



ENCAPSULAMENTO IN SITU DE PRAZIQUNTEL NA POLIMERIZAÇÃO EM
SUSPENSÃO DO METACRILATO DE METILA PARA A PRODUÇÃO DE
SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA

Lorena Menezes Vieira

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientadores: José Carlos Costa da Silva Pinto
Márcio Nele de Souza

Rio de Janeiro
Maio de 2014

ENCAPSULAMENTO IN SITU DE PRAZIQUANTEL NA POLIMERIZAÇÃO EM
SUSPENSÃO DO METACRILATO DE METILA PARA A PRODUÇÃO DE
SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA

Lorena Menezes Vieira

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO
LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA
(COPPE) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE
DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE
EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA QUÍMICA.

Examinada por:

Prof. José Carlos Costa da Silva Pinto, D.Sc.

Prof. Márcio Nele de Souza, D.Sc.

Dra. Laís Bastos da Fonseca, D.Sc.

Prof. Diego Martinez Prata, D.Sc.

Prof. Lucio Mendes Cabral, D.Sc.

Prof. Marcos Antonio da Silva Costa, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

MAIO DE 2014

Vieira, Lorena Menezes

Encapsulamento In Situ De Praziquantel Na Polimerização Em Suspensão Do Metacrilato De Metila Para A Produção De Sistemas De Liberação Controlada/ Lorena Menezes Vieira. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2014.

XVIII, 113 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: José Carlos Costa da Silva Pinto

Márcio Nele de Souza

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Química, 2014.

Referências Bibliográficas: p. 105-113.

1. Poli(metacrilato de metila). 2. Praziquantel. 3. Liberação Prolongada. I. Pinto, José Carlos Costa da Silva, *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Química. III. Título.

A meus pais;

Ao meu marido;

A minha família.

Agradecimento

A meus pais e a meu marido, pessoas fundamentais na minha vida que me apoiam, me incentivam a crescer pessoal e profissionalmente, sendo estes os principais responsáveis por quem sou hoje.

A minha “sograstra” querida, que me acolheu, me apoiou e me incentivou como uma verdadeira mãe.

Ao Zé, pela sabedoria e sensibilidade ao se importar também com a pessoa por trás do aluno.

Ao Márcio pela orientação e apoio nos momentos mais necessários, dispondo de toda a paciência (e tempo) do mundo.

Ao Victor e ao Diego, grandes professores que se tornaram grandes amigos.

A minhas queridas amigas da turma de mestrado, em especial a Maria Clara, que tem uma vida tão parecida com a minha e por isso me deu tantos conselhos e apoio.

A meus amigos, não só do meu laboratório, como também de todos os outros nos quais fui buscar auxílio, que me receberam como membro da equipe.

A CAPES pelo auxílio financeiro.

Resumo da Dissertação apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (M.Sc.)

ENCAPSULAMENTO IN SITU DE PRAZIQUANTEL NA POLIMERIZAÇÃO EM
SUSPENSÃO DO METACRILATO DE METILA PARA A PRODUÇÃO DE
SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA

Lorena Menezes Vieira

Maio/2014

Orientadores: José Carlos Costa da Silva Pinto

Márcio Nele de Souza

Programa: Engenharia Química

O Praziquantel é um anti-helmíntico utilizado no tratamento da esquistossomose, doença tropical que atinge cerca de 50 países, comumente disseminada entre populações de classes econômico-sociais mais baixas, incluída no rol de doenças negligenciadas. Este medicamento sofre um extenso efeito de primeira passagem, o que faz com que grande parte de sua dosagem seja desperdiçada, além de apresentar um sabor extremamente desagradável, tornando o encapsulamento polimérico uma boa alternativa para a sua administração. Diversos experimentos foram realizados, explorando o tamanho e morfologia das partículas e a reticulação da matriz polimérica para a modificação do perfil de liberação do medicamento. Foram realizadas diversas análises para a caracterização das partículas produzidas. Os resultados indicaram que o Praziquantel atua como agente de transferência na reação de polimerização, sendo possível o mascaramento do sabor e a modulação do perfil de liberação do fármaco.

Abstract of Dissertation presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

IN SITU ENCAPSULATION OF PRAZIQUANTEL IN THE SUSPENSION
POLYMERIZATION OF METHYL METHACRYLATE FOR THE PRODUCTION
OF CONTROLLED RELEASE SYSTEMS

Lorena Menezes Vieira

May/2014

Advisors: José Carlos Costa da Silva Pinto

Márcio Nele de Souza

Department: Chemical Engineering

Praziquantel is an anthelmintic used to treat schistosomiasis, characterized as a tropical disease that affects about 50 countries, commonly widespread among people of lower socioeconomic classes, its included in the list of neglected diseases. This drug undergoes extensive first-pass effect, wasting much of its dosage, besides, it has an extremely unpleasant taste, making the polymer encapsulation a good alternative to its administration. Several experiments were conducted, exploring the size and morphology of particles and the crosslinking of the polymer matrix in order to modify the drug release profile. Several analyzes were performed for the characterization of particles produced. The results indicate that Praziquantel acts as a transfer agent in the polymerization reaction, it was possible to mask the taste and manipulate the release profile.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	INTRODUÇÃO	XVII
1.1	Contextualização	1
1.2	Objetivos	4
1.3	Estrutura da Dissertação	5
CAPÍTULO II	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
2.1	Sistemas de Liberação Controlada	6
2.1.1	Sistemas Poliméricos de Liberação Controlada	7
2.1.1.1	Tipos de Controles dos Sistemas Poliméricos de Liberação	11
2.2	Praziquantel (PZQ)	13
2.2.1	Trabalhos Realizados com Praziquantel em Sistemas de Liberação Controlada	15
2.3	Polimerização em Suspensão	18
2.3.1	Fatores que Influenciam a Distribuição de Tamanhos de Partícula	20
2.3.2	Tipos de Polimerização em Suspensão	22
2.4	Poli(metacrilato de metila) (PMMA)	24
2.4.1	Cinética de Polimerização em Suspensão do Metacrilato de Metila	25
2.5	Comentários Finais	31
CAPÍTULO III	MATERIAIS E MÉTODOS	32
3.1	Materiais	32
3.1.1	Reagentes	32
3.1.2	Equipamentos	34
3.2	Unidade Experimental	35
3.3	Reações de Polimerização	36
3.4	Procedimentos Analíticos	37
3.4.1	Análise Gravimétrica	37
3.4.2	Cromatografia de Permeação a Gel (GPC)	38
3.4.4	Viscosimetria	39
3.4.5	GPC com Detecção Simultânea de UV	40
3.4.6	Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR)	40
3.4.7	Eficiência de Encapsulamento	41

3.4.8	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	42
3.4.9	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	42
3.4.10	Teste de Liberação do Fármaco	43
CAPÍTULO IV RESULTADOS E DISCUSSÃO.....		45
4.1	Primeiro Grupo de Reações.....	45
4.1.1	Análise Gravimétrica	46
4.1.2	Cromatografia de Permeação a Gel (GPC).....	48
4.1.3	Distribuição dos Tamanhos de Partículas	50
4.1.4	GPC com Detecção Simultânea de UV	51
4.1.5	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	54
4.1.6	Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR).....	56
4.1.7	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	58
4.1.8	Eficiência de Encapsulamento	59
4.1.9	Teste de Liberação do Fármaco	62
4.2	Segundo Grupo de Reações	65
4.2.1	Análise Gravimétrica	66
4.2.2	Cromatografia de Permeação a Gel (GPC).....	67
4.2.3	Distribuição dos Tamanhos de Partículas	69
4.2.4	GPC com Detecção Simultânea de UV	70
4.2.5	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	71
4.2.6	Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR).....	72
4.2.7	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	73
4.2.8	Eficiência de Encapsulamento	74
4.2.9	Teste de Liberação do Fármaco	76
4.3	Terceiro Grupo de Reações	78
4.3.1	Distribuição dos Tamanhos de Partículas	80
4.3.2	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	81
4.3.3	Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR).....	82
4.3.4	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	83
4.3.5	Eficiência de Encapsulamento	85
4.3.6	Teste de Liberação do Fármaco	86
4.4	Quarto Grupo de Reações.....	88
4.4.1	Análise Gravimétrica	89
4.4.2	Cromatografia de Permeação a Gel (GPC).....	90
4.4.3	Distribuição dos Tamanhos de Partículas	92
4.4.4	GPC com Detecção Simultânea de UV	93
4.4.5	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	94
4.4.6	Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR).....	95
4.4.7	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	95
4.4.8	Eficiência de Encapsulamento	97

4.4.9	Teste de Liberação do Fármaco	98	
4.5	Viscosimetria	100	
4.6	Teste do Sabor.....	101	
CAPÍTULO V CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS			
FUTUROS.....			103
5.1	Conclusões	103	
5.2	Sugestões para trabalhos Futuros	104	
CAPÍTULO VI REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....			105

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: DISTRIBUIÇÃO MUNDIAL DOS DIFERENTES TIPOS DE ESQUISTOSSOMOSE (FIOCRUZ, 2012).....	2
FIGURA 2.1.1- REPRESENTAÇÃO DAS DIFERENTES CLASSIFICAÇÕES DOS POLÍMEROS (ADAPTADO DE GRUND <i>ET AL.</i>, 2011).....	9
FIGURA 2.1.2- REPRESENTAÇÃO DAS TRÊS FORMAS DE LIBERAÇÃO DO MEDICAMENTO NOS SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE CONTROLE TEMPORAL (ADAPTADO DE UHRICH <i>ET AL.</i>, 1999).....	12
FIGURA 2.2.1- ESTRUTURA QUÍMICA DO PRAZIQUANTEL (* INDICA O CARBONO QUIRAL).	13
FIGURA 2.2.2- SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA BASEADO EM PERMEABILIDADE E SOLUBILIDADE (ADAPTADO DE MA E MOULTON, 2011).	14
FIGURA 2.4.1- REAÇÃO DE FORMAÇÃO DO POLI(METACRILATO DE METILA).	24
FIGURA 2.4.2- REAÇÕES ENVOLVIDAS NA DECOMPOSIÇÃO TÉRMICA DO PERÓXIDO DE BENZOÍLA (ADAPTADO DE COUTINHO E OLIVEIRA, 2006).....	27
FIGURA 2.4.3- PÉROLAS DE POLI(METACRILATO DE METILA) CARACTERIZADAS POR MICROSCOPIA ÓPTICA.....	30
FIGURA 3.1- REPRESENTAÇÃO DA UNIDADE EXPERIMENTAL UTILIZADA PARA A REALIZAÇÃO DAS POLIMERIZAÇÕES EM SUSPENSÃO EM BATELADA.	35
FIGURA 3.4- EQUIPAMENTO USADO PARA OS TESTES DE LIBERAÇÃO PROLONGADA.	43
FIGURA 4.1.1- CURVAS DE CONVERSÃO DE MONÔMERO DAS REAÇÕES R1, R2, R3 E R4, DEFINIDAS NA TABELA 4.1.1.....	46
FIGURA 4.1.2- ASPECTO VISUAL DOS PRODUTOS OBTIDOS DAS REAÇÕES (A) R1, (B) R2, (C) R3 E (D) R4, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1.....	47

FIGURA 4.1.3- EVOLUÇÃO DAS MASSAS MOLARES MÉDIAS (A) NUMÉRICAS E (B) PONDERAIS NAS REAÇÕES R1, R2, R3 E R4, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1.....	49
FIGURA 4.1.4- COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DOS TAMANHOS DE PARTÍCULAS DE PZQ E DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES R1, R2, R3 E R4, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1.....	50
FIGURA 4.1.5- ESPECTRO DE UV DE AMOSTRAS DE THF, PZQ SOLUBILIZADO EM THF E PMMA SOLUBILIZADO EM THF. EM (A) VARREDURA COMPLETA E EM (B) DESTAQUE DO PONTO DE INTERESSE.....	52
FIGURA 4.1.6- ANÁLISES ACOPLADAS DE GPC E DE UV DAS AMOSTRAS DE PRODUTOS DE R2, R3 E R4, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1.....	53
FIGURA 4.1.7- ANÁLISES SIMULTÂNEAS DE GPC E DE UV DAS AMOSTRAS (A) R1, (B) R2, (C) R3, (D) R4, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1.....	54
FIGURA 4.1.8- IMAGENS DO MEV EM DOIS GRAUS DE MAGNIFICAÇÃO DIFERENTES DE AMOSTRAS DAS CORRIDAS (A) R1, (B) R2, (C) R3 E (D) R4, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1.....	56
FIGURA 4.1.9- ESPECTROS DE FT-IR DO FÁRMACO PZQ E DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES R1, R2, R3 E R4.....	57
FIGURA 4.1.10- ANÁLISES DE DSC DAS AMOSTRAS DE (A) PZQ E DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES (B) R1, (C) R2, (D) R3 E (E) R4, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1.....	58
FIGURA 4.1.11- CURVA DE CALIBRAÇÃO DO HPLC DAS SOLUÇÕES DE PZQ EM METANOL EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES.....	60
FIGURA 4.1.12- CURVA DE CALIBRAÇÃO CONSTRUÍDA POR MEIO DE LEITURAS REALIZADAS NO HPLC DOS PADRÕES PREPARADOS.	60
FIGURA 4.1.13- ANÁLISES DE HPLC DAS AMOSTRAS DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES (A) R1, (B) R2, (C) R3 E (D) R4, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1.....	61
FIGURA 4.1.14- CURVA DE CALIBRAÇÃO CONSTRUÍDA POR MEIO DE LEITURAS REALIZADAS NO ESPECTROFOTÔMETRO DE UV VISÍVEL DOS PADRÕES PREPARADOS.....	62

FIGURA 4.1.15- COMPARAÇÃO ENTRE OS PERFIS DE LIBERAÇÃO DE PZQ, EM (A) ESCALA ATÉ 100% E (B) PERFIS MAIS DETALHADOS, DAS PARTÍCULAS RESULTANTES DAS REAÇÕES R1, R2, R3 E R4, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1.....	63
FIGURA 4.2.1- CURVAS DE CONVERSÃO DO MONÔMERO NAS REAÇÕES R1, R5 E R6, DEFINIDAS NA TABELA 4.1.1 E NA TABELA 4.2.1.....	66
FIGURA 4.2.2- ASPECTO VISUAL DOS PRODUTOS OBTIDOS DAS REAÇÕES (A) R5 E (B) R6, COMO DEFINIDOS NA TABELA 4.2.1.....	67
FIGURA 4.2.3- COMPARAÇÃO DA EVOLUÇÃO DAS MASSAS MOLARES MÉDIAS (A) NUMÉRICAS E (B) PONDERAIS DE AMOSTRAS DAS REAÇÕES R1, R5 E R6, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1 E NA TABELA 4.2.1.....	68
FIGURA 4.2.4- COMPARAÇÃO DAS DISTRIBUIÇÕES DOS TAMANHOS DE PARTÍCULAS DE PZQ E DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES R1, R5 E R6, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1 E NA TABELA 4.2.1.....	69
* CONDIÇÕES REACIONAIS DEFINIDAS NA TABELA 4.1.1 E NA TABELA 4.2.1.70	
FIGURA 4.2.5- ANÁLISES SIMULTÂNEAS DE GPC E UV DAS AMOSTRAS PRODUZIDAS NAS REAÇÕES (A) R1, (B) R5 E (C) R6, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1 E NA TABELA 4.2.1.....	71
FIGURA 4.2.6- IMAGENS DO MEV EM DOIS GRAUS DE MAGNIFICAÇÃO DIFERENTES DAS AMOSTRAS PRODUZIDAS NAS REAÇÕES (A) R5 E (B) R6, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.2.1.....	72
FIGURA 4.2.7 - ESPECTROS DE FT-IR DO FÁRMACO PZQ E DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES R1, R5 E R6, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1 E NA TABELA 4.2.1.....	73
FIGURA 4.2.8- ANÁLISES DE DSC DAS AMOSTRAS (A) PZQ, (B) R1, (C) R5 E (D) R6.....	74
FIGURA 4.2.9- ANÁLISES DE HPLC DAS AMOSTRAS PRODUZIDAS NAS REAÇÕES (A) R1, (B) R5 E (C) R6, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1 E NA TABELA 4.2.1.....	75

FIGURA 4.2.10- COMPARAÇÃO ENTRE OS PERFIS DE LIBERAÇÃO DE PZQ, EM (A) ESCALA ATÉ 100% E (B) PERFIS MAIS DETALHADOS, PELAS PARTÍCULAS PRODUZIDAS NAS REAÇÕES R5 E R6, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.2.1.	77
FIGURA 4.3.1- ASPECTO VISUAL DOS PRODUTOS OBTIDOS DAS REAÇÕES (A) R7, (B) R8 E (C) R9, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.3.1.....	79
FIGURA 4.3.2- COMPARAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DOS TAMANHOS DE PARTÍCULAS DE PZQ E DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES R1, R7, R8 E R9, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1 E NA TABELA 4.3.1.....	80
FIGURA 4.3.3 - IMAGENS DO MEV EM DOIS GRAUS DE MAGNIFICAÇÃO DIFERENTES DAS AMOSTRAS DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES (A) R7, (B) R8 E (C) R9, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.3.1.	82
FIGURA 4.3.4 - ESPECTROS DE FT-IR DO FÁRMACO PZQ E DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES R1, R7, R8 E R9, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1 E NA TABELA 4.3.1.....	83
FIGURA 4.3.5- ANÁLISES DE DSC DAS AMOSTRAS DE (A) PZQ E DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES (B) R1, (C) R7, (D) R8 E (E) R9, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1 E NA TABELA 4.3.1.....	84
FIGURA 4.3.6- ANÁLISES DE HPLC DAS AMOSTRAS DAS REAÇÕES (A) R1, (B) R7, (C) R8 E (D) R9 COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1 E NA TABELA 4.3.1. ..	85
FIGURA 4.3.7- COMPARAÇÃO ENTRE OS PERFIS DE LIBERAÇÃO DE PZQ, EM (A) ESCALA ATÉ 100% E (B) PERFIS MAIS DETALHADOS, PELAS PARTÍCULAS RETICULADAS PRODUZIDAS NAS REAÇÕES R7, R8 E R9, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.3.1.....	87
FIGURA 4.4.1- CURVAS DE CONVERSÃO DAS REAÇÕES R1, R4 E R10, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1 E NA TABELA 4.4.1.....	89
FIGURA 4.4.2- COMPARAÇÃO DA EVOLUÇÃO DAS MASSAS MOLARES MÉDIAS (A) NUMÉRICAS E (B) PONDERAIS NOS PRODUTOS DAS REAÇÕES R1, R4 E R10, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1 E NA TABELA 4.4.1.....	91
FIGURA 4.4.3- COMPARAÇÃO DAS DISTRIBUIÇÕES DOS TAMANHOS DE PARTÍCULAS DE PZQ E DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES R1, R4, R9, R10 E R11, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1, NA TABELA 4.3.1 E NA TABELA 4.4.1.....	92

FIGURA 4.4.4 - ANÁLISES SIMULTÂNEAS DE GPC E DE UV DAS AMOSTRAS DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES (A) R1 E (B) R10.....	93
FIGURA 4.4.5- IMAGENS DO MEV EM DOIS GRAUS DE MAGNIFICAÇÃO DIFERENTES DAS AMOSTRAS DAS REAÇÕES (A) R10 E (B) R11, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.4.1.....	94
FIGURA 4.4.6 - ESPECTROS DE FT-IR DO FÁRMACO PZQ E DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES R1, R4, R9, R10 E R11, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1, NA TABELA 4.3.1 E NA TABELA 4.4.1.....	95
FIGURA 4.4.7 - ANÁLISES DE DSC DAS AMOSTRAS DE (A) PZQ E DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES (B) R1, (C) R10 E (D) R11, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.4.1 E NA TABELA 4.4.1.....	96
FIGURA 4.4.8- ANÁLISES DE HPLC DAS AMOSTRAS DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES (A) R1, (B) R10, (C) R11, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1 E NA TABELA 4.4.1.....	97
FIGURA 4.4.9- COMPARAÇÃO ENTRE OS PERFIS DE LIBERAÇÃO DE PZQ, EM (A) ESCALA ATÉ 100% E (B) PERFIS MAIS DETALHADOS, PELAS PARTÍCULAS PRODUZIDAS NAS REAÇÕES R4, R9, R10 E R11, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.1.1, NA TABELA 4.3.1 E NA TABELA 4.4.1.....	99
FIGURA 4.5.1- VISCOSIDADES DAS SOLUÇÕES CONTENDO O MONÔMERO (MMA) E DIFERENTES CARGAS DO FÁRMACO (PZQ): 0%, 10%, 20% E 30%.	100
FIGURA 4.6.1- COMPARAÇÃO ENTRE OS PERFIS DE LIBERAÇÃO DE PZQ PELAS PARTÍCULAS PRODUZIDAS NA REAÇÃO R6, COMO DEFINIDO NA TABELA 4.2.1, ANTES E DEPOIS DA LAVAGEM.	102

LISTA DE TABELAS

TABELA 2.4.1: CONSTANTES CINÉTICAS DA POLIMERIZAÇÃO DO MMA.....	29
--	-----------

TABELA 4.1.1-FORMULAÇÕES UTILIZADAS PARA A PRODUÇÃO DO PRIMEIRO GRUPO DE MICROPARTÍCULAS POLIMÉRICAS.....	45
TABELA 4.1.2-MÉDIA DOS TAMANHOS DE PARTÍCULAS DE PZQ E DAS AMOSTRAS PRODUZIDA NAS REAÇÕES DO PRIMEIRO GRUPO	51
TABELA 4.1.3- TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA DAS AMOSTRAS DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES DO PRIMEIRO GRUPO.....	59
TABELA 4.1.4-QUANTIDADES DE PZQ ENCAPSULADO EM CADA AMOSTRA PRODUZIDA NAS REAÇÕES DO PRIMEIRO GRUPO	62
TABELA 4.2.1- FORMULAÇÕES UTILIZADAS PARA A PRODUÇÃO DO SEGUNDO GRUPO DE MICROPARTÍCULAS POLIMÉRICAS.....	65
TABELA 4.2.2-MÉDIA DOS TAMANHOS DE PARTÍCULAS DE PZQ E DAS AMOSTRAS PRODUZIDA NAS REAÇÕES DO PRIMEIRO E DO SEGUNDO GRUPO	70
TABELA 4.2.3- TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA DAS AMOSTRAS DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES DO SEGUNDO GRUPO.....	74
TABELA 4.2.4- QUANTIDADES DE PRAZIQUANTEL ENCAPSULADA EM CADA AMOSTRA PRODUZIDA NAS REAÇÕES DO SEGUNDO GRUPO.....	75
TABELA 4.3.1- FORMULAÇÕES UTILIZADAS PARA A PRODUÇÃO DO TERCEIRO GRUPO DE MICROPARTÍCULAS POLIMÉRICAS.....	78
TABELA 4.3.2-MÉDIA DOS TAMANHOS DE PARTÍCULAS DE PZQ E DAS AMOSTRAS PRODUZIDA NAS REAÇÕES DO PRIMEIRO E DO TERCEIRO GRUPO	80
TABELA 4.3.3- TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA DAS AMOSTRAS DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES DO TERCEIRO GRUPO.....	85
TABELA 4.3.4- QUANTIDADES DE PZQ ENCAPSULADA EM CADA AMOSTRA PRODUZIDA NAS REAÇÕES DO TERCEIRO GRUPO.....	86
TABELA 4.4.1- FORMULAÇÕES UTILIZADAS PARA A PRODUÇÃO DO QUARTO GRUPO DE MICROPARTÍCULAS POLIMÉRICAS.....	89

TABELA 4.4.2-MÉDIA DOS TAMANHOS DE PARTÍCULAS DE PZQ E DAS AMOSTRAS PRODUZIDA NAS REAÇÕES DO PRIMEIRO E DO TERCEIRO GRUPO	93
TABELA 4.4.3- TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA DAS AMOSTRAS DOS PRODUTOS DAS REAÇÕES DO QUARTO GRUPO	96
TABELA 4.4.4- QUANTIDADE DE PRAZIQUANTEL ENCAPSULADA EM CADA AMOSTRA DAS REAÇÕES DO QUARTO GRUPO	98

ÍNDICE DE SIGLAS

Sigla	Significado
PZQ	Praziquantel
MMA	Metacrilato de Metila
PMMA	Poli(metacrilato de metila)
BPO	Peróxido de Benzoíla
EGDMA	Dimetacrilato de Etileno Glicol
PVA	Poli(álcool vinínico)
GPC	Cromatografia de Permeação em Gel
UV	Ultravioleta
FT-IR	Infravermelho por Transformada de Fourier
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
Tg	Temperatura de Transição Vítrea
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial

Capítulo I

Introdução

1.1 Contextualização

A esquistossomose, também conhecida como “doença dos caramujos”, “barriga d’água” e “doença de Manson-Pirajá-da-Silva”, é uma doença infecciosa parasitária, causada por parasitas do gênero *Schistosoma*. No Brasil, a descoberta do gênero *schistosoma mansoni* foi reportada em 1908 pelo médico Manoel Augusto Pirajá da Silva (KATZ, 2008).

A transmissão da esquistossomose ocorre por meio de águas doces superficiais que contenham o caramujo, hospedeiro intermediário do parasita. O caramujo é infectado após a eclosão de ovos liberados nas fezes de seres humanos infectados (hospedeiros definitivos).

As cercárias alojam-se no caramujo até que ocorra o contato com seres humanos, penetrando pela pele ou mucosas. Dentro do organismo, os parasitas se localizam principalmente no fígado, onde se desenvolvem, atingindo a forma adulta no intestino, onde produzem novos ovos (MS, 2008-a).

Os sintomas da doença na fase inicial incluem o surgimento de coceiras e dermatites, embora possa ser assintomática. Posteriormente, a fase aguda é caracterizada por dores de cabeça, falta de apetite, febre, tosse, enjoo, vômito, diarreia e anorexia. A fase crônica apresenta diversas formas clínicas, podendo ocorrer aumento de volume e comprometimento do fígado e do baço (MS, 2008-a). Esta dilatação do abdômen característica é a origem do nome “barriga d’água”.

Por se tratar de uma doença tropical que atinge cerca de 50 países, como mostra a Figura 1, e ser comumente disseminada entre populações de classes econômico-sociais mais baixas, a esquistossomose está incluída no rol de doenças negligenciadas. Apesar de afetar milhares de pessoas, estudos para o desenvolvimento de novas formas de tratamento e de novos medicamentos não interessam o setor privado.

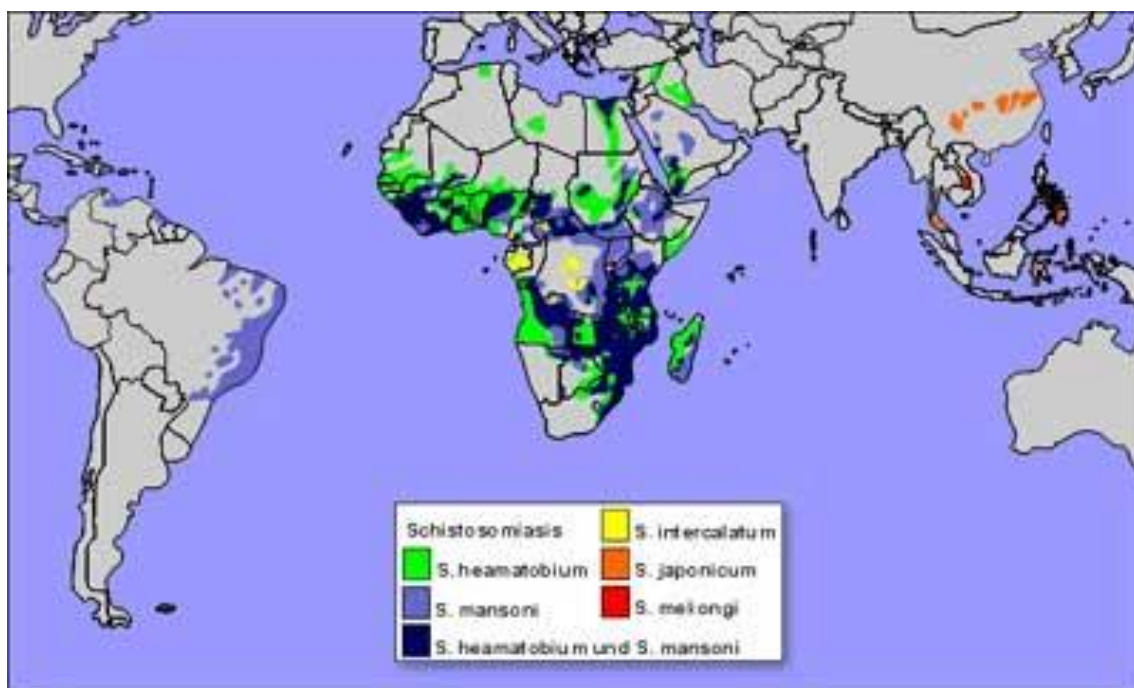


Figura 1: Distribuição mundial dos diferentes tipos de esquistossomose (FIOCRUZ, 2012).

Atualmente, o tratamento da doença é realizado por administração do fármaco praziquantel (PZQ) devido ao baixo custo, alta eficiência, segurança no uso prolongado, baixa toxicidade, boa tolerância e poucos efeitos colaterais, quando comparado a fármacos análogos (SULEIMAN *et al.*, 2004).

Os comprimidos de praziquantel são apresentados na forma padrão de 600 mg, sendo partidos para ajuste da dosagem em relação ao peso do paciente, o que pode gerar doses irregulares. Além disto, as crianças representam uma porcentagem expressiva no número de infectados, o que aumenta a dificuldade do tratamento, pois os comprimidos são grandes e dificultam a deglutição, além de apresentarem um sabor extremamente desagradável. Esses fatores contribuem para a rejeição da medicação e desperdício de

dosagens, diminuindo a eficiência do tratamento. Além dos fatores mencionados, o PZQ sofre um extenso efeito de primeira passagem no organismo, o que causa elevada perda de concentração plasmática e eficácia devido à geração de derivados hidroxilados e conjugados inativos (BRUNTON *et al.*, 2012).

Com desenvolvimento iniciado nos anos 60, sistemas poliméricos de liberação prolongada de fármacos apresentam grandes vantagens em sua utilização. Por ser constituído por uma matriz polimérica em que o medicamento é inserido, para que a liberação no organismo ocorra de forma gradual, este tipo de estrutura possibilita proteger o medicamento das agressões que possa vir a sofrer durante a passagem pelo corpo até que o fármaco chegue ao seu destino final. Além disto, os efeitos colaterais causados por alguns medicamentos pode ser reduzido com o confinamento na matriz polimérica, já que a liberação local evita o contato com outras áreas do organismo. Pode ser também atingido maior conforto para o paciente e maior segurança em tratamentos prolongados, pois a liberação gradual do fármaco permite a redução da posologia utilizada, além de possibilitar o estabelecimento de uma concentração mais constante do medicamento no plasma sanguíneo (GRUND *et al.*, 2011).

Devido às vantagens relatadas, foi desenvolvido um estudo por Fonseca (2012), visando à produção de nanopartículas poliméricas contendo PZQ, para o tratamento da esquistossomose. As nanopartículas desenvolvidas foram preparadas por meio da polimerização em miniemulsão do metacrilato de metila, com incorporação *in situ* do fármaco. A escolha do monômero está associada à sua biocompatibilidade. Além disto, dentre outros monômeros testados por Fonseca (2012), o metacrilato de metila apresentou melhor desempenho em relação à solubilização do fármaco, eficiência de encapsulamento, temperatura de manipulação e maiores conversões obtidas.

