

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE DISPERSÕES SÓLIDAS E
MEMBRANAS BASEADAS EM PRAZIQUANTEL-
POLI(ÁLCOOL VINÍLICO) NA TERAPÊUTICA DE
ESQUISTOSSOMOSE**

Vanessa Bezerra da Silva*

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTORA EM CIÊNCIAS, área de concentração: FÍSICO-QUÍMICA.

Orientador: Caio Marcio Paranhos da Silva

***Bolsista CAPES**

São Carlos - SP
2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado da candidata Vanessa Bezerra da Silva, realizada em 23/03/2021.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Caio Marcio Paranhos da Silva (UFSCar)

Profa. Dra. Silvia Helena Prado Bettini (UFSCar)

Profa. Dra. Elaine Cristina Paris (EMBRAPA)

Profa. Dra. Alessandra Lifschitz Viçosa (FIOCRUZ)

Prof. Dr. Hernane da Silva Barud (UNIARA)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Química.

Dedicatória

Dedico este trabalho a todos aqueles que amo, vivos ou não. Enquanto eu existir este sentimento seguirá vivo. Vocês me ajudaram a construir quem eu sou e isso já me é suficiente.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

Ao meu orientador Caio Paranhos que sempre me apoiou, me deixou livre (às vezes até demais, rs) para fazer tudo o que eu queria e do jeito que eu achasse melhor e foi super compreensivo em todos os momentos péssimos que passei durante esse doutorado. Muito obrigada, pro.

À doutora Alessandra Viçosa, por ceder o medicamento e ajudar na construção do escopo deste projeto.

Ao Professor Edenir, por me ajudar no planejamento inicial dos experimentos.

À Embrapa Instrumentação, à doutora Elaine Cristina Paris, ao João Malafatti, à Jackeline Pereira e a todas as técnicas que me ajudaram com os infravermelhos e os DLSs.

Ao doutor Paulo Rodrigo Alves Bernardo, ao doutor Hernane da Silva Barud, à doutora Mayte Paredes Zaldivar e ao Jean Carlos que me auxiliaram com os equipamentos de *spray dryer*.

Ao doutor Élcio Liberato Pires por toda ajuda com os resultados de DRX e infravermelho.

Ao mestre Robert Paiva, pelas análises de ângulo de contato.

À doutora Rayane Vale, pelas discussões dos resultados e por me acompanhar em toda jornada.

A todos os amigos e companheiros de caminhada do laboratório de polímeros. Obrigada pelas risadas, pelas conversas, pelas ajudas e todos os momentos felizes e às vezes sofridos compartilhados.

Aos amigos da República Etanóis e todos os agregados que sempre me acolheram e me fizeram dar risada em momentos difíceis, companheiros de festas e dias chuvosos... Um magikitos pra gente brindar!

Ao Neo que surgiu na minha vida pra me dar toneladas de comida japonesa e chocolate <3.

Aos amigos feitos do LSS que fizeram meu 2020 ser mais leve.

E por último, mas não menos importante, aos meus pais que sempre me apoiaram em tudo! Eu não estaria aqui se não fossem vocês! Obrigada por acreditarem em mim! Amo vocês!

Muito obrigada!

In the midst of hate, I found there was, within me, an invincible love.
In the midst of tears, I found there was, within me, an invincible smile.
In the midst of chaos, I found there was, within me, an invincible calm.
I realized, through it all, that in the midst of winter, I found there was,
within me, an invincible summer. And that makes me happy. For it says
that no matter how hard the world pushes against me, there's something
stronger – something better, pushing right back.

Albert Camus

The more we know, the more we feel our ignorance;

The more we feel how much remains unknown.

Humphry Davy

Lista de abreviaturas

DSs – Dispersões sólidas

PVA – Poli (álcool vinílico)

PVAc – Poli(acetato de vinila)

PZQ – Praziquantel

SCB – Sistema de Classificação Biofarmacêutica

SBF – Simulated body fluid (Fluido corpóreo simulado)

T_g – Temperatura de transição vítrea

T_m – Temperatura de fusão cristalina

T_v – Temperatura de vaporização da água

X_c – Grau de cristalinidade da amostra

ΔH_m – Entalpia de fusão cristalina

ΔH_v – Entalpia de vaporização da água

Lista de tabelas

TABELA 2.1: Lista de fármacos investigados como dispersões sólidas [TRAN, 2019].

TABELA 2.2: Lista de dispersões sólidas comerciais [TRAN, 2019].

TABELA 3.1: Reagentes para o preparo do SBF [Kokubo, 1991].

TABELA 3.2: Concentração iônica (mmol L^{-1}) de SBF e plasma sanguíneo humano [Kokubo, 1991].

TABELA 3.3: Proporções de PZQ:PVA versus velocidade do homogeneizador.

TABELA 4.1: Parâmetros térmicos obtidos por DSC para as membranas com diferentes ciclos de congelamento-descongelamento.

TABELA 4.2: Massas de PZQ (em mg mL^{-1}) obtidas para a dissolução das membranas 1:2 11.200 rpm em HCl pH = 1,2

TABELA 4.3: Parâmetros térmicos obtidos por DSC para as membranas.

TABELA 4.4: Parâmetros térmicos obtidos por DSC para as dispersões sólidas.

TABELA 4.5: Dados sobre o estado da água nas membranas obtidos através do DSC.

TABELA 4.6: Perda de massa das membranas durante os processos descritos.

TABELA 4.7: Temperaturas a 10 e 50% de degradação da amostra, onset das decomposições e a derivada da TG ($^{\circ}\text{C}$).

TABELA 4.8: Porcentagem de inchamento das membranas.

TABELA 4.9: Massas de PZQ (em mg mL^{-1}) obtidas para a dissolução das membranas em HCl com pH = 1,2.

TABELA 4.10: Massas de PZQ (em mg mL^{-1}) obtidas para a dissolução das membranas em solução tampão acetato com pH = 4,5.

TABELA 4.11: Massas de PZQ (em mg mL^{-1}) obtidas para a dissolução das membranas em tampão acetato com pH = 5,5.

TABELA 4.12: Massas de PZQ (em mg mL⁻¹) obtidas para a dissolução das membranas em tampão fosfato com pH = 6,8.

TABELA 4.13: Massas de PZQ (em mg mL⁻¹) obtidas para a dissolução das DSs em HCl com pH = 1,2.

TABELA 4.14: Massas de PZQ (em mg mL⁻¹s) obtidas para a dissolução das DSs em tampão acetato com pH = 4,5.

TABELA 4.15: Massas de PZQ (em mg mL⁻¹) obtidas para a dissolução das DSs em tampão acetato com pH = 5,5.

TABELA 4.16: Massas de PZQ (em mg mL⁻¹) obtidas para a dissolução das DSs em tampão fosfato com pH = 6,8.

TABELA 4.17: Massas de PZQ (em mg mL⁻¹) obtidas para a dissolução das DSs após 3 dias.

Lista de figuras

FIGURA 2.1: Distribuição mundial das espécies de *Shistosoma* [SOKOLOW, 2017].

FIGURA 2.2: Formas enantioméricas do PZQ [SUN, 2016].

FIGURA 2.3: Sistema de classificação biofarmacêutica de fármacos [adaptado de SINGH, 2015].

FIGURA 2.4) Hidrólise do poli(acetato de vinila) para poli(vinil álcool) [MELO, 2004].

FIGURA 2.5: As três estruturas possíveis de uma dispersão sólida polímero-fármaco onde os hexágonos simbolizam o fármaco e as linhas representam as cadeias poliméricas. (A) Estrutura ideal na qual o fármaco está disperso homogeneamente na matriz; (B) sistema no qual ocorreu a formação de uma estrutura cristalina do fármaco e (C) sistema contendo domínios ricos em fármaco amorfo dispersos na matriz polimérica [HUANGA, 2014].

FIGURA 2.6: Diagrama dos possíveis processos de dissolução. (a) Dissolução controlada pelo carreador e (b) Dissolução controlada pelo fármaco. As esferas pretas grandes representam o fármaco não dissolvido, as esferas pretas menores representam as partículas de fármaco dissolvidos e a faixa cinza corresponde à matriz polimérica hidratada [CRAIG, 2002].

FIGURA 2.7: Representação de dispersões sólidas para o modelo de dissolução controlada pelo fármaco [adaptado de CRAIG, 2002].

FIGURA 2.8: Diagrama de fases de uma dispersão sólida do sistema polímero-fármaco [Adaptado de HUANGA, 2014].

FIGURA 2.9: Esquema de um spray dryer [SINGH, 2015].

FIGURA 2.10: Transição de gota para partícula seca [SINGH, 2015].

FIGURA 2.11: Efeitos da taxa de fluxo de nitrogênio durante o processo de secagem com spray dryer [adaptado de KOJIMA, 2012].

FIGURA 2.12: Efeitos da concentração da amostra durante o processo de secagem com spray dryer [adaptado de KOJIMA, 2012].

FIGURA 4.1: Membranas produzidas: (a): sem surfactante, (b): com surfactante e (c): DS produzida (pó).

FIGURA 4.2: Espectros de transmitância no infravermelho das membranas e do PVA puro.

FIGURA 4.3: Espectros de transmitância no infravermelho das DSs.

FIGURA 4.4: Espectros de transmitância no infravermelho do PZQ.

FIGURA 4.5: Difractogramas de uma membrana de PVA puro e do PZQ puro.

FIGURA 4.6: Difractogramas normalizadas das membranas de PVA e PZQ com suas respectivas proporções (PZQ:PVA).

FIGURA 4.7: Difractogramas das DSs de PVA e PZQ com suas respectivas proporções (PZQ:PVA).

FIGURA 4.8: Curva de DSC para o praziquantel puro.

FIGURA 4.9: Estruturas das águas de hidratação [adaptado de BHAT, 2019].

FIGURA 4.10: Curvas de TGA das membranas – proporções de PZQ:PVA.

FIGURA 4.11: Curvas de TGA para a DS, o PZQ puro e o PVA puro.

FIGURA 4.12: Mecanismo de desidratação do PVA [FINCH, 1973].

FIGURA 4.13: Cinética de inchamento das membranas com proporções de PZQ:PVA respectivamente.

FIGURA 4.14: Valores obtidos através dos dados de ângulo de contato com a água para as membranas produzidas.

FIGURA 4.15: Imagem real das gotas obtidas através do ângulo de contato das amostras com a água.

FIGURA 4.16: Curva de distribuição de tamanho de partícula da DS 1:1 em clorofórmio.

FIGURA 4.17: Curva de distribuição de tamanho de partícula da DS 1:1 em clorofórmio – segunda medida.

FIGURA 4.18: Curva de distribuição de tamanho de partícula da DS 1:1 em tolueno.

FIGURA 4.19: Dissolução das membranas em HCl com pH 1,2.

FIGURA 4.20: Dissolução das membranas em tampão acetato com pH 4,5.

FIGURA 4.21: Dissolução das membranas em tampão acetato com pH 5,5.

FIGURA 4.22: Dissolução das membranas em tampão fosfato com pH 6,8.

FIGURA 4.23: Dissolução das DSs em HCl com pH 1,2.

FIGURA 4.24: Dissolução das DSs em tampão acetato com pH 4,5.

FIGURA 4.25: Dissolução das DSs em tampão acetato com pH 5,5.

FIGURA 4.26: Dissolução das DSs em tampão fosfato com pH 6,8.

FIGURA 4.27: Concentrações obtidas para a dissolução das DSs após 3 dias.

FIGURA I: Calibração do equipamento de UV em dias diferentes.

FIGURA II: Espectro de varredura do UV da solução de PZQ.

Resumo

DESENVOLVIMENTO DE DISPERSÕES SÓLIDAS E MEMBRANAS BASEADAS EM PRAZIQUANTEL-POLI(ÁLCOOL VINÍLICO) NA TERAPÊUTICA DE ESQUISTOSSOMOSE

A esquistossomose é uma doença parasitária considerada negligenciada e endêmica em 75 países. A estimativa mundial é de 240 milhões de pessoas infectadas e de 700 a 800 milhões de pessoas com risco de infecção e, apesar disso, não existe nenhum tipo de vacina efetiva. Por esse motivo, os medicamentos orais continuam sendo muito utilizados. O praziquantel (PZQ) é o fármaco mais efetiva e largamente utilizado quando se trata de esquistossomose, porém possui baixa solubilidade em água e é extremamente amargo, dificultando o tratamento de crianças entre 3 meses e 6 anos. A dispersão sólida (DS) é uma tecnologia farmacêutica muito útil para aumentar a dissolução, a absorção, a biodisponibilidade e, conseqüentemente, a eficiência do medicamento em questão podendo também mascarar sabores. Dentre os diversos polímeros utilizados para a obtenção de DSs, não há registro do emprego do poli(álcool vinílico) (PVA). De modo a estudar as interações entre o PZQ e o PVA, DSs e membranas foram preparadas e caracterizadas em termos de sua microestrutura, inchamento, liberação e dissolução. Os resultados mostram que a estrutura cristalina não é modificada com ciclos de congelamento-descongelamento e que o medicamento é um obstáculo para a formação de cristais. As medidas de inchamento mostram que, para as membranas, a quantidade de PZQ não influencia no inchamento da amostra. O DRX mostra que para o PZQ a posição dos picos está de acordo com os padrões de difração da forma racêmica e que os picos do medicamento se sobrepõem às bandas do PVA. Os resultados de espectroscopia no infravermelho mostram que para as membranas é nítido que quanto maior a presença de PZQ menor a banda de movimentação das ligações C–H presentes nos anéis, sugerindo que a interação entre a matriz polimérica e o medicamento é dada através de interações com esses anéis além das ligações hidrogênio. Já para as DSs não é nítida a mudança entre as formulações. Quanto à liberação, a DS com maior liberação para todos os pHs testados é a amostra com proporção 1:2 (PZQ:PVA) e colocada no Turrax a 20.000 rpm, mostrando que o histórico de processamento é importante.

Palavras-chave: Esquistossomose; PVA; PZQ; Spray dryer

Abstract

DEVELOPMENT OF SOLID POLYMERIC DISPERSION BASED ON PRAZIQUANTEL-POLI(VINYL ALCOHOL) SYSTEM IN SCHISTOSOMOSIS THERAPEUTICS

Schistosomiasis is a parasitic disease considered neglected and endemic in 75 countries. It is estimated that 240 million people are infected and 700 to 800 million people are at risk. Despite that, there is no effective vaccine. Therefore, oral medications continue to be used a lot. Praziquantel (PZQ) is the drug mostly used in this case, however it has low solubility in water and is extremely bitter, making it difficult for children between 3 months and 6 years keep the treatment. Solid dispersion (SD) is a very useful pharmaceutical technology to increase dissolution, absorption, bioavailability and, consequently, the efficiency of a drug and also mask flavors. In order to study the interactions between praziquantel (PZQ) and poly(vinyl alcohol) (PVA), SDs and membranes were prepared and characterized in terms of their microstructure, swelling, release and dissolution. The results show that the crystalline structure is not modified with freeze-thaw cycles and the drug is an obstacle to crystals formation. The swelling measurements show that, for membranes, the amount of PZQ does not influence the sample's swelling. The XRD shows that the position of PZQ's peaks is in accordance with the diffraction patterns of the racemic form and that the drugs' peaks overlap the PVA bands. The infrared spectroscopy shows that for membranes it is clear that the more PZQ in the sample, the smaller is the C–H ring bonds movement, suggesting that the interaction between the polymeric matrix and the drug is given through interactions within the rings in addition to the hydrogen bonds. For the DSs, however, the change between the polymer-drug proportions analyzed is not clear. As for the release, the DS with the highest release for all tested pHs is the sample with a 1:2 ratio (PZQ: PVA) and placed in the Turrax at 20,000 rpm, showing that the processing is important.

Key-words: Schistosomiasis; PVA; PZQ; Spray dryer

Sumário

1 – Objetivos	1
1.1 – Geral	1
1.2 – Específicos	1
2 – Introdução	2
2.1 – Esquistossomose	2
2.2 – Praziquantel – PZQ	4
2.3 – Poli(álcool vinílico) – PVA	9
2.4 – Dispersão sólida	12
2.4.1 – Vantagens das DSs	21
2.4.2 – Desvantagens das DSs	22
2.5 – Spray Dryer	26
3 – Materiais e métodos	32
3.1 – Reagentes e solventes	32
3.2 – Equipamentos	32
3.3 – Metodologia	33
3.3.1 – Preparo das membranas	33
3.3.2 – Análises das membranas	34
3.3.2.1 – Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier – FTIR	34
3.3.2.2 – Difração de raios X – DRX	34
3.3.2.3 – Calorimetria diferencial exploratória – DSC	34
3.3.2.4 – Determinação do estado da água	35
3.3.2.5 – Análise termogravimétrica – TGA	35

3.3.2.6 – Medidas de inchamento	35
3.3.2.7 – Ângulo de contato com a água	37
3.3.2.8 – Ensaio de dissolução e análise do fármaco	37
3.3.2.9 – Ensaio de dissolução após 3 dias e análise do fármaco	38
3.3.3 – Preparo das dispersões sólidas	38
3.3.4 – Spray dryer	39
3.3.5 – Análises das dispersões sólidas	39
3.3.5.1 – Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier – FTIR	39
3.3.5.2 – Difração de raios X – DRX	40
3.3.5.3 – Calorimetria diferencial exploratória – DSC	40
3.3.5.4 – Espalhamento de luz dinâmico – DLS – Tamanho de partícula	40
3.3.5.5 – Ensaio de dissolução e análise do fármaco	40
3.3.5.6 – Ensaio de solubilidade e análise do fármaco	41
4 - Resultados e discussão	42
4.1 – Teste preliminar	42
4.2 – Produção das membranas e das soluções para as dispersões sólidas	46
4.3 – Espectroscopia na região do infravermelho – FTIR	48
4.4 – Difração de raios X – DRX	51
4.5 – Análise de calorimetria diferencial exploratória – DSC	54
4.6 – Determinação do estado da água no interior das membranas	58
4.7 – Análise termogravimétrica – TGA	59
4.8 – Medidas de inchamento das membranas em fluido plasmático simulado	64
4.9 – Ângulo de contato com a água	66

4.10 – Espalhamento de luz dinâmico (DLS – Dynamic Light Scattering) – Tamanho de partícula	68
4.11 – Ensaio de dissolução e análise do fármaco	71
4.11.1 – Membranas	72
4.11.2 – Dispersões sólidas	77
4.12 – Ensaio de dissolução após 3 dias e análise do fármaco	82
5 – Conclusões	86
6 – Perspectivas futuras	88
7 – Referências bibliográficas	89
Anexo I	95
Anexo II	96

1 – Objetivos

1.1 – Geral

- Desenvolver e caracterizar membranas e dispersões sólidas entre PZQ e PVA e analisar os efeitos do controle da cristalinidade do polímero sobre as propriedades de dissolução do fármaco.

1.2 – Específicos

- Obter hidrogéis poliméricos incorporados com PZQ em diferentes proporções polímero-medicamento;
- Correlacionar a estrutura final dos hidrogéis com as propriedades de transporte de água e do PZQ em condições fisiológicas;
- Obter dispersão sólida entre PZQ e PVA através de metodologia de evaporação de solvente e analisar suas propriedades de dissolução do fármaco sob diferentes metodologias;
- Analisar os efeitos dos ciclos de resfriamento e congelamento nas membranas sobre as propriedades de transporte do PZQ.

2 – Introdução

2.1 – Esquistossomose

A esquistossomose é uma doença parasitária considerada negligenciada e endêmica em 75 países. Mais de 200 milhões de pessoas são infectadas pelo mundo todo e, apesar disso, não existe nenhum tipo de vacina efetiva, pois o hospedeiro intermediário nem sempre é eliminado com facilidade. Portanto os medicamentos orais continuam sendo os mais utilizados. O Brasil possui uma das maiores taxas de prevalência da doença dentre todos os países endêmicos como, por exemplo, Venezuela, Suriname, Oriente médio, alguns países da África e o Caribe [RADWAN, 2019; SANTOS 2020]. A Figura 2.1 mostra a distribuição mundial das espécies de *Schistosoma*.

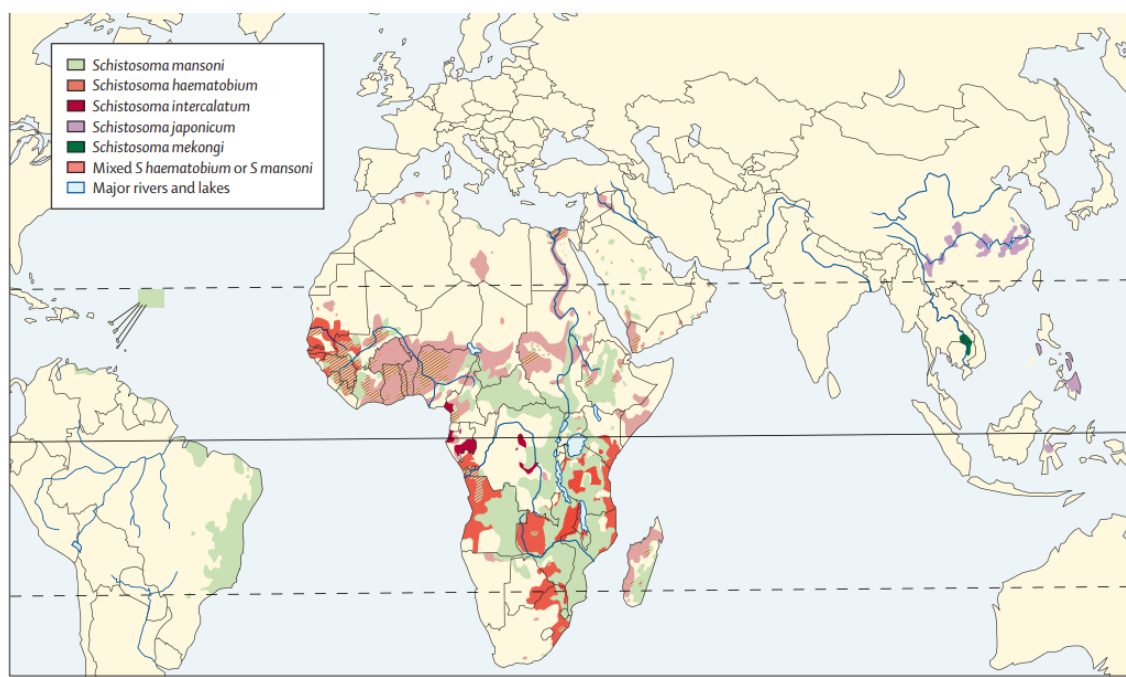


FIGURA 2.1: Distribuição mundial das espécies de *Schistosoma* [COLLEY, 2014].

O agente etiológico (causador da doença) no Brasil é o trematódeo *Schistosoma mansoni*. Em 2016 foi reportado que aproximadamente 1,6 milhão de pessoas foram infectadas apenas no Brasil. As áreas com maiores ocorrências

endêmicas são Bahia, Pernambuco, Minas Gerais, Recife e Sergipe. Em áreas como São Paulo, que contém baixa endemicidade, a doença é rara. No mundo, em 2016, enquanto 206,4 milhões de pessoas precisavam de tratamento preventivo, apenas 80,4 milhões o obtiveram [PALASIO, 2019; SANTOS, 2020].

A estimativa mundial é de 240 milhões de pessoas infectadas e de 700 a 800 milhões de pessoas com risco de infecção [WHO, 2020]. Isso se dá devido às pessoas saudáveis viajando para áreas endêmicas ou pessoas infectadas migrando para áreas não endêmicas. Somente na área Subsaariana a estimativa é de aproximadamente 280 mil mortes por ano por infecções ou por complicações causadas pela doença [EXUM, 2019; PALASIO, 2019].

Os efeitos econômicos e de saúde são preocupantes e a doença mais incapacita as pessoas do que as mata, causando a morte de aproximadamente 10% dos infectados cronicamente [SOKOLOW, 2017]. Tratamentos preventivos em larga escala são solicitados em apenas 52 países onde a doença é endêmica com transmissão de moderada a alta. É uma doença de países tropicais ou subtropicais, especialmente em comunidades pobres que não possuem acesso à água potável e saneamento básico adequado. É estimado que 90% das pessoas que requerem tratamento para esquistossomose vivem na África. Em 2018, foi feita uma intervenção em 82 distritos de Uganda, na África Oriental, onde a doença é considerada endêmica. Os habitantes foram ensinados sobre saúde e um tratamento em massa foi feito, diminuindo, assim, os números de contágio [EXUM, 2019; WHO, 2020a].

A esquistossomose é caracterizada por dor crônica, anemia, inflamação e deficiência cognitiva. Em longo prazo pode causar infertilidade, elevar o risco de câncer de bexiga e insuficiência hepática. Geralmente os efeitos são reversíveis com tratamento. Em crianças a esquistossomose causa anemia, atrofia, diminui a capacidade de aprendizado e pode causar morbidez considerável, visto que essas são portadoras de maiores quantidades de parasitas. As infecções costumam acontecer por volta dos dois anos de idade e aumentar durante os dez anos seguintes, com as larvas tomando conta do corpo da criança. Nessas regiões de 60 a 80% das crianças e de 20 a 40% dos adultos podem permanecer infectados ativamente [COLLEY, 2014; WHO, 2020b].

O ciclo de vida do *Schistosoma* começa dentro dos vasos sanguíneos do humano que habita. Ovos são eliminados nas fezes e urina da pessoa e em lugares com pouco ou nenhum tratamento de água esses ovos eclodem e os pequenos vermes saem à procura do seu hospedeiro intermediário, os caracóis do gênero *Biomphalaria spp.* Dentro dos caracóis as larvas se reproduzem assexuadamente, gerando de centenas a milhares de cercárias por dia. Essas cercárias permanecem vivas na água de um a três dias procurando por hospedeiros humanos, onde podem permanecer por anos. As cercárias penetram no sistema circulatório através da pele, não sendo necessário que esta esteja danificada. Entender o ciclo de vida do *Schistosoma* é de extrema importância para seu controle e eliminação [COLLEY, 2014; SOKOLOW, 2017].

O praziquantel continua sendo o fármaco mais efetivo e largamente utilizado quando se trata de esquistossomose [RADWAN, 2019].

2.2 – Praziquantel – PZQ

O fármaco eleito para a terapia da esquistossomose é o praziquantel [2-(ciclohexilcarbonil)-1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino[2,1-a]isoquinolin-4-na] (Figura 2.2) [ARAÚJO, 2008]. É um fármaco que apresenta o aspecto de pó ou cristais na cor branca, com temperatura de fusão cristalina da ordem de 135 – 140°C [FARMACOPÉIA, 1996]. Apresenta em sua estrutura um centro quiral e consequentemente o produto farmacêutico é uma mistura racêmica (1:1) entre os enantiômeros (R)-PZQ e (S)-PZQ (Figura 2.2) [SUN, 2016]. De fato, o isômero (R)-PZQ é responsável pela maior parte da atividade anti-helmíntica do fármaco. Entretanto, o isômero (S)-PZQ é o responsável pelo seu característico intenso sabor amargo. Esta característica do PZQ leva a uma baixa aderência do tratamento pelas crianças, principais vítimas da doença. O atual tratamento pediátrico da esquistossomose é uma adaptação do utilizado por adultos, não sendo completamente adequado: no caso de suspensões, a concentração do fármaco pode ser inadequada e no caso de comprimidos, a quebra do mesmo em partições menores pode levar ao mesmo problema de dosagem. O tratamento de crianças pequenas geralmente é feito através da maceração do comprimido e misturando-se

o pó formado com algum carreador líquido, como sucos de frutas. Em ambos os casos, a palatabilidade continua comprometida [COLLEY, 2014; WOELFLE, 2011].

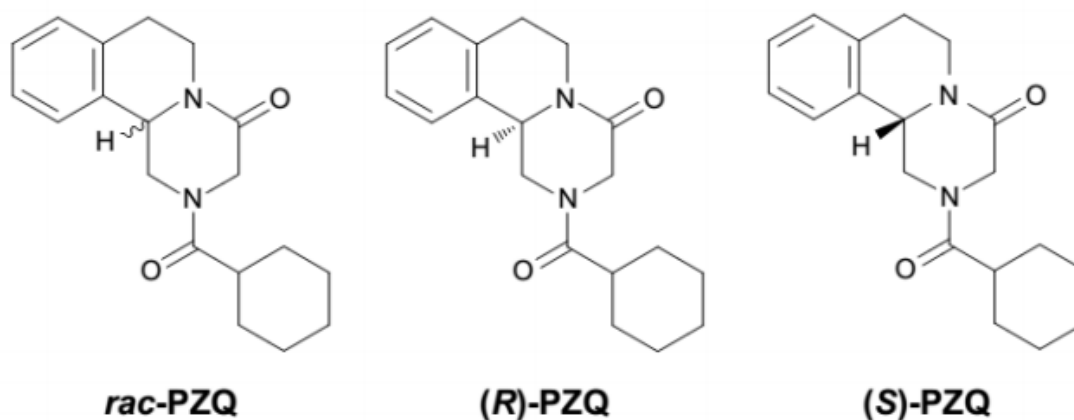


FIGURA 2.2: Formas enantioméricas do PZQ [SUN, 2016].

Em julho de 2012, diversas entidades de seis países formaram o Consórcio Praziquantel Pediátrico (Pediatric Praziquantel Consortium), com a missão de desenvolver, registrar e garantir o acesso a formulações pediátricas de PZQ para o tratamento da esquistossomose em crianças em idade pré-escolar (3 meses a 6 anos). Para tal, parte do esforço do Consórcio é o desenvolvimento de formulações de uso oral e com gosto aceitável. O integrante brasileiro no Consórcio é o Instituto de Tecnologia de Fármacos – Farmanguinhos [PPC, 2016].

Baseado nas possíveis limitações nas taxas de absorção dos medicamentos, Amidon e colaboradores classificaram os compostos ativos em quatro classes de acordo com sua solubilidade e permeabilidade. Esse sistema (Figura 2.3) é chamado de Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB ou BCS do inglês Biopharmaceutical Classification System) [AMIDON, 1995]. Os compostos de Classe I possuem alta solubilidade e permeabilidade, deste modo a biodisponibilidade só depende da taxa de esvaziamento gástrico. Os fármacos de classe II possuem baixa solubilidade em soluções aquosas e boa permeabilidade, portanto a taxa de dissolução é o fator determinante neste caso. Os compostos de Classe III possuem solubilidade suficiente, porém baixa permeabilidade, logo a taxa de absorção será determinada pela sua passagem pela parede do intestino. Os

fármacos de Classe IV possuem baixa solubilidade e baixa permeabilidade, assim o fator limitante será diferente dependendo do caso [AMIDON, 1995; JANSSENS, 1999].

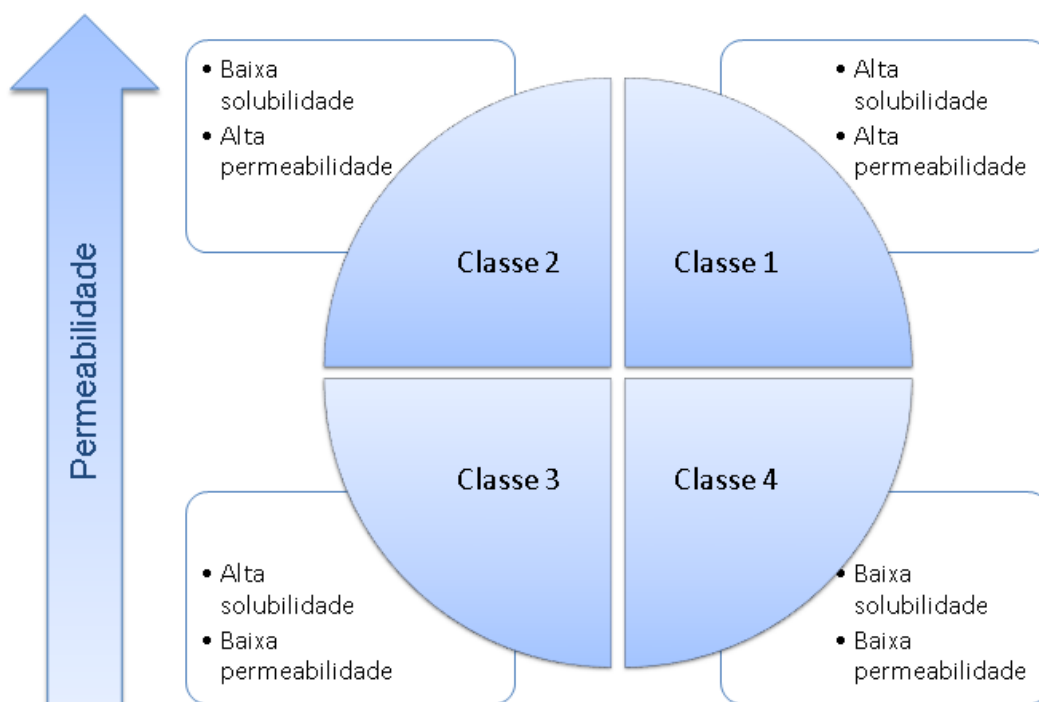


FIGURA 2.3: Sistema de classificação biofarmacêutica de fármacos [adaptado de SINGH, 2015].

