



**Universidade Federal de Ouro Preto  
Escola de Farmácia**



**Adrian Nicollas Cota Primola Faustino**

**Nanopartículas poliméricas contendo tramadol:  
desenvolvimento, caracterização e perfil de liberação *in vitro***

**Ouro Preto  
2025**

**Adrian Nicollas Cota Primola Faustino**

**Nanopartículas poliméricas contendo tramadol:  
desenvolvimento, caracterização e perfil de liberação *in vitro***

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutico.

Orientadora: Msc. Márcia Célia Pacheco Fialho  
Coorientadora: Profa. Dra. Raquel Silva Araújo

**Ouro Preto**

**2025**

## SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

F268n Faustino, Adrian Nicollas Cota Primola.  
Nanopartículas poliméricas contendo tramadol [manuscrito]:  
desenvolvimento, caracterização e perfil de liberação in vitro. / Adrian  
Nicollas Cota Primola Faustino. - 2025.  
53 f.: il.: color., gráf., tab..

Orientadores: Profa. Ma. Márcia Célia Pacheco Fialho, Profa. Dra.  
Raquel Silva Araújo.

Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto.  
Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Tramadol. 2. Nanocápsulas. 3. Nanopartículas. 4. Liberação  
Controlada de Fármacos. 5. Nanotecnologia. I. Araújo, Raquel Silva. II.  
Fialho, Márcia Célia Pacheco. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV.  
Título.

CDU 620.3

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - CRB6/2322



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
REITORIA  
ESCOLA DE FARMACIA  
DEPARTAMENTO DE FARMACIA



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Adrian Nicollas Cota Primola Faustino**

### **Nanopartículas poliméricas contendo tramadol: desenvolvimento, caracterização e perfil de liberação *in vitro***

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutico.

Aprovada em 04 de Setembro de 2025

#### Membros da banca

Msc. Márcia Célia Pacheco Fialho - Orientadora - Universidade Federal de Ouro Preto  
Dra. Raquel Silva Araújo - Coorientadora - Universidade Federal de Ouro Preto  
Dra. Fernanda Karoline Vieira da Silva Torchelsen - Universidade Federal de Ouro Preto  
Dra. Maria Alice de Oliveira - (Universidade Federal de Ouro Preto)

Msc. Márcia Célia Pacheco Fialho, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 28/10/2025



Documento assinado eletronicamente por **Marcia Celia Pacheco Fialho, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 28/10/2025, às 16:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufop.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1004886** e o código CRC **1224B012**.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço imensamente aos meus pais, Adriano e Mayra, que são minha maior inspiração e que nunca mediram esforços para que eu realizasse meus sonhos.

Às professoras Raquel e Márcia, por toda a oportunidade e pelas contribuições imensas à minha formação, assim como ao laboratório LDG-NANO.

E à minha casa, a República Pulgatório, que sempre foi minha base ao longo dos anos.

## RESUMO

O cloridrato de tramadol (CTD) é um fármaco solúvel em água e amplamente empregado na medicina veterinária com finalidade analgésica em diversas espécies animais. Contudo, sua utilização apresenta restrições clínicas relevantes, principalmente em decorrência de efeitos adversos, como distúrbios gastrointestinais e episódios de excitabilidade, sobretudo após administração intravenosa rápida. Nesse cenário, a encapsulação do fármaco em nanoestruturas poliméricas do tipo nanocápsulas (NCs) configura-se como uma estratégia promissora para promover a liberação prolongada do princípio ativo, reduzindo a frequência e a intensidade dos efeitos colaterais. Além disso, as NCs podem encapsular mais de um agente analgésico em seu núcleo oleoso, potencializando a eficácia terapêutica. O óleo essencial de copaíba (OEC), por sua vez, já demonstrou propriedades analgésicas *in vivo*. Com o intuito de viabilizar a encapsulação do fármaco em NCs, o presente trabalho tem como objetivo obter uma forma mais lipofílica do tramadol, o tramadol base (TMD), a partir do CTD. Adicionalmente, busca-se caracterizar as NCs desenvolvidas contendo TMD. Duas formulações foram produzidas pelo método de nanoprecipitação: NC TMD e NC TMD OEC, contendo em seu núcleo oleoso migliol e migliol/óleo essencial de copaíba, respectivamente. Tamanho, índice de polidispersão (Pdl) e potencial zeta foram determinados ao longo de 60 dias por espalhamento dinâmico de luz (EDL). Ambas as NCs apresentaram Pdl inferior a 0,3 e potencial zeta negativo. A NC TMD OEC (~170,60 nm) apresentou diâmetro inferior ao da NC TMD (~226 nm), atribuível à presença do OEC. A eficiência de encapsulação, determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), foi superior para a NC TMD OEC (~70%) em comparação à NC TMD (~50%). A solubilidade do TMD em PBS pH 7, determinada por CLAE, foi de 1,3 mg/mL. O perfil de liberação *in vitro* das NCs foi realizado por diálise direta, evidenciando liberação completa em 2 horas, semelhante ao TMD não associado às NCs.

**Palavras chaves:** nanocápsula, tramadol, óleo essencial de copaíba, caracterização, *in vitro*

## ABSTRACT

Tramadol hydrochloride (THD) is a water-soluble drug widely used in veterinary medicine for analgesic purposes in several animal species. However, its clinical use presents relevant limitations, mainly due to adverse effects such as gastrointestinal disturbances and episodes of excitability, especially after rapid intravenous administration. In this context, drug encapsulation into polymeric nanostructures such as nanocapsules (NCs) emerges as a promising strategy to promote sustained drug release, thereby reducing the frequency and severity of side effects. In addition, NCs allow the encapsulation of more than one analgesic agent within their oily core, potentially enhancing therapeutic efficacy. Copaiba essential oil (CEO) has already demonstrated *in vivo* analgesic properties. In order to enable drug encapsulation into NCs, the present study aimed to obtain a more lipophilic form of tramadol, tramadol base (TMD), from THD. Furthermore, the developed TMD-loaded NCs were characterized. Two formulations were prepared by the nanoprecipitation method: NC TMD and NC TMD CEO, containing Miglyol and Miglyol/copaiba essential oil, respectively, as the oily core. Particle size, polydispersity index (PDI), and zeta potential were determined over 60 days by dynamic light scattering (DLS). Both NCs exhibited PDI values below 0.3 and a negative zeta potential. NC TMD CEO (~170.60 nm) presented a smaller mean diameter than NC TMD (~226 nm), which was attributed to the presence of CEO. Encapsulation efficiency, determined by high-performance liquid chromatography (HPLC), was higher for NC TMD CEO (~70%) compared to NC TMD (~50%). The solubility of TMD in PBS pH 7.0, determined by HPLC, was 1.3 mg/mL. The *in vitro* release profile of the NCs was evaluated by direct dialysis, showing complete drug release within 2 hours, similar to free TMD not associated with NCs.

**Keywords:** nanocapsule, tramadol, copaiba essential oil, characterization, *in vitro*

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Nível de dor esperada de acordo com a doença, cirurgia ou procedimento.....	03
<b>Figura 2.</b> Estrutura química da Morfina .....	05
<b>Figura 3.</b> Estrutura química do Tramadol .....	05
<b>Figura 4.</b> Estrutura química da Codeína .....	05
<b>Figura 5.</b> Representação esquemática de nanocápsulas poliméricas.....	07
<b>Figura 6.</b> Principais aplicações das nanocápsulas poliméricas: investigação, patentes, comercialização.....	08
<b>Figura 7.</b> Formulações de nanocápsulas na medicina veterinária: potenciais terapêuticos em diferentes doenças.....	10
<b>Figura 8.</b> Variação da cor observada ao longo da extração do tramadol .....	14
<b>Figura 9.</b> Esquema do preparo de nanocápsulas pelo método de nanoprecipitação.....	16
<b>Figura 10.</b> Tamanho hidrodinâmico médio das nanocápsulas (média $\pm$ DP) (A), Pdl (B) e potencial zeta (C). A análise estatística foi realizada por múltiplos testes <i>t</i> , com correção de Bonferroni-Sidak ( $\alpha = 0,05$ ). Diferenças estatisticamente significativas estão indicadas na figura .....	23
<b>Figura 11.</b> Variação do diâmetro hidrodinâmico (A), PDI (B) e potencial zeta (C) das NC durante armazenamento a 4 °C por 60 dias. Os dados estão expressos como média e desvio padrão (n = 3) .....	26
<b>Figura 12.</b> Perfil de liberação <i>in vitro</i> do TMD livre e encapsulado em NCs no meio PBS.....	29

## LISTA DE TABELA

<b>Tabela 1.</b> Aspectos fisiológicos e mecanismos envolvidos na geração da dor.....	01
<b>Tabela 2.</b> Propriedades do Tramadol .....	05
<b>Tabela 3.</b> Formulações de nanocápsulas na literatura.....	07
<b>Tabela 4.</b> Exemplos de formulações de nanocápsulas poliméricas contendo tramadol, com respectivos parâmetros de caracterização e perfil de liberação .....	11
<b>Tabela 5.</b> Composição da formulação de nanocápsulas contendo tramadol.....	15
<b>Tabela 6.</b> Condições cromatográficas para quantificação do tramadol .....	17
<b>Tabela 7.</b> Meios de liberação empregados para a determinação da solubilidade do tramadol.....	19
<b>Tabela 8.</b> Caracterização físico-química das nanocápsulas poliméricas.....	22
<b>Tabela 9.</b> Avaliação da estabilidade das formulações ao longo do tempo.....	25
<b>Tabela 10.</b> Eficiência de encapsulação (%) das formulações de nanocápsulas contendo tramadol, com e sem óleo de copaíba, nos dias 0 e 7 de armazenamento.....	28
<b>Tabela 11.</b> Solubilidade determinada do tramadol em diferentes meios de dissolução.....	29

## LISTA DE ABREVIATURAS

**CLAE** Cromatografia líquida de alta eficiência

**Dh** Diâmetro hidrodinâmico

**DP** desvio padrão

**NCs** Nanocápsulas

**nm** Nanômetros

**NPs** Nanopartículas

**TMD** Tramadol

**PBS** Tampão fosfato salino

$\delta$  Deslocamento químico

$\zeta$  potencial zeta

**PCL** *Policaprolactona*

**OEC** Óleo essencial de copaíba

**CTD** Cloridrato de Tramadol

**PdI** Índice de polidispersão

**NC TMD** Nanocápsula de tramadol

**NC TMD OEC** Nanocápsula de tramadol com óleo essencial de copaíba

**EDL** Espalhamento dinâmico da luz

**AINE** Anti-Inflamatório não esteroideal

## SUMÁRIO

1.0 Introdução .....	01
1.1 Mecanismos e conceitos fundamentais para dor: .....	01
1.2 Tramadol .....	04
1.3 Nanotecnologia .....	06
1.4 Nanocápsula polimérica contendo tramadol.....	10
1.5. Justificativa .....	12
2. Objetivos .....	13
2.1 Objetivo Geral .....	13
2.2 Objetivos Específicos .....	13
3.0 Métodos.....	14
3.1 Obtenção do tramadol na forma de base livre.....	14
3.2 Preparação de nanocápsulas poliméricas contendo tramadol.....	16
3.3 Caracterização das nanocápsulas.....	16
3.4 Estabilidade das nanopartículas durante estocagem.....	17
3.5 Quantificação do tramadol (TD).....	17
3.6 Eficiência de encapsulação e porcentagem de encapsulação.....	18
3.7 Determinação da solubilidade em meio e determinação da Condição Sink.....	18
3.8 Ensaio de liberação <i>in vitro</i> .....	19
3.9 Análise estatística.....	20
4.0 Resultados .....	21
4.1 Desenvolvimento e caracterização das nanocápsulas poliméricas contendo tramadol.....	21
4.2 Avaliação da estabilidade física das nanocápsulas durante a estocagem.....	24
4.3 Eficiência de encapsulação e porcentagem de encapsulação .....	26
4.4 Determinação da solubilidade.....	28
4.5 Ensaio de liberação <i>in vitro</i> .....	29
5.0 Conclusão.....	31
6.0 Referências.....	32

## 1.0 REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.1 Mecanismos e conceitos fundamentais para dor

A dor pode ser descrita como uma experiência sensorial e emocional geralmente associada a lesões teciduais reais ou potenciais, podendo ser classificada de acordo com sua duração ou mecanismo fisiopatológico (Alorfi, 2023). Na prática clínica a dor pode ser distinguida em aguda, de curta duração e autolimitada; e crônica, que pode ser oncológica ou não, com duração indefinida e frequentemente associada à inflamação persistente ou lesão contínua, como mostrado na Tabela 1. Do ponto de vista fisiopatológico, a dor pode ser classificada como nociceptiva, neuropática ou mista (Alorfi, 2023).