A nova formulação proposta para este medicamento tem por objetivo viabilizar a administração de doses adequadas e ajustáveis a cada paciente, conjugado à ausência de sabor, além de constituir um sistema de liberação contínua e gradual do fármaco, que pode resultar num tratamento mais eficiente, possibilitando o uso de menores quantidades do fármaco para o tratamento. Contudo, durante o processo de secagem das nanopartículas, baseado na técnica de liofilização, as partículas produzidas se aglomeravam como cachos de uvas, formando partículas porosas na escala micrométrica. Também foi observado pela autora que, com uma dada formulação, a

suspensão medicamentosa voltava a apresentar o sabor desagradável após aproximadamente 10 minutos, devido ao perfil de liberação do fármaco apresentado pelas partículas.

1.2 Objetivos

O presente trabalho tem por objetivo principal desenvolver e estudar um processo de encapsulamento de PZQ em matriz polimérica em escala micrométrica, por meio da polimerização em suspensão do metacrilato de metila e com incorporação *in situ* do PZQ, visto que os estudos anteriores apenas contemplaram a escala nanométrica, por meio da polimerização em miniemulsão. Como o processo em miniemulsão resulta em partículas aglomeradas e porosas na escala micrométrica, a produção de partículas com escala micrométrica pode auxiliar com o aumento do tempo característico para liberação do fármaco.

A utilização da técnica de polimerização em suspensão apresenta também a vantagem de não fazer uso de emulsificante. Fonseca (2012) utilizou o lauril sulfato de sódio (SLS) para conduzir as polimerizações em miniemulsão. O SLS aumenta a solubilidade do fármaco em água, o que acentua o problema do sabor. Por isso é necessária uma etapa de centrifugação para a separação dos cristais de fármaco residual presentes no produto final da reação.

Como objetivos específicos do presente trabalho, pode-se destacar:

- analisar o comportamento da reação de polimerização em suspensão do metacrilato de metila na presença de diferentes quantidades de praziquantel;
- analisar a influência da mudança de escala do tamanho das partículas produzidas no perfil de liberação do fármaco;
- analisar as mudanças nos perfis de liberação do fármaco na presença de aditivos adicionados nas formulações dos sistemas de liberação prolongada .

1.3 Estrutura da Dissertação

O Capítulo I apresenta uma contextualização do trabalho, introduzindo as principais ideias a serem desenvolvidas, explicando as razões para a realização deste trabalho e apresentando os objetivos a serem perseguidos. O Capítulo II apresenta uma revisão bibliográfica sobre o PZQ, fármaco que justifica o trabalho; sobre os sistemas de liberação controlada, incluindo o desenvolvimento e a utilização de polímeros nesta área; sobre a polimerização em suspensão, utilizada para a produção dos sistemas poliméricos de liberação prolongada estudados neste trabalho; e sobre o poli (metacrilato de metila), PMMA, polímero empregado como matriz polimérica. O Capítulo III descreve os procedimentos experimentais usados para a produção dos sistemas poliméricos de liberação prolongada, assim como os procedimentos adotados para a caracterização e testes de desempenho dos materiais produzidos. São relatados também os materiais e os equipamentos utilizados para a realização da pesquisa. O Capítulo IV apresenta os principais resultados obtidos e faz uma discussão sobre estes. No Capítulo V são apresentadas as principais conclusões obtidas e são feitas sugestões para a realização de trabalhos futuros. Finalmente, no Capítulo VI são apresentadas as referências bibliográficas utilizadas.

Este trabalho foi conduzido nas dependências do EngePol (Laboratório de Engenharia de Polimerização do Programa de Engenharia Química da COPPE/UFRJ), do LMSCP (Laboratório de Modelagem, Simulação e Controle de Processos do Programa de Engenharia Química da COPPE/UFRJ) e do LADEQ (Laboratório do Departamento de Engenharia Química da UFRJ). Algumas análises foram também conduzidas nas dependências do IMA (Instituto de Macromoléculas), do NUCAT (Núcleo de Catálise), do LABCOM (Laboratório de Combustíveis e Derivados de Petróleo da Escola de Química da UFRJ) e da FIOCRUZ (Fundação Oswaldo Cruz).

Capítulo II

Revisão Bibliográfica

2.1 Sistemas de Liberação Controlada

Os sistemas de liberação controlada são mecanismos através dos quais o medicamento pode ser inserido em uma matriz que o conduz pelo organismo, liberando-o em um local específico, sob um determinado regime ou em um tempo mais ou menos determinado. Cabe ressaltar que o uso de sistemas de liberação controlada não é exclusivamente farmacêutico, sendo esses sistemas também aplicados em outras áreas, como de cosméticos e na agricultura (UHRICH *et al.*, 1999). O estudo de sistemas de liberação controlada é, portanto, multidisciplinar, envolvendo comumente as áreas de farmácia, engenharia, química, física e medicina.

Os benefícios obtidos com esta nova formulação de medicamentos são muitos: (i) possibilita o desenvolvimento de novos tratamentos, antes não empregados por causa de impedimentos relacionados à forma de administração ou ao alcance do fármaco no organismo; (ii) possibilita a redução de efeitos colaterais, pois o medicamento pode ser liberado em locais específicos no organismo; (iii) protege o medicamento das agressões sofridas no organismo e aumenta o tempo de meia vida do fármaco; (iv) melhora as taxas de absorção do fármaco; (v) mantém a concentração do medicamento mais constante no plasma sanguíneo; (vi) permite ajustes nos perfis de liberação do fármaco; (vii) diminui a frequência das dosagens, o que pode proporcionar melhora no tratamento de pacientes em relação a desconfortos e cumprimento de horários (UHRICH *et al.*, 1999; UPTON *et al.*, 2007; MODY, 2010; GRUND *et al.*, 2011), dentre outras.

O desenvolvimento de um novo sistema de liberação controlada requer bastante pesquisa. Há muitos desafios que devem ser enfrentados, como a determinação de quais

materiais podem ser utilizados sem que existam riscos de toxicidade. Além disso, é necessário identificar se reações de degradação podem formar subprodutos indesejados. Pode ser também necessário eliminar materiais não biodegradáveis e avaliar o risco de ocorrer overdose por mau comportamento do sistema de liberação controlada ou ocorrer seu rompimento. Existe ainda o risco de o paciente apresentar reação adversa à formulação, havendo dificuldades para a remoção do sistema do organismo, principalmente se aplicado em dosagem suficiente para liberação por um período muito prolongado (UPTON *et al.*, 2007). Por causa destes fatores, sistemas de liberação controlada podem ser agrupados de duas formas, dependendo do uso de um novo material ou da manipulação de um material já existente (MODY, 2010). A vantagem de utilizar um material usual em aplicações biomédicas para a composição de novos sistemas de liberação controlada é a pré-aprovação da utilização destes materiais em seres humanos, com a segurança comprovada do uso.

Por todas as razões apresentadas, há grandes investimentos sendo feitos nesta área, que atingiram a quantia de US 134,3 bilhões em 2008. Estima-se que os investimentos cheguem a US 196,4 bilhões em 2014 (GRUND *et al.*, 2011), sendo que os investimentos feitos em produtos relacionados à nanoescala podem atingir US 70 a 160 bilhões em 2015 (SHI *et al.*, 2010).

2.1.1 Sistemas Poliméricos de Liberação Controlada

A utilização de polímeros na área biomédica ocorre desde meados da década de 40 do século XX, com a utilização de nylon para suturas. Há também relatos da utilização de PMMA e de poli(cloreto de vinila), PVC, para a fabricação de dispositivos médicos e farmacêuticos. Materiais poliméricos são usados hoje como próteses, enxertos vasculares, cateteres, órgãos artificiais, materiais odontológicos, para reparação de ossos, lentes de contato, dentre muitas outras aplicações (GRIFFITH, 2000; GASPAR e DUNCAN, 2007; MODY, 2010).

Os materiais poliméricos possuem grande importância para o desenvolvimento de aplicações com sistemas de liberação controlada porque podem ter suas propriedades físicas, químicas e físico-químicas facilmente modificadas, adaptando-se aos objetivos

que devem ser alcançados (IMANISHI, 1994), como massas molares médias, tamanho de partículas, porosidade, degradabilidade, apresentação de grupos ativos diferenciados em copolímeros, dentre outras.

O emprego desta classe de materiais para a fabricação de sistemas de liberação controlada foi iniciado nos anos 60 do século XX, com a utilização de implantes de tubos de silicone contendo anestésicos, para liberação do fármaco a uma taxa constante. Como consequência deste trabalho, surgiram os primeiros sistemas de liberação controlada de medicamentos em escala macroscópica, utilizando poli(etileno-co-acetato de vinila) como matriz. O Progestesert[®] foi utilizado como contraceptivo a partir de 1976 e o Ocusert[®] foi formulado para uso oftálmico para o tratamento de glaucoma, sendo lançado na década de 80 do século XX (HOFFMAN, 2008).

Nos anos 90 do século XX iniciaram-se pesquisas envolvendo sistemas em menores escalas, à base de micro e nanopartículas, para que pudessem atingir áreas no organismo até então não alcançadas. Isso possibilitou o desenvolvimento de novos tratamentos e o emprego de novos materiais para aplicações biomédicas (GRUND *et al.*, 2011; CHIRRA e DESAI, 2012).

Apesar da grande quantidade de pesquisas relacionadas à nanotecnologia, há apenas cerca de dez produtos nanotecnológicos aprovados para o uso clínico pela *Food and Drug Administration*, FDA, (órgão governamental americano responsável pelo controle e aprovação de novos alimentos, medicamentos, cosméticos entre outros) (SHI *et al.*, 2010). A dificuldade para aprovação da utilização de sistemas de liberação controlada de medicamentos em escala nanométrica, como ressaltado por Gaspar e Duncan (2009), encontra-se nas dúvidas que persistem sobre a segurança da utilização destes sistemas, bem como sobre a regulamentação e os testes mais apropriados para a comprovação da segurança. Deve-se ressaltar que um sistema com escala nanométrica pode atingir domínios celulares não disponíveis para micro e macro sistemas de liberação.

Os polímeros podem ser empregados em sistemas de liberação controlada de diversas formas, como: (i) conjugados de polímero e fármaco, polímero e proteína, polímero e DNA, e polímero e anticorpo; (ii) como dendrímeros, que são polímeros com estruturas bem definidas, com alta uniformidade molecular e baixa polidispersão (SAMAD *et al.*, 2009); (iii) como micelas poliméricas associadas a medicamentos; (iv)

como materiais híbridos (orgânicos e inorgânicos) que apresentam propriedades magnéticas, eletrônicas e térmicas especiais (MA e MOULTON, 2011); (v) como micro/nanoesferas e micro/nanocápsulas que contêm medicamento (DUNCAN, 2003; UPTON *et al.*, 2007; GRUND *et al.*, 2011).

A produção de nano/micropartículas poliméricas ocorre usualmente pela evaporação de um solvente de uma solução que contém o polímero e o medicamento. A remoção do solvente pode ocorrer também por dispersão em água ou por secagem por pulverização (GRIFFITH, 2000). Upton *et al.* (2007) destacam o inconveniente da possível presença de solvente residual no produto final obtido com essas técnicas, o qual pode apresentar toxicidade ou promover a degradação do medicamento. Uma possível alternativa é a granulação por fusão, em que o polímero é aquecido até a fusão, misturado ao fármaco e moldado. As altas temperaturas podem constituir uma limitação importante para a utilização desta técnica, pois pode ocorrer a degradação do medicamento ou da matriz polimérica.

Outras classificações podem ser propostas em relação às características dos materiais poliméricos e desenvolvimento dos sistemas de liberação controlada, como a forma de obtenção (naturais ou sintéticos), a estabilidade química (biodegradável ou não biodegradável) e a afinidade por água (hidrofóbicos ou hidrofílicos), como mostrado na Figura 2.1.1.

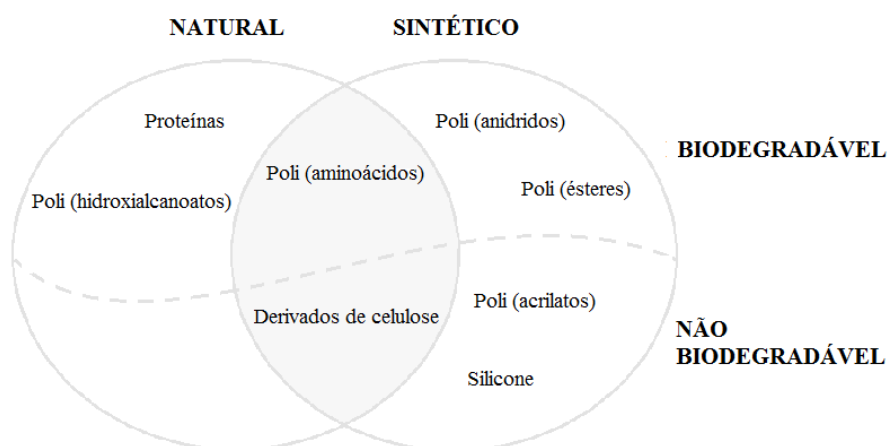


Figura 2.1.1- Representação das diferentes classificações dos polímeros (adaptado de GRUND *et al.*, 2011).

Polímeros biodegradáveis estão sujeitos a reações de hidrólise e de oxidação no organismo. Dentre os materiais biodegradáveis mais utilizados comercialmente em aplicações com seres humanos desde os anos 70 do século XX, encontram-se os poliésteres poli(ácido láctico), PLA, poli(ácido glicólico), PLGA, e o poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) por causa da boa biocompatibilidade e disponibilidade comercial (UPTON *et al.*, 2007; GRUND *et al.*, 2011). Os tempos característicos de degradação desses materiais podem variar de dias a anos, dependendo da composição do copolímero, das massas molares ponderais médias e do ambiente químico (GRIFFITH, 2000).

Os sistemas poliméricos de liberação controlada de medicamentos podem ser administrados por diferentes vias, como a oral, a parenteral, por inserção, a transdermal ou por implantes. A via oral representa cerca de 80% das formas farmacêuticas disponíveis no mercado. Além de ser uma forma mais conveniente de administração, a forma de administração oral de sistemas de liberação controlada é viabilizada pela passagem mais segura do fármaco pelo trato gastrointestinal, resistindo a baixos valores de pH e melhorando a aderência e penetração nos tecidos (CHIRRA e DESAI, 2012; ENSIGN *et al.*, 2012; MORISHITA e PEPPAS, 2012). Ainda assim, o muco (hidrogel complexo formado por proteínas, lipídeos, sais, carboidratos, bactérias, anticorpos e restos de células) representa um desafio mesmo para as nanopartículas. O muco possui a função de lubrificar e proteger as paredes do trato gastrointestinal de patógenos e corpos estranhos, sendo as camadas mais espessas presentes no estômago, para a proteção contra o ácido estomacal, e no cólon, devido às bactérias. Logo, mesmo as nanopartículas que conseguem transpor esta barreira e aderir eficientemente nas paredes do trato gastrointestinal, muitas vezes são removidas, limitando a eficiência da absorção e causando uma distribuição irregular das partículas. Porém, é possível a ocorrência da muco-adesão do polímero por meio de ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas (ENSIGN *et al.*, 2012).

Uma das considerações que devem ser feitas para determinar a viabilidade da utilização de um determinado polímero em um sistema de liberação de fármacos é o seu destino após a liberação do medicamento. Alguns polímeros são excretados pelos rins naturalmente. Polímeros biodegradáveis, por sua vez, devem ser reduzidos em subprodutos não tóxicos, até que sua excreção seja possível. Dependendo da via de administração, polímeros não biodegradáveis podem ser simplesmente removidos pelos

sistemas orgânicos convencionais, ocorrendo passagem pelo trato gastrointestinal quando a administração é oral (PEPPAS, 1995; UHRICH *et al.*, 1999; GRIFFITH, 2000; UPTON *et al.*, 2007).

2.1.1.1 Tipos de Controles dos Sistemas Poliméricos de Liberação

O processo de liberação do medicamento pode ser físico ou químico, ocorrendo em ambos fenômenos de difusão. Logo, fatores como a existência ou não de poros e de canais preferenciais na matriz polimérica, o formato, a área específica e o tamanho das partículas são fatores que podem influenciar o perfil de liberação (PROW *et al.*, 2011). A difusão é impulsionada pelo gradiente de concentração, ou também pela pressão osmótica, sendo afetada pelo inchamento da matriz polimérica pelos fluidos orgânicos. Os polímeros biodegradáveis sofrem hidrólise e têm a degradação promovida por ação enzimática no organismo, existindo mecanismo adicional de liberação do medicamento contido em seu interior (LEONG *et al.*, 1987). Pode ocorrer ainda a erosão física relacionada ao desgaste do material polimérico, que ocorre por um processo físico (UHRICH *et al.*, 1999).

Uhrich *et al.* (1999) caracterizam dois tipos básicos de controle de liberação do medicamento: o controle temporal e o controle de distribuição espacial. Por meio destes mecanismos, é possível uma melhor aplicação de medicamentos como quimioterápicos, antibióticos, anti-inflamatórios, anestésicos, hormônios, esteroides e vacinas. O controle temporal deve ser utilizado quando há a necessidade de tratamentos prolongados ou em um tempo específico. Este tipo de controle pode ser classificado em três diferentes formas (conforme ilustrado na Figura 2.1.2): o “atraso” do início da dissolução do medicamento, o controle difusivo e o controle do fluxo da solução do medicamento. No primeiro, o medicamento encontra-se confinado no interior da partícula polimérica, só sendo liberado por meio da degradação ou da solubilização da partícula. Esta estratégia é utilizada para a obtenção de uma exposição gradual do medicamento, sendo que o polímero apresenta uma dissolução mais lenta que a do medicamento. Na segunda forma, o medicamento deve difundir através da partícula polimérica insolúvel para que ocorra a liberação. Esta difusão pode ser facilitada pelo inchamento da partícula

polimérica, o que promove a criação de espaços na matriz que propiciam uma maior mobilidade do medicamento. Na terceira forma, o medicamento é liberado devido à pressão osmótica no interior da partícula polimérica semipermeável, que ocorre devido à entrada de água que carrega o medicamento para o exterior através dos poros das partículas. Este tipo de controle é bastante conveniente para medicamentos que sofrem rápida metabolização e eliminação do organismo.

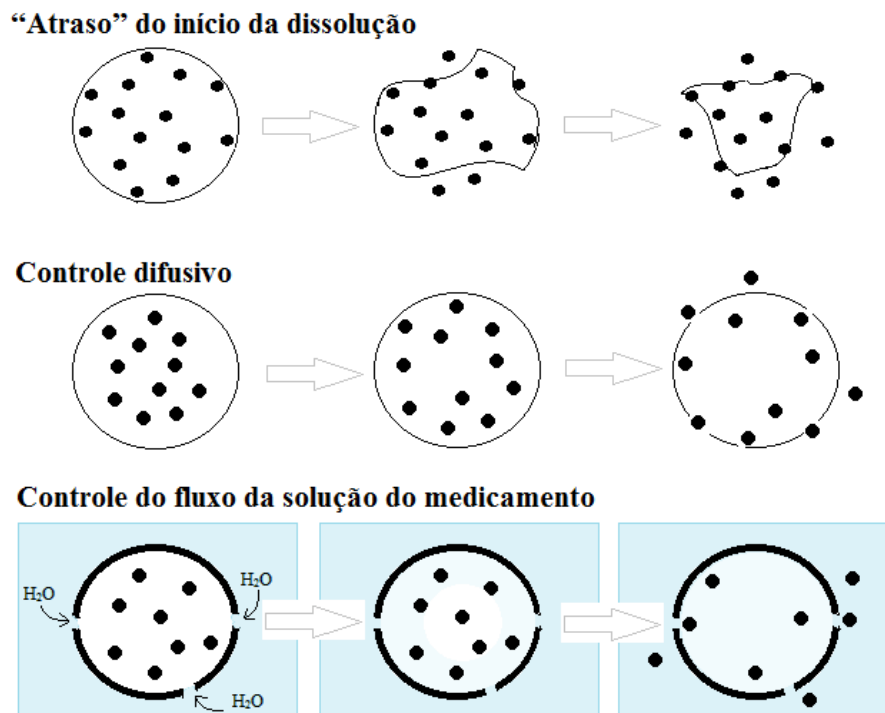


Figura 2.1.2- Representação das três formas de liberação do medicamento nos sistemas de liberação de controle temporal (Adaptado de UHRICH *et al.*, 1999).

O controle de distribuição espacial objetiva realizar a liberação do medicamento em um determinado local de ação no organismo. A maneira mais simples de obter este tipo de controle é por meio de colocação de implantes no local desejado, desde que esta prática não apresente risco ao paciente. Outras formas de realizar este tipo de controle é por meio do encapsulamento do medicamento, utilizando micropartículas, nanopartículas ou um conjugado do polímero com o medicamento. Desta forma, o sistema polimérico pode conduzir o medicamento até o local específico por conta de uma característica intrínseca do polímero ou da adição de algum marcador ao material.

Por exemplo, as lectinas promovem o reconhecimento e a aderência à mucosa intestinal na administração oral (CHIRRA e DESAI, 2012). Por meio deste tipo de controle, a concentração do medicamento na região alvo é aumentada, o que possibilita a utilização de menores dosagens e redução dos efeitos colaterais causados pelo fármaco, viabilizando tratamentos antes considerados agressivos.

Novos sistemas de liberação, formulados com polímeros inteligentes que respondem a estímulos externos, como variação de pH, aplicação de sinais magnéticos, variação de temperatura, aplicação de sinais elétricos, inchamento do polímero, modificação da força iônica dentre outros (UHRICH *et al.*, 1999; GRUND *et al.*, 2011). Uma família de materiais poliméricos que apresenta boas possibilidades de aplicação neste quesito são os hidrogéis, capazes de responder de forma reversível à variações do ambiente (CHIRRA e DESAI, 2012).

2.2 Praziquantel (PZQ)

Descoberto em 1972 nos laboratórios da Bayer, o Praziquantel (Figura 2.2.1), derivado da pirazinoisoquinolina, possui uma ampla ação anti-helmíntica contra diversos tipos de trematódeos e cestóides (CIOLI *et al.*, 2002; MURRAY *et al.*, 2009; BRUNTON *et al.*, 2011).

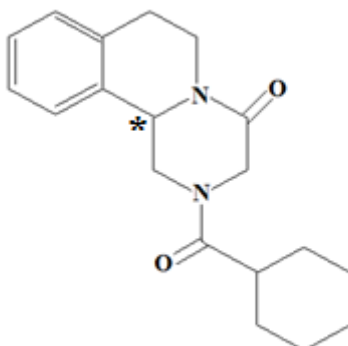


Figura 2.2.1- Estrutura química do Praziquantel (* indica o carbono quiral).

O Praziquantel, 2-(ciclohexilcarbonil)-1,2,3,6,7,11 b-hexahidro-4H-pirazino(2,1-a)isoquinolina-4-ona, possui massa molar de 312,4 g/mol, é um sólido branco, com um odor característico e um sabor extremamente desagradável. Pode-se dizer que é praticamente insolúvel em água (0,4 mg/ml) e solúvel em solventes orgânicos, como o clorofórmio e metanol. Em condições ambientes é estável e a fusão ocorre entre 136 e 140°C. Em relação à classificação no sistema biofarmacêutico no que diz respeito à solubilidade e permeabilidade (ilustrado na Figura 2.2.2), está situado na classe II, por possuir baixa solubilidade em água, e alta permeabilidade no trato gastrointestinal, com um coeficiente de permeabilidade de $4,4 \times 10^{-5}$ cm/s (CIOLI *et al.*, 2002; GONZÁLEZ-ESQUIVEL *et al.*, 2005; CAMPOS, 2009).

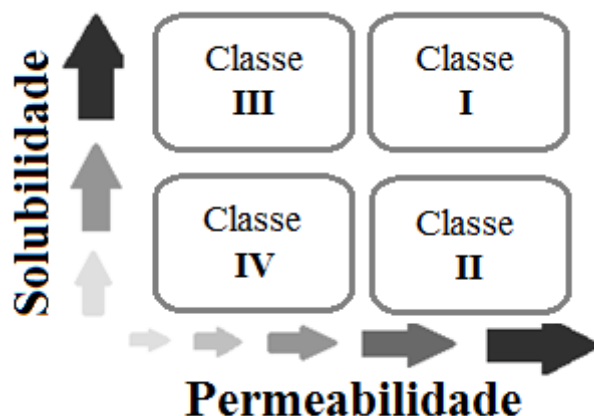


Figura 2.2.2- Sistema de Classificação Biofarmacêutica baseado em permeabilidade e solubilidade (adaptado de MA e MOULTON, 2011).

Composto por uma mistura racêmica, com carbono quiral identificado na Figura 2.2.1, sabe-se desde os anos 80 do século XX que apenas o enantiômero levógiro L-praziquantel possui ação anti-helmíntica (CIOLI *et al.*, 2002). Meyer *et al.* (2009) demonstraram que, além de não contribuir efetivamente nos tratamentos, o enantiômero D-praziquantel ainda seria o responsável por acentuar o sabor extremamente desagradável do medicamento.

O PZQ é rapidamente absorvido pelo organismo. O pico de concentração no plasma sanguíneo ocorre entre 1 e 2 horas, e seu tempo de meia vida plasmática é de 0,8

a 3 horas. Há uma grande perda da dose administrada devido ao efeito de primeira passagem, ocorrendo a formação de derivados hidroxilados e conjugados inativos na passagem pelo fígado. Seu mecanismo de ação ainda é desconhecido. Sabe-se, contudo, que ao ser consumido por helmintos sensíveis, ocorre uma contratura muscular, devido a uma elevação da quantidade de íons de cálcio, seguida de paralisia espástica, causando o despreendimento dos parasitas das paredes dos vasos sanguíneos. E em maiores concentrações, o PZQ promove a ruptura do tegumento, deixando os parasitas expostos a antígenos (MAYERS *et al.*, 2009; MURRAY *et al.*, 2009; BRUNTON *et al.*, 2012).

A ampla utilização do PZQ desde os anos 80 do século XX é justificada pela eficiência no combate a todos os tipos de esquistossomoses que infectam os seres humanos, o baixo custo, a segurança no uso prolongado e os poucos efeitos colaterais, se comparado aos demais medicamentos usados para combate da esquistossomose, como a oxamniquina e o metrifonato, os quais são eficientes apenas para alguns tipos de esquistossomoses (SULEIMAN *et al.*, 2004; NOGI *et al.*, 2009).

Devido a tal importância, o PZQ encontra-se presente na lista de medicamentos essenciais da Organização Mundial de Saúde (OMS) (WHO, 2013). Este medicamento é apresentado usualmente na forma de comprimidos de 150 mg e 600 mg, que devem ser engolidos sem mastigação para evitar vômito, devido ao forte sabor. Os comprimidos precisam ser partidos para ajuste de dosagem, que é de 40 mg/kg em dose única ou de 20 mg/kg a cada 8 horas por um dia, para o combate da esquistossomose (MS, 2008-b). Desta forma, as doses consumidas podem ser irregulares e há dificuldade, principalmente por parte das crianças, de ingerir o medicamento, tanto por causa do tamanho do comprimido quanto pelo sabor, que não consegue ser mascarado por métodos tradicionais, como adição de aromatizantes e açúcar (MEYER *et al.*, 2009).

2.2.1 Trabalhos Realizados com Praziquantel em Sistemas de Liberação Prolongada

Pode-se observar na literatura que alguns trabalhos vêm sendo realizados com o objetivo de aumentar a solubilidade do PZQ, bem como aumentar o tempo de residência do PZQ no organismo, o que tornaria sua utilização mais efetiva e viabilizaria a redução

nas dosagens atualmente utilizadas. Para isso, diferentes estratégias para a utilização de sistemas poliméricos de liberação prolongada do PZQ vêm sendo investigadas.

Ammar *et al.* (1993) propuseram a utilização de um sistema à base de lipossomas, constituídos por diferentes frações molares de L- α -dipalmitoil fosfatidilcolina e colesterol, preparados com a utilização de clorofórmio. Este sistema apresentou bom desempenho, comprovado por testes *in vivo*, que apontaram maior direcionamento dos lipossomas para o fígado. A ação profilática foi comprovada pela liberação prolongada estabelecida.

El-Arini e Leuenberger (1998) avaliaram o comportamento de dispersões sólidas de PZQ com polivinilpirrolidona, comparando este sistema aos desempenhos das misturas físicas dos dois componentes e ao PZQ puro. O preparo do material se deu pela técnica de evaporação do solvente, com a utilização de soluções etanólicas. Foi observado um aumento de liberação do PZQ em relação ao uso do PZQ puro, porém inferior se comparado ao desempenho da mistura física. Também foi observada a formação de possíveis complexos de Praziquantel-polivinilpirrolidona presentes na dispersão sólida.

Becket *et al.* (1999) procuraram aumentar a solubilidade do PZQ para que este pudesse ser aplicado por via parenteral por meio da formação de complexos com α -, β - e γ -ciclodextrinas. Apesar de todas as formas terem melhorado a solubilidade do PZQ em água, somente o complexo formado com a β -ciclodextrinas apresentou estabilidade adequada.

Passerini *et al.* (2006) produziram partículas contendo PZQ de 200 a 500 μm à base de poli(etileno glicol), PEG, 4000 e Poloxamer 188 pelas técnicas de granulação por fusão e liofilização. Somente as partículas à base de Poloxamer 188 conseguiram aumentar de forma significativa a taxa de dissolução do fármaco quando comparada à forma pura. Assim, os autores mostraram uma forma de construção de um sistema de liberação sem a presença de solvente, rápida, eficiente e de baixo custo.

Campos (2009) estudou a produção sistemas de hidrogéis de dextrano contendo PZQ por meio da técnica de evaporação de solvente, utilizando diferentes razões do fármaco. Testes de dissolução realizados em meio ácido mostraram um perfil de liberação lento e contínuo, devido ao aprisionamento do PZQ na matriz polimérica.

Cheng *et al.* (2009) produziram implantes de poli(ϵ -caprolactona) contendo PZQ por meio da adição do fármaco ao polímero fundido. O formato foi obtido pela utilização de moldes cilíndricos, com período de liberação de 365 dias. Avaliando o perfil do implante, foram detectadas colorações distintas: rosa no interior e um anel branco em volta. Em análises realizadas, comprovou-se que a região branca era pobre em PZQ, enquanto a região rosa possuía uma concentração elevada de PZQ. Conforme era realizada a liberação do fármaco, a região branca aumentava uniformemente, mostrando a difusão gradual do PZQ pela matriz polimérica.

Souza (2011) produziu nanopartículas lipídicas sólidas contendo PZQ encapsulado. Como fase lipídica, foi utilizado o ácido esteárico. O preparo destas nanopartículas foi feito por meio de um método modificado de microemulsão de óleo em água, utilizando o lipídio fundido. A eficiência do encapsulamento foi de 99% e a capacidade de carga do fármaco de 17%. Foi comprovado o prolongamento do efeito do fármaco por meio de sua incorporação ao sistema, com diminuição da citotoxicidade.

Fonseca (2012) desenvolveu nanopartículas de poli(metacrilato de metila) (PMMA) contendo PZQ. A produção deste sistema se deu por meio da polimerização em miniemulsão, com incorporação *in situ* do fármaco. Foi considerada também a utilização do ácido acrílico e do acetato de vinila como monômeros para a confecção das nanopartículas, que foram descartados devido ao melhor desempenho do MMA nos testes realizados. Além de utilizar uma nova técnica de produção de sistema encapsulado, a autora teve o objetivo de mascarar o sabor extremamente desagradável do fármaco.

