



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA - FAV

CURSO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO IN VITRO DE FILME
MUCOADESIVO COM AZITROMICINA PARA APLICAÇÃO
RETAL EM BOVINOS**

GABRIEL MOREIRA RAMOS

**PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE TÉCNICAS
CIRÚRGICAS, PROTOCOLOS ANESTÉSICOS E
TERAPIAS INOVADORAS.**

BRASÍLIA, 2025



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO IN VITRO DE FILME
MUCOADESIVO COM AZITROMICINA PARA APLICAÇÃO
RETAL EM BOVINOS**

GABRIEL MOREIRA RAMOS

**ORIENTADOR: FABIO HENRIQUE BEZERRA
XIMENES**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

BRASÍLIA/DF

Julho/2025

Ficha Catalográfica

Ramos, G, M. **Desenvolvimento e avaliação in vitro de filme mucoadesivo com azitromicina para aplicação retal em bovinos**
Brasília: Faculdade de agronomia e medicina veterinária,
Universidade de Brasília, 2025, 47p. Dissertação de mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

Ramos, Gabriel Moreira. Desenvolvimento e avaliação in vitro de filme mucoadesivo com azitromicina para aplicação retal em bovinos.

Gabriel Moreira Ramos; orientação de Fabio Henrique Bezerra Ximenes

– Brasília, 2025

47 p. : il.

Dissertação de mestrado (M)- Universidade de Brasília/ faculdade de agronomia e medicina veterinária, 2025.

FOLHA DE APROVAÇÃO

**Desenvolvimento e avaliação in vitro de filme mucoadesivo com
azitromicina para aplicação retal em bovinos**

GABRIEL MOREIRA RAMOS

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL, COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM SAÚDE ANIMAL**

Aprovado por

FABIO HENRIQUE BEZERRA XIMENES, doutor, UNESP (Orientador)

JAYANARAIAAN FERREIRA MARTINS, doutora, UNB

THIAGO YUKIO NITTA, doutor, UNESP

BRASÍLIA/DF,

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho representa não apenas a conclusão de uma etapa acadêmica, mas a materialização de um sonho que foi construído com base em muito esforço, dedicação e, sobretudo, apoio.

Agradeço primeiramente à minha família, alicerce firme em todos os momentos da minha vida. Aos meus pais, pela educação, pelos valores e pelo incentivo incondicional, mesmo diante das dificuldades do caminho. Vocês foram e sempre serão minha base e minha inspiração. Agradeço aos meus irmãos, demais familiares e amigos pelo carinho, paciência e compreensão durante os períodos de ausência e dedicação exclusiva à pesquisa.

Aos professores e colegas do mestrado, deixo minha sincera gratidão pela troca de conhecimentos, críticas construtivas e estímulo constante à superação intelectual. Ao meu orientador, por acreditar no meu potencial e por guiar este projeto com sabedoria, responsabilidade e respeito à minha trajetória.

Não poderia deixar de mencionar o papel dos animais em minha vida. Foram eles, com sua sensibilidade, lealdade e pureza, que reforçaram em mim o amor pela Medicina Veterinária e a motivação para continuar buscando soluções que promovam seu bem-estar. O compromisso com esses seres indefesos é o que me move diariamente, e esta dissertação é, também, uma homenagem silenciosa a cada um que cruzou meu caminho.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para esta conquista, o meu mais sincero obrigado.

RESUMO

Dentre as vias de administração de fármacos na medicina veterinária, a via retal destaca-se como uma alternativa eficaz em situações que exigem absorção rápida, evitando parcialmente o metabolismo de primeira passagem hepática, especialmente em animais de grande porte ou com dificuldades de administração oral. Essa via mostra-se especialmente vantajosa para a administração da azitromicina, cuja instabilidade no rúmen compromete sua eficácia oral e cujas formas injetáveis podem causar dor, estresse e reações locais. O objetivo deste estudo consistiu no desenvolvimento e na caracterização de filmes bioadesivos incorporando azitromicina, destinados à administração tópica com aplicação voltada à utilização na prática veterinária, particularmente por meio da via retal. Inicialmente, o método analítico para quantificação da azitromicina foi desenvolvido e validado, atendendo aos critérios estabelecidos pela ANVISA e ICH quanto à linearidade, seletividade, precisão, exatidão e sensibilidade. Posteriormente, foram desenvolvidos filmes poliméricos a partir de quitosana, avaliando-se parâmetros como espessura, homogeneidade, resistência à dobradura, pH e teor de fármaco. Os filmes apresentaram características físico-químicas adequadas. Em ensaio ex vivo de permeação utilizando mucosa retal bovina, observou-se que os filmes foram capazes de modular a liberação da azitromicina, promovendo absorção gradual e sustentada. A comparação com a solução aquosa do fármaco evidenciou que a formulação em filme promove maior retenção local e menor variabilidade dos dados, indicando maior uniformidade na liberação e potencial redução de efeitos sistêmicos. Os resultados obtidos demonstram a viabilidade da proposta e reforçam o potencial do sistema bioadesivo como plataforma terapêutica eficiente, segura e promissora para aplicação tópica de antibióticos em medicina veterinária.

Palavras-chave: mucoadesividade, reto, permeação, filme, antibiótico.

ABSTRACT

Among the routes of drug administration in veterinary medicine, the rectal route stands out as an effective alternative in situations requiring rapid absorption, partially avoiding first-pass hepatic metabolism, especially in large animals or those with difficulties in oral administration. This route is particularly advantageous for azithromycin administration, as its instability in the rumen compromises its oral efficacy and its injectable forms may cause pain, stress, and local reactions. The aim of this study was the development and characterization of bioadhesive films incorporating azithromycin, intended for topical administration with application focused on veterinary practice, particularly via the rectal route. Initially, the analytical method for azithromycin quantification was developed and validated, meeting the criteria established by ANVISA and ICH regarding linearity, selectivity, precision, accuracy, and sensitivity. Subsequently, polymeric films were developed using chitosan, evaluating parameters such as thickness, homogeneity, folding resistance, pH, and drug content. The films exhibited appropriate physicochemical characteristics. In an *ex vivo* permeation assay using bovine rectal mucosa, the films demonstrated the ability to modulate azithromycin release, promoting gradual and sustained absorption. Comparison with the aqueous drug solution showed that the film formulation promoted greater local retention and lower data variability, indicating greater uniformity in drug release and potential reduction in systemic effects. The results obtained demonstrate the feasibility of the proposal and reinforce the potential of the bioadhesive system as an efficient, safe, and promising therapeutic platform for topical antibiotic application in veterinary medicine.

Keywords: mucoadhesion, rectum, permeation, film, antibiotic.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Estrutura química da azitromicina e eritromicina com destaque à inserção do átomo de nitrogênio ao grupo metila. Retirado de Turic (2011). 4
- Figura 2** - Representação gráfica da curva analítica obtida da azitromicina por CLAE. Concentrações diluídas em metanol. Equação da reta: $y = 58198x - 18225$ e coeficiente de correlação linear: $r = 0,9996$ 24
- Figura 3** - Aspectos macroscópicos dos filmes (A) controle e B (com azitromicina)..... 27
- Figura 4** - Quantidade de azitromicina recuperada da mucosa retal após 24 horas de tratamento tópico com as nanopartículas carregadas e controle. Há diferença estatística entre as amostras testadas. 29

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Precisão do método analítico obtida a partir de repetidas injeções de soluções de azitromicina em concentrações conhecidas e análise dos resultados por HPLC. 25
- Tabela 2** - Avaliação macroscópica dos filmes poliméricos..... 26
- Tabela 3** - Caracterização dos filmes de quitosana contendo azitromicina..... 27

LISTA DE ABREVIATÓES

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CV (%) – Coeficiente de Variação Percentual

DP – Desvio Padrão

HPLC – High Performance Liquid Chromatography (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

ICH – International Council for Harmonisation

IM – Intramuscular

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

mA – miliAmpère (unidade de medida usada nas áreas dos picos cromatográficos)

PBS – Phosphate Buffered Saline (Solução Tampão Fosfato)

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

SD – Standard Deviation (Desvio Padrão)

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1.	Azitromicina	4
2.1.1.	Farmacodinâmica e farmacocinética	5
2.1.2.	Utilização da azitromicina na bovinocultura	9
2.2.	Administração de fármacos por via retal.....	11
2.3.	Mecanismos de permeação de fármacos através da mucosa retal	12
2.4.	Filmes bioadesivos	14
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1.	Material.....	16
3.1.1.	Reagentes e insumos	16
3.1.2.	Obtenção da mucosa retal de bovino	17
3.2.	Método analítico para quantificação da azitromicina	17
3.3.	Validação do método analítico para quantificação da azitromicina	18
3.3.1.	Linearidade	18
3.3.2.	Seletividade	18
3.3.3.	Sensibilidade	19
3.3.4.	Precisão e exatidão	19
3.4.	Preparação e caracterização dos filmes bioadesivos	20
3.4.1.	Caracterização macroscópica dos filmes bioadesivos.....	21
3.5.	Ensaio in vitro de permeação através da mucosa retal de bovinos	22
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
4.1.	Validação do método analítico para quantificação da azitromicina	24
4.2.	Obtenção e caracterização macroscópica dos filmes bioadesivos	26
4.3.	Permeação retal ex vivo da azitromicina	28
5.	CONCLUSÃO	30
6.	REFERÊNCIAS	31

1. INTRODUÇÃO

Na medicina veterinária os antimicrobianos são substâncias amplamente utilizadas no tratamento de uma infinidade de doenças, compreendendo grande parte da produção de medicamentos destinados a animais (AHMED et al., 2019). Dentre os mais utilizados na medicina veterinária, a Azitromicina é rotineiramente utilizada, integrante da classe dos macrolídeos, é classificada entre os antimicrobianos semissintéticos conhecidos como azalídeos, resultantes da modificação estrutural da eritromicina, a partir da introdução de um átomo de nitrogênio na posição 9 do anel macrocíclico (MULAZIMOGLU et al., 2005).

A azitromicina distingue-se dos macrolídeos tradicionais por apresentar uma série de propriedades vantajosas. Devido às modificações estruturais previamente descritas, esse antibiótico exibe maior atividade frente a bactérias gram-negativas, superando, nesse aspecto, agentes como a eritromicina, ao mesmo tempo em que mantém eficácia comparável contra microrganismos gram-positivos (KETTLE, S. et al; 2020). Outro diferencial relevante é sua maior estabilidade em meio ácido, conferindo-lhe maior resistência à degradação gástrica do que a eritromicina. Ademais, a azitromicina apresenta distribuição tecidual mais ampla e uma meia-vida de eliminação prolongada, o que favorece regimes terapêuticos menos frequentes (PARNHAM, 2014).