Tabela 1: Aspectos fisiológicos e mecanismos envolvidos na geração da dor

<b>Tipo de Dor</b>	<b>Características Clínicas</b>	<b>Base Fisiológica Fisiologia</b>
Aguda	Início súbito, curta duração, autolimitada; ex.: trauma, cirurgia	Ativação aguda de nociceptores e vias rápidas de condução
Crônica oncológica	Relacionada a neoplasias, persistente e progressiva	Estimulação contínua de vias nociceptivas e adaptação central
Crônica não oncológica	Prolongada, não autolimitada, ligada à inflamação ou lesão nervosa	Sensibilização central e periférica; plasticidade neuronal
Nociceptiva	Vias nervosas intactas; ativação de nociceptores	Estimulação de nociceptores em tecidos somáticos ou viscerais
Neuropática	Decorre de lesão ou disfunção nervosa, periférica ou central	Alterações estruturais/funcionais em fibras nervosas e SNC
Mista	Envolve componentes nociceptivos e neuropáticos simultaneamente	Interação entre inflamação e disfunção nervosa, resposta complexa

**Fonte:** Adaptado de International Association for the Study of Pain (IASP), 2020; Woolf (2011); Curatolo (2024).

A identificação da dor em animais pode ser um desafio, já que eles não comunicam verbalmente seu estado físico. Por isso, é necessário estar atento a mudanças comportamentais e fisiológicas, como, por exemplo: sons incomuns, agressividade, apatia, taquicardia, alterações respiratórias, entre outros sinais,

segundo as Diretrizes da WSAVA (2022). De acordo com as mesmas diretrizes, a avaliação e o controle da dor são pilares fundamentais no atendimento clínico, buscando promover o bem-estar, acelerar a recuperação e reduzir complicações decorrentes da dor não tratada. O estudo demonstra que, para o manejo da dor, devem ser utilizados analgésicos de diferentes classes medicamentosas, atuando em múltiplos pontos da via nociceptiva. Os medicamentos mais frequentemente empregados incluem anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), analgésicos opioides (como o tramadol) e anestésicos locais. A escolha do medicamento dependerá da espécie do animal, do seu porte e do tipo de procedimento a ser realizado conforme Diretrizes da WSAVA (2022).

Dessa forma, a eficácia no tratamento da dor não representa apenas um princípio ético e legal, mas constitui também uma prática essencial para a obtenção de melhores resultados clínicos e para a promoção da qualidade de vida dos animais (Steagall et al., 2021). Em animais submetidos a esforço físico repetitivo, a necessidade de fármacos que auxiliem no controle da dor torna-se cada vez mais evidente, sobretudo quando busca-se aliar acessibilidade, eficácia e ação prolongada. A procura por tratamentos capazes de oferecer conforto sem comprometer a qualidade de vida dos animais é indispensável não apenas para garantir a produtividade, mas também para atender às diretrizes atuais de bem-estar animal (Hötzel et al., 2004; Croney et al, 2025). Esse cenário é impulsionado por uma mudança na percepção social, que progressivamente deixa de enxergar os animais apenas como ferramentas de trabalho e passa a reconhecê-los como membros da família.

Mesmo com todos os avanços tecnológicos e a mecanização no setor agropecuário, ainda há uma parcela considerável das atividades que depende da força animal para a locomoção em áreas rurais quanto para a realização de tarefas que exigem força e resistência, como o transporte de cargas, o manejo de rebanhos e o preparo do solo para o cultivo. (HÖTZEL et al., 2004)

Diante dessa realidade, torna-se necessário reconhecer que os animais de trabalho estão sujeitos a condições que frequentemente resultam em dor ou desconforto, tornando o manejo da analgesia um componente indispensável do cuidado veterinário. A dor geralmente é controlada por meio da utilização de analgésicos (Alorfi, 2023), e os benefícios do tratamento superam amplamente os

riscos do uso de medicamentos (Tranquilli et al., 2005b). O tratamento analgésico e anestésico não apenas melhora a qualidade de vida dos animais, como também restaura funções fisiológicas de forma mais rápida, podendo reduzir morbidade e mortalidade associadas (Coppens, 2000; Valadão et al., 2002).

O conhecimento de doenças ou procedimentos dolorosos como mostrado na Figura 1, permite ao veterinário tomar cuidados adequados para minimizar a dor e para escolha do anestésico mais apropriado. No cotidiano, os veterinários e tutores de animais utilizam a observação do comportamento para avaliar o bem-estar do animal que se encontra sob sua proteção (Aleixo et al., 2017).

**Figura 1.** Nível de dor esperada de acordo com a doença, cirurgia ou procedimento em humanos.

<b>Doença, cirurgia, ou procedimento</b>	<b>Nível de dor esperada</b>
Laparotomia exploratória	Severa
Peritonite	Severa
Ovariosalpingohisterectomia (OSH)	Moderada
Cistotomia	Moderada
Limpeza ocular	Discreta
Remoção de suturas	Ausente

Fonte: Melo et al. (2009).

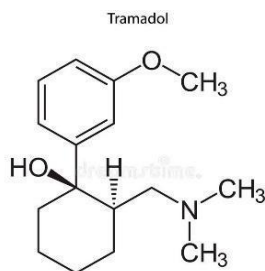
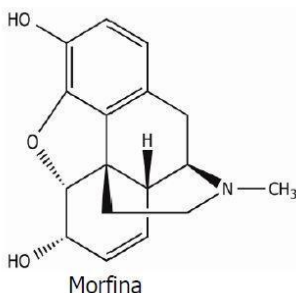
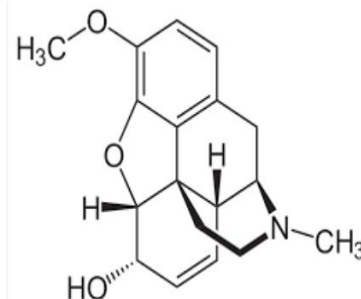
Quando utilizada, a analgesia com opioides pode induzir efeitos como sonolência, torpor e diminuição da responsividade. A classificação distingue os opiáceos, compostos puros ou derivados do ópio, dos opioides, que abrangem qualquer substância natural ou sintética capaz de produzir efeitos semelhantes à morfina (Duarte, 2005). Apesar de sua reconhecida eficácia, essa classe medicamentosa apresenta limitações relevantes, como o risco de dependência e a ocorrência de efeitos adversos, o que impulsionou a busca por alternativas mais seguras e eficazes (Duarte, 2005). Ainda assim, os opioides permanecem os analgésicos mais potentes disponíveis, atuando por ligação reversível a receptores específicos e bloqueando a transmissão de estímulos nociceptivos, modificando a percepção da dor e a sensibilidade central.

Diante dessas limitações, torna-se indispensável a adoção de estratégias de analgesia balanceada ou multimodal, que combinam diferentes agentes para potencializar o efeito analgésico e, ao mesmo tempo, reduzir a dose e os efeitos adversos de cada fármaco isoladamente (Fantoni e Mastrocinque, 2002; Tranquilli et al., 2005a). Esse cenário evidencia a necessidade do desenvolvimento de novas formulações capazes de oferecer analgesia eficaz, segura e de longa duração,

adaptada às particularidades de diferentes espécies animais. O manejo adequado da dor, por meio de formulações inovadoras, impacta diretamente o bem-estar animal, favorecendo a recuperação clínica, a preservação da funcionalidade e a relação humano-animal, alinhando-se às atuais diretrizes de bem-estar animal (Steagall et al., 2021).

## **1.2 Tramadol**

O tramadol (Figura 2) é um analgésico sintético com mecanismos de ação opioides e não opioides, amplamente utilizado no controle da dor moderada a intensa. Seu efeito analgésico se dá por meio de dois mecanismos principais que atuam de forma complementar no sistema nervoso central. O primeiro mecanismo envolve o agonismo parcial dos receptores  $\mu$ -opioides, responsáveis pela modulação da dor em nível central. O segundo está relacionado à inibição da recaptação de serotonina e norepinefrina, neurotransmissores envolvidos na via descendente da dor, o que contribui para o aumento da inibição da transmissão dolorosa. Devido a essa ação dual, o tramadol proporciona analgesia eficaz com menor risco de efeitos colaterais graves, como a depressão respiratória, quando comparado aos opioides tradicionais (Grond & Sablotzki, 2004). Quimicamente, o Tramadol é uma amina terciária derivada do ciclohexanol, estruturalmente semelhante à morfina (Figura 3) e a codeína (Figura 4), porém exibe potência farmacológica inferior à observada para a morfina e a codeína (Vazzana et al. 2015). O fármaco também apresenta vantagens em relação a outros agentes opioides, especialmente por estar associado a uma menor incidência de efeitos colaterais, como depressão cardiopulmonar, quando comparado a medicamentos da mesma classe (São Pedro et al., 2016). De acordo com os dados disponíveis no DrugBank (2025), o tramadol apresenta diversas propriedades físico-químicas relevantes para sua ação farmacológica. Entre elas, destacam-se as listadas na Tabela 2:

**Figura 2: Tramadol****Figura 3: Morfina****Figura 4: Codeína****Tabela 2: Propriedades do cloridrato de tramadol**

Propriedade	Descrição
Solubilidade em água	Aproximadamente 0,75 a 1,3 mg/mL
pKa	9,41
Estabilidade	Estável em formulações aquosas sob pH levemente ácido ou neutro

Fonte: DrugBank 2025

As propriedades físico-químicas do tramadol exercem influência direta tanto no desenvolvimento de sua formulação farmacêutica quanto na seleção dos veículos mais adequados para administração. Após a administração oral ou parenteral, o fármaco apresenta rápida absorção e é metabolizado no fígado, principalmente pelas enzimas do citocromo P450, em especial CYP2D6 e CYP3A4. Entre os metabólitos formados, destaca-se o O-desmetiltramadol (M1), que possui afinidade significativamente maior pelos receptores  $\mu$ -opioides e contribui de maneira decisiva para a potência do efeito analgésico (Kukanich; Papich, 2004).

Em humanos, o tramadol é indicado para o controle da dor aguda ou crônica de intensidade leve a moderada, como em casos pós-operatórios, dores musculares, osteoartrites e dores neuropáticas (Angeletti et al 2013.). Está disponível em diversas formas farmacêuticas, incluindo comprimidos, cápsulas, gotas, solução oral, formulações injetáveis e de liberação prolongada. No contexto veterinário, o uso do tramadol é considerado off-label, ou seja, fora das indicações oficialmente aprovadas. Ainda assim, é amplamente empregado na clínica de pequenos e grandes animais, conforme descrito pelo VCA Animal Hospitals. Em cães e gatos, é frequentemente utilizado para o manejo da dor moderada a intensa, especialmente em situações pós-operatórias, lesões e doenças crônicas (Kukanich; Papich, 2009).

Na medicina veterinária, o tramadol oferece vantagens terapêuticas importantes, sendo um fármaco de baixo custo e administrável por via oral, o que facilita seu uso em animais (Read, Khatun, and Murphy, 2019; Cox, Villarino, and Doherty, 2010).

Um dos desafios associados ao uso do tramadol é sua curta meia-vida, que exige administrações frequentes para a manutenção do efeito analgésico. Esse fator pode dificultar o manejo da dor, especialmente em ambientes hospitalares ou em animais de grande porte, nos quais a administração repetida ou contínua nem sempre é possível. Há relatos na literatura que descrevem efeitos adversos, como agitação de curta duração e espasmos musculares em equinos, particularmente após infusões intravenosas rápidas do fármaco (Dhanjal *et al.*; 2009). Para contornar esses efeitos indesejados e prolongar a ação analgésica do tramadol, uma estratégia promissora é a utilização de carreadores nanoestruturados, que permitem a liberação prolongada do fármaco.