Fonseca (2012) mostrou que as nanopartículas produzidas se aglomeravam durante o processo de secagem por liofilização. Os aglomerados apresentavam escala micrométrica, porém elevada área específica, resultando em perfil de liberação em que, após aproximadamente 15 minutos, o fármaco era totalmente liberado. Devido a esta rápida liberação, o mascaramento do sabor não foi completamente satisfatório, como descrito pela autora. Após a suspensão das nanopartículas em água, a solução medicamentosa voltava a apresentar o sabor característico do medicamento depois de cerca de 20 minutos, sendo necessário o consumo imediato.

2.3 Polimerização em Suspensão

A técnica de polimerização em suspensão foi desenvolvida originalmente em 1909 por Hoffman e Delbruch (DOWDING e VINCENT, 2000). Este processo heterogêneo de reação de polimerização consiste essencialmente na dispersão de uma fase orgânica, constituída por um ou mais monômeros e um iniciador dissolvido neste(s), em uma fase aquosa, que contém uma pequena quantidade de agente estabilizante. Para que esta dispersão seja mantida estável, é necessário que o sistema esteja sob forte agitação.

A reação ocorre inicialmente com a formação de gotículas de monômero contendo iniciador em um dispersante, normalmente água, com diâmetro que varia entre 10 e 1000 μm . A relação em peso das quantidades de água e monômero envolvidas é usualmente de 1:1 a 4:1 na maioria das reações (MANO e MENDES, 1999; ODIAN, 2004). As gotículas apresentam variações de tamanho devido aos fenômenos de quebra e coalescência, que determinam a distribuição final de tamanho de partícula do material produzido. O agente estabilizante possui a função de estabilizar as gotículas de monômero, adsorvendo sobre a superfície das gotas e formando uma fina película, que mantém a integridade das gotas ao longo da reação por conta de fatores físicos (película) e físico-químicos (redução de tensão interfacial). As gotículas sofrem uma transformação ao longo da reação, passando de um estado líquido para um estado pegajoso, devido à formação do polímero, e por fim a uma partícula rígida (MACHADO *et al.*, 2007).

Kiparissides (1996) caracterizou a existência de três etapas características durante este processo. Na etapa inicial há a predominância do mecanismo de quebra, que reduz o tamanho das gotículas de monômero na suspensão, promovendo uma relativa homogeneidade da distribuição de tamanhos. Na etapa intermediária, ocorre a redução da taxa de quebra das gotículas, em função do aumento da viscosidade da mistura que confere um aspecto pegajoso à partícula. A distribuição de tamanhos é então ampliada, devido a um equilíbrio entre as taxas de quebra e coalescência. Neste ponto é definido o grau de estabilidade da suspensão. Por fim, se a suspensão for instável, ocorre a coalescência descontrolada; caso contrário, as taxas de quebra e coalescência se tornam nulas e as partículas rígidas, com distribuição de tamanhos de

partículas inalterada. A separação das etapas intermediária e final é definida pelo ponto de identificação da partícula (PIP). A partir do PIP, torna-se impossível o controle da distribuição de tamanhos de partículas, o que ocorre na maioria dos casos quando se atinge uma conversão do monômero na faixa de 65 a 80%, a depender das condições de operação utilizadas (MACHADO *et al.*, 2007).

A técnica de polimerização em suspensão é bastante utilizada para a fabricação de polímeros comercialmente importantes, como o poliestireno, o poli(cloreto de vinila), o poli(metacrilato de metila), o poli(acetato de vinila) e seus copolímeros. Neste processo são reunidas muitas das vantagens presentes nas polimerizações em massa e em emulsão (MANO e MENDES, 1999). Algumas das vantagens são: (i) o baixo custo de operação; (ii) a flexibilidade, que possibilita a modificação das propriedades das partículas poliméricas produzidas, como o controle da distribuição de tamanhos; (iii) a baixa viscosidade do meio reacional, devido à presença de uma fase dispersante contínua, que facilita a troca térmica no controle da temperatura; (iv) a elevada velocidade de reação, quando comparada à polimerização em solução; (v) a relativa homogeneidade nos formatos e tamanhos do produto obtido; (vi) a facilidade do processo de separação do produto final; (vii) e o baixo teor de impurezas no produto final (POLLACO *et al.*, 1996; MACHADO *et al.*, 2007; SANTOS, 2012). A utilização da técnica de polimerização em suspensão apresenta ainda como vantagem adicional o fato de não fazer uso de emulsificante. Fonseca (2012) usou lauril sulfato de sódio (SLS) na polimerização em miniemulsão, substância que aumenta a solubilidade do PZQ em água. Isso magnifica o problema do sabor desagradável, requerendo uma etapa de centrifugação do meio líquido para a separação dos cristais de fármaco presentes no produto final da reação.

Em relação às desvantagens do processo de polimerização em suspensão pode-se citar: (i) a baixa produtividade do reator, devido ao volume ocupado pelo solvente; (ii) a dificuldade para a produção de copolímeros com composição homogênea; (iii) a aderência do polímero produzido nas paredes do reator e no impelidor, o que dificulta o desenvolvimento de um processo contínuo; (iv) e dificuldade de remoção do monômero e do agente estabilizante residuais do produto final (MANO e MENDES, 1999; SANTOS, 2012).

2.3.1 Fatores que Influenciam a Distribuição de Tamanhos de Partícula

A agitação mecânica do meio reacional, combinada com a presença do agente estabilizante, é responsável pela formação da dispersão do monômero na fase contínua, originando as gotículas. Isto ocorre devido à imiscibilidade dos dois líquidos, resultando em gotas de diferentes tamanhos. As gotas estão sujeitas aos fenômenos de quebra, que reduzem o tamanho por ação das tensões de cisalhamento, e de coalescência, que aumentam o tamanho das gotas por meio de aglomeração.

O tamanho médio das gotículas é influenciado fortemente pela velocidade de agitação, sendo que maiores velocidades tendem a formar gotículas menores. A quebra ocorre principalmente nas proximidades do impelidor, sendo que a presença de chicanas no reator influencia significativamente a distribuição final de tamanhos de partículas (SANTOS, 2012).

Church e Shinnar (1961) classificam as dispersões em três tipos:

- Dispersões estáveis: também denominadas emulsões, em que a integridade é mantida após o preparo na ausência de agitação por um considerável período de tempo, dependendo das condições de armazenamento;
- Dispersões instáveis: somente mantidas na presença da agitação, sem a qual a dispersão é quebrada e as fases são separadas, já que a agitação promove a ocorrência contínua dos fenômenos de quebra e coalescência;
- Dispersões estabilizadas por turbulência: em que a estabilidade é vinculada à agitação e à adição de coloides, que atuam de forma protetora para minimizar o efeito de coalescência, proporcionando estabilidade às gotas.

O terceiro tipo de dispersão corresponde à polimerização em suspensão, cuja integridade é mantida pela ação do agente estabilizante, sem o qual ocorre aglomeração após ser atingido certo grau de polimerização.

Os agentes estabilizantes inicialmente diminuem a tensão interfacial entre a fase orgânica e aquosa, propiciando a dispersão mais fácil das gotículas de monômero formadas. Posteriormente, por estarem adsorvidos na superfície das gotas, protegem mecanicamente as gotículas, minimizando as taxas de quebra e coalescência (MACHADO *et al.*, 2007). A eficiência do agente estabilizante na reação está vinculada às condições de operação utilizadas. Uma maior agitação resulta na formação de menores gotículas, requerendo maiores quantidades de agente estabilizante devido ao aumento da área específica. Velocidades de agitação extremamente altas podem provocar a dessorção do agente estabilizante da superfície das gotículas de monômero, tornando a película protetora mais fina, acarretando na aglomeração das partículas (LAZRAK *et al.*, 1998). Além da influência sobre a distribuição de tamanhos de partículas, os agentes estabilizantes também afetam o formato, a transparência e a cristalinidade das partículas formadas (MACHADO *et al.*, 2007).

Há três tipos básicos de agente estabilizante (SANTOS, 2012):

- polímeros orgânicos solúveis em água;
- pós inorgânicos insolúveis em água e finamente divididos;
- misturas de estabilizantes;

A quantidade de iniciador adicionada ao meio reacional também influencia a distribuição final de tamanhos de partículas, pois a taxa de polimerização influencia a viscosidade do meio, afetando as taxas de quebra e coalescência. Presentes em maior quantidade, a maior quantidade de sítios ativos aumenta a taxa reacional, o que aumenta com maior velocidade a evolução da viscosidade das gotículas, resultando em tamanhos médios de tamanhos de partícula menores. Já uma menor concentração de iniciador no meio reacional promove o aumento do tamanho médio final das partículas devido à diminuição da taxa reacional, o que expõe as gotículas a um maior número de colisões antes que seja atingido o PIP (MELO, 2009).

Geralmente são utilizados como iniciadores os peróxidos orgânicos e os azocompostos. Os iniciadores são adicionados ao monômero antes do início da reação, em temperatura inferior à de trabalho e em quantidades na faixa de 0,1 a 0,5% em peso em relação à quantidade de monômero (MACHADO *et al.*, 2007).

A incorporação de solventes à fase orgânica pode ser realizada com o intuito de reduzir a velocidade da polimerização, reduzir as massas molares médias ou de alterar a morfologia das partículas poliméricas, permitindo a criação de estruturas porosas. As pérolas produzidas na polimerização em suspensão convencional são muito pouco porosas (MACHADO *et al.*, 2007).

Quando se adiciona um diluente orgânico, no decorrer da polimerização pode ocorrer a separação de fases, sendo uma rica em polímero e a outra rica em diluentes. O polímero pode então precipitar formando um aglomerado de microesferas. De acordo com a afinidade termodinâmica do diluente pelo polímero, diferentes alterações estruturais podem ocorrer. Caso o diluente apresente afinidade pelo polímero, as cadeias poliméricas que formam as microesferas tornam-se menos emaranhadas, o que diminui a compactação das microesferas e faz com que surjam pequenos poros em sua estrutura. Caso esta afinidade não ocorra, as cadeias poliméricas ficam menos inchadas e mais emaranhadas, formando uma estrutura de microesferas mais compactadas (CARDOSO e LUCAS, 2004).

2.3.2 Tipos de Polimerização em Suspensão

Dependendo da maneira com que a reação de polimerização em suspensão é conduzida, podem ser atribuídas características diferentes às partículas produzidas, com alterações das distribuições de tamanho, do formato da superfície, da composição, distribuição das massas molares, da homogeneidade das partículas, dentre outros aspectos. A polimerização em suspensão, como descrito por Machado *et al.* (2007), pode ser classificada em 7 tipos principais, de maior relevância comercial, descritos a seguir.

A polimerização em suspensão do tipo granular ocorre quando o monômero não é solvente do polímero formado. Logo, ocorre ao longo da reação a precipitação do polímero formado, mantendo a gotícula em estado líquido, com uma fase de monômero, o que torna a reação mais lenta e confere o aspecto característico às partículas poliméricas finais, opacas e irregulares, de cachos de uvas.

A polimerização em suspensão do tipo pérola ocorre quando o polímero formado é solúvel no monômero. Desta forma, o formato final de “pérolas” das partículas poliméricas obtidas ao final da reação se deve à distribuição inicial dos tamanhos das gotículas de monômero formadas, e da sua evolução ao longo da reação.

A polimerização em suspensão do tipo inversa ocorre quando o monômero utilizado é solúvel em água. Portanto, como sugerido pelo nome, há a inversão da configuração do sistema, sendo o monômero disperso numa matriz contínua orgânica.

A polimerização em suspensão do tipo dispersão é iniciada com um sistema homogêneo, composto pelo monômero, iniciador, agente estabilizante e um solvente orgânico. À medida que a polimerização avança, o sistema torna-se heterogêneo devido à não solubilidade do polímero formado no solvente, o qual precipita. Estas partículas poliméricas formadas são estabilizadas pelo agente estabilizante presente no meio e desenvolvem-se pela captação de monômeros e radicais do meio contínuo. Neste processo, as partículas apresentam diâmetros entre 1 e 10 μm , o que representa uma faixa de tamanho intermediária entre as partículas produzidas pela polimerização em emulsão e a polimerização em suspensão tradicional.

A polimerização em suspensão do tipo microssuspensão produz partículas com diâmetros inferiores, numa faixa de 0,1 a 10 μm , tamanho este situado entre os tipicamente obtidos nas polimerizações em emulsão e suspensão. Neste processo, devido à baixa tensão interfacial do meio reacional, atingida com a adição de grandes quantidades de agentes de suspensão, é possível reduzir o tamanho das gotículas de monômero formadas de forma mecânica (homogeneização), com auxílio de altas taxas de cisalhamento. Com isto, uma pequena parte da reação pode ocorrer em emulsão, o que pode conferir ao produto final obtido propriedades não uniformes em relação ao tamanho, massa molar e composição.

A polimerização do tipo massa-suspensão, ou semi-suspensão, ocorre em duas etapas. Num primeiro estágio, é realizada uma polimerização em massa ao longo de um determinado período de tempo. Posteriormente, o meio reacional é disperso em um reator que contém uma fase aquosa, na presença do estabilizante, seguindo desta forma até o fim da reação. Esta forma de condução da polimerização em suspensão permite obter uma distribuição de tamanhos de partícula mais estreita.

A polimerização do tipo suspensão-emulsão também utiliza duas técnicas diferentes de polimerização em série. Neste processo, a polimerização se inicia como uma suspensão e posteriormente é conduzida simultaneamente uma polimerização em emulsão. Desta forma, é possível a produção de partículas do tipo casca-núcleo, em que o núcleo rígido é formado durante a polimerização em suspensão e a casca porosa é formada na etapa em que a polimerização é conduzida em emulsão. Pode-se também produzir partículas com uma distribuição bimodal de massas molares, sendo as partículas com massas molares inferiores obtidas pelo processo em suspensão e as de massas molares mais elevadas produzidas na etapa conduzida em emulsão.

2.4 Poli(metacrilato de metila) (PMMA)

O metacrilato de metila (MMA), monômero utilizado na reação de polimerização para a obtenção do poli(metacrilato de metila), Figura 2.4.1, foi descoberto em 1928 (SILVA, 2007). Trata-se de um líquido incolor, de odor forte e irritante, com temperatura de ebulição de 100,5 °C. O PMMA se destaca na classe dos metacrilatos, sendo que a produção de PMMA representa 90% do volume total de polimetacrilatos (ODIAN, 2004).

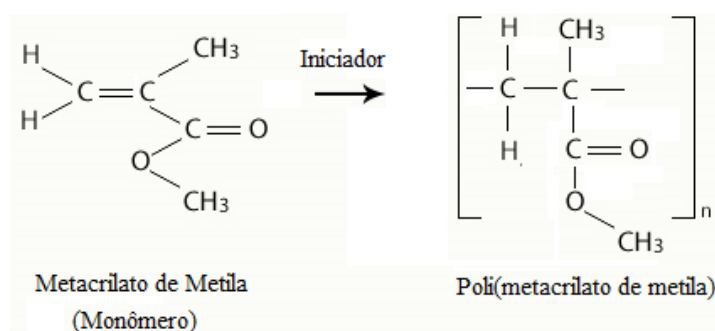


Figura 2.4.1- Reação de formação do poli(metacrilato de metila).

O PMMA pode ser obtido por meio das reações de polimerização em solução, suspensão e emulsão. A primeira polimerização em suspensão utilizando monômeros

acrílicos para a obtenção de partículas esféricas foi realizada em 1931 por Bauer e Lauth (DOWDING e VINCENT, 2000). Este polímero termoplástico é completamente amorfo, possui elevada resistência química e mecânica, embora seja atacado por solventes orgânicos, apresenta excelente estabilidade dimensional e boas propriedades ópticas. Devido a tais características, o PMMA é amplamente utilizado para confecção de produtos com grau elevado de rigidez, resistente a impactos, alta transparência e leveza, como no caso de letreiros, de substitutos do vidro em janelas, tubos, dentre outros. O PMMA também é aplicado para a produção de outros materiais, como aditivo de óleos e fluidos, pigmentos, redutor da contração de lã, dentre outras aplicações (ODIAN, 2004). Lançado no mercado em 1933, o PMMA é comercialmente conhecido como Altuglas, Perspex, PlazcrynAcrylplast, Plexiglas e Lucite. No Brasil, sua produção é realizada pelas companhias Metacryl, na Bahia, e Rohm e Haas, em São Paulo (SILVA, 2007).

A aplicação do PMMA foi estendida à área biomédica devido ao processamento simples e boa biocompatibilidade, conhecida desde a Segunda Guerra Mundial, quando fragmentos de PMMA foram encontrados alojados em feridos sem que estes provocassem quaisquer reações no tecido (APPLE e SIMS, 1996). Por isso, o PMMA é utilizado para a fabricação de lentes de contato, bombas de sangue, membranas para diálise de sangue e próteses dentárias e ósseas (SANTOS, 2007).

2.4.1 Cinética de Polimerização em Suspensão do Metacrilato de Metila

A cinética da polimerização em suspensão é comumente associada à cinética da polimerização em massa, considerando-se que cada gotícula se comporta como um pequeno reator, no qual ocorre a polimerização em massa. Dessa forma, os produtos dos diferentes micro reatores podem ser somados e tratados como um sistema único, considerando-se o produto total como a soma dos produtos individuais (KALFAS *et al.*, 1993).

Os mecanismos cinéticos que constituem a polimerização em cadeia, via radicais livres, podem ser divididos classicamente em etapas de iniciação, propagação,

transferência de cadeia e terminação, que pode se dar por combinação ou por desproporcionamento (COUTINHO e OLIVEIRA, 2006).

Na etapa de iniciação ocorre a formação de centros ativos, que originam as cadeias poliméricas. Esta etapa pode ser representada por duas reações. Na primeira reação ocorre a decomposição do iniciador (I) em um par de radicais (R^\bullet), como representado na Equação 2.4.1. k_d representa a constante de velocidade desta reação.



A segunda reação, representada na Equação 2.4.2, ocorre instantaneamente após a primeira. O radical (R^\bullet) reage com uma molécula do monômero, produzindo um radical de cadeia (P_1^\bullet), com uma constante de velocidade de adição k_1 .



As reações de decomposição térmica do peróxido de benzoflona, iniciador amplamente utilizado nas reações de polimerização em suspensão podem ser vistas na Figura 2.4.2, onde os colchetes representam a concha de solvatação. Dentre as reações apresentadas, somente as reações 2.4.5, 2.4.7 e 2.4.9 conduzem efetivamente à iniciação da polimerização. Dentre as demais, a reação 2.4.4 é a maior responsável pela diminuição da eficiência do iniciador, pois as espécies ativas estão na mesma concha de solvatação, o que aumenta a probabilidade de ocorrência desta reação (COUTINHO e OLIVEIRA, 2006).

Devido à existência destas reações laterais, nem todas as reações que ocorrem com o iniciador geram, de fato, radicais que dão início a novas cadeias poliméricas. Por isso, costuma-se fazer uso de um fator de eficiência “ f ”, que varia entre 0 e 1, associado à reação de decomposição.

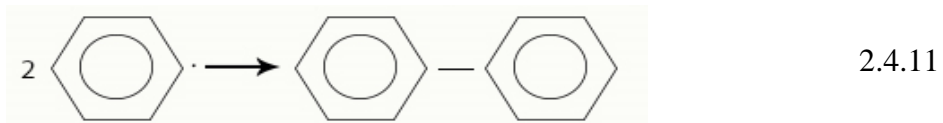
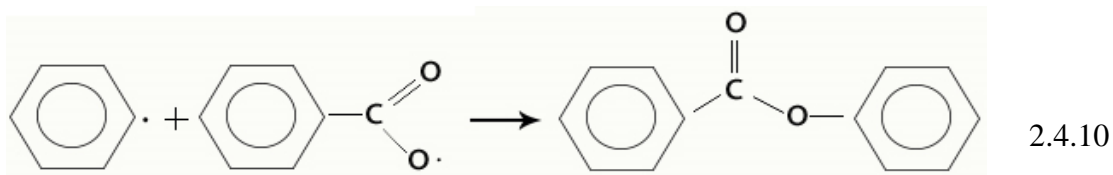
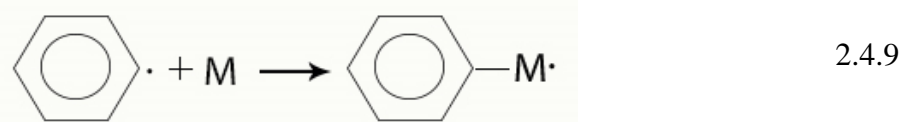
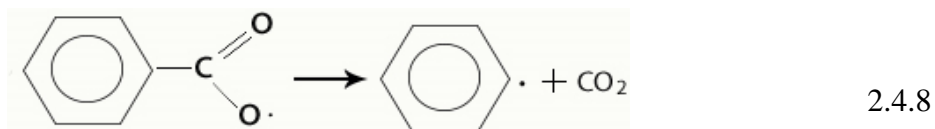
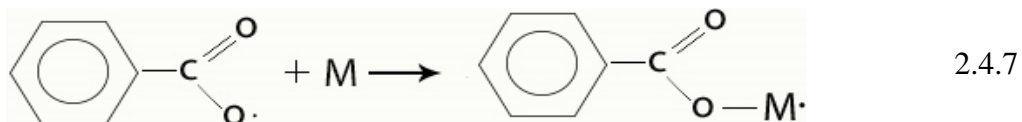
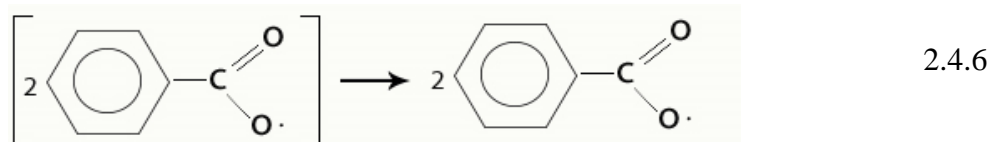
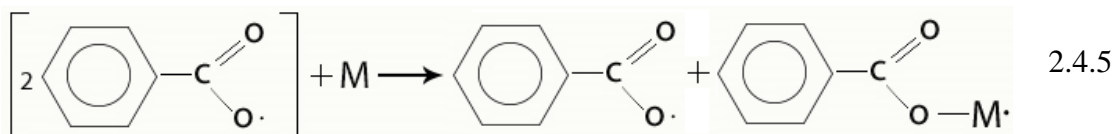
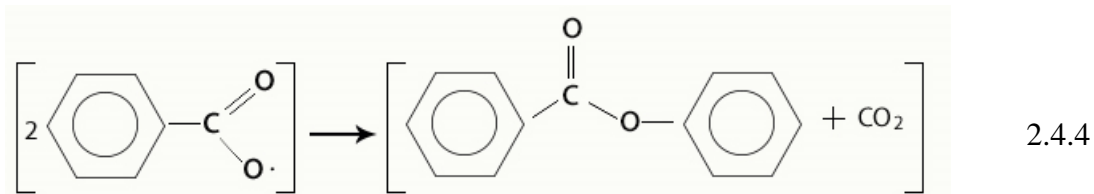
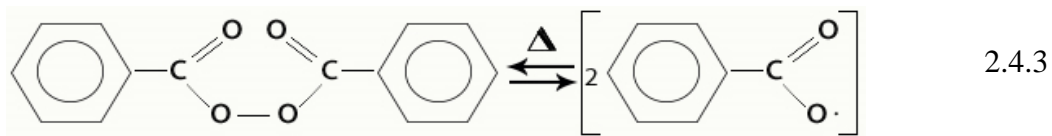


Figura 2.4.2- Reações envolvidas na decomposição térmica do peróxido de benzóila
(adaptado de COUTINHO e OLIVEIRA, 2006).

A etapa de propagação está relacionada ao crescimento da molécula polimérica por meio de adições sucessivas de moléculas de monômero ao radical P_i^\bullet em crescimento, originando novos centros ativos, como representado genericamente na reação 2.4.12. Nesta reação, k_p representa a constante cinética de propagação, pressupondo-se que a reatividade do radical não é influenciada pelo comprimento da cadeia polimérica. Esta consideração é chamada de hipótese da cadeia longa (BILLMEYER, 1971).



A etapa de transferência de cadeia é um processo em que o crescimento da cadeia é cessado de forma prematura. Assim, ocorre a diminuição do massa molar média do polímero. Representada pela Equação 2.4.13, a reação pode ocorrer por meio de uma transferência de um átomo ou espécie (X) de um composto presente no meio reacional para o radical em crescimento. Este composto, representado por XA, pode ser o próprio monômero, o iniciador, uma impureza, um solvente ou carga adicionada ao reator. P_iX representa a molécula de polímero, k_{tr} é a constante de velocidade para a transferência de cadeia e A^\bullet é o novo radical, o qual pode dar início ao crescimento de uma nova cadeia ou pode gerar ramificações, caso XA represente uma outra molécula de polímero (COUTINHO e OLIVEIRA, 2006; SANTOS, 2012).

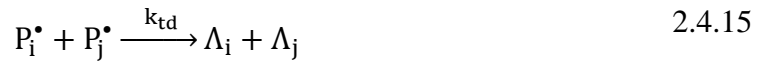


Na etapa de terminação ocorre o fim do crescimento da cadeia polimérica por meio da extinção do radical. Esta pode ocorrer por meio da terminação por combinação ou pela terminação por desproporcionamento. Na terminação por combinação ocorre a união de duas cadeias poliméricas em crescimento, como visto na Equação 2.4.14.



Na terminação por desproporcionamento, representada pela Equação 2.4.15, ocorre a transferência de um átomo de hidrogênio de uma cadeia polimérica em

crescimento para a outra, dando origem a uma cadeia saturada e à formação de uma instauração no fim da outra (MANO e MENDES, 1999).



Na polimerização do metacrilato de metila, a terminação por desproporcionamento ocorre de maneira predominante.

As constantes cinéticas da reação de polimerização do metacrilato de metila estão apresentadas na Tabela 2.4.1.

Tabela 2.4.1: Constantes cinéticas da polimerização do MMA.

Constantes Cinéticas	Fonte
$K_d = 1,7 * 10^{14} * EXP(-\frac{30000}{R*T})$ 1/s	KALFAS <i>et al.</i> (1993)
$K_p = 7 * 10^6 * EXP(-\frac{6300}{R*T})$ L/mol.s	PINTO e RAY (1995)
$K_{tc} = 1,76 * 10^9 * EXP(-\frac{2800}{R*T})$ L/mol.s	PINTO e RAY (1995)
$K_{td} = 7,28 * 10^{10} * EXP(-\frac{6873}{R*T})$ L/mol.s	KALFAS <i>et al.</i> (1993)

Ao longo das reações de polimerização ocorrem ainda dois fenômenos cinéticos: o efeito gel e o efeito vítreo. O efeito gel, também conhecido como efeito Trommsdorff-Norrish (SANTOS, 2012), ocorre usualmente quando se atingem cerca de 20 a 40% da conversão do monômero. Neste caso, o aumento da viscosidade do meio reacional diminui a mobilidade das cadeias poliméricas em crescimento, resultando em uma brusca diminuição da velocidade de terminação da reação de polimerização. Como consequência, ocorre a auto-aceleração da reação de polimerização. Devido ao aumento da viscosidade, a troca térmica da mistura reacional com o fluido térmico da camisa do reator é prejudicada pela deposição de polímero nas paredes do reator, o que pode levar a um descontrole na temperatura, que pode causar a explosão do reator, visto que as

reações de polimerização são muito exotérmicas e pode ocorrer a elevação acentuada da taxa de reação (O'NEIL *et al.*, 1996; MACHADO *et al.*, 2007).

O efeito vítreo ocorre nas polimerizações em que a temperatura de reação é inferior à temperatura de transição vítrea do polímero, em conversões superiores a 90%. Este efeito resulta na redução da constante cinética aparente de propagação da reação, devido ao expressivo aumento da viscosidade no interior das gotículas com o avanço da reação, diminuindo a mobilidade das moléculas de monômero presentes. Com isso, ocorre a diminuição das taxas de reação e da massa molar média das cadeias formadas. Pode-se dizer superficialmente que ocorre o “congelamento” da mistura reacional (MELO, 2009).

Ambos os efeitos resultam em um alargamento da distribuição de massas molares, sendo o efeito vítreo responsável pela redução da massa molar média do polímero final obtido, enquanto o efeito gel é responsável pelo aumento de massas molares médias. Assim, as propriedades finais do polímero formado são fortemente influenciadas pelos efeitos gel e vítreo (CHIU *et al.*, 1983).

A polimerização do metacrilato de metila é do tipo pérola, como ilustrado na Figura 2.4.3, que é o tipo de polimerização em suspensão mais comum. Também é característica desta reação a ocorrência de um pronunciado efeito gel.

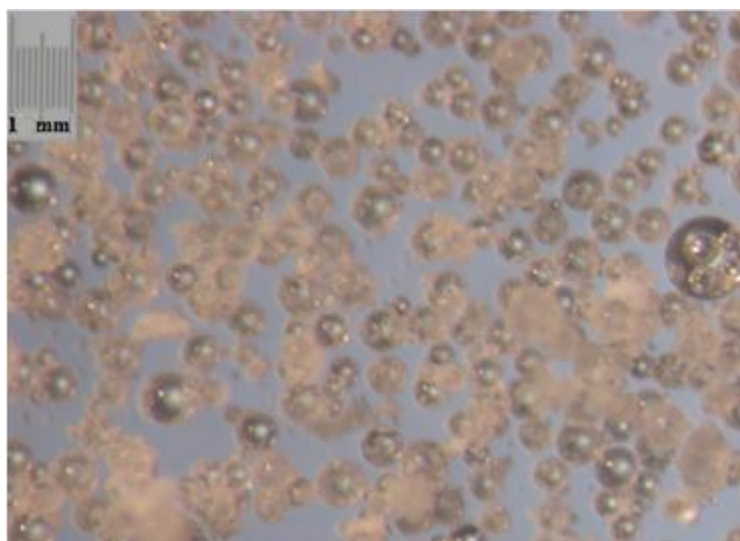


Figura 2.4.3- Pérolas de poli(metacrilato de metila) caracterizadas por microscopia óptica.

2.5 Comentários Finais

O Praziquantel é um medicamento amplamente utilizado no tratamento da esquistossomose devido ao baixo custo, a segurança no uso prolongado e os poucos efeitos colaterais. Porém, este medicamento sofre um extenso efeito de primeira passagem, o que faz com que grande parte da dosagem ingerida seja perdida. Outro importante fator é o sabor extremamente desagradável apresentado pelo PZQ, e também a forma de apresentação atual, que são grandes comprimidos que devem ser partidos para o ajuste da dosagem ao peso e idade do paciente, fatores que dificultam a ingestão e podem gerar doses irregulares.

Com isso, a utilização do PZQ em sistemas de liberação prolongada pode apresentar benefícios como a proteção do medicamento das agressões sofridas no organismo, uma maior duração e eficiência do tratamento e o mascaramento do sabor com o encapsulamento do fármaco.

Muitos estudos, como relatados anteriormente, tiveram o objetivo de melhorar a solubilidade do fármaco e tornar o tratamento mais eficiente, porém, somente Fonseca (2012) realizou o encapsulamento do fármaco com poli(metacrilato de metila) (polímero bastante utilizado na área biomédica), estratégia adotada neste trabalho, porém, a autora produziu partículas nanométricas que apresentavam rápida liberação. O estudo de partículas em escala micrométrica para avaliação do efeito na mudança do perfil de liberação do medicamento ainda não foi contemplado, sendo o objetivo deste trabalho.

Capítulo III

Materiais e Métodos

3.1 Materiais

Os materiais utilizados ao longo do desenvolvimento do trabalho estão descritos a seguir.

3.1.1 Reagentes

Todos os reagentes listados foram utilizados durante as atividades experimentais conforme recebido, sem qualquer tratamento adicional, a não ser que seja feita alguma menção em contrário.