De maneira semelhante aos demais macrolídeos, a azitromicina apresenta a capacidade de se acumular no interior das células fagocíticas (MCCONNELL, 1999), penetrando por meio de difusão não iônica (MULAZIMOGLU et al., 2005). Uma vez no ambiente intracelular, localiza-se predominantemente nos lisossomos, onde se concentra devido ao fenômeno de aprisionamento iônico (GÓMEZ-LUS et al., 2005). Estudos sugerem que o acúmulo desses antimicrobianos nos leucócitos poderia potencializar a eficácia dos mecanismos de defesa mediados pela imunidade celular. Em especial, neutrófilos, macrófagos e monócitos seriam capazes de internalizar essas moléculas nos lisossomos e, em resposta a estímulos quimiotáticos, transportá-las ativamente até os focos de infecção (LABRO, 1998; SHRYOCK et al., 1998).

As características previamente descritas indicam que a azitromicina possui potencial terapêutico para combater infecções provocadas por microrganismos aeróbicos Gram-positivos com capacidade de sobrevivência intracelular nos lisossomos, como ocorre nos casos de mastite bovina causada por *Staphylococcus aureus* (BERGOGLIO, 1993). Demonstra boa atividade contra *Streptococcus bovis*, é eficaz frente a microrganismos patogênicos comumente isolados do trato urogenital, como *Chlamydia trachomatis* e *Ureaplasma urealyticum*, assim como contra patógenos respiratórios atípicos, incluindo *Chlamydia pneumoniae* e *Mycoplasma pneumoniae* (PECHERE, 1991).

Na medicina veterinária a administração de medicamentos deve considerar diferentes características dos pacientes, tais como a anatomia e fisiologia distintas das espécies, o contato dos mesmos com seres humanos, o temperamento, as condições patológicas, o tipo de alimentação, fatores econômicos, entre outros, a fim de escolher o medicamento e a via de administração mais adequadas (AHMED; KASRAIAN, 2002; SUN et al., 2004).

Rotineiramente a terapia antimicrobiana animal é feita pela via oral ou parenteral, sendo uma atividade trabalhosa devido à falta de cooperação durante a administração de fármacos pela via oral e pela complexidade da administração intravenosa (SUN et al., 2004), o que compromete a administração dos medicamentos e pode acarretar insucesso da terapia.

Apesar de a administração oral ser geralmente considerada a mais prática para o uso de medicamentos, há situações em que essa via se torna inviável, seja por limitações clínicas ou farmacotécnicas. Nessas condições, a administração retal surge como uma alternativa viável, permitindo tanto efeitos locais quanto sistêmicos. O reto oferece um ambiente fisiológico relativamente estável, com baixa atividade enzimática em comparação às demais regiões do trato gastrointestinal. Além disso, os fármacos absorvidos por essa via podem evitar parcialmente o metabolismo hepático de primeira passagem, favorecendo uma maior biodisponibilidade. Por essas razões, a via retal pode proporcionar concentrações terapêuticas eficazes em nível local e sistêmico para diferentes princípios ativos (HUA, 2019).

O tratamento dos animais domésticos de grande porte normalmente apresenta uma dificuldade devido à falta de habilidade para administração por via oral e à falta de conhecimentos e habilidade para aplicação da medicação via parenteral, principalmente no caso de doses múltiplas. Este fato corrobora com os casos de abscessos ou infecções locais devida o uso de medicamentos por vias não recomendadas ou uso de agulhas contaminadas (REHAGRO, 2018).

A administração retal de antibióticos de diversas classes como sulfonamidas e macrolídeos são descritas na literatura (BERGOGNE-BÉRÉSIN, 1999). Apesar de raramente ser mencionada em estudos farmacocinéticos clínicos, os mecanismos de absorção dos fármacos não são diferentes daqueles encontrados na porção superior do trato gastrointestinal (BAVISKAR et al., 2013).

A flora intestinal, a frequência e o volume fecal dos animais de grande porte podem se apresentar como uma barreira considerável à absorção de fármacos administrados pelos supositórios. O tempo de retenção das drogas administradas no reto em animais pode ser muito curto, pois depende da frequência da passagem fecal, que é consideravelmente maior em cavalos do que em cães, gatos ou humanos. Além disso, grandes volumes de drogas ou substâncias irritantes podem estimular a eliminação precoce (KING, 1994).

Para a administração de fármacos pela via retal, são desenvolvidos bioadesivos que são aplicados na mucosa intensificando o contato do fármaco com a barreira epitelial (ANDREWS et al., 2009). O aumento do tempo de permanência da preparação farmacêutica no local, aliada à liberação controlada, pode favorecer a manutenção da concentração efetiva no local de ação ou absorção e o controle da liberação do fármaco, podendo, dessa forma, aumentar a eficiência terapêutica e reduzir a dose e a frequência de administração do fármaco (WOODLEY, 2001).

Com o intuito de oferecer uma alternativa às formulações já existentes de azitromicina e contribuir para estratégias terapêuticas, este estudo teve como objetivo o desenvolvimento e a caracterização de filmes mucoadesivos de aplicação retal contendo azitromicina, direcionados ao tratamento de animais de grande porte, como os bovinos, além da padronização do método analítico para quantificação do fármaco.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Azitromicina

Os agentes antimicrobianos, sejam de origem natural ou sintética, possuem a capacidade de impedir o desenvolvimento ou eliminar microrganismos, sendo empregados tanto na prevenção quanto no tratamento de infecções. Esses fármacos podem ser classificados conforme seu espectro de atividade, composição química ou modo de ação. Dentre os diversos grupos existentes, destacam-se os macrolídeos como uma categoria relevante (FILHO et al., 2015).

A azitromicina é um macrolídeo ácido estável, semissintético, desenvolvido a partir da eritromicina. Distingue-se desta por apresentar melhor tolerabilidade quando administrada por via oral, além de possuir um espectro antimicrobiano mais amplo e características farmacocinéticas superiores, como maior capacidade de penetração tissular. Trata-se do protótipo de uma nova subclasse de antibióticos macrolídeos, denominados azalídeos, caracterizados por possuírem um anel macrocíclico com 15 membros (DAVIDSON ,2019).

A principal diferença estrutural em relação à eritromicina consiste na inserção de um átomo de nitrogênio ligado a um grupo metila na nona posição do anel lactônico, o que resulta na fórmula molecular $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$ e em um peso molecular de 749,00 (BRIGHT, G. M.; et al. 1998). Essa modificação estrutural pode ser claramente observada na Figura 1.

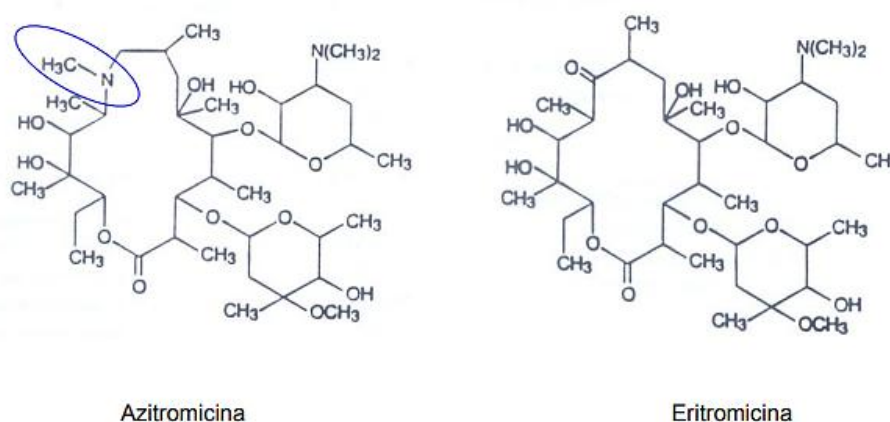


Figura 1 - Estrutura química da azitromicina e eritromicina com destaque à inserção do átomo de nitrogênio ao grupo metila. Retirado de Turic (2011).

O efeito antibacteriano da azitromicina, assim como o dos demais macrolídeos, está associado à sua ligação reversível à subunidade ribossomal 50S das bactérias, o que resulta na inibição da síntese de proteínas. A ação do fármaco pode ser bacteriostática ou bactericida, dependendo tanto da suscetibilidade do microrganismo quanto das concentrações de azitromicina alcançadas nos tecidos infectados (NEU, 1990).

A presença de um grupo metila na nona posição do anel macrolídeo confere à molécula uma carga positiva adicional. Essa modificação estrutural contribui para ampliar o espectro antimicrobiano da azitromicina, tornando-a mais eficaz do que a eritromicina contra a maioria dos microrganismos gram-negativos (DUNN, 1996).

2.1.1. Farmacodinâmica e farmacocinética

A azitromicina é considerada mais estável que a eritromicina em ambientes ácidos, característica atribuída à inserção de um átomo de nitrogênio na nona posição do anel lactônico, o que confere à molécula um segundo ponto de protonação. Essa modificação química não apenas aumenta sua estabilidade em meio ácido, como também favorece sua absorção no trato gastrointestinal, reduzindo, conseqüentemente, a incidência de efeitos adversos gastrointestinais (TURIC, E. 2011).

Quando administrada por via oral em seres humanos, a azitromicina apresenta uma biodisponibilidade aproximada de 37%, valor superior ao da eritromicina, cuja biodisponibilidade oral gira em torno de 25% (SHEPARD RM.; FALKNER, FC. 1990). Quando administrada por via oral em potros, a azitromicina apresenta uma biodisponibilidade aproximada de 56%, o que representa uma absorção satisfatória, embora inferior à administração intravenosa, que apresenta biodisponibilidade plena (100%). A absorção da azitromicina por via oral em ruminantes tende a ser ineficiente e irregular, evidenciando um padrão farmacocinético comum a esses animais, incluindo bovinos adultos. Essa limitação se deve, principalmente, à degradação do fármaco no ambiente ruminal, associado à variabilidade na absorção intestinal (JACKS, 2001).

Os macrolídeos, como classe de antibióticos, apresentam boa absorção gastrointestinal quando não são degradados pelo ácido gástrico, o que os torna candidatos viáveis para administração oral. Contudo, essa característica depende da estabilidade da formulação. Para evitar a degradação ácida, especialmente relevante em ruminantes, as apresentações orais costumam ser protegidas com revestimento entérico ou convertidas em sais ou ésteres estáveis, como estearato, lactobionato, glucoheptato, propionato e etilsuccinato. Essa proteção é essencial, visto que a trituração ou divisão de comprimidos com revestimento entérico compromete a eficácia, pois expõe o princípio ativo à degradação gástrica. Já os ésteres necessitam ser hidrolisados para liberar a forma ativa da substância (MERCK VETERINARY MANUAL, 2021).

Nos bovinos, a absorção entérica de macrolídeos é especialmente desafiadora devido às particularidades do trato digestivo dos ruminantes. A passagem pelo sistema rumino-retículo torna a absorção oral mais lenta e irregular, interferindo na biodisponibilidade do fármaco. Embora essa classe de antimicrobianos seja geralmente reconhecida por sua alta biodisponibilidade oral, esse parâmetro pode variar significativamente conforme a espécie animal, o fármaco específico e a forma química utilizada (TURIC, 2011).