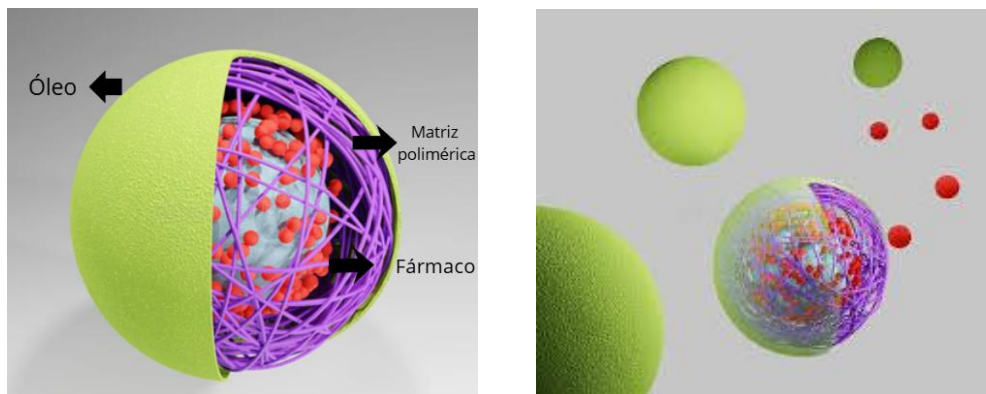
### **1.3 Nanotecnologia**

A nanotecnologia tem se consolidado como uma abordagem inovadora no desenvolvimento de sistemas terapêuticos poliméricos, oferecendo avanços significativos na proteção e na liberação controlada de fármacos. A utilização de sistemas em escala nanométrica permite aumentar a eficácia terapêutica, reduzir a toxicidade sistêmica e melhorar o perfil farmacocinético das substâncias ativas (Souto *et al.*, 2012). Entre os sistemas nanoestruturados poliméricos, destacam-se as NCs, que consistem em um núcleo oleoso envolto por uma camada de polímero (Figura 5). Nessa estrutura, o fármaco pode estar dissolvido no núcleo lipofílico e/ou adsorvido na parede polimérica, possibilitando o controle da liberação do princípio ativo (Souto *et al.*, 2012). Além disso, a arquitetura das NCs oferece proteção contra processos de degradação química e enzimática, favorecendo a estabilidade do fármaco e sua penetração em tecidos-alvo. Essas vantagens decorrem do reduzido tamanho das partículas e da possibilidade de modificação superficial, características que ampliam o potencial de aplicação terapêutica desses sistemas (Soppimath *et al.*, 2001).

As NCs podem ser constituídas por polímeros biocompatíveis e biodegradáveis como a policaprolactona. No contexto da área veterinária, as NCs

têm sido estudadas, como demonstrado na Tabela 3 evidenciando diferentes métodos de preparo e composição.

**Figura 5:** Representação esquemática de nanocápsulas poliméricas



Fonte: Ari Teguh Setiawan | Dreamstime.com | Adaptado

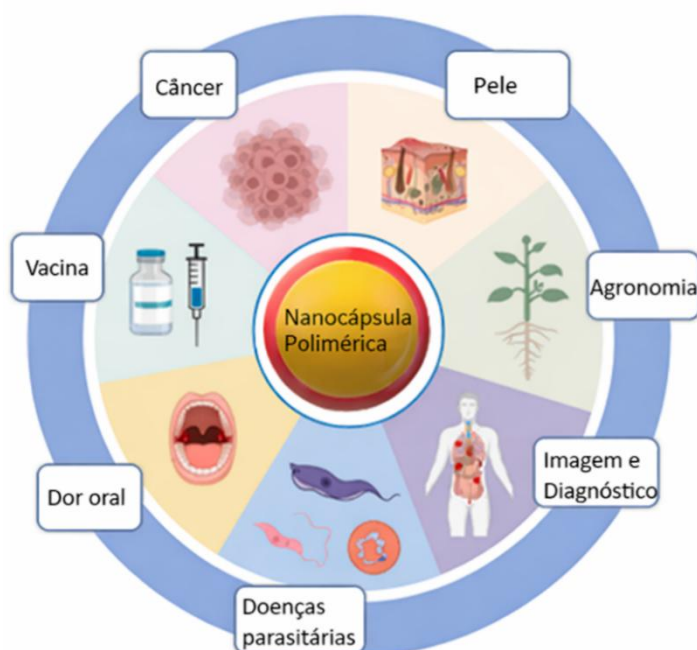
**Tabela 3:** Exemplos de nanocápsulas na área veterinária

Referência	Composição	Técnica de preparo	Principais resultados
Araújo et al., (2015)	$^{99m}\text{Tc-MIBI}$ , PCL, tensoativos, solventes orgânicos	Nanoprecipitação	Menor absorção sistêmica após administração intramamária em ratas
Araújo et al., (2019)	Cloxacilina benzatina, PCL, tensoativos, solventes orgânicos	Nanoprecipitação	Internalização celular das NCs e cura da mastite bovina
Zhou et al. (2023)	Tramadol, polímero biodegradável (PLA/PCL), tensoativos	Nanoprecipitação	Liberação controlada do fármaco, melhora do perfil farmacocinético e redução de efeitos adversos sistêmicos
Elisei et al. (2020)	Artemisinina, polímero polimérico, tensoativos	Nanoprecipitação	Efeito antinociceptivo significativo em modelo de dor pós-operatória via inibição do TLR4
Fonseca et al. (2024)	(Phenylselanyl)-2H-chromen-2-one, polímero biodegradável	Nanoprecipitação	Aumento da estabilidade do composto e atividade analgésica potencializada
Dhanjal et al. (2020)	Tramadol, sistemas nanoestruturados poliméricos	Nanoprecipitação	Melhora da biodisponibilidade e controle da dor em modelos animais
Silva et al. (2024)	Lidocaína, nanocápsulas poliméricas	Nanoprecipitação	Maior tempo de anestesia tópica e redução da absorção sistêmica

A produção de nanocápsulas pode ser realizada por diferentes métodos, sendo a nanoprecipitação, descrita por Fessi e colaboradores. (1989), uma das mais utilizadas devido à sua simplicidade, baixo custo e alta reprodutibilidade. Essa técnica utiliza uma fase orgânica composta por um polímero, como a poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL), material biodegradável e biocompatível, que pode ser associada ao fármaco de interesse. Em seguida, essa solução orgânica é adicionada a uma fase aquosa contendo um tensoativo, promovendo a formação espontânea das nanopartículas.

Há mais de quatro décadas, os estudos sobre nanocápsulas vêm demonstrando sua ampla aplicabilidade nas áreas cosmética e farmacêutica. A utilização das NCs tem se consolidado como uma ferramenta promissora no tratamento, diagnóstico e imagem, além de possibilitar o transporte de agentes terapêuticos para diversas doenças, sobretudo câncer, processos inflamatórios e infecções (de Oliveira et al., 2023), conforme ilustrado na figura 6.

**Figura 6:** Principais aplicações das nanocápsulas poliméricas



**Fonte:** Adaptado de Oliveira et al 2023.

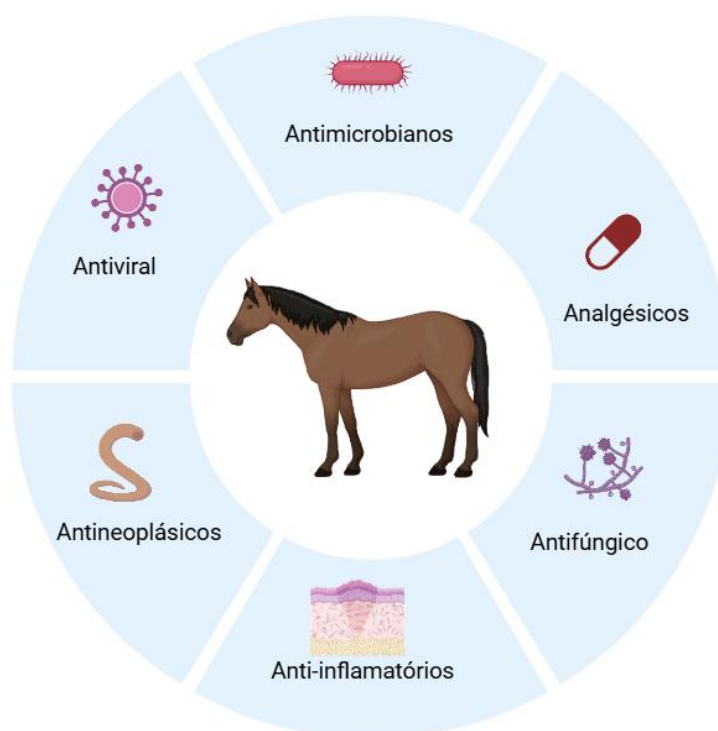
Na medicina veterinária, mais recentemente as NCs têm se mostrado promissoras em diversas aplicações, como a minimização de efeitos colaterais e a superação das limitações farmacocinéticas de fármacos (ZHOU et al., 2016).

A liberação lenta e sustentada que pode ser proporcionada pelas NCs favorece uma ação terapêutica mais eficiente, reduzindo os riscos de picos plasmáticos e reações adversas (SOUTO et al., 2012). Dessa forma, as NCs surgem como uma estratégia inovadora no desenvolvimento de formulações veterinárias, com potencial para aumentar a eficácia terapêutica, melhorar a segurança do tratamento e maximizar o bem-estar dos animais.

No contexto da analgesia veterinária, o desenvolvimento de formulações baseadas em NCs tem se mostrado uma estratégia promissora para o manejo da dor moderada a intensa. De acordo com o estudo demonstrado por Silva e colaboradores (Silva et al., 2024), a lidocaína é um anestésico local comum e amplamente utilizado cuja as propriedades analgésicas são eficazes, porém apresenta limitações como curta duração de anestesia pulpar, restrita a aproximadamente 10 minutos. A encapsulação da lidocaína em NP promoveu aumento do coeficiente de permeabilidade em cerca de 6,6 vezes e do fluxo em estado estacionário em aproximadamente 7,5 vezes para a lidocaína através do epitélio mucoso. Além disso, tanto a encapsulação quanto a associação com epinefrina melhoraram a duração da anestesia. O trabalho apresentado por Fonseca e colaboradores (Fonseca et al.; 2024) investigou os efeitos da encapsulação do 4-(Fenilselanyl)-2H-cromen-2-ona (4-PSCO) em NCs. Os resultados mostraram liberação controlada do 4-PSCO e ausência de toxicidade.

A artemisinina (ART) é descrita como um agente utilizado no controle da inflamação e da dor; entretanto, os mecanismos envolvidos em seu efeito antinociceptivo ainda são pouco compreendidos. Nesse contexto, o estudo de Elisei e colaboradores (Elisei et al.; 2020), investigou o efeito da ART tanto em sua forma livre quanto na forma nanoencapsulada sobre a dor pós-operatória verificando um efeito antinociceptivo mais potente e duradouro quando da forma nanoencapsulada comparado à ART livre ou à morfina. Wentao Deng e colaboradores (Wentao et al.; 2022) tiveram como objetivo desenvolver hidrogéis de quitosana reticulados com genipina, utilizando-os carregada de nanocápsulas para a entrega de bupivacaína (BPV), visando à prolongação da anestesia e ao alívio da dor. O hidrogel polimérico promoveu  $99,2 \pm 1,12\%$  de liberação do BPV em 36 horas, além de não exibir citotoxicidade evidente.

**Figura 7:** Formulações de nanocápsulas na medicina veterinária: potenciais terapêuticos em diferentes doenças



Portanto, para o sucesso da farmacoterapia veterinária, ainda são necessários estudos que enfrentem os desafios existentes, como o número limitado de fármacos e formas farmacêuticas disponíveis para esse mercado, além da grande variabilidade interespecífica entre animais, que envolve diferenças de fisiologia, farmacocinética e farmacodinâmica (Carvalho *et al* 2021). Assim, para superar obstáculos relacionados à biodisponibilidade, eficácia e segurança da farmacoterapia em animais, os sistemas nanoestruturados à base de polímeros representam uma ferramenta promissora.

#### **1.4- Nanopartículas contendo tramadol**

O tramadol apresenta metabolismo hepático intenso, curta meia-vida, o que requer administrações frequentes gerando maior incidência de efeitos colaterais. Diante dessas limitações, o desenvolvimento de sistemas nanoestruturados surge como uma estratégia promissora, especialmente na medicina veterinária, uma vez que a incorporação do tramadol em nanopartículas pode prolongar seu tempo de ação, reduzir a frequência de administração e, conseqüentemente, aprimorar tanto a eficácia terapêutica quanto o perfil de segurança do tratamento.

Diversos estudos na literatura investigam o uso do tramadol com o objetivo de controlar seu perfil de liberação, conforme apresentado na Tabela 4. Nas formas farmacêuticas convencionais, contendo o tramadol não encapsulado, observa-se uma liberação extremamente rápida, de modo que em cerca de 2 horas ocorre a liberação quase completa do fármaco (REF??). Por outro lado, quando o tramadol é incorporado a formas farmacêuticas modificadas, verifica-se prolongamento do tempo de liberação (Yildirim *et al.*, 2024; Abbsinia *et al.*, 2020; Mabrouk *et al.*, 2019), redução da velocidade de liberação, potencialização do efeito terapêutico e diminuição da toxicidade.