O PZQ é um antiparasitário de amplo espectro, sendo a primeira escolha para o tratamento de esquistossomose e teníase em humanos e animais. [LIU, 2018]. É considerado um medicamento de classe II no sistema de classificação biofarmacêutica (Figura 2.3), ou seja, possui baixa solubilidade em água ($0,4 \text{ mg mL}^{-1}$) e alta permeabilidade [DAMETTO, 2017]. Essa baixa solubilidade faz com que a taxa de dissolução no trato gastrointestinal seja baixa, causando uma baixa biodisponibilidade do fármaco [LIU, 2018]. A sua baixa biodisponibilidade e a falha em atingir altas porcentagens de cura em pessoas tratadas podem estar ligadas ao tratamento ser de longa duração, assim como o possível desenvolvimento de resistência ao fármaco pelas novas gerações de *Schistosomas*, pois o PZQ não possui uma taxa de cura de 100% [RADWAN, 2019].

Um fármaco é oralmente ativo se ele dissolve nos sucos gastrointestinais, permeia a parede do intestino, passa pelo fígado sem ser inativado e chega ao sistema sanguíneo. Neste trajeto, o maior problema é a dissolução do fármaco [JANSSENS, 1999]. Algumas estratégias podem ser utilizadas para driblar esse mecanismo como, por exemplo, a diminuição do tamanho de partícula do medicamento, uso de surfactantes, complexação, lipossomas, dentre outros [LIU, 2018].

O PZQ é um medicamento excelente contra vermes adultos de *Schistosoma*, porém não é tão efetivo contra larvas [COLLEY, 2014]. Seu mecanismo de ação ainda é desconhecido. Sabe-se que o medicamento passa pelo trato gastrointestinal por difusão passiva (da região mais concentrada para a menos concentrada, ou seja, a favor do gradiente de concentração), atingindo a corrente sanguínea e sofrendo um metabolismo rápido, o que pode também ser responsável pela susceptibilidade de alguns vermes mais imaturos ao PZQ levantando a algumas preocupações sobre os impactos de tratamentos de longo prazo e campanhas de tratamentos em massa. A dose de PZQ recomendada para o tratamento da esquistossomose é de 40 mg/kg do peso corporal do paciente [RADWAN, 2019; WHO, 2020]. No Brasil, a dose é de 50 mg/Kg para adultos e 60 mg/Kg para crianças [BRASIL, 2014].

O tratamento com PZQ é efetivo e recomendado para todas as formas de *Schistosoma*, além de ser seguro e de baixo custo (um comprimido de 600 mg custa em média US\$ 0,13) [WHO, 2020c]. Apesar de poder ocorrer uma reinfeção após o tratamento, quando o tratamento é começado e repetido durante a infância, o risco de desenvolver uma infecção severa é diminuído [WHO, 2020b]. Experiências com a China e o Egito demonstram que o tratamento preventivo em larga escala (porém sem diagnóstico prévio das pessoas) pode diminuir significativamente os índices de transmissão e infecção da doença [MOLOO, 2016]. A frequência do tratamento é determinada pela prevalência da infecção nas crianças, mas em áreas de alto risco o tratamento deve ser feito todo ano durante muitos anos. O monitoramento é essencial nestes casos [WHO, 2020a].

As tecnologias vêm avançando bastante com relação a tratamentos e química combinatória (ferramenta de desenvolvimento de novas moléculas potencialmente terapêuticas). Porém, uma das desvantagens desse método é que

ele tende a selecionar fármacos com propriedades não favoráveis quanto aos sistemas de entrega e liberação [JANSSENS, 1999].

Como dito anteriormente, a solubilidade de um fármaco é algo problemático se a dose necessária não dissolve na quantidade de sucos gastrointestinais disponíveis. A consequência de uma baixa solubilidade é a baixa taxa de dissolução, pois o fármaco pode passar do seu local de absorção quando ela finalmente consegue se dissolver. Isso é extremamente importante para fármacos com janelas de absorção [JANSSENS, 1999].

A relação entre solubilidade e dissolução é mostrada através da Equação 1.

$$\frac{dM}{dt} = \frac{A D (C_s - C_t)}{h} \quad (1)$$

onde $\frac{dM}{dt}$ é a taxa de dissolução, A é a área superficial específica da partícula de fármaco, D é o coeficiente de dissolução, C_s é a concentração da solução saturada, C_t é a concentração do fármaco no tempo t e h é a espessura da camada de difusão [JANSSENS, 1999].

O coeficiente de difusão depende tanto da massa molar do fármaco quanto da viscosidade dos fluidos gastrointestinais, que varia no estado alimentado e em jejum e depende de fatores intra e interpessoais. O mesmo acontece para a espessura da camada de difusão que depende da hidrodinâmica que acontece durante o trânsito gastrointestinal. Dessa forma, esses parâmetros não são alvos adequados para a modificação da biodisponibilidade. Já a área de superfície específica e a saturação da solubilidade do fármaco são. A área da superfície da partícula em contato com o meio de dissolução pode aumentar com a diminuição do tamanho de partícula e a melhora da molhabilidade (habilidade de um líquido em manter contato com uma superfície sólida). A saturação da solução pode ser melhorada não apenas por modificações químicas, mas também por modificações físicas da formulação. O estado amorfo possui uma maior energia livre quando comparado ao estado cristalino, portanto essas formas com aparente maior solubilidade podem ser utilizadas para a formulação de compostos pouco solúveis em água, como o PZQ. O problema dessa energia livre extra é sua instabilidade termodinâmica e a conversão para estados fisicamente mais estáveis, podendo

causar mudanças de solubilidade e taxas de dissolução [JANSSENS, 1999]. A transição da fase amorfa para a fase cristalina é um fenômeno termodinamicamente favorável por conta dessa energia livre do estado amorfo. Aqui a escala pode ser de muitos anos se não existir nenhum estímulo externo, mas para que o contrário aconteça, ou seja, a transição de cristalino para amorfo precisa-se necessariamente de energia externa [SINGH, 2015].

Algumas técnicas foram reportadas para aumentar a solubilidade do PZQ como congelamento por spray ultrassônico [PASSERINI, 2006], complexos de inclusão com β -ciclodextrina [RODRIGUES, 2011] ou lipossomas [MOURAO, 2005]. No entanto essas técnicas possuem matérias-primas custosas tornando-as fatores limitantes. Uma alternativa mais barata é o uso de dispersões sólidas (DSs), sendo uma forma mais viável de aumentar a solubilidade de medicamentos pouco solúveis em água e superar as limitações previamente descritas. O aumento da dissolução do fármaco em questão acontece por conta de três fatores: molhabilidade do medicamento, a redução do tamanho de partícula com consequente aumento da área superficial e a conversão do estado cristalino para o estado amorfo. Geralmente são escolhidos polímeros hidrofílicos para fazer o carreamento neste caso [LIU, 2018]. Dentre os diversos polímeros utilizados para a obtenção de DSs, não há registro do emprego do poli(álcool vinílico) (PVA). El-Arini [EL-ARINI, 1998], El-Lakkany [EL-LAKKANY, 2012] e Lima [LIMA, 2007] trabalharam com dispersões sólidas envolvendo sistemas fármaco-polímero, nos quais o polímero utilizado foi a polivinilpirrolidona.

2.3 – Poli(álcool vinílico) – PVA

O poli(álcool vinílico) é uma resina sintética hidrossolúvel obtida através da hidrólise do poli(acetato de vinila) (PVAc) (Figura 2.4). O produto final é um copolímero de PVA/PVAc, porque a reação não é 100% efetiva apresentando algum grau de hidrólise (quantidade de grupos acetato remanescentes após reação de obtenção do PVA). Seu grau de hidrólise e grau de polimerização ditam suas propriedades físico-químicas básicas, sendo um dos poucos polímeros semicristalinos solúveis em água com boas características interfaciais e mecânicas. A solubilização do PVA (99% hidrolisado) em água requer temperaturas elevadas

devido à alta energia associada à dissolução da fase cristalina. Com o aumento da temperatura, as ligações hidrogênio são mais facilmente rompidas levando a diminuição das forças intra e intermoleculares, aumentando assim a solubilidade. [FICEK, 1993; LI, 1998; ARANHA, 2001].

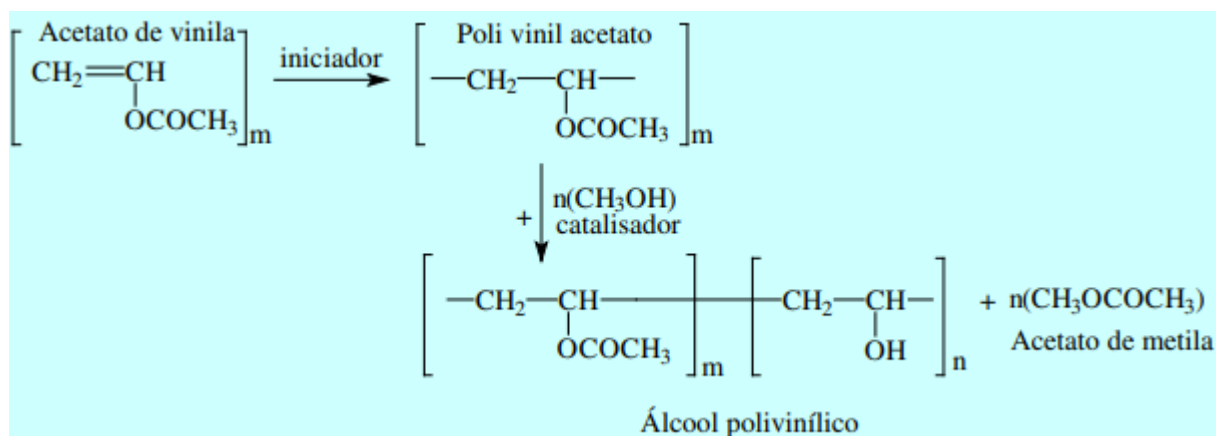


FIGURA 2.4) Hidrólise do poli(acetato de vinila) para poli(vinil álcool) [MELO, 2004].

É um excipiente contido no Handbook of Pharmaceutical Excipients; especificações para seu uso farmacêutico são dadas pelo Japanese Pharmaceutical Excipients, United States Pharmacopeia/National Formulary e pela European Pharmacopeia. O *handbook* de excipientes farmacêuticos é uma referência que contém as propriedades e os usos para cada excipiente. Excipientes são, segundo definição adotada pelo International Pharmaceutical Excipients Council (IPEC), "substâncias incluídas em um sistema de liberação de fármacos para auxiliar durante o processo de manufatura e/ou proteger ou aumentar a estabilidade, biodisponibilidade e/ou aceitabilidade pelo paciente, ou aumentar a segurança e efeito terapêutico do fármaco durante o estoque e uso." [IPEC, 2020].

O PVA de grau farmacêutico deve ser produzido através dos padrões das Boas Práticas de Fabricação (BPF) que são práticas obrigatoriamente aplicadas e amplamente reconhecidas para qualquer processo de produção mundial e que deve estar em conformidade com vários órgãos reguladores internacionais como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) do Brasil, a Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos, a European Medicines Agency (EMA) da Europa, entre tantos outros [DEMERLIS, 2003].

Muitos microrganismos de ambientes naturais e artificiais como solos, adubos, aterros e até fossas sépticas podem degradar o PVA através de processos enzimáticos. Uma combinação das enzimas hidrolase e oxidase degradam o PVA para ácido acético [DEMERLIS, 2003]. Importante lembrar que a percentagem de hidrólise e a solubilidade do PVA afetam sua biodegradação.

Sobre dados biológicos como absorção, distribuição, excreção, toxicidade, genotoxicidade e carcinogênese do PVA. Os testes foram feitos por DeMerlis baseados em metodologias previamente utilizadas por Sanders and Matthews. Os resultados mostram que mais de 98% da dose administrada ($0,01 \text{ mg kg}^{-1}$) oralmente para ratos (Fischer 344) foi eliminada nas fezes em até 48 horas, indicando que apenas uma pequena parte é absorvida pelo trato intestinal. Para testes de bioacumulação a dose foi aumentada para $0,1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ durante 10 dias. Resultados semelhantes aos anteriores foram obtidos, portanto 98% da dose total foi encontrada nas fezes, 0,2% na urina e 0,05% foi encontrada em alguns tecidos como rins, pele, músculos, tecido adiposo e no sangue do fígado [DEMERLIS, 2003; SANDERS, 1990].

Doses maiores foram testadas também em ratos. As doses testadas foram: 2.220 mg/kg por duas semanas seguido de mais duas semanas com o dobro da dose. Dois dos ratos continuaram com os testes por mais duas semanas com uma dose de 20.000 mg/kg . E ainda 10 ratos receberam $500 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ oralmente por 20 dias consecutivos. Nenhum efeito adverso ou morte foram reportados em todos os testes [DEMERLIS, 2003].

Alguns testes de toxicidade subcrônica também foram feitos. Esses testes servem para descobrir os efeitos de expor repetidamente o paciente a determinado composto. Isso define o efeito sistemático dessas doses no animal por não menos do que 24 horas após administração. Trinta ratos (mice) receberam doses orais de 100, 500 ou $1.000 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ durante 26 dias. Nenhum efeito adverso foi observado. Um estudo conduzido com cachorros mostra que a maior dose sem efeitos colaterais foi de $10.000 \text{ mg kg}^{-1}$ durante 20 dias. O nível de efeito adverso mais baixo observado (LOAEL – Lowest-Observed-Adverse-Effect Level) em cachorros estudados por 180 dias foi de 800 mg kg^{-1} . Vômito e diarreia foram observados.

Não existem relatos de toxicidade crônica ou carcinogênese de PVA administrado por via oral.

Sobre genotoxicidade (mutações causadas por agentes químicos que danificam o DNA da célula) estudos de Colorcon [COLORCON, 2000], mostram que o PVA não é mutagênico para concentrações de até 5.000 mg kg⁻¹ (estudos conduzidos em placas de petri previamente preparadas com células de fígado de ratos). Colorcon também conduziu o estudo em ratos no qual foram administradas doses de 2.000 mg kg⁻¹ de PVA, não mostrando nenhuma evidência de dano para os cromossomos ou toxicidade das células da medula óssea com esta dose.

Concentrações diárias de 2.000, 3.500 e 5.000 mg kg⁻¹ dia⁻¹ de PVA tanto para ratas quanto para ratos não resultou em efeitos adversos nem reprodutivos para a primeira (P0), segunda (F1) e terceira (F2) gerações de animais [DEMERLIS, 2003].

Portanto o PVA quando administrado oralmente é relativamente inofensivo e isso é baseado nas seguintes características:

- 1) Sua toxicidade é muito baixa com dose letal mediana em torno de 15 a 20 g kg⁻¹;
- 2) É mal absorvido pelo sistema gastrointestinal;
- 3) Não acumula no corpo;
- 4) Não é mutagênico ou clastogênico (não promove a quebra do DNA);
- 5) O nível sem efeitos adversos observáveis foi de 5.000 mg kg⁻¹ dia⁻¹ durante 90 dias para duas gerações de animais estudados.

Logo o PVA é um polímero seguro para utilização como revestimento para suplementos e produtos farmacológicos como comprimidos e cápsulas e existem artigos na literatura [EL-SETOUHY, 2010; SHI, 2013; GUO, 2020] que mostram a utilização do PVA em diferentes formulações de filmes orodispersíveis, apresentando ótimas propriedades de liberação de diferentes fármacos.

Como dito anteriormente, a forma amorfa do fármaco possui um grau de solubilidade maior quando comparada a sua forma cristalina devido ao excesso de propriedades termodinâmicas, ou seja, no estado amorfo não é necessária energia para quebrar a estrutura cristalina, portanto as moléculas de fármaco podem

interagir com as moléculas de solvente através de interações intermoleculares. Porém esse excesso de propriedades termodinâmicas leva à tendência a cristalização. As dispersões sólidas amorfas podem ajudar nesse sentido [SINGH, 2015].

2.4 – Dispersão sólida

A dispersão sólida é uma técnica farmacêutica muito útil para aumentar a dissolução, a absorção, a biodisponibilidade e, conseqüentemente, a eficiência do medicamento em questão [ADIBKIA, 2013]. Historicamente o termo dispersão sólida foi definido como a dispersão de um fármaco em uma matriz sólida onde a matriz era uma pequena molécula ou um polímero. Em 2014 Huang e Dai definiram uma dispersão sólida como a dispersão de um fármaco em uma matriz polimérica amorfa onde preferivelmente o fármaco está disperso molecularmente [HUANGA, 2014]. O termo é referente a um grupo de produtos sólidos constituintes com ao menos dois componentes diferentes, um hidrofílico (geralmente a matriz) e um hidrofóbico (geralmente o fármaco) sendo que a matriz pode ser cristalina ou amorfa [ARUNACHALAM, 2010].

A Figura 2.5 representa as três possíveis formas de como o fármaco pode estar disperso na matriz polimérica.

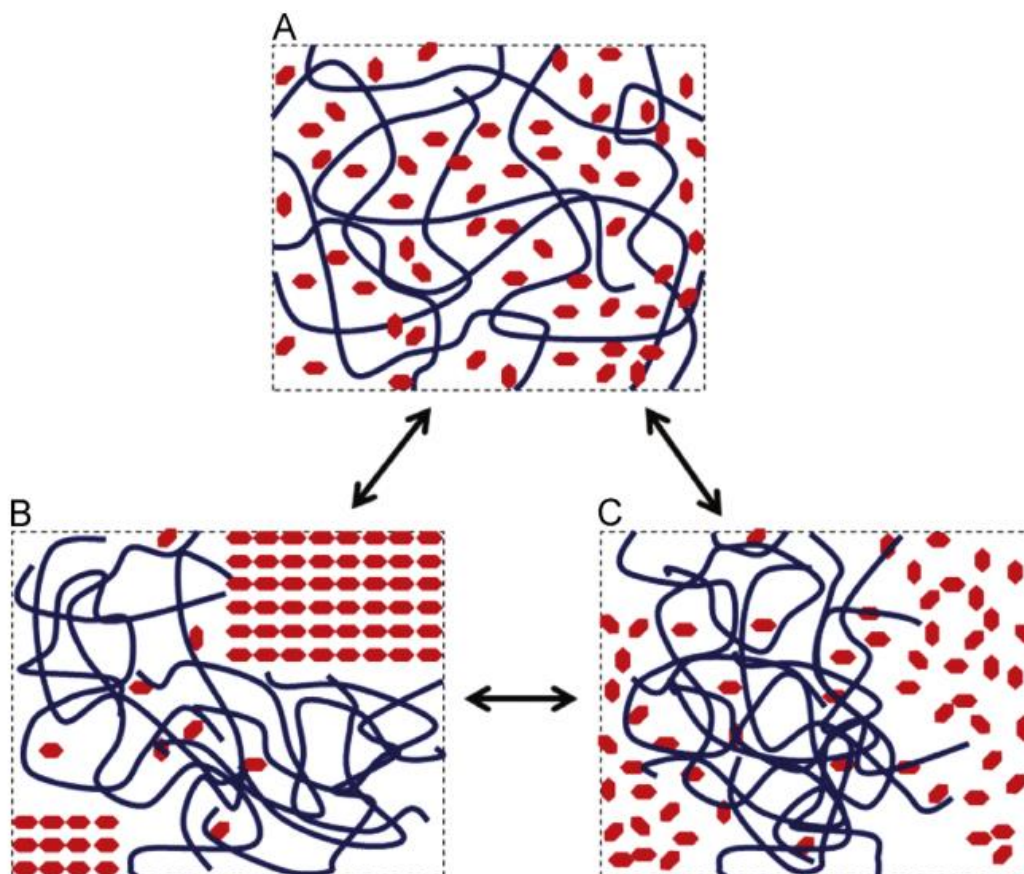


FIGURA 2.5: As três estruturas possíveis de uma dispersão sólida polímero-fármaco onde os hexágonos simbolizam o fármaco e as linhas representam as cadeias poliméricas. (A) Estrutura ideal na qual o fármaco está disperso homogeneamente na matriz; (B) sistema no qual ocorreu a formação de um aglomerado do fármaco e (C) sistema contendo domínios ricos em fármaco amorfo dispersos na matriz polimérica, ambos aglomerados [HUANGA, 2014].

Embora outros aditivos (como surfactantes) geralmente são utilizados para a produção da dispersão sólida, estas são principalmente compostas por polímeros e fármacos sendo, portanto, de fundamental importância entender como se dão as interações entre esses dois componentes para estudar os principais problemas que surgem no seu preparo como, por exemplo, o carreamento do fármaco, a estabilidade do sistema e sua dissolução.

Uma dispersão sólida é um sistema fármaco-polímero onde o fármaco age como soluto e o polímero como solvente. Apesar de simples, esse sistema pode gerar várias estruturas diferentes dependendo da sua composição e do histórico de

processamento. Quando o fármaco é carregado em uma taxa menor do que sua solubilidade no polímero, deve-se formar uma dispersão homogênea e termodinamicamente estável (Figura 2.5 A) que é a estrutura mais desejável nesse caso. Porém isso acontece majoritariamente em dispersões com baixo carregamento do fármaco ou sob altas temperaturas, quando a temperatura diminui a tendência é que o fármaco precipite, causando uma dispersão de cristais do fármaco no polímero (Figura 2.5 B), mas como a cristalização do fármaco é um processo lento com uma barreira energética alta, uma estrutura metaestável pode ser formada onde os aglomerados de fármaco amorfo estão dispersos no polímero (Figura 2.5 C) [HUANGA, 2014].

As dispersões sólidas aumentam significativamente a área superficial e a molhabilidade do fármaco além de induzir a modificação do estado sólido de cristalino para amorfo. Apesar disso, as características da dispersão sólida podem ser influenciadas por muitos fatores como o método de preparação, o tipo de carreador e a razão fármaco/carreador, além do pH [DAMETTO, 2017].

Algumas aplicações das dispersões sólidas [ARUNACHALAM, 2010]:

- São utilizadas para aumentar a solubilidade de fármacos pouco solúveis aumentando a taxa de dissolução, a absorção e a biodisponibilidade;
- Diminuir efeitos colaterais;
- Mascarar sabores;
- Aumentar a liberação de fármacos em cremes, géis e pomadas;
- Para evitar incompatibilidades não desejadas, entre outras.

A forma amorfa do fármaco, geralmente, é mais solúvel, apesar de sólidos amorfos serem mais susceptíveis a mudanças durante o armazenamento. Essa é uma característica desejável principalmente para fármacos com baixa solubilidade. Alguns polímeros são mais promissores como carreadores, pois eles potencialmente inibem a formação de cristais, como a poli(vinil pirrolidona) (PVP) [DE LA TORRE, 1999].

O preparo de DSs é uma técnica muito empregada no campo da medicina e é conhecida por aumentar a solubilidade, a taxa de dissolução e a absorção oral de fármacos pouco solúveis em água. Carreadores como o poli(etilenoglicol) (PEG) e as PVPs são os mais utilizados nessa área para aumentar

a solubilidade dos fármacos. Alguns outros carreadores solúveis em água também têm sido muito utilizados como hidroxipropilcelulose (HPC), hidroxipropil-metilcelulose (HPMC), hidroxipropil-metilcelulose ftalato (HPMCP), quitosanas e gelucire [KOHRI, 1999; VERRECK, 2003; POTLURI, 2011; LIU, 2013; HUGUEY, 2015; HUANG, 2019].

Dubois e Ford mostraram que as taxas de dissolução de uma gama de fármacos foi a mesma quando preparadas da mesma forma utilizando o mesmo carreador, o que sugere que o carreador domina o processo [DUBOIS, 1985]. A partir disso, existe mais de um mecanismo através do qual isso pode ocorrer. Para concentrações altas de fármaco, aparentemente há a formação de uma camada rica em fármaco. Já para baixas concentrações existem dois mecanismos de dissolução propostos (Figura 2.6). O modelo preconiza que há a formação de uma camada mais grossa de polímero na superfície da partícula, pela qual o fármaco precisa passar para ser liberado. Os processos podem se dar de duas formas distintas: na Figura 2.6 (a) pode-se observar a dissolução das partículas de fármaco na camada rica em polímero a uma taxa suficiente para que as partículas não sejam liberadas intactas no meio. Consequentemente o fármaco é disperso molecularmente nesta camada. A viscosidade desta camada é tal que a difusão (D) acontece bem devagar, como predita pela equação de Stokes-Einstein (Equação 2) [CRAIG, 2002].

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r} \quad (2)$$

onde k é a constante de Boltzmann, T é a temperatura, η é a viscosidade e r é o raio da molécula que está difundindo. Assim, a taxa limite de dissolução do fármaco se torna a do polímero e, conseqüentemente, a Equação 2 pode ser utilizada para descrever a liberação do fármaco [CRAIG, 2002]. É importante salientar que a dissolução de um polímero solúvel em água não pode ser modelada por equações de difusão simples, pois eles absorvem água e produzem um gradiente de concentração entre a superfície do sólido e o meio. No entanto o princípio ainda é aplicável.

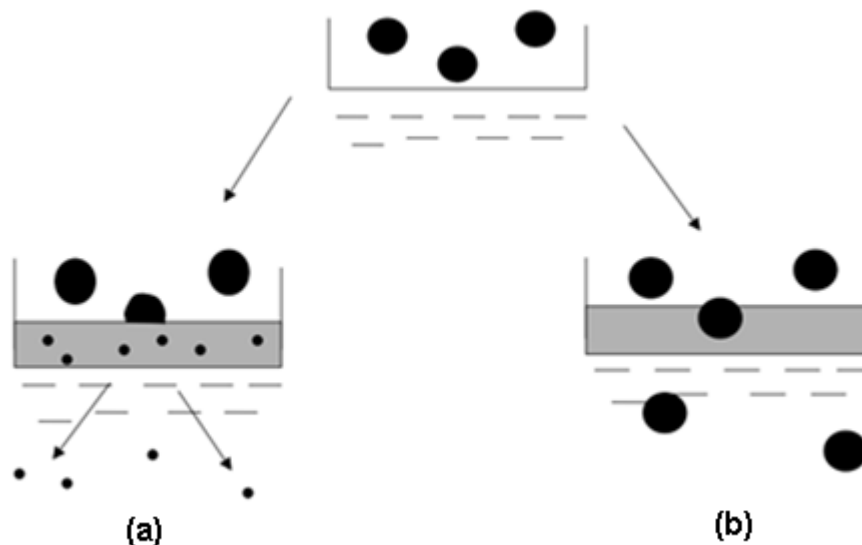


FIGURA 2.6: Diagrama dos possíveis processos de dissolução. (a) Dissolução controlada pelo carreador e (b) Dissolução controlada pelo fármaco. As esferas pretas grandes representam o fármaco não dissolvido, as esferas pretas menores representam as partículas de fármaco dissolvidas e a faixa cinza corresponde à matriz polimérica hidratada [CRAIG, 2002].

Já para a Figura 2.6 (b), a dissolução na camada de difusão do polímero é comparativamente baixa, portanto, o fármaco é liberado como partícula sólida. Deste modo, a dissolução não estará associada ao polímero, mas sim às propriedades físicas do fármaco. Ainda assim isso pode aumentar sua dissolução quando comparada ao fármaco sozinho por conta do aumento da área superficial, da molhabilidade e da diminuição dos aglomerados. A tendência do medicamento em seguir um dos dois cenários apresentados depende da sua tendência em dissolver no polímero em questão. Também é possível que em alguns casos as partículas de fármaco se dissolvam parcialmente no polímero antes de serem liberadas, promovendo dois mecanismos de dissolução [CRAIG, 2002].

Craig apresentou uma modelagem matemática para a difusão de uma partícula de medicamento através de um polímero (Figura 2.7). Para isso algumas suposições foram feitas: 1) assume-se que a partícula só é liberada quando a frente sólida retrocedeu uma distância equivalente ao diâmetro da partícula; 2) a partícula não sofre dissolução significativa antes de ser liberada; 3) assume-se que as

densidades do polímero e do fármaco são equivalentes, o que pode levar a um erro, porém este erro é considerado pequeno com relação às outras aproximações feitas.

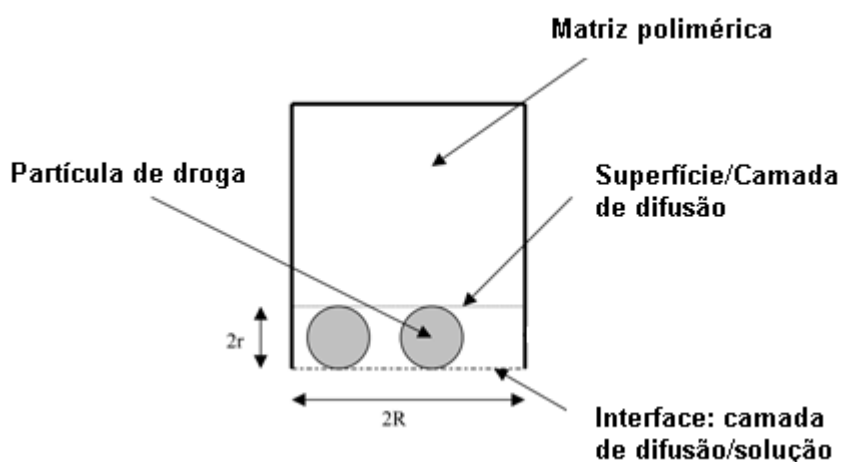


FIGURA 2.7: Representação de dispersões sólidas para o modelo de dissolução controlada pelo fármaco [adaptado de CRAIG, 2002].

A taxa de dissolução geral no tempo t ($G_T(t)$) pode ser considerada essencialmente uma função da taxa de dissolução média de cada partícula individual ($G_P(t)$) e o número de partículas disponíveis ($N(t)$), como na Equação 3.

$$G_T(t) = \sum^N G'_P(t) \approx G_P(t)N(t) \quad (3)$$

Primeiramente é necessário calcular a dependência com o tempo do processo de liberação da partícula, considerando o tempo necessário para que o polímero se dissolva para que a partícula seja liberada. Isso pode ser alcançado considerando a taxa de dissolução intrínseca do polímero P_A . A taxa de dissolução (P_T) pode ser expressa em termos do volume de polímero dissolvido de um disco de diâmetro $2R$ com relação ao tempo (Figura 2.7 e Equação 4).

$$P_T = \frac{P_A}{\rho} \pi R^2 \quad (4)$$

onde ρ é a densidade do polímero. O volume de dispersão (V_P) que precisa dissolver para uma partícula de diâmetro r ser liberada é dado pela Equação 5.

$$V_P = 2\pi r R^2 \quad (5)$$

Conseqüentemente o tempo (t_P) necessário para a liberação dessa partícula é dado pela Equação 6.

$$t_P = \frac{V_P}{P_T} = \frac{2r\rho}{P_A} \quad (6)$$

Note que a equivalência de dissolução de uma matriz polimérica pode ser razoavelmente assumida como um modelo de Higuchi [HIGUCHI, 1965] se o polímero estiver em excesso. O modelo de Higuchi diz que com o tempo há a dissolução da cápsula que envolve o medicamento, fazendo com que partículas do fármaco sejam liberadas em um processo de difusão baseado na Lei de Fick.

Para calcular o número de partículas (N_P) liberadas no tempo t_P é necessário calcular o número de partículas presentes em V_P multiplicando pela fração de peso x (aqui assume-se a equivalência na densidade dos dois componentes) e dividindo pelo volume de uma só partícula (Equação 7).

$$N_P = \frac{3R^2x}{2r^2} \quad (7)$$

Conseqüentemente das Equações 6 e 7 temos a Equação 8.

$$\frac{\partial N}{\partial t} = \frac{3R^2xP_A}{4r^3\rho} \quad (8)$$

Integrando entre $t=0$ e $t=t$ tem-se a Equação 9.

$$N(t) = \frac{3R^2xt}{4r^3\rho} \cdot \int_{t=0}^{t=t} P_A dt \quad (9)$$

É possível combinar a expressão acima com uma expressão que descreva a dissolução de uma única partícula. Existem inúmeros modelos para isso, com diversos graus de sofisticação, mas para este momento será usado uma expressão simples derivada de Goyan [GOYAN, 1965] (Equação 10).

$$G_T = \frac{D}{r} (C_s - C) \quad (10)$$

onde C_s e C representam as concentrações de solubilidade e do meio. Combinando as equações 9 e 10 é possível chegar na taxa de dissolução do sistema dada através da Equação 11.

$$G_T = \frac{3D(C_s - C)R^2xt}{r^4\rho} \cdot \int_{t=0}^{t=t} P_A dt \quad (11)$$

onde a integral é simplesmente a constante da taxa de dissolução intrínseca do polímero. É interessante notar que, mesmo sendo um modelo básico, prediz que a taxa de dissolução é altamente dependente do tamanho inicial da partícula, além de prever um perfil de dissolução não linear, mesmo a partir de uma área superficial constante [CRAIG, 2002].