Estudos indicam, por exemplo, que a tilosina, um outro macrolídeo, possui biodisponibilidade oral de 35% na forma tartarato, mas apenas 14% quando administrada como fosfato. No caso da azitromicina, embora existam dados robustos em espécies monogástricas e neonatos, como potros (39% a 56%), gatos (59%) e cães (97%), ainda são escassos os dados específicos para bovinos adultos. Essa lacuna se acentua diante do desafio fisiológico imposto pelo rúmen, que pode comprometer a previsibilidade e eficiência da absorção do fármaco. Esses aspectos ressaltam a importância do desenvolvimento de formulações adaptadas à fisiologia digestiva bovina e da realização de estudos específicos nessa espécie, sobretudo diante do crescente interesse pelo uso off-label da azitromicina em condições clínicas de rebanhos (MERCK VETERINARY MANUAL, 2021).

A azitromicina, como representante da classe dos macrolídeos, compartilha a característica farmacocinética de ampla distribuição tecidual, superando frequentemente as concentrações plasmáticas, com destaque para

sua elevada afinidade por células fagocíticas, como os macrófagos. Nessas células, os níveis da droga podem ser até 20 vezes superiores aos do plasma, o que contribui significativamente para sua eficácia prolongada e justifica os amplos intervalos entre doses em regimes terapêuticos específicos, como os adotados para a tilmicosina e a tulatromicina. No caso da azitromicina, esse acúmulo intracelular facilita a liberação sustentada do fármaco nos sítios de inflamação, promovida pelos leucócitos que migram ativamente para o tecido afetado (HUANG, 2018).

Nos bovinos, essa propriedade é especialmente relevante diante da alta incidência de enfermidades respiratórias, uma vez que a azitromicina demonstra concentrações extremamente elevadas no fluido de revestimento epitelial pulmonar, superando em muito os níveis séricos após a administração. Essa característica sugere uma notável penetração e retenção nos tecidos pulmonares, o que a torna uma alternativa potencialmente eficaz no controle de pneumonias e outras infecções respiratórias bovinas, ainda que seu uso permaneça extrarrótulo nesta espécie (BLONDEAU, 2022).

Além dos pulmões, os macrolídeos apresentam considerável distribuição para órgãos como fígado, baço e rins, também são detectados nos fluidos pleural e ascítico. Em relação à penetração ocular e no líquido cefalorraquidiano (LCR), essa é geralmente limitada, com porcentagens variando de 2% a 13% da concentração plasmática, exceto quando há inflamação meníngea, que facilita a difusão (ZHANG et al., 2025).

Por sua natureza química de base fraca, a azitromicina se acumula em meios ácidos como a bile, leite e LCR, através do mecanismo conhecido como aprisionamento iônico. Esse fator, associado à sua meia-vida prolongada, reforça seu potencial de atuação prolongada mesmo após administração única. Em termos de ligação às proteínas plasmáticas, a azitromicina apresenta taxa moderada ($\approx 50\%$), com maior afinidade por glicoproteínas ácidas alfa-1 do que por albumina, o que favorece sua circulação livre e distribuição ativa para os tecidos infectados (ZHANG et al., 2025).

O perfil farmacocinético da azitromicina é caracterizado por uma rápida e ampla captação a partir da circulação sanguínea para os compartimentos

intracelulares, seguida por uma fase de eliminação lenta. Esse comportamento pode justificar os baixos picos de concentração plasmática, os quais, em humanos, atingem cerca de 0,4 mg/L aproximadamente 2,5 horas após a administração oral de uma dose de 500 mg (PETERS, D.H. et al., 1992).

A molécula demonstra ampla distribuição no organismo, sendo frequentemente detectadas concentrações elevadas em diversos tecidos e órgãos, como pulmões, amígdalas, próstata, fígado e linfonodos, além de fluidos teciduais e diferentes tipos celulares, incluindo fagócitos circulantes (JOHNSON, 1990).

A ligação da azitromicina às proteínas plasmáticas varia de acordo com a concentração: em níveis entre 0,002 e 0,05 mg/L, essa ligação é de aproximadamente 50%, reduzindo-se para cerca de 7% quando a concentração atinge 1 mg/L. Essa afinidade proteica é consideravelmente inferior à observada para a eritromicina (72% a 0,4 mg/L) e para a roxitromicina (96% a 2,5 mg/L), o que indica que uma proporção significativa da azitromicina permanece na forma livre, estando assim disponível para distribuição nos locais de infecção (PETERS, D.H.; et al., 1992).

Esse comportamento farmacológico foi comprovado por meio de um modelo experimental de infecção em animais (infecção por *Haemophilus influenzae* em camundongos), no qual se observaram elevadas concentrações da droga no parênquima pulmonar dos animais infectados (12 mg/kg), em comparação ao grupo controle que recebeu a mesma dose (50 mg/kg). Esses resultados são atribuídos à elevada concentração intracelular da azitromicina nos leucócitos polimorfonucleares e à sua lenta liberação a partir do foco infeccioso pulmonar (FIETA, A.; et al., 1997).

O acúmulo intracelular da azitromicina é influenciado por diversos fatores, como a concentração extracelular do antibiótico, a viabilidade celular, a presença de cálcio extracelular, além da temperatura e do pH do meio (LAUFEN, H.; et al., 1990). O principal mecanismo de transporte da droga através da membrana das células fagocíticas é a difusão passiva, sendo o transporte ativo de menor relevância nesse processo. A entrada da azitromicina nas células não é significativamente afetada por inibidores do metabolismo celular, embora possa

ser levemente influenciada pela atividade fagocitária (HOFFLER, D.; et al., 1995).

A eliminação do fármaco a partir das células ocorre de maneira bastante lenta, podendo ser acelerada por substâncias capazes de neutralizar o pH lisossomal. Essa neutralização impede a protonação da molécula, favorecendo sua liberação e reduzindo o tempo de retenção intracelular (HAND WL, HAND DL. 2001).

Quanto à excreção, a azitromicina é eliminada predominantemente via biliar, sendo excretada inalterada nas fezes. A excreção urinária é menos expressiva, correspondendo a cerca de 6 % da dose oral administrada e chegando a aproximadamente 11 % nas primeiras 24 horas após administração intravenosa. Esses dados indicam que a excreção intestinal ou transintestinal constitui a via principal de eliminação da fração não metabolizada da droga (ZHANG et al., 2025)

A depuração do fármaco no soro sanguíneo segue um padrão polifásico, caracterizado por uma distribuição inicial rápida nos tecidos, seguida de uma liberação mais lenta a partir dos compartimentos tissulares; isso resulta em meia-vida terminal prolongada de cerca de 68–70 horas (MOHSEN et al., 2022).

A incidência de efeitos adversos de macrolídeos e azalídeos depende da espécie animal; em geral, são bem tolerados em cães e gatos. Efeitos adversos após administração intramuscular (IM) foram observados em diversas espécies, devido à natureza irritante dos macrolídeos. Portanto, reações no local da injeção e tromboflebite não são incomuns após a administração. Reações de hipersensibilidade ocorrem ocasionalmente (BLONDEAU, 2022).

2.1.2. Utilização da azitromicina na bovinocultura

A azitromicina é um macrolídeo de alta importância na bovinocultura, especialmente no contexto do controle da doença respiratória bovina (IBR) em bovinos de confinamento. A IBR é uma doença economicamente significativa em bovinos confinados (MILES, 2009; TAYLOR et al., 2010). Os possíveis organismos causadores incluem *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni*, *Mycoplasma bovis*, *herpesvírus bovino*, vírus da

diarreia viral bovina, vírus sincicial respiratório bovino e vírus da parainfluenza tipo 3. Apesar de o estudo destacar principalmente a tulathromicina, a azitromicina, como parte do grupo dos macrolídeos, possui efetividade semelhante na redução da incidência de BRD, sendo considerada uma estratégia eficaz para a rápida intervenção na chegada ao confinamento (ABELL et al., 2017; BAPTISTE; KYVSGAARD, 2017).

A aplicação é feita geralmente por injeção intramuscular logo na entrada dos animais, visando prevenir o desenvolvimento da doença durante os primeiros 45 dias de confinamento, período de maior risco. A principal vantagem do uso da azitromicina reside na sua alta atividade bactericida, penetração tecidual e potencial de uma única dose eficaz, facilitando o manejo e aumentando a adesão ao protocolo de controle. Contudo, é fundamental que seu uso seja racional e consciente, considerando sua classificação como antibiótico de importância crítica pela Organização Mundial da Saúde (OMS), para minimizar o risco de desenvolvimento de resistência antimicrobiana e garantir a sustentabilidade do seu uso na bovinocultura e na saúde pública (O'CONNOR et al., 2019).

Além disso, a azitromicina tem sido empregada no tratamento de infecções de tecidos moles e na gestão de doenças oportunistas que envolvem *Mycoplasma*, um patógeno relevante na bovinocultura, graças à sua capacidade de penetrar bem nos tecidos e atingir bactérias intracelulares. Sua eficácia também pode ser explorada em casos de infecções secundárias relacionadas a outros processos infecciosos ou traumáticos, contribuindo para a melhora do quadro clínico e acelerando a recuperação dos animais (HENDRICK et al., 2013).

A azitromicina tem sido estudada como uma opção terapêutica na bovinocultura, especialmente no tratamento de infecções por protozoários como *Cryptosporidium parvum*, devido à sua eficácia na redução da diarreia e na diminuição da excreção de oocistos em bezerros jovens. No entanto, o uso oral da azitromicina apresenta algumas limitações, como a alta variação na absorção gastrointestinal, o custo elevado do medicamento em alguns países, além do potencial resistência bacteriana e o risco de efeitos adversos, o que requer uma administração cuidadosa e criteriosa. Essa limitação na biodisponibilidade oral

pode comprometer a efetividade do tratamento, demandando doses mais elevadas ou administrações mais frequentes, o que aumenta os custos e o risco de efeitos colaterais, dificultando a implementação ampla desse medicamento em operações de bovinocultura de forma rotineira (GUMAA et al., 2025).

2.2. Administração de fármacos por via retal

A anatomia do reto bovino apresenta particularidades importantes para a administração de medicamentos via mucosa retal, tornando essa via potencialmente eficaz em determinadas situações clínicas. O reto constitui a porção final do intestino grosso, estendendo-se por aproximadamente 25 a 30 cm em bovinos, e termina no ânus, sendo delineado por esfíncteres interno e externo (DYCE, 1997)

Estruturalmente, possui uma parede composta por mucosa, submucosa, túnica muscular e camada adventícia exposta em parte da sua extensão, o que facilita sua adaptação ao alojamento de supositórios ou enemas. O reto bovino destaca-se por sua ampola retal dilatada, que desempenha papel importante na estocagem temporária de fezes e serve como reservatório eficiente para formulações farmacêuticas administradas por esta via (DRENCKHAHN.; WASCHKE, 2008)

Do ponto de vista vascular, o reto bovino é irrigado por artérias retais superior, média e inferior e possui drenagem venosa tanto sistêmica quanto portal, o que pode permitir que parte da dose administrada evite o metabolismo hepático de primeira passagem, aumentando a biodisponibilidade de fármacos que sofrem intenso metabolismo hepático (BERGOGNE-BÉRÉZIN; BRYSKIER, 1999). Os fármacos absorvidos pela via retal, a partir das veias hemorroidais inferiores, ao contrário do que ocorre após a administração oral, evitam a circulação portal durante sua primeira passagem pela circulação geral, permitindo assim que fármacos que seriam destruídos pelo fígado exerçam efeitos sistêmicos (ANSEL et al., 2000).