**Tabela 4** – Exemplos de estudos envolvendo nanopartículas contendo tramadol

Formulação	Polímero utilizado	Tipo de partícula	Tamanho médio (nm)	Pdl	Potencial Zeta (mV)	Eficiência de encapsulação (%)	Perfil de liberação <i>in vitro</i>
Nanopartículas lipídicas sólidas (ABBASNIA <i>et al</i> 2020)	Monoestearato de glicerol	Dupla emulsificação evaporação de solvente.	131 ± 17,25 nm	0,21 ± 0,013	-11,2 ± 1,04 mV	89,4 ± 2,38%	72 h
Proteínas como Nanocarreadores (AGRAWAL <i>et al</i> 2019)	Monooleato de polioxietilenos orbitano	Método de dessolvatação	377.2 ± 29.2	0.433	-23 mV	70 a 80%	48 a 50h
Formulação subcutânea de liberação controlada (MABROUK <i>et al</i> 2018)	PCL	Evaporação do solvente por deslizamento	2–5 nm	-	-	97,00 ± 0,70%	1080h
Nanoesferas carregadas com cloridrato de tramadol (YILDIRIM <i>et al</i> 2024)	PLGA	Método de evaporação de solvente de dupla emulsificação	339,3 ± 1,8 nm	0.04	-16.1 ± 0.4 mV	35 %	30h
Membranas de ácido polilático para liberação local de tramadol (FERNÁNDEZ-MINOTRE <i>et al</i> 2025)	PLA	Fiação por eletrofusão e a fiação por jato de ar	700 nm	-	-	90%	72h

A liberação *in vitro* de formulações nanocarreadoras pode demonstrar, de forma recorrente, um perfil prolongado de liberação, sugerindo potencial para manter níveis terapêuticos mais estáveis e controlados (Zhou *et al.*, 2016). A possibilidade de ajustar a taxa de liberação do fármaco sem a necessidade de modificar sua estrutura química tem sido amplamente estudada como estratégia para aprimorar formulações já existentes, sobretudo aquelas associadas a limitações estruturais.

## 1.5. JUSTIFICATIVA

A dor em animais tem recebido atenção crescente na medicina veterinária, refletindo a evolução da percepção social sobre o bem-estar animal. Atualmente, muitos animais são considerados membros da família ou desempenham funções essenciais em atividades rurais e urbanas, o que reforça a importância de abordagens terapêuticas eficazes e seguras para o manejo da dor. No caso dos equinos, práticas como transporte de carga, competições esportivas (como salto e corrida) e manejo intensivo frequentemente os expõem a situações estressantes que podem resultar em quadros álgicos. Se não tratados adequadamente, esses quadros comprometem não apenas o desempenho físico, mas também o bem-estar geral do animal. O tramadol é um analgésico amplamente utilizado em medicina veterinária para o controle da dor moderada a intensa, inclusive em procedimentos cirúrgicos. No entanto, sua administração intravenosa pode desencadear efeitos adversos, especialmente em equinos, como espasmos musculares e agitação, dificultando seu uso contínuo ou em protocolos prolongados. Essa limitação terapêutica justifica a busca por estratégias que otimizem sua eficácia e reduzam os riscos associados à via de administração. Neste contexto, a nanotecnologia representa uma abordagem inovadora e promissora. A incorporação do tramadol em nanocápsulas poliméricas permite a liberação controlada do fármaco, prolongando sua ação analgésica e reduzindo a frequência de administração. Essas características tornam os nanocarreadores particularmente atrativos para aplicações em medicina veterinária. Assim, este estudo propõe o desenvolvimento e a avaliação de nanocápsulas poliméricas contendo tramadol, com o objetivo de oferecer uma alternativa terapêutica mais segura, eficaz e sustentável para o controle da dor em animais. A expectativa é que essa abordagem contribua para avanços significativos no manejo analgésico de animais, promovendo seu bem-estar e melhorando os resultados.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Desenvolver e caracterizar nanocápsulas poliméricas contendo tramadol.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Obter o tramadol na forma de base livre (TMD) a partir de seu sal cloridrato;
- Preparar nanocápsulas poliméricas contendo tramadol por meio da técnica de nanoprecipitação;
- Realizar a caracterização físico-química das NCs, incluindo tamanho médio da partícula, índice de polidispersão , potencial zeta e eficiência de encapsulação;
- Avaliar a estabilidade física das formulações obtidas durante o período de estocagem;
- Determinar a solubilidade do tramadol em diferentes meios, visando à padronização do ensaio de liberação *in vitro*;
- Realizar o ensaio de liberação *in vitro* do tramadol a partir de nanocápsulas, empregando o método de diálise direta.

### 3.0 METÓDOS

#### 3.1 Obtenção do tramadol na forma de base livre (TMD)

A base livre de tramadol foi obtida a partir de seu sal cloridrato por meio de uma reação de desprotonação em meio alcalino, seguida de extração líquido-líquido com solvente orgânico apolar. Inicialmente, o cloridrato de tramadol foi dissolvido em água destilada sob agitação magnética até completa solubilização. Em seguida, adicionou-se lentamente uma solução aquosa de hidróxido de amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ , 10% m/v), sob agitação constante, até que o pH da solução atingisse valores entre 10 e 11. A alcalinização foi monitorada com auxílio de um pHmetro previamente calibrado, sendo observada a coloração esbranquiçada característica resultante da desprotonação da amina do fármaco (Figura 8). A solução alcalinizada foi então transferida para um funil de separação, no qual se procedeu à extração líquido-líquido com clorofórmio (três porções sucessivas). As fases foram vigorosamente agitadas, com liberação periódica da pressão acumulada, e separadas cuidadosamente. A fase orgânica (inferior), contendo a base livre de tramadol, foi coletada e submetida à secagem com sulfato de sódio anidro previamente ativado, seguida de filtração. O solvente foi removido por evaporação sob pressão reduzida em rotaevaporador (Rotavapor® R3, Büchi) com banho a 40 °C, obtendo-se o tramadol em sua forma de base livre, identificado como um resíduo oleoso. Para aumentar o rendimento, o processo de extração e evaporação foi repetido três vezes.

**Figura 8:** Variação da cor observada ao longo da extração do tramadol



### 3.2 Preparação de nanocápsulas poliméricas contendo tramadol

Nanocápsulas poliméricas foram preparadas pelo método de nanoprecipitação, conforme descrito originalmente por Fessi e colaboradores (1989), com algumas adaptações. As formulações descritas na Tabela 5 diferenciam-se pela composição da fase oleosa utilizada. A primeira foi preparada exclusivamente com Miglyol®, um triglicerídeo de cadeia média amplamente empregado em sistemas de liberação controlada devido à sua elevada biocompatibilidade e estabilidade. A segunda, por sua vez, foi elaborada com a combinação de Miglyol® e óleo essencial de copaíba (OEC), com o objetivo de incorporar ao veículo os potenciais efeitos terapêuticos da copaíba.

**Tabela 5:** Composição das formulações de nanocápsulas contendo tramadol

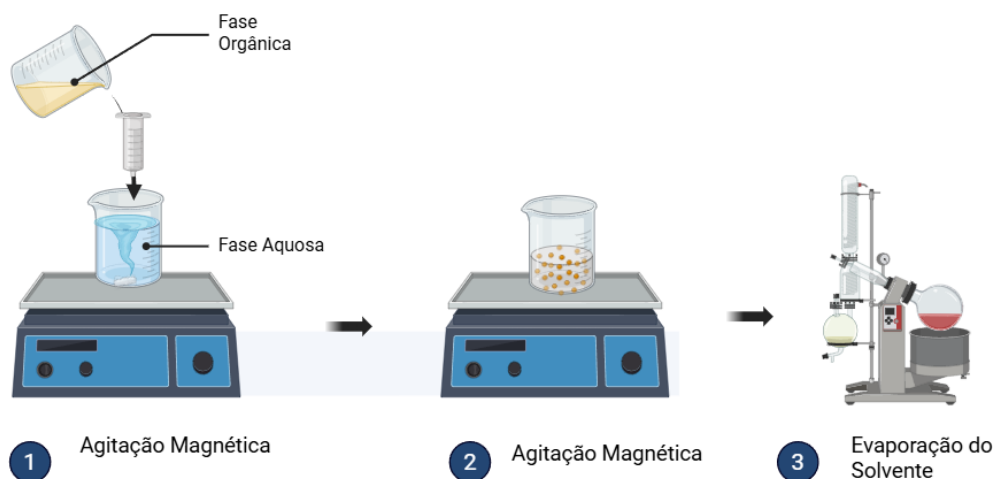
Componentes	NC TMD	NC TMD OEC	NC TMD	NC OEC
PCL	12 mg	12 mg	12 mg	12 mg
SPAN 80	15 mg	15 mg	15 mg	15 mg
Miglyol	50 µl	25 µl	50 µl	25 µl
OEC	-	25 µl	-	25 µl
Acetona	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Etanol	300 µl	300 µl	300 µl	300 µl
Tween 80	15 mg	15 mg	15 mg	15 mg
Água	4 mL	4 mL	4 mL	4 mL
Tramadol <sup>1</sup>	4mg	4mg	-	-

<sup>1</sup> Tramadol concentração fixa de 2 mg/mL em todas as formulações. Volume final = 2mL.

O preparo das formulações foi realizado em duas etapas, envolvendo inicialmente a preparação separada das fases aquosas e orgânicas. Para a fase aquosa, 15 mg de Tween® 80 foram pesados em um béquer limpo e dissolvidos em 4 mL de água ultrapura. A solução foi mantida sob agitação magnética constante por 15 minutos, a fim de assegurar a completa solubilização do tensoativo e a obtenção de uma solução homogênea. Paralelamente, para a fase orgânica, 15 mg de Span® 80 foram pesados em um segundo béquer, aos quais foram adicionados, de forma sequencial, os demais componentes: poli(ε-caprolactona) (PCL), o óleo (exclusivamente Miglyol® na formulação 1 ou a combinação de Miglyol® e OEC na

formulação 2), acetona, etanol e o fármaco TMD. A mistura foi igualmente submetida à agitação magnética por 15 minutos, garantindo a completa dissolução dos componentes e a homogeneização da fase orgânica. Após a solubilização completa das duas fases, a fase orgânica foi lentamente vertida sobre a fase aquosa, permanecendo sob agitação magnética por mais 10 minutos para favorecer a formação das nanocápsulas. Em seguida, a suspensão obtida foi submetida a rotaevaporação (Rotavapor® R3, Büchi) para remoção do solvente orgânico e parte da água, até atingir o volume final desejado (2 mL). Dessa forma, foram obtidas duas formulações distintas de nanocápsulas contendo tramadol, com concentração final de 2 mg/mL, conforme ilustrado na Figura 9. Para a preparação das nanocápsulas brancas (NCB), o mesmo procedimento foi adotado, utilizando as mesmas quantidades de polímero e demais constituintes, diferindo apenas pela ausência da adição do fármaco.

**Figura 9:** Esquema do preparo de nanocápsulas pelo método de nanoprecipitação.



### 3.3 Caracterização das nanocápsulas

O diâmetro hidrodinâmico médio, o índice de polidispersão (Pdl) e o potencial zeta das nanocápsulas foram determinados utilizando o equipamento Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, UK). As medições foram realizadas a 25 °C, com ângulo de detecção de 90°. A avaliação do tamanho das partículas foi conduzida em cubetas de vidro, utilizando uma solução preparada a partir da diluição de 2 µL da

formulação em 1000 µL de água Milli-Q (BAZYLIŃSKA et al., 2014). Para a determinação do potencial zeta, a mesma solução foi empregada, sendo transferida para cubetas plásticas equipadas com eletrodos de cobre banhados a ouro.

### 3.4 Estabilidade das nanopartículas durante estocagem

O tamanho médio, o índice de polidispersão (PDI) e o potencial zeta das nanocápsulas foram monitorados durante 60 dias, com o objetivo de avaliar possíveis alterações nesses parâmetros e, conseqüentemente, a estabilidade coloidal das formulações em condições de armazenamento. As amostras foram mantidas sob refrigeração a 4 °C e caracterizadas nos intervalos de 0, 7, 14, 21, 30 e 60 dias. Todas as medições foram realizadas conforme descrito no item 3.3, utilizando o equipamento Zetasizer Nano-ZS (Malvern Instruments, UK). Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão (n = 3)

### 3.5 Quantificação do TMD

Todas as quantificações de TMD foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com detecção em 270 nm. A separação cromatográfica foi conduzida em coluna de fase reversa, utilizando como fase móvel uma mistura de tampão fosfato em água ultrapura e metanol grau HPLC, na proporção de 65:35 (v/v), ajustada para pH 7,0. O fluxo da fase móvel foi mantido constante em 1,0 mL/min como demonstrado na Tabela 6.