A questão aqui pode ser: mas por que saber isso para o *design* de um fármaco? Entendendo o mecanismo básico de liberação é possível prever os efeitos de envelhecimento (efeitos de bancada) do sistema. Se um sistema é controlado pela dissolução do carreador as propriedades físicas do fármaco são irrelevantes, ou seja, o tamanho inicial da partícula ou a forma física do fármaco são irrelevantes. Porém, se o processo de dissolução é controlado pelo fármaco, suas propriedades são cruciais. Se o sistema é controlado pelo carreador, mudando a massa molar ou adicionando surfactantes pode-se trazer bons efeitos para o sistema. Os mecanismos de envelhecimento podem estar intimamente ligados aos mecanismos de dissolução, mais especificamente se o sistema é controlado pelo carreador. Os efeitos do envelhecimento são dados pelas mudanças nas propriedades do polímero. Se, por outro lado, o sistema é controlado pelo fármaco, então as propriedades do fármaco devem ser levadas em consideração como, por exemplo, recristalização lenta a partir de soluções sólidas instáveis, mudanças na forma polimórfica, tamanho de partícula ou recristalização do estado amorfo [CRAIG, 2002].

Saber como a temperatura de transição vítrea (T_g) do sistema se comporta com o carregamento de diferentes porcentagens do fármaco é essencial para prever a estabilidade durante o período de estoque da dispersão sólida. Geralmente a curva da T_g do polímero obedece à equação de Gordon-Taylor, diminuindo com o aumento do carregamento do fármaco (Figura 2.8). Contudo, a separação da fase amorfa pode modificar a aparência da curva [HUANGA, 2014].

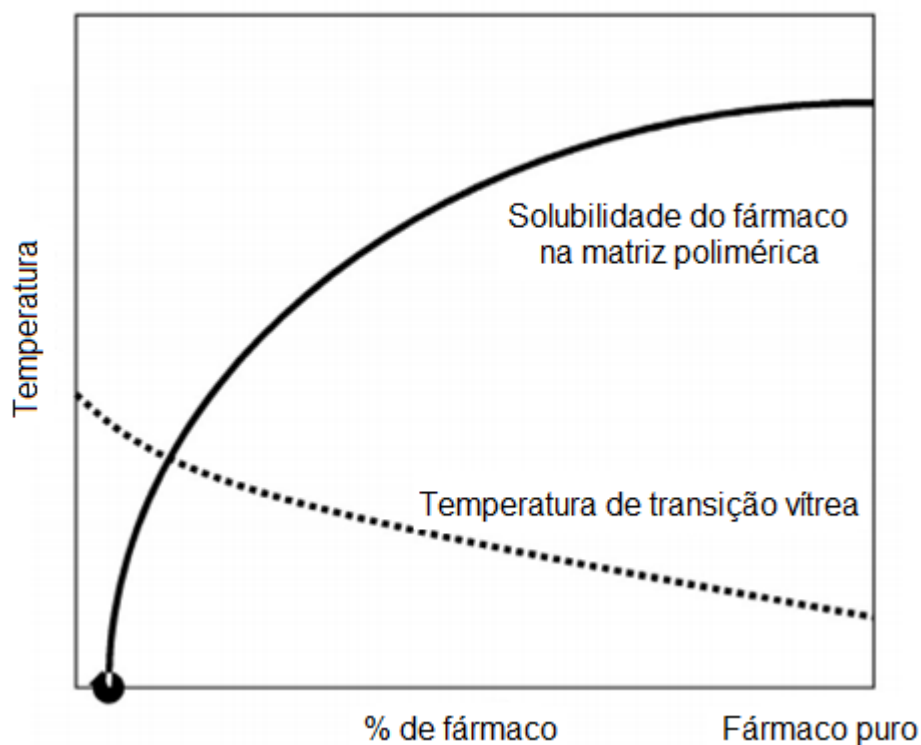


FIGURA 2.8: Diagrama de fases de uma dispersão sólida do sistema polímero-fármaco [Adaptado de HUANGA, 2014].

É importante ressaltar que, cineticamente falando, a separação de fases é lenta em temperaturas normais de armazenagem se a DS for armazenada em uma temperatura menor que a T_g o que, geralmente, acontece. Em uma solução homogênea as cadeias poliméricas interagem entre si e as moléculas de fármaco estão dispersos randomicamente entre essas cadeias. Foi estimado por Tanford [TANFORD, 1961], que os domínios de fármacos com as cadeias poliméricas não são maiores do que 2,5 nm. Portanto para formar um núcleo cristalino estável do fármaco certa quantidade de polímero precisa difundir. O tempo para essa difusão pode ser calculado através do coeficiente de difusão polimérico (D) (Equação 12). Para isso, duas suposições precisam ser feitas: 1) o meio através do qual o polímero difunde essencialmente contém apenas fármaco (o que não ocorre visto que o meio contém outras cadeias poliméricas e a viscosidade é muito maior do que um meio que contém apenas fármaco) e 2) a viscosidade do meio é próxima daquela na T_g , isto é, aproximadamente 10^{12} Pa s (a temperatura de armazenagem geralmente é menor do que a T_g , como dito anteriormente, e, portanto, a viscosidade é muito

maior). Com essas suposições e assumindo um polímero de 10 nm de tamanho, o coeficiente de difusão do polímero é dado pela equação de Stokes-Einstein (Equação 12).

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r} \sim 10^{-26} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1} \quad (12)$$

onde k é a constante de Boltzmann, T é a temperatura, η é a viscosidade do meio e r é o raio hidrodinâmico da partícula. E o tempo (τ) para que o polímero difunda uma distância de seu próprio tamanho (10 nm) é dado pela Equação 13.

$$\tau = \frac{r^2}{D} \sim 100 \text{ anos} \quad (13)$$

Portanto é a alta viscosidade que estabiliza o sistema. Porém é importante lembrar que a água é um excelente plastificante. Assim, a absorção de umidade diminui a T_g e, conseqüentemente, aumenta a mobilidade do fármaco e do polímero [HUANGA, 2014].

As interações fármaco-polímero podem ser principalmente o resultado das ligações hidrogênio e/ou interações hidrofóbicas. A habilidade de causar um atraso na nucleação pode ser resultado de ligações hidrogênio entre o fármaco e o polímero que não somente aumentam a energia de ativação da nucleação como também reduzem a energia de crescimento dos cristais [HUANGA, 2014].

2.4.1 – Vantagens das DSs [TRAN, 2019]:

- Os fármacos interagindo com carreadores hidrofílicos podem diminuir os processos de aglomeração e liberação supersaturada, aumentando a biodisponibilidade e sua absorção;
- Aumento da molhabilidade e da área superficial, resultando em um aumento da sua solubilidade;
- Podem ser produzidas na forma de dosagens orais, sendo muito mais conveniente para o paciente do que fármacos líquidos, por exemplo;
- Mostrou vantagens quando comparada com outros métodos como cocrystalização e a formulação de sais. As formulações de sais, por exemplo, usam o ativo farmacêutico ionizado, porém nem todas os

fármacos podem ser ionizados podendo haver dissociação de fase ou problemas com a estabilidade do ativo, resultando numa diminuição da biodisponibilidade. Essas desvantagens de formulações de sais podem ser resolvidas quando a formulação é produzida através de dispersões sólidas.

2.4.2 – Desvantagens das DSs [TRAN, 2019]:

- Estabilidade: dispersões sólidas mostram mudanças na cristalinidade e diminuição na taxa de dissolução conforme o tempo passa.
- Devido a essa instabilidade termodinâmica, as dispersões são sensíveis à temperatura e umidade durante a armazenagem. Esses fatores podem promover a separação de fase e cristalização por promoverem uma maior mobilidade molecular, diminuindo a Tg ou quebrando ligações entre o fármaco e a matriz polimérica diminuindo as taxas de solubilidade e dissolução do fármaco.

A Tabela 2.1 apresenta uma lista de fármacos investigados para fabricação das DSs através de vários métodos e a Tabela 2.2 mostra uma lista das DSs comerciais até a data da publicação. Estudo realizado por Herbrink e colaboradores mostrou que dispersões sólidas de nilotinibe (medicamento usado para tratar um tipo de leucemia crônica) aumentaram a solubilidade do fármaco quando comparada com a formulação usualmente utilizada (Tasigna[®]). O excipiente utilizado na pesquisa foi o Soluplus[®] e o seu melhor desempenho foi em uma proporção de 1:7 (razão fármaco:polímero, respectivamente) [HERBRINK, 2017].

TABELA 2.1: Lista de fármacos investigados como dispersões sólidas [TRAN, 2019].

Método	Fármaco
Fusão	Sulfatiazol, clotrimazol, albendazol, tacrolimo, fenofibrato, furosemida, paclitaxel, manidipino, olanzapina, diacereina
Evaporação de solvente	Dutasterida, tadalafila, glimepirida, nimodipino, diclofenaco, azitromicina, tectorigenin, flurbiprofeno, cilostazol, ticagrelor, piroxicam, indometacina, loratadina, ácido abiético, efavirenz, repagnilida, prednisolona
Extrusão de fusão a quente	Ritonavir, naproxeno, ácido oleanólico, efavirenz, tamoxifeno, lafutidina, disulfiram, bicalutamida, itraconazol, miconazol, gliburida
Liofilização	Nifedipina, sulfametoxazol, celecoxibe, meloxicam, docetaxel
Coprecipitação	Silimarina, celecoxibe, GDC-0810
Fluido supercrítico	Cetoprofeno, irbesartana, apigenina, carbamazepina, glibenclamida, carvedilol
Spray drying	Nilotinibe, spironolactona, valsartana, rebamipide, arteméter, naproxeno
Moagem	Cefixima, efavirenz, domperidona

TABELA 2.2: Lista de dispersões sólidas comerciais [TRAN, 2019].

Produto	Fármaco	Polímero	Empresa
Afeditab®	Nifedipina	Polaxamer ou PVP	Elan Corp, Irlanda
Cesamet®	Nabilona	PVP	Lilly, EUA
Cesamet®	Nabilona	PVP	Valeant Pharmaceuticals, Canadá
Certican®	Everolimo	HPMC	Novartis, Suíça
Gris-PEG®	Griseofulvina	PEG	Novartis, Suíça
Gris-PEG®	Griseofulvina	PVP	VIP Pharma, Dinamarca
Fenoglide®	Fenofibrato	PEG	LifeCycle Pharma, Dinamarca
Nivadil®	Nivaldipina	HPC/HPMC	Fujisawa Pharmaceuticals Co., Ltd
Nimotop®	Nimodipino	PEG	Bayer
Torcetrapib®	Torcetrapid	HPMC AS	Pfizer, EUA
Ibuprofen®	Ibuprofeno	Vários	Soliqs, Alemanha
Incivek®	Telaprevir	HPMC AS	Vertex
Sporanox®	Itraconazol	HPMC	Janssen Pharmaceutica, Bélgica
Onmel®	Itraconazol	HPMC	Stiefel
Prograf®	Tacrolimus	HPMC	Fujisawa Pharmaceuticals Co., Ltd
Cymbalta®	Duloxetina	HPMC AS	Lilly, EUA
Noxafil®	Posaconazol	HPMC AS	Merck
LCP-Tacro®	Tacrolimus	HPMC	LifeCycle Pharma, Dinamarca
Intelence®	Etravirina	HPMC	Tibotec, Yardley, PA
Incivo®	Etravirina	HPMC	Janssen Pharmaceutica, Bélgica
Rezulin®	Troglitazona	PVP	Pfizer, EUA
Isoptin SER-240®	Verapamil	Vários	Soliqs, Alemanha
Isoptin SR-E®	Verapamil	HPC/HPMC	Abbott Laboratories, EUA
Crestor®	Rosuvastatina	HPMC	AstraZeneca
Zelboraf®	Vemurafenibe	HPMC AS	Roche
Zortress®	Everolimus	HPMC	Novartis, Suíça
Kalydeco®	Ivacaftor	HPMC AS	Vertex
Kaletra®	Lopinavir e Ritonavir	PVP/acetato de polivinila	Abbott Laboratories, EUA

PVP: polivinilpirrolidona; HPMC: hidroxipropilmetilcelulose; PEG: polietilenoglicol; HPC: hidroxipropilcelulose; HPMC AS: hidroxipropilmetilcelulose acetilsuccinato.

Om e colaboradores [OM, 2015] mostraram que a solubilização do carreador hidrofílico polietilenoglicol resultou na redução do aglomerado das partículas de fármaco, eliminação da cristalinidade, aumento da molhabilidade o que pode ser responsável pelo aumento da solubilidade e da taxa de dissolução do praziquantel nas dispersões sólidas testadas por eles. A técnica utilizada foi a evaporação de solvente.

Existem várias técnicas para a produção das dispersões sólidas [SIRAJ, 2019]:

- Método da fusão: o fármaco e o carreador são misturados com a ajuda de um pistilo e um almofariz e a mistura é aquecida até sua completa fusão formando uma dispersão homogênea. A mistura é então resfriada, pulverizada e peneirada.
- Método da evaporação de solvente: uma mistura de fármaco e carreador é dissolvida em um solvente comum para ambos e depois evaporada até massa constante.
- Liofilização: a mistura de fármaco e solvente é dissolvida em um solvente em comum, congelada e todo o solvente é sublimado para se obter uma dispersão molecular liofilizada.
- Método de solvente para a fusão: uma quantidade específica de solvente é adicionada em polietilenoglicol fundido, mas com temperatura abaixo de 70°C. É um método específico para fármacos termolábeis com alto ponto de fusão e baixa dose terapêutica (< 50 mg).
- Método da extrusão de fusão a quente: este método também é para fármacos termolábeis. A mistura de fármaco e carreador é tipicamente processada em uma extrusora de rosca dupla onde a mistura é fundida, homogeneizada e extrudada em formas de comprimidos, grânulos, pellets, etc.
- Método de amassamento: uma mistura de fármaco e carreador é umedecida com um pouco de solvente, amassada com a ajuda de um pistilo e um almofariz de vidro formando uma massa que depois é peneirada.

- Método de moagem: a mistura de carreador e fármaco é misturada usando um misturador a uma velocidade específica e depois a mistura é moída em um moinho de bolas.
- Método do gotejamento: uma mistura fundida de fármaco e carreador é colocada em uma pipeta e gotejada em uma placa.
- Método efervescente: uma solução de bicarbonato de sódio e ácido cítrico, tartárico ou succínico é adicionada ao fármaco para aumentar sua dissolução e absorção.
- Tecnologia do fluido supercrítico: normalmente são utilizados solventes cuja temperatura e pressão são maiores que a temperatura e pressão críticas. Os fluidos supercríticos são altamente compressíveis o que permite que mudanças moderadas na pressão alterem muito a densidade e as características de transporte de massa desse fluido.
- Spray drying que é uma técnica onde o solvente e o carreador são dissolvidos em solvente (em comum ou não) e passados por um spray que seca a mistura e a transforma em um pó fino.

Nesta tese foi utilizado o método do spray drying para a produção das dispersões sólidas.

2.5 – Spray Dryer

O *spray drying* é um método capaz de gerar dispersões sólidas amorfas diretamente de soluções de fármaco e polímero, removendo os solventes em um único passo sendo, portanto, um processo eficiente [GU, 2015]. É um dos métodos mais fáceis de ser reproduzido em escala industrial e bem estabelecido, pois é uma das principais técnicas utilizadas para a evaporação de solvente [TRAN, 2019].

A rápida taxa de evaporação do solvente leva à formação de dispersões sólidas amorfas, aumentando a taxa de dissolução do fármaco. O processo se dá da seguinte forma: o fármaco, o polímero e algum outro excipiente (se necessário) são dissolvidos em solventes apropriados e misturados. Após isso, a mistura é borrifada através de um bico em uma corrente de gás quente. A rápida

evaporação do(s) solvente(s) e a presença do polímero levam a um aumento da viscosidade, prendendo o fármaco amorfo na matriz polimérica. Uma desvantagem desse processo é o uso de solventes orgânicos que podem levar a um aumento no custo das matérias primas utilizadas e um risco de explosão do equipamento, além de ser necessário garantir que todo o solvente tenha evaporado dada a sua potencial toxicidade aos seres humanos [LAFOUNTAINE, 2016].

O processo do *spray drying* envolve alguns passos, como apresentado na Figura 2.9. Primeiro, a solução é bombeada para a câmara de secagem através de um bico (Figura 2.9 1, 2 e 3). Durante a saída do bico, as gotas são atomizadas e entram em contato com o gás quente dentro da câmara (Figura 2.9 4). O tempo de resistência dentro da câmara depende dos parâmetros colocados no equipamento, de suas dimensões e dura alguns milissegundos. Durante a passagem na câmara de secagem, a transferência de massa e energia acontece na superfície dinâmica da gota. O material seco é separado do meio de secagem por meio de um ciclone (Figura 2.9 5) e é coletado em um frasco (Figura 2.9 6). Os gases coletados pelo exaustor passam por um filtro (Figura 2.8 7) [SINGH, 2015].

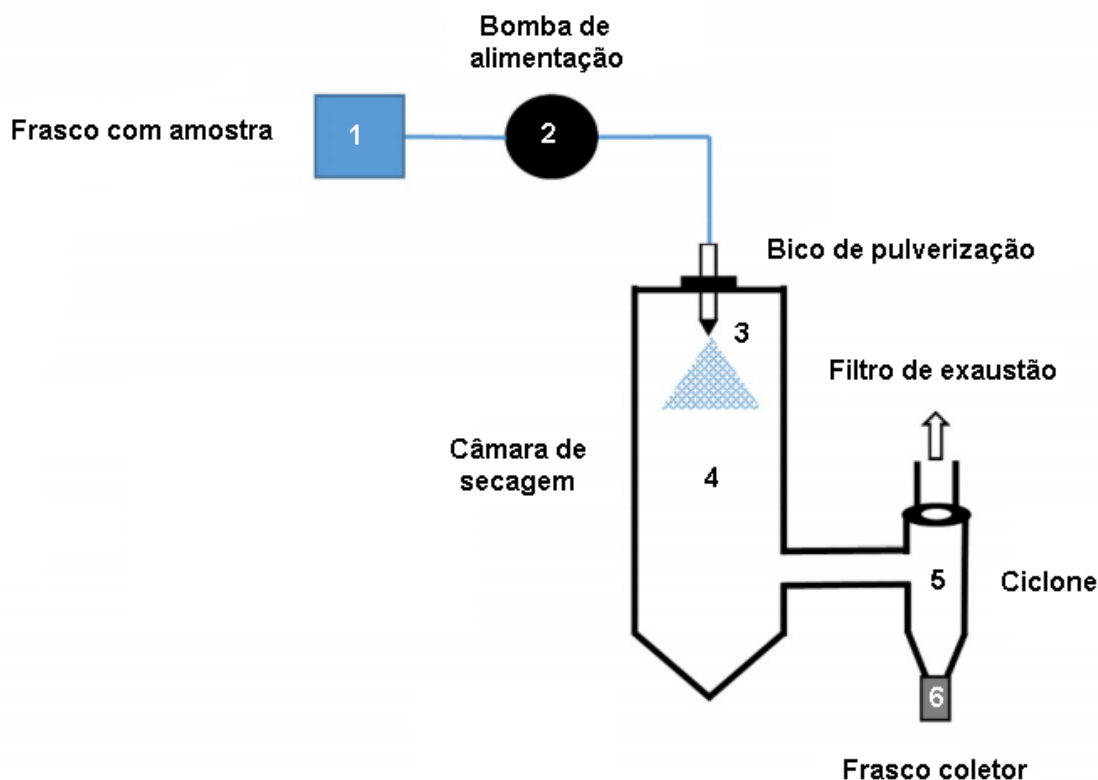


FIGURA 2.9: Esquema de um *spray dryer* [SINGH, 2015].

Cinética de evaporação: A taxa de evaporação do solvente aumenta a umidade do gás, diminuindo a taxa de formação da partícula. Quanto mais solvente evapora, a taxa de evaporação é dominada pela composição da parte sólida da partícula, pois sua viscosidade aumenta durante sua jornada pela câmara de secagem. Em certo ponto, a superfície solidificada da partícula dificulta a saída do solvente e isso pode afetar sua cristalinidade. Portanto três aspectos devem ser levados em consideração na retirada do solvente da gota: a temperatura de secagem, a umidade e a velocidade do ar ao redor da superfície da gota. De modo geral a formação da partícula envolve três estágios (Figura 2.10). Antes do estágio 1 começar a gota passa por uma fase de aquecimento sem perda de massa. No estágio 1 a secagem começa, ou seja, o solvente começa a evaporar. Há então uma diminuição do tamanho da gota, porém chega um estágio no qual o soluto não consegue acompanhar a diminuição da gota e uma casca é formada (estágio 2 da Figura 2.10). A evaporação do solvente continua da superfície e do interior da gota. A crosta começa a ficar mais grossa fazendo com que não haja transferência de

massa, portanto qualquer transferência de calor para a gota faz com que a sua temperatura aumente (estágio 2–3 na Figura 2.10). E finalmente a partícula pode ser tratada como uma esfera sólida que não possui mais solvente (estágio 3). Como a casca é resistente à evaporação de solvente após certo estágio, a pressão interna da partícula aumenta e dependendo da espessura dessa casca a partícula pode rachar, inflar ou até mesmo estourar [SINGH, 2015].

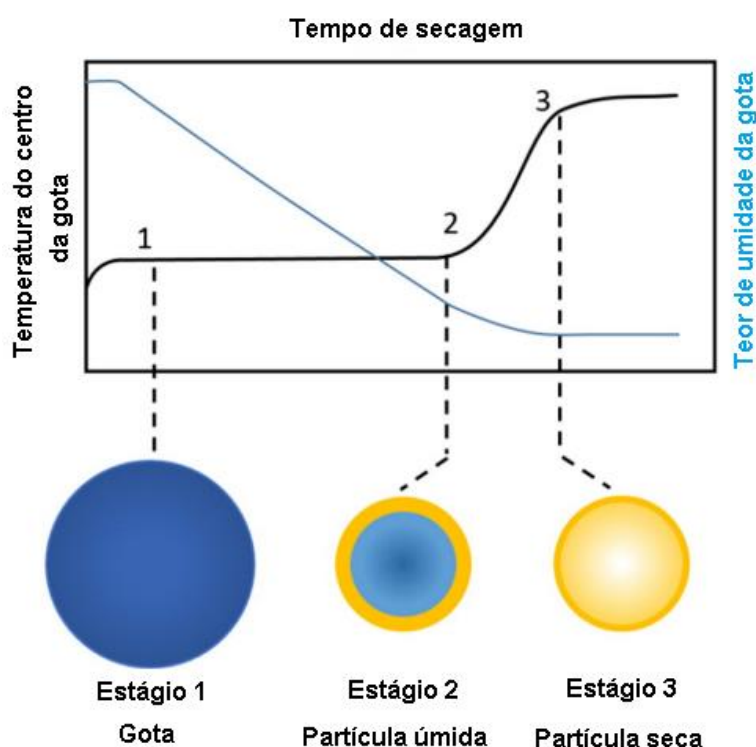


FIGURA 2.10: Transição de gota para partícula seca [SINGH, 2015].

Kojima e colaboradores mostraram os efeitos do fluxo de gás nitrogênio durante o processo de *spray drying* nas suas amostras em um desenho esquemático (Figura 2.11). Quando se tem um fluxo alto de nitrogênio o solvente da superfície da gota evapora rapidamente fazendo com que as partículas do soluto não tenham tempo de difundir para o centro e acumulem na superfície, tornando a distribuição final não homogênea. Consequentemente, pequenas partículas cristalinas ou agregados amorfos são formados, diminuindo a solubilidade e levando a instabilidade física da DS. Por outro lado, se o fluxo de gás é baixo, a evaporação do solvente é mais lenta fazendo com que as partículas de fármaco amorfo fiquem

homogeneamente distribuídas na gota (Figura 2.11), tornando a distribuição também homogênea na DS final, levando a uma maior solubilidade e estabilidade física da amostra [KOJIMA, 2012].

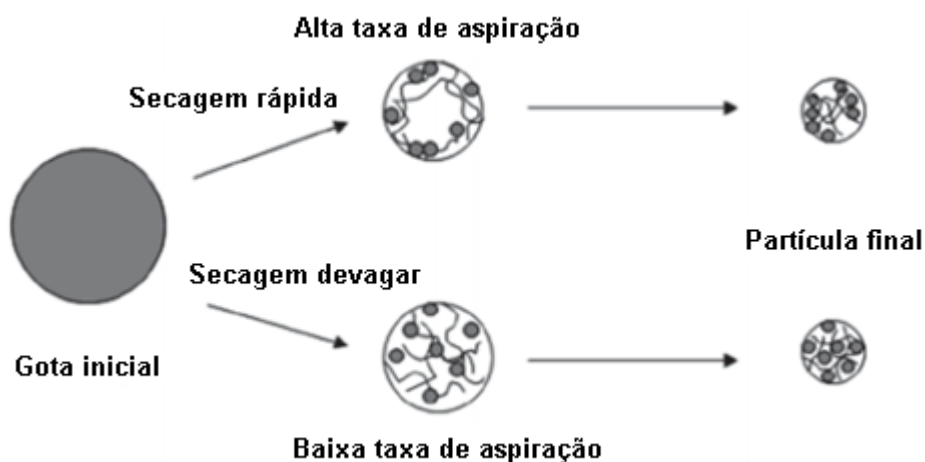


FIGURA 2.11: Efeitos da taxa de fluxo de nitrogênio durante o processo de secagem com *spray dryer* [adaptado de KOJIMA, 2012].

Já com relação à concentração da amostra, a Figura 2.12 mostra o esquema de quando a amostra possui baixa concentração e o solvente é rapidamente evaporado. As partículas não têm tempo de difundir na gota e a amostra final não é homogênea, resultando em baixa solubilidade e instabilidade física. O contrário acontece quando se tem uma alta concentração e a evaporação do solvente é lenta levando a uma distribuição homogênea do fármaco e do polímero na partícula final, aumentando sua solubilidade e estabilidade. Apesar disso, o método *spray drying* é considerado melhor do que o método convencional de evaporação de solvente, com retirada lenta do solvente, pois os compostos dissolvidos na amostra têm a tendência de se aglomerar e cristalizar sob condições lentas de secagem [KOJIMA, 2012].

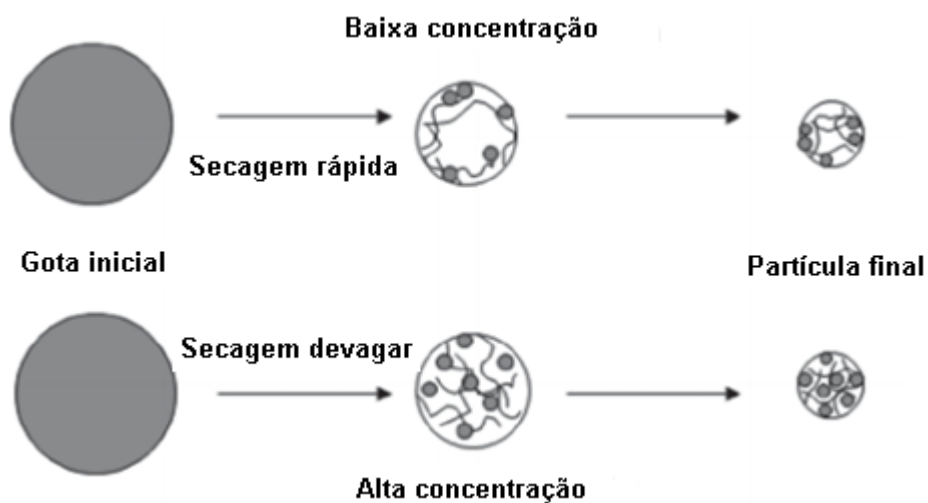


FIGURA 2.12: Efeitos da concentração da amostra durante o processo de secagem com *spray dryer* [adaptado de KOJIMA, 2012].

Portanto o objetivo desse trabalho foi desenvolver e caracterizar membranas e dispersões sólidas com algumas proporções diferentes entre PZQ e PVA e analisar os efeitos do controle da cristalinidade do polímero sobre as propriedades de solubilidade do fármaco além de analisar como a cristalinidade do fármaco é afetado durante o processo de *spray drying*.

3 – Materiais e métodos

3.1 – Reagentes e solventes

Os reagentes e solventes estão listados em ordem alfabética. Todos apresentam grau de pureza PA e foram utilizados como recebidos.

Ácido acético – Synth

Acetato de sódio – Merck

Água deionizada – Springway

Álcool etílico – Synth

Fosfato de sódio monobásico – Aldrich

Hidróxido de sódio – Merck

Lauril sulfato de sódio – Merck

Praziquantel cedido pela Fiocruz – lote 66066

Poli (álcool vinílico) – PVA – Aldrich – $M_w = 104.000 \text{ g mol}^{-1}$, grau de hidrólise > 99%

Solução salina (0,9% p/v NaCl) – Arboreto

3.2 – Equipamentos

Além das vidrarias normalmente utilizadas em laboratório foram utilizados os seguintes equipamentos:

Agitador mecânico – Nova Ética

Agitador magnético – Ika c – Mag HS4

Analisador termogravimétrico (TGA) – NETZSCH T G, modelo 209 F3

Tarsus

Balança analítica – Ohaus analytical plus com cinco casas decimais

Banho termostatizado – Marconi

Calorímetro diferencial exploratório (DSC) – NETZSCH DSC, modelo 200 F3 Maia

Difratômetro de raios X – Shimadzu, modelo XRD – 6000

Espectrômetro de ultravioleta-visível (UV/Vis) – Agilent Cary Varian 50

Estufa

Geladeira – Electrolux

Malvern Zetasizer Nano

pHmetro – Ion pHB 500

Pipeta automática – Discovery comfort – 50 µL; Digilar – 100 a 1000 µL e 20 a 200 µL;

Spray dryer – LabMaq – MDS 1.0 com bico de 1,2 mm

Turrax

Ultrassom – Thornton T14

3.3 – Metodologia

3.3.1 – Preparo das membranas

As membranas foram obtidas via método de evaporação de solvente. Em um frasco reagente da marca Schott de 50,0 mL foi aquecido, a 90°C, 2,000 gramas de PVA em 20,0 mL de água deionizada contendo lauril sulfato de sódio (1,000 g em 900,0 mL de água), com o auxílio de uma placa de aquecimento e agitação, até que o polímero solubilizasse (cerca de 4 horas); após isso abaixou-se a temperatura da solução para 50°C. Em um Becker foi solubilizado 1,000 grama de praziquantel em 10,0 mL de etanol que foi aquecido até 50°C. Quando as duas soluções estavam na mesma temperatura, foram misturadas com agitador magnético por 5 minutos e logo em seguida foram colocadas no Turrax a 11.200 rpm durante 1 minuto. Com o auxílio de uma proveta graduada, 4,00 mL da mistura foi vertida em placa de petri com 6,0 cm de diâmetro. Metade das amostras foi colocada no freezer a -20°C por 17 horas e a outra metade foi colocada em estufa a 45°C por 48 horas para completa secagem. Em seguida, as amostras, tanto as secas quanto as com água, foram submetidas a ciclos de congelamento/descongelamento. Em cada ciclo as amostras eram submetidas à temperatura ambiente por uma hora seguida de uma hora à -20°C. As amostras com água foram colocadas posteriormente em estufa a 45°C por 48 horas para completa secagem.

3.3.2 – Análises das membranas

3.3.2.1 – Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier - FTIR

As análises espectroscópicas foram realizadas em espectrofotômetro infravermelho com transformada de Fourier. As medidas foram realizadas entre 4.000 e 400 cm^{-1} , com resolução de 2 cm^{-1} e acumulação de 64 varreduras.

3.3.2.2 – Difração de raios X – DRX

As análises de DRX para as amostras de hidrogel foram obtidas à temperatura ambiente, empregando radiação de monocromador de $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$, a partir do cristal de grafite operando a 30 kV e 150 mA. As varreduras foram executadas em uma faixa de $5^\circ - 80^\circ$ (2θ) com taxa de 2° min^{-1} , com a intenção de se averiguar a rede cristalina formada.

3.3.2.3 – Calorimetria diferencial exploratória – DSC

As análises de DSC foram feitas em um equipamento NETZSCH DSC 200 F3 Maia. Amostras com aproximadamente 10,000 mg foram utilizadas. Primeiramente as amostras foram aquecidas de 20 a 250°C a uma taxa de $20^\circ\text{C min}^{-1}$. Em seguida, foi feito um resfriamento até temperatura ambiente a $20^\circ\text{C min}^{-1}$ e novamente um aquecimento até 250°C , na mesma taxa de aquecimento. Todas as amostras foram feitas em triplicata.

