presente somente no espectro do polímero PVA.

O espectro do componente NaCMC possui bandas características e suas atribuições referentes aos grupos químicos estão descritos na Tabela 7 (DILAVER, 2016). A NaCMC é um polímero natural derivado da celulose com sal sódico presente na estrutura, e possui o grupo carboximetil –CH₂-COOH como grupo funcional, sendo representado pelas bandas 1604–1620cm⁻¹.

Tabela 6. Valores descritivos do comprimento de onda e suas respectivas atribuições da carboximetilcelulose de sódio (NaCMC).

Atribuição	Bande de absorção (cm ⁻¹)
CH ₂ (vibração)	1416 e 1324
Grupo (-OH)	1324
C=O (deformação)	1590
Grupo COO (vibração)	1604–1620
C–O (alongamento)	746

O espectro do componente piriproxifen possui bandas características e suas atribuições referentes aos grupos químicos estão descritos na Tabela 8. O grupo químico piridina presente no anel da estrutura do piriproxifen pode ser elucidada no comprimento de onda de 3204 cm⁻¹ e confirmada pelas bandas de estiramento em 1471 cm⁻¹ e pela ligação C=N do anel na banda de absorção 1220.80 cm⁻¹. O anel aromático está representado na faixa de 2889-2968 cm⁻¹ e as cadeias alifáticas e ligações CH da estrutura da piridina em 754 cm⁻¹

Tabela 7. Valores descritivos do comprimento de onda e suas respectivas atribuições do ativo piriproxifen.

Atribuição	Banda de absorção (cm ⁻¹)
N-H (estiramento)	3204
Anel aromático (C-H)	2968.10 – 2889.03
C-O e N-H (deformação)	1593.02 – 1471.52
C=C, C=N (anel)	1220.80
Cadeias alifáticas (CH)	754

As Figuras 22, 23, 24 e 25 representam os espectros de absorção do PVA, CMC e filme placebo (a), do filme contendo piriproxifen (b), e filme pós liberação em meio artificial (c) e filme pós liberação em meio ruminal (d) em comparação com o placebo e filme sem liberação, para elucidar melhor as características das bandas.

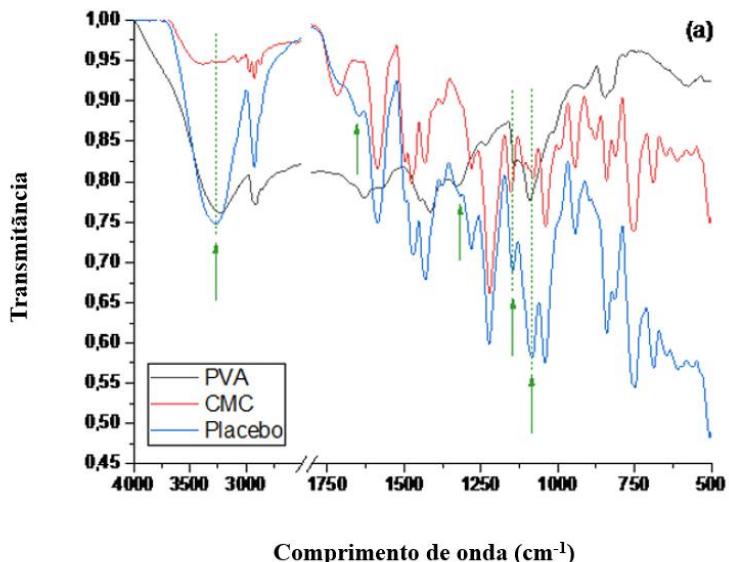


Figura 22. Difratogramas da análise de FTIR: PVA, NaCMC e Placebo.

Comparada ao PVA e CMC, a amostra placebo (PVA-NaCMC) apresentou bandas semelhantes aos polímeros originais. Ainda assim, algumas bandas foram deslocadas (indicadas por setas na Figura 16), por exemplo, em 1647 e 1317 cm⁻¹. Dentre eles, alguns estavam localizados entre as bandas PVA e CMC (indicadas por setas e linhas na Figura 16 (a), ou seja, 3268, 1145, 1083 cm⁻¹), provavelmente indicando miscibilidade entre polímeros (REDDY, 2016) e interação física entre PVA e CMC (BUSTAMANTE-TORRES, 2021). Além disso, foi detectada uma banda relacionada à celulose cristalina I, em 896 cm⁻¹ (YANG, 2017).

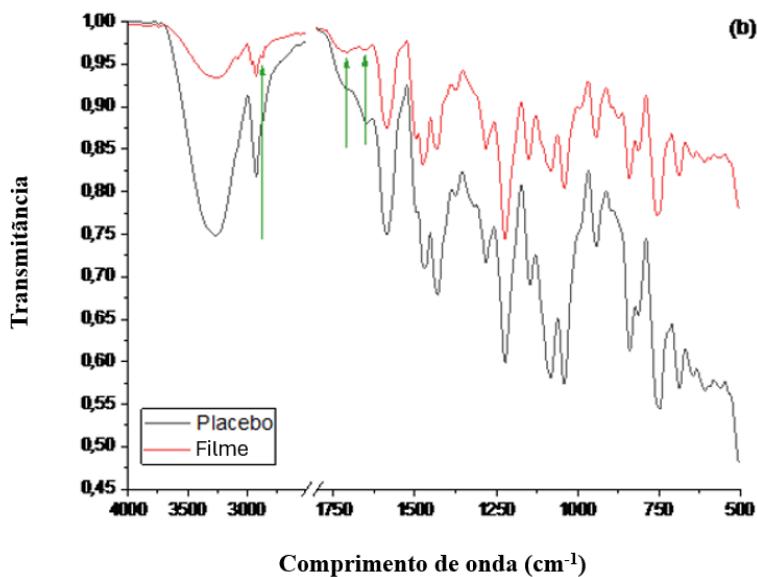


Figura 23. Difratogramas da análise de FTIR: filme placebo e filme contendo piriproxifen.

As amostras carregadas com piriproxifen (denominadas “filmes”) apresentaram não apenas algumas bandas deslocadas, mas bandas de baixa intensidade provavelmente relacionadas ao piriproxifen, por exemplo, em 2958 cm^{-1} , devido ao C-H (alongamento/vibração/deformação) do anel aromático, a banda 1708 cm^{-1} , atribuído a C=O; o pico em 1658 cm^{-1} , relacionado a (C=O) acoplado com $\nu(\text{CN})$, (CCN)_deformação (ALVES, 2021) (indicado por setas na Figura 17).

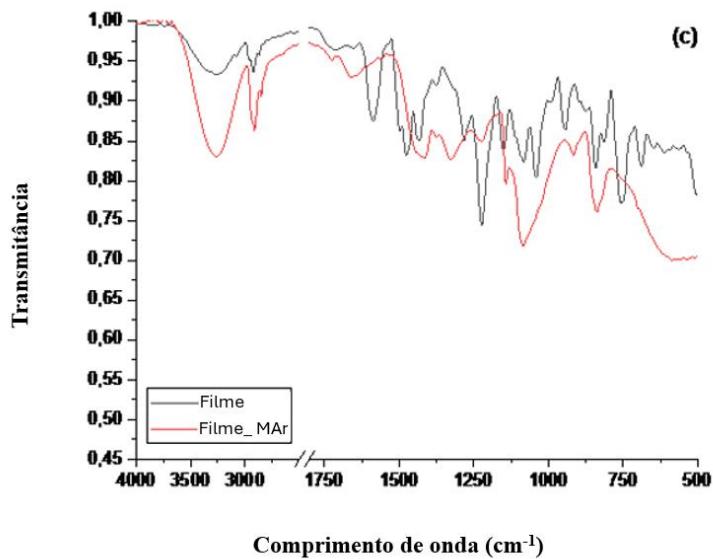


Figura 24. Difratogramas da análise de FTIR: filme e filme pós liberação em meio artificial.