**Tabela 6:** Condições cromatográficas para quantificação do TMD

Parâmetros	Condições Estabelecidas
Fase móvel	Tampão: Metanol (65:35) - pH 7 utilizando trietilamina
Volume de injeção	20µL
Fluxo/Temperatura	1,0 mL/min/ 30°
Detecção UV	270 nm

O tampão fosfato foi preparado pesando-se 0,1482 g de fosfato monobásico de potássio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), o qual foi dissolvido em 600 mL de água ultrapura sob

agitação até completa solubilização. Em seguida, procedeu-se à preparação da fase móvel, constituída pela mistura de tampão fosfato e metanol (grau HPLC) na proporção de 65:35 (v/v), e filtrado. O ajuste do pH foi realizado pela adição de trietilamina (TEA) até atingir pH 7,0, com monitoramento em pHmetro previamente calibrado. A curva de calibração do TMD foi construída a partir da preparação de duas soluções estoques e de suas diluições seriadas subsequentes. A partir dessas soluções, foram obtidas concentrações variando de 0,5 a 500 µg/mL, possibilitando a determinação da relação entre concentração e resposta analítica.

### **3.6 Eficiência de encapsulação**

A eficiência de encapsulação das formulações foi determinada utilizando metodologia baseada na quantificação da fração ultrafiltrada do fármaco livre. Para isso, 300 µL de cada formulação foram transferidos para unidades de AMICON Ultracel® 50K (Millipore®) e submetidos à centrifugação a 4500 rpm por 30 minutos. O filtrado obtido, correspondente à fração não encapsulada, foi coletado, e uma alíquota de 100 µL foi diluída em 900 µL da fase móvel. A amostra resultante foi então filtrada em membrana de 0.45 µm, transferida para vials e injetada no sistema cromatográfico (CLAE) para análise. A quantidade total de fármaco presente nas nanopartículas foi determinada diluindo-se 100 µL da formulação em 1,9 mL de acetonitrila, seguida de agitação em vórtex por 5 minutos e centrifugação a 500 × g por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado e 600 µL foram injetados no CLAE. A eficiência de encapsulação foi calculada a partir da diferença entre a quantidade total de TMD na suspensão e a quantidade de fármaco livre determinada no ultrafiltrado, dividida pela quantidade total de TMD quantificada na suspensão, expressando-se o resultado em porcentagem.

### **3.7 Determinação da solubilidade e da condição *sink* para o ensaio de liberação *in vitro***

A solubilidade do TMD foi determinada nos diferentes meios de liberação, sendo os ensaios realizados em triplicata para cada ponto experimental, conforme apresentado na Tabela 7.

**Tabela 7:** Meios de liberação empregados para a determinação da solubilidade do tramadol

Meio de liberação	pH
PBS	7.4
FGS	1.2
FIS	6.8

O fluido gástrico simulado (FGS, pH 1,2) foi preparado de acordo com Ünal e colaboradores (2015), dissolvendo-se 100 mg de cloreto de sódio (NaCl) em 50 mL de água deionizada, aos quais foram adicionados 0,35 mL de ácido clorídrico (HCl) concentrado. O fluido intestinal simulado (FIS, pH 6,8) foi obtido dissolvendo-se 340,25 mg de fosfato monobásico de potássio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) em 50 mL de água ultrapura, seguido da adição de 44,8 mg de hidróxido de sódio (NaOH) para ajuste do pH. A solução tampão PBS (pH 7,4), por sua vez, foi preparada pela dissolução de 0,400 g de cloreto de sódio (NaCl), 0,010 g de cloreto de potássio (KCl), 0,072 g de fosfato de sódio dibásico (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) e 0,01225 g de fosfato monobásico de potássio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) em 50 mL de água ultrapura. Para a determinação da solubilidade, adicionou-se excesso de tramadol (2 mg) em tubos Eppendorf de 2 mL contendo 1 mL de cada meio de liberação, em triplicata. As amostras foram mantidas sob agitação constante em shaker orbital a 37,0 ± 0,5 °C por 24 horas. Após esse período, os sistemas foram centrifugados e o sobrenadante coletado para análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), a fim de quantificar a fração dissolvida do fármaco. Para a preparação das amostras destinadas à injeção no HPLC, realizou-se diluição na proporção de 1:4, adicionando-se 200 µL do sobrenadante a 600 µL de metanol grau HPLC. Dessa forma, apenas a fração efetivamente solubilizada em cada meio foi analisada, visto que o processo de centrifugação e filtração removeu partículas e fármaco não dissolvido. A partir dos valores de solubilidade obtidos experimentalmente nos diferentes meios de liberação, foi determinada a condição sink para a realização dos ensaios de liberação *in vitro*.

### **3.8 Ensaio de liberação *in vitro***

O ensaio de liberação *in vitro* do TMD a partir das formulações foi conduzido pelo método de diálise direta, utilizando membranas semipermeáveis como barreira de difusão. Alíquotas das formulações contendo nanocápsulas foram acondicionadas em sacos de diálise previamente hidratados e selados, os quais foram imersos em tubos falcon contendo 5 mL de PBS (pH 7,4) como meio de liberação. O sistema foi mantido sob agitação constante a  $37 \pm 0,5$  °C, de forma a simular condições fisiológicas. A condição *sink* foi estabelecida com base na solubilidade previamente determinada para o tramadol, assegurando que a concentração máxima no meio de liberação não ultrapassasse 30% desse valor (0,39 mg/mL). Esse critério garantiu que o processo de difusão fosse governado pelas propriedades da formulação, evitando a saturação do meio. As formulações, contendo TMD na concentração de 2 mg/mL, foram avaliadas em triplicata. Amostras do meio externo (0,3 mL) foram coletadas em intervalos pré-determinados (15 min, 45 min, 1 h, 2h?? conferir), sendo imediatamente repostas o mesmo volume de PBS fresco após cada coleta, de modo a manter o volume constante e preservar a condição *sink*. A quantificação do fármaco liberado foi realizada por CLAE.

### **3.9 Análise estatística**

Os valores médios e desvios padrão foram calculados utilizando Excel. Os dados foram tratados utilizando Microsoft Office Excel e GraphPad Prism 6.0, adotando um nível de significância de  $p < 0,05$  para determinar as diferenças estatisticamente significativas.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Desenvolvimento e caracterização das nanocápsulas poliméricas contendo tramadol

As nanocápsulas poliméricas foram desenvolvidas pelo método de nanoprecipitação, como descrito por Fessi e colaboradores (1989), uma técnica amplamente utilizada devido à sua simplicidade, reprodutibilidade e capacidade de gerar sistemas com elevada estabilidade coloidal. Esse processo permite a obtenção de partículas em escala nanométrica de forma controlada, favorecendo a encapsulação eficiente e propriedades adequadas para aplicações farmacêuticas. Após a preparação, as formulações foram submetidas à caracterização físico-química, contemplando a análise do tamanho médio de partícula, Pdl, potencial zeta e eficiência de encapsulação. As NCs apresentaram tamanhos médios de partícula variando nos valores de 158,6 nm e 226,7 nm, mantendo-se, portanto, dentro da faixa nanométrica. A formulação controle NCB (nanocápsulas brancas contendo apenas Miglyol®) apresentou o menor diâmetro médio (158,6 nm). Com a incorporação do fármaco tramadol (NC TMD), observou-se aumento expressivo no tamanho médio, alcançando 226,7 nm, o que sugere a encapsulação do fármaco. Por outro lado, a adição do óleo essencial de copaíba nas formulações sem fármaco (NCB OC) resultou em nanocápsulas com diâmetro médio de 167,0 nm, valor levemente superior ao obtido para a formulação NCB. Esse comportamento indica que o OEC promove uma modificação moderada na estrutura da partícula, sem impactar de forma significativa o diâmetro final. Nas formulações contendo simultaneamente TMD, OEC e Miglyol® (NC TMD OC), o tamanho médio obtido foi de 170,6 nm, próximo ao observado para NCB OC. Esse resultado sugere que a presença do OEC pode contribuir para uma melhor acomodação do fármaco na matriz, reduzindo o impacto no diâmetro médio das partículas em relação à formulação com tramadol e Miglyol® (NC TMD). De maneira geral, todas as formulações mantiveram-se dentro da escala nanométrica, característica essencial para aplicações em sistemas de liberação controlada de fármacos (BAZYLIŃSKA et al., 2014). Ressalta-se, entretanto, que as diferenças observadas entre as formulações poderão ser mais bem esclarecidas a partir da análise de múltiplos

lotes, visto que variações inerentes ao processo de preparo podem interferir nos valores obtidos.

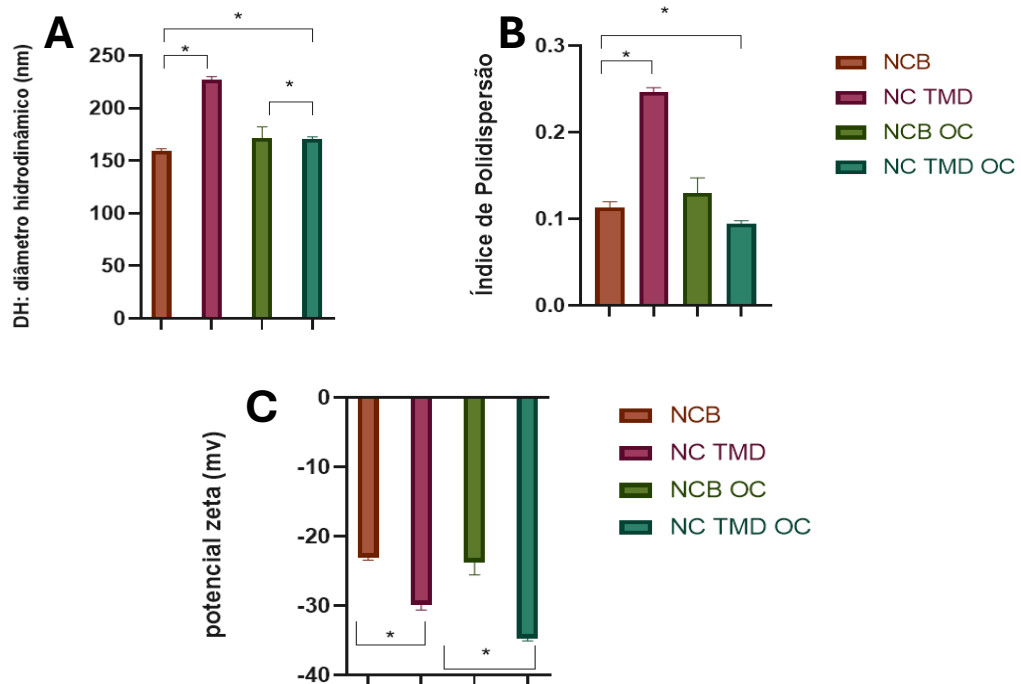
A análise do Pdl confirmou a homogeneidade das formulações uma vez que apresentaram Pdl < 0,3. A NCB apresentou baixo PDI (0,113 ± 0,058), indicando elevada uniformidade do sistema. A formulação NCB OC apresentou comportamento semelhante, com PDI de 0,129 ± 0,017, reforçando que a adição do OEC não comprometeu a monodispersidade. Já a NC TMD apresentou PDI mais elevado (0,246 ± 0,0050), evidenciando maior heterogeneidade na distribuição de tamanhos, o que pode estar relacionado à interação do fármaco com a matriz polimérica e o núcleo lipídico. Em contrapartida, a formulação NC TMD OC apresentou o menor valor de Pdl dentre todas (0,094 ± 0,035), indicando excelente homogeneidade, possivelmente favorecida pela presença do OEC, que pode ter contribuído para uma melhor estabilização das partículas durante a formação. Além disso, todas as formulações apresentaram potencial zeta negativo, característico de sistemas à base de PCL. A magnitude dos valores obtidos (superior a 20 mV em módulo) indica estabilidade coloidal satisfatória (Araujo et al., 2015; 2019), sendo a formulação NC TMD OC particularmente promissora por reunir tamanho nanométrico reduzido, elevada homogeneidade e potencial zeta negativo. Os resultados referentes à caracterização físico-química das formulações estão apresentados na Tabela 8 e na Figura 10.