- Acetonitrila – (Tedia Company, INC., USA), com pureza mínima de 99% e grau HPLC. Utilizada como fase móvel nas análises de eficiência de encapsulamento realizadas no HPLC.
- Água Destilada – Empregada como fase contínua nas reações de polimerização, fluido de troca térmica, na lavagem das partículas poliméricas produzidas, durante o processo de filtração, na diluição da acetonitrila para a realização de análises no HPLC e no preparo do meio para os ensaios de liberação.
- Brometo de Potássio – (Aldrich Chemical Company, Inc., USA), com pureza mínima de 99%. Utilizado no preparo de pastilhas para a análise no FT-IR.

- Clorofórmio P.A. ACS – (Vetec Química Fina, Brasil) estabilizado com amileno e com pureza mínima de 99,8%. Utilizado como solvente do fármaco PZQ incorporado nas reações de polimerização.
- Dimetacrilato de Etileno Glicol (EGDMA) – (Sigma-Aldrich, USA) com pureza mínima de 98%. Empregado como agente reticulante nas reações de polimerização.
- Fosfato de Sódio Dibásico PA Anidro – (Vetec Química Fina, Brasil) com pureza mínima de 99,0%. Utilizado para o preparo do tampão de pH 6,8 para os testes de liberação.
- Fosfato de Sódio Monobásico Monohidratado – (Vetec Química Fina, Brasil) com pureza mínima de 98,0%. Usado para o preparo do tampão de pH 6,8 para os testes de liberação.
- Hidroquinona – (Vetec Química Fina, Brasil) com pureza mínima de 99%. Utilizada como inibidor das reações de polimerização, adicionada nas alíquotas retiradas ao longo das reações.
- Hidróxido de Sódio Lentilhas PA – (Vetec Química Fina, Brasil) com pureza mínima de 97%. Usado para ajustes de pH durante o preparo do tampão que compunha o meio utilizado nos ensaios de liberação.
- Lauril Sulfato de Sódio – (Vetec Química Fina, Brasil) com pureza mínima de 90%. Usado como tensoativo do meio preparado para os ensaios de liberação.
- Metacrilato de Metila (MMA) – (Vetec Química Fina, Brasil) com pureza mínima de 99,5%. Empregado como monômero nas reações de polimerização.
- Metanol – (Tedia Company, INC., USA) com pureza mínima de 99,9%. Utilizado como solvente para extração do Praziquantel encapsulado nas partículas de PMMA.

- Peróxido de Benzoíla – (Vetec Química Fina, Brasil) com pureza mínima de 95% e contendo cerca de 30% de umidade. Usado como iniciador nas reações de polimerização.
- Poli(álcool vinílico) (PVA) P.S – (Vetec Química Fina, Brasil) com pureza mínima de 99%, grau de hidrólise de 88% e massa molar ponderal média de 78000 g/mol. Utilizado como agente de suspensão nas reações de polimerização.
- Praziquantel (PZQ) – (Valdequímica Produtos Químicos, Brasil) fornecido por Farmanguinhos com pureza mínima de 99% e como uma mistura racêmica equimolar. Fármaco encapsulado *in situ* nas reações de polimerização por PMMA.
- Tetrahidrofurano (THF) – (Tedia Company, INC., USA) com grau de pureza mínimo de 99,5% e grau HPLC. Utilizado como fase móvel nas análises GPC.

3.1.2 Equipamentos

Os equipamentos utilizados foram:

- Agitador de peneiras para análises granulométricas eletromagnético da marca Bertel.
- Estereomicroscópio binocular da marca Nikon, modelo SMZ 800.
- Ultra turrax T25 basic.
- Estufa de Recirculação a vácuo da marca Quimis.

Os demais equipamentos utilizados foram descritos com os métodos em que foram empregados.

3.2 Unidade Experimental

A unidade experimental descrita nesta seção foi utilizada para a realização das reações de polimerização em suspensão, conduzidas em batelada. Na Figura 3.1 é representado o esquema da unidade.

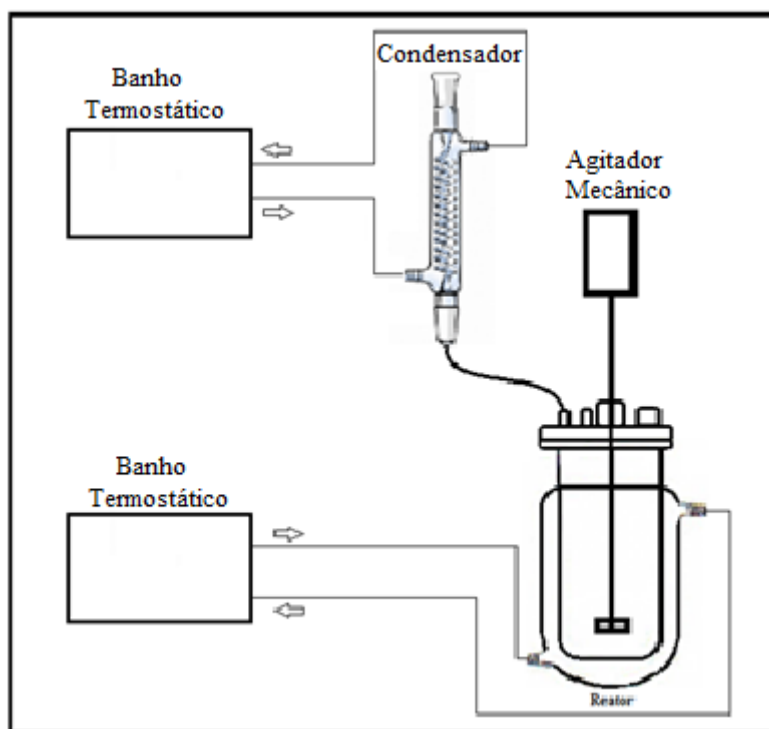


Figura 3.1- Representação da unidade experimental utilizada para a realização das polimerizações em suspensão em batelada.

A unidade de reação é composta pelos seguintes equipamentos:

- Reator de vidro borossilicato encamisado – (FGG Equipamentos Científicos, LTDA, Brasil) com capacidade de 1 L, possui um anel de borracha para vedação

da tampa feita em aço inox e fixada ao reator por um anel de vedação de aço inox. Possui um orifício central, através do qual é introduzido o agitador, e outros cinco orifícios periféricos. Um orifício foi acoplado a um condensador e um outro orifício foi utilizado para a extração de alíquotas no decorrer das reações. Os demais orifícios permaneceram vedados com tampas de borracha. Por apresentar o fundo abaulado, o reator é apoiado sobre um suporte de madeira.

- Agitador mecânico – (IKA, modelo *Eurostar Power Control*, Alemanha) utilizado com um impelidor de seis pás para a promoção da agitação do meio reacional.
- Banho termostático – (*Haake Phoenix*, modelo 2 C35P, USA) equipamento com bomba de recirculação e controle de temperatura, que mantém o reator na temperatura selecionada pela camisa de aquecimento/resfriamento.
- Banho termostático – (*Fisher Scientific*, modelo *Isotemp 2028*, USA) equipado com bomba de recirculação e controle de temperatura, utilizado para promover o resfriamento do condensador de refluxo tipo espiral, acoplado ao reator.

3.3 Reações de Polimerização

Para a realização da reação de polimerização em suspensão, o meio contínuo (a solução de PVA, empregado como agente estabilizante) era preparado previamente, devido à dificuldade de dissolução. A concentração de PVA empregada era de 0,4% em massa em relação à fase aquosa. O reator era então montado e seu aquecimento iniciado até 85°C, temperatura na qual as reações foram conduzidas. Após o aquecimento do reator, inicialmente era adicionada a solução de PVA. Posteriormente era adicionada a mistura de monômero (MMA), iniciador (BPO) e as demais cargas (diluente, agente reticulante e PZQ), a depender da reação. Nas reações era utilizado cerca de 30% em massa de monômero, em relação à carga total do reator. O fármaco era incorporado *in situ* no meio reacional para ser encapsulado pelo polímero produzido. O EGDMA, foi

usado como agente reticulante e o clorofórmio, que é um solvente do Praziquantel, foi empregado com o intuito de tornar as partículas poliméricas porosas e aumentar a solubilidade do fármaco nas gotas de monômero. Após a inclusão de todos os componentes do meio reacional, a agitação era elevada a 1100 rpm. As reações foram conduzidas por um tempo total de 2 horas. As condições empregadas para a produção de PMMA, inclusive as quantidades fixas de meio contínuo, iniciador e monômero, foram desenvolvidas e usadas por Santos (2012).

As alíquotas retiradas durante as reações, para monitoramento da evolução do processo, foram coletadas com o auxílio de um Eppendorf fixado a uma pinça de metal. Alíquotas foram tiradas a cada 7,5 minutos na primeira hora de reação e a cada 15 minutos ao longo da segunda hora. As amostras coletadas do reator eram alocadas em um recipiente de papel alumínio, previamente pesado com e sem a solução de hidroquinona, usada para inibir a reação, em uma concentração de 1% em massa. Posteriormente, o conjunto recipiente-hidroquinona-amostra era pesado e as alíquotas eram secas à temperatura ambiente.

Ao final da reação, o conteúdo do reator era coletado em um bécher, onde o polímero decantava. Posteriormente, o polímero era separado da fase aquosa por filtração, com a utilização de uma bomba a vácuo, filtro de papel e funil de porcelana. Durante a filtração, as partículas poliméricas resultantes eram extensamente lavadas com água destilada e dispostas em um recipiente de vidro aberto, para secarem em condição ambiente, ou com o auxílio de uma estufa de recirculação, com temperatura nunca superior a 50°C.

3.4 Procedimentos Analíticos

3.4.1 Análise Gravimétrica

A análise gravimétrica foi realizada para a obtenção da conversão do monômero. Para a realização desta análise foram coletadas amostras de material do reator com o auxílio de um Eppendorf fixado a uma pinça de metal, num total de 12 pontos, com

amostras coletadas a 7,5; 15,0; 22,5; 30,0; 37,5; 45,0; 52,5; 60,0; 75,0; 90,0; 105,0 e 120,0 minutos. O recipiente a receber a amostra era pesado vazio. Posteriormente eram adicionadas ao recipiente 10 gotas de solução de hidroquinona na concentração de 0,1 g/L com auxílio de uma pipeta. O recipiente era pesado novamente. Em seguida, a amostra retirada do reator era adicionada ao recipiente e este era novamente pesado. Uma última pesagem era realizada após a secagem do material contido nos recipientes, realizada nas condições ambiente até peso constante. Todas as pesagens foram realizadas em uma balança digital analítica da marca Bel Engineering, modelo M214A. Com as massas obtidas, era possível calcular a conversão, utilizando a Equação 3.1:

$$X_P = \frac{M_S - M_M * T_O * T_{PZQ}}{M_M * T_O * (1 - T_{PZQ})} \quad 3.1$$

onde X_P é a conversão; M_S é a massa da amostra seca (descontado o peso do recipiente); M_M é a massa da amostra (descontado o peso do recipiente e da solução de hidroquinona); T_O é a fração de fase orgânica da receita original; e T_{PZQ} é o teor de Praziquantel contido no meio reacional.

3.4.2 Cromatografia de Permeação a Gel (GPC)

A Cromatografia de Permeação a Gel (GPC), também conhecida por Cromatografia por Exclusão de Tamanho (SEC), utiliza a porosidade do recheio das colunas para separar moléculas de diferentes tamanhos. Assim, as moléculas maiores, que não conseguem permear os poros são eluídas primeiro, enquanto as moléculas menores penetram nos poros e levam um tempo maior para percorrer o comprimento da coluna (LUCAS *et al.*, 2001). Esta técnica foi utilizada no presente trabalho para a determinação das massas molares médias ponderais e numéricas dos produtos poliméricos obtidos.

Para a realização da análise foram solubilizados 3 mg de cada amostra coletada durante a reação em 3 ml de THF. Os tubos de ensaio foram vedados com tampas e

parafilme para minimizar perdas por evaporação. O conteúdo foi agitado por pelo menos 24 horas, para a solubilização completa. Para a injeção das soluções no equipamento, foi necessário filtrá-las com filtro de teflon com diâmetro de poros de 0,45 μm e acondicioná-las em *vials* de 2 ml. As análises foram realizadas a 40°C, utilizando THF como fase móvel.

O equipamento utilizado foi o GPC Automático (GPC MAX – Viscotek), equipado com detector refratométrico (Viscotek 3580) e conjunto de colunas lineares da marca Shodex, modelos KF-804L e KF-805L, com tamanhos máximos de poro de $1,5 \cdot 10^3$ e $5 \cdot 10^3$ Å. Para calibrar o equipamento foram utilizados padrões de poliestireno com massa molar na faixa de 0,5 a 3000 kDa.

3.4.3 Distribuição dos Tamanhos de Partículas

A distribuição dos tamanhos de partículas foi caracterizada por meio da técnica de espalhamento de luz, em que a intensidade de espalhamento da radiação incidente sobre uma amostra é medida em um ângulo determinado de desvio (LUCAS *et al.*, 2001). As amostras foram introduzidas no equipamento e dispersas em água miliQ, em quantidade suficiente para que fosse atingido o limite ideal de obscurecência, em torno de 15%. O equipamento utilizado foi o Analisador de Tamanho de Partículas (Malvern, Mastersizer 2000), equipado com sistema para espalhamento de luz frontal, lateral e posterior. Uma fonte de laser néon de Hélio com comprimento de onda característico de 632,8 nm foi usada para conduzir as análises. O equipamento opera com limites de detecção na faixa de 0,1 a 1000 micrômetros.

3.4.4 Viscosimetria

A análise de viscosimetria foi realizada para determinar as viscosidades das soluções de monômero (metacrilato de metila) e fármaco (PZQ) utilizadas nas reações de polimerização. Foram preparadas soluções com 0, 10, 20 e 30% de PZQ em MMA,

quantidades estas que foram utilizadas para a produção dos sistemas de liberação prolongada. Todas as amostras foram solubilizadas na temperatura de 85°C para a medição das viscosidades, por ter sido esta a temperatura de reação utilizada. O equipamento utilizado foi um reômetro de cilindros rotativos da marca TA Instruments, modelo AR G2. Foi utilizada a geometria de cilindros concêntricos, com taxa de cisalhamento variando de 0,1 a 500 s⁻¹, por um período de análise de 5 minutos na temperatura de 85°C.

3.4.5 GPC com Detecção Simultânea de UV

É possível detectar a presença de PZQ nas cadeias do polímero por análises de Ultravioleta (UV). Para isso, o sinal de UV era monitorado simultaneamente com o sinal padrão das amostras obtido pelo GPC (OLIVEIRA *et al.*, 2012). Para a realização desta análise foi utilizado o mesmo procedimento da análise de GPC descrita na seção 3.4.2. O detector UV utilizado, modelo 2500 da marca Viscotek, foi conectado em série com o GPC e adaptado para avaliar a absorção no comprimento de onda de 323 nm. Este valor foi determinado após varredura de espectros de UV de amostras de THF, PZQ solubilizado em THF e PMMA solubilizado em THF, apresentado no Capítulo IV, na Figura 4.1.5. Verificou-se que neste comprimento de onda o sinal predominante é o do PZQ.

3.4.6 Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR)

Por meio da intensidade de radiação infravermelha absorvida pela amostra, quando iluminada por um feixe de luz, é possível obter qualitativamente informações sobre a composição química, a estrutura configuracional e conformacional da amostra analisada (ZERBI, 1999). Esta análise foi realizada no presente trabalho para verificar a eficiência do encapsulamento do PZQ nos sistemas de liberação prolongada, por meio de identificação química, de acordo com os espectros obtidos para os produtos encapsulados, em comparação com os espectros do PMMA puro e do PZQ puro. Para a

realização desta análise, foi necessária a confecção de pastilhas, obtidas por maceração de cerca de 1 mg da amostra a ser ensaiada com 100 mg de KBr, posteriormente prensadas em molde específico.

Foi utilizado o aparelho de espectroscopia de absorção no infravermelho da marca Perkin Elmer, modelo Spectrum 100, equipado com detector DTGS (sulfato de triglicina). Utilizou-se um acessório de refletância difusa com geometria Praying Mantis da marca Harricks para análises Drifts. Os espectros foram realizados com médias de 150 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} . A faixa de análise foi de $4000\text{-}5000\text{ cm}^{-1}$, usando uma janela de KBr.

3.4.7 Eficiência de Encapsulamento

Esta análise foi utilizada para determinar a quantidade de PZQ efetivamente encapsulada durante a produção dos sistemas poliméricos de liberação prolongada. A metodologia utilizada foi adaptada de Fonseca (2012). Para a realização desta análise, foi utilizado metanol para a extração do PZQ dos sistemas de liberação prolongada. Adicionaram-se 10 ml de metanol a 0,01 g de amostras (secas e lavadas) em tubos de ensaio tampados e vedados com parafilme. A mistura foi submetida a ultrassom por aproximadamente 2 horas. Foram utilizados 7 pontos para a realização de uma curva de calibração, a qual é apresentada no Capítulo IV, na Figura 4.1.12, com soluções de PZQ e metanol preparadas por diluição a partir de uma solução mãe de 0,3 g/L, nas concentrações de 0,0, 0,0375, 0,075, 0,1, 0,15, 0,2 e 0,3 g/l. As soluções obtidas foram filtradas com filtros de teflon com diâmetro de poros de $0,45\text{ }\mu\text{m}$ e acondicionadas em *vials* de 2 ml.

Para a leitura no Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência, (CLAE ou HPLC), foi utilizado um equipamento da Thermo Scientific (Massachusetts, EUA), modelo Ultimate 3000, composto por uma bomba quaternária (Dionex Ultimate 3000), um detector de ultravioleta modelo Dione UVD 170/340 UV/PDA e um injetor automático modelo WPS-3000 com alça de amostragem de $100\text{ }\mu\text{L}$. Foi utilizada uma coluna da marca Kromasil, modelo C18, com $5\text{ }\mu\text{m}$ de tamanho de partícula, $100\text{ }\text{Å}$ de diâmetro de poro, de $4,6\text{ mm}$ de diâmetro por 250 mm de comprimento. A fase móvel utilizada foi

uma mistura de acetonitrila e água (50:50 v/v), sendo a acetonitrila previamente filtrada com uma membrana de poli(tetrafluor etileno) (PTFE), de 0,2 µm, 47 mm, da marca Sartorius Stedim Biotech.

A análise foi realizada na temperatura de 40°C (temperatura do forno da coluna) com uma vazão de 1 ml/min, com detecção de UV no comprimento de onda de 210 nm e eluição em modo isocrático, com tempo total de corrida de 10 minutos. O volume de injeção das amostras foi de 10 µL. Cada amostra foi analisada em triplicata.

3.4.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para a visualização da superfície das partículas produzidas. Para isto, as amostras foram metalizadas com ouro. O equipamento utilizado foi o Microscópio Eletrônico de Varredura de Alta Resolução (QUANTA 400 FEG, FEI Company), com detector de elétrons secundário e metalizador da marca Quorum Technologies. As leituras foram feitas em diferentes condições, como apresentado nas micrografias.

3.4.9 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) é uma técnica que mede o fluxo de calor gerado como resposta ao aquecimento ou resfriamento de uma amostra, comparando-o com o fluxo de calor em uma referência (material termicamente estável) (LUCAS *et al.*, 2001). Deste modo, é possível determinar transformações físicas e químicas características dos materiais analisados, que envolvem processos endotérmicos e exotérmicos e são representadas por variações na linha de base do termograma.

Para a realização desta análise, foi necessário acondicionar as amostras prensadas em pequenos recipientes de alumínio com tampa, contendo entre 5 e 20 mg de amostra. Inicialmente foi realizada uma corrida de aquecimento e de resfriamento das amostras, para que suas histórias térmicas fossem apagadas (procedimento este que

não é válido para a análise do fármaco, por ser um composto de baixa massa molar). A temperatura da análise variou de 0 a 200°C, com uma taxa de aquecimento de 10°C/min e atmosfera inerte de nitrogênio. O equipamento utilizado foi o DSC da marca Perkin-Elmer, modelo 8500 com amostrador automático.

3.4.10 Teste de Liberação do Fármaco

O teste de liberação prolongada *in vitro* é feito com o objetivo de simular o comportamento dos sistemas de liberação prolongada no organismo. Por meio deste teste foi possível traçar um perfil de liberação do fármaco gerado por cada amostra e avaliar seu comportamento. O procedimento adotado foi inspirado em Fonseca (2012).

Para a realização desta análise, foi utilizada uma concentração de amostra das partículas produzidas correspondente a 0,12 g/L de PZQ. As partículas foram submetidas a uma temperatura de 37°C agitação de 50 rpm em um volume de 140 mL, condições estas controladas com a utilização do mini reator (Mettler Toledo, EasyMax 102), ilustrado na Figura 3.4.



Figura 3.4- Equipamento usado para os testes de liberação prolongada.

O meio utilizado, tampão pH 6,8, para simular o pH do intestino, apresentava a seguinte composição:

- 600 mL de água destilada;
- 4.9 g de fosfato de sódio monobásico monohidratado;
- 4.2 g de fosfato de sódio dibásico anidro;
 - Ajuste do pH para 6.8 com NaOH (lentilha);
- Adição de 3 g de lauril sulfato de sódio;
- Adição de 100 mL de água destilada;

Foram coletadas alíquotas de 4 mL, com regime de reposição do volume, nos intervalos de 5, 10, 15, 30, 60, 120 e 180 minutos. As alíquotas foram imediatamente filtradas, utilizando filtros de teflon com diâmetro de poros de 0,45 μm e lidas em triplicata no Espectrofotômetro de UV Visível (Varian, Cary 100 Conc), no comprimento de onda de 218 nm, selecionado após varredura da solução contendo praziquantel, realizada na UV. Para a determinação da concentração de PZQ presente nas alíquotas, foi construída uma curva de calibração com soluções nas concentrações de 0,0125, 0,00625, 0,003125 e 0 g/L, obtidas por meio de diluições de uma solução mãe de 0,05 g/L (concentrações superiores às utilizadas ultrapassaram o limite de leitura do equipamento). A curva de calibração é apresentada no Capítulo IV, na Figura 4.1.14.

Capítulo IV

Resultados e Discussão

4.1 Primeiro Grupo de Reações

O primeiro grupo de reações realizadas, composto por quatro reações, partiu de uma formulação base de PMMA puro, produzido nas condições estabelecidas por Santos (2012). O tempo de reação foi de 2 horas, numa temperatura de 85°C e velocidade de agitação de 1100 rpm. Mantendo esta mesma base, foram incorporadas às demais reações 10, 20 e 30% em peso de Praziquantel (PZQ) em relação à quantidade de monômero utilizada. As formulações utilizadas em cada reação encontram-se descritas na Tabela 4.1.1.

Tabela 4.1.1-Formulações utilizadas para a produção do primeiro grupo de micropartículas poliméricas.

Reações	BPO (g)	MMA (g)	PVA(g)	PZQ (g)	CHCl ₃ (g)	EGDMA (g)
R1	4,00	150,00	1,80	0	0	0
R2	4,00	150,14	1,81	15,00	0	0
R3	4,00	150,05	1,80	30,00	0	0
R4	4,00	150,02	1,80	45,00	0	0

BPO: Peróxido de Benzoíla; MMA: Metacrilato de Metila; PVA: Poli(álcool vinílico); PZQ: Praziquantel; CHCl₃: Clorofórmio; EGDMA: Dimetacrilato de Etileno Glicol.

Este primeiro grupo de reações teve por objetivo avaliar o comportamento da reação de polimerização em suspensão na presença de diferentes quantidades de PZQ

adicionadas ao meio reacional. Desta forma, os sistemas poliméricos de liberação prolongada de medicamentos seriam produzidos da forma mais simples, apenas com o encapsulamento *in situ* do fármaco, sem a adição de demais aditivos à formulação. O comportamento dos sistemas durante as reações de polimerização e as propriedades do produto obtido foram avaliados. Os resultados são apresentados a seguir.

4.1.1 Análise Gravimétrica

Por meio das análises gravimétricas foram obtidas as conversões do monômero ao longo da reação. Durante a primeira hora foram retiradas alíquotas com menores intervalos de tempos, para melhor observação do efeito gel, que costuma ocorrer dentro dos primeiros trinta minutos de reação, para a formulação usada como base. Os comportamentos obtidos para os quatro sistemas estão apresentados na Figura 4.1.1.

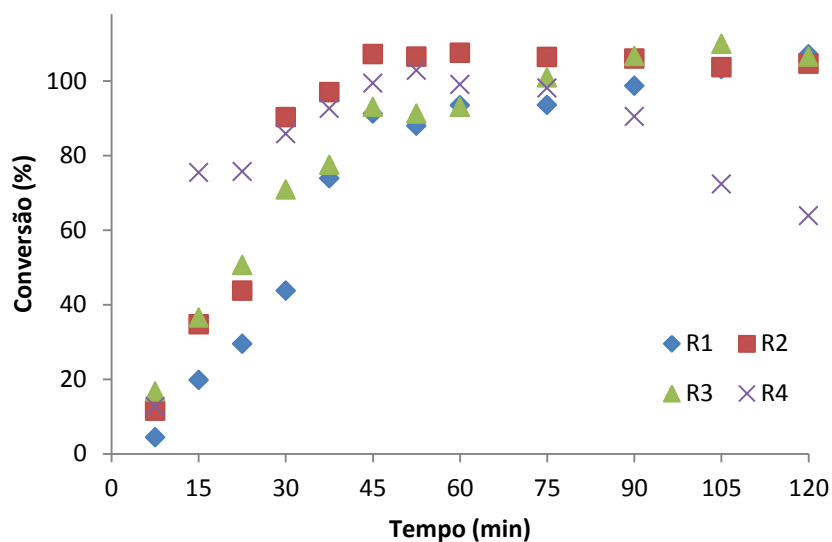


Figura 4.1.1- Curvas de conversão de monômero das reações R1, R2, R3 e R4, definidas na Tabela 4.1.1.

Como é possível observar, a inserção do PZQ no meio reacional causa a aceleração na conversão. Além disso, durante a ocorrência do efeito gel, é observado

aumento de volume do meio reacional por formação de espuma. Se muito pronunciado, o problema sinaliza a necessidade de diminuir a temperatura de reação. Passados alguns minutos, a formação de espuma cessa e o sistema retoma o volume inicial. A reação de polimerização que produziu o PMMA puro apresentou este fenômeno por volta dos 20 minutos. Já nas reações em que o PZQ foi adicionado, esta elevação de volume ocorreu duas vezes, uma em torno dos 13 minutos, de menor intensidade, e outra ao redor dos 20 minutos. Na reação em que foram adicionados 20% de PZQ (R3) ocorreu a maior elevação do volume da mistura reacional. Todas as reações resultaram em rendimentos de 100%. O comportamento observado em R4, de aparente diminuição da conversão, deve-se à dificuldade de amostragem no final, por causa da viscosidade do meio e da distribuição de tamanhos de partícula. Como a polimerização do MMA apresenta forte efeito gel, o aumento da conversão de MMA na presença de PZQ pode ser devido ao aumento da viscosidade, como mostrado adiante.

Uma outra característica observada em relação aos produtos finais obtidos está relacionada à cor. Em R1, a cor branca característica da suspensão de PMMA foi obtida; em R2, o produto final não ficou tão branco; em R3, uma espécie de cor alaranjada foi observada; e em R4 houve o aparecimento da cor rosa (Figura 4.1.2). Cabe ressaltar que o aparecimento destas colorações diferentes ocorria nos minutos finais das reações, após cerca de 1 hora e 40 minutos. Nestes minutos finais de reação, as alíquotas deixavam de apresentar um aspecto de alta viscosidade, e tornavam-se novamente mais fluidas. Logo, o aparecimento da coloração estava vinculado ao alcance do estado sólido das partículas. A coloração rosa observada é característica do PZQ em presença de umidade, tanto que após a secagem das partículas, a coloração rosa desaparecia.



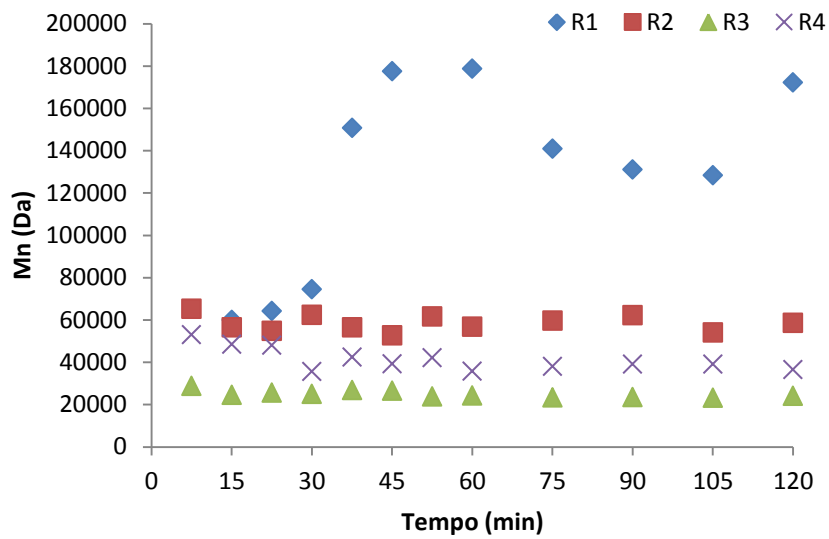
Figura 4.1.2- Aspecto visual dos produtos obtidos das reações (a) R1, (b) R2, (c) R3 e (d) R4, como definido na Tabela 4.1.1.

4.1.2 Cromatografia de Permeação a Gel (GPC)

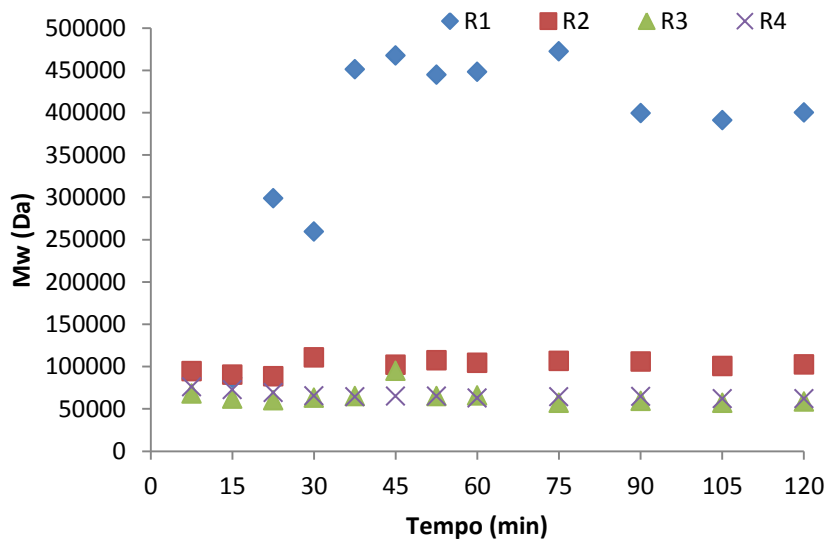
A técnica de GPC foi utilizada para acompanhamento da evolução das massas molares médias das partículas produzidas ao longo da reação. Estes dados são importantes não só para a definição das propriedades finais do polímero produzido, mas por também apresentarem informações relevantes sobre o mecanismo de reação durante o processo de produção do material. Os resultados das análises realizadas, apresentados na Figura 4.1.3, mostram comportamentos bastante diferentes para as partículas produzidas com o PZQ encapsulado e o PMMA puro.