O filme avaliado após imersão em meio artificial não apresentou novas bandas. Embora tenha sido observado um leve deslocamento de banda, a ausência de muitas bandas de NaCMC pode estar relacionada à alta hidrofilicidade do NaCMC no meio aquoso (ALROMEED *et al.*, 2015). O meio de liberação predominantemente aquoso pode hidrolisar

cadeias amorfas de NaCMC, resultando em bandas ausentes (REDDY, 2016). O efeito identificado está de acordo com os resultados da análise de XRD e DSC, onde a dissolução de NaCMC no meio levou a mais liberdade de movimento das cadeias de PVA, resultando em cristalização.

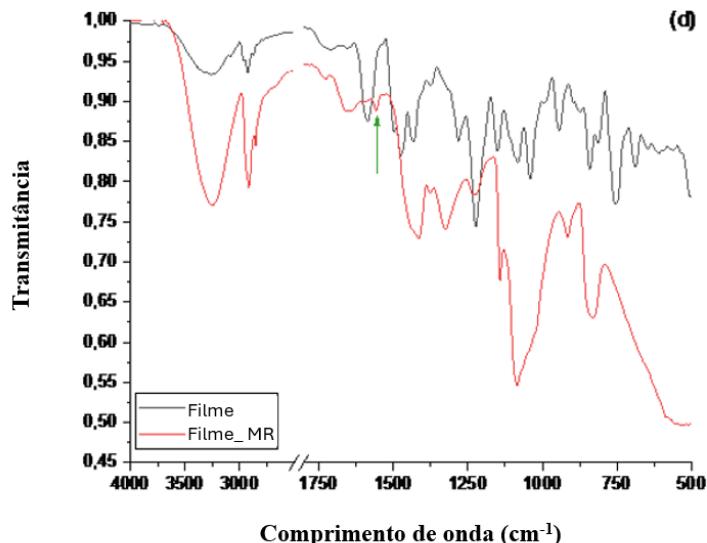


Figura 25. Difratogramas da análise de FTIR: filme e filme pós liberação em meio ruminal.

O filme avaliado após imersão em meio ruminal também não apresentou novas bandas, embora tenha obtido o mesmo comportamento em meio artificial, como o deslocamento sutis e ausência de bandas, que pode estar relacionada a hidrofilicidade do NaCMC no meio. O mesmo efeito foi encontrado em amostra de filme imersa em meio ruminal, mas foi identificada uma banda em 1558 cm⁻¹ (indicada por uma seta na Figura 19). Pode ter sido relacionado às vibrações de amida II de proteínas e aminoácidos ($\nu(C=O)$ e $\nu(C-N)$ da estrutura peptídica), apresentadas no meio ruminal (LIU, 2016).

4.1.9 Calorimetria Exploratória Diferencial: DSC

O perfil térmico das amostras foi estudado através da análise de DSC. As curvas de DSC podem ser observadas na Figura 26. A partir das curvas de DSC foi possível encontrar os valores de temperatura de transição vítreo (T_g), temperatura de fusão cristalina (T_m) e grau de cristalinidade (X_c), descritos na Tabela 9.

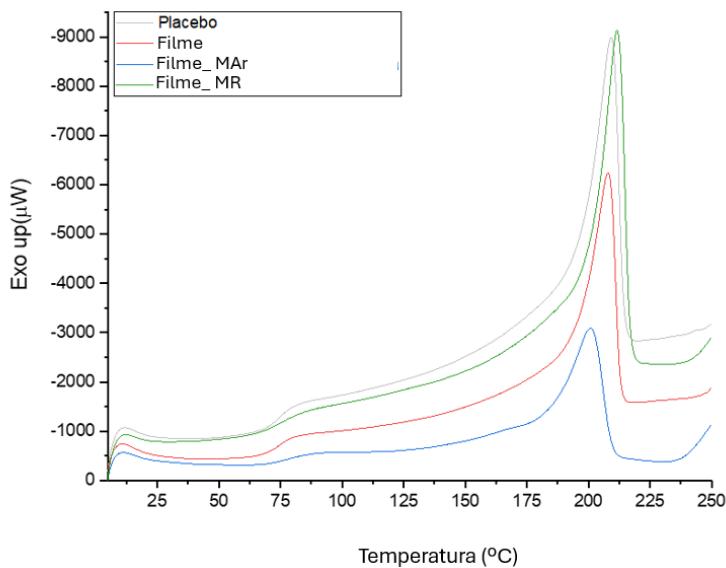


Figura 26. Curva de Calorimetria diferencial de varredura de cada amostra.

Tabela 8. Valores obtidos a partir da curva de DSC.

Amostra	Tg (°C)	Tm (°C)	Xc (%)
Placebo	75	209	23
Filme	74	208	21
Filme pós liberação_MAr	78	201	19
Filme pós liberação_MR	75	212	24

As amostras placebo, filme e filme_MR (PVA-NaCMC-P pós-liberação em meio ruminal) apresentaram valores de Tg aproximadamente semelhantes, ou seja a mesma temperatura para que as cadeias poliméricas amorfas apresentam mobilidade (OLIVEIRA, 2015).

A amostra do filme pós liberação em meio artificial apresentou valor de Tg maior que as demais amostras, e este aumento pode estar relacionado com a liberação e entrega do piriproxifen, uma vez que com a ausência do ativo, as cadeias amorfas podem ter se reorganizado mais (cristalização secundária) que em os outros meios de liberação.

Os valores de Tm e Xc diminuíram com tendência semelhante, o filme placebo com 209°C e 23,0%, o filme contendo piriproxifen com valores de 208°C e 21,0% e o filme pós liberação em meio artificial com 201°C e 19,0%.

A temperatura de fusão (Tm) está relacionada com a fusão dos cristalitos dos hidrogéis, que diminui à medida que as imperfeições dos cristalitos aumentam, ou seja, a Tm teve seu valor diminuído devido o desaparecimento das regiões cristalinas do polímero, e consequentemente diminuiu os valores de Xc (%) (IIJIMA, 2016).

Comparando o filme placebo com o filme contendo o ativo piriproxifen o decaimento de Tg, Tm e Xc (%) estão provavelmente relacionados a adição do ativo, que mostrou interferência na formação de cristalitos e regiões cristalinas. O grau de cristalinidade está relacionado à organização das cadeias poliméricas no hidrogel (FAKIROV, 1999). De certa forma, quanto mais carregado o filme, maior é a dificuldade de reorganização estrutural das cadeias poliméricas.

Ao analisar comparativamente o filme contendo piriproxifen com o filme pós liberação em meio artificial, observou-se pelos valores de T_m (201°C) e X_c (19,0%), que houve um decaimento dos valores, seguindo a mesma tendência descrita acima, onde possivelmente o ativo e os compostos presentes no meio de liberação artificial interferiram na reorganização da cadeia dos polímeros de acordo com os resultados.

Após a imersão e liberação do filme em meio ruminal, houve o aumento tanto de X_c (24,0%) quanto de T_m (212°C), indicando que as interações hidrogel x meio promovem a organização da cadeia para formação de cristalitos, ou seja, regiões cristalinas com interações inter e intramoleculares mais fortes. Portanto, em resumo, todas as amostras apresentaram cristalização do polímero PVA, indicado pelo pico na curva de DSC.