**Tabela 8:** Caracterização físico-química das nanocápsulas poliméricas

Formulação	Dh: (nm)	Pdl	ζ (mV)
<b>NCB</b>	158,6 ± 1,8	0,113 ± 0,006	-23,1 ± 0,3
<b>NC TMD</b>	226,7 ± 3,2*	0,246 ± 0,005*	-29,8 ± 0,7
<b>NCB OEC</b>	167,0 ± 10,5	0,129 ± 0,017	-23,7 ± 1,7
<b>NC TMD OEC</b>	170,6 ± 2,1*	0,094 ± 0,003*	-34,7 ± 0,3

Dh: Diâmetro hidrodinâmico; Pdl: Índice de polidispersão; ζ: Potencial zeta; DP: desvio padrão (n=3). \* p < 0.05 comparação com e sem fármaco

**Figura 10.** Tamanho hidrodinâmico médio das nanocápsulas (média  $\pm$  DP) (A), Pdl (B) e potencial zeta (C). A análise estatística foi realizada por múltiplos testes *t*, com correção de Bonferroni-Sidak ( $\alpha = 0,05$ ). Diferenças estatisticamente significativas estão indicadas na figura (\*).



Dados da literatura mostram que outros carreadores encapsularam o tramadol na sua forma de sal, o cloridrato de tramadol (CTD). Abbasnia et al. (2020) produziram nanopartículas lipídicas sólidas contendo CTD a partir de monoestearato de glicerol por dupla emulsificação e evaporação de solvente obtendo diâmetro médio de  $131,00 \pm 17,25$  nm, Pdl de  $0,21 \pm 0,01$  e potencial zeta de  $-11,2 \pm 1,04$  mV, permanecendo em escala nanométrica semelhante à observada para as formulações desenvolvidas no presente trabalho. Já o estudo de Agrawal e colaboradores (2019), utilizou proteínas como nanocarreadores para CTD obtendo partículas com diâmetro médio de  $377,2 \pm 29,2$  nm e Pdl mais elevado (0,433), associado a potencial zeta de  $-23$  mV. Comparativamente, as nanocápsulas obtidas no presente estudo exibiram diâmetros significativamente menores aos anteriormente mencionados (158–226 nm) e dispersões mais homogêneas ( $PDI < 0,25$ ). Esses resultados reforçam a eficiência da metodologia empregada (nanoprecipitação com deslocamento de solvente) para a produção de sistemas

coloidais estáveis e uniformes e estão de acordo com nanocápsulas poliméricas encapsulando OEC (Pinto et al., 2023).

Yildirim e colaboradores (2024) desenvolveram nanopartículas do tipo nanoesferas de PLGA carregadas com CTD, utilizando dupla emulsificação e evaporação de solvente. O sistema apresentou diâmetro médio de  $339,3 \pm 1,8$  nm, PDI de 0,04 e potencial zeta de  $-16,1 \pm 0,4$  mV. Quando comparados aos resultados do presente estudo, observa-se que as nanocápsulas contendo tramadol (NC TMD e NC TMD OC) apresentaram diâmetros menores (170–226 nm) e potenciais zeta mais negativos (até  $-34,7$  mV), indicando maior estabilidade coloidal e dimensões mais adequadas para aplicações em sistemas de liberação controlada.

#### **4.2 Avaliação da estabilidade física das nanocápsulas durante a estocagem**

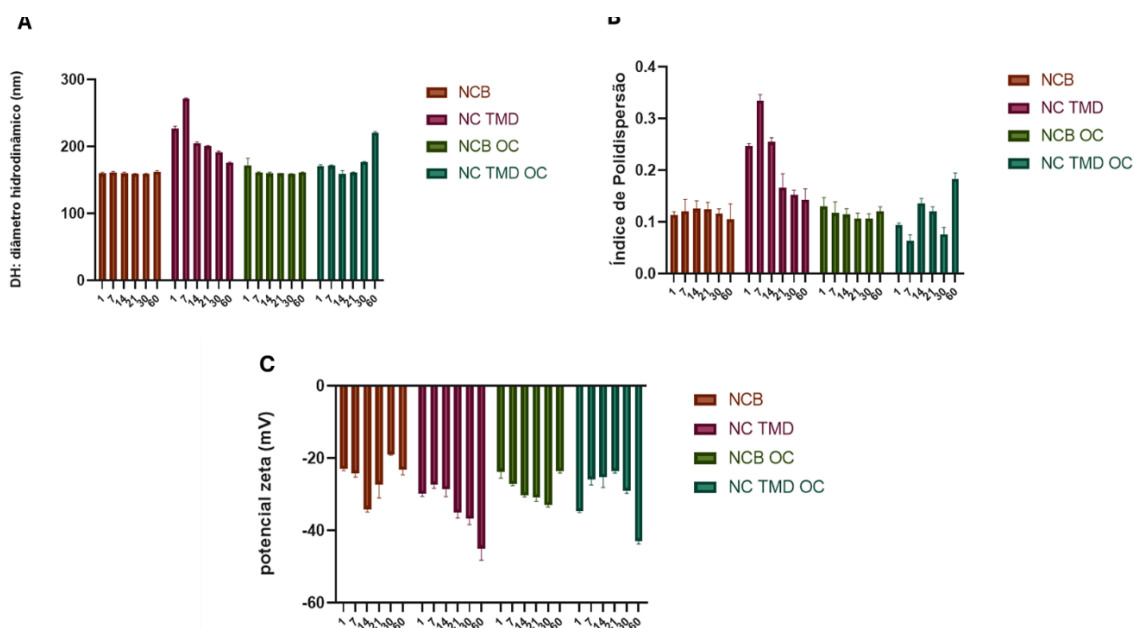
A estabilidade é uma das características mais relevantes em formulações farmacêuticas, pois constitui um fator essencial para assegurar a eficácia, segurança e qualidade do produto durante todo o seu período de validade. Formulações estáveis preservam suas propriedades originais, evitando a degradação do fármaco, a formação de subprodutos potencialmente tóxicos e a consequente perda de eficácia terapêutica. No caso das NCs, a estabilidade representa um desafio adicional, já que essas estruturas são constituídas por uma fase oleosa, envolvida por uma matriz polimérica, e pelo fármaco adsorvido e/ou encapsulado. Manter suas características físico-químicas ao longo do tempo é fundamental para comercialização e para garantir o efeito desejado.

O estudo de estabilidade das NCs armazenadas em condições controladas demonstrou manutenção adequada das propriedades físico-químicas ao longo do tempo. Houve pequenas flutuações do diâmetro médio, do Pdl e do potencial zeta como demonstrado na Tabela 9 e Figura 11. Porém, todos os valores de diâmetro médio ficaram em escala nanométrica, Pdl  $< 0,3$  e potencial zeta negativo.

Formulação	Dia	Diâmetro médio	Pdl	Zeta
NCB	0	159,53 ± 1,79	0,114 ± 0,005	-23,10 ± 0,34
	7	160,83 ± 1,75	0,121 ± 0,022*	-24,30 ± 0,96
	14	159,50 ± 2,13	0,125 ± 0,015*	-34,17 ± 0,76
	21	158,97 ± 0,58	0,125 ± 0,013*	-27,33 ± 3,70
	30	159,23 ± 0,56	0,117 ± 0,008*	-19,13 ± 0,11
	60	162,00 ± 1,90	0,105 ± 0,029*	-23,24 ± 1,37
NC TMD	0	227,00 ± 3,16	0,247 ± 0,005	-29,87 ± 0,73
	7	271,43 ± 1,30	0,335 ± 0,011*	-27,40 ± 0,95
	14	204,57 ± 1,95	0,255 ± 0,008*	-28,70 ± 1,99
	21	200,20 ± 1,37	0,167 ± 0,026*	-35,13 ± 1,41
	30	191,10 ± 1,65	0,152 ± 0,009*	-36,77 ± 1,62
	60	175,73 ± 1,02	0,143 ± 0,021*	-45,03 ± 3,20
NCB OC	0	171,77 ± 1,49	0,130 ± 0,010	-23,70 ± 1,77
	7	161,30 ± 0,70	0,117 ± 0,021*	-27,23 ± 0,41
	14	159,60 ± 1,96	0,114 ± 0,011*	-30,30 ± 1,95
	21	159,60 ± 0,36	0,107 ± 0,010*	-30,97 ± 1,37
	30	159,17 ± 0,15	0,107 ± 0,009*	-33,00 ± 1,65
	60	160,80 ± 1,11	0,121 ± 0,008	-23,67 ± 1,02
NC TMD OC	0	170,73 ± 2,10	0,094 ± 0,003	-34,73 ± 0,35
	7	171,13 ± 1,17	0,064 ± 0,011*	-25,90 ± 1,58
	14	158,73 ± 5,02	0,136 ± 0,009*	-25,27 ± 2,86
	21	160,80 ± 1,11	0,121 ± 0,008*	-23,67 ± 0,50
	30	176,57 ± 0,95	0,076 ± 0,013*	-29,13 ± 0,66
	60	220,57 ± 1,78	0,183 ± 0,012*	-42,97 ± 0,80

**Tabela 9.** Avaliação da estabilidade das formulações ao longo do tempo

**Figura 11.** Variação do diâmetro hidrodinâmico (A), Pdl (B) e potencial zeta (C) das NC durante armazenamento a 4°C ao longo de 60 dias. Os dados estão expressos como média e desvio padrão (n = 3)



### 4.3 Eficiência de encapsulação e porcentagem de encapsulação

A eficiência de encapsulação das formulações contendo TMD foi avaliada nos dias 0 e 7 após o preparo (Tabela 11). A formulação NC TMD, composta exclusivamente por óleo de Miglyol®, apresentou eficiência inicial de  $58,62 \pm 1,15\%$ , mantendo valores próximos após sete dias ( $56,33 \pm 3,34\%$ ), sem variação significativa, o que indica boa retenção do fármaco na matriz polimérica nesse período. Já a formulação contendo óleo de copaíba associada ao Miglyol® (NC TMD OC) apresentou eficiência inicial superior ( $75,33 \pm 0,54\%$ ), sugerindo que a presença de OEC favorece a encapsulação do TMD, possivelmente por aumentar a afinidade lipofílica e facilitar a acomodação do fármaco no núcleo oleoso. No entanto, após sete dias, a eficiência de encapsulação reduziu-se para  $59,23 \pm 0,57\%$ , alcançando valores semelhantes aos observados para a formulação contendo apenas Miglyol®. Portanto, os resultados indicam que, embora o OEC tenha potencializado a encapsulação inicial do fármaco, esse efeito não foi sustentado ao longo do tempo, resultando em comportamento semelhante à formulação padrão.

**Tabela 10** – Eficiência de encapsulação (%) das formulações de nanocápsulas contendo TMD, com e sem OEC, nos dias 0 e 7 de armazenamento.

NC	DIA	% de encapsulação
NC TMD	0	58,62 ± 1,15
NC TMD	7	56,33 ± 3,34
NC TMD OEC	0	75,32 ± 0,54
NC TMD OEC	7	59,22 ± 0,57*

A eficiência de encapsulação observada para as nanocápsulas desenvolvidas neste estudo variou entre 58,6% e 75,3%, em função das diferenças na composição da fase oleosa. Esses valores são consistentes com os reportados para nanocápsulas poliméricas preparadas por nanoprecipitação contendo outros fármacos (Araujo et al., 2019), embora apresentem variações quando comparados aos resultados disponíveis na literatura para o CTD. Abbasnia e colaboradores (2020) relataram uma eficiência de encapsulação de 89,4% para nanopartículas lipídicas sólidas. Já Yildirim e colaboradores (2024) obtiveram 35% de encapsulação do CTD em nanopartículas de PLGA preparadas por dupla emulsificação, resultado inferior ao deste estudo, possivelmente devido ao uso de um polímero e de um método de preparo distintos. No caso de sistemas proteicos, Agrawal e colaboradores (2019) registraram eficiência entre 70% e 80%, valores comparáveis aos obtidos aqui para a formulação contendo óleo essencial de copaíba (NC TMD OEC, 75,3%). Esse resultado sugere que a adição do OEC contribuiu positivamente para a retenção inicial do TMD, provavelmente por aumentar a afinidade lipofílica do fármaco no núcleo oleoso.

O tramadol apresenta características tanto lipofílicas quanto hidrofílicas, e essa dualidade de solubilidade em diferentes meios pode influenciar diretamente a porcentagem do fármaco efetivamente encapsulada. Na formação de nanocápsulas, o fármaco é envolto pelo óleo e pela matriz polimérica; entretanto, em função de

suas propriedades físico-químicas, não há evidências de uma preferência marcante pela associação às nanopartículas. A retenção do fármaco e sua afinidade pelo núcleo oleoso constituem aspectos fundamentais para o desenvolvimento de sistemas com perfil de liberação prolongada.