O grau de cristalinidade foi calculado a partir da Equação 14.

$$\chi_c = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_m^0 \cdot w} \quad (14)$$

onde ΔH_m^0 é a entalpia de fusão cristalina para o PVA 100% cristalino ($\Delta H_m^0 = 150,0 \text{ J g}^{-1}$ [WILLCOX, 2000]) e w é a fração de PVA utilizada em cada amostra (0,5; 0,66; 0,83; 0,91 e 0,94).

3.3.2.4 – Determinação do estado da água

Para a análise do estado na água nas membranas, foi utilizado o equipamento NETZSCH DSC 200 F3 Maia. As amostras previamente cortadas foram inchadas em água deionizada a 25°C por 24 horas. Cerca de 100 mg das amostras foi utilizada em cada análise. As amostras foram resfriadas até -60°C a uma taxa de 5°C min⁻¹, permanecendo nesta temperatura por 5 minutos. Após isso, foram aquecidas até 30°C a uma taxa de 5°C min⁻¹.

O teor de água secundária foi calculado utilizando-se a Equação 15.

$$W_b = W_t - \frac{\Delta H_{endo}}{\Delta H_f} \quad (15)$$

onde W_b e W_t são o teor de água secundária e a razão de inchamento, respectivamente, ΔH_{endo} é a entalpia de fusão dos hidrogéis inchados e ΔH_f é a entalpia de fusão da água (372,3 J g⁻¹).

3.3.2.5 – Análise termogravimétrica – TGA

As análises de TGA foram feitas com cerca de 10,000 mg de amostra em um equipamento TG 209 F3 Tarsus, sob fluxo contínuo de N₂, em uma faixa de temperatura de 40 à 800°C a uma taxa de aquecimento de 20°C min⁻¹.

3.3.2.6 – Medidas de inchamento

Amostras de 1 x 2 cm foram imersas em 50,0 mL de fluido biológico simulado (SBF) e mantidas a 25,0°C. As amostras foram pesadas a cada 10 minutos na primeira hora e depois a cada 20 minutos por mais uma hora e vinte minutos. Todas as análises foram feitas em triplicata.

O protocolo para a produção do SBF foi o descrito por Kokubo [KOKUBO, 1990] e os reagentes utilizados estão descritos na Tabela 3.1.

TABELA 3.1: Reagentes para o preparo do SBF [Kokubo, 1991].

Ordem	Reagente	Quantidade
1	NaCl	7,996 g
2	NaHCO ₃	0,350 g
3	KCl	0,224 g
4	K ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O	0,228 g
5	MgCl ₂ · 6H ₂ O	0,305 g
6	HCl 1 mol L ⁻¹	40 mL (cerca de 90% da quantidade total a ser adicionada)
7	CaCl ₂	0,278 g
8	Na ₂ CO ₄	0,071 g
9	NH ₂ C(CH ₂ OH) ₃	6,057 g

Ajustou-se a temperatura da solução para 36,5 °C com a ajuda de um banho termostatizado e seu pH pode ser ajustado para 7,35 com a solução remanescente de HCl. A solução final foi transferida para um balão volumétrico e o volume foi ajustado para 1 L com água deionizada. Essa solução foi colocada em uma garrafa de polietileno e mantida a 5 °C. A Tabela 3.2 mostra a concentração iônica do SBF produzido e a do plasma sanguíneo humano.

TABELA 3.2: Concentração iônica (mmol L⁻¹) de SBF e plasma sanguíneo humano [Kokubo, 1991].

Íon	Fluido simulado	Plasma sanguíneo
Na ⁺	142,0	142,0
K ⁺	5,0	5,0
Mg ²⁺	1,5	1,5
Ca ²⁺	2,5	2,5
Cl ⁻	147,8	103,0
HCO ₃ ⁻	4,2	27,0
HPO ₄ ²⁻	1,0	1,0
SO ₄ ²⁻	0,5	0,5

A razão de inchamento das amostras foi determinada através da Equação 16.

$$\text{Razão de inchamento} = \frac{m_t - m_s}{m_s} \quad (16)$$

onde m_t é a massa da amostra no tempo t e m_s é a massa da amostra seca.

3.3.2.7 – Ângulo de contato com água

As medidas dos ângulos de contato da água foram realizadas com um goniômetro Ramé-Hart, modelo 260 conectado a uma câmera. Em média seis gotas foram pingadas em diferentes regiões da membrana e para cada gota foram obtidos três valores com intervalo de um segundo entre as medidas.

3.3.2.8 – Ensaio de dissolução e análise do fármaco

A cinética de dissolução foi avaliada sob pH gástrico (pH 1,2) e intestinal (pH 4,5; 5,5 e 6,8). O ensaio foi realizado à 37°C em estufa e volume de solução-tampão de 50,0 mL. Foram coletadas alíquotas de 1,0 mL nos tempos 5, 15, 30, 60, 120 e 180 minutos. Um mL de solução tampão foi recolocado em cada frasco sempre que uma alíquota era retirada. O PZQ liberado foi avaliado por espectroscopia na região do ultravioleta, no comprimento de onda de 270 nm.

O preparo dos meios foi realizado da seguinte forma:

- pH 1,2 (Solução 0,1 mol L⁻¹ HCl): Adicionou-se 8,5 mL de ácido clorídrico em 1000,0 mL de água deionizada.
- pH 4,5 (Tampão acetato): Foram colocados 2,990 gramas de acetato de sódio em balão volumétrico que em seguida foi completado com água deionizada para volume final de 1000,0 mL. A essa solução foram adicionados 14,0 mL de ácido acético 2 mol L⁻¹.
- pH 5,5 (Tampão acetato): Foram colocados 5,980 gramas de acetato de sódio em balão volumétrico que em seguida foi completado com água deionizada para volume final de 1000,0 mL. A essa solução foram adicionados 3,0 mL de ácido acético 2 mol L⁻¹.

- pH 6,8 (Tampão fosfato): Foram feitos 1000,0 mL de solução de potássio monobásico $0,2 \text{ mol L}^{-1}$. A essa solução foram adicionados 11,2 mL de hidróxido de sódio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$.

3.3.2.9 – Ensaio de solubilidade e análise do fármaco

A cinética de solubilidade do fármaco foi avaliada sob pH gástrico (pH 1,2) e intestinal (pH 4,5; 5,5 e 6,8). O ensaio foi realizado à 37°C em estufa e volume de solução-tampão de 50,0 mL. Foi coletada uma alíquota de 1,0 mL após 72 horas. O PZQ liberado foi avaliado por espectroscopia na região do ultravioleta, no comprimento de onda de 270 nm. As soluções-tampão utilizadas foram as mesmas descritas na sessão 3.3.2.4. Nenhum tipo de agitação foi utilizado.

3.3.3 – Preparo das dispersões sólidas

Foi preparada uma solução 1% m/v de PVA em água deionizada contendo lauril sulfato de sódio (1,000 g em 900 mL de água), em frasco Schott sob aquecimento a 90°C por 4 horas.

Em um Becker foi feita uma solução de PZQ em etanol 13% m/v. Essa solução foi adicionada gota a gota à solução polimérica, sob agitação, a temperatura ambiente. A suspensão final foi deixada agitando por 5 minutos. A seguir foi colocada no Turrax por 1 minuto. A solução foi feita para proporção máxima de 10% de etanol em água com relação à dispersão final.

As duas soluções foram misturadas gota a gota com agitação magnética por 5 minutos e logo em seguida foram colocadas no homogeneizador Turrax a 11.200, 15.000 ou 20.000 rpm durante 1 minuto, dependendo da solução. Através da Figura 3.1 é possível ver as proporções de PZQ:PVA usadas para cada velocidade do homogeneizador Turrax.

TABELA 3.3: Proporções de PZQ:PVA versus velocidade do homogeneizador.

Amostra	Rotações no Turrax
1:1	15.600
1:2	10.000 e 20.000
1:5	15.600
1:10	10.000 e 20.000
1:15	15.600

3.3.4 – Spray dryer

As misturas foram processadas no *spray dryer* em sistema aberto com fluxo de água resfriando o atomizador no sistema de aspiração, com temperatura de entrada de 75°C, temperatura de saída de 50°C, vazão de 0,2 L por hora e bico de 1,2 mm no atomizador.

3.3.5 – Análises das dispersões sólidas

3.3.5.1 – Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier - FTIR

As análises espectroscópicas foram realizadas em espectrofotômetro infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). As medidas foram realizadas entre 4.000 e 400 cm^{-1} , com resolução de 2 cm^{-1} e acumulação de 64 varreduras.

3.3.5.2 – Difração de raios X – DRX

As análises de DRX para as amostras de DS foram obtidas à temperatura ambiente, empregando radiação de cobre/potássio de $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$, a partir do cristal de grafite operando a 30 kV e 30 mA. As varreduras foram executadas em uma faixa de 5° - 80° (2θ) com taxa de 2° min^{-1} , com a intenção de se averiguar a rede cristalina formada.

3.3.5.3 – Calorimetria diferencial exploratória – DSC

As análises de DSC para analisar o grau de cristalinidade, entalpias de fusão cristalina (ΔH_m) e de vaporização da água (ΔH_v), as temperaturas de fusão dos cristais (T_m), de vaporização da água (T_v) e de transição vítrea (T_g) das diferentes membranas produzidas foram feitas em um equipamento NETZSCH DSC 200 F3 Maia. As amostras foram cortadas do centro de cada membrana com aproximadamente 5,000 mg. Para a determinação das temperaturas e das entalpias, as amostras foram aquecidas de 20 a 250°C a uma taxa de 20°C min⁻¹. Em seguida, foi feito um resfriamento até temperatura ambiente e novamente um aquecimento até 250°C para se determinar a T_g . A T_m e a T_v foram tomadas como os máximos dos picos endotérmicos e as entalpias como as áreas dos respectivos picos. A transição vítrea foi calculada pelo método da meia altura dos prolongamentos das linhas tangentes à curva antes e após a transição.

3.3.5.4 – Espalhamento de luz dinâmico (DLS – Dynamic Light Scattering) – Tamanho de partícula

As medidas foram feitas a 25°C em um Malvern Zetasizer Nano. Foram usados como solventes tolueno e clorofórmio com duração de 20 segundos cada medida.

3.3.5.5 – Ensaio de dissolução e análise do fármaco

A cinética de dissolução foi avaliada sob pH gástrico (pH 1,2) e intestinal (pH 4,5; 5,5 e 6,8). O ensaio foi realizado à 37°C em estufa e volume de solução-tampão de 50 mL. Foram coletadas alíquotas de 1,0 mL nos tempos 5, 15, 30, 60, 120 e 180 minutos. Um mL de solução tampão foi recolocado em cada frasco sempre que uma alíquota era retirada. O PZQ liberado foi avaliado no comprimento de onda de 270 nm. Cada alíquota foi diluída com seu respectivo tampão até atingir 2,0 mL. O preparo dos meios foi realizado da mesma forma descrita em 3.3.2.8. No caso das membranas os testes foram feitos considerando uma área de 1 x 2 cm. As amostras foram retiradas do centro de cada membrana e para as DSs foram utilizados 10 mg de amostra.

3.3.5.6 – Ensaio de dissolução após 3 dias e análise do fármaco

A cinética de dissolução do fármaco após 3 dias foi avaliada sob pH gástrico (pH 1,2) e intestinal (pH 4,5; 5,5 e 6,8). O ensaio foi realizado à 37 °C em estufa e volume de solução-tampão de 50,0 mL. Foram adicionadas doses equivalentes a 10,000 mg de cada amostra. Após 72 horas, uma alíquota de 1,000 mL foi retirada, diluída em 1,0 mL da solução-tampão respectiva e analisada em um espectrofotômetro UV a 270 nm.

4 – Resultados e discussão

4.1 – Teste preliminar

Antes de começar a produção das membranas e das dispersões sólidas, um teste preliminar foi feito para ver se ciclos de congelamento/descongelamento afetariam a produção de cristais no carreador, ou seja, no polímero escolhido para este trabalho, o PVA. Os cristais são importantes, pois trabalhos anteriores produzidos no grupo mostram que quanto maior a porcentagem de cristais formados na amostra, maior é a sua resistência mecânica [Paranhos, 2007].

Para isso foram produzidas amostras com proporção 1:2 de PZQ:PVA e obtidas com uma rotação de 11.200 rpm no Turrax.

As cristalinidades das membranas foram determinadas por DSC. Os parâmetros térmicos obtidos são mostrados na Tabela 4.1. As amostras 1 e 2 não passaram por ciclos de congelamento/descongelamento; as amostras 3 e 4 passaram por 1 ciclo; 5 e 6 passaram por 3 ciclos e as amostras 7 e 8 por 5 ciclos. As amostras 1, 3, 5 e 7 foram diretamente para o freezer para passar pelos ciclos térmicos e após isso foram para a estufa a 60°C até que apresentassem massa constante (cerca de 3 dias). Já as amostras 2, 4, 6 e 8 primeiramente foram para estufa até atingirem massa constante e apenas depois disso os ciclos térmicos foram feitos, para observar se o histórico de processamento afeta a formação dos cristais. Todos os experimentos foram feitos em triplicata.

TABELA 4.1: Parâmetros térmicos obtidos por DSC para as membranas com diferentes ciclos de congelamento-descongelamento.

Amostras	Tv (°C)	ΔHv (J/g)	Tg (°C)	Tm (°C)	ΔHm (J/g)	Xc (%)
1	143,8 ±	60,6 ±	70,2 ±	229,1 ±	41,9 ±	27,9 ±
	1,2	11,4	2,9	1,2	2,9	1,9
2	146,2 ±	61,5 ±	68,8 ±	226,4 ±	45,6 ±	30,4 ±
	0,5	31,1	0,7	0,1	1,8	1,2
3	143,5 ±	74,2 ±	72,3 ±	227,4 ±	46,7 ±	31,1 ±
	0,7	2,7	3,1	1,7	2,3	1,5
4	147,6 ±	65,8 ±	61,2 ±	227,2 ±	39,7 ±	26,5 ±
	0,4	36,4	8,4	2,0	5,8	3,8
5	143,0 ±	76,0 ±	74,1 ±	226,3 ±	45,8 ±	30,6 ±
	0,4	3,3	1,0	1,1	1,4	1,0
6	147,8 ±	67,6 ±	68,4 ±	227,1 ±	40,3 ±	26,8 ±
	0,6	39,1	0,4	0,4	1,1	0,7
7	143,2 ±	73,6 ±	75,5 ±	228,9 ±	42,9 ±	28,6 ±
	0,4	5,0	1,6	2,4	2,7	1,8
8	148,1 ±	110,2 ±	72,8 ±	226,4 ±	45,0 ±	30,0 ±
	0,2	4,5	2,4	0,5	1,4	0,9

Onde Tv é a temperatura de vaporização da água, ΔHv é a entalpia de vaporização da água, Tg a temperatura de transição vítrea, Tm a temperatura de fusão cristalina do polímero, ΔHm é a entalpia de fusão cristalina e Xc é o grau de cristalinidade da amostra.

É possível notar que a única mudança observada é para a entalpia de vaporização da água. Há um aumento para a amostra 8 e as amostras 4 e 6 também apresentam uma diferença considerável que é percebida através do erro. Esse comportamento pode ser por alguma interação do medicamento com o polímero para as amostras que foram primeiramente colocadas na estufa. Porém a temperatura de vaporização da água não é modificada.

A temperatura de transição vítrea e a porcentagem de cristais não foram alteradas, indicando que as membranas não sofrem modificação através de ciclos térmicos feitos nas amostras e que colocá-las diretamente no congelador ou secá-las primeiro também não influencia na morfologia das amostras. As moléculas de fármaco podem ser consideradas obstáculos para a formação de cristais na matriz polimérica, visto que para amostras sem medicamentos previamente produzidas pelo grupo chegam a ter 50% de grau de cristalinidade.

Além deste, outro teste foi conduzido com todas as amostras. Uma amostra de 1 x 2 cm foi retirada de cada membrana e foram feitas liberações do medicamento em HCl para analisar se todas as amostras liberavam a mesma quantidade em pH 1,2. A Tabela 4.2 apresenta os resultados obtidos para cada amostra. Os números são os mesmos explicados anteriormente. Todos os experimentos foram feitos em triplicata.

TABELA 4.2: Massas de PZQ (em mg mL⁻¹) obtidas para a dissolução das membranas 1:2 11.200 rpm em HCl pH = 1,2

Amostras Tempo (min)	1	2	3	4	5	6	7	8
Massa teórica de PZQ	7,01	7,18	9,79	7,59	8,57	9,10	8,20	8,75
60	0,11	0,12	0,11	0,11	0,11	0,14	0,12	0,12
120	0,13	0,14	0,13	0,11	0,12	0,11	0,11	0,12
180	<u>0,13</u>	<u>0,14</u>	<u>0,13</u>	<u>0,13</u>	<u>0,12</u>	<u>0,12</u>	<u>0,12</u>	<u>0,12</u>
240	0,14	0,14	0,14	0,14	0,12	0,13	0,12	0,12
300	0,14	0,15	0,15	0,14	0,13	0,14	0,12	0,13
360	0,15	0,16	0,15	0,15	0,13	0,13	0,13	0,13
1440	0,21	0,22	0,23	0,24	0,16	0,15	0,15	0,17
1500	0,21	0,23	0,23	0,25	0,17	0,17	0,16	0,17
1560	0,21	0,23	0,23	0,24	0,17	0,18	0,16	0,17
1620	0,21	0,22	0,22	0,23	0,17	0,18	0,16	0,17
1680	0,21	0,22	0,23	0,24	0,17	0,19	0,16	0,17
1740	0,21	0,22	0,23	0,24	0,17	0,19	0,16	0,17
3 dias	<u>0,23</u>	<u>0,23</u>	<u>0,23</u>	<u>0,23</u>	<u>0,18</u>	<u>0,19</u>	<u>0,17</u>	<u>0,18</u>

É possível notar que as amostras 1, 2, 3 e 4 são as que mais liberam medicamento tanto para 180 minutos quanto para 3 dias após o início do experimento, ou seja, quanto maior o número de ciclos feitos em cada amostra, menor a quantidade de fármaco liberada neste pH. Esses dois tempos foram

considerados visto que são utilizados para as medições de dissolução e solubilidade do fármaco, respectivamente.

Assim, todas as amostras foram produzidas sem os ciclos térmicos visto que eles não alteram a porcentagem de cristais produzidos e as amostras liberam maior quantidade de medicamento.

4.2 – Produção das membranas e das soluções para as dispersões sólidas

Neste trabalho o objetivo era avaliar se o tamanho de partícula mudaria as interações entre o PZQ e o PVA, se haveria mudanças na dissolução e solubilização das amostras. Estudos feitos por Althuri e colaboradores [ALTHURI, 2013], mostram a diminuição do tamanho da partícula de PVA produzida com o aumento do tempo de sonicação da amostra, isso porque, o aumento do tempo aumenta a energia externa aplicada por unidade de volume da emulsão utilizada por ele. Por isso, em princípio só seriam utilizados o medicamento e o polímero em diferentes proporções e diferentes rotações por minuto do Turrax (Tabela 3.3). Para a construção dessa Tabela, foi utilizado o planejamento Doehlert de duas variáveis. A variável 1 seriam as diferentes proporções de PVA e PZQ, onde a proporção de PZQ ficaria a mesma (1) e a proporção de PVA aumentaria (1, 2, 5, 10 e 15) e a variável 2 seria as rotações do homogeneizador Turrax, a menor possível do equipamento (10.000 rotações por minuto), a maior possível (20.000 rpm) e uma intermediária mais próxima da metade entre essas duas (15.600 rpm)

Para as membranas, a proporção de água (solvente do PVA) e etanol (solvente do PZQ) poderia chegar até 1:1, como para os solutos, e não eram formados aglomerados, porém para conseguir passar a amostra no *spray dryer* em sistema aberto, ou seja, sem a necessidade da utilização de nitrogênio ultrapuro, é necessária uma porcentagem de solvente orgânico máxima de 15% na amostra final, portanto foi utilizada proporção máxima final de etanol para água de 10%, para ficar em um nível seguro. Entretanto quando essa proporção era mantida e a solução de PZQ com etanol era gotejada na solução de PVA e água, eram formados grandes aglomerados de polímero e fármaco, como pode ser observado na Figura

4.1 (a). Para tentar minimizar o problema sem a necessidade de um surfactante, vários testes foram feitos, todavia nenhum deles obteve bons resultados. Assim sendo, lauril sulfato de sódio foi utilizado, uma vez que estudos feitos por Dave e colaboradores em 2012 [DAVE, 2012] com dispersões sólidas, assim como estudos recentes feitos por Hamed e colaboradores [HAMED, 2020] mostram que este surfactante aumenta a solubilidade e dissolução dos medicamentos sulfatiazol e carvedilol, respectivamente. Importante ressaltar que as membranas não aderiram às placas de petri utilizadas e não havia pó em sua superfície, todo o medicamento estava incorporado na membrana final.

Com o surfactante adicionado na água foi obtida a membrana da Figura 4.1 (b) e o processo de produção e caracterização das membranas e DSs (Figura 4.1 (c)) pode ser iniciado.

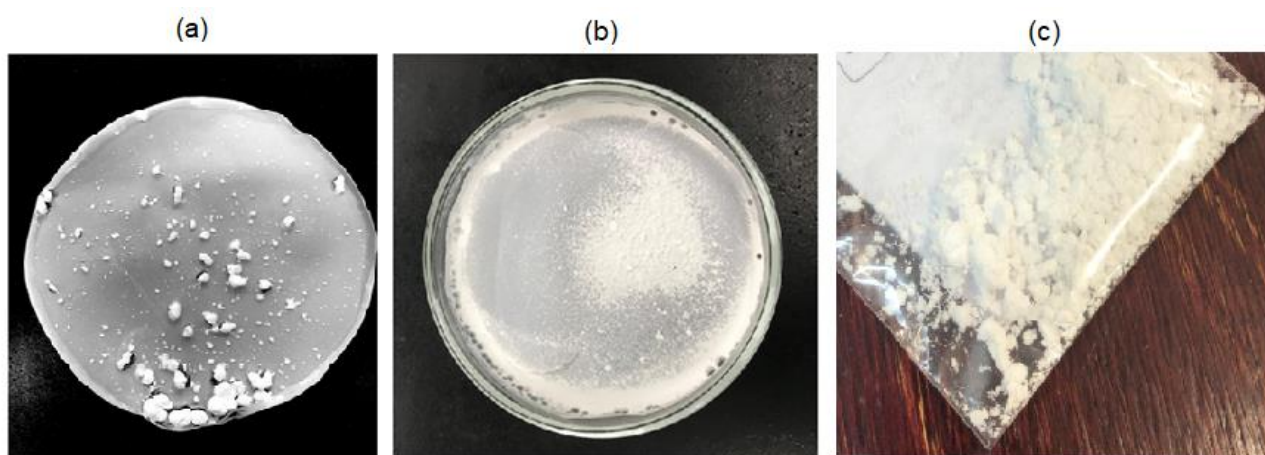


FIGURA 4.1: Membranas produzidas: (a): sem surfactante, (b): com surfactante e (c): DS produzida (pó).

As DSs produzidas obtiveram os seguintes rendimentos: 1:1 – 24,5%; 1:2 – 11.200 – 21,9%; 1:2 – 20.000 – 18,7%; 1:5 – 48,4%; 1:10 – 11.200 – 30,6% e 1:15 – 28,1%.

4.3 – Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier – FTIR

A natureza das interações entre os componentes das membranas e das DSs foi determinada por FTIR. Os resultados podem ser observados nas Figuras 4.2 – 4.4.

A larga banda observada entre 3600 e 3000 cm^{-1} (#1) em todas as Figuras (4.2, 4.3 e 4.4) é ligada ao estiramento da ligação O–H presente nas moléculas de PVA [TRETINNIKOV, 2013]. É possível notar que quanto maior a proporção de PZQ menor é essa banda (Figura 4.2), portanto o medicamento provavelmente interage com a matriz polimérica através dessas hidroxilas disponíveis. Como comentado por Liu e colaboradores [LIU, 2018], devido à baixa porcentagem do PZQ nas amostras é difícil detectar as ligações hidrogênio entre o polímero e o fármaco através dos espectros ou as bandas podem ser potencialmente mascaradas pelas bandas de absorção do polímero que estão nas mesmas posições.

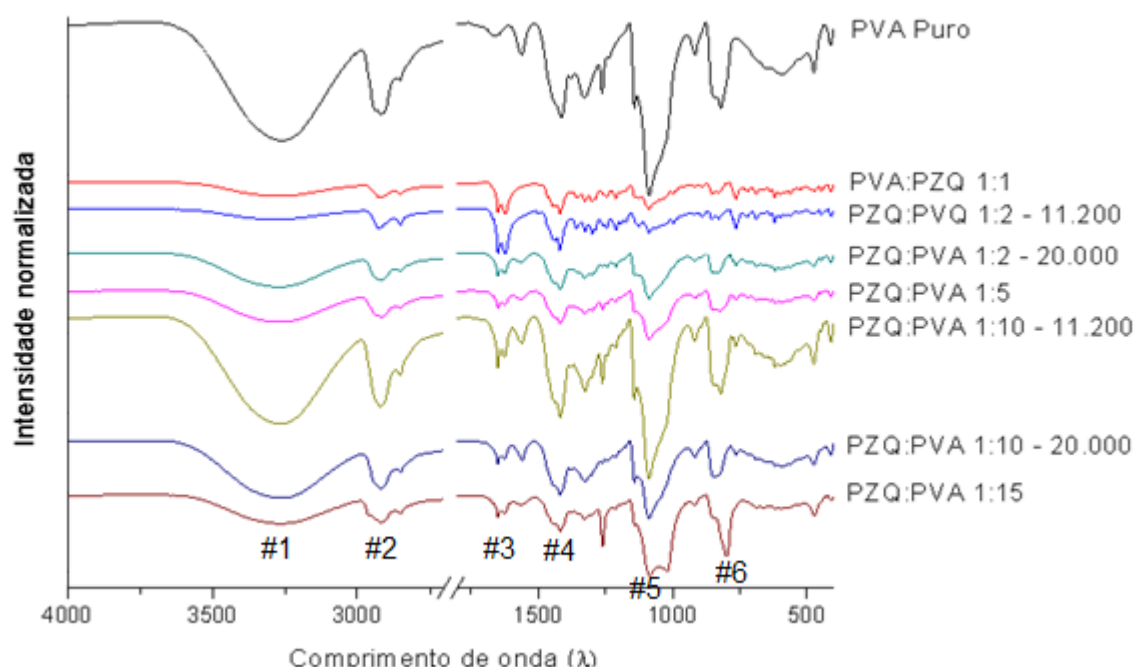


FIGURA 4.2: Espectros de transmitância no infravermelho das membranas e do PVA puro.

A banda vibracional entre 3000 e 2800 cm^{-1} (#2) é atribuída às deformações simétricas e assimétricas axiais da ligação C–H dos grupos alquil CH_2 e CH_3 . Os picos observados entre 1800 a 1500 cm^{-1} (#3) são devido ao forte estiramento dos grupos acetato (C=O) remanescentes do PVAc e das carboxilas presentes no PZQ [DAMETTO, 2017]; o espectro mostra duas bandas nessa região que existem por conta do estiramento desses grupos, tanto do acetato quanto do PZQ. É possível notar que para as DSs (Figura 4.3) a intensidade dessas bandas diminui com a diminuição da porcentagem de PZQ nas amostras.

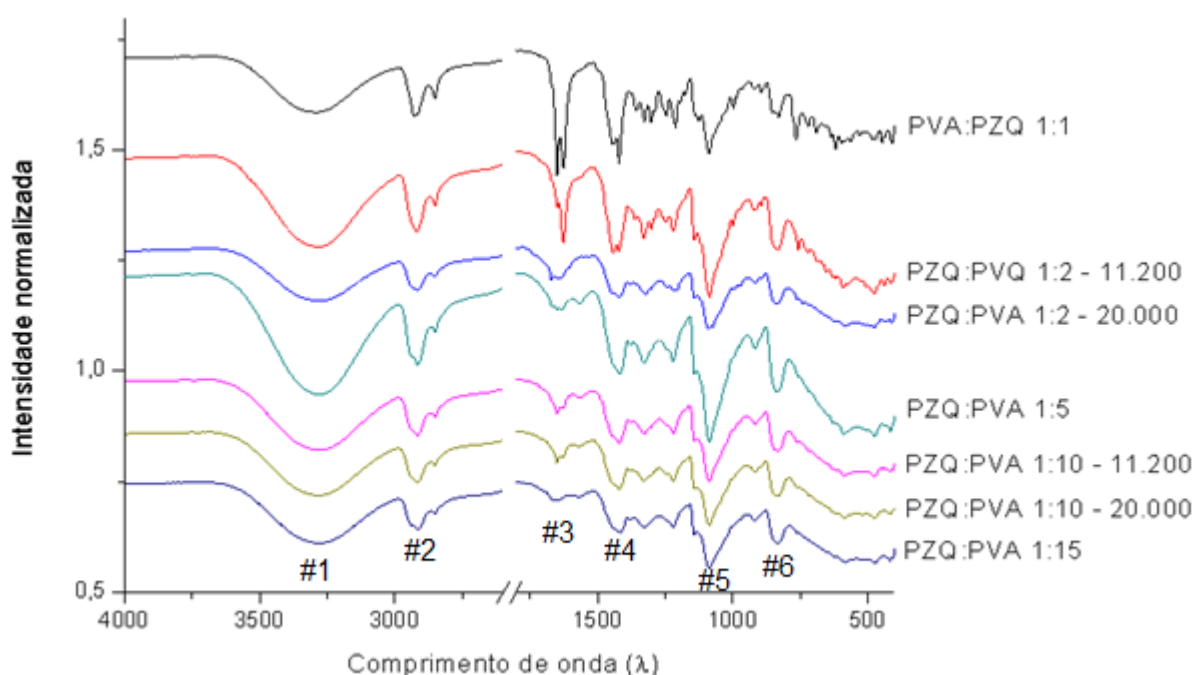


FIGURA 4.3: Espectros de transmitância no infravermelho das DSs.

Entre 1500 e 1400 cm^{-1} (Figura 4.2 #4) está o estiramento C=C do anel aromático presente na molécula do medicamento. Quanto maior a porcentagem de medicamento presente na amostra, maior é a banda. As bandas entre 900 e 750 cm^{-1} (#6) são devidas às deformações das ligações C–H e de um dos anéis presente no PZQ [DAMETTO, 2017]. Nas membranas (Figura 4.2) é possível notar que quanto maior a presença de PZQ menor a intensidade da banda de movimentação das ligações C–H presentes nos anéis, sugerindo que a interação entre a matriz polimérica e o medicamento é dada através de interações com esses

anéis. Já para as DSs não é nítida a mudança entre as proporções polímero-medicação analisadas.

A banda em 1100 cm^{-1} (Figura 4.2 #5) é característica da ligação C–O do PVA que diminui com a presença do PZQ, evidenciando uma mudança nessa ligação nas membranas. Para as DSs não é observada mudança tão drástica. A banda por volta de 800 cm^{-1} (Figura 4.2 #6) diminui com o aumento da porcentagem de medicamento por conta da diminuição da fase amorfa [PEPAS, 1977] onde o medicamento está presente. No entanto essa mudança só é notada nas membranas (Figura 4.2), mas não nas DSs (Figura 4.3).

Na região entre 1600 e 1000 cm^{-1} podem existir bandas sobrepostas reflexo do estiramento simétrico e assimétrico do grupo C–O–C. A Figura 4.4 mostra o espectro de infravermelho do PZQ puro.

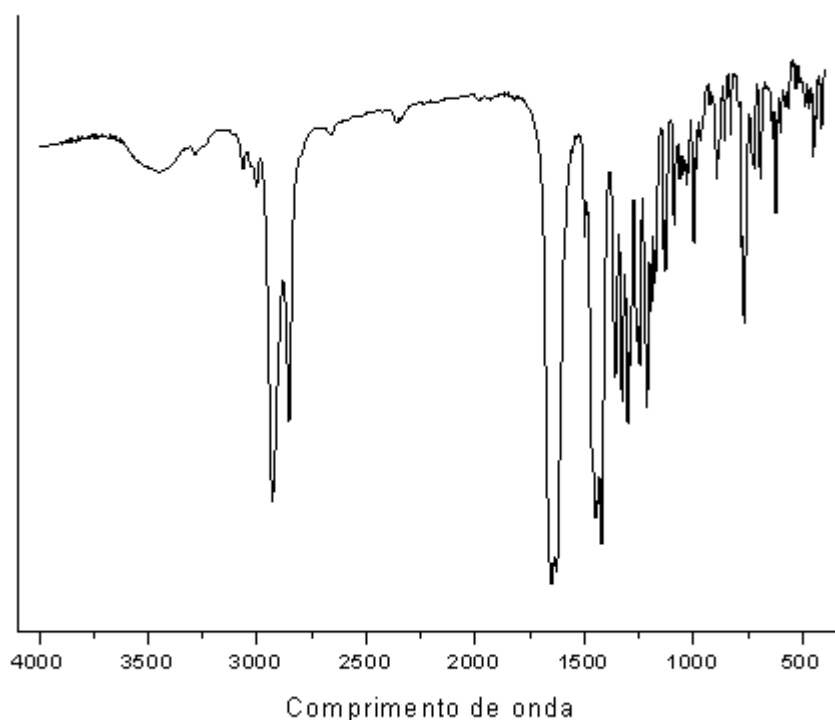


FIGURA 4.4: Espectro de transmitância no infravermelho do PZQ.