4.1.10 Microscopia eletrônica de varredura: MEV

A morfologia dos filmes, obtida por MEV é mostrada na Figura 27. Todas as amostras se mostraram porosas, fato que corrobora com os resultados do ensaio de grau de inchamento, onde as amostras absorveram fluído. A porosidade da amostra do filme contendo piriproxifen foi maior que a do placebo. Portanto, a adição de piriproxifen alterou a distribuição de porosidade na superfície das amostras.

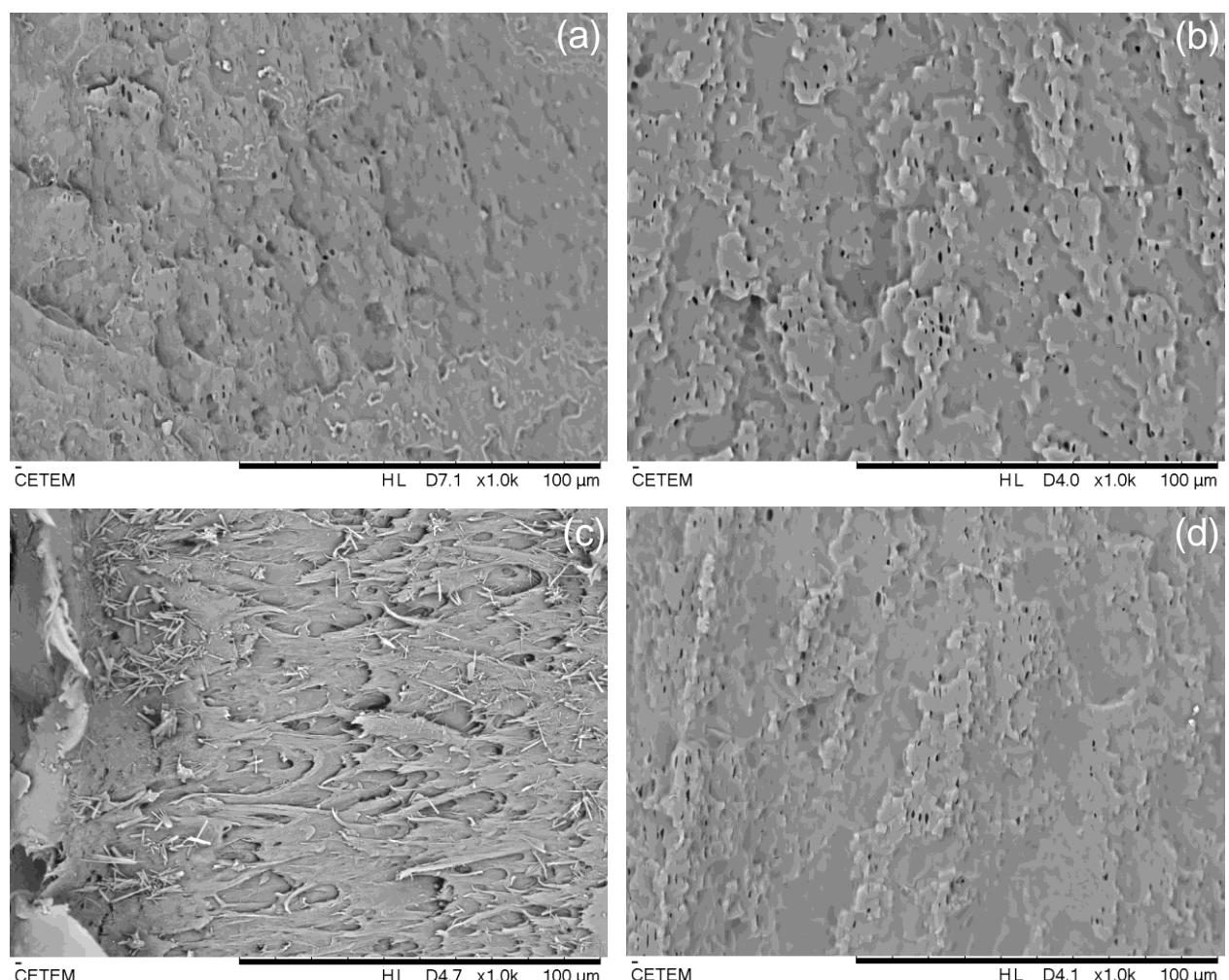


Figura 27. Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura da superfície das amostras (a) placebo, (b) Filme, (c) Filme pós liberação em meio artificial e (d) Filme pós liberação em meio ruminal.

Após a liberação do ativo no meio artificial, surgiram cristais (partículas em forma de agulha) na superfície da amostra, indicando a provável presença de cristais relacionados a composição do meio artificial, como sais NaCl, KCl, CaCl₂, Mg Cl₂. A superfície de amostra do filme pós liberação em meio ruminal foi semelhante à do placebo. Portanto, podemos inferir, que pela microscopia da superfície dos filmes, após imersão em ambos os meios, artificial e ruminal, as amostras apresentaram baixa porosidade, possivelmente indicando alterações na matriz devido à liberação do fármaco e ao rearranjo da cadeia polimérica promovido pela imersão nos meios (ZHANG, 2014).

Como relatado anteriormente, o piriproxifen quando administrado por via intra-ruminal em bovinos não sofre degradação no ambiente ruminal sendo eliminado em sua forma ativa nas fezes com evidente atividade IGR contra *H. irritans* (OLIVEIRA, 2017). O DRR à base de piriproxifen constituído por filmes de poli(vinil)álcool (PVA) e carboximetilcelulose sódica (NaCMC) desenvolvidos neste trabalho, além de atender totalmente as características de liberação prolongada, permite que ele seja enrolado (forma comprimida) resistindo à quebra ou fissuração e converta-se para uma forma expandida que fica retida durante todo o tratamento.

5 CONCLUSÃO

O filme de PVA-NaCMC-Piriproxifen apresentou resultados físico-químicos satisfatórios para a finalidade de liberação em meio ruminal, como homogeneidade no teste de variação de peso.

Os resultados do ensaio de grau de inchamento corroboraram com a capacidade absorativa do polímero no meio fluído para liberação do ativo através do processo de difusão, afirmando a influência do “burst effect”.

O estudo de liberação *in vitro* com duração de 60 dias e com 40,24%, 46,43% e 49,39% de porcentagens dissolvidas nos meios tampão fosfato, meio artificial e meio ruminal, respectivamente, quando aplicados aos modelos cinéticos retornaram como resposta o modelo de pseudo-primeira ordem, caracterizando um sistema de liberação controlada do fármaco sem influência do meio de dissolução. Portanto, pode-se concluir que a formulação é biocompatível com a liberação intra-ruminal controlada do medicamento piriproxifen.

A análise de DRX mostrou um aumento na cristalinidade devido à presença e liberação do piriproxifen, indicando maior reorganização das cadeias poliméricas e retornando à conformidade inicial.

Além disso, a análise DSC revelou que o piriproxifen e a sua liberação alteraram o empacotamento da cadeia com a formação de regiões cristalinas. As micrografias (MEV) mostraram alterações morfológicas na distribuição da porosidade da superfície do filme após a adição e liberação de piriproxifen, e a formação de cristais provenientes do meio artificial o qual a amostra foi submetida.