#### 4.4 Solubilidade TMD

Para a realização do estudo de liberação *in vitro* do tramadol, foi inicialmente determinado o ensaio de solubilidade a fim de estabelecer a condição *sink* e, assim, definir a concentração adequada a ser utilizada. O fármaco foi adicionado em excesso ao meio de dissolução para determinar sua solubilidade e evitar saturação durante os ensaios, assegurando condições favoráveis à difusão. Após a execução dos ensaios, as amostras coletadas foram analisadas por CLAE em triplicata, sendo os resultados médios apresentados na Tabela 11.

**Tabela 11:** Solubilidade determinada do TMD em diferentes meios de dissolução

Meio	Concentração $\mu\text{g/mL} \pm \text{DP}$
PBS	1290,08 $\pm$ 29,23
FGS	1651,80 $\pm$ 19,94
FIS	1651,38 $\pm$ 31,91

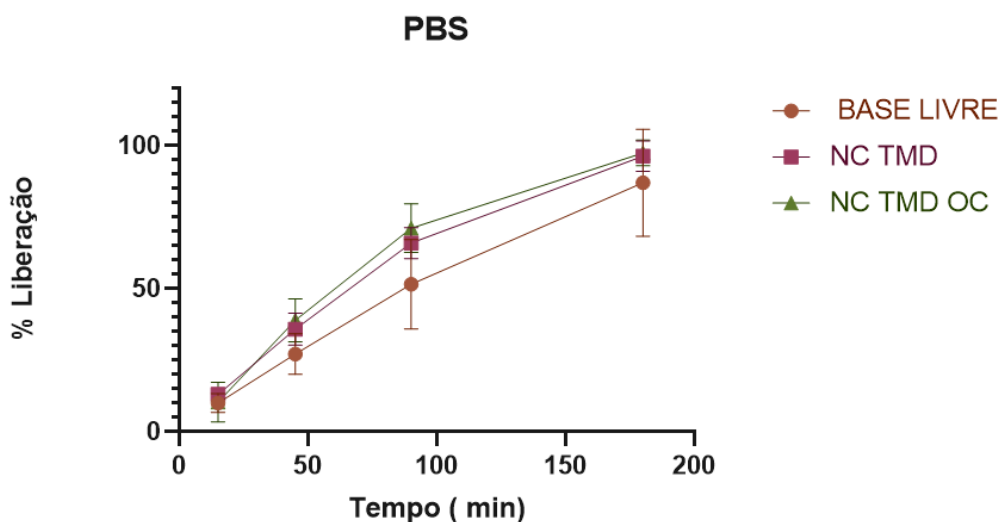
A solubilidade do TMD foi determinada em diferentes meios e apresentou variações de acordo com a composição do solvente. Em tampão PBS, o fármaco apresentou solubilidade de 1290,08  $\pm$  29,23  $\mu\text{g/mL}$ , valor bastante próximo ao descrito no *DrugBank* (aproximadamente 1,3 mg/mL), o que confirma a consistência dos resultados obtidos neste estudo. Nos fluidos biológicos simulados, observaram-se valores superiores, sendo 1651,80  $\pm$  19,94  $\mu\text{g/mL}$  em FGS e 1651,38  $\pm$  31,91  $\mu\text{g/mL}$  em FIS, indicando que o meio influencia diretamente a solubilidade do fármaco. Esses resultados indicam que o TMD apresenta maior solubilidade em ambientes que simulam o trato gastrointestinal, independentemente de condições mais ácidas (FGS) ou próximas da neutralidade (FIS). A menor solubilidade observada no PBS sugere que fatores como força iônica e composição salina podem influenciar desfavoravelmente a dissolução do fármaco nesse meio. Os dados estão

representados graficamente na Tabela 10, que ilustra o comportamento de solubilidade do tramadol nos diferentes meios avaliados.

#### 4.5 Ensaio de liberação *in vitro*

O estudo de liberação *in vitro* foi conduzido pelo método de diálise direta, o qual permite quantificar a fração de fármaco liberada no meio em tempos previamente estabelecidos. Esse procedimento possibilita avaliar o grau de difusão do tramadol livre através da membrana semipermeável, em função do gradiente de concentração (SOKOLOV, 2018). O perfil de liberação do TMD em tampão PBS está representado na Figura 12, mostrando que todas as formulações avaliadas apresentaram aumento progressivo no percentual de liberação ao longo do tempo.

**Figura 12:** Perfil de liberação *in vitro* do TMD livre e encapsulado em NCs no meio PBS



Após 3 horas, observou-se liberação superior a 90% para a base livre e para as formulações NC TMD e NC TMD OEC, indicando que o fármaco foi eficientemente liberado em meio aquoso. De modo geral, os resultados sugerem que as NCs avaliadas apresentam comportamento de liberação semelhante, alcançando níveis próximos de difusão do TMD no período experimental analisado.

Ao comparar o perfil de liberação obtido neste estudo com os descritos na literatura (Tabela 4), verifica-se que as NCs contendo TMD apresentaram rápida

liberação no meio, comportamento semelhante ao do fármaco livre. Em contrapartida, diversos trabalhos relatam perfis de liberação mais prolongados em diferentes sistemas nanoestruturados. Abbasnia e colaboradores (2020) observaram que nanopartículas lipídicas sólidas mantiveram a liberação estendida por até 72 horas. Resultados semelhantes foram descritos por Agrawal e colaboradores (2019), que reportaram aproximadamente 50 horas de liberação em nanocarreadores proteicos. Em um perfil ainda mais prolongado, Mabrouk e colaboradores (2018) documentaram até 1080 horas de liberação em formulações subcutâneas de PCL. Outras abordagens também demonstram liberação sustentada: Yildirim e colaboradores (2024) reportaram cerca de 30 horas para nanopartículas de PLGA, enquanto Fernández-Minotre e colaboradores (2025) descreveram aproximadamente 72 horas para membranas de PLA. Dessa forma, os resultados obtidos no presente estudo evidenciam um perfil de liberação consideravelmente mais rápido em comparação às formulações descritas, sugerindo que a composição e a organização da matriz nanocápsula exerceram influência direta na rápida difusão do tramadol.

Apesar da utilização do tramadol na forma de base livre e da incorporação de PCL a 6 mg/mL, as formulações não foram capazes de promover um perfil de liberação prolongada, apresentando comportamento semelhante ao fármaco livre. Esse resultado sugere que a alta solubilidade do TMD em meio PBS pode ter favorecido sua rápida partição. Além disso, pode ter havido baixa compatibilidade entre o TMD e o núcleo oleoso, associada à insuficiente densidade polimérica para atuar como barreira difusional, favorecendo a rápida difusão do fármaco para o meio externo. Em comparação com outros sistemas descritos na literatura, como nanopartículas lipídicas sólidas (ABBASNIA et al., 2020) e nanopartículas proteicas (AGRAWAL et al., 2019), que apresentaram liberação sustentada devido à maior afinidade entre matriz e fármaco, os resultados aqui obtidos indicam que a simples utilização da base livre associada a um núcleo oleoso e PCL não é suficiente para controlar a cinética de liberação do tramadol. Dessa forma, tornam-se necessárias estratégias adicionais, como por exemplo o aumento da fração polimérica e/ou a formação de pares iônicos entre o tramadol e contra-íons hidrofóbicos, capazes de reduzir sua solubilidade aparente e favorecer maior retenção na matriz polimérica.

## 5. CONCLUSÃO

Foram desenvolvidas NCs contendo TMD pelo método de nanoprecipitação. As formulações apresentaram características físico-químicas adequadas para sistemas coloidais estáveis, incluindo tamanho inferior a 200 nm, PDI abaixo de 0,3, potencial zeta negativo e eficiência de encapsulação superior a 50%. O estudo de solubilidade demonstrou que o TMD apresenta elevada solubilidade em diferentes meios fisiológicos. No ensaio de liberação *in vitro*, ambas as formulações exibiram um perfil de liberação semelhante ao do fármaco livre, com liberação total em aproximadamente 3 horas. Esses achados indicam que, devido às propriedades intrínsecas do TMD, sua elevada solubilidade é mantida mesmo após a incorporação em nanocápsulas poliméricas, resultando em uma liberação rápida. Dessa forma, tornam-se necessários estudos adicionais para otimizar a eficiência de encapsulação e desenvolver sistemas capazes de prolongar a liberação do fármaco.

## REFERÊNCIAS

- ABBASNIA, Mina; VATANARA, Ali Reza; MAHJUB, Reza. Preparation, statistical optimization and in vitro characterization of solid lipid nanoparticles as a potential vehicle for transdermal delivery of tramadol hydrochloride as a hydrophilic Compound. **Nanomedicine Research Journal**, v. 5, n. 2, p. 120-131, 2020.
- ABBIATI Roberto Andrea et al. 2017. "A Physiologically Based Model for Tramadol Pharmacokinetics in Horses." *Journal of Theoretical Biology*. Araújo, R.S. et al. 2019. **"Cloxacillin Benzathine-Loaded Polymeric Nanocapsules: Physicochemical Characterization, Cell Uptake, and Intramammary Antimicrobial Effect."** *Materials Science and Engineering C* 104.
- ACOSTA, A. C. et al. **Antibacterial behavior of polypyrrole nanoparticles against Staphylococcus aureus isolated from cows and goats with mastitis.** *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.72, n.03, p.1047-1050, 2020. Available from: . Accessed: Jan. 08, 2021. doi: 10.1590/1678-4162-10384.
- AGRAWAL, Shubhang; PATEL, Pratikshkumar R.; GUNDLOORI, Rathna Venkata Naga. Proteins as nanocarriers to regulate parenteral delivery of tramadol. **ACS omega**, v. 4, n. 4, p. 6301-6310, 2019.
- ALEIXO, Grazielle Anahy Sousa et al. Tratamento da dor em pequenos animais: classificação, indicações e vias de administração dos analgésicos (revisão de literatura: parte II). **Medicina Veterinária**, v. 11, n. 1, p. 29-40, 2017.
- ALORFI, Nasser M. Pharmacological Methods of Pain Management: Narrative Review of Medication Used. **International Journal of General Medicine**, v. 16, p. 3247–3256, 31 Jul. 2023. DOI: 10.2147/IJGM.S419239.
- ANGELETTI, C., Guetti, C., Paladini, A., & Varrassi, G. (2013). Tramadol Extended-Release for the Management of Pain due to Osteoarthritis. *International Scholarly Research Notices*, 2013(1), 245346.
- ARAÚJO, R. S.; et al. **Cloxacillin benzathine-loaded polymeric nanocapsules: physicochemical characterization, cell uptake, and intramammary antimicrobial effect.** *Materials Science & Engineering C*, v. 104, 2019, 109959. DOI: 10.1016/j.msec.2019.109959.
- BABAIE, Soraya et al. Recent advances in pain management based on nanoparticle technologies. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 20, n. 1, p. 290, 2022.
- BAZYLIŃSKA, U. et al. Polymeric nanocapsules and nanospheres for encapsulation and long sustained release of hydrophobic cyanine-type photosensitizer. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 442, p. 42–49, 2014.
- BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential - What they are and what they are not? **Journal of Controlled Release**, v. 235, p. 337–351, 2016. Bistner, S.I.; Ford, R.B.; Raffe, M.R.M. Tratamento da dor em pacientes traumatizados. In: . Manual de procedimentos veterinários;

CARVALHO, Suzana Gonçalves et al. Polymeric-based drug delivery systems for veterinary use: State of the art. **International journal of pharmaceuticals**, v. 604, p. 120756, 2021.

C.B.; dos Santos, C.P.; Serpe, L.; Sanchez, J.B.; Ferreira, L.E.N.; de Melo, N.F.S.; Groppo, F.C.; Fraceto, L.F.; Volpato, M.C.; Franz-Montan, M. Nanocápsulas Poliméricas Carregadas com Lidocaína: Uma Formulação Promissora para Anestesia Dental Tópica. *Pharmaceuticals* 2024, 17, 485.

COPPENS, P. The Analgesic plan: a strategy to control pain. **European Journal of Companion Animal Practice**, 10(1): 23-27, 2000

CORDEIRO, C. et al. Antibacterial efficacy of gentamicin encapsulated in pH-sensitive liposomes against an in vivo *Salmonella enterica* serovar Typhimurium intracellular infection model. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.44, p.533–539, 2000.doi: 10.1128/aac.44.3.533-539.2000

COX, S., N. Villarino, and T. Doherty. 2010. “Determination of Oral Tramadol Pharmacokinetics in Horses.” *Research in Veterinary Science*. Fessi, H. et al. 1989. “Nanocapsule Formation by Interfacial Polymer Deposition Following Solvent Displacement.” **International Journal of Pharmaceuticals**.