Supositórios são formas farmacêuticas sólidas com variados pesos e formas, usados principalmente para inserção de fármacos no reto, mas também

podem ser administrados em outras mucosas como a vagina e a uretra (GENNARO, 2004). Possui a finalidade de obter efeito local como em casos de fissuras ou lacerações, e efeitos sistêmicos, como analgesia, tranquilizantes, entre outros. A dose do fármaco administrada pode sofrer alterações devidos a fatores que influenciam a absorção de fármacos por esta via, como conteúdo do cólon, rota circulatória, pH e características físico-químicas do fármaco e da base (ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2013).

A literatura traz uma série de estudos envolvendo a incorporação de fármacos de diversas classes em supositórios. Há estudos a respeito da incorporação de antibióticos (BERGOGNE-BÉRÉZIN; BRYSKIER, 1999; KAUSS et al., 2013; NISHIHATA et al., 1984) e anti-inflamatórios (JANICKI et al., 2001; ORLOVA et al., 2010; UZUNKAYA; BERGIŞADI, 2003).

As bases empregadas na obtenção de supositórios podem ser oleosas ou hidrossolúveis. Uma base adequada deve ser capaz de se fundir, amolecer ou dissolver para liberar os fármacos para a absorção e não deve interagir com o fármaco de modo que impeça a sua liberação. Em geral, fármacos solúveis em óleo tendem a liberar mais lentamente quando formuladas em bases oleosas, uma vez que após a fusão da base o fármaco tende a permanecer no óleo e tem pouca tendência de migrar nos líquidos fisiológicos aquosos (ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2000).

2.3. Mecanismos de permeação de fármacos através da mucosa retal

Os mecanismos de permeação de fármacos através da mucosa retal em animais envolvem diversos fatores anatômicos, fisiológicos e físico-químicos que, quando compreendidos, permitem o desenvolvimento de formulações eficazes para essa via alternativa de administração. O principal processo de absorção ocorre por meio da difusão transcelular, sendo favorecido por características lipofílicas da molécula, que facilitam sua passagem através das células epiteliais da mucosa retal (HUA, 2019). Essa via é especialmente importante em formulações com propriedades mucoadesivas, como hidrogéis, que aumentam o tempo de contato do fármaco com a mucosa, prolongando a absorção e melhorando sua eficácia terapêutica (AMIN et al., 2018).

Além da difusão transcelular, a via paracelular também contribui, ainda que em menor grau, para a absorção de compostos menos lipofílicos. Essa permeação ocorre pelos espaços intercelulares, sendo influenciada pela estrutura da mucosa e pela presença de muco, que pode agir como barreira ou veículo, dependendo da formulação utilizada. Dessa forma, tanto as características moleculares do fármaco quanto o tipo de excipiente e o pH local influenciam diretamente a taxa de absorção (HUA, 2019).

O tipo de veículo farmacêutico e o tamanho das partículas da formulação também exercem papel determinante no processo de permeação. Formas farmacêuticas em base aquosa, como supositórios ou géis, apresentam maior compatibilidade com o ambiente retal, o que favorece a difusão e dissolução do princípio ativo. Partículas de menor diâmetro (inferiores a 100 nm) demonstram melhor performance absorptiva, por apresentarem maior área de contato com a mucosa (AMIN et al., 2018).

Do ponto de vista fisiológico, o tempo de retenção do medicamento na cavidade retal, influenciado pela motilidade intestinal e pelo volume da formulação, impacta diretamente a absorção sistêmica do fármaco. O ambiente retal apresenta características favoráveis à absorção, como pH neutro (aproximadamente 6 a 7), volume de fluido reduzido (em torno de 3 mL) e baixa atividade enzimática, o que reduz a degradação pré-sistêmica e permite maior aproveitamento do fármaco administrado (TUKKER; DE BLAHEY; CHARBON, 1984).

Outro fator de relevância farmacocinética é a drenagem venosa da mucosa retal, parcialmente feita por veias que não passam pelo sistema porta hepático. Essa condição permite que cerca de dois terços da dose do fármaco evite o metabolismo de primeira passagem hepática, o que amplia significativamente sua biodisponibilidade em comparação à via oral (HUA, 2019). Tal característica é particularmente vantajosa no tratamento com princípios ativos que sofrem intensa metabolização hepática, proporcionando maior eficácia com doses potencialmente menores.

Modelos experimentais em espécies veterinárias fornecem evidências consistentes sobre a eficiência da via retal. Em cães, por exemplo, observou-se que o cetoprofeno administrado por supositório apresentou absorção satisfatória e biodisponibilidade semelhante à via oral. Em equinos, a administração retal de ácido acetilsalicílico resultou em biodisponibilidade até três vezes maior que pela via intragástrica, com picos plasmáticos significativamente superior (PHARMACOKINETIC, 2006). Embora ainda não haja estudos específicos sobre bovinos abordando a farmacocinética retal de forma aprofundada, esses resultados, associados à semelhança anatômica entre grandes herbívoros, sustentam o potencial dessa via para aplicação em ruminantes, desde que estudos específicos sejam conduzidos.

2.4. Filmes bioadesivos

Os filmes constituem sistemas de liberação de fármacos elaborados com substâncias que, ao serem hidratados, adquirem propriedades bioadesivas. Esse fenômeno ocorre por meio da interação entre um polímero que pode ser de origem natural ou sintética e uma superfície biológica, promovendo a união entre ambas. Quando essa adesão se dá sobre mucosas, é denominada mucoadesão (ANDREWS; LAVERTY; JONES, 2009). Entre as mucosas comumente utilizadas para administração de agentes terapêuticos destacam-se as vias nasal, pulmonar, retal, vaginal, bucal e sublingual (MANOHAR; SRIDHAR; MALLIKARJUNA, 2012).

Os filmes com capacidade bioadesiva são projetados para veicular o princípio ativo diretamente ao seu sítio de ação, permanecendo aderidos à superfície mucosa onde o efeito farmacológico se deseja alcançar. Essa permanência localizada favorece a disponibilização eficiente do fármaco, resultando em maior biodisponibilidade (PATEL; PRAJAPATI; PATEL, 2007; ANDREWS; LAVERTY; JONES, 2009).

A adesão promovida por filmes bioadesivos pode ocorrer por meio de diferentes tipos de interações moleculares, como ligações iônicas, covalentes, pontes de hidrogênio e forças de van der Waals. Diversas teorias foram propostas para explicar o fenômeno da mucoadesão, sendo que a aplicabilidade

de cada uma pode variar conforme a forma farmacêutica empregada, o grau de hidratação do polímero e as condições do muco, incluindo sua presença e integridade (SMART, 2005; KHUTORYANSKIY, 2011; GUPTA, 2020).

Por se tratar de um processo multifatorial, a mucoadesão é geralmente descrita em duas etapas principais. A primeira, denominada fase de contato, corresponde ao momento em que ocorre o posicionamento íntimo entre o filme e a superfície mucosa. A segunda, conhecida como fase de consolidação, envolve o estabelecimento das interações físico-químicas responsáveis por garantir uma adesão eficaz e duradoura (SMART, 2005; KHUTORYANSKIY, 2011; GUPTA, 2020; SHARMA et al., 2024).

Essa etapa de consolidação pode ocorrer por dois mecanismos distintos. No primeiro, chamado de interpenetração macromolecular, as cadeias poliméricas do material bioadesivo penetram na malha de glicoproteínas presentes no muco, promovendo a fixação. No segundo, ocorre a desidratação do sistema, geralmente por meio da aplicação de um polímero com alta capacidade de gelificação quando exposto à água. Nessa condição, o contato com a mucosa, que fornece o meio aquoso, desencadeia uma pressão osmótica e uma força de intumescimento que favorecem a adesão. Contudo, é essencial estabelecer um equilíbrio hídrico adequado, pois a hidratação excessiva pode levar à formação de uma mucilagem escorregadia, facilmente removível e com baixa capacidade de adesão (SMART, 2005; GUPTA, 2020).

A formulação de sistemas farmacêuticos na forma de filmes bioadesivos envolve uma série de desafios tecnológicos, entre os quais se destacam o aprimoramento da capacidade de adesão à mucosa, o aumento da permeação do fármaco e o controle da sua liberação ao longo do tempo. Nessa perspectiva, a seleção adequada do polímero que compõe a matriz do filme é um dos principais fatores determinantes para o desempenho da formulação.

Polímeros com características hidrofílicas, por exemplo, têm se mostrado eficazes na promoção da bioadesão, uma vez que são capazes de estabelecer interações com as cadeias de mucina presentes nas mucosas, como a bucal (MORALES; MCCONVILLE, 2011). Além da afinidade com a mucosa, outras

propriedades desses polímeros contribuem para sua funcionalidade, como a presença de cargas elétricas (aniônicas ou catiônicas), grupos funcionais específicos (tais como carboxila, hidroxila, amino e sulfato), elevado peso molecular, flexibilidade estrutural e propriedades de energia superficial que favorecem a disseminação do filme sobre o muco (KHUTORYANSKIY, 2011).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

3.1.1. Reagentes e insumos

A azitromicina (N-Metil-11-aza-10-deoxo-10-dihidro-eritromicina A), utilizada nos experimentos foi fornecida pelo laboratório Merck (Rio de Janeiro, Brasil), apresentando grau de pureza adequado para análises farmacêuticas e manipulações laboratoriais. O insumo foi empregado como princípio ativo na formulação dos filmes bioadesivos desenvolvidos, sendo previamente caracterizado quanto à sua identidade e integridade físico-química antes do uso experimental. Os solventes empregados nas análises cromatográficas, como acetonitrila e etanol, foram obtidos da Dinâmica Química Contemporânea Ltda., São Paulo, Brasil. Para a fabricação dos filmes bioadesivos, foram utilizados álcool polivinílico (PVA), quitosana de médio peso molecular e Poloxamer®407, todos fornecidos pela Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha), além de propilenoglicol da Dinâmica Química Contemporânea Ltda. (São Paulo, Brasil). Outros reagentes utilizados incluíram dimetilsulfóxido e Tween®80, ambos também provenientes da Dinâmica Química Contemporânea Ltda. (São Paulo, Brasil), assim como ácido acético e acetato de sódio da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). Para os ajustes de pH, empregou-se hidróxido de sódio, fornecido pela Dinâmica Química Contemporânea Ltda. (São Paulo, Brasil). A preparação do tampão empregado como meio receptor contou com os sais fosfato de sódio nas formas monobásica e dibásica da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil), Tween®80 da Dinâmica Química Contemporânea Ltda. (São Paulo, Brasil). A técnica de tape-stripping foi realizada utilizando fita adesiva Scotch no. 845 Book Tape (3M, St. Paul, Estados Unidos da América).