O PMMA puro apresenta inicialmente um valor mais baixo de massas molares médias. Após cerca de trinta minutos de reação, este valor aumenta bastante. Este aumento é promovido pela ocorrência do efeito gel, já que o aumento da viscosidade do meio reacional diminui a mobilidade das cadeias poliméricas em crescimento, resultando em brusca diminuição da velocidade de terminação da reação de polimerização. Como consequência, ocorre a auto-aceleração da reação de polimerização, promovendo também o maior crescimento das cadeias poliméricas. Depois da primeira hora de reação, os valores das massas molares oscilam pouco, por conta do consumo de monômero.

Nas demais reações, em que diferentes quantidades de PZQ foram adicionadas, os valores das massas molares permanecem aproximadamente constantes, se comparados ao comportamento da evolução das massas molares do PMMA puro. Os valores destas massas molares são próximos dos valores iniciais apresentados pelo PMMA puro. À medida que maiores quantidades de PZQ são adicionadas ao meio reacional, os valores das massas molares ao longo da reação são reduzidos. Por meio destes resultados, parece razoável admitir que o PZQ atue na reação de polimerização como um agente de transferência de cadeia, causando a interrupção prematura no crescimento da cadeia polimérica (mas não interrompendo a reação). A investigação desta hipótese é realizada na seção 4.1.4 e é corroborada por Fonseca (2012), que observou comportamento similar nas reações conduzidas em miniemulsão.



(a)



(b)

Figura 4.1.3- Evolução das massas molares médias (a) numéricas e (b) ponderais nas reações R1, R2, R3 e R4, como definido na Tabela 4.1.1.

4.1.3 Distribuição dos Tamanhos de Partículas

Com auxílio da técnica de espalhamento de luz foram obtidas as distribuições de tamanhos de partículas de amostras de PZQ puro (sólido), do PMMA puro e dos sistemas poliméricos de liberação prolongada produzidos na presença de PZQ. Os resultados, apresentados na Tabela 4.1.2 e comparados na Figura 4.1.3, mostram um tamanho médio de partícula do fármaco ao redor de 10 μm , enquanto que as demais partículas apresentam um tamanho médio em torno de 100 μm , característico de polímeros produzidos em suspensão. Com a adição de maiores quantidades de PZQ, observa-se o aumento do tamanho médio das partículas. Todas as distribuições de tamanho apresentaram comportamento monomodal, e as curvas de distribuição do polímero puro e com acréscimo de 10% do fármaco foram bem próximas. O aumento dos diâmetros médios com o aumento do teor de PZQ pode ser explicado em termos do aumento das viscosidades iniciais das soluções de MMA dispersas no meio, como mostrado adiante.

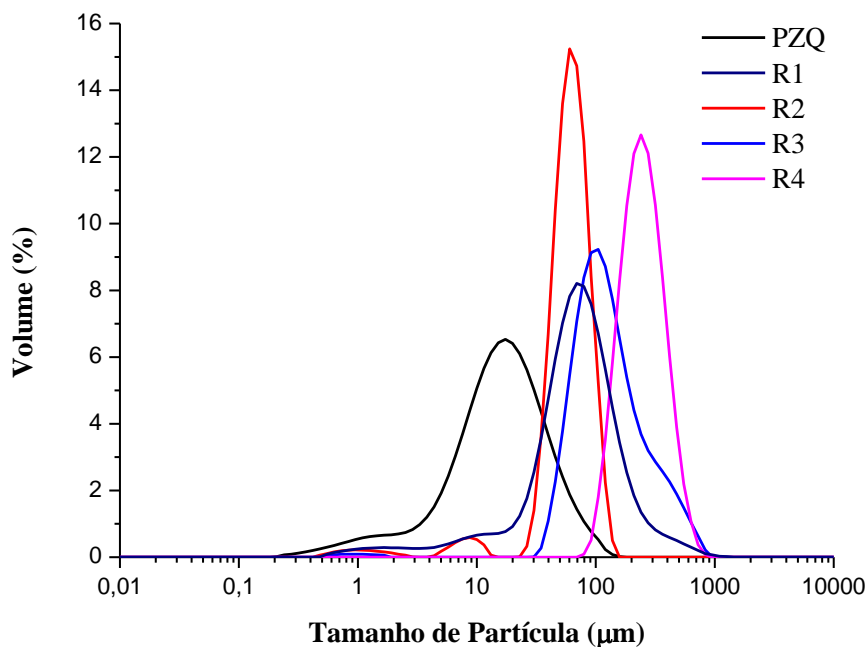


Figura 4.1.4- Comparação da distribuição dos tamanhos de partículas de PZQ e dos produtos das reações R1, R2, R3 e R4, como definido na Tabela 4.1.1.

Tabela 4.1.2-Média dos tamanhos de partículas de PZQ e das amostras produzida nas reações do primeiro grupo

Amostras*	d(0,1) (µm)	d(0,5) (µm)	d(0,9) (µm)
PZQ	4,095	17,065	48,625
R1	20,744	74,906	186,427
R2	39,357	65,341	100,838
R3	63,611	125,262	364,885
R4	152,956	259,895	450,007

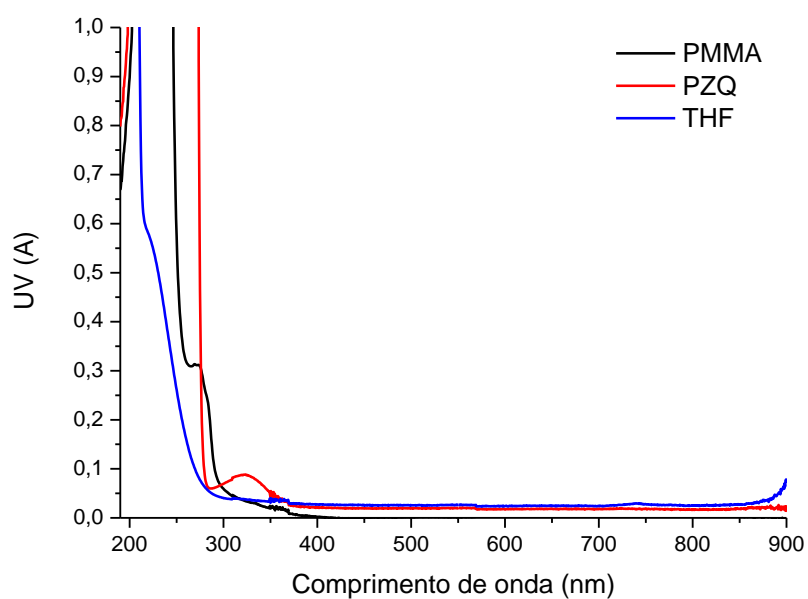
* condições reacionais definidas na Tabela 4.1.1.

4.1.4 GPC com Detecção Simultânea de UV

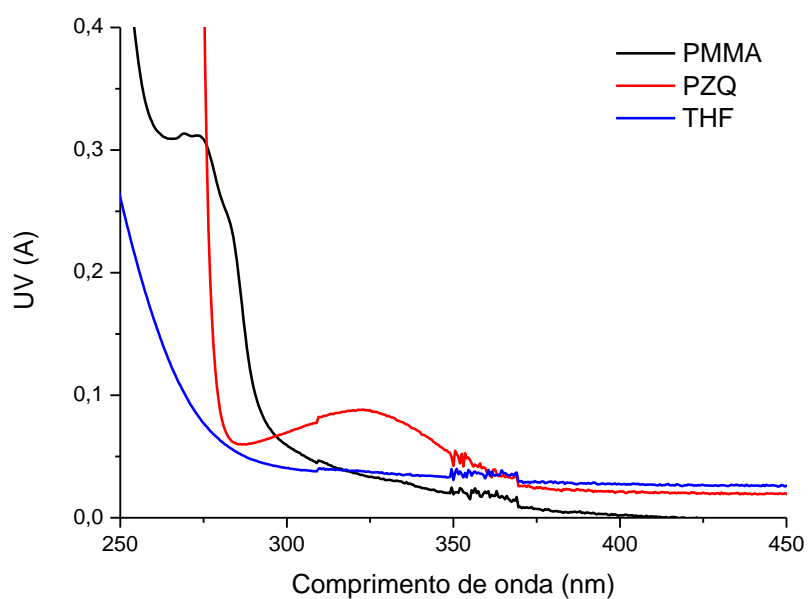
Para a investigação da hipótese sugerida na seção 4.1.2, de que o PZQ atua como um agente de transferência de cadeia, foram realizadas análises de GPC com detecção simultânea de UV. Esta combinação de técnicas já foi empregada com esta mesma finalidade por Oliveira *et al.* (2012).

O comprimento de onda empregado, 323 nm, foi determinado por meio de varreduras em UV de THF, PZQ solubilizado em THF e PMMA solubilizado em THF, apresentado na Figura 4.1.5.

Como é possível observar na Figura 4.1.6, o PZQ livre é detectado pela técnica de UV no comprimento de onda de 323 nm entre os volumes de retenção de 20 e 24 ml. A variação da amplitude de sinal se deve às diferentes quantidades de PZQ incorporadas nas formulações.



(a)



(b)

Figura 4.1.5- Espectro de UV de amostras de THF, PZQ solubilizado em THF e PMMA solubilizado em THF. Em (a) varredura completa e em (b) destaque do ponto de interesse.

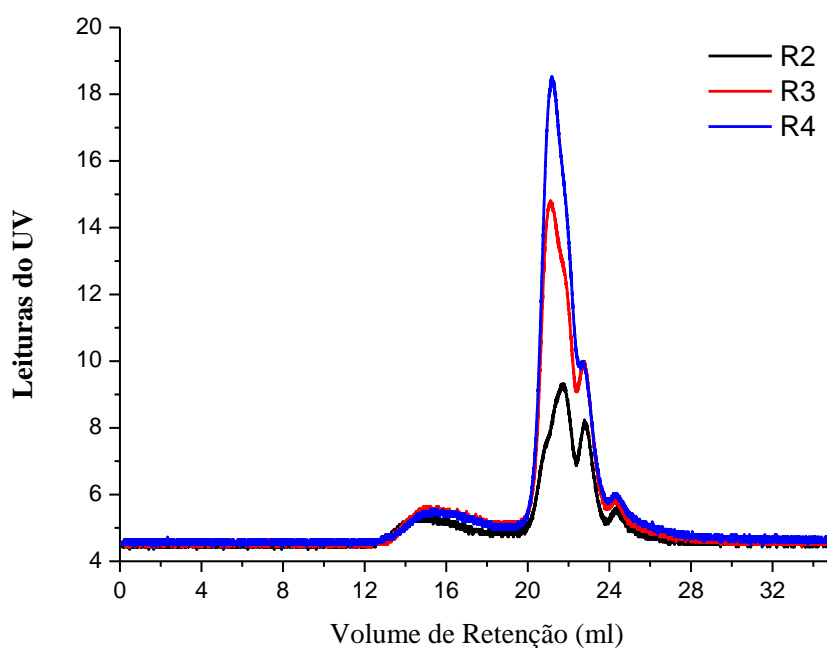


Figura 4.1.6- Análises acopladas de GPC e de UV das amostras de produtos de R2, R3 e R4, como definido na Tabela 4.1.1.

O sinal mais fraco, quando comparado ao sinal obtido pelo PZQ livre, porém bem definido, detectado entre os volumes de retenção de 12 e 18 ml se deve à presença do PZQ associado às cadeias poliméricas, que podem ser detectadas neste mesmo intervalo de volume, como visto individualmente na Figura 4.1.7.

Vê-se que a amostra de PMMA não sensibiliza o detector de UV. No entanto, nas demais amostras, o sinal de PZQ é mais intenso para as cadeias menores, o que parece confirmar o efeito de transferência de cadeia induzido pelo PZQ.

Por meio destes resultados confirma-se que o PZQ age de fato como um agente de transferência de cadeia durante a reação de polimerização. Esta hipótese, agora confirmada, também foi levantada nos estudos de Fonseca (2012).

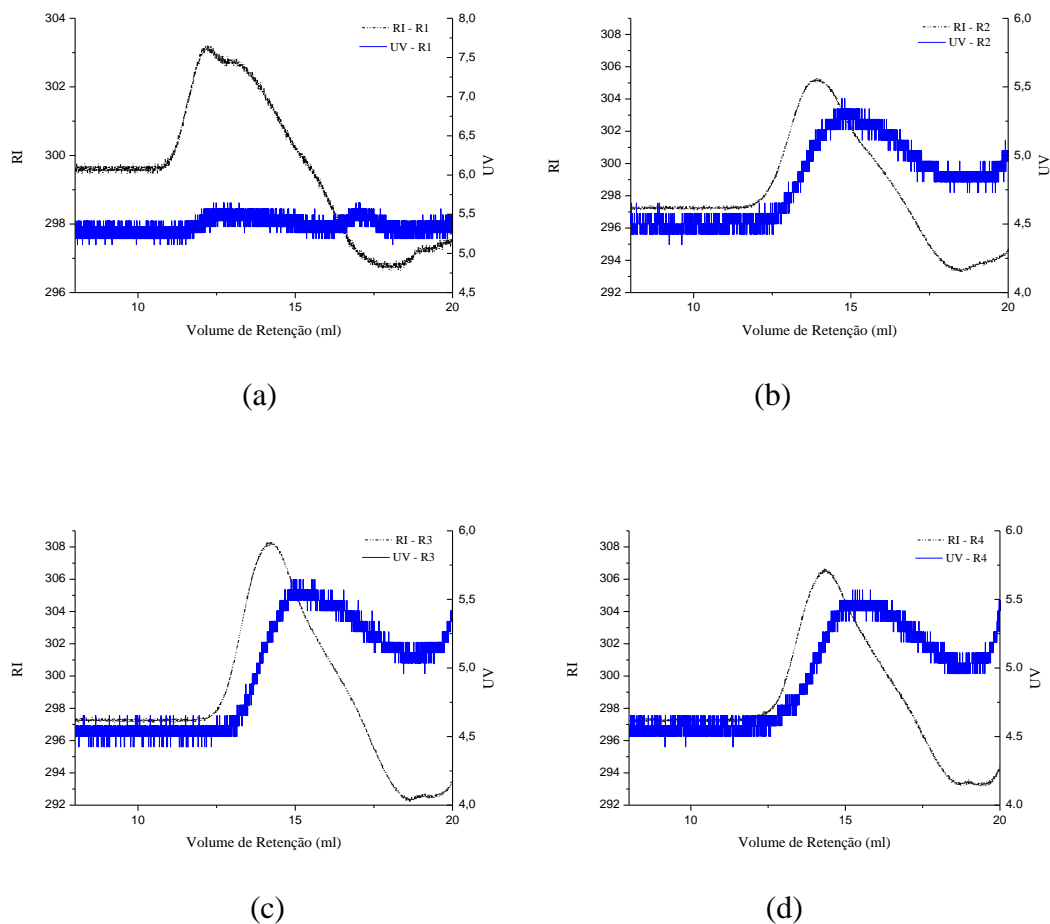
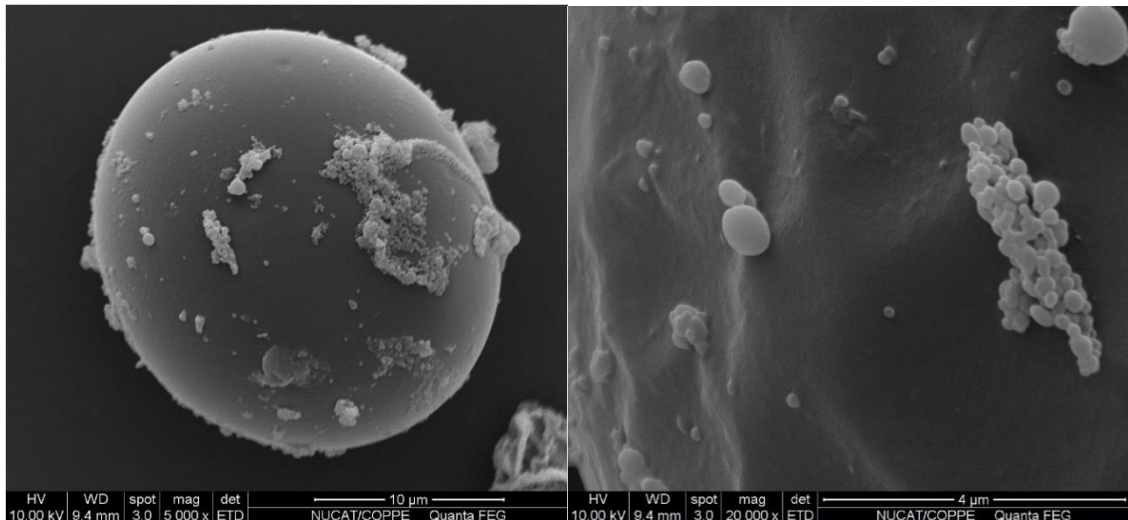


Figura 4.1.7- Análises simultâneas de GPC e de UV das amostras (a) R1, (b) R2, (c) R3, (d) R4, como definido na Tabela 4.1.1.

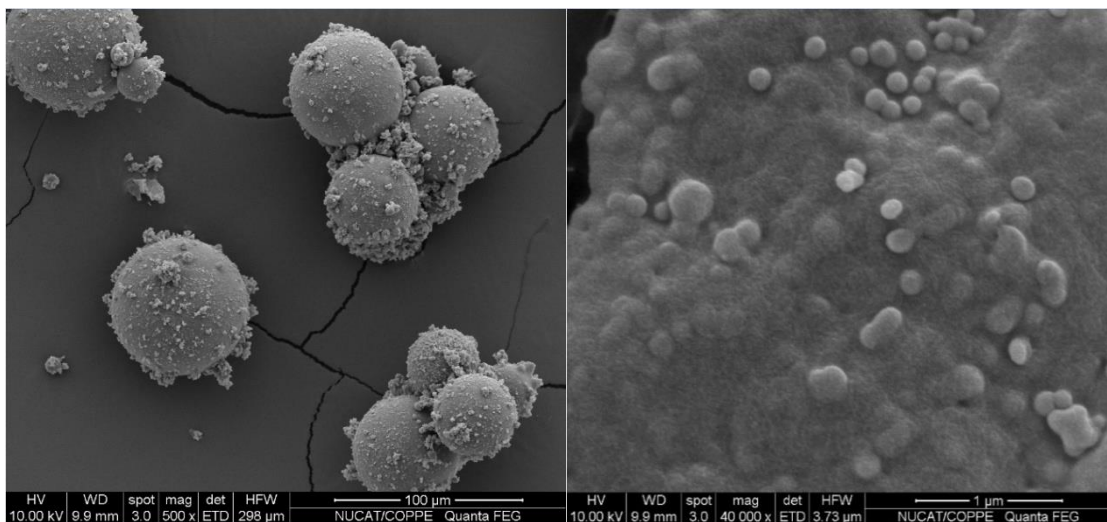
4.1.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A visualização detalhada da superfície das partículas produzidas foi possível com o auxílio da técnica de MEV. As imagens, apresentadas na Figura 4.1.8, revelam partículas redondas, no formato de pérolas com superfície lisa, sem a presença de macroporos, características da polimerização em suspensão tipo pérola. Algumas deformações vistas foram causadas pelo feixe sobre as amostras. Na superfície de amostras da reação R4, é possível observar partículas em formato de bastões aderidas à superfície. Estes bastões representam o PZQ sólido, o que pode justificar a coloração rosada observada ao final da reação, já que as partículas estavam dispersas em um meio aquoso. A

presença de PZQ na superfície das partículas foi também detectada por Fonseca (2012), em amostras produzidas em miniemulsão. Essas partículas podem ser resultantes de precipitação em fase aquosa após o resfriamento ou resultantes de saturação do meio polimérico. A primeira opção parece mais provável, pois não se observam cristais de PZQ nas análises de DSC do produto final, como visto adiante.

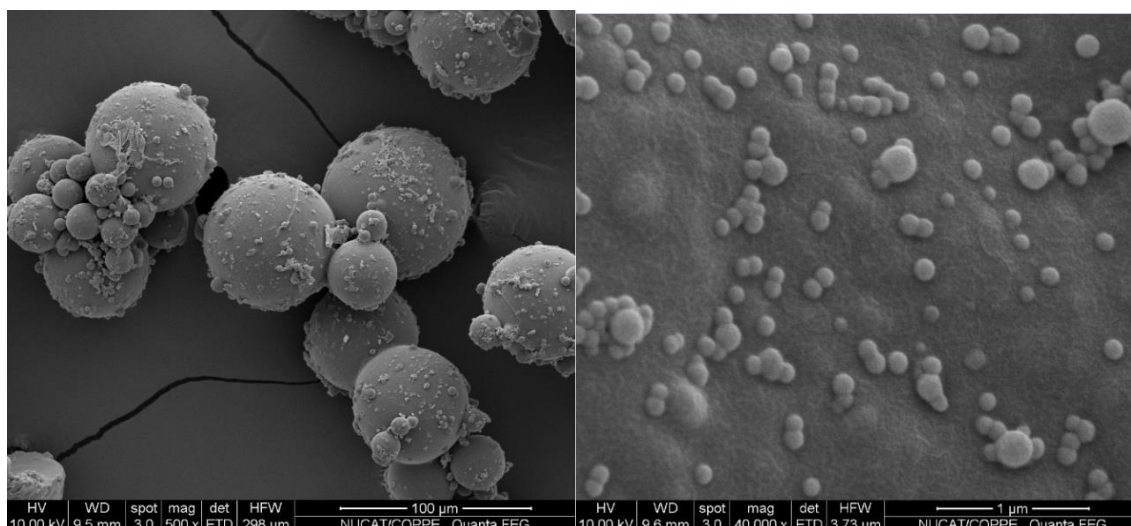


(a)

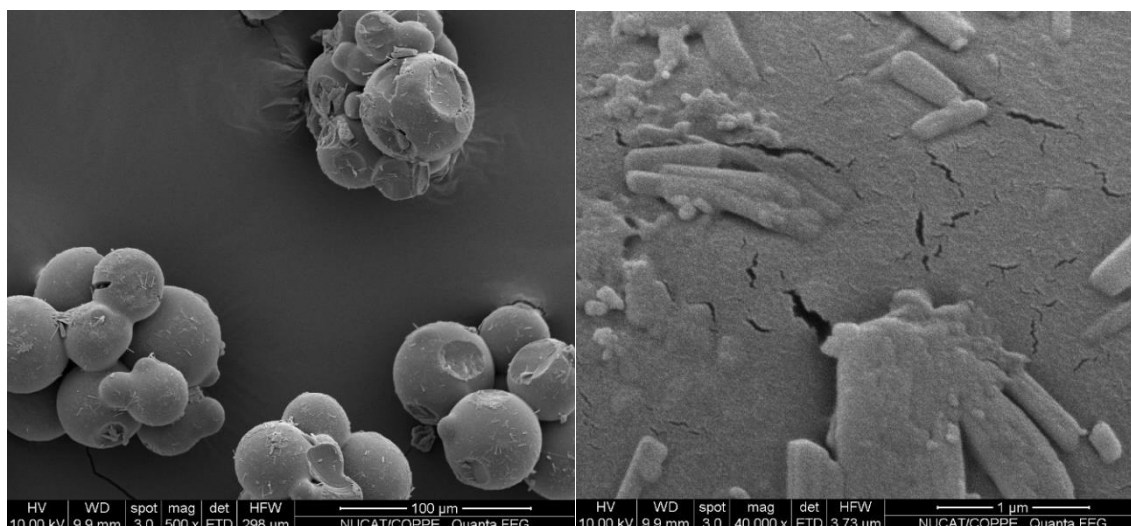


(b)

(Figura 4.1.8- continua)



(c)



(d)

Figura 4.1.8- Imagens do MEV em dois graus de magnificação diferentes de amostras das corridas (a) R1, (b) R2, (c) R3 e (d) R4, como definido na Tabela 4.1.1.

4.1.6 Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR)

Análises de FT-IR foram realizadas para avaliar qualitativamente a eficiência do encapsulamento do fármaco pelo polímero na produção das partículas. Por meio desta técnica é possível medir a absorção seletiva de luz pelo modo de vibração de ligações

específicas na amostra analisada. Portanto, a partir da avaliação dos espectros, pode-se avaliar o tipo de interação existente entre o fármaco e o polímero (MAINARDES *et al.*, 2006).

No espectro da amostra de Praziquantel, apresentado na Figura 4.1.9, é possível identificar três picos principais, referentes ao estiramento das ligações entre carbono e nitrogênio (1), ao estiramento da carbolina (C = O) (2) e o estiramento das ligações –CH, –CH₂ e –CH₃ (3), segundo descrito por Mainardes *et al.* (2006).

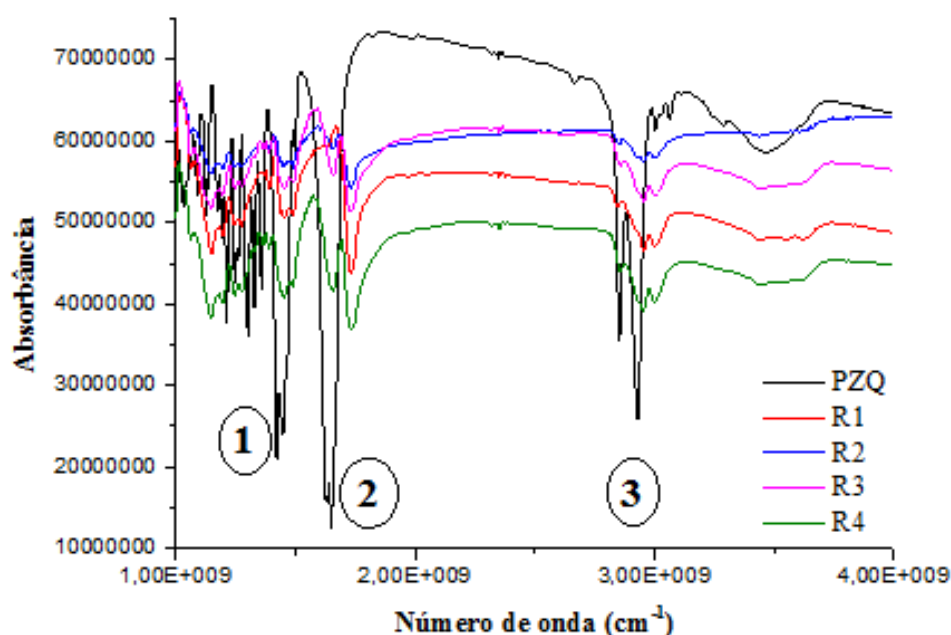


Figura 4.1.9- Espectros de FT-IR do fármaco PZQ e dos produtos das reações R1, R2, R3 e R4.

Os espectros obtidos mostram que a estrutura observada nas partículas contendo o PZQ encapsulado é muito próxima da do PMMA puro. Com isto, fica evidente o encapsulamento do fármaco; caso se tratasse de uma mera mistura física, o espectro resultante deveria ser uma sobreposição dos espectros obtidos pelo PMMA e pelo PZQ (MAINARDES *et al.*, 2006).

4.1.7 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Com a utilização dos ensaios de DSC foi possível detectar o ponto de fusão do PZQ, que ocorre em 140°C (CIOLI *et al.*, 2002), visto na Figura 4.1.10 em (a), e a temperatura de transição vítrea (T_g) do PMMA puro e das partículas contendo PZQ encapsulado são apresentadas na Tabela 4.1.3.

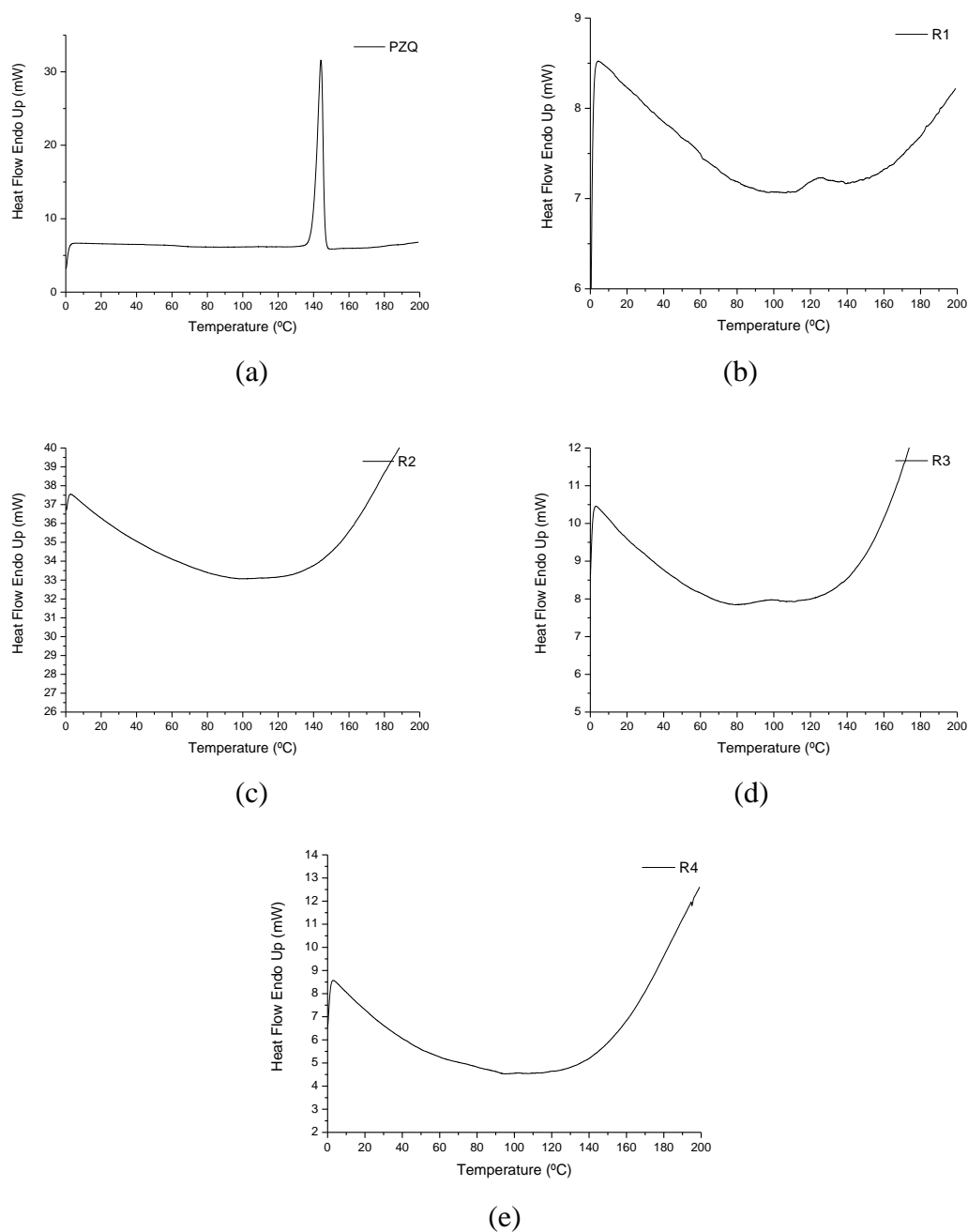


Figura 4.1.10- Análises de DSC das amostras de (a) PZQ e dos produtos das reações (b) R1, (c) R2, (d) R3 e (e) R4, como definido na Tabela 4.1.1.

Tabela 4.1.3- Temperatura de transição vítrea das amostras dos produtos das reações do primeiro grupo

Amostras*	Tg (°C)
R1	115
R2	107
R3	89
R4	109

* condições reacionais definidas na Tabela 4.1.1.

Pode-se observar uma pequena diminuição da temperatura de transição vítrea das partículas poliméricas, quando comparadas à temperatura de transição vítrea do PMMA puro, resultante da incorporação de uma maior quantidade do fármaco.

Mais importante ainda, não é possível detectar os picos de fusão do PZQ nas amostras poliméricas, indicando que o PZQ está disperso na matriz e não forma uma fase distinta. Isso reforça a interpretação de que os cristais de PZQ são produzidos na água durante o resfriamento.