4.4 – Difração de raios X – DRX

As alterações no hábito cristalino e o grau de cristalinidade, tanto do PZQ quanto do PVA foram avaliados por DRX.

É possível notar (Figura 4.5) que o padrão de difração do PZQ apresenta muitos picos, confirmando a cristalinidade da amostra. A posição dos picos está de acordo com os padrões de difração da forma racêmica que foi estudada por Espinosa-Lara e colaboradores como pertencente ao sistema triclinico P-1 com quatro moléculas cristalograficamente independentes com conformação seno na unidade assimétrica [ESPINOSA-LARA, 2013]. Para o PVA, é possível notar os picos característicos em $2\theta = 19,5^\circ$ correspondente ao plano (1 0 1) e $2\theta = 20,1^\circ$ correspondente ao plano (1 0 $\bar{1}$) se sobrepõem a planos cristalinos do PZQ.

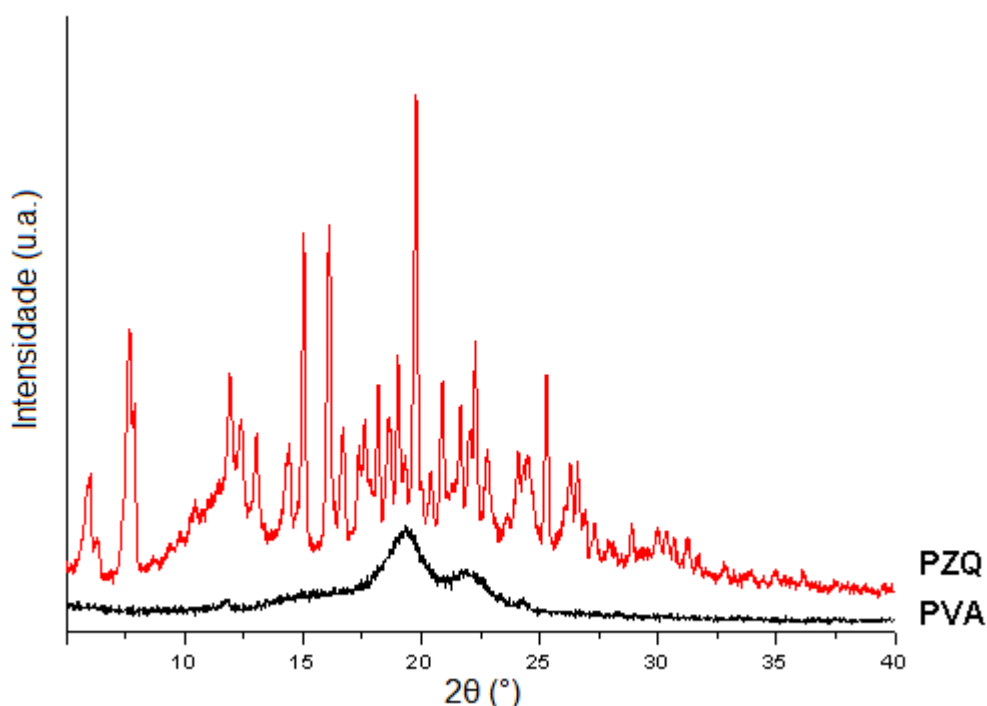


FIGURA 4.5: Difratogramas de uma membrana de PVA puro e do PZQ puro.

Através dos difratogramas para as membranas com diferentes porcentagens de PZQ (Figura 4.6) é possível observar a sobreposição de todos os picos presentes. É notável a diferença entre os picos para o polímero e o PZQ

puros, quando comparados aos picos das membranas, mostrando que há interferência entre o polímero e o medicamento mudando a rede cristalina de ambos. Também é possível notar a sobreposição dos picos característicos do PZQ quando sua porcentagem diminui nas membranas. Isso se deve à sobreposição dos picos do PVA, que ficam em maior evidência com o aumento da sua proporção nas amostras. Além disso, pode-se observar um crescimento preferencial em um plano (1 0 0) na rede cristalina do PVA evidenciada pelo pico em torno de $2\theta = 20^\circ$. Não há o surgimento de um novo plano, pois, como mostra a Tabela 4.2 mais adiante, o grau de cristalinidade das membranas não muda com as diferentes porcentagens de PZQ.

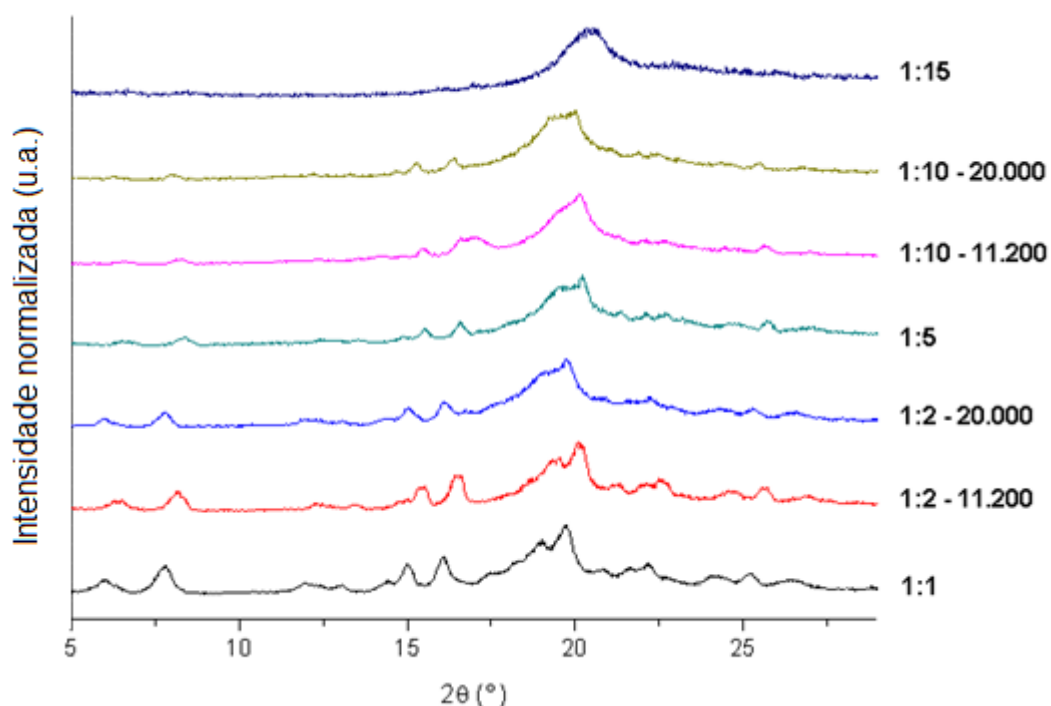


FIGURA 4.6: Difratogramas normalizados das membranas de PVA e PZQ com suas respectivas proporções (PZQ:PVA).

Através da Figura 4.7 podem ser vistos os difratogramas para algumas das DSs produzidas. Na DS com proporção 1:1 é possível notar vários picos do PZQ, mas com a diminuição da proporção do medicamento frente ao polímero nota-se uma diminuição na quantidade desses picos. Isso se deve à sobreposição dos picos

do PVA. O aumento do pico em torno de $2\theta = 12^\circ$ pode ser devido ao favorecimento da reflexão do plano (1 0 0) do PVA. Seria necessária uma análise de PVA puro no *spray dryer*.

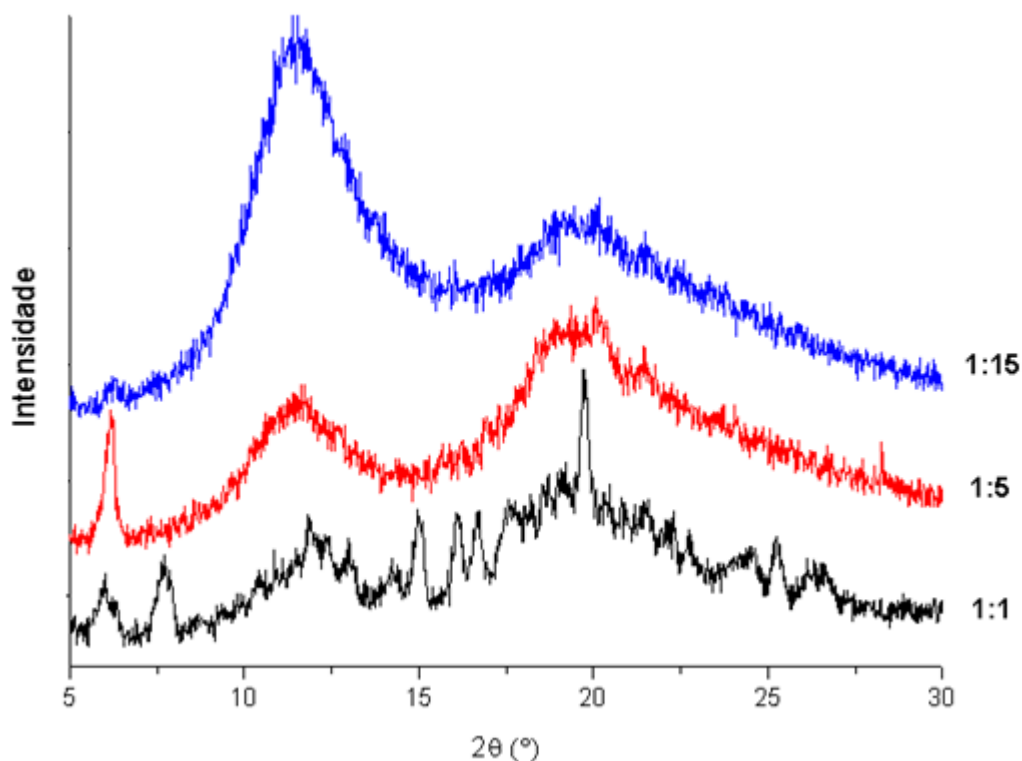


FIGURA 4.7: Difratogramas das DSs de PVA e PZQ com suas respectivas proporções (PZQ:PVA).

Estudos conduzidos por de la Torre e colaboradores [DE LA TORRE, 1999], mostram que DSs produzidas com pequenas porcentagens de PZQ mostram um padrão amorfo, porém a de proporção 1:1 apresentou um padrão diferente que pode ser atribuído às interações entre o polímero e o fármaco. Importante salientar que de la Torre produziu as DSs através de rotaevaporação com posterior moagem. O pó obtido foi peneirado para a obtenção de partículas com tamanhos entre 0,42 a 0,84 mm. O polímero utilizado por eles foi PVP.

4.5 – Análise de calorimetria diferencial exploratória – DSC

As análises de DSC foram utilizadas para estabelecer o grau de cristalinidade das amostras, além de ser possível o cálculo das entalpias de vaporização e de fusão cristalina da água contida na membrana e suas respectivas temperaturas de vaporização e fusão.

A Tabela 4.3 apresenta os parâmetros térmicos obtidos para as membranas produzidas com diferentes proporções de PZQ:PVA e com diferentes velocidades do Turrax.

TABELA 4.3: Parâmetros térmicos obtidos por DSC para as membranas.

Amostras	T_v (°C)	ΔH_v (J/g)	T_g (°C)	T_m (°C)	ΔH_m (J/g)	X_c
1:1	146,5 ± 1,8	52,9 ± 7,5	74,1 ± 2,2	231,0 ± 0,5	33,5 ± 3,9	44,7 ± 2,6
1:2 – 20.000	145,5 ± 0,9	62,2 ± 13,2	70,0 ± 1,5	227,9 ± 1,6	35,2 ± 3,9	35,6 ± 2,6
1:5	136,4 ± 4,7	44,2 ± 2,3	70,9 ± 0,1	225,2 ± 2,0	39,8 ± 1,8	32,0 ± 1,2
1:10 – 11.200	138,9 ± 7,5	70,6 ± 18,7	72,6 ± 4,2	227,4 ± 1,8	36,8 ± 5,9	27,0 ± 3,9
1:10 – 20.000	135,1 ± 4,3	48,7 ± 5,4	70,3 ± 3,2	228,1 ± 2,0	38,0 ± 3,0	27,8 ± 2,0
1:15	124,9 ± 6,3	7,5 ± 2,2	74,5 ± 1,6	221,7 ± 3,2	33,3 ± 1,6	23,6 ± 1,1
PVA puro	52,2 ± 0,8	6,0 ± 3,3	79,1 ± 1,1	230,2 ± 0,3	48,4 ± 5,2	32,3 ± 3,4

Não é possível analisar a temperatura de vaporização da água e sua entalpia, pois o pico do PZQ puro se dá neste mesmo intervalo de temperatura, como é possível observar através da Figura 8, havendo, portanto, uma sobreposição dos dados.

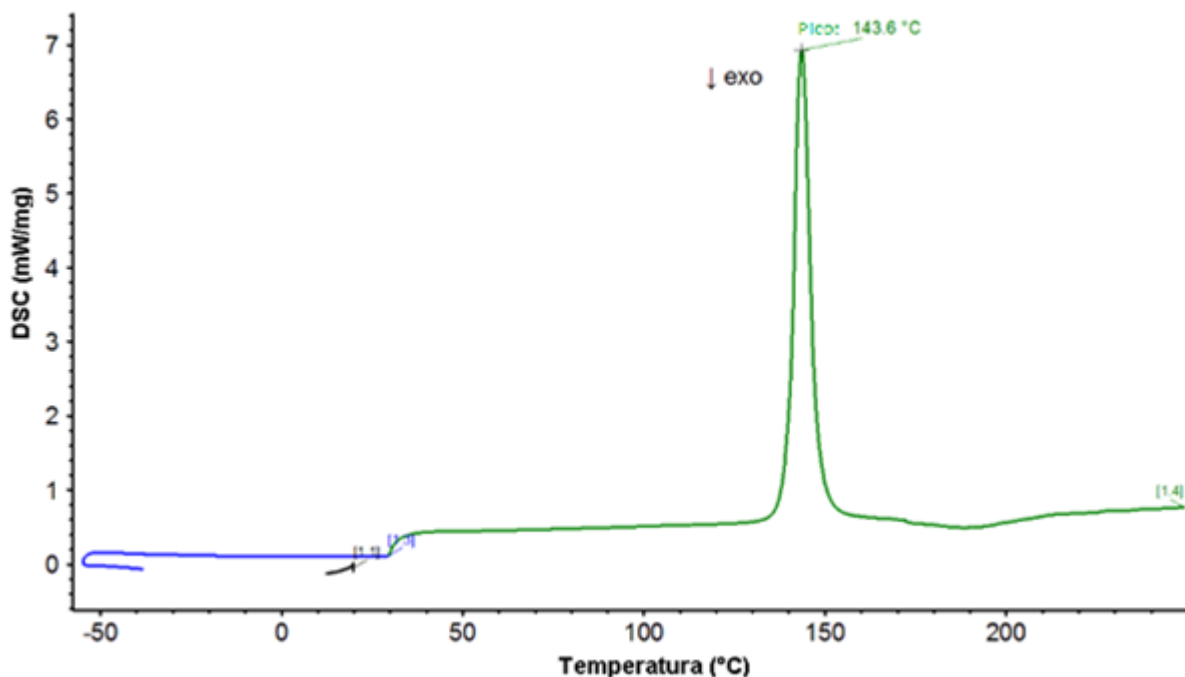


FIGURA 4.8: Curva de DSC para o praziquantel puro.

Entre as membranas, a T_g não se modifica com o aumento da quantidade de medicamento na amostra, porém quando se compara as amostras com a membrana de PVA puro é possível notar uma pequena diminuição na T_g . Portanto há uma diminuição na rigidez da fase amorfa nas amostras, ou seja, há um ligeiro aumento da mobilidade das cadeias poliméricas quando é adicionado o PZQ.

A temperatura de fusão cristalina não é alterada com as diferentes proporções de medicamento. Já o grau de cristalinidade diminui com o aumento do PVA na membrana. Os cálculos foram feitos levando-se em consideração a proporção mássica de PVA e PZQ utilizadas nas amostras.

Analisando a membrana 1:1 tem-se que o grau de cristalinidade é de 44,7%, ou seja, a presença do PZQ em maior quantidade, neste caso 50% da fração mássica é do medicamento, o grau de cristalinidade aumenta quando comparado com a membrana 1:15 que contém a menor quantidade de PZQ. Assim é possível notar que apesar de não se ter uma interação significativa entre o fármaco e o PVA visto que a T_m não se modifica, a maior quantidade de PZQ leva a um maior confinamento do PVA e esse confinamento leva a um maior grau de cristalinidade global observado, considerando-se que apenas a cristalinidade do PVA está sendo

observada. Também é possível observar que quanto maior o teor de PVA com as proporções utilizadas, o grau de cristalinidade diminui, pois com a dispersão maior do PZQ, este passa a ser um obstáculo na formação dos cristais.

Através da Tabela 4.4 é possível ver os parâmetros térmicos obtidos para as dispersões sólidas produzidas.

TABELA 4.4: Parâmetros térmicos obtidos por DSC para as dispersões sólidas.

Amostras	T _v (°C)		ΔH_v (J/g)	T _{pzq} (°C)	ΔH_{pzq} (J/g)	T _g (°C)	T _m (°C)	ΔH_m (J/g)	X _c
	Primeiro pico	Segund o pico							
1:1	46,9	74,3 ±	78,8 ±	135,9 ±	31,2 ±	79,8 ±	222,4 ±	30,0 ±	48,0 ±
		3,1	24,7	0,4	1,4	1,0	0,9	0,5	0,3
1:2 – 11.200	–	85,4 ±	120,5 ±	129,2 ±	2,3 ±	79,4 ±	222,4 ±	41,9 ±	42,3 ±
		0,2	12,7	0,3	0,0	3,5	0,1	1,1	0,7
1:2 – 20.000	–	82,4 ±	133,0 ±	147,6 ±	7,1 ±	84,6 ±	215,2 ±	33,6 ±	33,9 ±
		4,5	13,0	0,4	1,8	0,6	0,9	2,0	1,3
1:5	–	79,3 ±	133,1 ±	141,7 ±	0,9 ±	80,6 ±	223,6 ±	42,7 ±	34,3 ±
		8,4	14,3	0,3	0,4	1,0	0,8	0,4	0,2
1:10 – 11.200	55,2	82,6 ±	121,9 ±	–	–	81,2 ±	223,3 ±	44,5 ±	32,6 ±
		3,3	25,6	–	–	0,5	0,1	1,0	0,7
1:10 – 20.000	52,4 ±	77,8 ±	94,4 ±	–	–	82,7 ±	223,8 ±	43,6 ±	33,9 ±
		4,6	7,1	13,7	–	–	2,0	1,1	1,7
1:15	–	80,6 ±	114,6 ±	141,1	1,3	83,2 ±	224,0 ±	47,4 ±	33,6 ±
		7,1	31,6	–	–	0,2	0,6	3,3	2,2

A temperatura de fusão cristalina não é alterada com o aumento da quantidade de PZQ presente na amostra, indicando que não há interação medicamento-polímero no nível das lamelas cristalinas. É notável que quanto menor a quantidade de medicamento maior a entalpia de fusão cristalina, porém quando se faz o cálculo considerando-se apenas a quantidade mássica do PVA observa-se uma diminuição da cristalinidade da matriz polimérica. Assim, pode-se notar que quanto mais disperso o PZQ está na amostra, maior a dificuldade de o PVA

cristalinizar no estado sólido. É importante notar que as dentre as amostras 1:2 a cristalinidade diminui significativamente quando se aumentam as rotações no homogeneizador Turrax, indo de 42,3 para 33,9, ou seja, a velocidade do Turrax se mostra significativa no aumento do grau de dispersão do PZQ na matriz polimérica previamente à passagem da amostra pelo spray dryer e obtenção das dispersões sólidas finais. Já quando se tem uma menor quantidade de medicamento (na amostra 1:10) e, assim, uma maior dispersão do medicamento no PVA, o grau de cristalinidade praticamente não muda (32,6 e 33,9 com o aumento de 11.200 para 20.000 rpm, respectivamente, ficando dentro da margem de erro). Isso mostra que o histórico de processamento é importante nestes casos.

Outra coisa importante a se notar é o aparecimento de um novo pico, aqui chamado de T_{PZQ} , que só não é visível para ambas as amostras com proporção de 1:10. Pode-se notar que a entalpia diminui drasticamente da amostra mais concentrada para as menos concentradas, pois tem-se menor quantidade de medicamento. Esse é o pico característico da fusão cristalina do PZQ como pode ser visto na Figura 4.8. Segundo dados da literatura a temperatura de fusão do PZQ deve estar entre 136 e 142 °C [COSTA, 2016]. Salazar-Rojas ao estudar termogramas do PZQ observou que a forma cristalina apresenta um pico em 144°C correspondente ao seu ponto de fusão [SALAZAR-ROJAS]. Nota-se uma pequena variação para mais e para menos nas amostras 1:2 20.000 e 11.200 rpm, respectivamente. Porém não é possível afirmar que a velocidade do Turrax modifica a rede cristalina do medicamento, pois os picos não são observados para as amostras 1:10 que também foram processadas desta forma. Segundo Costa e colaboradores [COSTA, 2016] a diminuição da área do pico endotérmico é uma consequência da diluição do PZQ na amostra, não da presença de PZQ amorfo.

Não é observada modificação na T_g entre as DSs preparadas, porém quando comparada com a T_g das membranas há uma diferença de aproximadamente 10 °C. Nas membranas a T_g varia entre 70–75 °C e nas DSs essa variação ocorre entre 80–85 °C.

É essencial lembrar que diferenças de 5 °C estão dentro do erro do equipamento. Como para a produção das DSs a secagem da amostra é feita mais rapidamente do que nas membranas existe uma menor restrição da mobilidade do

PVA e do PZQ, aumentando o grau de cristalinidade das amostras e, conseqüentemente, aumentando a rigidez da fase amorfa.

4.6 – Determinação do estado da água no interior das membranas

É interessante estudar a água presente nas membranas, pois elas podem interagir de diferentes formas com o polímero. Uma forma simples de verificar essas interações é através de uma análise de DSC.

Essa água pode estar livre ou associada ao polímero. A água livre é a que incha a matriz, possuindo características físico-químicas equivalentes à água pura que funde a 0°C. Existem também as chamadas águas primárias e secundárias. A água primária é a água que interage primeiramente com a hidroxila pertencente à matriz (Figura 4.9), essa água acaba perdendo as características físico-químicas da água pura e não congela. A água secundária congela, porém, possui características diferentes das águas primária e livre, pois ela interage através de ligações hidrogênio com a água primária formando uma segunda camada de solvatação, por isso essa pode ser chamada de água solvatada.

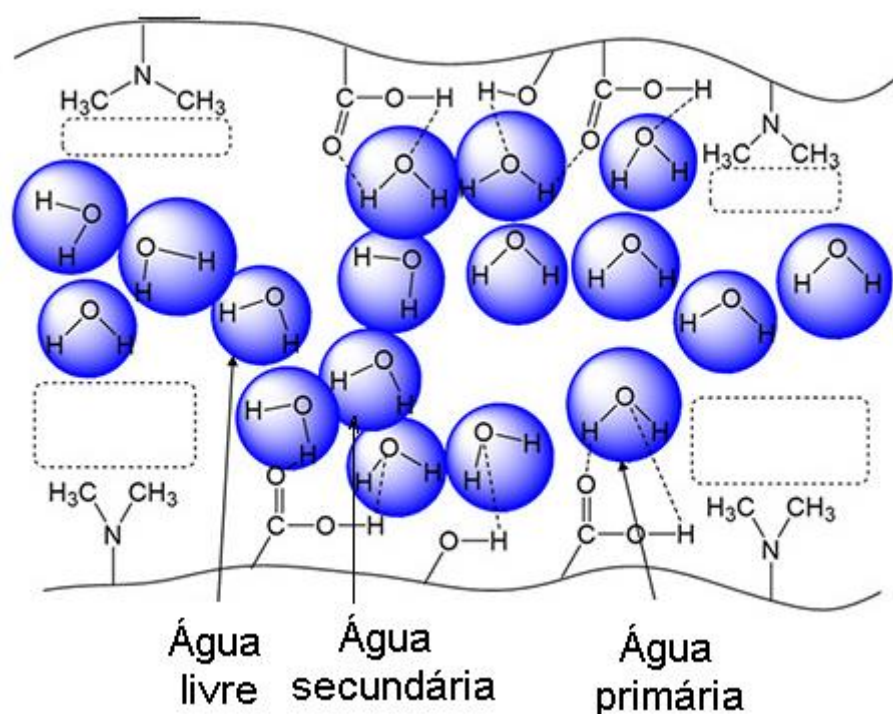


FIGURA 4.9: Estruturas das águas de hidratação [adaptado de BHAT, 2019].

Os resultados obtidos para as membranas são mostrados na Tabela 4.5. As amostras foram feitas em triplicata.

TABELA 4.5 Dados sobre o estado da água nas membranas.

Amostra	Temperaturas dos picos (°C)			Entalpia (J g ⁻¹)	Teor de água secundária (%)
	Pico 1	Pico 2	Pico 3		
1:1	–	0,9 ± 0,1	4,9 ± 0,8	154,9 ± 3,4	102,5
1:2 – 20.000	-3,1 ± 0,1	0,5 ± 0,2	3,2 ± 0,7	126,8 ± 8,0	103,7
1:5	-1,7 ± 0,1	0,4 ± 0,1	2,8 ± 0,2	136,5 ± 7,9	117,3
1:10 – 11.200	-4,0 ± 0,3	0,4 ± 0,1	1,9 ± 0,5	116,4 ± 3,2	96,4
1:10 – 20.000	-1,9 ± 0,6	0,4 ± 0,1	2,1 ± 0,1	147,0 ± 4,9	138,6
1:15	-1,6 ± 0,9	0,7 ± 0,1	2,2 ± 0,5	129,5 ± 3,7	99,2
PVA puro	–	-0,4	0	163,7	279,6

As temperaturas dos picos evidenciam a presença de água secundária e água de inchamento nas amostras. Em quase todos os casos é possível observar três picos, evidenciando um terceiro tipo de água provavelmente resultado da interação entre o PZQ e a água. Para essas amostras acontece o mesmo apresentado anteriormente: as entalpias diminuem em comparação com o PVA puro evidenciando menor quantidade de água livre nas membranas. O teor de água secundária diminui consideravelmente quando comparado com a amostra de PVA puro o que evidencia uma maior interação entre o PVA e o PZQ deixando as hidroxilas do polímero menos disponíveis para a interação com a água.

4.7 – Análise termogravimétrica – TGA

Como pode-se observar através da Figura 4.10, as amostras possuem três estágios de decomposição. O primeiro estágio, entre 50 e 200°C, é devido à perda de umidade da membrana. O segundo estágio, entre 200 e 400°C, é resultante da desidratação do PVA. A Figura 4.12 apresenta a reação de desidratação. O terceiro estágio, acima de 400°C é associado à decomposição, principalmente de hidrocarbonetos (alcanos e alcenos).

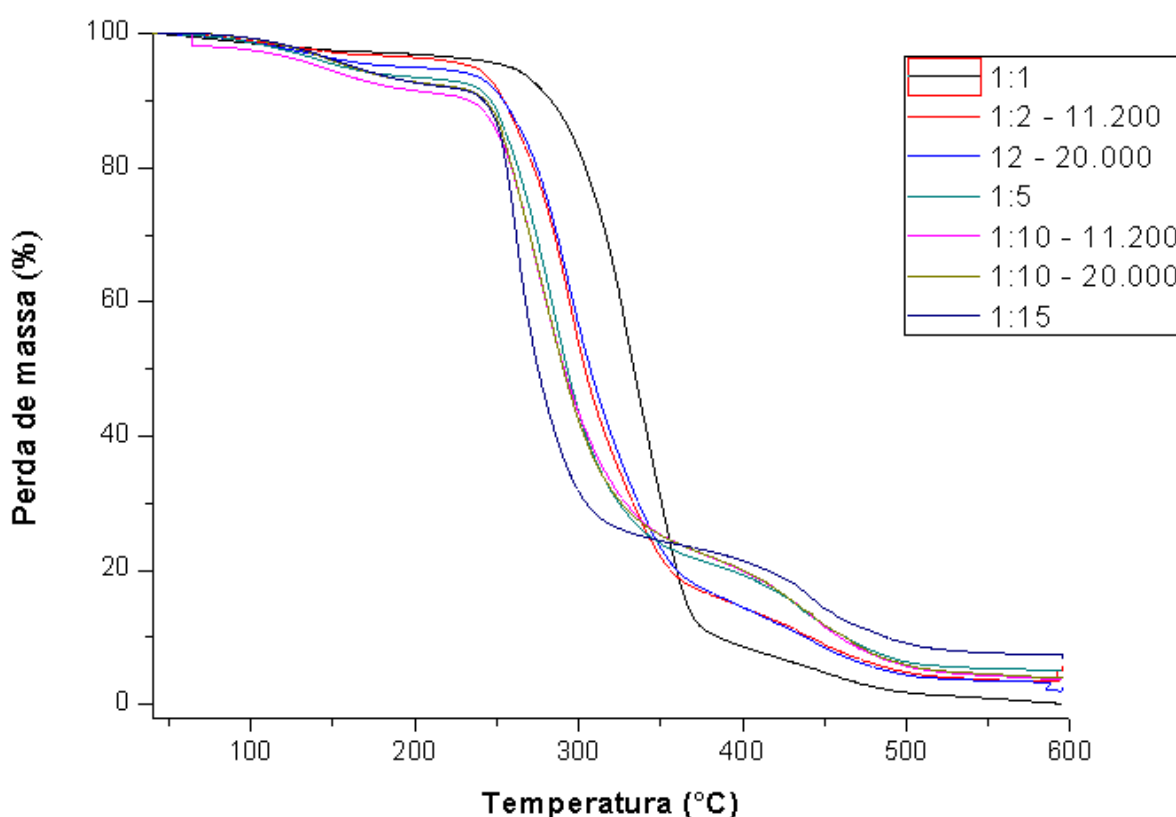


FIGURA 4.10: Curvas de TGA das membranas – proporções de PZQ:PVA.

É possível notar que as amostras possuem um perfil de decomposição parecido, a amostra com maior diferença é a que possui mesmas proporções de polímero e medicamento, mas ainda assim apresenta os três estágios comentados.

Já a Figura 4.11 mostra as curvas para as amostras de PZQ e PVA puras e a DS 1:1 produzida. É notável que tanto a DS quando o PVA possui três estágios de decomposição, mas o PZQ possui apenas dois. Isso se dá devido ao

PZQ ser anidro e não possuir a etapa de perda de umidade, como pode ser visto na Tabela 4.6.

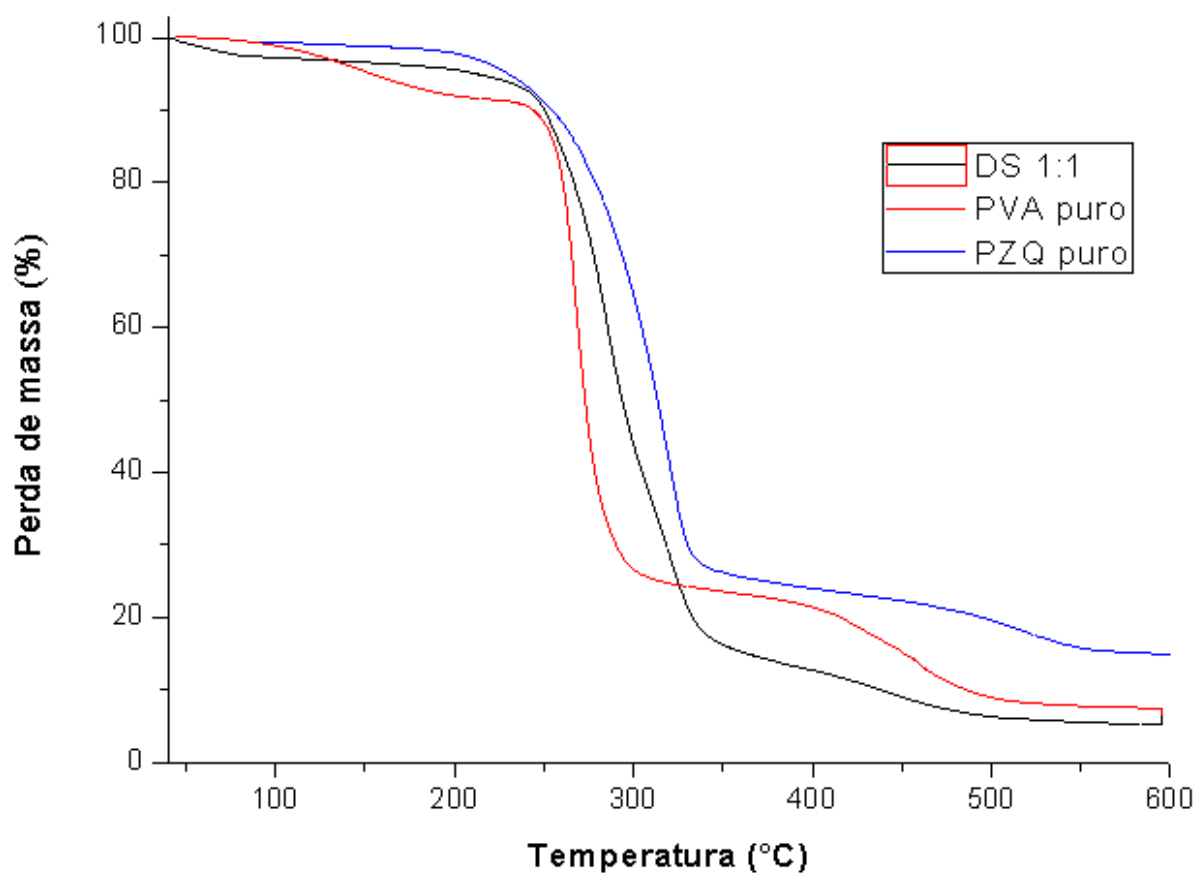


FIGURA 4.11: Curvas de TGA para a DS, o PZQ puro e o PVA puro.