DE MELO CARDOSO, Mirlane Guimarães. **Classificação, fisiopatologia e avaliação da dor. Manual de cuidados paliativos ANCP**, p. 113, 2012.

DE OLIVEIRA, M. A., Araújo, R. S., & Mosqueira, V. C. F. (2023). PEGylated and functionalized polylactide-based nanocapsules: An overview. *International Journal of Pharmaceuticals*, 636, 122760.

CRONEY, Candace C.; APPLEBAUM, Jennifer W.; DELGADO, Mikel; STELLA, Judith. How does access to veterinary care relate to animal welfare? **Advances in Small Animal Care**, v. 6, n. 1, p. 209–221, Nov. 2025. DOI: 10.1016/j.yasa.2025.06.014.

DHANJAL, Jusmeen K.; WILSON, Deborah V.; ROBINSON, Edward; TOBIN, Thomas T.; DIROKULU, Levent. Tramadol intravenoso: efeitos, propriedades nociceptivas e farmacocinética em cavalos. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 36, n. 6, p. 581–590, nov. 2009.

DENG, W.; YAN, Y.; ZHUANG, P.; LIU, X.; TIAN, K.; HUANG, W. Synthesis of nanocapsules blended polymeric hydrogel loaded with bupivacaine drug delivery system for local anesthetics and pain management. **Drug Delivery**, [S.l.], v. 29, p. 2303–2314, 2022.

DUARTE, D.F. Uma breve história do ópio e dos opioides. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 55(1): 135-146, 2005

DA FONSECA, C. A. R.; PRADO, V. C.; PALTIAN, J. J.; et al. (Phenylselanyl)-2H-chromen-2-one-loaded nanocapsule suspension — a promising breakthrough in pain

management: comprehensive molecular docking analysis. *Pharmaceutics*, [S.I.], v. 16, p. 1120, 2024.

ELISEI, L.M.S., Moraes, T.R., Malta, I.H. *et al.* Antinociception induced by artemisinin nanocapsule in a model of postoperative pain via spinal TLR4 inhibition. *Inflammopharmacol* **28**, 1537–1551 (2020).

FANTONI, D.T.; Mastrocinque, S. Fisiopatologia e controle da dor. In: Fantoni, D.T; Cortopassi, S.R. Anestesia em cães e gatos. São Paulo: Roca, 2002. p.324-326  
CURATOLO, Michele.  
**Central sensitization and pain: pathophysiologic and clinical insights.** *Current Neuropharmacology*, v. 22, n. 1, p. 15–22, 2024.  
DOI: 10.2174/1570159X20666221012112725.

FERNÁNDEZ-MINOTRE, Lafitte et al. Characterization of Polylactic Acid Membranes for Local Release of Tramadol. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 26, n. 13, p. 6018, 2025.

FESSI, H. et al. 1989. “Nanocapsule Formation by Interfacial Polymer Deposition Following Solvent Displacement.” *International Journal of Pharmaceutics*.

HEYLLYER, P.W. Minimizing postoperative discomfort in dogs and cats. *Veterinary Medicine-Clinical Solutions for Practicing Veterinarians*, 94(3): 259-265, 1999

HÖTZEL, Maria José; MACHADO FILHO, Luiz Carlos Pinheiro. Bem-estar animal na agricultura do século XXI. *Revista de etologia*, v. 6, n. 1, p. 3-15, 2004.

IANISKI, L. B., Rodrigues, F. D. S., Stibbe, P. C., Weiblen, C., Pereira, D. I. B., Santurio, J. M., ... & Botton, S. D. A. (2021). Nanotechnology in veterinary medicine: a review. *Ciência Rural*, 52, e20210195.

INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF PAIN (IASP). **IASP Terminology and pain classification.** *PAIN*, v. 161, n. 9, p. 1976–1982, 2020. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000001939.

JAGIELSKI, T. et al. The activity of silver nanoparticles against microalgae of the *Prototheca* genus. *Nanomedicine*, v.13, p.1025–1036, 2018. Available from:

JAGUEZESKI, A. M. et al. Effect of free and nano-encapsulated curcumin on treatment and energetic metabolism of gerbils infected by *Listeria monocytogenes*. *Microbial Pathogenesis*, v.134, 103564, 2019. Available from: . Accessed: Jan. 08, 2021. doi: 10.1016/j.micpath.2019.103564

KHAN, Y. A. et al. Anthelmintic effect of biocompatible zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) on *Gigantocotyle explanatum*, a neglected parasite of Indian water buffalo.

PLoS One, v.10, e0133086, 2015. Available from: . Accessed: Jan. 08, 2021. doi: 10.1371/journal.pone.0133086

KROUBI, M. et al. Development of a nanoparticulate formulation of diminazene to treat African trypanosomiasis. *Nanotechnology*, v.21, p.01-08, 2010. Available from: . Accessed: Jan. 08, 2021. doi: 10.1088/0957-4484/21/50/505102

KUKANICH, B., & Papich, M. G. (2004). Pharmacokinetics of tramadol and the metabolite O-desmethyltramadol in dogs. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 27(4), 239-246.

KÜLKAMP, Irene Cledes et al. Estabilização do ácido lipoico via encapsulação em nanocápsulas poliméricas planejadas para aplicação cutânea. **Química Nova**, v. 32, p. 2078-2084, 2009.

KUMAR, S. et al. Nanotechnology as Emerging Tool for Enhancing Solubility of Poorly. Water-Soluble Drugs. *BioNanoScience*, v. 2, n. 4, p. 227–250, 2012

LALANI, Jigar et al. Comparative receptor based brain delivery of tramadol-loaded poly (lactic-co-glycolic acid) nanoparticles. **Journal of biomedical nanotechnology**, v. 8, n. 6, p. 918-927, 2012.

LALANI, Jigar et al. Protein functionalized tramadol-loaded PLGA nanoparticles: preparation, optimization, stability and pharmacodynamic studies. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 39, n. 6, p. 854-864, 2013.

LI, W.; GUO, M.; ZENG, J.; YUE, X.; ZHANG, X. Lidocaine-loaded polylactic acid-poly( $\epsilon$ -caprolactone) nanocapsules to improve sustainable drug delivery system for nursing care of pain management. *Materials Express*, [S.l.], v. 13, n. 5, p. 345–356, 2023.

MATHEWS, K. A. et al. **WSAVA Global Pain Council Guidelines for the recognition, assessment and treatment of pain**. *Journal of Small Animal Practice*, 2022. DOI: 10.1111/jsap.13428.

MABROUK, Mostafa et al. Newly developed controlled release subcutaneous formulation for tramadol hydrochloride. **Saudi pharmaceutical journal**, v. 26, n. 4, p. 585-592, 2018

MANADAS, R.; EUGÉNIA, M.; VEIGA, F. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 38, p. 376–395, 2002.

MELO, Nathalie Ferreira Silva de et al. Desenvolvimento e caracterização de nanocápsulas de poli (L-lactídeo) contendo benzocaína. **Química Nova**, v. 33, p. 65-69, 2010.

METSELAAR, J. M. et al. Complete remission of experimental arthritis by joint targeting of glucocorticoids with long-circulating liposomes. *Arthritis and Rheumatism*,

v.48, p.2059-2066, 2003. Available from:. Accessed: Dec. 09, 2020. doi: 10.1002/art.11140

PASCOE, P.J. Opioid analgesics. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 30(4): 757-772, 2000

REDDY, P. Ravi Kanth et al. Applications, challenges, and strategies in the use of nanoparticles as feed additives in equine nutrition. **Veterinary World**, v. 13, n. 8, p. 1685, 2020.

REHMAN, A. et al. In vitro anthelmintic effect of biologically synthesized silver nanoparticles on liver amphistome, *Gigantocotyle explanatum*. *Experimental Parasitology*, v.198, p.95-104, 2018. Available from: . Accessed. Jan. 08, 2021. doi: 10.1016/j.exppara.2019.02.005.

ROCHA, M. S. T. et al. Photodynamic therapy for cutaneous hemangiosarcoma in dogs. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, v.27, p.39-43, 2019. Available from: Accessed: Dec. 09, 2020. doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.05.026.

ROSE, J. S. et al. Extended-duration analgesia: Update on microspheres and liposomes. *Regional Anesthesia and Pain Medicine*, v.30, p.275–285, 2005. Available from: Accessed: Dec. 09, 2020. doi: 10.1016/j.rapm.2005.01.004.

SAGAVE, L. et al. *Melaleuca alternifolia* activity in nanoformulations and terpinen-4-ol against *Rhodococcus equi* isolates. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.67, p.221- 226, 2015. Available from: . Accessed: Dec. 09, 2020. doi: 10.1590/1678-7454.

SÃO PEDRO, André et al. 2016. “Opioid-Based Micro and Nanoparticulate Formulations: Alternative Approach on Pain Management.” *Journal of Microencapsulation*.

SOPPIMATH, K. S., Aminabhavi, T. M., Kulkarni, A. R., & Rudzinski, W. E. (2001). Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *Journal of controlled release*, 70(1-2), 1-20.

SOUTO, E. B. et al. Preparação de Nanopartículas Poliméricas a partir da Polimerização de Monômeros - Parte I. *Polímeros*, v. 22, n. 1, p. 96–100, 2012.

SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A. Preparação de Nanopartículas Poliméricas a partir de Polímeros Pré-formados - Parte II. *Polímeros*, v. 22, n. 1, p. 101–106, 2012.

STEAGALL, Paulo V. et al. Pain management in farm animals: focus on cattle, sheep and pigs. **Animals**, v. 11, n. 6, p. 1483, 2021.

GROND, Stefan; SABLITZKI, Armin. Clinical pharmacology of tramadol. **Clinical pharmacokinetics**, v. 43, p. 879-923, 2004.

TAYLOR, R.; McGehee, R. Management of postoperative Pain. In: . Manual of small animal postoperative care. 2. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. p.74-81.

Tranquilli, W.J.; Grimm, K.A.; Lamont, L.A. Drogas analgésicas. In: . Tratamento da dor para o clínico de pequenos animais. 2. ed. São Paulo: Roca, 2005. p.13-30 (b).

VALENTE, J. S. S. et al. In Vitro Activity of Melaleuca alternifolia (Tea Tree) in Its Free Oil and Nanoemulsion Formulations Against *Pythium insidiosum*. *Mycopathologia*, v.181, p.865-869, 2016. Available from: . Accessed: Jan. 21, 2021. doi: 10.1007/s11046-016-0051-2.

YILDIRIM, Nuray et al. Definition of Design Space for Preparation and Stability of Tramadol Hydrochloride Loaded Nanoparticles Using OFAT Experiments for Infusion in Pain Management. **Journal of Cluster Science**, v. 35, n. 6, p. 1797-1807, 2024.

VAZANNA, M., Andreani, T., Fangueiro, J., Faggio, C., Silva, C., Santini, A., ... & Souto, E. B. (2015). **Tramadol hydrochloride: pharmacokinetics, pharmacodynamics, adverse side effects, co-administration of drugs and new drug delivery systems**. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 70, 234-238

WENTAO DENG, Yu Yan, Peipei Zhuang, Xiaoxu Liu, Ke Tian, Wenfang Huang & Cai Li (2022) Synthesis of nanocapsules blended polymeric hydrogel loaded with bupivacaine drug delivery system for local anesthetics and pain management, *Drug Delivery*, 29:1, 399-412, DOI: 10.1080/10717544.2021.2023702

WOOLF, Clifford J.  
**Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain.**  
*Pain*, v. 152, n. 3, p. S2–S15, 2011.  
DOI: 10.1016/j.pain.2010.09.030.

ZHOU, X.; LI, Y.; WANG, J.; LI, J.; HU, Y.; LIU, Y. **Nanotechnology-based delivery systems for veterinary analgesia: pharmacokinetic improvements and reduced side effects**. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v. 39, n. 6, p. 481-495, 2016.

ZHAO, K. et al. Enhancing Mucosal Immune Response of Newcastle Disease Virus DNA Vaccine Using N-2-Hydroxypropyl Trimethylammonium Chloride Chitosan and N,O-Carboxymethyl Chitosan Nanoparticles as Delivery Carrier. *Molecular Pharmaceutics*, v.15, p.226-237, 2018. Available from: Accessed: Dec. 20, 2020. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.7b00826

XU, Y., Dong, X., Xu, H., Jiao, P., Zhao, L. X., & Su, G. (2023). Nanomaterial-based drug delivery systems for pain treatment and relief: from the delivery of a single drug to Co-delivery of multiple therapeutics. **Pharmaceutics**, 15(9), 2309. & **tratamento emergencial**. 7. ed. São Paulo: Roca, 2002. p.7-15