4.1.8 Eficiência de Encapsulamento

A determinação da quantidade de PZQ encapsulada em cada amostra foi realizada por meio de extração com metanol.

A quantificação foi realizada por meio de leituras em HPLC, sendo identificado um sinal bem definido entre 8 e 8,5 minutos, como mostra a Figura 4.1.11. Para quantificar o PZQ contido em cada amostra, foi construída uma curva de calibração, por meio de soluções padrão, presente na Figura 4.1.12.

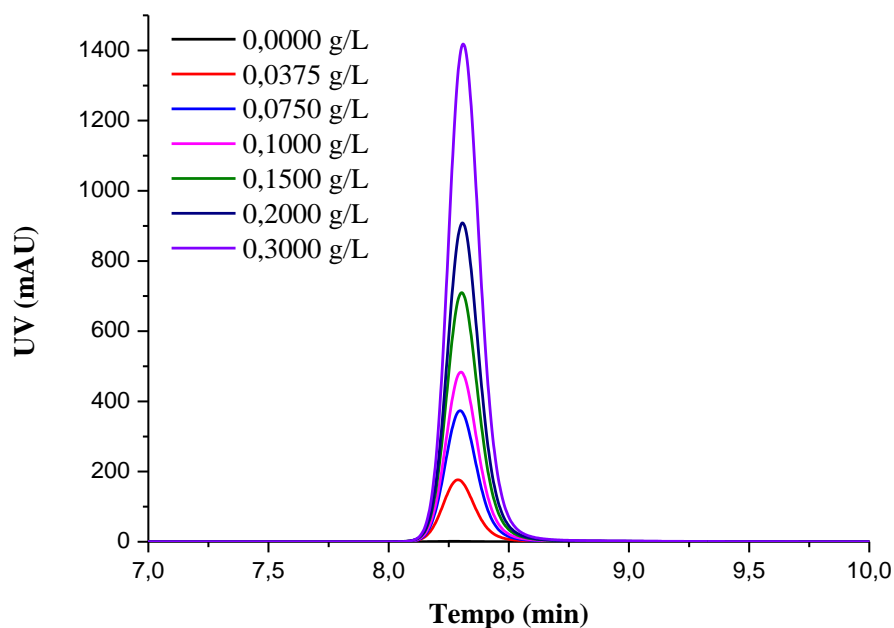


Figura 4.1.11– Curva de calibração do HPLC das soluções de PZQ em metanol em diferentes concentrações.

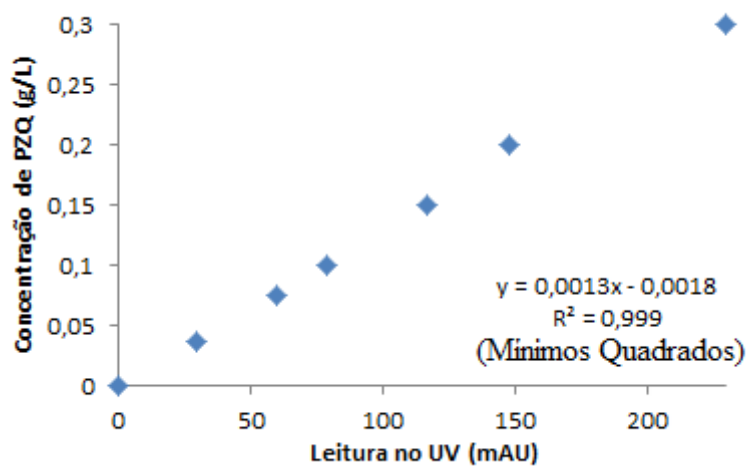


Figura 4.1.12- Curva de calibração construída por meio de leituras realizadas no HPLC dos padrões preparados.

A Figura 4.1.13 mostra os resultados das análises de HPLC obtidos para cada amostra. Na análise do PMMA puro, observa-se que não há picos de intensidade significativa que possam interferir na determinação da quantidade de PZQ referente a cada amostra. Na Tabela 4.1.4 são apresentados os valores percentuais de PZQ encapsulado e da razão entre as quantidades de PZQ e de PMMA nas partículas. Os valores obtidos para as eficiências de encapsulamento, entre 70 e 80%, indicam que o processo de encapsulamento se deu de forma eficiente para todos os casos. Esses valores são similares aos reportados por Fonseca (2012) e podem indicar que parte do PZQ não deixa a partícula.

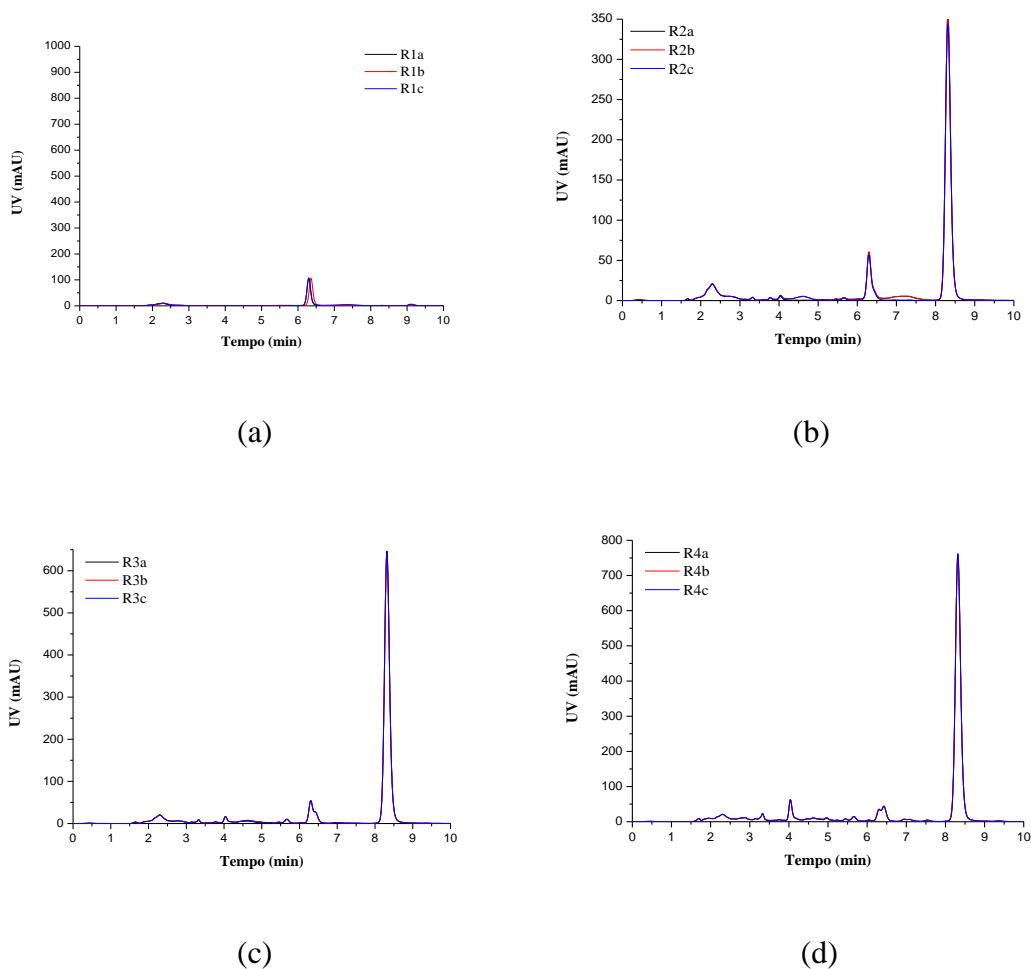


Figura 4.1.13- Análises de HPLC das amostras dos produtos das reações (a) R1, (b) R2, (c) R3 e (d) R4, como definido na Tabela 4.1.1.

Tabela 4.1.4-Quantidades de PZQ encapsulado em cada amostra produzida nas reações do primeiro grupo

Amostras*	g(PZQ)/g(Partícula)	% Encapsulada
R1	0	0
R2	0,0720	81
R3	0,1342	82
R4	0,1587	70

* condições reacionais definidas na Tabela 4.1.1.

4.1.9 Teste de Liberação do Fármaco

Este teste é muito importante, pois fornece o perfil de liberação do PZQ numa solução de pH 6,8 que representa o pH do intestino, local em que se deseja-se que a liberação do medicamento ocorra. Fonseca (2012) observou em um sistema de encapsulamento de mesma composição que havia maior liberação do medicamento neste pH, quando comparado ao desempenho das nanopartículas em pH mais ácido, como o do estômago (pH = 1,2). Portanto, os testes foram realizados somente em pH 6,8. As amostras deste grupo de reações foram ensaiadas durante três horas, resultando nos valores apresentados na Figura 4.1.15. Na Figura 4.1.14 é apresentada a curva de calibração, utilizada para realizar a quantificação do PZQ presente na solução.

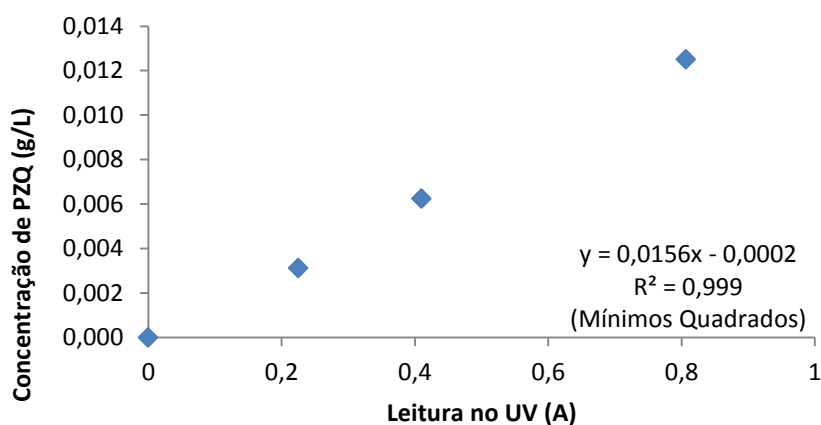
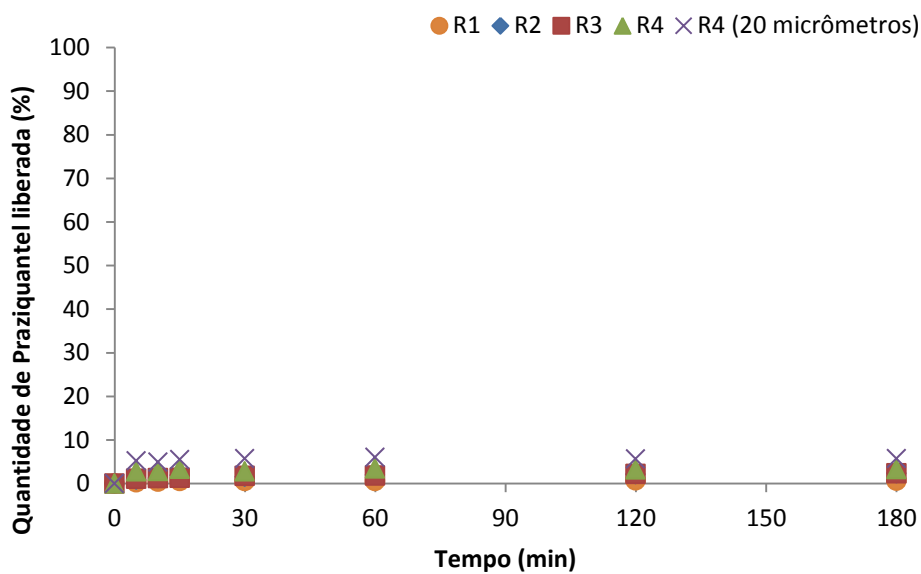
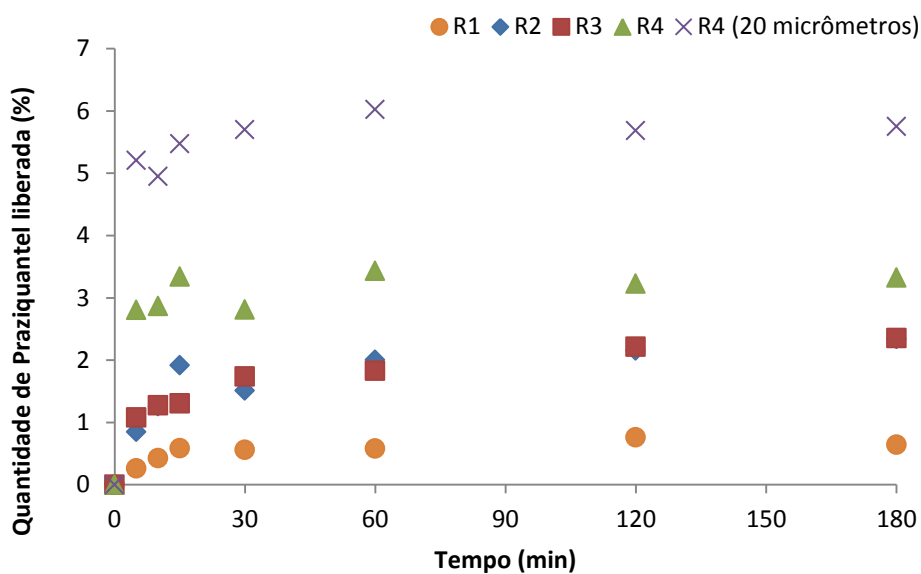


Figura 4.1.14- Curva de calibração construída por meio de leituras realizadas no Espectrofotômetro de UV Visível dos padrões preparados.



(a)



(b)

Figura 4.1.15- Comparação entre os perfis de liberação de PZQ, em (a) escala até 100% e (b) perfis mais detalhados, das partículas resultantes das reações R1, R2, R3 e R4, como definido na Tabela 4.1.1.

Como visto na seção 4.1.3, as partículas produzidas nas diferentes reações possuem diferentes distribuições de tamanho. Para gerar maior uniformidade no ensaio,

as partículas foram previamente separadas por faixas de tamanhos, com a utilização de um conjunto de peneiras em um agitador eletromagnético. As amostras selecionadas para a realização do teste de liberação foram as separadas na faixa de 75 a 106 μm . Para fins de avaliação da diferença de liberação em diferentes tamanhos de partículas, foi também ensaiada uma amostra da reação R4, que resultou em partículas com maior quantidade do fármaco encapsulada, separadas na faixa de 20 a 45 μm , chamadas de R4 (20 micrômetros) na Figura 4.1.15.

Estes resultados mostram que, no intervalo de tempo considerado, os perfis de liberação das amostras foram muito baixos, se comparados aos resultados obtidos por Fonseca (2012), em que 85% do PZQ eram liberados após aproximadamente 15 minutos.

Apesar de conterem diferentes quantidades do medicamento, as partículas produzidas nas reações R2, R3 e R4, apresentaram comportamentos similares, ocorrendo uma liberação maior nos primeiros minutos, e posteriormente permanecendo constante.

Os três perfis de liberação foram também muito similares, sendo que as amostras produzidas com 10 e 20% de PZQ resultam em perfis de liberação praticamente coincidentes, sendo o perfil da amostra de 30% um pouco superior. O ensaio realizado com uma amostra de menor tamanho, na faixa de 20 a 45 μm , mostrou um perfil de liberação de PZQ mais acentuado, quando comparado aos dos demais, mostrando uma influência significativa da variação de tamanho da partícula.

Os resultados obtidos parecem mostrar dois pontos importantes. Em primeiro lugar, a rápida liberação inicial, também observada por Fonseca (2012), parece estar relacionada a existência de PZQ livre, precipitado na fase aquosa. Fonseca (2012) minimizou esse problema com a lavagem e filtração do produto final, para a remoção dos cristais de PZQ. Em segundo lugar, a influência marcante do tamanho sugere o controle difusivo do processo de liberação.

Em função dos resultados obtidos, foram realizadas modificações na formulação e na forma de produção das partículas, com o objetivo de acelerar a taxa de liberação do fármaco encapsulado.

4.2 Segundo Grupo de Reações

Ao segundo grupo de reações, foram adicionadas diferentes quantidades de diluente às formulações, com o objetivo de formar poros nas partículas, com a finalidade de facilitar a difusão do medicamento pela matriz polimérica. Para isso, foi empregado como diluente o clorofórmio, nas quantidades de 10 e 20%, em massa, em relação à quantidade de monômero empregada. O clorofórmio foi utilizado porque é um bom solvente para o PZQ, para o MMA e para o PMMA. Não é possível, no entanto, a sua utilização em aplicações farmacêuticas desejadas, de forma que ele é empregado aqui como um modelo.

Para avaliar somente a influência do diluente adicionado, foi fixada a formulação da reação R4, em que a quantidade de PZQ adicionada ao meio reacional era a máxima utilizada, 30% em massa, em relação à quantidade de monômero utilizada. As formulações utilizadas para a produção das novas partículas estão apresentadas na Tabela 4.2.1.

Tabela 4.2.1- Formulações utilizadas para a produção do segundo grupo de micropartículas poliméricas

Reações	BPO (g)	MMA (g)	PVA (g)	PZQ (g)	CHCl ₃ (g)	EGDMA (g)
R5	4,00	150,02	1,8	45,00	15,00	0
R6	4,00	150,10	1,8	45,00	30,05	0

BPO: Peróxido de Benzoíla; MMA: Metacrilato de Metila; PVA: Poli(álcool vinílico); PZQ: Praziquantel; CHCl₃: Clorofórmio; EGDMA: Dimetacrilato de Etileno Glicol.

Para fins de comparação, os resultados das análises descritas a seguir apresentam também os resultados obtidos na reação R1, formulação isenta de PZQ, os quais já foram apresentados ao longo da seção 4.1.

4.2.1 Análise Gravimétrica

As conversões do monômero ao longo das reações de polimerização estão apresentadas na Figura 4.2.1.

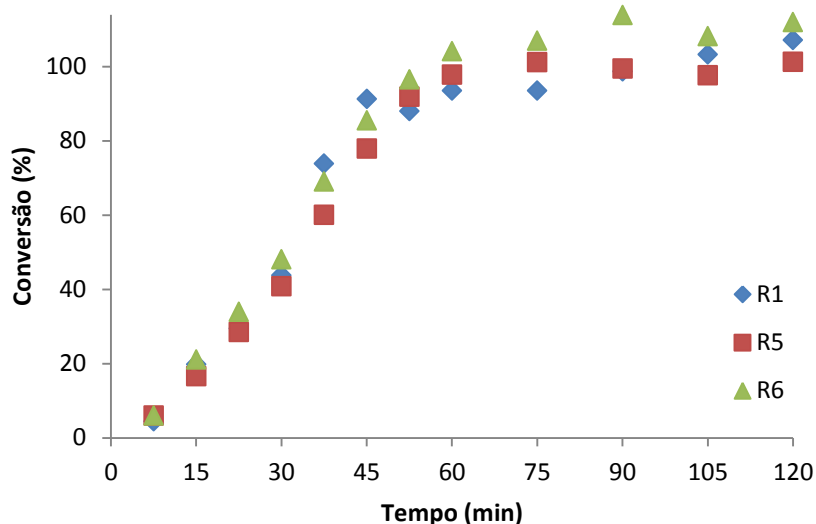


Figura 4.2.1- Curvas de conversão do monômero nas reações R1, R5 e R6, definidas na Tabela 4.1.1 e na Tabela 4.2.1.

Diferentemente dos resultados discutidos anteriormente para o primeiro grupo de reações, apresentados na seção 4.1.1, a inclusão do diluente na formulação fez com que o comportamento da reação em relação à conversão fosse muito similar ao obtido na polimerização conduzida na ausência do fármaco, R1. Uma possível explicação para este comportamento é a diminuição da viscosidade das gotículas de monômero inicialmente formadas, devido à presença do solvente no meio reacional.

Uma característica observada durante as reações foi o comportamento térmico mais brando, com a elevação do volume do meio reacional por formação de espuma uma única vez, diferentemente das reações anteriores em que PZQ foi adicionado às formulações e em concordância com a reação de produção do polímero puro. Porém, a intensidade do aumento de volume foi significativamente maior, em acordo com a maior quantidade do diluente adicionada, tornando necessária a diminuição da

temperatura da camisa do reator para 75°C por cerca de cinco minutos, tempo necessário para que houvesse a estabilização do volume do meio reacional. Posteriormente, a temperatura voltou a ser fixada em 85°C.

Os produtos obtidos nestas reações, assim como na reação R4, apresentaram coloração rosada, porém em menor intensidade, como mostrado na Figura 4.2.2. Após a secagem, as partículas adquiriram uma coloração branca/cintilante. Como nos casos anteriores, os rendimentos finais de produtos foram essencialmente iguais a 100%.

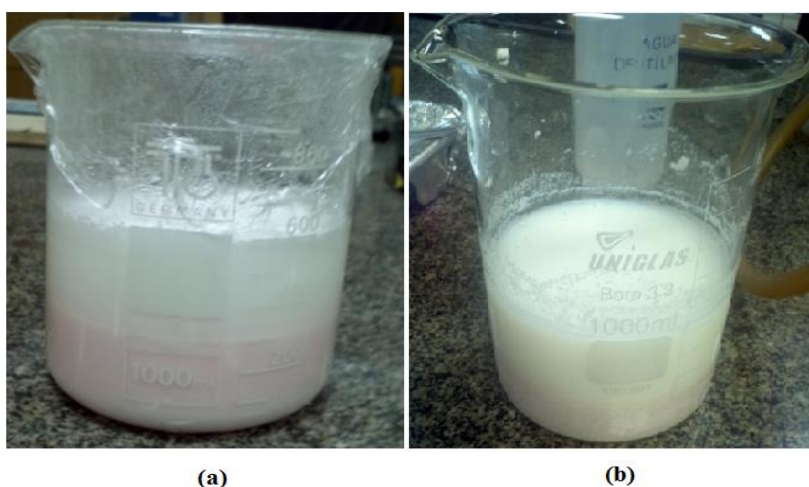


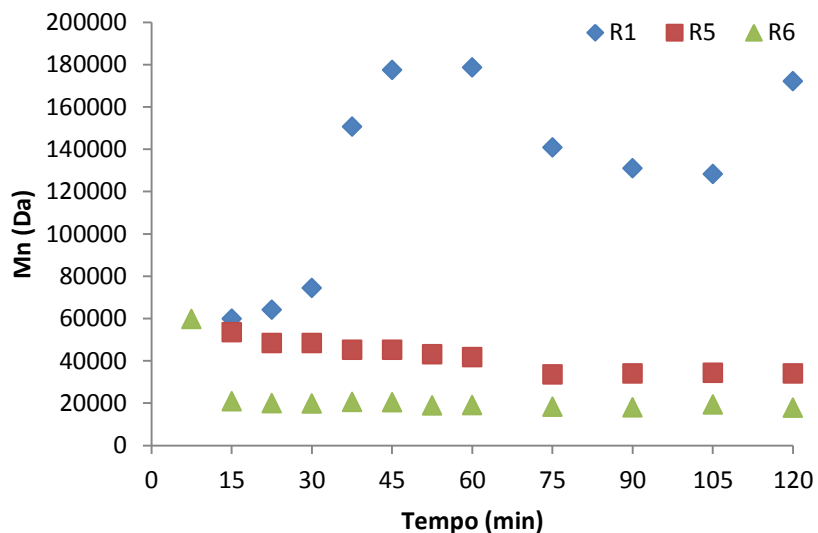
Figura 4.2.2- Aspecto visual dos produtos obtidos das reações (a) R5 e (b) R6, como definidos na Tabela 4.2.1.

4.2.2 Cromatografia de Permeação a Gel (GPC)

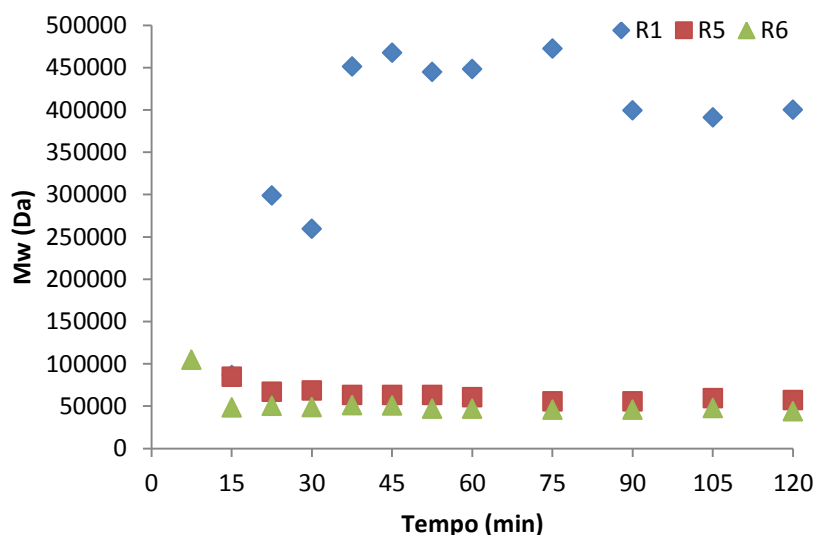
A evolução das massas molares médias numéricas e ponderais ao longo das reações do segundo grupo de reações apresentou um comportamento próximo ao das reações conduzidas na presença do PZQ do primeiro grupo de reações, como visto na Figura 4.2.3.

Além de mantidos em níveis mais baixos em relação ao do PMMA puro, R1, ao ser adicionado ao meio reacional 10% de diluente, R5, os valores das massas molares médias ponderais e numéricas permanecem essencialmente os mesmos da reação R4,

realizada sem solvente. Com a incorporação de uma maior quantidade de diluente, 30% em R6, ocorre pequena diminuição das massas molares médias. Este resultado se deve ao fato do clorofórmio também poder atuar como agente de transferência de cadeia durante uma reação de polimerização, além do fator relacionado à diluição do monômero, que provoca a redução das taxas de propagação.



(a)



(b)

Figura 4.2.3- Comparação da evolução das massas molares médias (a) numéricas e (b) ponderais de amostras das reações R1, R5 e R6, como definido na Tabela 4.1.1 e na Tabela 4.2.1.

Portanto, o efeito da adição de clorofórmio no meio é pouco importante para a produção do polímero. Deve-se ressaltar que a presença do clorofórmio pode também aumentar a disponibilidade do PZQ, ao aumentar a solubilidade do fármaco no meio reacional.

4.2.3 Distribuição dos Tamanhos de Partículas

Em relação à distribuição dos tamanhos de partículas deste segundo grupo de reações, onde as médias de tamanhos das partículas são apresentadas na Tabela 4.2.2, observa-se na Figura 4.2.4 a diminuição dos tamanhos médios em relação à distribuição de tamanhos de partículas de PMMA puro. Isto se deve à menor viscosidade do meio reacional por causa da presença do diluente. Porém, comparadas entre si, as reações apresentaram distribuições, monomodais muito semelhantes.

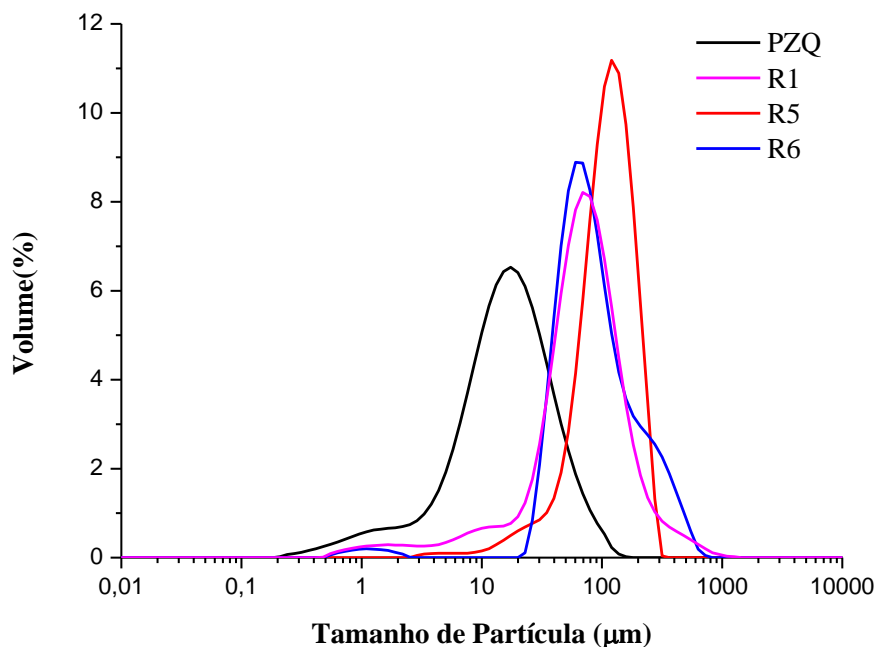


Figura 4.2.4- Comparação das distribuições dos tamanhos de partículas de PZQ e dos produtos das reações R1, R5 e R6, como definido na Tabela 4.1.1 e na Tabela 4.2.1.

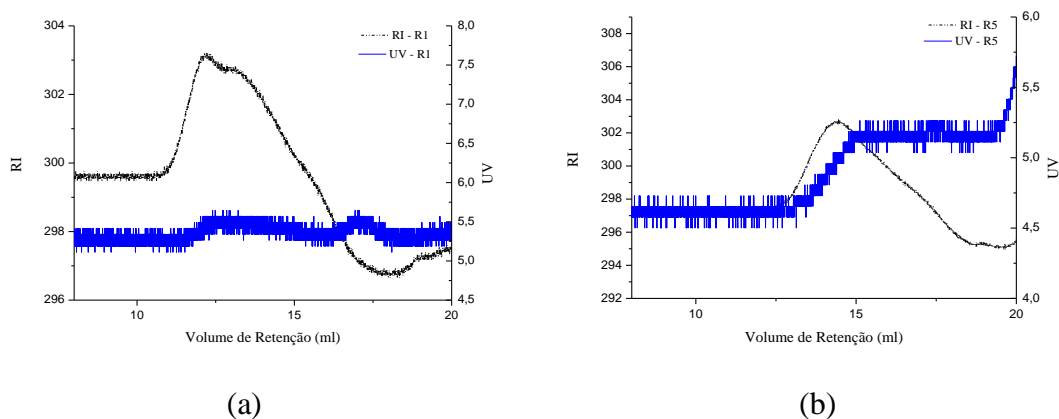
Tabela 4.2.2-Média dos tamanhos de partículas de PZQ e das amostras produzida nas reações do primeiro e do segundo grupo

Amostras*	d(0,1) (µm)	d(0,5) (µm)	d(0,9) (µm)
PZQ	4,095	17,065	48,625
R1	20,744	74,906	186,427
R5	52,072	117,600	206,887
R6	40,319	77,860	245,507

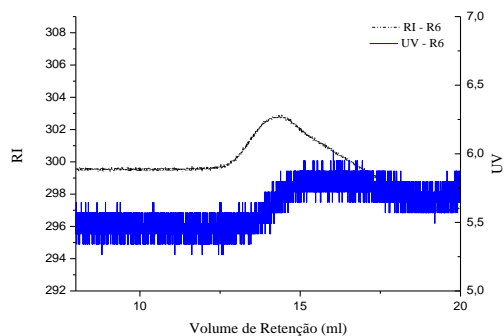
* condições reacionais definidas na Tabela 4.1.1 e na Tabela 4.2.1.

4.2.4 GPC com Detecção Simultânea de UV

Da mesma forma avaliada na seção 4.1.4, as partículas produzidas no segundo grupo de reações foram submetidas a análises simultâneas de GPC e de UV para a comprovação do efeito do PZQ como agente de transferência de cadeia. Os resultados destas análises estão apresentados na Figura 4.2.5 e corroboram os resultados anteriores, mostrando que o sinal de PZQ aumenta nas frações de massas molares médias mais baixas.