O filme polimérico contendo piriproxifen desenvolvido nesta tese foi obtido pelo método de “*solvent casting*”, que é simples, reproduzível e passível de escalonamento, sendo seletivo para ruminantes e aplicável à indústria farmacêutica veterinária.

No mercado pecuário brasileiro, a inovação tecnológica é necessária para promover a saúde e o bem-estar animal e oferecer praticidade e segurança na terapia veterinária. O sucesso desses sistemas de liberação controlada (DRR) está relacionado às características físico-químicas do polímero, garantindo vantagens como redução do estresse animal, redução dos riscos de manuseio e administração de medicamentos. O mercado atual possui sistemas de entrega na forma de soluções injetáveis, brincos impregnados e soluções pour-on, portanto, o desenvolvimento deste dispositivo permite que o mercado retome com aplicações orais inovadoras.

O DRR à base de piriproxifen composto por filme de poli(vinil)álcool (PVA) e carboximetilcelulose sódica (NaCMC) após todos os estudos demonstrados, apresenta resultados satisfatórios para aplicação no controle de *H. irritans* em bovinos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados satisfatórios encontrados nesta pesquisa para o estudo de liberação *in vitro* foram importantes para a elucidação da cinética e do potencial do desenvolvimento do dispositivo reticulo-rúmem contra formas imatura de *H. irritans*. O desenvolvimento desta formulação foi idealizado para garantir melhora na terapêutica devido a liberação controlada por 60 dias e consequentemente menor manejo do gado. Além disso, a utilização de biocompostos reduz o processo de resistência e diminui a contaminação ambiental por pesticidas convencionais.

A fim de confirmar a viabilidade e biocompatibilidade do dispositivo para administração oral em bovinos, os estudos clínicos *in vivo* são necessários para identificar as possíveis vantagens e desvantagens da aplicação oral para comprovar a eficácia e garantir a saúde e segurança animal.

A inovação tecnológica aliada ao desenvolvimento de novas formulações é necessária para a promoção da saúde e bem estar animal e oferecer melhorias na terapia veterinária. A utilização de polímeros na década de 90 era escasso e inviável devido ao custo elevado da tecnologia para a época. Atualmente, os polímeros dominam uma fatia do mercado, principalmente com o avanço da tecnologia de aplicação da impressão 3D. O polímero polinivilálcool (PVA) pode ser utilizado como filamento para impressão 3D, e portanto, pode-se estudar a viabilidade do desenvolvimento e design de um dispositivo retículo-rúmen de liberação controlada para formas imaturas de *H. irritans* com esta tecnologia.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGARWAL, R., ALAM, M.S., & GUPTA, B. Polyvinyl alcohol-polyethylene oxide-carboxymethyl cellulose membranes for drug delivery. **Journal of Applied Polymer Science**, v.129 (6), p. 3728-1836, 2013.
- AHMED, I. Pharmaceutical challenges in veterinary product development. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. 6, p. 871–882, 4 out. 2002.
- AKAY, M., Introduction to Polymer Science and technolog. **Mustafa Akay & Ventus Publishing** ApS. Disponível em <http://197.14.51.10:81/pmb/CHIMIE/introduction-to->
- ALBUQUERQUE, M. F. P. M.; SOUZA, W. V.; MENDES, A. C. G.; LYRA, T.; XIMENES, R.; ARAÚJO, T.; BRAGA, C.; MIRANDA-FILHO, D.; MARTELLI, C.; RODRIGUES, L. Pyriproxyfen and the microcephaly epidemic in Brazil - An ecological approach to explore the hypothesis of their association. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v 111, 2016. <https://doi.org/10.1590/0074-02760160291>.
- ALROMEED, A.A., SCRANO, L. A., BUFO, S., & UNDABEYTIA, T. Slow-release formulations of the herbicide MCPA by using clay-protein composites. **Pest Management Science**, v 71, n.9, p. 1303-1310, 1 set. 2015.
- ALVES, M. C. C. (2021). Poly(vinyl)alcohol -based films containing pyriproxyfen against Haematobia irritans in cattle: formulation development, physico-chemical characterization and in vitro drug release. **In World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology**. Dublin.
- ANBUKARASU, P.; SAUVAGEAU, D.; ELIAS, A. Tuning the properties of polyhydroxybutyrate films using acetic acid via solvent casting. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, 7 dez. 2015.
- ANITA, G. S.; LATA, S. M.; TEJRAJ, M. A. Controlled Release of Theophylline from Interpenetrating Blend Microspheres of Poly(vinyl alcohol) and Methyl Cellulose. **Journal of Applied Polymer Science**, v 116, p. 1226-1235, 2010.
- APLEY, M., CRIST, B.; GONZALEZ, M.; HUNTER, R. P.; MARTINEZ, M. N.; MODRIC, S.; PAPICH, M. G.; PARR, A. F.; RIVIERE, J. E., & MARQUES, M. R. C. Solubility Criteria for Veterinary Drugs-Workshop Report. **Pharmacopeial Forum**, v 39(4), 2013.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNES. Beef Report 2023, **Perfil da Pecuária no Brasil, capítulo 4**. Acesso em 03out2023; disponível em: <https://www.abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2023-capitulo-04/>
- AULTON, M. E.; GEORGE GONZÁLEZ ORTEGA. **Delineamento de formas farmacêuticas**. [s.l.] Porto Alegre Artmed, 2008.

AZEVÊDO, D. M. M. R.; ALVES, A. A.; SALES, R. DE O. Principais Ecto e Endoparasitas que Acometem Bovinos Leiteiros no Brasil: Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 2, n. 1, p. 43–55, 30 jun. 2008.

BAGNATO, V. S.; SOUZA, M. A.; MURAKAWA, L. Guia Prático I: Introdução à Propriedade Intelectual. **AUSPIN- Agência USP de Inovação**, 2016. Disponível em:< http://www.inovacao.usp.br/wpcontent/uploads/sites/300/2014/02/CARTILHA_PI_bom_x.pdf>. Acesso em 17 de junho de 2018

BANERJEE, S. *et al.* Interpenetrating polymer network (IPN) hydrogel microspheres for oral controlled release application. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 50, n. 1, p. 198–206, 1 jan. 2012.

BARROS, A. T. M. DE. Aspectos do Controle da Mosca-dos-chifres e Manejo de Resistência. **Embrapa Documentos**, v77, p. 23, 2005.

BEADLES, M. L., J. A. MILLER, W. F. CHAMBERLAIN, J. L. ESCHLE, AND R. L. HARRIS. 1975. The horn fly: methoprene in drinking water of cattle for control. **Journal of Economic Entomology**, v. 68, n. 6, p. 781–785, 1 dez. 1975.

BELANI, K. Oral Drug Delivery Systems in Ruminant Animals. **The Bombay Technologist**, v. 61, p.1–14, 2011.

BENAVIDEZ, J. 2020. Does pest management pay? **Progressive Cattle**, 2020. <https://www.progressivecattle.com/topics/management/ does-pest-management-pay>.

BIANCHIN I.; WILSON W.; DETMANN E. A sazonalidade de *Haematobia irritans* no Brasil central. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 79–86, 1 jun. 2006.

BIANCHIN, I. K.; ALVES, W.; DETMANN EDENIO, R. Effects of the horn fly, *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae) in the weight gain on Nellore cattle. **Revista Ciência Rural**, v 34, n.3, p.885-890, 2004.

BIZERRA, A.; SILVA, V. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA: Mecanismos e aplicações. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, v. 3, n. 2, p. 1–12, 2016.