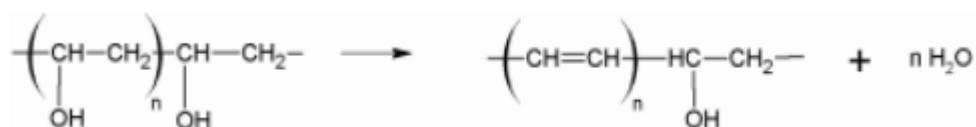


FIGURA 4.12: Mecanismo de desidratação do PVA [FINCH, 1973].

A Tabela 4.6 mostra a perda de massa das membranas com relação às proporções utilizadas de PZQ:PVA.

TABELA 4.6: Perda de massa das membranas.

Amostra	Perda de umidade (%)	Desidratação do PVA (%)	Degradação de hidrocarbonetos (%)	Resíduo (%)
1:1	2,2 ± 0,1	91,0 ± 0,1	4,6 ± 0,2	0,2 ± 0,1
1:2 – 11.200	2,9 ± 0,3	81,4 ± 0,4	11,0 ± 0,1	0,5 ± 0,2
1:2 – 20.000	4,8 ± 0,9	80,9 ± 1,9	11,0 ± 1,2	2,5 ± 0,8
1:5	6,3 ± 1,3	73,3 ± 0,9	15,3 ± 0,8	1,2 ± 0,9
1:10 – 11.200	6,4 ± 1,9	69,2 ± 3,7	18,8 ± 3,3	4,2 ± 2,3
1:10 – 20.000	7,1 ± 0,2	71,2 ± 0,6	17,7 ± 1,3	3,7 ± 2,0
1:15	7,0 ± 0,4	68,7 ± 1,3	16,9 ± 0,1	1,0 ± 0,5
PVA puro	8,1 ± 0,3	68,4 ± 1,2	16,1 ± 0,5	1,0 ± 1,1
PZQ puro	–	74,3*	10,6	13,6
DS PVA + PZQ 1:1	3,7 ± 0,2	82,3 ± 1,8	8,9 ± 0,4	2,0 ± 1,0

*Neste caso não é a desidratação do PVA e sim o começo da degradação do PZQ que está nesta mesma faixa de temperatura.

É possível notar um aumento da perda de umidade com a diminuição da proporção de PZQ na amostra e mesmo quando comparada a amostra 1:15 com PVA puro, nota-se uma diferença de cerca de 1% nesta perda. Isso se deve pela interação do PZQ com o PVA se dar através das hidroxilas disponíveis no polímero fazendo com que as amostras possuam uma menor área disponível para o contato com a água diminuindo, assim, a perda de umidade.

Já para a decomposição do PVA há uma diminuição com a diminuição da proporção do medicamento na amostra. Aqui a faixa de desidratação polimérica condiz com a faixa de decomposição do PZQ utilizado. Como é possível observar na Figura 4.11, a faixa de decomposição do PZQ começa por volta de 200 °C e vai até 550 °C e sua maior decomposição (74,3%) se dá na faixa de 200–350 °C. Borrego-Sánchez e colaboradores obtiveram apenas uma grande perda de massa para o PZQ começando em 200°C e terminando em 422°C, o que é atribuído à sua decomposição [BARREGO-SÁNCHEZ, 2018].

Portanto, quanto menor a quantidade de PZQ na amostra menor a porcentagem de “desidratação do PVA”, que na verdade é o começo da decomposição do medicamento. A decomposição dos hidrocarbonetos segue o mesmo princípio descrito anteriormente, porém essa é a faixa de maior porcentagem de decomposição do PVA e, portanto, é menor na proporção 1:1 e praticamente não muda para as outras proporções. Neste caso a avaliação dos resíduos não é efetiva, pois as análises não são feitas completamente em ar sintético e a taxa de aquecimento é apenas exploratória.

Através da Tabela 4.7 é possível observar as temperaturas a 10 e 50% de decomposição das amostras além dos Onsets e da derivada da TG (DTG).

TABELA 4.7: Temperaturas a 10 e 50% de degradação da amostra, onset das decomposições e a derivada da TG (°C).

Amostra	T 10%	T 50%	Onset 1	Onset 2	DTG
1:1	280,0 ± 4,7	331,4 ± 5,9	293,3 ± 46,6	421,6 ± 40,2	331,9 ± 7,2
1:2 – 11.200	254,8 ± 2,7	303,9 ± 2,6	261,9 ± 4,2	419,1 ± 34,0	295,0 ± 1,5
1:2 – 20.000	254,8 ± 2,5	306,1 ± 3,1	266,6 ± 2,3	398,2 ± 25,6	297,1 ± 4,6
1:5	246,0 ± 3,8	293,1 ± 3,4	253,5 ± 1,8	356,4 ± 65,5	283,6 ± 1,8
1:10 – 11.200	233,6 ± 9,5	291,0 ± 3,8	250,7 ± 1,8	408,2 ± 21,7	269,6 ± 10,4
1:10 – 20.000	243,3 ± 1,4	291,2 ± 5,6	248,7 ± 0,8	411,7 ± 26,1	275,3 ± 9,4
1:15	242,0 ± 2,4	275,2 ± 2,0	255,2 ± 3,6	424,7 ± 5,8	260,9 ± 1,4
PVA puro	243,8 ± 2,2	272,7 ± 1,7	261,3 ± 2,4	413,6 ± 12,3	268,5 ± 2,3
PZQ puro	253,7 ± 0,8	310,3 ± 3,2	284,9 ± 5,8	-	320,6 ± 2,9
DS PVA + PZQ 1.1	224,2 ± 37,2	289,6 ± 5,9	258,7 ± 1,3	351,4 ± 16,2	288,3 ± 2,9

As temperaturas de decomposição das amostras em 10 e 50% de perda de massa mostram que quando maior a quantidade de medicamento, maiores são essas temperaturas, evidenciando uma maior estabilidade térmica para amostras com maior proporção de PZQ. Essas temperaturas são maiores do que as amostras puras, mostrando que realmente há uma forte interação entre o polímero e o medicamento.

Já os *onsets* permanecem os mesmos. Os erros estão muito altos e isso pode ser devido a esta faixa ser a faixa de decomposição do medicamento.

As derivadas (DTG) das amostras diminuem com a diminuição da do PZQ nas amostras. Da amostra 1:1 para as amostras 1:2 há uma diminuição significativa e dessas para as outras amostras também, porém entre as membranas com proporções 1:5 e 1:10 e 1:15 as derivadas são praticamente as mesmas, as diferenças ficam dentro dos erros. Isso mais uma vez evidencia uma mudança na estabilidade térmica das amostras; quanto maior a quantidade de medicamento na membrana, maior a estabilidade térmica do material.

Já para dispersão sólida analisada, quando os parâmetros são comparados com os da membrana na mesma proporção (1:1), todos diminuem evidenciando perda na estabilidade térmica do material.

4.8 – Medidas de inchamento das membranas em fluido plasmático simulado (SBF)

Para avaliar a possibilidade de utilização dos hidrogéis produzidos em sistemas de liberação controlada, foram realizadas análises de inchamento em fluido plasmático simulado (SBF – Simulated body fluid). O SBF é uma solução com concentração iônica próxima à do plasma sanguíneo humano, à temperatura de 36,7°C e pH de 7,35, que foi primeiramente produzida por Kokubo e colaboradores [KOKUBO, 1991] para avaliar alterações e reações deste em uma superfície de vidro cerâmico bioativo.

A Figura 4.13 apresenta a média das triplicatas obtidas para as membranas.

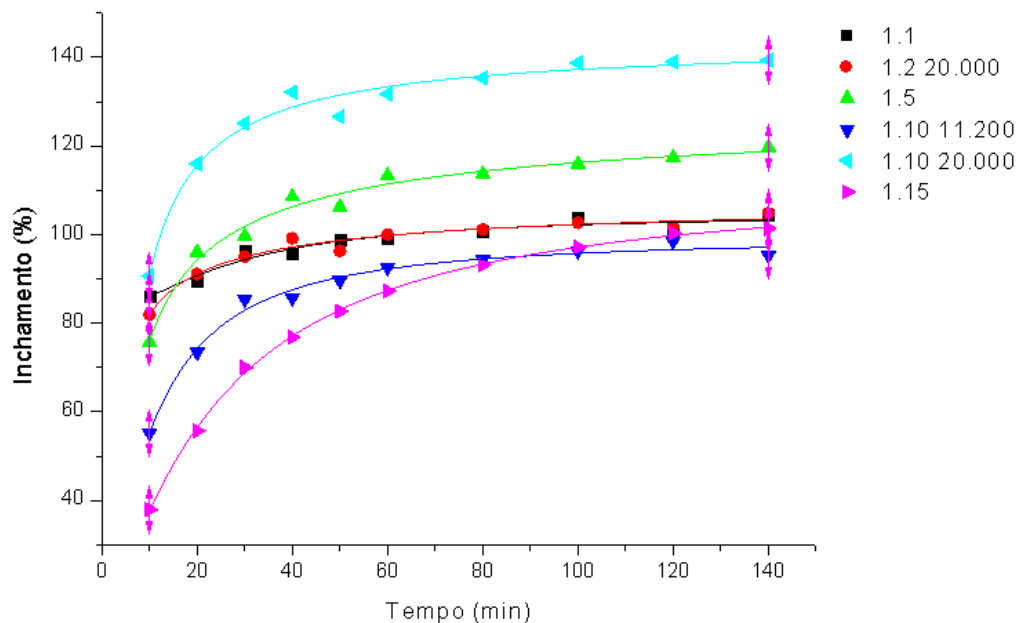


FIGURA 4.13: Cinética de inchamento das membranas com proporções de PZQ:PVA respectivamente.

As amostras 1:1 e 1:15 (PZQ:PVA) apresentam praticamente o mesmo inchamento. A tendência é observada por conta das amostras 1:2 (11.200 rpm) e 1:10 (20.000 rpm) que possuem um inchamento maior do que as outras que ficam em torno de 100%.

TABELA 4.8: Porcentagem de inchamento das membranas.

Amostra	Inchamento (%)
1.1	102,9
1.2 11.200	201,2
1.2 20.000	103,0
1.5	117,6
1.10 11.200	96,7
1.10 20.000	139,0
1.15	99,6

Em trabalho anterior realizado pela aluna [Silva, 2015], o resultado obtido para membrana de PVA puro foi de 264%. Neste trabalho, diferentes

porcentagens de sepiolita foram utilizadas para observar se a argila interferia no inchamento das membranas e foi observado que o inchamento diminuía com o acréscimo de argila, ou seja, esta era um obstáculo para a interação entre o SBF e a matriz polimérica.

Como observado na sessão 4.5, o grau de cristalinidade da amostra não se modifica drasticamente, portanto o medicamento é um obstáculo para a interação da matriz polimérica e o SBF por diminuir os caminhos difusionais na membrana.

4.9 – Ângulo de contato com água

Para entender se a molhabilidade das amostras diminuiu ou aumentou com a adição do PZQ, foram feitos experimentos de ângulo de contato com a água. Esses testes só foram possíveis com as membranas, pois com as DSs a água era totalmente absorvida não havendo tempo para o cálculo do ângulo.

Martínez e colaboradores [MARTÍNEZ, 2020] demonstram que o ângulo de contato de um pellet de PZQ produzido por eles foi de $83^\circ \pm 2^\circ$ com a água.

Para garantir que a rugosidade das membranas não interferisse nos resultados, foi utilizado o lado liso de todas as amostras. Os valores obtidos estão representados na Figura 4.14.

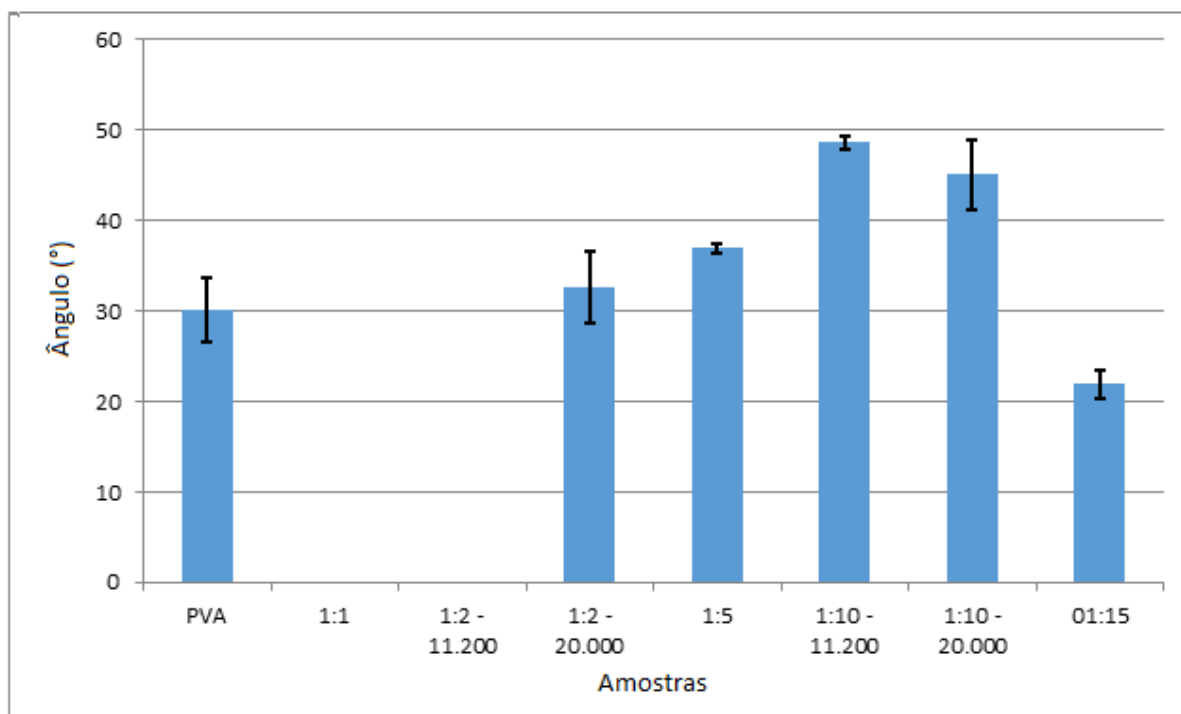


FIGURA 4.14: Valores obtidos através dos dados de ângulo de contato com a água para as membranas produzidas.

A membrana de PVA puro apresentou um ângulo de $30,1^\circ \pm 3,6^\circ$. Em estudos conduzidos por Penkova e colaboradores [PENKOVA, 2014] o ângulo de contato da membrana de PVA puro com a água foi de $66^\circ \pm 3^\circ$ provavelmente por se tratar de um PVA com menor grau de hidrólise (maior quantidade de PVAc na amostra). Com a adição do PZQ na mesma proporção de PVA na membrana, ou seja, 1:1, a água foi absorvida muito rapidamente, não sendo possível o cálculo do ângulo. Isso demonstra um aumento na hidrofobicidade e, conseqüentemente, na molhabilidade da amostra. O mesmo aconteceu para a amostra com proporção 1:2 e 11.200 rpm no Turrax. Já para a amostra com essa proporção, porém a 20.000 rpm o ângulo foi de $32,6^\circ \pm 3,9^\circ$, ou seja, como percebido na sessão 4.5, o histórico de processamento modifica as propriedades das membranas. Para as amostras 1:10 a diferença da velocidade do Turrax não influi na molhabilidade final das amostras visto que a que foi produzida a 11.200 rpm apresentou um ângulo de $48,6^\circ \pm 0,6^\circ$ e a produzida com 20.000 rpm $45,1^\circ \pm 3,8^\circ$. Essas são as duas amostras com maiores ângulos dentre todas as membranas produzidas. Neste caso o PZQ aumentou a hidrofobicidade das amostras, diminuindo a molhabilidade das mesmas. Esse fato pode ser melhor visualizado na Figura 4.15, que apresenta as imagens das gotas

obtidas para cada teste feito. A amostra 1:15 é a que contém maior porcentagem de PVA dentre todas as membranas produzidas. Neste caso é possível notar que uma pequena quantidade de medicamento (6,25%) diminui o ângulo de contato para $21,9^\circ \pm 1,5$ de no mínimo $3,1^\circ$ e no máximo $13,3^\circ$ com relação à amostra de PVA puro.

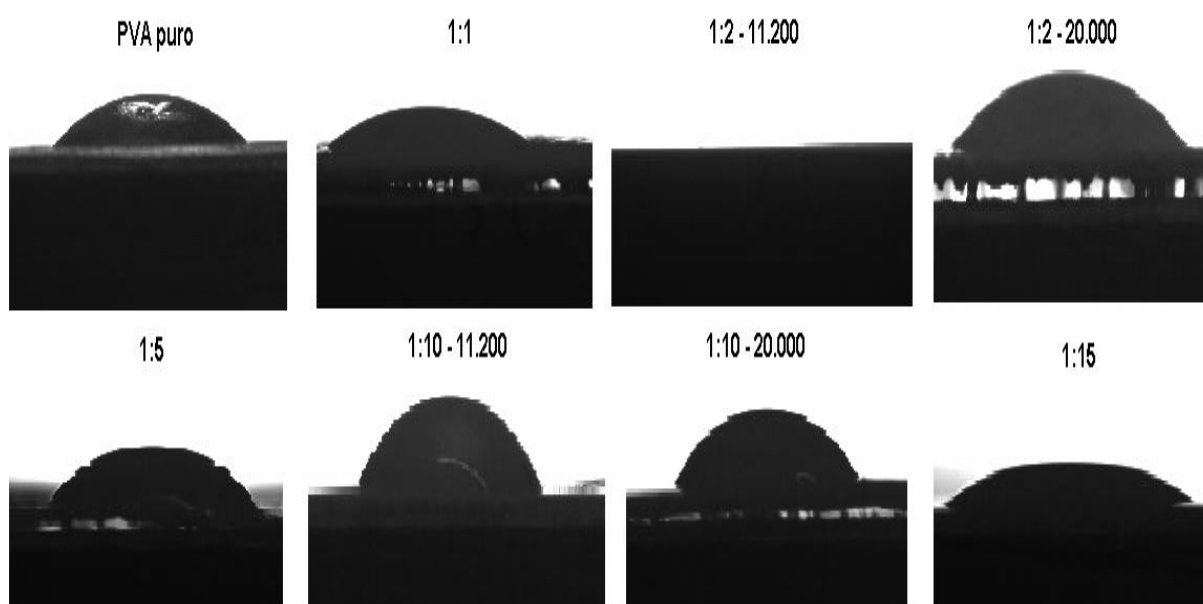


FIGURA 4.15: Imagem real das gotas obtidas através do ângulo de contato das amostras com a água.

4.10 – Espalhamento de luz dinâmico (DLS – Dynamic Light Scattering) – Tamanho de partícula

Técnica utilizada para determinar o perfil de distribuição do tamanho de partículas em suspensão a partir do movimento Browniano apresentado por elas. O movimento é modelado pela Equação 17 de Stokes-Einstein, ligando o coeficiente de difusão de translação medido (D_t) ao diâmetro hidrodinâmico (tamanho) da partícula (D_h).

$$D_h = \frac{k_b T}{3 \pi \eta D_t} \quad (17)$$

onde k_b é o coeficiente de Boltzmann, T é a temperatura e η é a viscosidade dinâmica. Importante ressaltar que os dados medidos são de intensidade de luz e as outras medidas são oferecidas pelo software e feitas a partir dessa intensidade.

Foram feitos três experimentos com a dispersão sólida 1:1 produzida. O primeiro teste foi feito em clorofórmio e o resultado é apresentado na Figura 4.16.

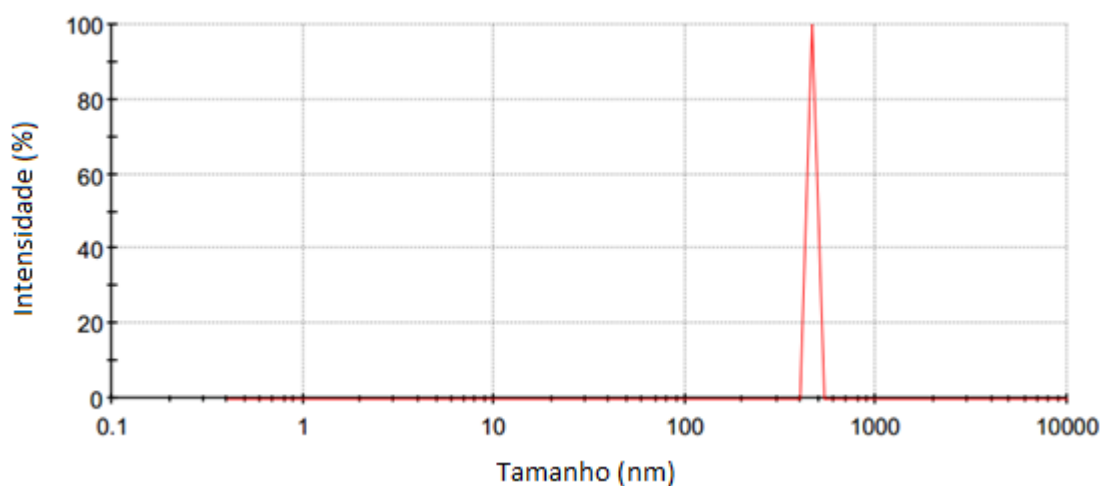


FIGURA 4.16 Curva de distribuição de tamanho de partícula da DS 1:1 em clorofórmio.

O pico de intensidade na Figura 4.16 corresponde a 458,7 nm, porém a média de tamanhos apresentada pelo software é de 3381 nm. O equipamento utilizado consegue medir com precisão partículas de 1 nm até 1 μm , podendo chegar até os 10 μm com menor precisão. Para este experimento o erro de ajuste, que deve ser próximo de zero para denotar uma boa qualidade da medida, estava em 1, ou seja, a medida não era suficientemente boa. Então todo o processo foi repetido colocando-se a amostra por 10 minutos no ultrassom para ver se o erro tinha a ver com aglomerados ou clusters formados durante a secagem. Foi-se obtida a curva apresentada na Figura 4.17.

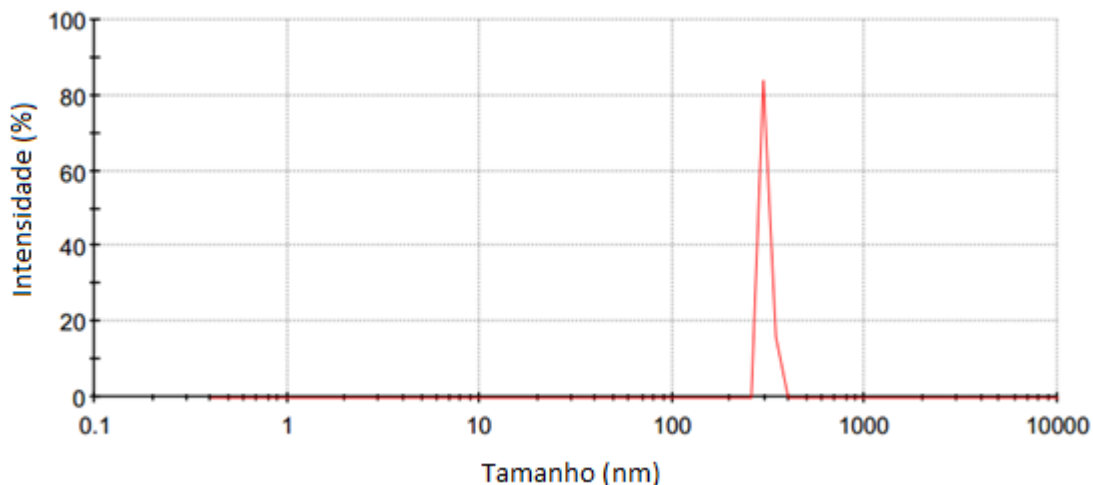


FIGURA 4.17: Curva de distribuição de tamanho de partícula da DS 1:1 em clorofórmio – segunda medida.

A amostra apresentou uma diminuição na média de tamanho. Neste caso o pico de intensidade aparece em 302,9 nm, contudo a média continua elevada e ainda maior do que na primeira medida (4270 nm) e o erro de ajuste continua em 1. Portanto foi decidido que seria necessário a troca de solvente para ver se o erro diminuiria. Dessa forma, o clorofórmio foi trocado por tolueno. A Figura 4.18 mostra a curva obtida.

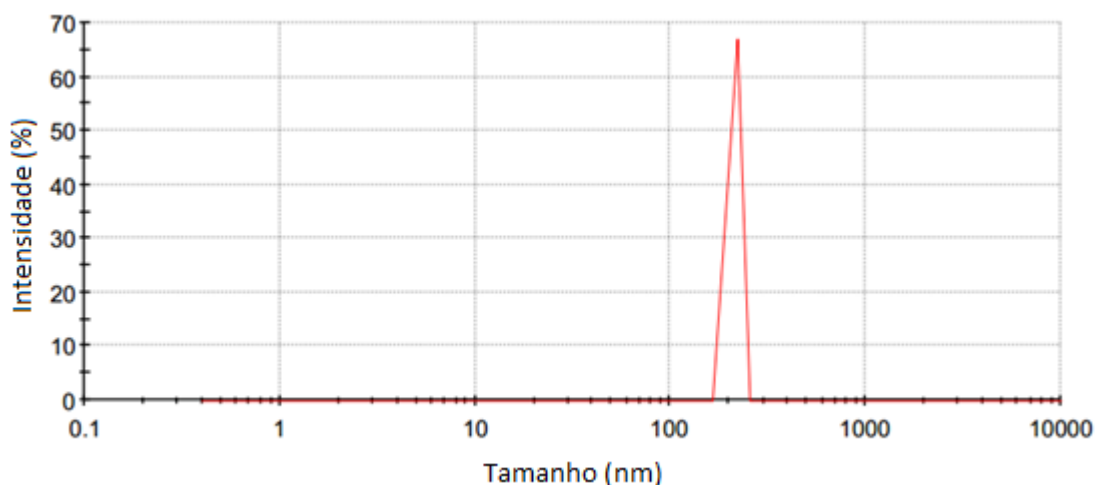


FIGURA 4.18: Curva de distribuição de tamanho de partícula da DS 1:1 em tolueno.

Neste caso o mesmo procedimento de colocar a amostra no ultrassom por 10 minutos foi feito e a intensidade do pico de tamanho de partícula diminuiu

ainda mais, foi para 210,2 nm. Entretanto a média aumentou para 5002 nm e o erro de ajuste continuou em 1.

Como o erro era muito grande, seria necessário que um experimento de imagem como, por exemplo, microscopia eletrônica de varredura fosse feito para a determinação do tamanho real da partícula. Lupu e colaboradores [LUPU, 2019] fizeram testes de tamanho de partícula de PZQ em suspensões de óleo de girassol, obtendo uma distribuição unimodal com média em torno de 267 nm. O mesmo artigo mostra que o óleo de rícino etoxilado é uma melhor opção para a estabilidade da nanopartícula.

4.11 – Ensaio de dissolução e análise do fármaco

4.11.1 – Membranas

As Tabelas 4.9, 4.10, 4.11 e 4.12 apresentam as massas de PZQ em miligramas obtidas para cada uma das soluções descritas acima. Importante ressaltar que não foi utilizada agitação mecânica ou magnética durante o processo de dissolução do fármaco.

De modo geral, para os pHs 1,2 e 4,5 a maior liberação foi para a amostra 1:1, o que está de acordo com o esperado visto que esta é a amostra com maior proporção e, desta forma, maior quantidade de medicamento. Já para o pH 5,5 é possível notar que a amostra 1:5 é a que libera maior quantidade de medicamento, porém isso só acontece na última alíquota. Para o pH 6,8 as amostras 1:2 – 20.000 rpm e 1:5 liberaram mais medicamento. Isso pode ter ocorrido devido ao inchamento da amostra, ao histórico de processamento ou a algum erro experimental durante o processo.

As Figuras 4.19 até a Figura 4.22 apresentam os gráficos obtidos através da absorbância medida no aparelho de UV-Vis para cada uma das soluções descritas previamente. Nestes casos foram utilizadas as informações de absorbância para avaliar os perfis de liberação do PZQ incorporado nas membranas.

TABELA 4.9: Massas de PZQ (em mg mL⁻¹) obtidas para a dissolução das membranas em HCl com pH = 1,2.

Amostra	1:1	1:2 – 20.000	1:5	1:10 – 11.200	1:10 – 20.000	1:15
Tempo						
Massa teórica de PZQ	26,85	19,23	6,91	3,63	5,04	3,48
5	0,10	0,10	0,09	0,09	0,10	0,11
10	0,14	0,11	0,10	0,09	0,11	0,10
15	0,12	0,12	0,11	0,11	0,11	0,11
30	0,15	0,13	0,13	0,12	0,13	0,11
60	0,17	0,17	0,16	0,14	0,15	0,14
120	0,20	0,18	0,17	0,17	0,17	0,17
180	0,23	0,22	0,21	0,18	0,19	0,19

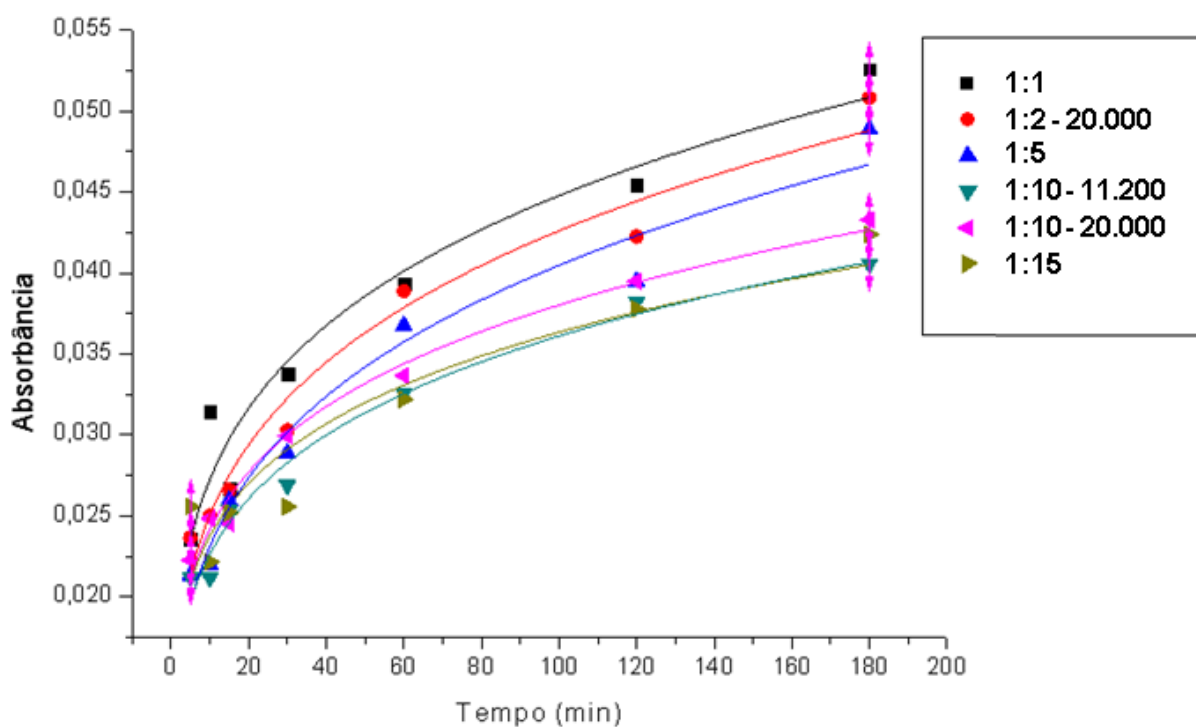


FIGURA 4.19: Dissolução das membranas em HCl com pH 1,2.