(Figura 4.2.5- Continua)

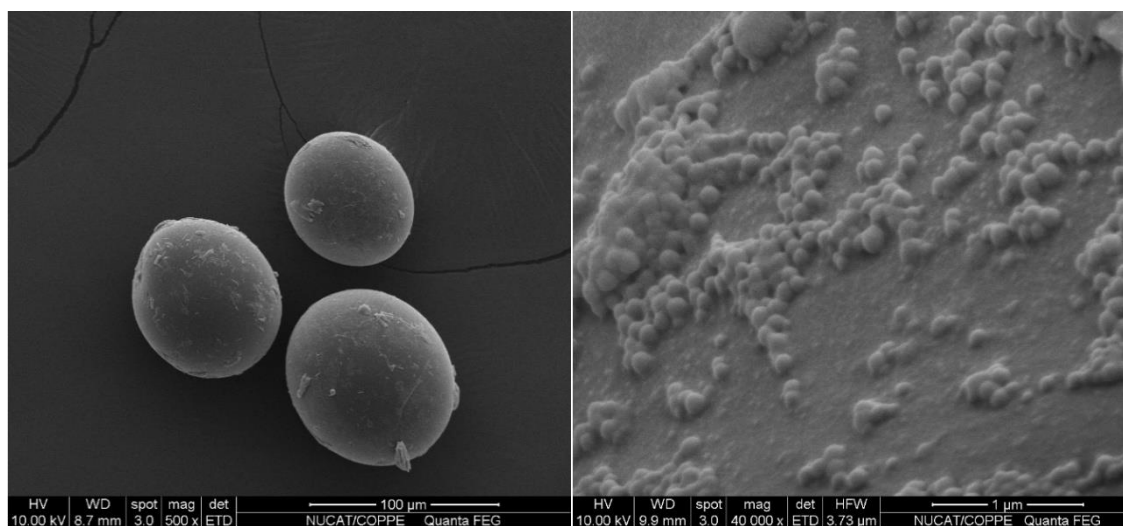


(c)

Figura 4.2.5- Análises simultâneas de GPC e UV das amostras produzidas nas reações (a) R1, (b) R5 e (c) R6, como definido na Tabela 4.1.1 e na Tabela 4.2.1.

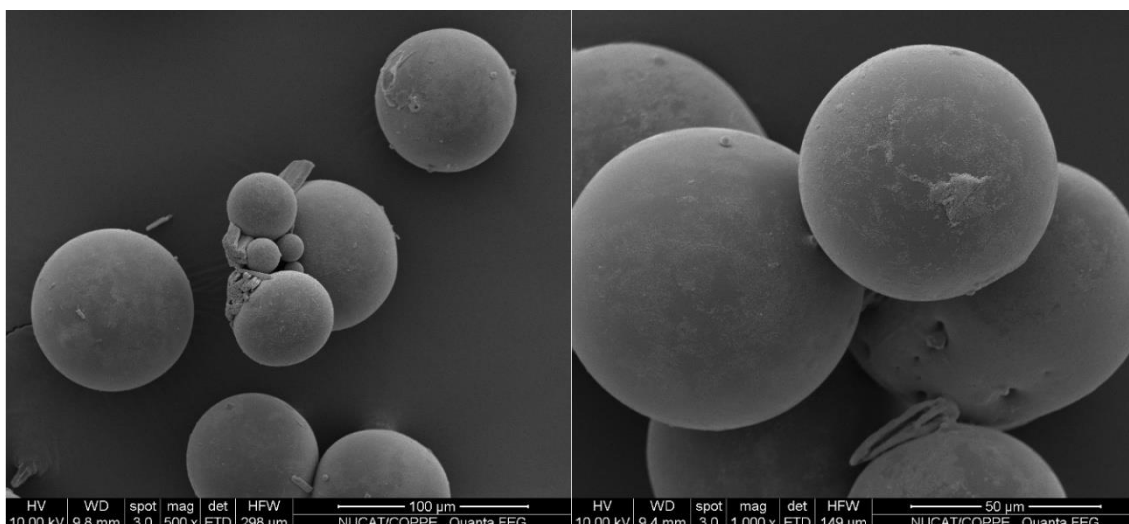
4.2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens obtidas pela utilização do MEV permitiram a observação das partículas produzidas no segundo grupo, como mostrado na Figura 4.2.6.



(a)

(Figura 4.2.6- Continua)



(b)

Figura 4.2.6- Imagens do MEV em dois graus de magnificação diferentes das amostras produzidas nas reações (a) R5 e (b) R6, como definido na Tabela 4.2.1.

As superfícies de amostras das partículas produzidas nas reações R5 e R6 são mais lisas e regulares que nas partículas produzidas em R4. Aparentemente é notada menor quantidade de PZQ aderida à superfície, possivelmente por causa do efeito diluente do clorofórmio. Porém, em relação à porosidade, na escala avaliada não foi possível observar a sua presença. Na Figura 4.2.6 (b), é possível observar a presença de alguns poros na superfície das partículas produzidas com maiores teores de clorofórmio, com uma distribuição aparentemente irregular dos poros.

4.2.6 Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR)

Como na seção 4.1.6, foi demonstrada qualitativamente a eficiência do encapsulamento de PZQ das reações realizadas neste segundo grupo, conduzidas na presença do diluente. Os espectros obtidos para amostras dos produtos obtidos nas reações R5 e R6 são apresentados na Figura 4.2.7.

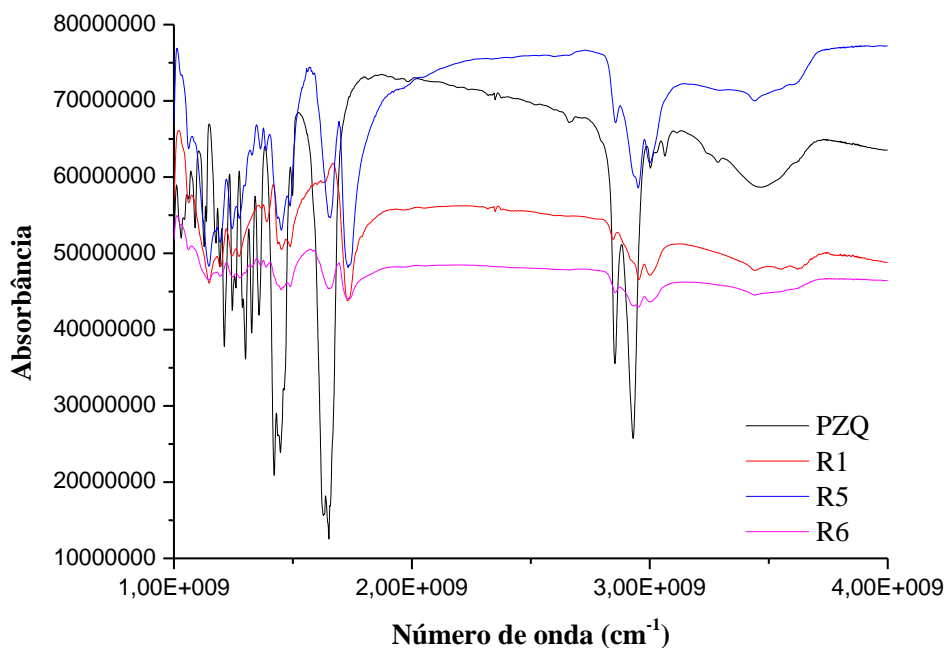


Figura 4.2.7 - Espectros de FT-IR do fármaco PZQ e dos produtos das reações R1, R5 e R6, como definido na Tabela 4.1.1 e na Tabela 4.2.1.

4.2.7 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Como na seção 4.2.7, foi observada uma pequena diminuição nos valores das temperaturas de transição vítrea dos materiais poliméricos obtidos nas reações R5 e R6.

Os resultados das análises realizadas estão apresentados na Figura 4.2.8 e na Tabela 4.2.3. Como nos casos anteriores, não foram observados os picos de fusão de PZQ nas amostras poliméricas.

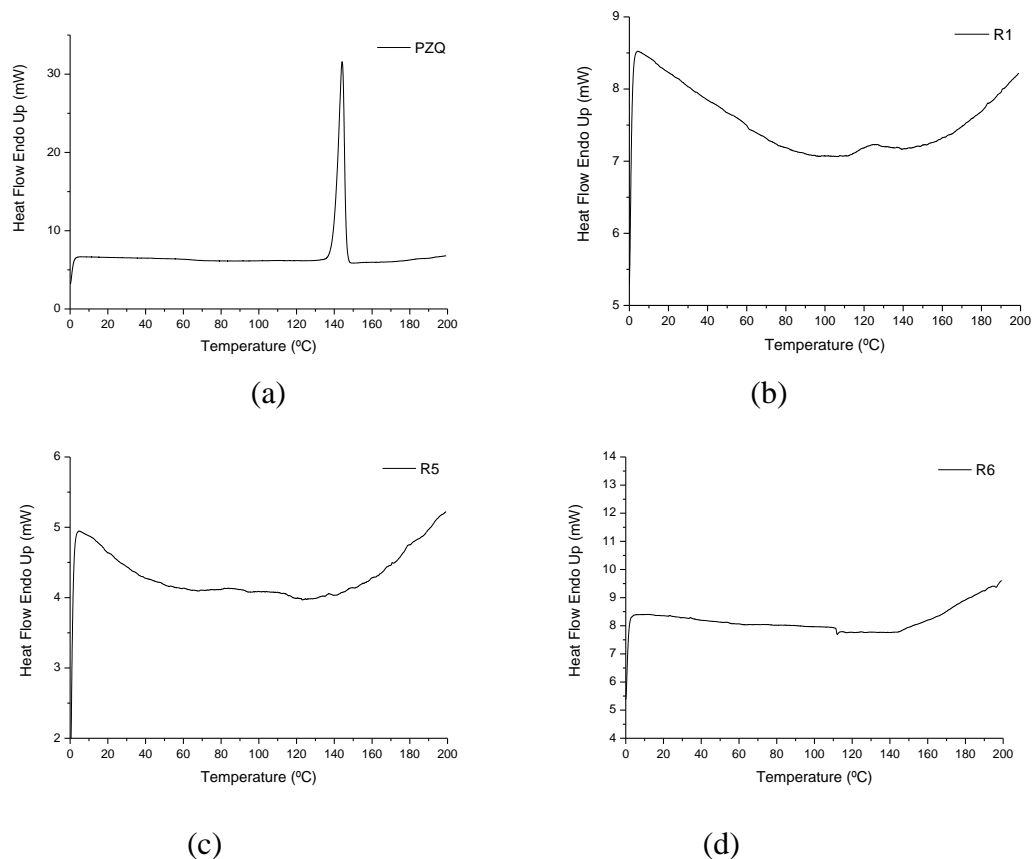


Figura 4.2.8- Análises de DSC das amostras (a) PZQ, (b) R1, (c) R5 e (d) R6.

Tabela 4.2.3- Temperatura de transição vítrea das amostras dos produtos das reações do segundo grupo

Amostras*	Tg (°C)
R5	77
R6	84

* condições reacionais definidas na Tabela 4.2.1.

4.2.8 Eficiência de Encapsulamento

Na Figura 4.2.9 são apresentados os resultados obtidos pelas leituras realizadas no HPLC. Novamente, não parece haver influência significativa de algum pico com o tempo referente à leitura do PZQ, em torno de 8,5 minutos de análise. Por meio das

leituras apresentadas, foram obtidos os valores das eficiências de encapsulamento do PZQ, com os quais a Tabela 4.2.4 foi construída.

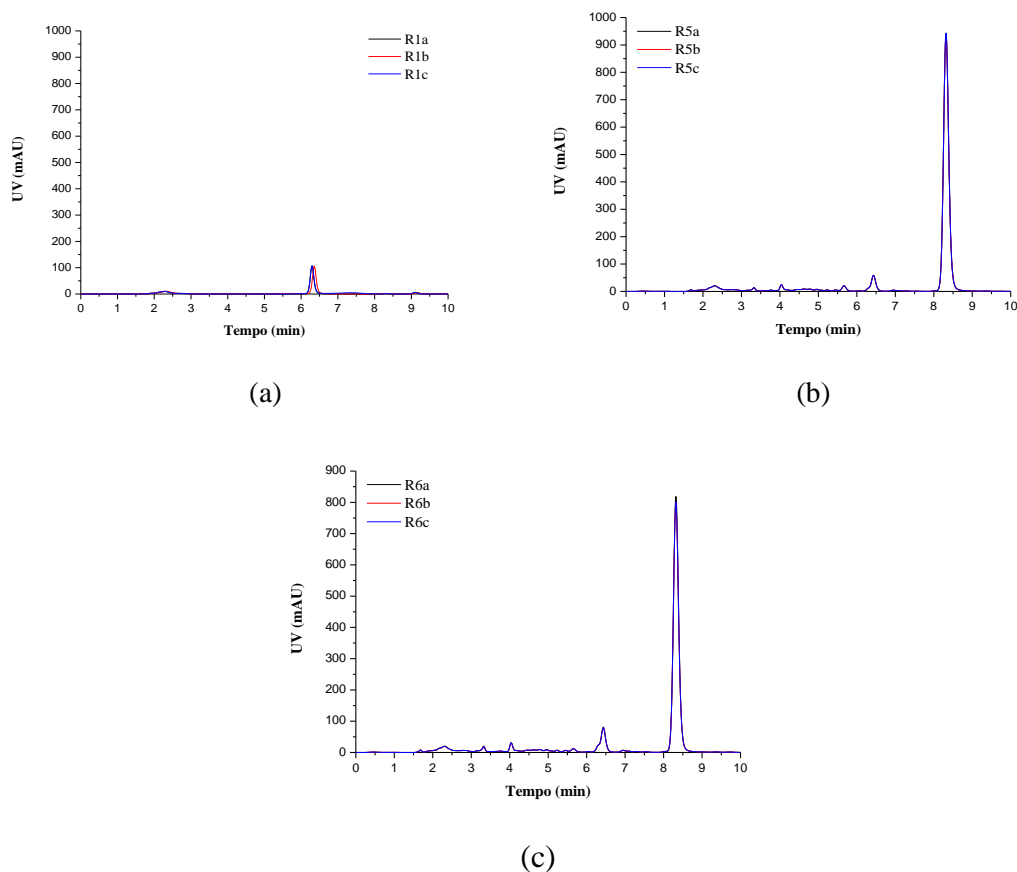


Figura 4.2.9- Análises de HPLC das amostras produzidas nas reações (a) R1, (b) R5 e (c) R6, como definido na Tabela 4.1.1 e na Tabela 4.2.1.

Tabela 4.2.4- Quantidades de Praziquantel encapsulada em cada amostra produzida nas reações do segundo grupo

Amostras*	g(PZQ)/g(Partícula)	% Encapsulada
R5	0,1971	87
R6	0,1687	74

*condições reacionais definidas na Tabela 4.2.1.

Assim como no primeiro grupo de reações, as reações R5 e R6 resultaram em boas eficiências de encapsulamento, superiores à obtida na reação R4, que foi de 70%. Conclui-se, portanto, que a adição do diluente pode melhorar a eficiência do encapsulamento do fármaco durante a reação de polimerização, talvez por conta da liberação mais fácil do produto no meio de análise.

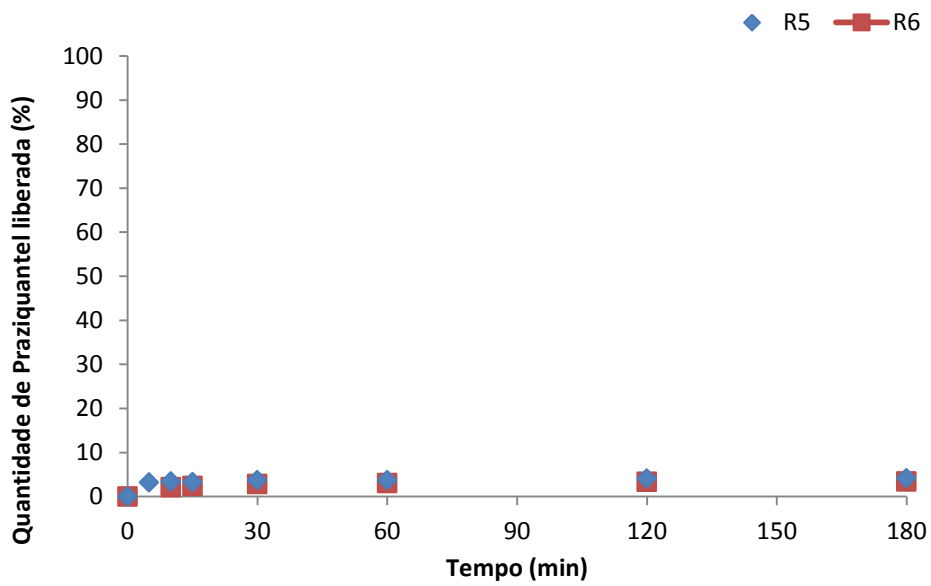
4.2.9 Teste de Liberação do Fármaco

Nos testes de liberação do fármaco conduzidos com as partículas poliméricas, o produto da reação R5, que teve menor adição de diluente que na reação R6, apresentou maior porcentagem de PZQ liberada, como pode ser visto na Figura 4.2.10.

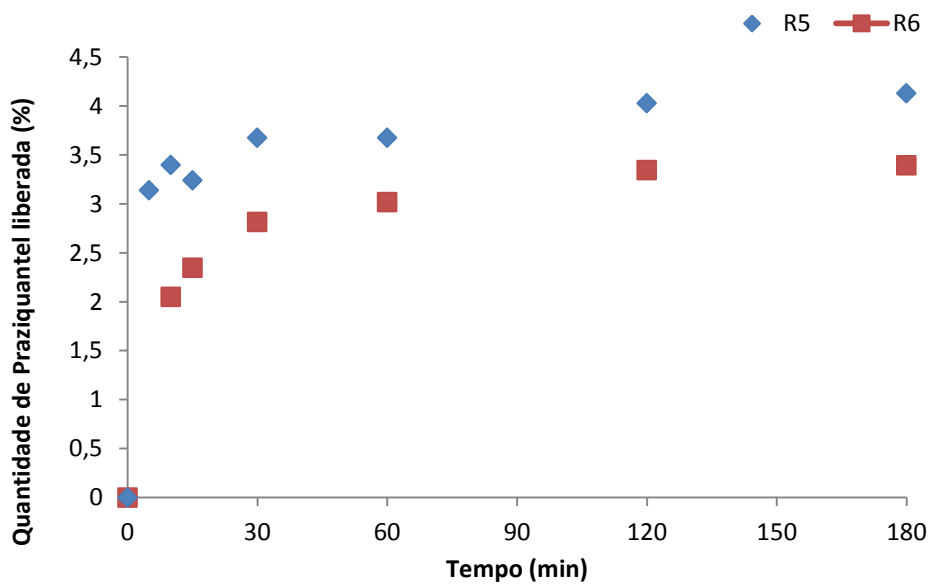
Apesar dos menores tamanhos médios de partículas, foi mantida a faixa de tamanho de 75 a 106 μm para avaliar a influência da adição do diluente às formulações deste grupo de reações.

A avaliação destes resultados mostrou que os perfis de liberação praticamente não sofreram alterações. Visto que o aumento de escala de produção destas formulações seria muito complicado, por causa da pronunciada elevação do volume da mistura reacional por formação de espuma durante o efeito gel, a adição do solvente como diluente foi descartada nos demais grupos de reações.

No entanto, os resultados mostram que as taxas de liberação são provavelmente limitadas pela difusão nas partículas, sendo necessário induzir a formação de uma estrutura porosa e reduzir o tamanho médio das partículas.



(a)



(b)

Figura 4.2.10- Comparação entre os perfis de liberação de PZQ, em (a) escala até 100% e (b) perfis mais detalhados, pelas partículas produzidas nas reações R5 e R6, como definido na Tabela 4.2.1.

4.3 Terceiro Grupo de Reações

Para a realização do terceiro grupo de reações, a estratégia adotada para obtenção de maiores velocidades de liberação de PZQ pelas partículas de PMMA foi a adição de EGDMA ao meio reacional, para promover a reticulação do polímero e a formação de uma estrutura mais permeável. Por meio da reticulação do polímero, pretende-se obter regiões com espaços vazios no interior da matriz polimérica, agilizando a difusão do PZQ para o exterior das partículas poliméricas. Os espaços vazios podem ser gerados pelo menor enovelamento das cadeias poliméricas, devido às ligações cruzadas estabelecidas entre as cadeias, promovidas pelo agente reticulante. As formulações adotadas para a produção das novas partículas encontram-se na Tabela 4.3.1.

Tabela 4.3.1- Formulações utilizadas para a produção do terceiro grupo de micropartículas poliméricas

Reações	BPO (g)	MMA (g)	PVA (g)	PZQ (g)	CHCl ₃ (g)	EGDMA (g)
R7	4,00	150,07	1,80	45,00	0	15,04
R8	4,00	150,00	1,80	45,00	0	7,53
R9	4,00	150,16	1,80	45,00	0	1,50

BPO: Peróxido de Benzoíla; MMA: Metacrilato de Metila; PVA: Poli(álcool vinílico); PZQ: Praziquantel; CHCl₃: Clorofórmio; EGDMA: Dimetacrilato de Etileno Glicol.

Durante a realização das reações do terceiro grupo, ao ser utilizada uma maior quantidade de agente reticulante, o aspecto sólido das partículas poliméricas era alcançado mais cedo.

Na reação R7, em que foram adicionados 10%, em massa de EGDMA em relação à quantidade de monômero, o agitador parecia rodar em seco no interior do reator após cerca de trinta minutos de reação.

Esta impressão se deve ao fato de que as partículas poliméricas produzidas eram muito grandes, devido ao armazenamento nos interstícios de grandes quantidades da fase aquosa, como evidenciado na Figura 4.3.1.

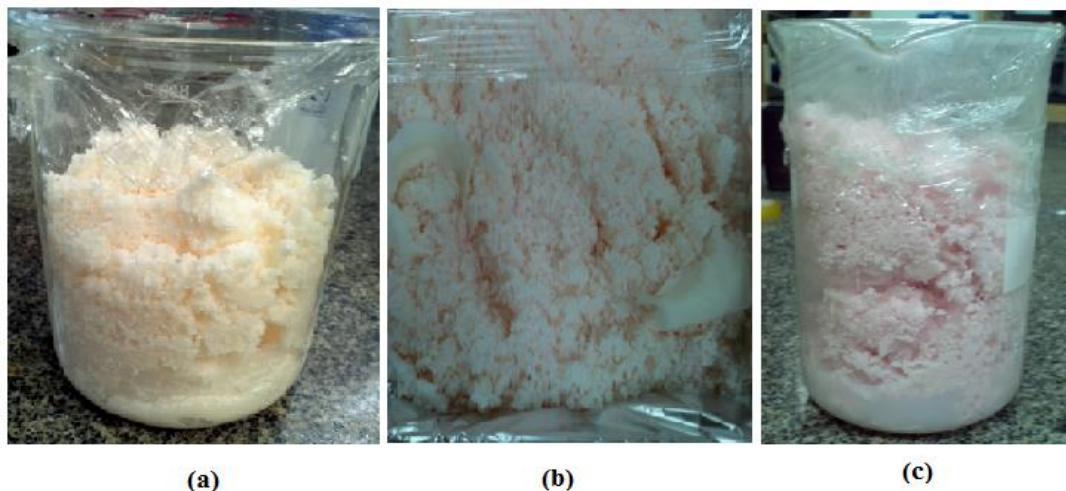


Figura 4.3.1- Aspecto visual dos produtos obtidos das reações (a) R7, (b) R8 e (c) R9, como definido na Tabela 4.3.1.

Dentre as três reações realizadas, somente a que recebeu menor adição do agente reticulante, 1% (R9), apresentou a coloração rosada, como o produto da reação R4, do primeiro grupo de reações.

A reação R8, conduzida com 5% de agente reticulante, apresentou uma coloração rosada um pouco menos intensa. A coloração final obtida na reação R7 foi próxima daquela obtida na reação R3.

Devido à incorporação da fase aquosa presente no meio reacional e à reticulação promovida no polímero, que torna o material insolúvel, as análises de conversão e GPC não puderam ser realizadas.

4.3.1 Distribuição dos Tamanhos de Partículas

A distribuição de tamanhos das partículas produzidas no terceiro grupo de reações está mostrada na Tabela 4.3.2 e comparadas na Figura 4.3.2. Como descrito na seção anterior, as partículas formadas neste grupo foram maiores, por conta da mais rápida evolução das viscosidades do meio reacional.

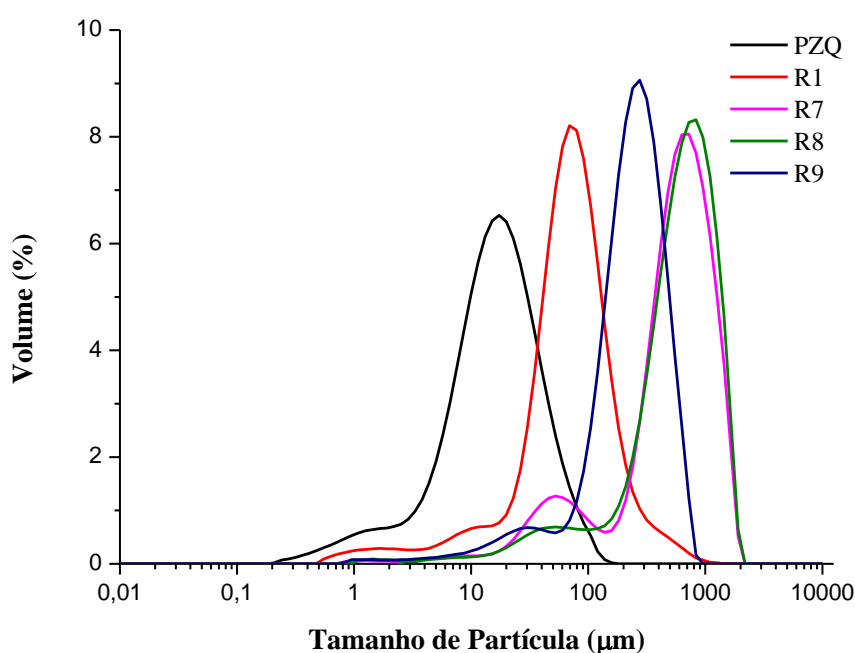


Figura 4.3.2- Comparação da distribuição dos tamanhos de partículas de PZQ e dos produtos das reações R1, R7, R8 e R9, como definido na Tabela 4.1.1 e na Tabela 4.3.1.

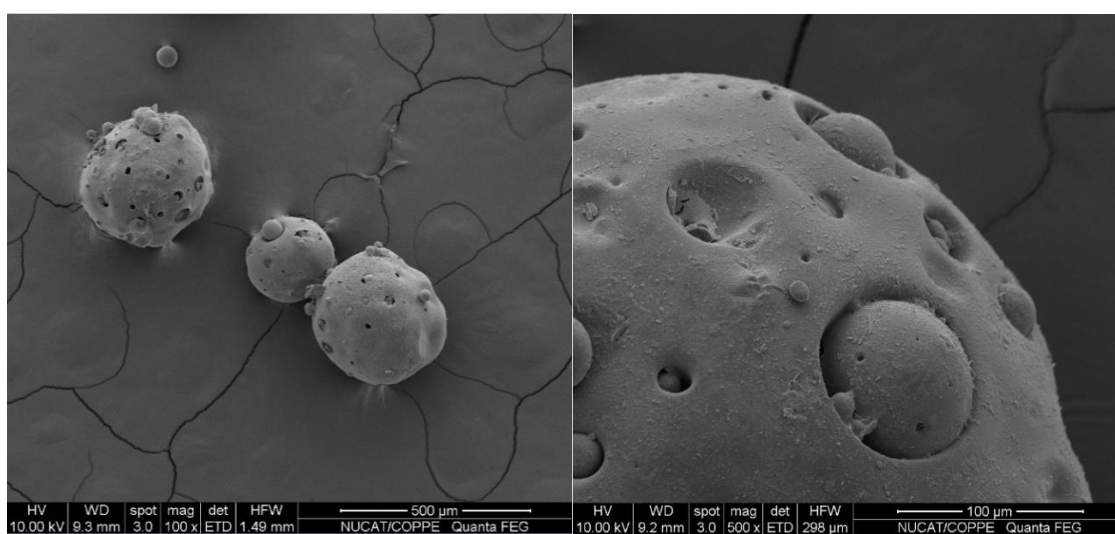
Tabela 4.3.2- Média dos tamanhos de partículas de PZQ e das amostras produzida nas reações do primeiro e do terceiro grupo

Amostras*	d(0,1) (μm)	d(0,5) (μm)	d(0,9) (μm)
PZQ	4,095	17,065	48,625
R1	20,744	74,906	186,427
R7	66,860	613,246	1303,446
R8	127,778	674,751	1374,838
R9	79,695	257,561	517,845

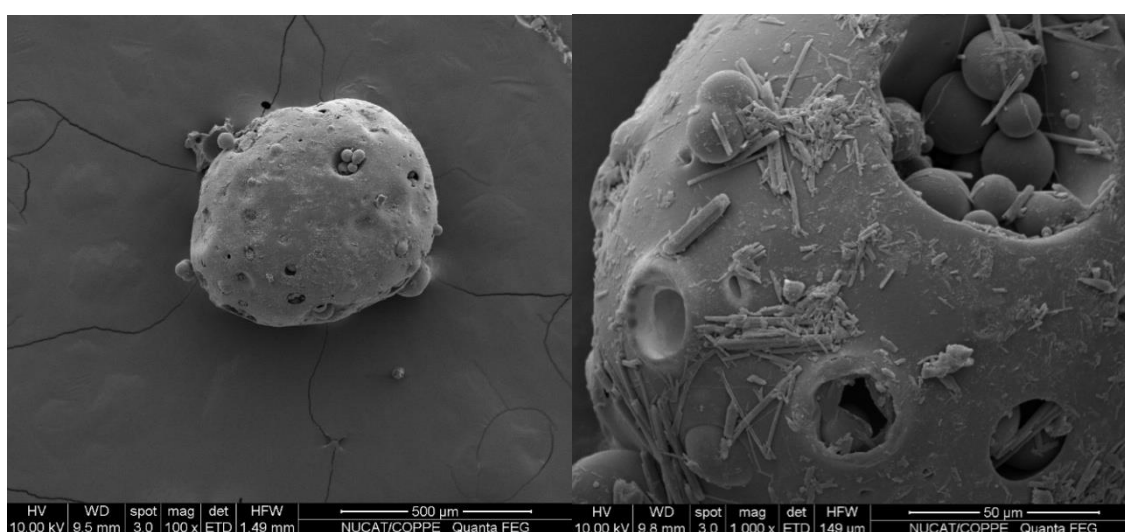
* condições reacionais definidas na Tabela 4.1.1 e na Tabela 4.3.1.

4.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens obtidas por MEV e apresentadas na Figura 4.3.3 revelam partículas com uma enorme quantidade de poros, mostrando ser possível a produção de espaços vazios na matriz polimérica com a utilização de agente reticulante, que promove uma tortuosidade na matriz polimérica. Os poros formados são irregulares em relação aos tamanhos e à distribuição sobre a superfície das partículas.