Os filtros utilizados nas análises, com diâmetro de 22 mm e porosidade de 0,45 µm, tanto hidrofóbicos quanto hidrofílicos, foram adquiridos da Analítica (São Paulo, Brasil). Todas as análises experimentais foram conduzidas com água ultrapurificada, obtida por meio de sistema Millipore (Illkirch-Graffenstaden, França).

3.1.2. Obtenção da mucosa retal de bovino

A mucosa retal bovina empregada nos ensaios de permeação foi obtida a partir de animais recém-óbito (intervalo inferior a uma hora), pertencentes a uma propriedade rural especializada na criação de bovinos na região do Distrito Federal. A equipe de pesquisa foi previamente comunicada pelos responsáveis da fazenda sobre a ocorrência do óbito, permitindo o deslocamento imediato ao local para a coleta do tecido. A dissecação foi realizada in loco por profissionais treinados, utilizando instrumentos esterilizados, com o objetivo de remover cuidadosamente os segmentos da mucosa retal, assegurando a integridade estrutural do tecido e minimizando alterações morfológicas e bioquímicas decorrentes da degradação post-mortem.

Após a retirada, os fragmentos da mucosa foram imediatamente acondicionados em frascos estéreis contendo solução salina isotônica fria e mantidos sob refrigeração (4 °C) durante o transporte até o laboratório. O processamento dos tecidos ocorreu no mesmo dia da coleta, garantindo a manutenção das propriedades fisiológicas e histológicas da mucosa para os ensaios in vitro de permeação. Todo o procedimento foi conduzido conforme normas de biossegurança e boas práticas laboratoriais, visando assegurar a reprodutibilidade e a validade dos dados experimentais obtidos

3.2. Método analítico para quantificação da azitromicina

A dosagem da azitromicina foi realizada utilizando-se um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (CLAE), modelo Shimadzu LC 20-AD, constituído por duas bombas (modelo LC 20-AT), um injetor automático (modelo 9SIL-20AD) e forno (modelo CTO-20AS), acoplados a um detector espectrofotométrico (modelo SPD-M20A) e a um computador equipado com o software de análise cromatográfica Shimadzu LC. Para a separação, empregou-se uma coluna de

fase reversa C18 (150 mm x 4,6 µm) com fase móvel composta por fosfato de sódio dibásico pH 11, e acetonitrila (60:40, v/v). As amostras foram previamente diluídas e recuperadas em metanol grau HPLC. A vazão da fase móvel foi de 1,0 mL/min, com volume de injeção de 10 µL, temperatura do forno ajustada para 40 °C, e a detecção foi realizada no comprimento de onda de 210 nm.

3.3. Validação do método analítico para quantificação da azitromicina

A validação do método analítico para a quantificação da azitromicina foi conduzida conforme os critérios estabelecidos pelas diretrizes da ANVISA e do International Council for Harmonisation (ICH, 2023), contemplando a avaliação de linearidade, seletividade frente a possíveis interferentes dérmicos, sensibilidade expressa pelos limites de detecção e quantificação, bem como a determinação da precisão e exatidão do método empregado.

3.3.1. Linearidade

A avaliação da linearidade do método foi conduzida a partir da preparação de seis diferentes diluições seriadas em metanol, utilizando como base uma solução padrão de azitromicina na concentração de 100 µg/mL, obtida pela diluição de 10 mg do fármaco em 100 mL do solvente. As diluições resultantes, preparadas em triplicata para cada nível, apresentaram concentrações finais de 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 10,0 e 15,0 µg/mL. Com base nesses dados, foi construída a curva analítica relacionando a concentração da azitromicina (µg/mL) com a área do pico correspondente no cromatograma (mA). A análise estatística seguiu o modelo de regressão linear simples, obtendo-se uma equação da forma $y = ax + b$, em que (a) representa o coeficiente angular da reta (indicativo da sensibilidade do método) e (b) o coeficiente linear (relacionado à resposta de fundo). A avaliação da linearidade foi baseada no coeficiente de correlação linear (r), sendo considerado aceitável um valor igual ou superior a 0,99 (ICH, 2023).

3.3.2. Seletividade

Para a avaliação da seletividade do método analítico, foram realizadas injeções no sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) contendo metanol e extratos metanólicos obtidos da mucosa retal bovina. Em

seguida, foram analisadas amostras contendo azitromicina na presença e na ausência dessa matriz biológicas. O tempo de retenção cromatográfico e a área dos picos relativos ao fármaco foram comparados, com o objetivo de verificar se as substâncias presentes nos extratos interferiam na detecção e quantificação da azitromicina pelo método proposto.

3.3.3. Sensibilidade

A determinação do limite de detecção (LD) e do limite de quantificação (LQ) foi realizada com base na avaliação estatística das curvas analíticas, utilizando-se as equações recomendadas pelas diretrizes do ICH (2023). Para o cálculo, adotaram-se as seguintes fórmulas:

$$\begin{aligned}LD &= (3 \times \sigma) / S \\LQ &= (10 \times \sigma) / S\end{aligned}$$

Nas equações, σ corresponde ao desvio padrão da média do intercepto (eixo Y) obtido nas curvas de calibração, enquanto S representa o valor médio do coeficiente angular dessas curvas. Esse procedimento permite estimar, de forma confiável, os menores limites nos quais o analito pode ser detectado e quantificado com precisão estatística aceitável.

3.3.4. Precisão e exatidão

A avaliação da precisão do método analítico teve como finalidade verificar a repetibilidade dos resultados na quantificação da azitromicina. Para isso, foram preparadas amostras do fármaco em três diferentes concentrações dentro da faixa linear validada (1,0; 3,0 e 10,0 $\mu\text{g/mL}$), analisadas em nove repetições independentes para cada concentração. As áreas dos picos cromatográficos obtidos foram convertidas em concentrações, e os resultados foram utilizados para o cálculo do coeficiente de variação (CV%), conforme a seguinte fórmula:

$$\text{CV\%} = (\text{Desvio Padrão} / \text{Concentração Média}) \times 100$$

Em que o desvio padrão expressa a dispersão dos dados em torno da média e a concentração média corresponde ao valor médio das nove determinações por concentração.

A exatidão foi determinada por meio do cálculo da recuperação percentual do fármaco a partir da mucosa retal bovina. Para isso, volumes definidos de uma solução metanólica de azitromicina foram adicionados diretamente sobre fragmentos de mucosa retal isentos de fármaco, a fim de obter concentrações conhecidas de 1,0; 3,0 e 10,0 µg/mL (n = 3 para cada concentração), considerando o volume final do solvente extrator.

Após a evaporação do solvente inicial, foram adicionados 5 mL de metanol a cada amostra, que foram devidamente vedadas, agitadas e mantidas em repouso por 24 horas para extração do fármaco. Em seguida, as amostras foram filtradas em membranas de 0,45 µm e analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), conforme o método previamente estabelecido. A exatidão foi então calculada utilizando a equação:

$$\text{Exatidão (\%)} = (\text{Concentração medida} / \text{Concentração nominal}) \times 100$$

Esse procedimento permitiu avaliar a recuperação da azitromicina na matriz biológica de mucosa retal, garantindo a aplicabilidade e confiabilidade do método analítico para esse tipo de tecido.

3.4. Preparação e caracterização dos filmes bioadesivos

O filme foi desenvolvido com base no método descrito por Tolentino (2024), que empregou a técnica de evaporação de solvente para a obtenção de filmes bioadesivos. A formulação foi elaborada a partir de uma matriz polimérica composta por quitosana, álcool polivinílico (PVA) e Poloxamer®407, tendo como objetivo a incorporação precisa do princípio ativo em uma matriz estável e flexível, destinada à aplicação mucosa. A metodologia de preparo envolveu a solubilização dos polímeros em soluções específicas, a adição controlada do fármaco e a secagem gradual em estufa, garantindo a integridade estrutural do filme e sua uniformidade físico-química (TOLENTINO, 2024). O objetivo da formulação foi incorporar 1,5 g de azitromicina por unidade de filme, com aplicação prevista em mucosa retal.

Inicialmente, 1,0 g de quitosana foi disperso em 100 ml de ácido acético (1% v/v) e mantido sob agitação magnética contínua por 24 horas à temperatura

ambiente para garantir sua completa solubilização. Para a remoção de resíduo dessa solução, foi submetida a centrifugação de 4000rpm durante 25 min. Em paralelo, preparou-se uma solução de PVA a 8,5% (m/v), dissolvendo-se 8,5 g do polímero em água purificada até completar o volume de 100 ml (solução 1). Também foi preparada uma solução de Poloxamer®407 a 1% (m/v), por meio da dispersão de 1 g em 10 ml de água purificada (solução 2), mantida sob refrigeração por 24 horas.

Na sequência do processo, a solução de quitosana foi misturada à de PVA e submetida à agitação contínua por 24 horas. Em seguida, adicionou-se a solução de Poloxamer®407, mantendo a mistura sob agitação constante a 500 rpm durante 20 minutos a 40 °C. Após essa etapa, acrescentou-se o propilenoglicol, mantendo a agitação por mais 10 minutos. Posteriormente, incorporou-se a azitromicina na proporção de 1,5 g por unidade de filme, totalizando 15 g do princípio ativo para a obtenção de 10 filmes. A formulação final foi mantida sob agitação magnética a 500 rpm e temperatura de 40 °C por mais 20 minutos, garantindo a completa homogeneização do sistema.

Na etapa seguinte, a formulação foi deixada em repouso por 12 horas para eliminação de bolhas de ar. Em seguida, foram vertidos 20g da solução final em cada placa de Petri com 9 cm de diâmetro, previamente higienizadas com álcool 70%. As placas foram então levadas à estufa com temperatura controlada a 40 °C por um período de 48 horas, até a formação completa dos filmes bioadesivos. Ao final, os filmes foram cuidadosamente retirados das placas e avaliados quanto suas características macroscópicas.

3.4.1. Caracterização macroscópica dos filmes bioadesivos

Os filmes foram submetidos a análises de caracterização físico-visuais, contemplando parâmetros como aspecto, uniformidade morfológica, integridade estrutural, manuseabilidade e flexibilidade mecânica, visando garantir a adequação tecnológica da formulação desenvolvida às exigências de aplicação tópica.

A determinação do peso dos filmes foi realizada individualmente após sua remoção das placas de moldagem, utilizando uma balança analítica de precisão

(Modelo AUY220, Shimadzu, Kyoto, Japão), sendo os dados apresentados como média e desvio padrão (ARAFÁ et al., 2018). A avaliação da uniformidade de espessura foi conduzida por meio de medições em cinco pontos distintos de cada amostra, empregando-se um paquímetro digital (Mitutoyo, Japão), e os resultados foram igualmente expressos em termos de média e desvio padrão da média (ARAFÁ et al., 2018).