BRAYDEN, D. J.; OUDOT, E. J. M.; BAIRD, A. W. Drug Delivery Systems in Domestic Animal Species. **Handbook of experimental pharmacology**, p. 79–112, 1 jan. 2010.

BRAGA, A.G.S., BARBIERI, F.D.S., BRITO, L.G., CELESTINO, C.O., COSTA, T.S.; FACUNDO, V.A. Atividade pesticida de estratos de *Piper tuberculatum* jacq sobre *Haematobia irritans* L, **Biota Amazônia**, v.7, p.54-57, 2017.

BRITO, L. G.; BORJA, G.; OLIVEIRA, M.; NETTO, F. Mosca-dos-chifres: aspectos biocológicos, importância econômica, interações parasito-hospedeiro e controle. **Comunicado Técnico**, v 302, EMBRAPA, 2005.

BRUCE, W.G. A practical trap for the control of horn flies on cattle. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v 1, p.88-93, 1938.

BYFORD, R. L.; CRAIG, M. E.; CROSBY, B. L. A review of ectoparasites and their effect on cattle production. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 2, p. 597–602, 1 fev. 1992.

CALLISTER, W. D.; RETHWISCH, D. G. **Materials Science and Engineering: An Introduction**. 10. ed. Hoboken, Nj: Wiley, 2018.

CANEVAROLO, V. **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. São Paulo: Artliber, 2006.

CAPANEMA, L. X. de L.; PALMEIRA FILHO, P. L. Industria farmacêutica brasileira: reflexões sobre sua estrutura e o potencial de investimentos. Perspectivas do investimento 2007/2010. **Rio de Janeiro: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social**, p 161- 206, 2007.

CARBALLO, M.; MARTÍNEZ, M. Hallazgo de *Haematobia irritans* en Uruguay. **Veterinaria (Montevideo)**, v. 27, n. 112, p. 20–21, 1 jun. 1991.

CARDINAL, J. R. Drug Release from Matrix Devices. **Recent Advances in Drug Delivery Systems**, p. 229–248, 1984.

CARDINAL, J. R. Intraruminal devices. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 28, n. 3, p. 303–322, dez. 1997.

CENTRO DE INDÚSTRIAS DE CURTUMES DO BRASIL (CICB). Dados do Setor: Exportanto valor agregado, 2023. Acesso em 02out2023; disponível em: <https://www.cicb.org.br/cicb/dados-do-setor>

CHANDLER, D.; BAILEY, A.; TATCHELL, M.; PRINCE, G.; GREAVES, J.; GRANT, W. The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences**, v.366, p.1987-98, 2011.

CHIELLINI, E.; CORTI, A.; D'ANTONE, S.; SOLARO, R. **Biodegradation of poly (vinyl alcohol) based materials**. Disponível em: <<https://ouci.dntb.gov.ua/en/works/loG2r0QI/>>. Acesso em: 19 jul. 2023.

CONRAD, J.M.; SKINNER, D.S. Controlled sustained delivery of monensin in cattle: the Monensin R.D.D. **Journal Control. Release**, v. 9, p. 133-147, 1988.

CUPP, E. W. *et al.* Blood-Feeding Strategy of *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 35, n. 4, p. 591–595, 1 jul. 1998.

DA SILVA, L. V; DE LA RUE, M. L.; GRAÇA, L. D. Lesions of the horn fly (*Haematobia irritans* Linnaeus, 1758) on the bovine skin and their impact in leather industry). **Ciência Rural**, v. 32, n. 6, p. 1039–1043, 2002.

DELABONA, G. DA S.; BICUDO, H. E. M. DE C. Uma técnica simples para estudar o desenvolvimento da mosca-do-chifre, *haematobia irritans* (diptera muscidae). **Genética na Escola**, v. 2, n. 1, p. 17–19, 15 mar. 2007.

DENG, L.; KANG, X.; LIU, Y.; FENG, F.; ZHANG, H. Caracterização de filmes de gelatina/Zeína fabricados por eletrofiação versus fundição com solvente. **Hidrocolagem Alimentar**, v.74, p.324-332, 2018.

DIAS-FILHO, M.B. Degradação de pastagens: processos, causas e estratégias de recuperação. 3.ed. Belém:Embrapa Amazônia Oriental, 2007.

DILAVER, M.; YURDAKOC, K. Fumaric acid cross-linked carboxymethylcellulose/poly(vinyl alcohol) hydrogels. **Polymer Bulletin**, v. 73, n. 10, p. 2661–2675, 4 fev. 2016.

DRURY, J. L.; MOONEY, D. J. Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications. **Biomaterials**, v. 24, n. 24, p. 4337–4351, nov. 2003.

EMBRAPA. Indicadores Leite e derivados. **Indicadores Leite e derivados**, v. 9, n. 81, p. 19, 2020.

ESPOSITO, F. *et al.* Water sorption in cellulose-based hydrogels. **Journal of applied polymer science**, v. 60, n. 13, p. 2403–2407, 27 jun. 1996.

FAKIROV, S., CAGIAO, M.E., BALTÁ-CALLEJA, F.J., SAPUNDJIEVA, D., & VASSILEVA, E.D. Melting of Gelatin Crystals below Glass Transition Temperature: A Direct Crystal-Glass Transition as Revealed by Microhardness. **International journal of polymeric materials**, v. 43, n. 3-4, p. 195–206, 1 maio 1999.

FDA, Freedom of information summary, NADA No. 140-270.

FILHO, K. E. **Gado de Corte Divulga**. v. 36, p. 13, 2000.

FLORENCE, A. T.; D ATTWOOD; ZULEIKA ROTHSCHILD. **Princípios físico-químicos em farmácia**. São Paulo: Edusp, 2003.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO. Live animals. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA/visualize>>. Acesso em: 15 jul. 2017.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA. Guidance for industry. Extended release oral dosage forms: development, evaluation, and application of in vitro/in vivo correlations. Rockville: **Food and Drug Administration**, p. 1-74, 1997a.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA. Guidance for Industry. Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms. Rockville: **Food and Drug Administration**, p. 17, 1997b.

FRAGA, A. B. *et al.* Análise de fatores genéticos e ambientais que afetam a infestação de fêmeas bovinas da raça Caracu por carrapatos (Boophilus microplus). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6 suppl 1, p. 1578–1586, dez. 2003.

GAD, M., AREF, S., ABDELHAMID, A., ELWASSIMY, M & ABDEL-RAHEEM, S. Biologically active organic compounds as insect growth regulators (IGRs): introduction, mode of action, and some synthetic methods. **Current Chemistry Letters**, v.10(4), p. 393-412, 2021.

GALLI, G.M., ROZA, L.F., SANTOS, R.C., QUATRIN, P.M., OURIQUE, A.F., KLEIN, B., WAGNER, R., BALDISSERA, M.D., VOLPATO, A., CAMPIGOTTO, G. AND GLOMBOWSKY, P. Low dose of nanocapsules containing Eucalyptus Oil has beneficial repellent effect against horn fly (Diptera: Muscidae). **Journal of economic entomology**, v.111(6), p.2983-2987, 2018.

GARY, J. B.; DAVE, J. B.; LUÍSA, N. D.; REBECCA, T. T. F.; HOLDERMAN, C.; LOFTIN, M. K.; MACHTINGER, E.; SMYTHE, B.; TALLEY, L. T.; WES W. Horn Fly (Diptera: Muscidae)—Biology, Management, and Future Research Directions, **Journal of Integrated Pest Management**, v.12 (1), 2021.