TABELA 4.10: Massas de PZQ (em mg mL^{-1}) obtidas para a dissolução das membranas em solução tampão acetato com $\text{pH} = 4,5$.

Amostra	1:1	1:2 – 20.000	1:5	1:10 – 11.200	1:10 – 20.000	1:15
Tempo						
Massa teórica de PZQ	27,60	17,00	6,80	3,32	6,99	4,55
5	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,15
10	0,16	0,16	0,16	0,16	0,15	0,16
15	0,17	0,17	0,16	0,21	0,21	0,16
30	0,19	0,18	0,20	0,17	0,18	0,17
60	0,21	0,26	0,23	0,23	0,23	0,35
120	0,41	0,38	0,26	0,26	0,28	0,26
180	0,41	0,39	0,36	0,33	0,33	0,31

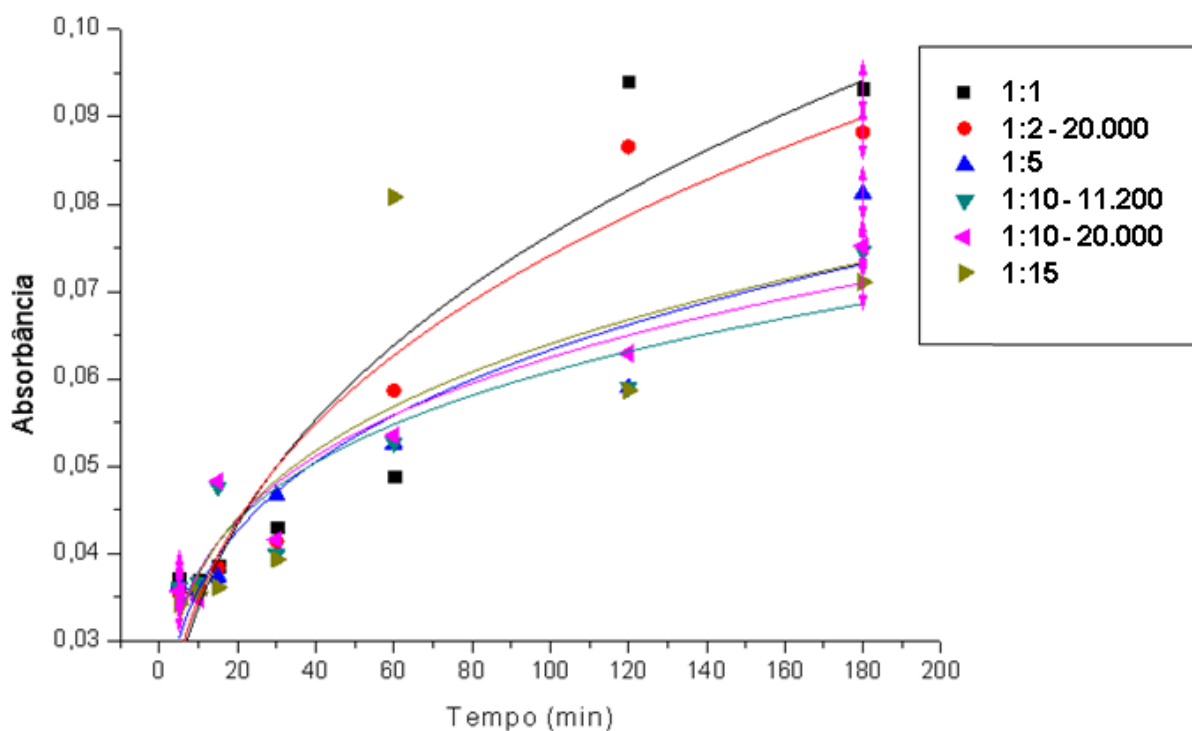


FIGURA 4.20: Dissolução das membranas em tampão acetato com $\text{pH} 4,5$.

TABELA 4.11: Massas de PZQ (em mg mL⁻¹) obtidas para a dissolução das membranas em tampão acetato com pH = 5,5.

Amostra Tempo	1:1	1:2 – 20.000	1:5	1:10 – 11.200	1:10 – 20.000	1:15
Massa teórica de PZQ	25,20	20,73	7,07	5,34	3,44	3,39
5	0,17	0,16	0,14	0,12	0,11	0,13
10	0,13	0,14	0,11	0,15	0,13	0,13
15	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,13
30	0,15	0,14	0,13	0,12	0,13	0,12
60	0,16	0,15	0,15	0,14	0,15	0,16
120	0,22	0,20	0,19	0,25	0,19	0,16
180	0,24	0,21	0,32	0,29	0,25	0,20

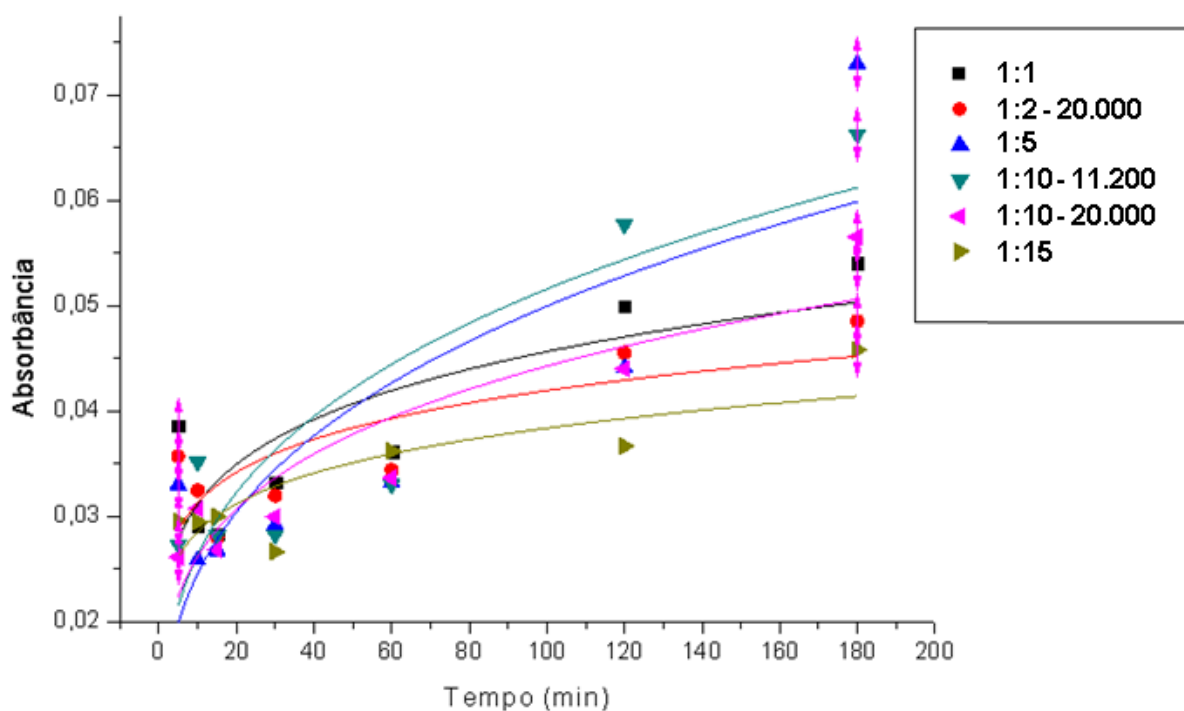


FIGURA 4.21: Dissolução das membranas em tampão acetato com pH 5,5.

TABELA 4.12: Massas de PZQ (em mg mL⁻¹) obtidas para a dissolução das membranas em tampão fosfato com pH = 6,8.

Amostra Tempo	1:1	1:2 – 20.000	1:5	1:10 – 11.200	1:10 – 20.000	1:15
Massa teórica de PZQ	28,75	9,00	7,97	3,73	5,73	4,87
5	0,16	0,17	0,17	0,16	0,17	0,16
10	0,17	0,18	0,18	0,17	0,17	0,17
15	0,18	0,19	0,19	0,18	0,18	0,18
30	0,20	0,21	0,21	0,20	0,19	0,19
60	0,29	0,23	0,24	0,22	0,22	0,21
120	0,31	0,32	0,32	0,30	0,31	0,29
180	0,34	0,36	0,36	0,33	0,34	0,31

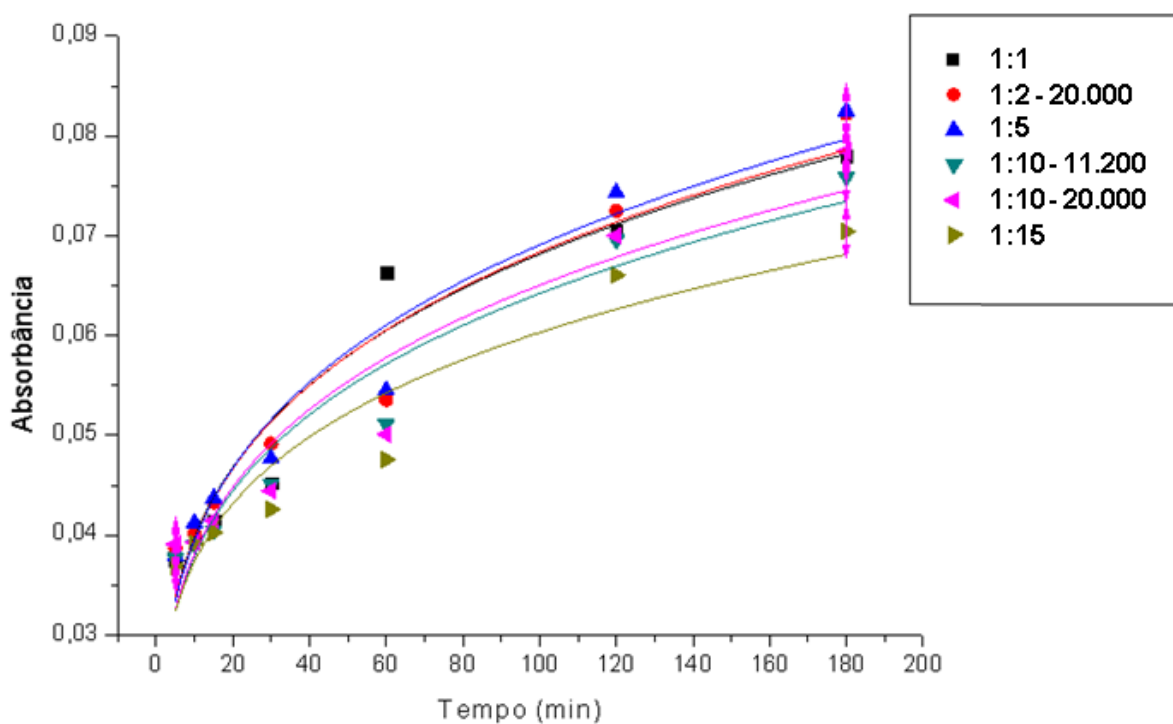


FIGURA 4.22: Dissolução das membranas em tampão fosfato com pH 6,8.

É possível notar que os perfis de liberação, de modo geral, são os mesmos para todos os pHs descritos.

Quanto às massas de fármaco liberadas é possível notar que todas as membranas liberam menos PZQ em pH 1,2. Ainda através da Tabela 4.9 é possível notar que as amostras liberam praticamente a mesma quantidade de medicamento, o que é curioso visto que a amostra 1:1 contém 15 vezes mais PZQ do que a amostra 1:15. Este mesmo padrão se segue para todos os outros pHs testados.

Para o pH 4,5 as amostras 1:1 e 1:2 produzida a 20.000 rpm no Turrax foram as que mais liberaram. Em pH 5,5 a amostra 1:5 foi a que mais liberou medicamento. O mesmo acontece em pH 6,8.

Ainda na Tabela 4.11 é possível notar que as amostras 1:10 apresentam uma significativa diferença entre as liberações após 120 minutos de experimento, o que só acontece para este pH.

Através da Tabela 4.12 pode-se notar que em pH 6,8 a membrana 1:15 foi a que menos liberou PZQ e as amostras 1:2 – 20.000 rpm e a 1:5 foram as que mais liberaram.

Nota-se que a dissolução do medicamento não chega a um patamar estável mesmo após 180 minutos de análise.

É importante notar que as membranas com maior quantidade de medicamento são também as membranas com menor porcentagem de inchamento devido à menor presença de PVA, dificultando a entrada da água para carregar o PZQ para fora da membrana.

Interessante notar que as membranas 1:10 foram as que apresentaram maior hidrofobicidade no teste de ângulo de contato quando comparadas às outras amostras e as membranas 1:1 e 1:2 se mostraram tão hidrofílicas que não foi possível fazer a medição. Como o próximo passo seria utilizar o sistema em um filme orodispersível, se a amostra for muito hidrofílica as chances de dissolver completamente na língua do paciente são maiores podendo comprometer a disponibilidade do PZQ. Portanto, certo grau de hidrofobicidade pode ser necessário.

4.11.2 – Dispersões sólidas

No caso das dispersões sólidas os testes foram feitos utilizando-se 10,000 mg de cada amostra. Portanto a amostra 1:1 deveria conter 5,000 mg de PZQ, as amostras 1:2, 3,333 mg, a amostra 1:5, 1,667 mg, as amostras 1:10, 0,909 mg e a amostra 1:15 deveria conter 0,625 mg de fármaco teoricamente.

Através das Figuras 4.23 até a Figura 4.26 é possível ver o perfil de liberação de cada amostra testada em cada uma das soluções-tampão previamente mencionadas. Para todos os pHs a amostra 1:2 produzida a 20.000 rpm apresentou a maior liberação dentre todas as amostras. Através das Tabelas 4.13 até a Tabela 4.16 é possível analisar as massas de fármaco liberadas em miligramas por mL. Em alguns casos essa amostra liberou quase o dobro de medicamento do que as outras amostras, que liberaram praticamente a mesma quantidade durante todo o processo.

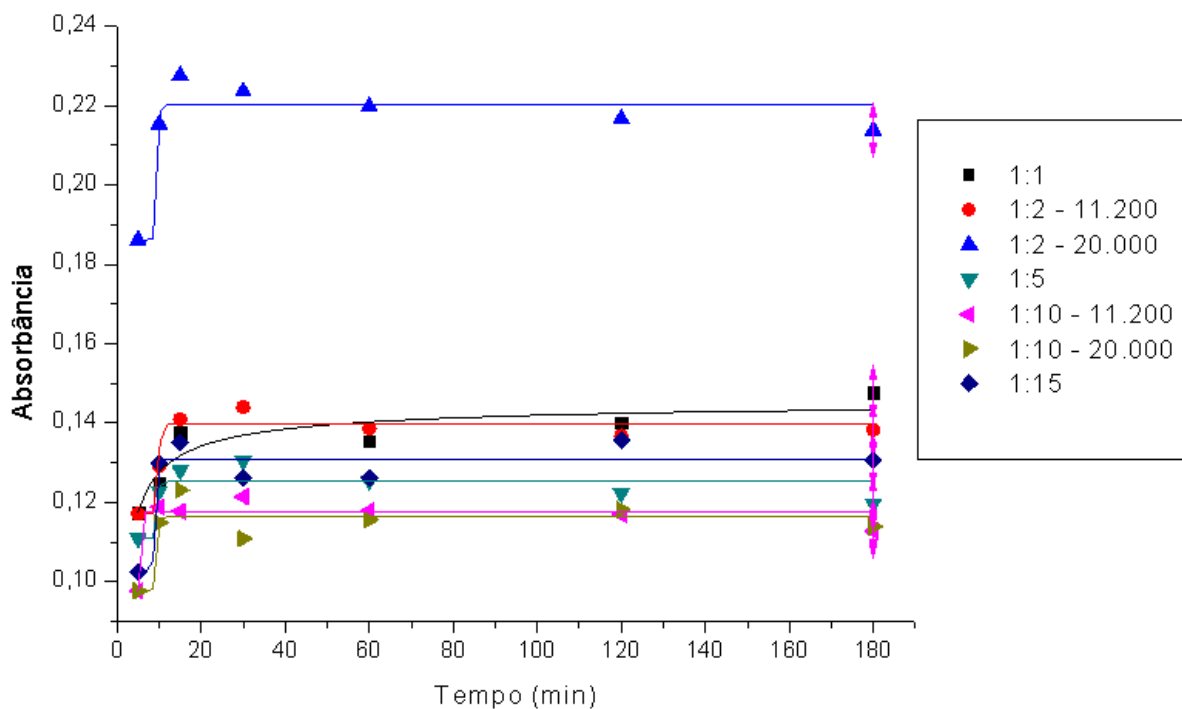


FIGURA 4.23: Dissolução das DSs em HCl com pH 1,2.

TABELA 4.13: Massas de PZQ (em mg mL^{-1}) obtidas para a dissolução das DSs em HCl com pH = 1,2.

Amostra Tempo	1.1	1.2 - 11.200	1.2 - 20.000	1.5	1.10 - 11.200	1.10 - 20.000	1.15
5	0,26	0,26	0,41	0,24	0,21	0,21	0,22
10	0,27	0,28	0,47	0,27	0,26	0,25	0,28
15	0,30	0,31	0,50	0,28	0,26	0,27	0,30
30	0,31	0,31	0,49	0,29	0,27	0,24	0,28
60	0,30	0,30	0,48	0,27	0,26	0,25	0,28
120	0,31	0,30	0,47	0,27	0,26	0,26	0,30
180	0,32	0,30	0,47	0,26	0,25	0,25	0,29

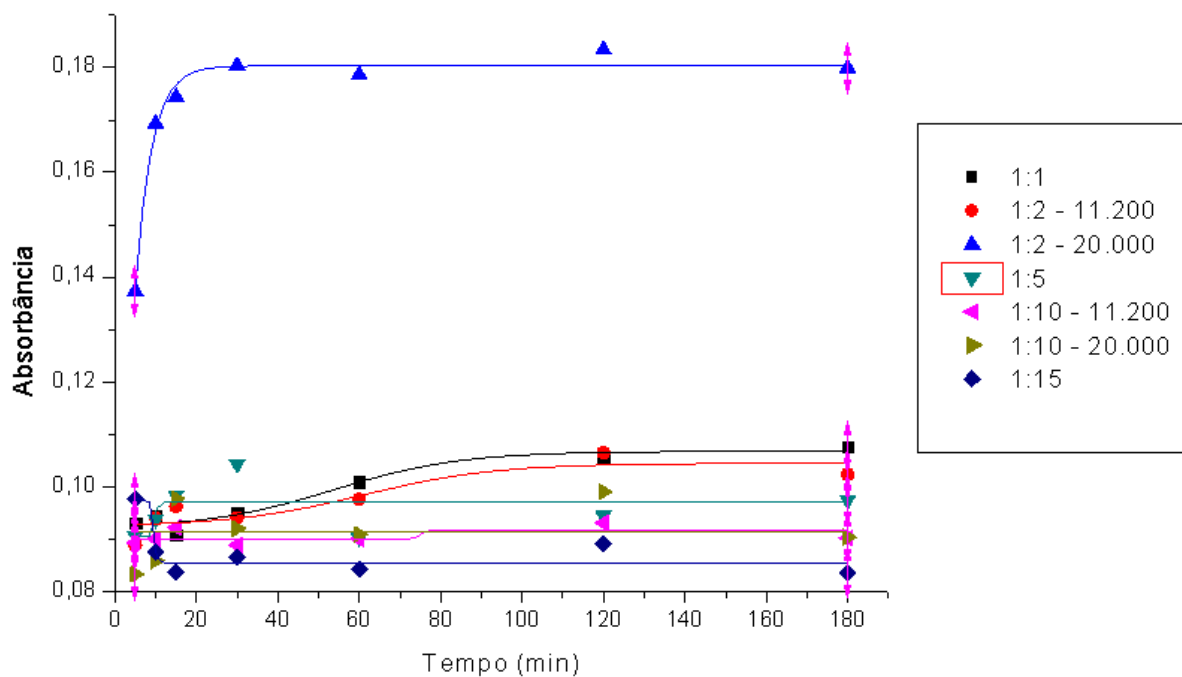


FIGURA 4.24: Dissolução das DSs em tampão acetato com pH 4,5.

TABELA 4.14: Massas de PZQ (em mg mL^{-1}) obtidas para a dissolução das DSs em tampão acetato com $\text{pH} = 4,5$.

Amostra Tempo	1.1	1.2 - 11.200	1.2 - 20.000	1.5	1.10 - 11.200	1.10 - 20.000	1.15
5	0,20	0,19	0,30	0,20	0,20	0,18	0,21
10	0,21	0,21	0,37	0,20	0,20	0,19	0,19
15	0,20	0,21	0,38	0,22	0,20	0,21	0,18
30	0,21	0,21	0,39	0,23	0,19	0,20	0,19
60	0,22	0,21	0,39	0,20	0,20	0,20	0,18
120	0,23	0,23	0,40	0,21	0,20	0,22	0,19
180	0,24	0,22	0,39	0,21	0,20	0,20	0,18

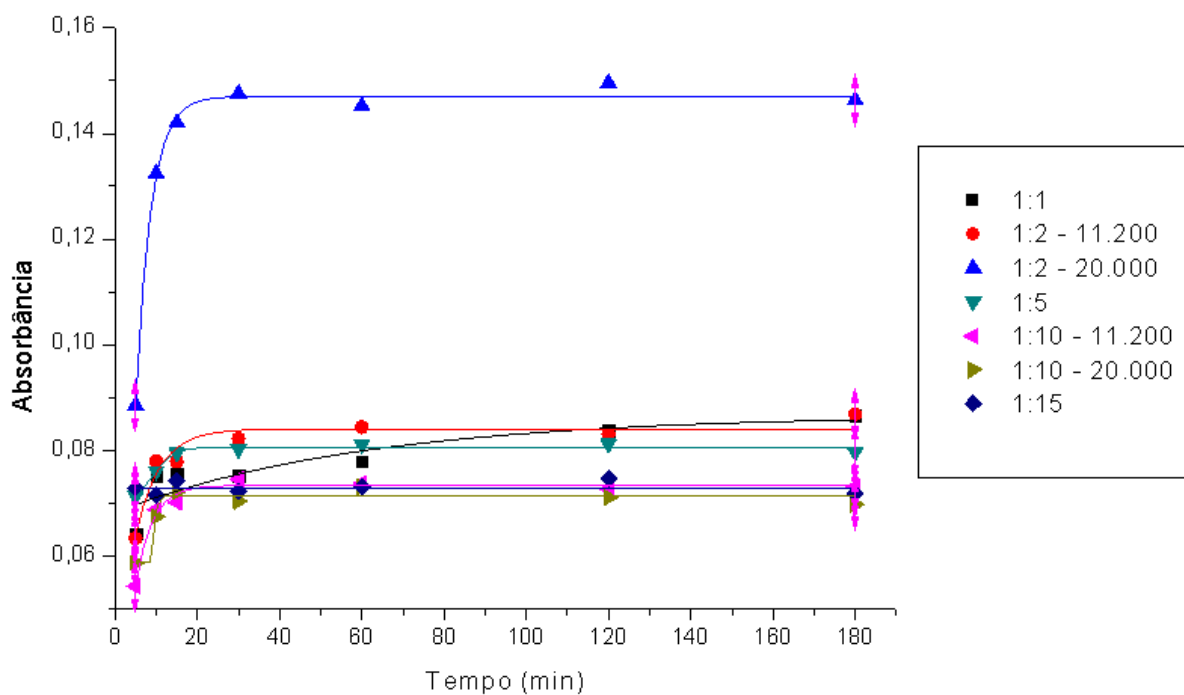


FIGURA 4.25: Dissolução das DSs em tampão acetato com pH 5,5.

TABELA 4.15: Massas de PZQ (em mg mL^{-1}) obtidas para a dissolução das DSs em tampão acetato com pH = 5,5.

Amostra Tempo	1.1	1.2 - 11.200	1.2 - 20.000	1.5	1.10 - 11.200	1.10 - 20.000	1.15
5	0,14	0,14	0,19	0,16	0,12	0,13	0,16
10	0,16	0,17	0,29	0,17	0,15	0,15	0,16
15	0,17	0,17	0,31	0,17	0,15	0,16	0,16
30	0,16	0,18	0,32	0,18	0,16	0,15	0,16
60	0,17	0,18	0,32	0,18	0,16	0,16	0,16
120	0,18	0,18	0,33	0,18	0,16	0,16	0,16
180	0,19	0,19	0,32	0,17	0,16	0,15	0,16

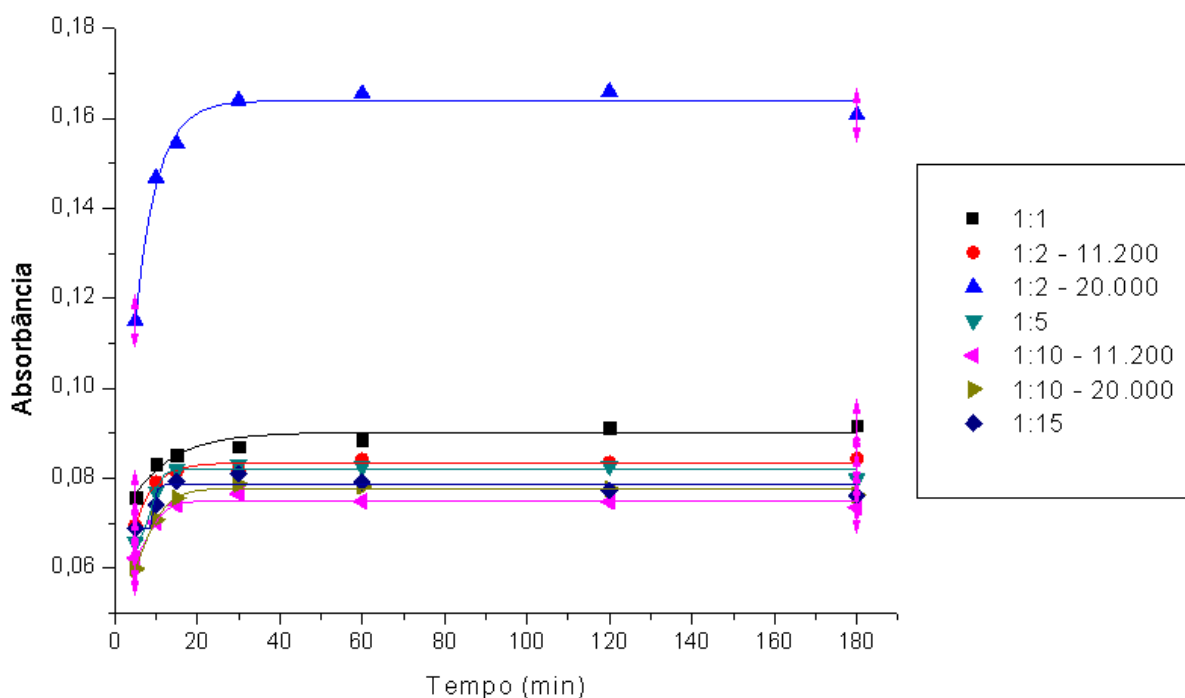


FIGURA 4.26: Dissolução das DSs em tampão fosfato com pH 6,8.

TABELA 4.16: Massas de PZQ (em mg mL^{-1}) obtidas para a dissolução das DSs em tampão fosfato com pH = 6,8.

Amostra Tempo	1.1	1.2 - 11.200	1.2 - 20.000	1.5	1.10 - 11.200	1.10 - 20.000	1.15
5	0,17	0,15	0,25	0,14	0,14	0,13	0,15
10	0,18	0,17	0,32	0,17	0,15	0,15	0,16
15	0,19	0,18	0,34	0,18	0,16	0,17	0,17
30	0,19	0,18	0,36	0,18	0,17	0,17	0,18
60	0,19	0,18	0,36	0,18	0,16	0,17	0,17
120	0,20	0,18	0,36	0,18	0,16	0,17	0,17
180	0,20	0,18	0,35	0,17	0,16	0,17	0,17

Comparando as Tabelas 4.13, 4.14, 4.15 e 4.16 é possível notar que para todas as amostras a liberação foi maior em pH mais ácido, 1,2 e a menor liberação foi em pH 5,5. Dentre as amostras, a 1:2- 20.000 rpm foi a que mais liberou fármaco em todos os pHs testados.

De modo geral, observando-se as Figuras 4.24 a 4.27, o PZQ das DSs está completamente dissolvido após 30 minutos, entrando em um patamar de equilíbrio para quase todas as amostras. As amostras 1:1 e 1:2 – 20.000 rpm em pH 4,5 demoraram em torno de 120 minutos para atingir o patamar de dissolução.

Nesta tese, pode-se observar que o melhor resultado foi obtido para a amostra 1:2 obtida com 20.000 rpm no Turrax que liberou até o dobro de PZQ quando comparada com algumas amostras.

Quando as liberações das membranas são comparadas com as liberações das DSs é importante notar que para os pHs mais ácidos as DSs liberam maior quantidade de PZQ, porém para os pHs 5,5 e 6,8 as membranas liberam mais PZQ. Apesar de não ser um grupo ionizável, as hidroxilas do PVA são sensíveis à variação de pH.

No presente estudo, os resultados obtidos através do DRX mostram que existe PZQ cristalino na amostra. De la Torre e colaboradores [DE LA TORRE, 1999] encontraram dissoluções maiores do que o material inicial contido nas DSs. Alguns autores explicam isso como sendo resultado do efeito de dispersão dos aditivos contidos nas amostras ou uma possível diminuição da tensão superficial do meio resultando em uma maior molhabilidade da superfície cristalina do fármaco.

4.12 – Ensaio de dissolução após 3 dias e análise do fármaco

Através da Tabela 4.17 é possível observar os resultados obtidos para cada amostra em miligramas por mL.

TABELA 4.17: Massas de PZQ (em mg mL⁻¹) obtidas para a dissolução das DSs após 3 dias.

Amostra	pH 1,2	pH 4,5	pH 5,5	pH 6,8
1:1	0,32	0,26	0,21	0,22
1:2 11.200	0,28	0,21	0,18	0,18
1:2 20.000	0,43	0,37	0,30	0,35
1:5	0,25	0,20	0,17	0,18
1:10 11.200	0,24	0,19	0,16	0,16
1:10 20.000	0,23	0,19	0,15	0,16
1:15	0,26	0,19	0,16	0,17

Nota-se que a amostra 1:2 produzida a 20.000 rpm apresenta o maior grau de dissolução dentre todas as amostras testadas (Figura 4.27). Esta liberou de 26 a 46% a mais de PZQ quando comparada com as outras DSs. Porém proporcionalmente, a amostra 1:15 foi a que mais liberou o fármaco visto que era a que possuía menor quantidade de PZQ em massa. Como as amostras são de DSs, as massas teóricas são: 5,000 mg de PZQ para a amostra 1:1, 3,333 mg para as amostras 1:2, 1,667 mg para a amostra 1:5, 0,909 mg para as amostras 1:10 e a amostra 1:15 deveria conter 0,625 mg de fármaco.

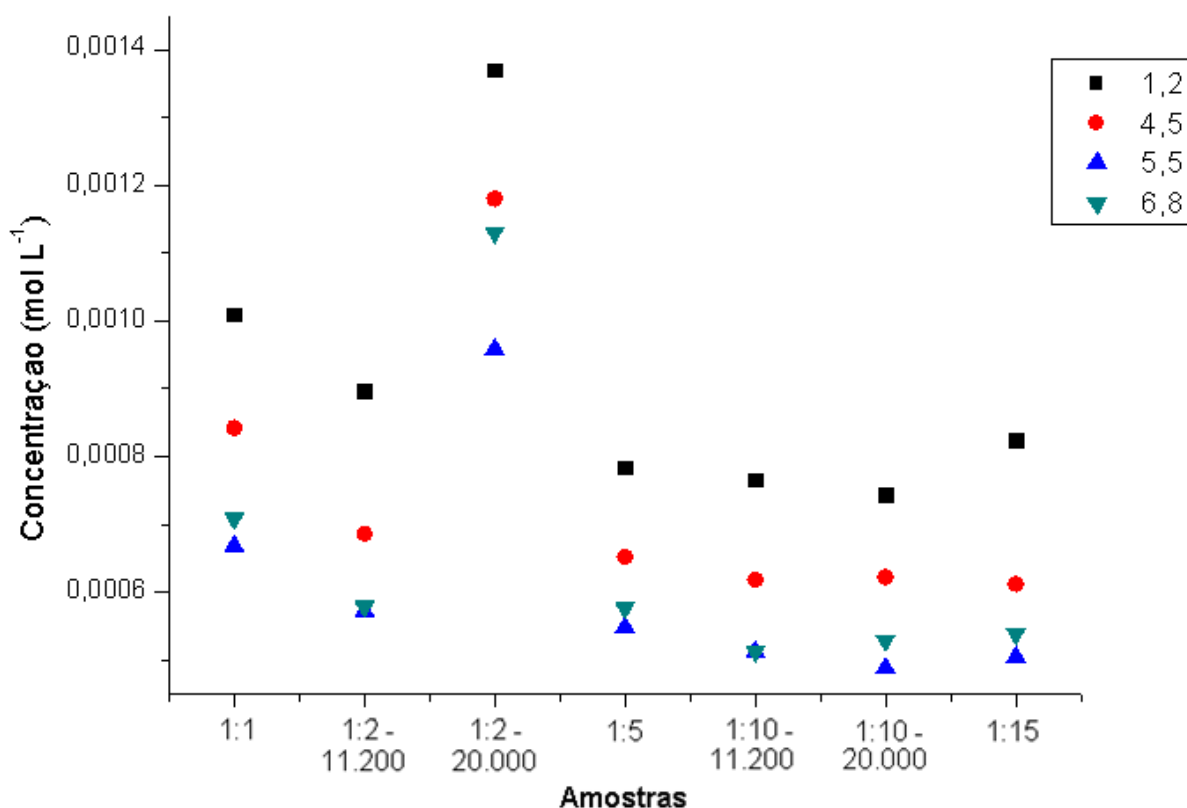


FIGURA 4.27: Concentrações obtidas para a dissolução das DSs após 3 dias.