A análise da resistência à dobradura, utilizada para aferir a flexibilidade mecânica dos filmes, consistiu na repetida flexão de um segmento da amostra em um ângulo de 180° no mesmo ponto, até o rompimento do material ou até atingir 300 dobras, prevalecendo o evento que ocorresse primeiro (NAIR et al., 2013; ARAFÁ et al., 2018). Cada ensaio foi conduzido em triplicata para garantir a reprodutibilidade dos resultados.

3.5. Ensaio in vitro de permeação através da mucosa retal de bovinos

Com o propósito de avaliar a capacidade de permeação da azitromicina a partir dos filmes bioadesivos desenvolvidos, foram conduzidos ensaios in vitro utilizando mucosa retal bovina como modelo biológico. A escolha dessa mucosa deve-se ao objetivo da empregabilidade na medicina veterinária do produto.

A mucosa retal bovina foi coletada de animais que vieram a óbito, com intervalo inferior a uma hora, provenientes de uma propriedade rural dedicada à criação de bovinos, sendo transportada ao laboratório sob refrigeração e utilizada no mesmo dia, a fim de preservar suas propriedades histológicas. Ao chegar, os tecidos foram cuidadosamente lavados com solução salina isotônica, isentos de resíduos fecais, gordura ou sangue, e, em seguida, recortados em fragmentos de tamanho padronizado, medindo aproximadamente 3 cm x 3 cm. Estes fragmentos foram então inspecionados quanto à integridade morfológica, descartando-se quaisquer porções danificadas ou com sinais de necrose.

Para o ensaio de permeação, empregou-se o sistema de difusão Phoenix®, com células de Franz, composto por dois compartimentos: o compartimento doador, no qual os filmes contendo azitromicina foram aplicados diretamente sobre a face epitelial da mucosa, e o compartimento receptor, preenchido com solução tampão fosfato (PBS) pH 7,4, mantida a $37 \pm 0,5$ °C, sob

agitação constante de 300 rpm, simulando as condições fisiológicas locais. A área efetiva de difusão das células de Franz foi mantida constante entre as amostras, com aplicação de aproximadamente 1,5 g de azitromicina por unidade de filme.

Durante o período experimental de 24 horas, amostras do meio receptor foram coletadas nos tempos de 0,5 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h e 24 h. Após cada coleta, o volume correspondente foi imediatamente repostado com PBS fresco e previamente aquecido, mantendo as condições de equilíbrio e o volume total constante.

A quantificação da azitromicina permeada foi realizada por técnica analítica previamente validada, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção apropriada, de modo a assegurar a sensibilidade necessária para detectar concentrações do fármaco em níveis traços. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de mucosa, permitindo a comparação direta da permeação entre diferentes tempos de exposição.

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente e utilizados para a construção dos perfis cinéticos de penetração, fornecendo subsídios para inferência dos mecanismos envolvidos, como difusão passiva ou potencial contribuição de propriedades bioadesivas da matriz polimérica sobre a modulação da permeação. Tal investigação é relevante, pois a penetração eficiente do fármaco até as camadas subjacentes da mucosa é essencial para o sucesso terapêutico da formulação, sobretudo em aplicações locais ou regionais.

Esses ensaios permitiram ainda verificar a integridade da mucosa após o contato com os filmes, avaliando-se visualmente a ausência de sinais de agressão tecidual visível, como descoloração, necrose ou edema. A análise conjunta da liberação e penetração proporciona uma visão abrangente da eficácia do sistema de liberação desenvolvido, reforçando sua aplicabilidade na terapêutica local de infecções que demandem ação antibiótica tópica sustentada.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Validação do método analítico para quantificação da azitromicina

Foram elaboradas três curvas analíticas independentes para a quantificação da azitromicina (Figura 2), com o objetivo de validar a linearidade do método cromatográfico. A análise estatística demonstrou que todas as curvas apresentaram coeficientes de correlação linear (r) superiores a 0,99, evidenciando forte correlação entre a concentração do fármaco e a área dos picos cromatográficos. Os valores médios dos coeficientes angulares e lineares das curvas foram de 42.359 e 4.052, respectivamente, com desvio padrão de 723,48 e 2.707,06, confirmando a consistência entre os ensaios realizados. Esses resultados demonstram conformidade com os critérios estabelecidos pela Resolução RDC nº 166/2017 da ANVISA e pelas diretrizes do ICH (2023), validando a linearidade do método no intervalo de concentrações testado.

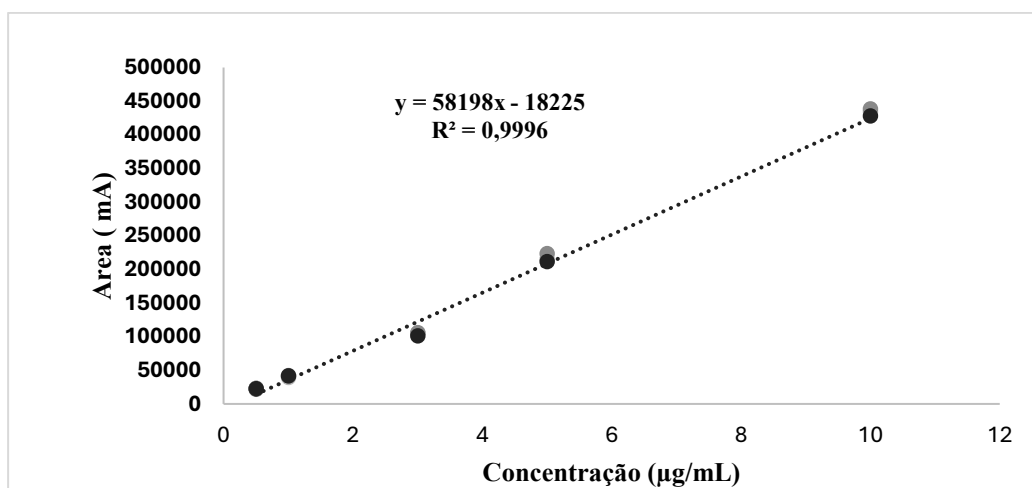


Figura 2 - Representação gráfica da curva analítica obtida da azitromicina por CLAE. Concentrações diluídas em metanol. Equação da reta: $y = 58198x - 18225$ e coeficiente de correlação linear: $r = 0,9996$.

O método analítico demonstrou ser seletivo para a quantificação da azitromicina, uma vez que, na presença de possíveis interferentes oriundos da mucosa retal bovina, não foram observados picos adicionais sobrepostos ou coeluição no mesmo tempo de retenção do fármaco. Essa ausência de interferência confirma a especificidade do método frente à matriz biológica utilizada, assegurando a fidedignidade da detecção e quantificação do princípio ativo.

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) da azitromicina foram determinados por meio das equações preconizadas pelo ICH (2023), com base na média do coeficiente angular das curvas analíticas e no desvio padrão da média dos interceptos. Os valores obtidos para o LD e LQ foram, respectivamente, 0,21 µg/mL e 0,64 µg/mL. Esses resultados demonstram que o método apresenta sensibilidade satisfatória, sendo capaz de detectar e quantificar baixas concentrações do fármaco, mesmo em formulações de liberação controlada e em matrizes biológicas complexas, como a mucosa retal bovina. A adequação desses valores aos requisitos da RDC nº 166/2017 da ANVISA corrobora sua aplicabilidade em estudos de quantificação analítica durante o desenvolvimento de sistemas farmacêuticos tópicos.

A avaliação da precisão foi realizada por meio de análises em triplicata de três concentrações conhecidas do fármaco: 1,0 µg/mL, 3,0 µg/mL e 10,0 µg/mL. A precisão foi expressa como coeficiente de variação (CV%), sendo os resultados apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Precisão do método analítico obtida a partir de repetidas injeções de soluções de azitromicina em concentrações conhecidas e análise dos resultados por HPLC.

Concentração teórica (µg/mL)	Concentração experimental (µg/mL)	Precisão %
1,0	0,96 ± 0,04	4,44
3,0	3,74 ± 0,08	2,03
10,0	10,68 ± 0,30	2,78

Os valores de CV% encontrados foram inferiores ao limite máximo de 5% preconizado pelas diretrizes da ANVISA (RDC nº 166/2017) e do ICH (2023), indicando que o método apresenta precisão adequada nas concentrações testadas.

Quanto à exatidão, os resultados foram expressos como percentual de recuperação da azitromicina em relação à concentração teórica. A análise foi realizada diretamente sobre a mucosa retal bovina. Os valores de recuperação obtidos situaram-se entre 95,96% e 124,76%, estando dentro dos critérios aceitáveis de 85% a 115% (ANVISA, 2017; ICH, 2023), sendo tolerada leve

variação em formulações complexas. Esses dados indicam que o método desenvolvido é também exato para quantificação da azitromicina em matriz biológica.

4.2. Obtenção e caracterização macroscópica dos filmes bioadesivos

As membranas foram submetidas a avaliações preliminares voltadas à observação visual de suas superfícies, considerando os seguintes aspectos: continuidade (ausência de rupturas ou fraturas após o processo de secagem), homogeneidade (inexistência de partículas insolúveis perceptíveis a olho nu, bem como áreas com opacidade ou colorações distintas), manuseabilidade (capacidade de ser manipulada sem risco de rompimento) e flexibilidade (possibilidade de dobrar a membrana até o ponto de quebra) (MONTERREY-QUINTEIRO; SOBRAL, 2000; SANTOS; AOUADA; MOURA, 2019). Os filmes foram então classificados segundo um critério de qualidade em três níveis: excelente (+++), bom (++) e insatisfatório (+). Foi avaliado um filme controle (A) sem adição do fármaco, e o filme (b) com a adição da azitromicina conforme apresentado na tabela 1.

Tabela 2 - Avaliação macroscópica dos filmes poliméricos.

Aspectos Macroscópicos	Filme A	Filme B
Homogeneidade	+++	++
Continuidade	+++	+++
Manuseabilidade	+++	+++
Flexibilidade	+++	+++

Os filmes produzidos foram transparentes, lisos, sem a presença de grumos, precipitados ou rachaduras, conforme apresentado na Figura 2. Os resultados quanto ao peso, espessura e resistência à dobradura estão apresentados na Tabela 2.

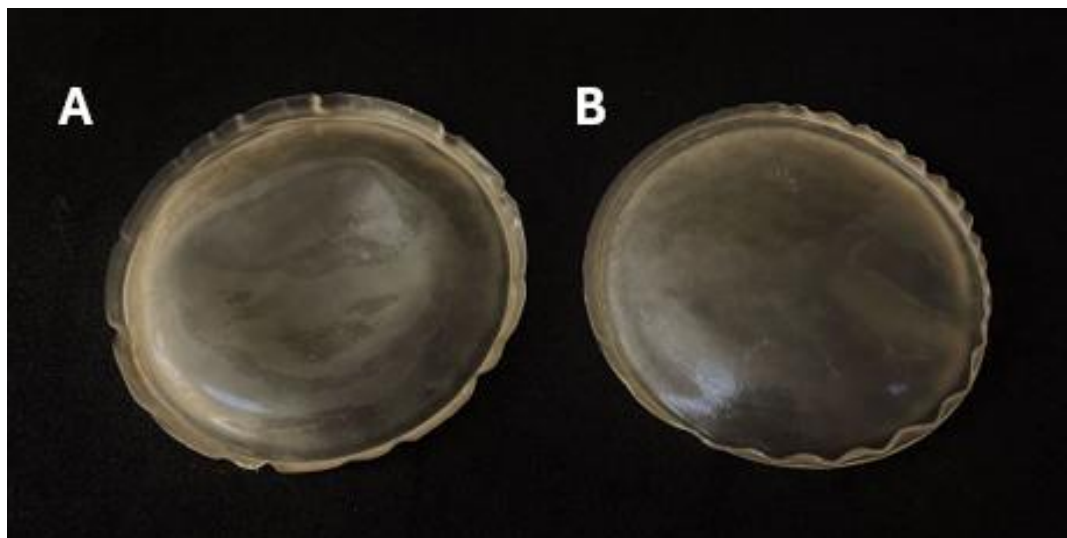


Figura 3 - Aspectos macroscópicos dos filmes (A) controle e B (com azitromicina).