GIBALDI, M.; FELDMAN, S. Mechanisms of Surfactant Effects on Drug Absorption **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.59, p. 579-589, 1970.

GRISI, L.; LEITE, R.C.; MARTINS, J.R.; BARROS, A.T.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P.H.; LEÓN, A.A.; PEREIRA, J.B.; VILLELA, H.S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira Parassitologia Veterinária**, v 23, 2014.

GRISI, L.; SCOTT, F. B. Lactonas Macrocíclicas (avermectinas) de longa ação no controle de parasitismo em bovinos. **A Hora Veterinária**, v. 34, p. 5, 2014.

HARBESTON, J. Economic considerations for marketing controlled release formulations. P. 123-31. In Proc. 1975 Int. **Controlled Release Pesticide Symp.** College of Science and Engineering, Wright State Univ., Dayton, Ohio, p. 407, 1975.

HARRIS, R. L.; FRAZER, E. D.; YOUNGER, R. L. Horn Flies, Stable Flies, and House Flies: Development in Feces of Bovines Treated Orally with Juvenile Hormone Analogs13. **Journal of Economic Entomology**, v. 66, n. 5, p. 1099–1102, 1 out. 1973.

HARRIS, R. L.; CHAMBERLAIN, W. F.; FRAZAR, E. D. Horn Flies and Stable Flies: Free-Choice Feeding of Methoprene Mineral Blocks to Cattle for Control13. **Journal of Economic Entomology**, v. 67, n. 3, p. 384–386, 1 jun. 1974.

HARVEY, T. L.; BRETHOUR, J. R. Effect of Horn Flies on Weight Gains of Beef Cattle. **Journal of Economic Entomology**, v. 72, n. 4, p. 516–518, 1979.

HASSAN, C. M.; PEPPAS, N.A. Structure and Applications of Poly(vinylalcohol) Hydrogels Produced by Conventional Crosslinking or by Freezing/Thawing Methods. **Advances in Polymer Science**, v 153, pp. 37-65, 2000.

HONER, M. R.; BIANCHIN, I.; GOMES, A. Programa de Controle de Mosca-dos-chifres. **Comunicado Técnico Embrapa**, p. 3, 1990.

HUANG, X.; BRAZEL, C. S. On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 73, n. 2-3, p. 121–136, jun. 2001.

HUANG, Z.; PARIKH, S.; FISH, W. P. Interactions between a poorly soluble cationic drug and sodium dodecyl sulfate in dissolution medium and their impact on in vitro dissolution behavior. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 535, n. 1-2, p. 350–359, jan. 2018.

IIJIMA, M., KOSAKA, S., HATAKEYAMA, T., & HATAKEYAMA, H. Phase transition of poly(vinyl alcohol) hydrogel filled with micro-fibrillated cellulose. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.123, p.1809–1815, 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. INDICADORES IBGE - Estatística da Produção Pecuária. Acesso em 03out2023; disponível em: https://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_202301caderno.pdf

JINDRA, M.; BITTOVA, L. The juvenile hormone receptor as a target of juvenoid “insect growth regulators”. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 103, n. 3, 10 set. 2019.

KABIR, S. M. F. *et al.* Cellulose-based hydrogel materials: chemistry, properties and their prospective applications. **Progress in Biomaterials**, v. 7, n. 3, p. 153–174, set. 2018.

KARKI, S.; KIM, H.; NÃO, SJ; SHIN, D.; JO, K.; LEE, J. Thin films as na emerging platform for drug delivery. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v 11, p. 559-574, 2016

KATAGI, T., TAKAHASHI, N. Hydrolysis of S-31183 in Buffered Aqueous Solutions. **Sumitomo Chemical Company**, 1994.

KHAN, K. A. The concept of dissolution efficiency. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 27, n. 1, p. 48–49, jan. 1975.

KHAR, R. K. *et al.* **Lachman/Lieberman's the theory and practice of industrial pharmacy**. New Delhi: Cbs Publishers & Distributor, Repr, 2015.

KOČIŠOVÁ, A.; PETROVSKÝ, M.; TOPORCAK, J.; NOVAK, P.; NOVÁK, J. The potential of some insect growth regulators in housefly (*Musca domestica*) control. **Biologia**, v 595, pp 661-668. 2004.

KNOWLTON, K. F.; GLENN, B. P.; ERDMAN, R. A. Performance, Ruminal Fermentation, and Site of Starch Digestion in Early Lactation Cows Fed Corn Grain Harvested and Processed Differently. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 7, p. 1972–1984, jul. 1998.

KUNZ, S. E. *et al.* Biological and Ecological Investigations of Horn Flies in Central Texas: Influence of Time of Manure Deposition on Oviposition. **Journal of Economic Entomology**, v. 63, n. 3, p. 930–933, 1970.

KUNZ, S.; MURRELL, K.D.; LAMBERT, G.; JAMES, L.F.; TERRILL, C.E. Perdas estimadas de gado devido a pragas. In: Pimentel D. **Manual de manejo de pragas na agricultura**, p. 69-98, 1991.

LEGNER, E., F.; WARKENTIN, R.W. Influência de *Onthophagus gazella* na densidade de mosca-chifres, *Haematobia irritans* em pastagens irrigadas. **Entomófaga**, v 36(4), pp 547-553, 1991.

LEE, J. H. *et al.* Wound healing evaluation of sodium fucidate-loaded polyvinylalcohol/sodium carboxymethylcellulose-based wound dressing. **Archives of Pharmacal Research**, v. 33, n. 7, p. 1083–1089, 1 jul. 2010.

LIECHTY, W. B. *et al.* Polymers for Drug Delivery Systems. **Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering**, v. 1, n. 1, p. 149–173, 15 jun. 2010.

LI, J.; MOONEY, D. J. Designing hydrogels for controlled drug delivery. **Nature Reviews Materials**, v. 1, n. 12, 18 out. 2016.

LIMA, L.G.F.; PERRI, S.H.V.; PRADO, A.P. Variação na densidade populacional de moscas dos chifres (*Haematobia irritans irritans*) (L.) (Diptera: Muscidae) em bovinos Nelore (*Bos indicus*). **Parasitologia veterinária**, v. 117, p. 309-314, 2003.

LIN, C.-H. *et al.* Recent advances in oral delivery of drugs and bioactive natural products using solid lipid nanoparticles as the carriers. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 25, n. 2, p. 219–234, 2017.

LIN, S. Y.; YANG, J. C. In-vitro dissolution behavior of some sustained-release theophylline dosage forms. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v. 64, n. 8, p. 236–240, 1989.

LIU, D.; WU, P.; JIAO, P. Researching rumen degradation behaviour of protein by FTIR spectroscopy. **Czech Journal of Animal Science**, v. 60, n. No. 1, p. 25–32, 15 jul. 2016.

MAGALHÃES, V. S. Fipronil Injetável para Bovinos: Farmacocinética e Eficácia no Controle de *Haematobia irritans* e *Dermatobia hominis*. 2016

MANO, J.; SOUSA, R.; BOESEL, L.; NEVES N., "Bioinert, Biodegradable and Injectable Polymeric Matrix Composites for Hard Replacement: State of the Art and Recent Developments", **Composites Science and Technology**, v. 64, p. 789–817, 2004.

MARANHO, D. Estudo comparativo "in vitro" de formas farmacêuticas sólidas de liberação controlada contendo diclofenaco sódico. 2000. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

MARQUES, L.; MOON, R.; CARDOZO, H.; CUORE, U.; TRELLES, A.; BORDABERRY S. Primer diagnóstico de resistencia de *Haematobia irritans* (diptera: muscidae) en Uruguay: determinación de susceptibilidad a cypermectrina y diazinon. **Veterinaria (Montevideo)**, v. 33, n. 133, p. 20–23, 1 mar. 1997.