Devido às suas propriedades físico-químicas, o PZQ não pode ser administrado por via intravenosa, o que permitiria uma biodisponibilidade absoluta do fármaco. Após sua administração via oral, é imediatamente absorvido e seu pico de concentração plasmática é observado de 1 a 2 horas depois de sua administração. Considerando indivíduos que receberam 50 mg de praziquantel/kg o valor máximo de concentração sanguínea fica entre 1,32 e 1,36 $\mu\text{g/mL}$ e a concentração após 24 horas está na faixa de 3,95 a 5,25 $\mu\text{g/mL.h}$ [CISTICID®, 2016].

Para o sistema proposto os próximos passos deveriam ser a incorporação das DSs em filmes orodispersíveis para uma melhor administração por via oral. Nestes filmes seriam incorporados flavorizantes para tonar o gosto do medicamento, que é extremamente amargo, mais palatável.

Neste sistema seria incorporado a DS 1:2 produzida a 20.000 rpm, pois esta é a que mais solubiliza dentre todas as amostras produzidas. Este é um resultado esperado devido à amostra conter uma maior concentração de PZQ e

rotações no homogeneizador Turrax, tornando, teoricamente, a partícula menor e conseqüentemente aumentando sua área superficial, fazendo com que o medicamento esteja mais disponível para a liberação. Porém é importante notar que o mesmo não é observado para a amostra 1:10 com 20.000 rotações no Turrax. Infelizmente os dados de tamanho de partícula e imagens de microscopia eletrônica que corroborariam estes resultados não foram obtidos, por conta do momento atual.

5 – Conclusões

1. Foi possível desenvolver e caracterizar membranas e dispersões sólidas com diferentes proporções entre o PZQ e o PVA.
2. Não foi notado efeito dos ciclos de congelamento/descongelamento com relação à formação de cristais na matriz polimérica das amostras.
3. Foi necessária a adição de um surfactante para que as soluções ficassem estáveis e não precipitassem.
4. Os resultados de espectroscopia no infravermelho mostram que para as membranas quanto maior a presença de PZQ menor a banda de movimentação das ligações C–H presentes nos anéis, sugerindo que a interação entre a matriz polimérica e o medicamento é dada através de interações com esses anéis além das ligações hidrogênio.
5. As análises de difração de raios-X mostram que quanto maior a quantidade de polímero na amostra há uma sobreposição das bandas e um aumento da banda em $2\theta = 12^\circ$ referente ao favorecimento do plano (1 0 0) do PVA.
6. As análises de calorimetria diferencial exploratória mostraram que a quantidade de medicamento não modifica a Tg da amostra. O grau de cristalinidade das amostras com medicamento também não se modifica (fica em torno de 24%), todavia quando comparadas com o PVA puro há uma diminuição de até 10% da quantidade de cristais formados, evidenciando que o PZQ é uma barreira para a formação de cristais nas membranas.
7. Para as DSs as análises de calorimetria mostram que a Tg não é alterada entre as amostras ou quando comparada com o PVA puro. Para as amostras 1:1, 1:2 (ambas), 1:5 e 1:15 há o surgimento de um pico em torno de 140°C relativo ao ponto de fusão do PZQ. A diminuição da área do pico endotérmico é uma consequência da diluição do PZQ na amostra.
8. As análises de estado da água mostram que há interações entre o PVA e o PZQ através das hidroxilas disponíveis no polímero.
9. As curvas termogravimétricas mostram que quanto maior a quantidade de medicamento na amostra, maior a estabilidade térmica

das membranas, já para as DSs há uma perda da estabilidade térmica do material.

10. O PZQ é um obstáculo para a interação da matriz polimérica e SBF, pois diminui os caminhos difusionais na membrana.

11. Os perfis de dissolução das amostras não se modificam em diferentes pHs e não chegam a um patamar estável para as membranas. Já para as DSs esse patamar é atingido em 30 minutos, ou seja, a liberação é máxima neste tempo.

12. Dentre as DSs a que mais liberou em todos os pHs testados, chegando a liberar até o dobro quando comparada com as outras amostras, foi a amostra 1:2 produzida com 20.000 rotações por minuto no turrax. O mesmo ocorre para a dissolução das amostras.

13. As DSs se mostram mais efetivas nos pHs 1,2 e 4,5 e as membranas nos pHs 5,5 e 6,8.

Frente aos objetivos propostos no início dessa investigação pode-se concluir que a capacidade de criogelificação do PVA não é alterada com a modificação da quantidade de PZQ presente nas amostras. Foi possível verificar que a ligação entre o PVA e o PZQ se dá através das hidroxilas presentes no polímero.

6 – Perspectivas futuras

As perspectivas futuras seriam incorporar as DSs em filmes orodispersíveis e adicionar também um flavorizante para avaliar se o sabor do medicamento seria modificado e conseguir comparar as liberações obtidas através dos filmes com as membranas obtidas neste trabalho.

Um segundo passo seria incorporar as DSs em impressões 3D de medicamentos para avaliar se através deste método seriam obtidas solubilidade e dissolução melhores.

7 – Referências bibliográficas

- ADIBKIA, K.; BARZEGAR-JALALI, M.; MAHERI-ESFANJANI, H.; GHANBARZADEH, S.; SHOKRI, J.; SABZEVARI, A.; JAVADZADEH, Y. "Physicochemical characterization of naproxen solid dispersions prepared via spray drying technology". *Powder Technol.* **246**: 448–455, 2013.
- ALTHURI, A.; MATHEW, J.; SINDHU, R.; BANERJEE, R.; PANDEY, A.; BINOD, P. "microbial synthesis of poly-3-hydroxybutyrate and its application as targeted drug delivery vehicle". *Bioresour. Technol.* **145**: 290–296 2013.
- AMIDON, G. L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V.P.; CRISON, J. "Theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability". *Pharm. Res.* **12**: 413–420, 1995.
- ARANHA, I. B.; LUCAS, E. F. "Poli(álcool vinílico) modificado com cadeias hidrocarbônicas: avaliação do balanço hidrófilo/lipófilo". *Polímeros*, 11 (4): 174–181, 2001.
- ARAÚJO, N.; MATTOS, A. C. A.; COELHO, P. M. Z.; KATZ, N. Association of oxaminiquine, praziquantel and clonazepam in experimental schistosomiasis mansoni. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 103 (3): 781-785, 2008.
- ARUNACHALAM, A.; KARTHIKEYAN, M.; KONAM, K.; PRASAD, P. H.; SETHURAMAN, S.; ASHUTOSHKUMAR, S. "Solid dispersions: a review". *Int. J. Curr. Pharm.* 1 (1): 82-90, 2010.
- BHAT, A.; SMITH, B.; DINU, C-Z.; GUISEPPI-ELIE, A. "Molecular engineering of poly(HEMA-co-PEGMA)-based hydrogels: role of minor AEMA and DMAEMA inclusion. *Mater. Sci. Eng., C.* **98**: 89–100, 2019.
- BORREGO-SÁNCHEZ, A.; CARAZO, E.; ALBERTINI, B.; PASSERINI, N.; PERISSUTTI, B.; CERESO, P.; VISERAS, C.; HERNÁNDEZ-LAGUNA, A.; AGUZZI, C.; SAINZ-DÍAZ, C. I. "Conformational polymorphic changes in the Crystal structure of the chiral anti-parasitic drug praziquantel and interactions with calcium carbonate". *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **132**: 180–191, 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Vigilância da Esquistossomose Mansonii: diretrizes técnicas / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – 4. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
- CISTICID®. Alexandre Canellas de Souza. Rio de Janeiro: MERCK S/A, 2016. Bula de remédio.
- COLLEY, D. G.; BUSTINDUY, A. L.; SECOR, W. E.; KINGC. H. "Human schistosomiasis". *Lancet.* 383 (9936): 2253–2264, 2014.
- COLORCON, 2000. PVA Genotoxicity Studies: Bacterial Mutation Assay, Mammalian Cell Mutation Assay, Mouse Micronucleus Test.
- COSTA, E. D.; PRIOTTI, J.; ORLANDI, S.; LEONARDI, M.; LAMAS, M. C.; NUNES, T. G.; DIOGO, H. P.; SALOMON, C. J.; FERREIRA, M. J. "Unexpected solvent

impact in the crystallinity of Praziquantel/Poly(vinylpyrrolidone) formulations. A Solubility, DSC and Solid-State NMR study". *Int J Pharm.* 511 (2): 983–93, 2016.

CRAIG, D. Q. M. "The mechanisms of drug release from solid dispersions in water-soluble polymers". *Int. J. Pharm.* **231**: 131 – 144, 2002.

DAMETTO, P. R.; DAMETTO, A. C.; POLESE, L.; RIBEIRO, C. A.; CHORILLI, M.; FREITAS, O. "Development and physicochemical characterization of solid dispersions containing praziquantel for the treatment of schistosomiasis". *J. Therm. Anal. Calorim.* **127**:1693–1706, 2017.

DAVE, R. H.; PATEL, H. H.; DONAHUE, E.; PATEL, A. D. "To evaluate the change in release from solid dispersion using sodium lauryl sulfate and model drug sulfathiazole". *Drug Dev. Ind. Pharm.* 39(10): 1562–1572, 2013.

DE LA TORRE, P.; TORRADO, S.; TORRADO, S. "Preparation, dissolution and characterization of praziquantel solid dispersions". *Chem. Pharm. Bull.* 47 (11): 1629-1633, 1999.

DEMERLIS, C. C.; SCHONEKER, D. R. "Review of the oral toxicity of polyvinyl alcohol (PVA)". *Food Chem. Toxicol.*, **41**: 319–326, 2003.

DUBOIS, J. L.; FORD, J. L. "Similarities in the release rates of different drugs from polyethylene glycol 6000 dispersions". *J. Pharm. Pharmacol.* **37**: 494–495, 1985.

EL-ARINI, S. K.; LEUENBERGER, H. "Dissolution properties of praziquantel – PVP systems". *Pharm. Acta Helv.* **73**: 89–94, 1998.

EL-LAKKANY, N.; SEIF EL-DIN, S. H.; HEIKAL, L. "Bioavailability and in vivo efficacy of a praziquantel-polyvinylpyrrolidone solid dispersion in *Schistosoma mansoni*-infected mice". *Eur. J. Drug Metab. Ph.* 37(4): 289–99, 2012.

EL-SETOUHY, D. A.; SHAWKY, N.; EL-MALAK, A. "Formulation of a Novel Tianeptine Sodium Orodispersible Film". *Pharm. Sci. Tech.* 11 (3): 1018–1025, 2010.

ESPINOSA-LARA, J. C.; GUZMAN-VILLANUEVA, D.; ARENAS-GARCÍA, J. I.; HERRERA-RUIZ, D.; RIVERA-ISLAS, J.; ROMÁN-BRAVO, P.; MORALES-ROJAS, H.; HÖPFL, H. "Cocrystals of active pharmaceutical ingredients – praziquantel in combination with oxalic, malonic, succinic, maleic, fumaric, glutaric, adipic, and pimelic acids". *Cryst. Growth Des.* 13 (1): 169–185, 2013.

EXUM, N. G.; KIBIRA, S. P. S.; SSENKONGA, R.; NOBILI, J.; SHANNON, A. K.; SSEMPBWA, J. C.; TUKAHEBWA, E. M.; RADLOFF, S.; SCHWAB, K. J.; MAKUMBI, F. E. "The prevalence of schistosomiasis in Uganda: A nationally representative population estimate to inform control programs and water and sanitation interventions". *PLOS Negl. Trop. Dis.* 13 (8): 13, 2019.

FARMACOPÉIA Brasileira, 4. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1996.

FICEK, B. J.; PEPPAS, N. A. "Novel preparation of poly (vinyl alcohol) microparticles without crosslinking agent for controlled drug delivery of proteins". *J. Control. Release*, **21**: 259–264, 1993.

- FINCH, C. A. Polyvinyl alcohol, properties and applications. New York: Wiley, 1973. 622 p.
- GOYAN, J. E. "Dissolution rate studies III. Penetration model for describing dissolution of a multiparticulate system". *J. Pharm. Sci.* **54**: 645–647, 1965.
- GUO, X.; CUN, D.; WAN, F.; NERA, H.; SONG, Q.; TIAN, X.; CHEN, Y.; RANTANEN, J.; YANG, M. "Comparative assessment of in vitro/in vivo performances of orodispersible electrospun and casting films containing rizatriptan benzoate". *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **154**: 283–289, 2020.
- GU, B.; LINEHAN, B.; TSENG, Y.C. "Optimization of the Büchi B-90 spray drying process using central 2 composite design for preparation of solid dispersions". *Int. J. Pharm.* **491** (1–2): 208-217, 2015.
- HAMED, R.; ALNADI, S. H.; AWADALLAH, A. "The Effect of Enzymes and Sodium Lauryl Sulfate on the Surface Tension of Dissolution Media: Toward Understanding the Solubility and Dissolution of Carvedilol". *AAPS Pharm. Sci. Tech.* **21**: 146–157, 2020.
- HERBRINK, M.; SCHELLENS, J.H.M.; BEIJNEN, J.H.; NUIJEN, B. "Improving the solubility of nilotinib through novel spray-dried solid dispersions". *Int. J. Pharm.* **529** (1-2): 294–302, 2017.
- HIGUCHI, W. I.; MIR, N. A.; DESAI, S. J. "Dissolution rates of polyphase mixtures". *J. Pharm. Sci.* **54**: 1405–1410, 1965.
- HUANG, B. B.; LIU, D. X.; LIU, D. K.; WU, G. "Application of solid dispersion technique to improve solubility and sustain release of emamectin benzoate". *Molecules.* **24**: 4315, 2019.
- HUANGA, Y.; DAI, W. G. "Fundamental aspects of solid dispersion technology for poorly soluble drugs". *Acta Pharm. Sin. B.* **4** (1): 18-25, 2014.
- HUGHEY, J. R.; KEEN, J. M.; BENNETT, R. C.; OBARA, S.; MCGINITY, J. W. "The incorporation of low-substituted hydroxypropyl cellulose into solid dispersion systems". *Drug Dev. Ind. Pharm.* **41**: 1294–1301, 2015.
- IPEC – International Pharmaceutical Excipients Council of the Americas. FAQs about excipients. Disponível em: <<https://ipecamericas.org/what-ipec-americas/faqs#question1>>. Acesso em: 5 set. 2020.
- JANSSENS, S.; MOOTER, G. V. "Review: physical chemistry of solid dispersions". *J. Pharm. Pharmacol.* **61**: 1571–1586, 2009.
- KOHRI, N.; YAMAYOSHI, Y.; XIN, H.; ISEKI, K.; SATO, N.; TODO, S.; MIYAZAKI, K. "Improving the oral bioavailability of albendazole in rabbits by the solid dispersion technique". *J. Pharm. Pharmacol.* **51**: 159–164, 1999.
- KOJIMA, Y.; OHTA, T.; SHIRAKI, K.; TAKANO, R.; MAEDA, H.; OGAWA, Y. "Effects of spray drying process parameters on the solubility behavior and physical stability of solid dispersions prepared using a laboratory-scale spray dryer". *Drug Dev. Ind. Pharm.* **39** (9): 1484-1493, 2012.

KOKUBO, T. "Bioactive glass ceramics: properties and applications". *Biomaterials*, **12**: 155–163, 1991.

LAFOUNTAIN, J. S.; MCGINITY, J. W.; WILLIAMS, R. O. "Challenges and Strategies in Thermal Processing of Amorphous Solid Dispersions: A Review". *AAPS PharmSciTech*. 17 (1): 43-55, 2016.

LI, J. K.; WANG, N.; WU, X. S. "Poly(vinyl alcohol) nanoparticles prepared by freezing–thawing process for protein/peptide drug delivery". *J. Control. Release*, **56**: 117–126, 1998.

LIMA, A. C.; CHAUD, M. V.; GREMIÃO, M. P. D. Taxa de dissolução de dispersões sólidas de praziquantel em polietilenoglicol, 5a Amostra Acadêmica UNIMEP. *Anais...2007*.

LIU, Q.; ZHANG, Z.; JIN, X.; JIANG, Y.; JIA, X. "Enhanced dissolution and oral bioavailability of tanshinone II. A base by solid dispersion system with low-molecular-weight chitosan". *J. Pharm. Pharmacol.* **65**: 839–846, 2013.

LIU, Y.; WANG, T.; DING, W.; DONG, C.; WANG, X.; CHEN, J.; LI, Y. "Dissolution and oral bioavailability enhancement of praziquantel by solid dispersions". *Drug Deliv. Transl. Res.* **8**: 580–590, 2018.

LUPU, A. C.; BOMBOS, M.; BARBACARIU, C. A.; ROMAN, C.; MINDRU, R.; MARTINESCU, G. V. LIVIU, D. M. "Conditionind of praziquantel and florfenicol for some heterologous coinfections of farmed carp". *Rev. Chim.* 7(70): 2404–2409, 2019.

MARTÍNEZ, N. A.; FERNÁNDEZ-ÁLVAREZ, F.; DELGADO, A. V.; BADILLO-GARCÍA, M. L.; RABA, J.; CERUTTI, S. E.; ARIAS, J. "First steps in the formulation of praziquantel nanosuspensions for pharmaceutical applications". *Pharm. Dev. Technol.* 25 (7): 892–898, 2020.

MELO, A. Produção de esferas a partir do poli álcool vinílico (pva) com vários graus de hidrólise e ácido bórico (ab) para fixação de bactérias. Disponível em: <<https://core.ac.uk/download/pdf/30385533.pdf>>. Acesso em: 21 mai. 2021.

MOLOO, A. WHO urges increased access to praziquantel as schistosomiasis treatment coverage improves. Disponível em: <https://www.who.int/neglected_diseases/news/WHO_urges_increased_access_to_praziquantel/en/>. Acesso em: 27 ago. 2020.

MOURAO, S. C.; COSTA, P. I.; SALGADO, H. R. N.; GREMIAO, M. P. D. "Improvement of antischistosomal activity of praziquantel by incorporation into phosphatidylcholine-containing liposomes". *Int J Pharm.* 295 (1–2): 157–62, 2005.

OM, B.; AMRUTA, S.; SHASHIKANT, D.; ROHINI, P.; VINITA, R.; PRIYANKA, K. "Design and statistical optimisation of praziquantel tablets by using solid dispersion approach". *Asian J. Pharm.* 9 (2): 83-92, 2015.

PALASIO, R. G. S.; BORTOLETO, A. N.; ROSA-XAVIER, I. G.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; TUAN, R.; CHIARAVALLLOTI-NETO, F. "Schistosomiasis in the Middle Paranapanema river region, state of São Paulo, Brazil: Does it matter today for public health?". *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **52**: 12, 2019.

PENKOVA, A. V.; ACQUAH, S. F. A.; DMITRENKO, M. E.; CHEN, B.; SEMENOV, K. N.; KROTO, H. W. "Transport properties of cross-linked fullereneol-PVA membranes". *Carbon*, **76**: 446–450, 2014.

PARANHOS, C. M.; SOARES, B. G.; OLIVEIRA, R. N.; PESSAN, L. A. "Poly(vinyl alcohol)/clay-based nanocomposite hydrogels: swelling behavior and characterization. *Macromol. Mater. Eng.* 292 (5): 620–626, 2007.

PASSERINI, N.; ALBERTINI, B.; PERISSUTTI, B.; RODRIGUEZ, L. "Evaluation of melt granulation and ultrasonic spray congealing as techniques to enhance the dissolution of praziquantel". *Int. J. Pharm.* 318 (1–2): 92–102, 2006.

PEPPAS, N. A. "Infrared spectroscopy of semicrystalline poly(vinyl alcohol) networks". *Makromol. Chem.* **178**: 595–401, 1977.

POTLURI, R.H.; BANDARI, S.; JUKANTI, R.; VEERAREDDY, P.R. "Solubility enhancement and physicochemical characterization of carvedilol solid dispersion with gelucire 50/13". *Arch. Pharmacol. Res.* **34**: 51–57, 2011.

PPC. Pediatric Praziquantel Consortium. Disponível em: <<http://www.pediatricpraziquantelconsortium.org/>>. Acesso em: 06 nov. 2020.

RADWAN, A.; EL-LAKKANY, N. M.; WILLIAM, S.; EL-FEKY, G. S.; AL-SHORBAGY, M. Y.; SALEH, S.; BOTROS, S. "A novel praziquantel solid lipid nanoparticle formulation shows enhanced bioavailability and antischistosomal efficacy against murine *S. mansoni* infection". *Parasit. Vectors.* **12**: 304, 2019.

RODRIGUES, S. G.; CHAVES, I. D.; DEMELO, N. F. S.; DE JESUS, M. B.; FRACETO, L. F.; FERNANDES, S. A. "Computational analysis and physico-chemical characterization of an inclusion compound between praziquantel and methyl-beta-cyclodextrin for use as an alternative in the treatment of schistosomiasis". *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 70 (1–2): 19–28, 2011.

SALAZAR-ROJAS, D.; MAGGIO, R. M.; KAUFMAN, T. S. "Preparation and characterization of a new form of praziquantel, an essential anthelmintic drug. Praziquantel racemic monohydrate". *Eur. J. Pharm. Sci.* **146**: 1–9, 2020.

SANDERS, J. M.; MATTHEWS, H. B. "Vaginal absorption of polyvinyl alcohol in Fischer 344 rats". *Hum. Exp. Toxicol.* **9**: 71–77, 1990.

SANTOS, I. G. A.; RAMOS, R. E. S.; GOMES, D. S.; BEZERRA, L. P.; SILVA, L. O.; CIRILO, T. M.; ALVES, L. C.; BRAYNER, F. A. "Analysis and spatial distribution of schistosomiasis mansoni in a historically endemic area of northeastern Brazil". *Trop. Med. Int. Health.* 25 (9): 1085-1092, 2020.

SHI, L.; XU, W.; CAO, Q.; YANG, M.; CUI, J. "Preparation, characterization and in vitro evaluation of a polyvinyl alcohol/sodium alginate based orodispersible film containing sildenafil citrate". *Pharmazie*, **69**: 327–334, 2014.

SILVA, V. B. *Avaliação da potencialidade do uso de hidrogéis poliméricos na terapêutica de leishmaniose cutânea*. 2015. Dissertação (Programa de Pós Graduação em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

- SINGH, A.; MOOTER, G. V. "Spray drying formulation of amorphous solid dispersions". *Adv. Drug Deliv. Rev.* **100**: 27-50, 2015.
- SIRAJ, S. N.; ATHAR, S. H. M. D.; KHAN, G. J.; RAZA, S.; ANSARI, M. A. "Review on solid dispersion of poor water soluble drug by using natural polymers". *J. Pharm. Innov.* **8** (1): 631-636, 2019.
- SOKOLOW, S. H.; JONES, I. J.; JOCQUE, M.; LA, D.; CORDS, O.; KNIGHT, A.; LUND, A.; WOOD, C. L.; LAFFERTY, K. D.; HOOVER, C. M.; COLLENDER, P. A.; REMAIS, J. V.; LOPEZ-CARR, D.; FISK, J.; KURIS, A. M.; LEO, G. A. "Nearly 400 million people are at higher risk of schistosomiasis because dams block the migration of snail-eating river prawns". *Phil. Trans. R. Soc.* **372**: 12, 2017.
- SUN, Q.; MAO, R.; WANG, D.; HU, C.; ZHENG, Y.; SUN, D. "The cytotoxicity study of praziquantel enantiomers". *Drug Des. Devel. Ther.* **10**: 2061–2068, 2016.
- TANFORD, C. *Physical chemistry of macromolecules*. New York: John Wiley & Sons; 1961
- TRAN, P.; PYO, Y. C.; KIM, D. H.; LEE, S. E.; KIM, J. K.; PARK, J. S. "Overview of the Manufacturing Methods of Solid Dispersion Technology for Improving the Solubility of Poorly Water-Soluble Drugs and Application to Anticancer Drugs". *Pharmaceutics* **11** (3): 132, 2019.
- TRETINNIKOV, O. N. "Determination of the degree of crystallinity of poly(vinylalcohol) by FTIR spectroscopy". *J. Appl. Spectrosc.* **79** (4): 521–526, 2012.
- VERRECK, G.; SIX, K.; MOOTER, G. V. D.; BAERT, L.; PEETERS, J.; BREWSTER, M. E. "Characterization of solid dispersions of itraconazole and hydroxypropylmethylcellulose prepared by melt-extrusion-part". *I. Int. J. Pharm.* **251**: 165–174, 2003.
- WILLCOX, P. J.; HOWIE, D. W.; SCHMIDT-ROHR, K.; HOAGLAND, D. A.; GIDO, S. P.; PUDJIJANTO, S.; KLEINER, L. W.; VENKATRAMAN, S. "Microstructure of poly(vinyl alcohol) hydrogels produced by freeze/thaw cycling". *J. Polym. Sci. Pol. Phys.*, **37** (24): 3438–3454, 2000.
- WHO (a). Schistosomiasis. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>>. Acesso em: 27 ago. 2020.
- WHO (b). Schistosomiasis (Bilharzia): overview. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/schistosomiasis#tab=tab_1>. Acesso em: 27 ago. 2020.
- WHO (c). Schistosomiasis: Strategy. Disponível em: <<https://www.who.int/schistosomiasis/strategy/en/>>. Acesso em: 27 ago. 2020.
- WOELFLE, M.; SEERDEN, J. P.; GOOIJER, J.; POWWER, K.; OLLIARO, P.; TODD, M. H. "Resolution of Praziquantel". *PLOS Negl. Trop. Dis.* **5** (9): 1-7, 2011.

Anexo I

Calibração em dias diferentes

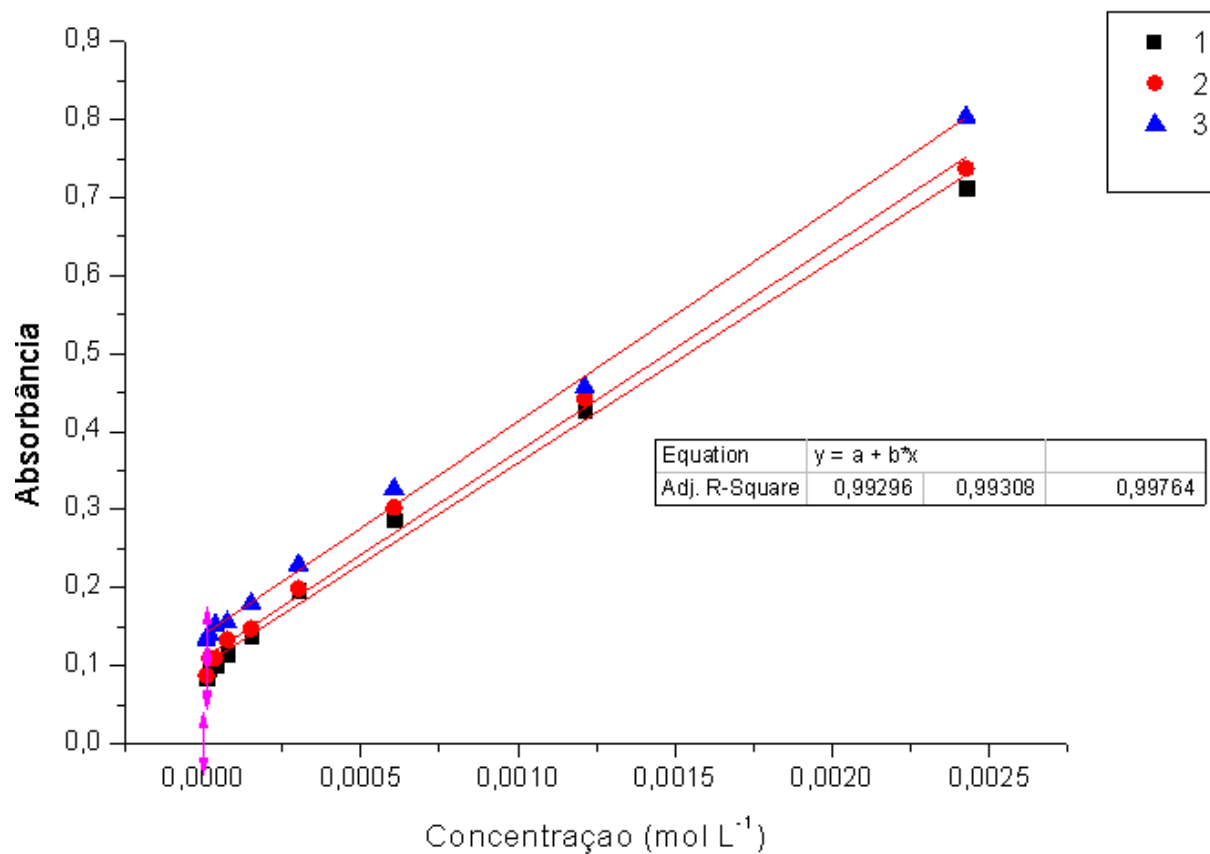


FIGURA I: Calibração do equipamento de UV em dias diferentes.

Anexo II

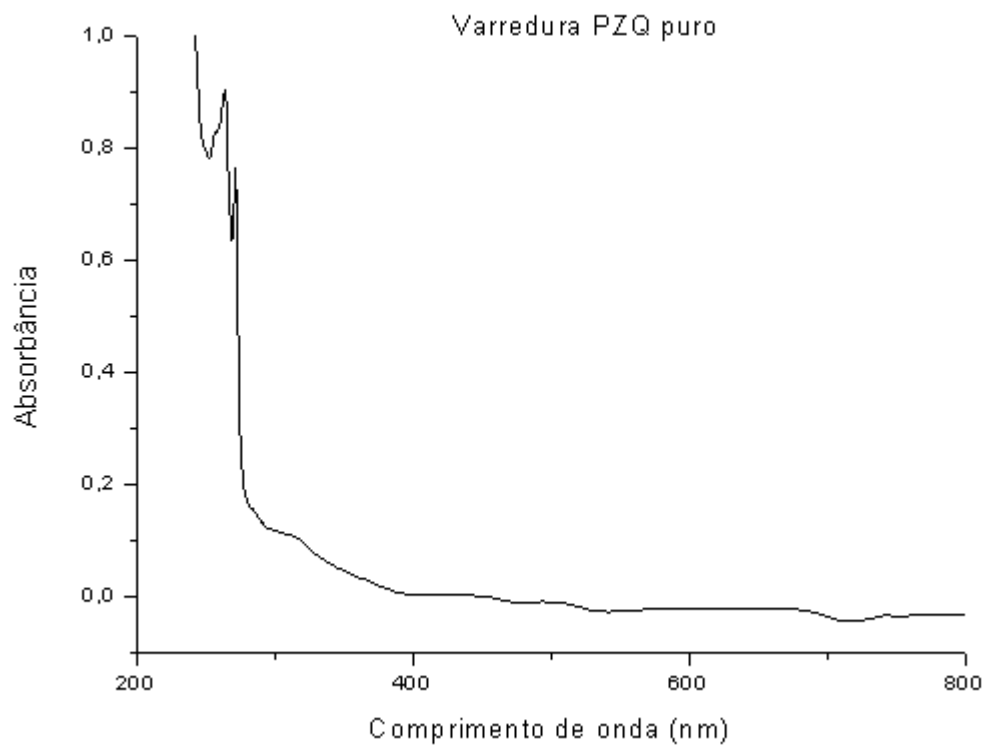


FIGURA II: Espectro de varredura do UV da solução de PZQ.