A espessura das membranas foi mensurada com o auxílio de um micrômetro eletrônico digital (Electronic Digital Micrometer, Jomarca, Brasil), com capacidade de medição entre 0 e 25 mm e precisão de $\pm 0,001$ mm. Para cada amostra, foram realizados 5 pontos de medição aleatórios, sendo um no centro da película e os demais distribuídos ao longo da região periférica ($n = 10$).

Tabela 3 - Caracterização dos filmes de quitosana contendo azitromicina.

Filme	Peso (g)	Espessura (mm)	Resistência à dobradura
Filme - A	$2,632 \pm 0,054$	$0,67 \pm 0,06$	>300
Filme - B	$2,701 \pm 0,033$	$0,66 \pm 0,06$	>300

Quanto ao peso e espessura, os resultados foram homogêneos dentro de cada formulação, demonstrando que a técnica de preparação utilizada permitiu um controle da massa e da espessura dos filmes. As membranas apresentaram espessuras médias compatíveis entre si, com valores de 0,67 mm para o filme controle e 0,66 mm para o filme com azitromicina. Ambos os filmes mostraram boa uniformidade de espessura, com variação aceitável dentro dos parâmetros

estabelecidos para materiais bioadesivos, conforme metodologia utilizada com micrômetro eletrônico digital.

A padronização da espessura e do peso dos filmes bioativos representa um critério essencial para garantir a uniformidade da dose administrada, bem como para assegurar o desempenho adequado de propriedades funcionais como a bioadesividade (TOLENTINO, 2024). Desvios significativos nesses parâmetros podem repercutir negativamente nas características físico-químicas e nas propriedades mecânicas da formulação, comprometendo sua eficácia terapêutica e integridade estrutural (VECCHI et al., 2021). Ressalta-se que os valores de espessura obtidos para os filmes analisados se mantiveram dentro da faixa recomendada na literatura para sistemas de liberação por via oral, a qual varia entre 0,05 mm e 1,00 mm (NAIR et al., 2013).

No que se refere à resistência à dobradura, todas as formulações testadas apresentaram capacidade de suportar até 300 dobras consecutivas sem apresentar fissuras ou rupturas, evidenciando elevada flexibilidade mecânica. Essa característica é particularmente vantajosa para aplicações em regiões anatômicas sujeitas a movimentos ou flexões, como áreas de dobras cutâneas (NAIR et al., 2013).

4.3. Permeação retal ex vivo da azitromicina

O ensaio foi conduzido utilizando mucosa retal bovina como modelo biológico, com o intuito de avaliar a capacidade de penetração do fármaco a partir da formulação em filme bioadesivo, em comparação à solução livre do ativo a 1,5%. Após 24 horas de exposição à solução de azitromicina, observou-se uma média de penetração de $5,74 \pm 1,66 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, com coeficiente de variação (CV%) de 28,93%. Já para os filmes bioadesivos, o ensaio foi realizado ao longo de 24 horas, registrando uma média de penetração de $1,73 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \pm 0,30$ e CV% de 17,39%, indicando menor dispersão e maior uniformidade dos resultados, sem indícios de interferência cromatográfica oriunda da matriz. Os dados estão apresentados na figura 4. Dessa forma, o método atendeu aos critérios de seletividade estabelecidos pela Resolução RDC nº 166/2017 da ANVISA e pelas diretrizes do ICH (2023), validando sua aplicabilidade em análises envolvendo tecidos biológicos complexos.

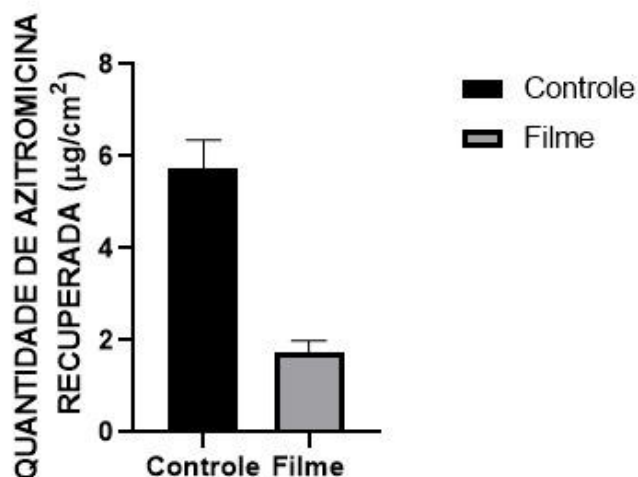


Figura 4 -Quantidade de azitromicina recuperada da mucosa retal após 24 horas de tratamento tópico com as nanopartículas carregadas e controle. Há diferença estatística entre as amostras testadas.

A importância da liberação controlada proporcionada pelos filmes bioadesivos reside na capacidade de manter concentrações terapêuticas do fármaco na mucosa por períodos prolongados, minimizando flutuações nos níveis locais do ativo, o que pode ser decisivo para o sucesso terapêutico em tratamentos tópicos. Além disso, a ação localizada e sustentada da azitromicina reduz o risco de absorção sistêmica imediata, contribuindo para maior segurança do tratamento, especialmente na medicina veterinária, onde o controle da dosagem e a frequência de administração representam desafios práticos relevantes (KASHIF et al., 2023).

A quitosana, polímero catiônico presente na formulação, estabelece interações eletrostáticas com a mucosa, promovendo maior ancoragem do filme ao tecido. Além disso, o elevado teor de umidade intrínseco à mucosa contribui significativamente para o aumento da capacidade de adesão da formulação ao sítio de aplicação (KUMAR; VIMAL; KUMAR, 2016).

Portanto, os resultados obtidos reforçam a aplicabilidade da formulação em filme bioadesivo como sistema eficiente de liberação tópica sustentada da azitromicina, demonstrando-se uma alternativa promissora à administração em solução, especialmente quando se objetiva ação prolongada e direcionada na mucosa retal de bovinos.

5. CONCLUSÃO

A formulação de filmes bioadesivos à base de azitromicina voltados para aplicação retal em bovinos representa uma abordagem promissora para administração tópica e sustentada de antibióticos em medicina. A escolha da via retal mostrou-se pertinente, considerando as vantagens farmacocinéticas, a facilidade de aplicação em animais de grande porte e o potencial para liberação sustentada do fármaco.

O método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), devidamente validado, demonstrou alta sensibilidade, seletividade, precisão e exatidão, assegurando a confiabilidade na quantificação da azitromicina mesmo em matrizes biológicas complexas como a mucosa retal. Os parâmetros de validação atenderam plenamente aos critérios estabelecidos pelas diretrizes da ANVISA e do ICH, tornando o método apto para ser utilizado em estudos de controle de qualidade e desenvolvimento farmacotécnico.

Os filmes desenvolvidos apresentaram propriedades físico-químicas e mecânicas adequadas para aplicação retal, como espessura, peso uniforme, resistência à dobradura e manuseabilidade, além de demonstrarem estabilidade ao longo do período avaliado. Os ensaios de permeação *ex vivo* evidenciaram que os filmes foram capazes de promover a liberação controlada da azitromicina, com penetração significativa na mucosa retal, embora em menor quantidade quando comparados à solução livre do fármaco. Esses achados reforçam a funcionalidade do sistema bioadesivo, cuja matriz polimérica de quitosana e PVA favorece a aderência à mucosa e proporciona maior tempo de contato e absorção do fármaco.

Com isso, conclui-se que os filmes bioadesivos contendo azitromicina representam uma alternativa inovadora e eficaz para administração tópica do fármaco em bovinos, associando comodidade, segurança e eficácia terapêutica, além de abrir perspectivas para futuras aplicações clínicas e adaptações para outras espécies animais.

6. REFERÊNCIAS

ABELL, K. M.; THEURER, M. E.; LARSON, R. L.; WHITE, B. J.; APLEY, M. A mixed treatment comparison meta-analysis of metaphylaxis treatments for bovine respiratory disease in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 95, p. 626–635, 2017.

AHMED, I.; KASRAIAN, K. Pharmaceutical challenges in veterinary product development. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. 6, p. 871–882, 2002.

AMIN, M. et al. Pharmaceutical and pharmacokinetic evaluation of novel rectal mucoadhesive hydrogels containing tolmetin sodium. **Journal of Pharmacy Research**, 2018.

ANSEL, Howard C.; POPOVICH, Nicholas G.; ALLEN, Loyd V. *Fármacos: formas farmacêuticas e sistemas de liberação*. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.

ANDREWS, G. P.; LAVERTY, T. P.; JONES, D. S. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 71, n. 3, p. 505–518, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.09.028>. Acesso em: 9 jul. 2025.

ARAF, M. G. et al. Propolis-based niosomes as oromuco-adhesive films: A randomized clinical trial of a therapeutic drug delivery platform for the treatment of oral recurrent aphthous ulcers. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 2018.

BAPTISTE, K. E.; KYVSGAARD, N. C. Do antimicrobial mass medications work? A systematic review and meta-analysis of randomised clinical trials investigating antimicrobial prophylaxis or metaphylaxis against naturally occurring bovine respiratory disease. **Pathogens and Disease**, v. 75, 2017.

BAVISKAR, P. et al. Drug delivery on rectal absorption: Suppositories. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 21, n. 1, p. 70–76, 2013.

BERGOGNE-BÉRÉZIN, E.; BRYSKIER, A. The suppository form of antibiotic administration: Pharmacokinetics and clinical application. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 43, n. 2, p. 177–185, 1999.

BERGOGLIO, R. *Antibióticos*. 5. ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, 1993.

BLONDEAU, Joseph M. Immunomodulatory Effects of Macrolides Considering Evidence from Human and Veterinary Medicine. *Microorganisms*, v. 10, n. 12, art. 2438, 2022. DOI: 10.3390/microorganisms10122438.

BRIGHT, G. M. et al. Synthesis, in vitro and in vivo activity of novel 9-deoxo-9^a-AZA-9^a-homoerythromycin A derivatives: a new class of macrolide antibiotics, the azalides. **Journal of Antibiotics**, v. 41, p. 1029–1047, 1998.