MARSTON, R. H. 1962. Therapeutic pellets for ruminants. U. S. Patent No. 3,056,724. U. S. Patent Office.

MEDEIROS DE BARROS, A. T. Desenvolvimento de *Haematobia irritans* em massas fecais de bovinos mantidas em labortório. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 37, n. 2, p. 217–221, 2002.

MELLO, I. N. K.; DA SILVEIRA, W. F. Resíduos de agrotóxicos em produtos de origem animal. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, n. 2, p. 94–104, 2012.

- MELO, L. R. B. *et al.* Development and number of generations of *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) in bovine fecal masses in the semiarid region of Brazil. **Veterinary Parasitology, Regional Studies and Reports**, v. 20, p. 100411, 1 abr. 2020.
- MEOLA, R. W.; PULLEN, S.; MEOLA, S. M. Toxicity and histopathology of the growth regulator Pyriproxyfen to adults and eggs of the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of medical entomology**, v. 33, n. 4, p. 670–679, 1996.
- MILLER, J. A.; DAVEY, R. B.; OEHLER, D. D.; *et al.* The Ivomec SR Bolus for control of *Boophilus annulatus* (Acari: Ixodidae) on cattle in South Texas. **Journal of Economic Entomology**, n. 94, p. 1622-1627, 2001
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. (2011). Guia de validação e controle de qualidade analítica : fármacos em produtos . Brasília : Mapa/ACS, 2011. 72 p. ISBN 978-85
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. E A. Bem-Estar Animal E Sistemas De Produção De Gado De Corte. v. 7.9, 2014.
- MOLENTO, M. B. Resistência parasitária em helmintos de eqüídeos e propostas de manejo. **Ciência Rural**, Santa Maria, ed. 35, ano 2005, n. 6, p. 1469-1477, 1 nov. 2005.
- MUKHOPADHYAY, R.; GANHOS.; VERMA, S.; SINGH, B.; VYAS, M.; MEHTA, M.; HAQUE, A. Polímeros no Projeto de Filmes Mucoadesivos: Uma Revisão Abrangente. **Internacional J. Farmácia Verde**, v. 12 , p.330–S344, 2018 .
- NARASIMHAN, B.; LANGER, R. Zero-order release of micro- and macromolecules from polymeric devices: the role of the burst effect. **Journal of Controlled Release**, v. 47, n. 1, p. 13–20, jul. 1997.
- NERES SANTOS, A. M. *et al.* Physically Cross-Linked Gels of PVA with Natural Polymers as Matrices for Manuka Honey Release in Wound-Care Applications. **Materials**, v. 12, n. 4, p. 559, 13 fev. 2019.
- OJOE, E. Desenvolvimento e avaliação “in vitro” de comprimidos de liberação controlada de teofilina. 2003. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003
- OLIVEIRA, G.F.; MAGALHÃES, V.S.; ALVES, M.C.C.; DE JESUS, I.L.R.; MEDEIROS, M.T.; GOMES, B.T.; CALADO, S.B.; DE MELO, R.C.; CID, Y.P.; SCOTT, F.B. Evaluation of pyriproxyfen in cattle by oral treatment: An alternative to control *Haematobia irritans*. **Veterinary Parasitology**, v 299, 2021
- OLIVEIRA, R. B. POLÍMEROS NA OBTENÇÃO DE SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE FÁRMACOS. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 1, 23 out. 2007.
- OLIVEIRA, M.; KUMAR, R.; SUYAL, D. C.; SONI, R.; ANDRADE, E. Biorationals and Biopesticides. **Pest Management**, 2024.

OLIVEIRA, V. DA S.; SANTOS, A. C. P. DOS; VALENÇA, R. DE L. DESENVOLVIMENTO E FISIOLOGIA DO TRATO DIGESTIVO DE RUMINANTES. **Ciência Animal**, v. 29, n. 3, p. 114–132, 2019.

PARANHOS DA COSTA, M. J. R. Ambiência na produção de bovinos de corte a pasto. **Anais de Etiologia**, v. 18, p. 26–42, 2000.

PÉREZ-COGOLLO, L.C.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I.; DELFÍN-GONZÁLEZ, H.; REYES-NOVELO, E.; OJEDA-CHI, M.M. Efeitos letais e subletais da ivermectina em *Onthophagus landolti* (Coleoptera: Scarabaeidae). **Entomol Ambiental**, v 44, p 1634-1640, 2015

PÉREZ-COGOLLO, L.C.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I.; REYES-NOVELO, E.; DELFÍN-GONZÁLEZ, H.; MUÑOZ-RODRÍGUEZ, D. Sobrevida e reprodução de *Onthophagus landolti* (Coleoptera: Scarabaeidae) exposto a resíduos de ivermectina em esterco de gado. **Bull Entomol Res**, v 107, p 118-125, 2017.

PESCOLÍDO, L.; FERUGLIO, L.; FARRA, R.; FIORENTINO, S.; COLOMBO, I.; COVIELLO, T.; GRASSI, M. Determinação da distribuição de tamanho de malha de hidrogéis de redes poliméricas interpenetrantes. **Matéria molecular**, v 8 (29), p 7708-7715, 2012.

PRAVEEN TYLE. **Drug delivery devices : fundamentals and applications**. New York: M. Dekker, 1988.

PRIETSCH, R. DA F. *et al.* Formas farmacêuticas de liberação modificada utilizadas em ruminantes: uma revisão. **Science and Animal Health**, v. 2, n. 1, p. 3–26, 2014.

RATHBONE, M. J.; MARTINEZ, M. N. Modified release drug delivery in veterinary medicine. **Drug Discovery Today**, v. 7, n. 15, p. 823–829, ago. 2002.

REDDY, R.; OKIGBO, R. N.; PUTHETI, M. Correlation of the miscibility of commercially important polymers PVC/PMMA and PS/PMMA in dilute solutions and in solid state. **Journal of Science and Geosciences**, v. 2, n. 2, p. 11–15, 18 abr. 2014.

REDNICK, A. B., AND S. J. TUCKER. 1970. Sustained release bolus for animal husbandry. U. S. Patent No.3,507,952. U. S. Patent Office

RESENDE, M. C.; GAMA, R. A. Persistência e eficácia do regulador de crescimento pyriproxyfen em condições de laboratório para *Aedes aegypti*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 1, p. 72–75, 2006.

RIDDIFORD, L. M. Juvenile hormone action: A 2007 perspective. **Journal of Insect Physiology**, v. 54, n. 6, p. 895–901, 2008.

RINER, J. L. *et al.* Influence of density and location on degradation of sustained-release boluses given to cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v. 43, n. 11, p. 2028–2030, 1 nov. 1982.

RIOS, M. Polymers for Controlled Release: Formulation Follows Function. **Pharm. Technol.**, New York, v. 29, n. 6, p. 42-50, 2005.

RODRIGUES, N. O. L. Estudo da liberação controlada de fármacos por hidrogéis de PVA/ATAPULGITA. Monografia (Graduação em Engenharia de Materiais) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

RODRÍGUEZ, R.I.V; TORRES, J.F.J.A.; CRUZ, C.V.; ALMAZÁN, C.G.; ALCALÁ, T.C.; ALONSO, M.AD. Capítulo VII. Epidemiologia e controle de carapatos, moscas e nematóides gastrointestinais que afetam os bovinos no México, p. 255-308. 2018.

RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I.; GRISI, L.; PÉREZ, A.A.; SILVA, H.V.; TORRES-ACOSTA, J.F.J.; FRAGOSO, H.S. Avaliação do impacto econômico potencial para parasitas de bovinos na Revisão do México. **Rev Mex Cienc Pecu**, v 8, p 617-624, 2017.

ROTHEN-WEINHOLD, A.; GURNY, R.; DAHN, M. Formulation and technology aspects of controlled drug delivery in animals. **Pharmaceutical Science & Technology Today**, v. 3, n. 7, p. 222-231, 2000.

RUAN, L.; YAO, X.; CHANG, Y.; ZHOU, L.; QIN, G.; ZHANG, X. Properties and Applications of the β Phase Poly(vinylidene fluoride). **Polymers**, v.10, p.228, 2018.

SALEEM, F. *et al.* The Bovine Ruminal Fluid Metabolome. **Metabolomics**, v. 9, n. 2, p. 360–378, 11 set. 2012.

SANNINO, A.; DEMITRI, C.; MADAGHIELE, M. Biodegradable Cellulose-based Hydrogels: Design and Applications. **Materials**, v. 2, n. 2, p. 353–373, 16 abr. 2009.

SCHOELER, M. *et al.* CELLULOSE NANOFIBERS FROM CASSAVA AGRO-INDUSTRIAL WASTE AS REINFORCEMENT IN PVA FILMS. **Química Nova**, 2020.

SCHWARTZ, L.; WOLF, D.; MARKUS, A.; WYBRANIEC, S. Controlled Release System for the Insect Growth Regulator Cyromazine. **Clean Prod. Process**, v.3, p. 49-54, 2001. SHEHAP, A. M. Thermal and Spectroscopic Studies of Polyvinyl Alcohol/Sodium Carboxy Methyl Cellulose Blends. **Egypt. J. Solids**, v. 31, p. 75-91, 2008.

SILVA, A. M. *et al.* Infestação natural de fêmeas bovinas de corte por ectoparasitas na Região Sudeste do Brasil1. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 7, p. 1477–1482, 2010.

SILVA, J. J. DA ., & MENDES, J. Effect of diflubenzuron on immature stages of *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae) in Uberlândia, State of Minas Gerais, Brazil. **Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97(5), p. 679–682, 2002.

SINDAN. Mercado veterinário por classe terapêutica. Disponível em: Acesso em: 22 fev. 2024.

SMITH, K. *et al.* Costs of Horn Fly (Diptera: Muscidae) Control for Cow-calf Producers in Tennessee and Texas, 2016. **Journal of Economic Entomology**, v. 115, n. 1, p. 371–380, 31 dez. 2021.

STAAL, G. B. Insect Growth Regulators with Juvenile Hormone Activity. **Annual Review of Entomology**, v. 20, n. 21, p. 417–460, 1975.

STALL, G. B. Anti juvenile hormone agents. **Annual Review of Entomology**, v.31, p. 391-429, 1986.

SULLIVAN, J. J.; GOH, K. S. Environmental fate and properties of pyriproxyfen. **Journal of Pesticide Science**, v. 33, n. 4, p. 339–350, 2008.

SUN, R.; LIU, C.; ZHANG, H.; WANG, Q. Benzoylurea chitin synthesis inhibitors. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 31, p. 6847-6865, 2015.

TASSONE, S.; FORTINA, R.; PEIRETTI, P. G. In Vitro Techniques Using the DaisyII Incubator for the Assessment of Digestibility: A Review. **Animals**, v. 10, n. 5, p. 775, 29 abr. 2020.

TAUPITZ , T.; KLEIN , S. Can Biorelevant Media be Simplified by using SLS and Tween 80 to Replace Bile Compounds? **The Open Drug Delivery Journal**, v. 4, n. 1, 29 abr. 2010.

TAYLOR MA, COOP RL, Parede RL. Parasitologia Veterinária, 4^a ed, West Sussex, Reino Unido: Wiley-Blackwell; 2016;180-187.

TAYLOR, M. A. Recent Developments in Ectoparasiticides. **The Veterinary Journal**, v. 161, n. 3, p. 253–268, 2001.

THEEUWES, F. Elementary Osmotic Pump. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 64, n. 12, p. 1987–1991, dez. 1975.

UNITED STATES PHARMACOPEIA USP 30 – NF 25. Rockville: The United States

VANDAMME, TH. F.; ELLIS, K. J. Issues and challenges in developing ruminal drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 10, p. 1415–1436, jun. 2004.

VERMA, R. Formulation aspects in the development of osmotically controlled oral drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 79, n. 1-3, p. 7–27, 19 fev. 2002.

VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Pharmaceutical applications of polymers. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v 20(1), p 51-64, 2010.

WALKER, H.L.; SÁNCHEZ-SANDOVAL, U.A.; FIGUEROA-ZAMUDIO, J.J.; RAMIREZ, J.; SOTO-NAVARRO, S.A.; SMYTHE, B.G. Evaluation of the impact of inconsistent consumption of insect growth regulator on filth fly population control in a simulated field environment. **Translational Animal Science**, v.5, pp.S125-S128, 2021.

WILLIAMS, C. M. Third-Generation Pesticides. **Scientific American**, v. 217, p. 13–17, 1967.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Pyriproxyfen in Drinking-water: Use for Vector Control in Drinking-water. **Sources and Containers**. p. 5, 2008.

WRIGHT, J. Pumps/osmotic-ruminal osmotic bolus. In: MATHIOWITZ, E. (ed.). **Encyclopedia of Controlled Drug Delivery**, p. 915-920, 1999.

YANG, Y. P. *et al.* Structural ATR-IR analysis of cellulose fibers prepared from a NaOH complex aqueous solution. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 213, p. 012039, jun. 2017.

YAO, Y.; ZHANG, Z.; YANG, Z. The combination of vaccines and adjuvants to prevent the occurrence of high incidence of infectious diseases in bovine. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 10, 11 out. 2023.

YE, J. *et al.* Targeted release of soybean peptide from CMC/PVA hydrogels in simulated intestinal fluid and their pharmacokinetics. **Carbohydrate Polymers**, v. 310, p. 120713, 15 jun. 2023.

ZENA, Y.; PERIYASAMY, S.; TESFAYE, M.; TUMSA, Z.; JAYAKUMAR, M.; MOHAMMED, BA; ASAITHAMBI, P.; AMINABHAVI, T.M. Trends on barrier characteristics improvement of emerging biopolymeric composite films using nanoparticles - A review. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, 2024

ZENABON, O., PASCUET, N.S., TIGLEA, P. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. Instituto Adolfo Lutz (IV). São Paulo, 2008.

ZHANG, M., BHATTARAI, N., & MATSEN, F.A. (2014). *US8663686B2*. United States.

ZHU, Y. Properties of polymeric drug delivery systems prepared by hot-melt extrusion. 2002. Tese (Doutorado)Faculty of the Graduate School of the University of Texas, Austin, 2002.

ZINGERMAN, J.R.; CARDINAL, J.R.; CHERN, R.T.; HOLSTE, J.; WILLIAMS, J.B; ECKENHOFF, B.; WRIGHT, J. The *in vitro* and *in vivo* performance of an osmotically controlled delivery system — IVOMEC SR®1®Registered Trademark of Merck and Co.1 bolus, **Journal of Controlled Release**, v 47, p. 1-11, 1997.