DAVIDSON R.J. In vitro activity and pharmacodynamic/pharmacokinetic parameters of clarithromycin and azithromycin: why they matter in the treatment of respiratory tract infections. **Infection and Drug Resistance**, v. Volume 12, p. 585–596, mar. 2019.

DRENCKHAHN, D.; WASCHKE, J. Taschenbuch Anatomie. 1. Auflage. **Urban & Fischer** Verlag/Elsevier, 2008. p. 271–275.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

DUNN, C. J.; BARRADELL, L. B. Azithromycin: A review of its pharmacological properties and use as 3 day therapy in respiratory tract infections. **Drugs**, v. 51, n. 3, p. 483–505, 1996.

Heidary, M., Ebrahimi Samangani, A., Kargari, A., Kiani Nejad, A., Yashmi, I., Motahar, M., Taki, E., & Khoshnood, S. (2022). Mechanism of action, resistance, synergism, and clinical implications of azithromycin. **Journal of clinical laboratory analysis**, 36(6), e24427.

FIETA, A. et al. Requiriments for intracellular accumulation and release of clarithromycin and azithromycin by human phagocytes. **Journal of Chemotherapy**, v. 9, n. 1, p. 23–31, 1997.

FILHO, L. V. R. F. S; PINTO, L. A.; STEIN, R. T. Use of macrolides in lung diseases: recent literature controversies. **Jornal de Pediatria** (Versão em Português), v. 91, n. 6, p. S52–S60, nov. 2015.

GENNARO, A. R. Remington: a ciência e a prática da farmácia. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

GIRARD, A. E. et al. Pharmacokinetic and in vivo studies with azithromycin (CP 62,993), a new macrolide with an extended half life and excellent tissue distribution. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 31, n. 12, p. 1948–1954, 1987.

GÓMEZ LUS, M. L. et al. Quimioterapia antiinfeciosa y antitumoral. In: LEZA CERRO, J. C. et al. Farmacología básica y clínica. 20. ed. Buenos Aires: Panamericana, 2005. p. 825–839.

GUPTA, P. An overview of applications of mucoadhesive buccal film in Oral Medicine. **Alternative Drug Delivery System**, v. 9, n. 2, 2020.

HAND, W. L.; HAND, D. L. Characteristics and mechanisms of azithromycin accumulation and efflux in human polymorphonuclear leukocytes. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 18, n. 5, p. 419–425, 2001.

HENDRICK SH, BATEMAN KG.; ROSENGREN LB. The effect of antimicrobial treatment and preventive strategies on bovine respiratory disease and genetic relatedness and antimicrobial resistance of *Mycoplasma bovis* isolates in a western Canadian feedlot. **Canadian Veterinary Journal** 54, 1146–1156, 2013.

HUA, S. Physiological and pharmaceutical considerations for rectal drug formulations. **Frontiers in Pharmacology**, 2019.

Huang, L.; Zhang, H.; Li, M.; Ahmad, I.; Wang, Y.; Yuan, Z. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of tylosin against *Streptococcus suis* in pigs. **BMC Vet. Res.** 2018, 14, 1–11.

ICH - International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. **Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1)**. P 1-13, 2023.

JACKS, Stephanie et al. *Pharmacokinetics of azithromycin and concentration in body fluids and bronchoalveolar cells in foals*. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 12, p. 1870–1875, 2001.

JOHNSON, R. B. Azithromycin in the treatment of acute lower respiratory tract infections. In: Proceedings of the 6th **International Congress of Infectious Diseases**, Montreal, 1990.

KAUSS, T. et al. Pharmaceutical development and optimization of azithromycin suppository for paediatric use. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 441, n. 1–2, p. 218–226, 2013.

KETTLE, S. et al. Azalides in Veterinary Medicine: Recent Trends and Structural Modifications. **Veterinary Microbiology**, v. 263, art. 109300, 2020.

KHUTORYANSKIY, V. V. Advances in mucoadhesion and mucoadhesive polymers. **Macromolecular Bioscience**, v. 11, n. 6, p. 748–764, 2011.

KING, C. Rectal drug administration. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 14, n. 10, p. 521–526, 1994.

KUMAR, A.; VIMAL, A.; KUMAR, A. Why Chitosan? From properties to perspective of mucosal drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 615–622, 2016.

LABRO, M. T. Anti-inflammatory activity of macrolides: a new therapeutic potential? **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 41, suppl. B, p. 37–46, 1998.

LAUFEN, H. et al. Mechanism of azithromycin uptake in human polymorphonuclear leucocytes. **Arzneimittelforschung**, v. 40, n. 6, p. 686–689, 1990.

Miles, DG. Overview of the North American beef cattle industry and the incidence of bovine respiratory disease (brd). *Animal Health Research Reviews* 10, 101–103, 2009.

MANOHAR, S. D.; SRIDHAR, D. A.; MALLIKARJUNA, S. C. Drug delivery from the oral cavity: a focus on mucoadhesive buccal drug delivery systems. **PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 66, n. 5, p. 466–500, 2012.

MERCK VETERINARY MANUAL. *Macrolide use in animals*. In: **MSD Veterinary Manual. Merck & Co.**, Inc., 2021. Disponível em: https://www.msdrveterinary.com/pharmacology/antibacterial-agents/macrolide-use-in-animals#Pharmacokinetic-Values_v3336436. Acesso em: 9 jul. 2024.

McCONNELL, S. A. Review and comparison of advanced generation macrolides clarithromycin and dirithromycin. **Pharmacotherapy Publication**, v. 19, p. 404–415, 1999.

MORALES, J. O.; McCONVILLE, J. T. Manufacture and characterization of mucoadhesive buccal films. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 2011.

MONTERREY-QUINTERO, E. S. & SOBRAL, P. J. A. (2000). Preparo e Caracterização de Proteínas Miofibrilares de Tilápia-Do-Nilo para Elaboração de Biofilmes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 35, 1, 179-189.

MULAZIMOGLU, L.; TULKENS, P. M.; VAN BAMBEKE, F. Macrolides. In: YU, V. L. et al. (Eds.). *Antimicrobial Therapy and Vaccines, Vol. II: Antimicrobial Agents*. Pittsburgh: Esun Technologies, 2005. p. 243–283.

NAIR, A. B. et al. In vitro techniques to evaluate buccal films. **Journal of Controlled Release**, v. 166, n. 1, p. 10–21, 2013.

NEU, H. C. Antibacterial therapy: problems and promises, part II. **Hospital Practice**, v. 23, p. 181–194, 1990.

NISHIHATA, T. et al. Enhancement of rectal absorption of water soluble antibiotics in dogs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 21, n. 2, p. 239–248, 1984.

O'CONNOR, A. M.; HU, D.; TOTTON, S. C.; SCOTT, N.; WINDER, C. B.; WANG, C.; GLANVILLE, J.; WOOD, H.; WHITE, B.; LARSON, R.; WALDNER, C.; SARGEANT, J. M. A systematic review and network meta-analysis of injectable antibiotic options for the control of bovine respiratory disease in the first 45 days post arrival at the feedlot. **Animal Health Research Reviews**, v. 20, p. 163–181, 2020.

PATEL, V. M.; PRAJAPATI, B. G.; PATEL, M. M. Design and characterization of chitosan containing mucoadhesive buccal patches of propranolol hydrochloride. **Acta Pharmaceutica**, v. 57, n. 1, p. 61–72, 2007.

Parnham MJ, Erakovic Haber V, Giamarellos-Bourboulis EJ, Perletti G, Verleden GM, Vos R. Azithromycin: mechanisms of action and their relevance for clinical applications. *Pharmacol Ther.* 2014 Aug;143(2):225-45.

PECHERE, J. C. The activity of azithromycin in animal models of infection. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 10, n. 10, p. 821–827, 1991.

PETERS, D. H.; FRIEDEL, H. A.; MCTAVISH, D. Azithromycin: a review of antimicrobial activity, pharmacokinetic properties and clinical efficacy. **Drugs**, v. 44, n. 5, p. 750–799, 1992.

PHARMACOKINETICS of acetylsalicylic acid after rectal administration in horses. **PubMed Central (PMC)**, 2006.

REHAGRO. Interações medicamentosas x eficácia do tratamento de bovinos. **Rehagro Blog**, 20 jul. 2018. Disponível em: <https://rehagro.com.br/blog/eficacia-dos-tratamentos-bovinos/>. Acesso em: 22 set. 2024.

SANTOS, Vanessa Solfa; AOUADA, Fauze Ahmad; MOURA, Márcia Regina de. Preparação e caracterização de biofilmes comestíveis à base de nanoestruturas poliméricas em matriz de pectina. **Journal of Experimental Techniques and Instrumentation**, v. 2, n. 1, p. 19–25, 2019.

SHARMA, R. A. et al. Phase I clinical trial of oral curcumin: biomarkers of systemic activity and compliance. **Clinical Cancer Research**, v. 10, p. 6847–6854, 2004.

SHEPARD, R. M.; FALKNER, F. C. Pharmacokinetics of azithromycin in rats and dogs. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 25, suppl. A, p. 49–60, 1990.

SHRYOCK, T. R.; MORTENSEN, J. E.; BAUMHOLTZ, M. The effects of macrolides on the expression of bactericidal virulence mechanisms. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 41, p. 505–512, 1998.

SMART, J. D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 11, p. 1556–1568, 2005.

STEYN, J.D.; HAASBROEK-PHEIFFER, A.; PHEIFFER, W.; WEYERS, M.; VAN NIEKERK, S.E.; HAMMAN, J.H.; VAN STADEN, D. Evaluation of Drug Permeation Enhancement by Using In Vitro and Ex Vivo Models. **Pharmaceuticals**, 18, 195. 2025.

TAYLOR JD, FULTON RW, LEHENBAUER TW, STEP DL AND CONFER AW. The epidemiology of bovine respiratory disease: what is the evidence for predisposing factors? **Canadian Veterinary Journal** 51, 1095–1102, 2010.

TOLENTINO, Seila. Filmes bioadesivos carregados com curcumina para o tratamento tópico de tumores orais e cutâneos. 2024. 121 f., il. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) — **Universidade de Brasília, Brasília**, 2024.

TUKKER, J. J.; DE BLAEY, C. J.; CHARBON, G. A. Rectal motility and bioavailability. **Pharmaceutical Research**, 1984.

TURIC, Esteban. Farmacocinética de azitromicina em vacas lecheras holando argentino. Tese (Doutorado)—Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias, La Plata, 2011.

VECCHI, C. F. et al. Mucoadhesive polymeric films comprising polyvinyl alcohol, polyvinylpyrrolidone, and poloxamer 407 for pharmaceutical applications. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 26, n. 2, p. 138–149, 2021.

WOODLEY, J. Bioadhesion. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 40, n. 2, p. 77–84, 2001.

ZHANG, R.; FANG, Y.; WANG, Y.; FAN, J.; YIN, W.; FAN, W.; YU, Y.; LIN, B. Significant predictors of azithromycin in population pharmacokinetic analysis: a systematic review. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 19, p. 5709–5725, 2025.