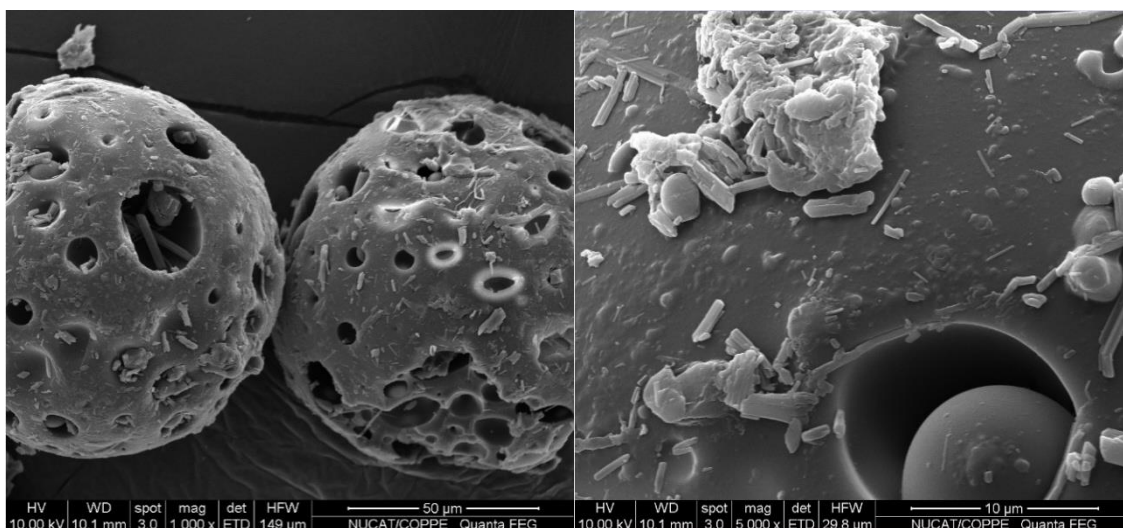


(a)



(b)

(Figura 4.3.3- continua)



(c)

Figura 4.3.3 - Imagens do MEV em dois graus de magnificação diferentes das amostras dos produtos das reações (a) R7, (b) R8 e (c) R9, como definido na Tabela 4.3.1.

Nas partículas produzidas na reação R7, que apresentou maior quantidade de agente reticulante incorporada à formulação, a superfície das partículas entre os poros, possui um aspecto liso, não sendo observada a presença de cristais de PZQ. Já nas formulações em que foram adicionados 5% e 1% de agente reticulante, respectivamente, observa-se a presença de cristais de PZQ na superfície das partículas, o que justifica a coloração rosada assumida por ambos os produtos.

4.3.3 Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR)

Como nos grupos de reações anteriores, a análise de FT-IR comprovou qualitativamente a eficiência do encapsulamento do PZQ para produção das partículas poliméricas. Os espectros obtidos estão apresentados na Figura 4.3.4. Em todos os casos é possível observar a predominância do sinal do PMMA.

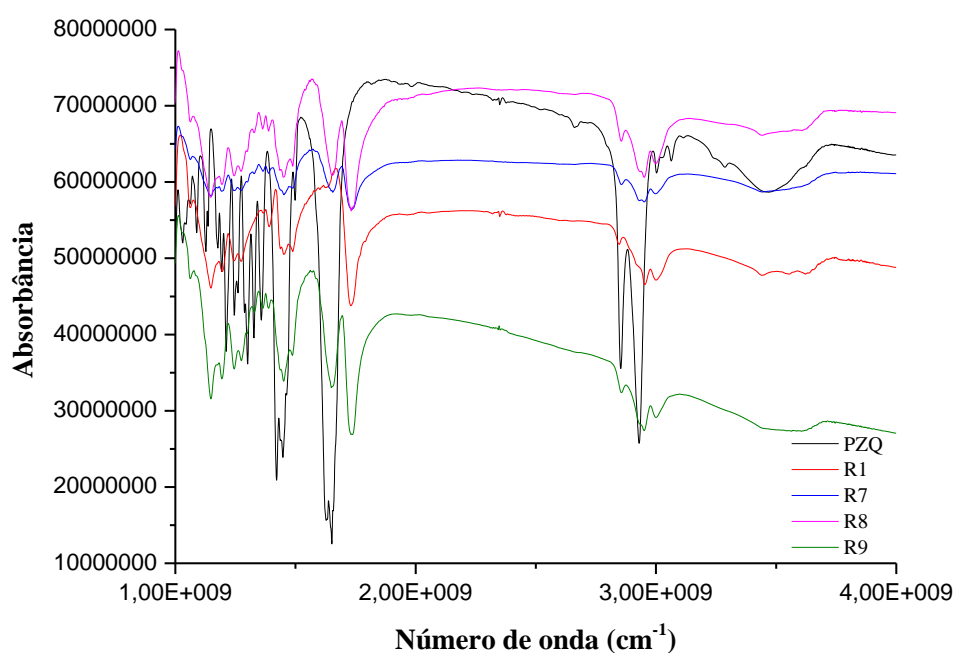
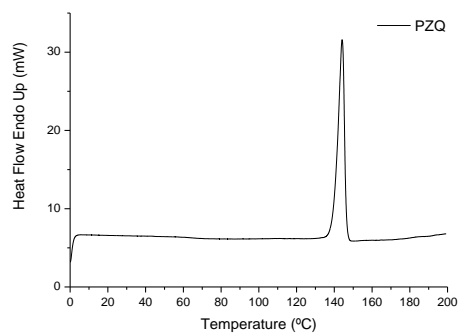


Figura 4.3.4 - Espectros de FT-IR do fármaco PZQ e dos produtos das reações R1, R7, R8 e R9, como definido na Tabela 4.1.1 e na Tabela 4.3.1.

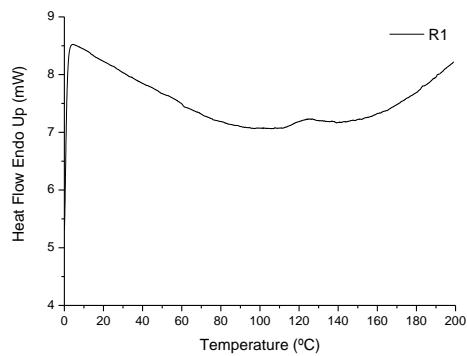
4.3.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Nas análises de DSC, como no primeiro e no segundo grupo de reações, as temperaturas de transição vítrea das partículas poliméricas produzidas foram inferiores à temperatura de transição vítrea do polímero puro.

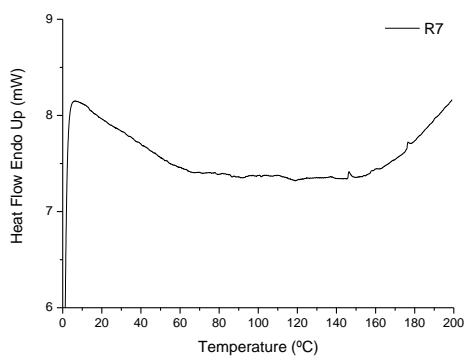
Neste caso, a redução da Tg foi mais acentuada que nos anteriores, em virtude do efeito de reticulação. A reticulação perturba a estrutura das cadeias poliméricas e afeta a mobilidade segmental das cadeias. Os resultados das análises térmicas podem ser vistos na Figura 4.3.5 e na Tabela 4.3.3. Como nos demais casos, não se observam picos relacionados à presença de cristais de PZQ, sendo possível admitir a existência de uma única fase sólida.



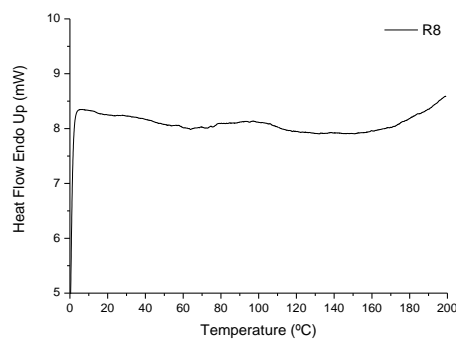
(a)



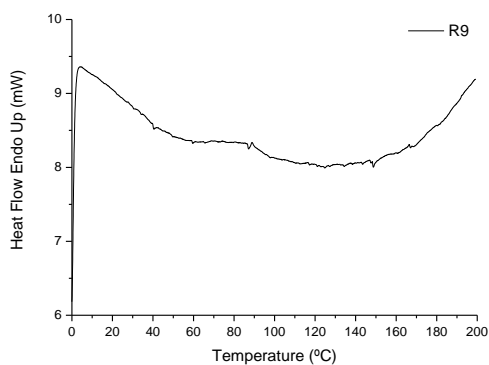
(b)



(c)



(d)



(e)

Figura 4.3.5- Análises de DSC das amostras de (a) PZQ e dos produtos das reações (b) R1, (c) R7, (d) R8 e (e) R9, como definido na Tabela 4.1.1 e na Tabela 4.3.1.

Tabela 4.3.3- Temperatura de transição vítrea das amostras dos produtos das reações do terceiro grupo

Amostras*	Tg (°C)
R7	78
R8	77
R9	67

* condições reacionais definidas na Tabela 4.3.1.

4.3.5 Eficiência de Encapsulamento

As curvas obtidas das análises de HPLC das soluções de metanol com o PZQ extraído das partículas poliméricas reticuladas, produzidas neste terceiro grupo de reações, encontram-se na Figura 4.3.6.

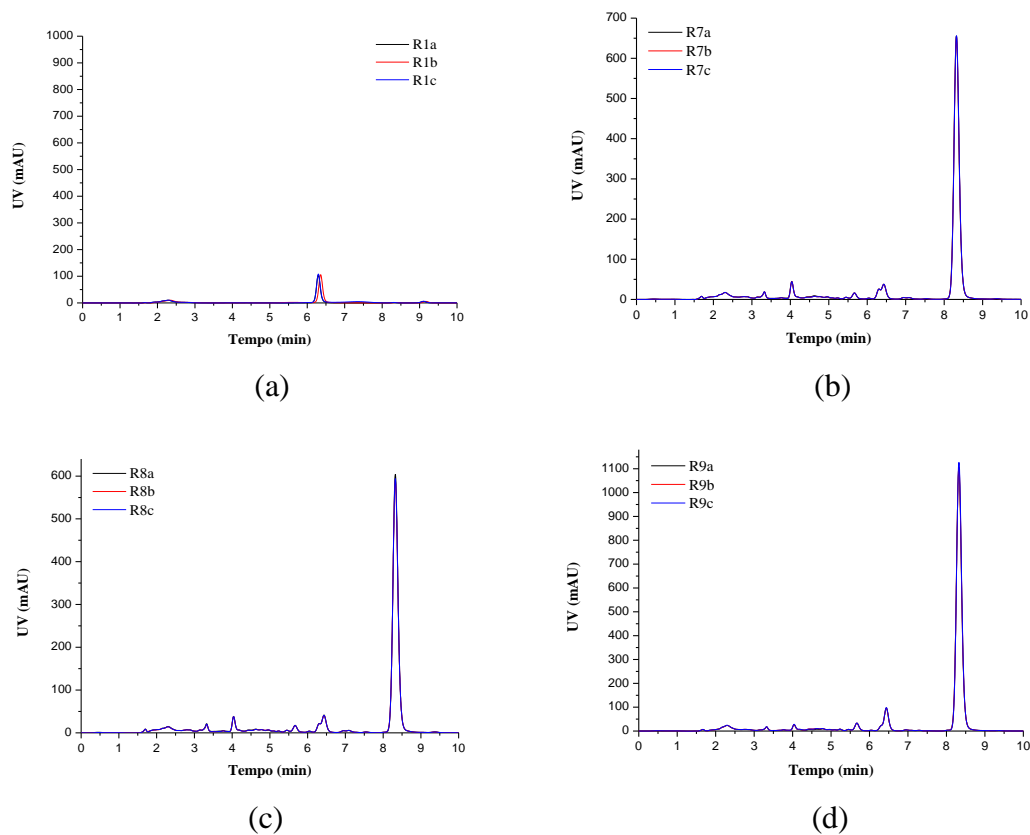


Figura 4.3.6- Análises de HPLC das amostras das reações (a) R1, (b) R7, (c) R8 e (d) R9 como definido na Tabela 4.1.1 e na Tabela 4.3.1.

As porcentagens de PZQ encapsuladas pelos produtos das reações R7, R8 e R9 compõem a Tabela 4.3.4.

Tabela 4.3.4- Quantidades de PZQ encapsulada em cada amostra produzida nas reações do terceiro grupo.

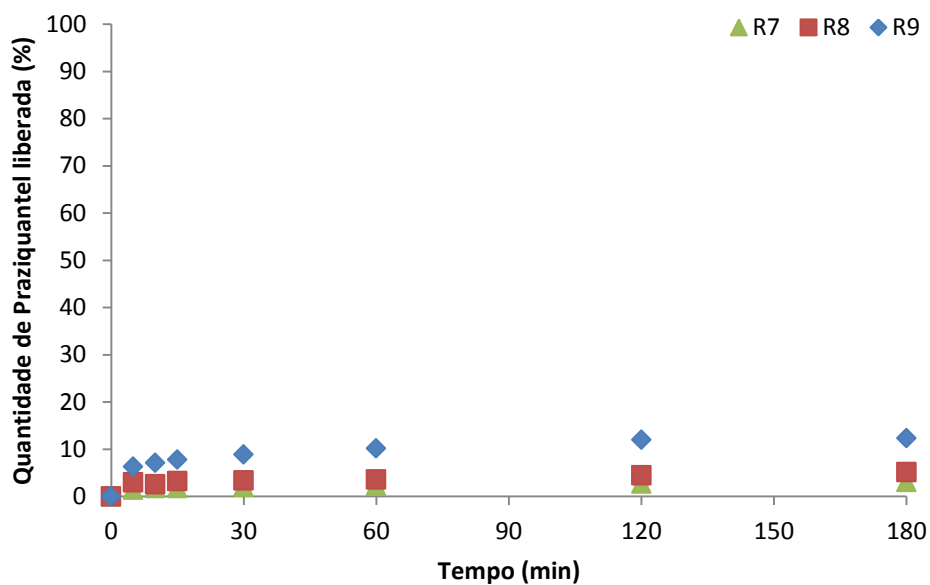
Amostras*	g(PZQ)/g(Partícula)	% Encapsulada
R7	0,1363	65
R8	0,1233	57
R9	0,2317	100

*condições reacionais definidas na Tabela 4.3.1.

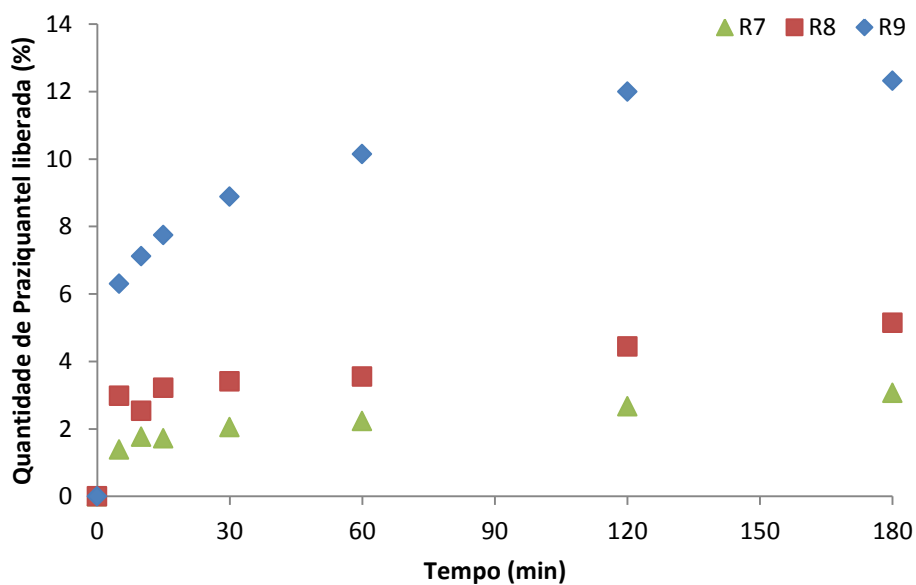
As partículas produzidas nas reações R7 e R8, que receberam a incorporação de 10% e 5% do agente reticulante, apresentaram uma redução significativa na porcentagem de PZQ encapsulado possivelmente por causa de problemas com a extração das partículas. Para o produto de reação R9, em que foi adicionado apenas 1% de agente reticulante, foi obtida a máxima eficiência possível, 100% possivelmente indicando as melhores condições de extração do PZQ. Portanto, parece haver incentivo para o uso de pequenas quantidades de agente reticulante no meio de reação.

4.3.6 Teste de Liberação do Fármaco

Os testes de liberação do PZQ pelas partículas produzidas no terceiro grupo de reação estão apresentados na Figura 4.3.7. Como as partículas produzidas com a adição de agente reticulante no meio de reação apresentavam distribuições de tamanhos deslocadas para diâmetros superiores, não foi possível utilizar a mesma faixa de tamanhos anteriormente utilizada, de 75 a 106 μm . Foi utilizada a menor faixa possível, que tivesse sido gerada em quantidade significativa para os testes. Estas faixas de tamanho foram de 300 a 600 μm para as partículas produzidas em R7 e R8, e de 212 a 300 μm , para o material produzido em R9.



(a)



(b)

Figura 4.3.7- Comparação entre os perfis de liberação de PZQ, em (a) escala até 100% e (b) perfis mais detalhados, pelas partículas reticuladas produzidas nas reações R7, R8 e R9, como definido na Tabela 4.3.1.

Os perfis de liberação apresentados pelos produtos das reações R7 e R8, mesmo com significativamente maiores tamanhos de partículas empregados na análise, foram

próximos aos obtidos anteriormente, sendo o perfil exibido por R8 maior que o apresentado por R7, indicando que a adição de EGDMA passa por um valor ótimo. Já o perfil de liberação do produto da reação R9 apresentou um grande aumento na quantidade de PZQ liberada.

Cabe ressaltar que a faixa de tamanho empregada para a análise destas partículas é intermediária entre as das demais análises conduzidas para o mesmo grupo de reações e os demais grupos. Assim, conclui-se que a adição de 1% de agente reticulante pode ser extremamente vantajoso para acelerar as taxas de liberação.

A partir destes resultados, pode-se concluir que uma quantidade excessiva de agente reticulante adicionada às formulações pode promover a formação de um excesso de ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas, aprisionando o fármaco no interior do polímero, mesmo que ocorra a presença de poros na estrutura.

4.4 Quarto Grupo de Reações

O quarto grupo de reações buscou reunir aspectos investigados e observados ao longo do estudo. As formulações utilizadas para a produção das partículas poliméricas deste quarto grupo foram as mesmas empregadas em R4, do primeiro grupo, e em R9, do terceiro grupo, como se pode perceber nos valores descritos da Tabela 4.4.1, com exceção da quantidade de agente estabilizante. A diferença das reações realizadas neste grupo diz respeito a algumas condições operacionais empregadas. Antes de ser levado ao reator, onde o meio reacional é submetido às mesmas condições anteriormente empregadas, o meio reacional foi submetido a uma agitação de 21000 rpm durante 2,5 minutos em temperatura ambiente. A elevada agitação empregada (com a utilização do Ultra turrax), teve por objetivo reduzir o tamanho das gotículas formadas, como ocorre numa reação de polimerização em suspensão do tipo micro suspensão. Logo, as melhores condições operacionais sugeridas, associadas à redução do tamanho médio das partículas e à adição de 1% de agente reticulante, foram testadas.

Tabela 4.4.1- Formulações utilizadas para a produção do quarto grupo de micropartículas poliméricas

Reações	BPO (g)	MMA (g)	PVA (g)	PZQ (g)	CHCl ₃ (g)	EGDMA (g)
R10	4,00	150,02	18,00	45,00	0	0
R11	4,00	150,09	18,00	45,00	0	1,50

BPO: Peróxido de Benzoíla; MMA: Metacrilato de Metila; PVA: Poli(álcool vinílico); PZQ: Praziquantel; CHCl₃: Clorofórmio; EGDMA: Dimetacrilato de Etileno Glicol.

Com a reticulação do polímero, o número de análises realizadas nas amostras da reação R11 é reduzido, quando comparado à reação R10. Para fins de comparação, foram apresentados novamente valores das análises dos produtos da reação R4.

4.4.1 Análise Gravimétrica

Ao contrário do comportamento observado na reação R4, na reação R10, que possui a mesma formulação, como visto na Figura 4.4.1, a aceleração da reação, em comparação com o comportamento da reação R1, de formação do PMMA puro, foi mais branda.

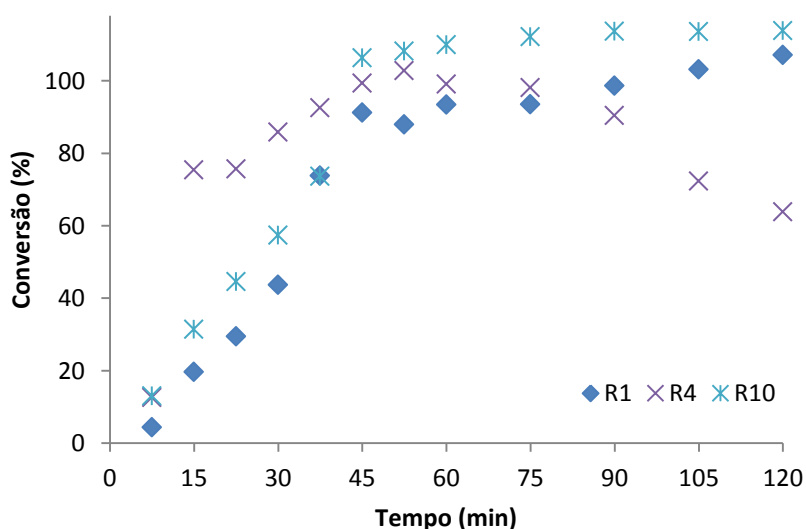


Figura 4.4.1- Curvas de conversão das reações R1, R4 e R10, como definido na Tabela 4.1.1 e na Tabela 4.4.1.

Ambas as reações realizadas neste grupo apresentaram um expressivo aumento de volume do meio reacional por formação de espuma, superiores ao observado durante a reação R1. Na reação R10, o aumento de volume se iniciou após cerca de 10 minutos de reação, exigindo que, ao completar 16 minutos, a temperatura da camisa do reator fosse fixada em 70°C.

Contudo, a temperatura mínima atingida foi de 78,9°C, pois aos 19 minutos a temperatura do banho foi retornada para 85°C devido à diminuição do volume expandido. Isso pode explicar a evolução mais branda da reação. Na reação R11, realizada na presença do agente reticulante, foram observadas duas expansões de volume, em 10 minutos, sendo também necessário diminuir a temperatura, atingindo o mínimo de 78,8°C, e em 30 minutos, de menor intensidade.

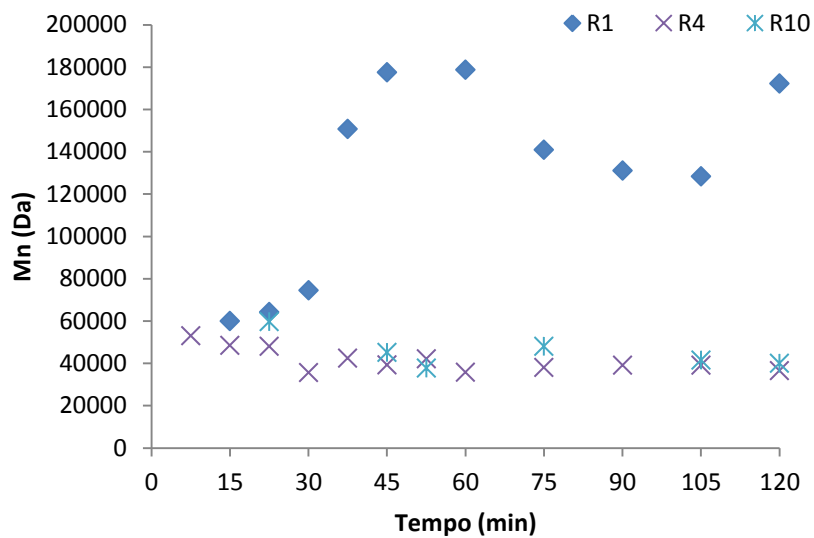
Devido à incorporação da fase aquosa, observada durante a execução do terceiro grupo de reações, a determinação da conversão desta reação não foi realizada.

4.4.2 Cromatografia de Permeação a Gel (GPC)

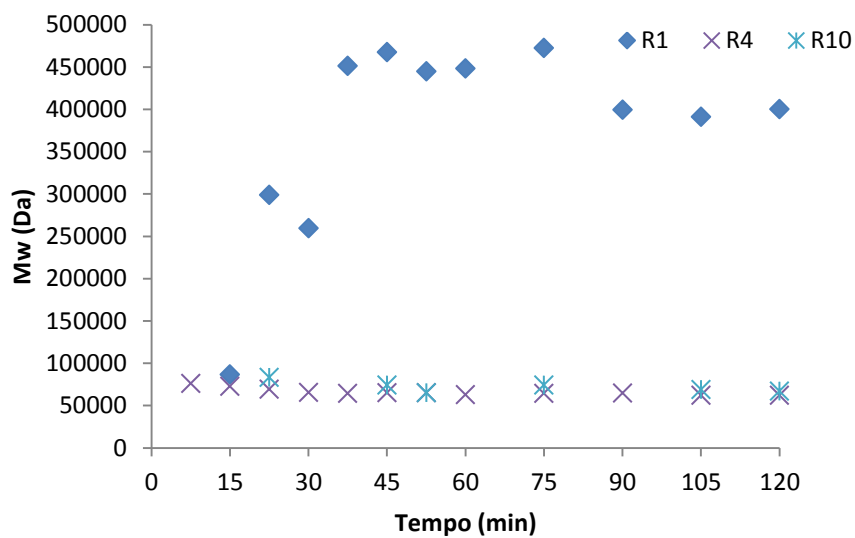
Nas análises de GPC foi observado em algumas análises um comportamento bimodal das curvas, alongadas em relação ao volume registrado, obtidas pelo equipamento na reação R10. Assim, em alguns pontos houve uma imensa redução das massas molares médias numéricas e ponderais, como visto na Figura 4.4.2.

Os demais pontos foram coincidentes aos pontos obtidos na avaliação da evolução das massas molares dos produtos da reação R4. Essas medidas podem ser consideradas como “outliers” (um tipo especial de erro grosseiro na medição), porque não se mantêm ao longo do processo.

As amostras da reação R10 se comportam, portanto, de forma extremamente similar às amostras da reação R4, confirmando o papel do PZQ como agente de transferência de cadeia.



(a)



(b)

Figura 4.4.2- Comparação da evolução das massas molares médias (a) numéricas e (b) ponderais nos produtos das reações R1, R4 e R10, como definido na Tabela 4.1.1 e na Tabela 4.4.1.

4.4.3 Distribuição dos Tamanhos de Partículas

Com a utilização desta nova metodologia, as distribuições de tamanhos de partículas foram realmente alteradas, como o observado nas médias da Tabela 4.4.2 e na comparação na Figura 4.4.2. Em ambas as reações, R10 e R11, foram observados menores tamanhos médios em relação às distribuições obtidas nas reações R4 e R9, reações que apresentavam a mesma formulação. Em particular, a distribuição de tamanhos de partículas apresentada pelo produto de reação R10 apresentou um comportamento trimodal. Devido ao reduzido diâmetro produzido neste grupo de reações, o processo de secagem das partículas não pôde ser realizado como nos demais casos, por meio de filtração. A secagem destas partículas foi realizada com o auxílio de uma estufa de recirculação a vácuo, em que foi fixada uma temperatura de 50°C. Contudo, ficou bastante claro que o processo proposto permite de fato a redução dos tamanhos.

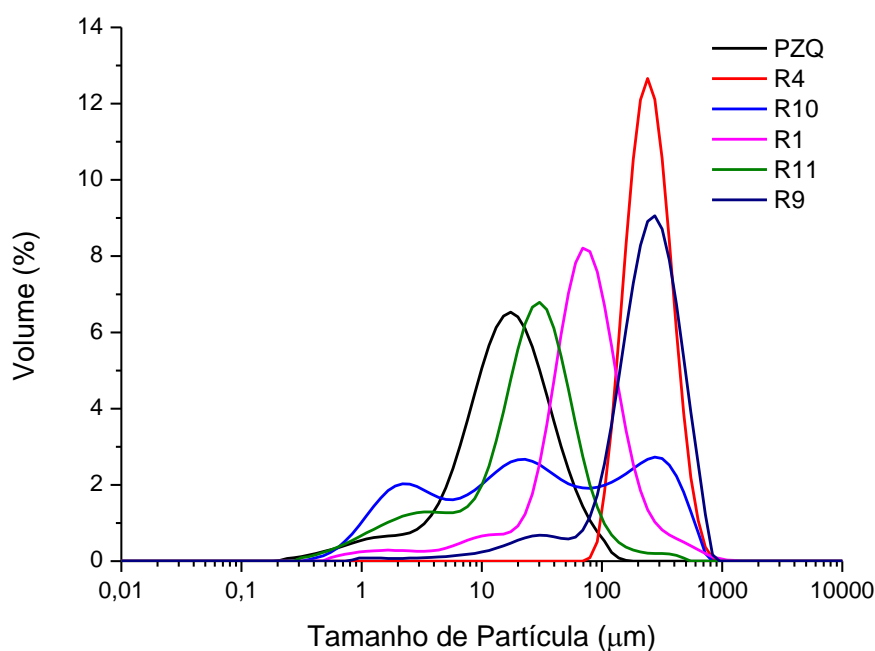


Figura 4.4.3- Comparação das distribuições dos tamanhos de partículas de PZQ e dos produtos das reações R1, R4, R9, R10 e R11, como definido na Tabela 4.1.1, na Tabela 4.3.1 e na Tabela 4.4.1.

Tabela 4.4.2-Média dos tamanhos de partículas de PZQ e das amostras produzida nas reações do primeiro e do terceiro grupo

Amostras*	d(0,1) (µm)	d(0,5) (µm)	d(0,9) (µm)
PZQ	4,095	17,065	48,625
R1	20,744	74,906	186,427
R4	152,956	259,895	450,007
R9	127,778	674,751	1374,838
R10	2,020	29,392	341,317
R11	2,903	26,250	69,920

* condições reacionais definidas na Tabela 4.1.1, na Tabela 4.3.1 e na Tabela 4.4.1.

4.4.4 GPC com Detecção Simultânea de UV

Assim como anteriormente realizado, a análise de GPC com detecção simultânea de UV foi realizada para a amostra R10 para a comprovação da atuação do PZQ como agente de transferência de cadeia. O resultado obtido pode ser observado na Figura 4.4.4. Observa-se uma vez mais que o sinal de UV do PZQ está associado às frações de menores massas molares.

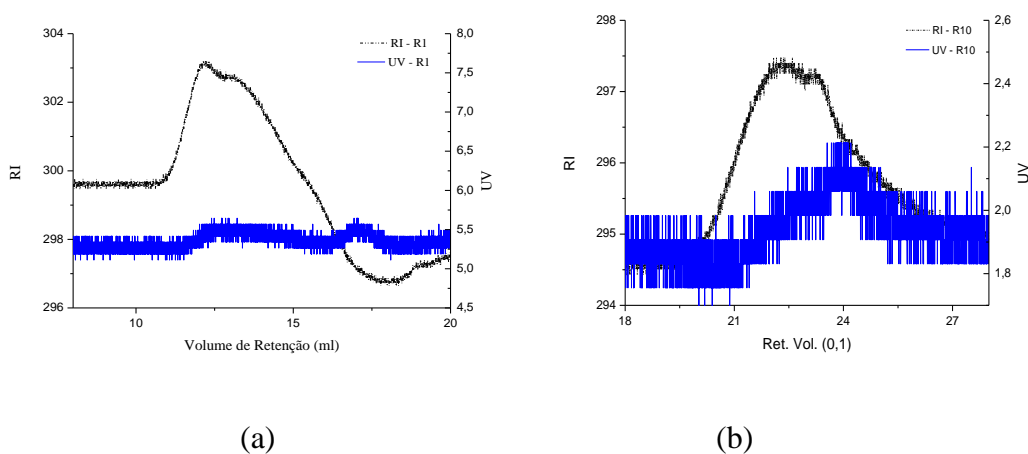
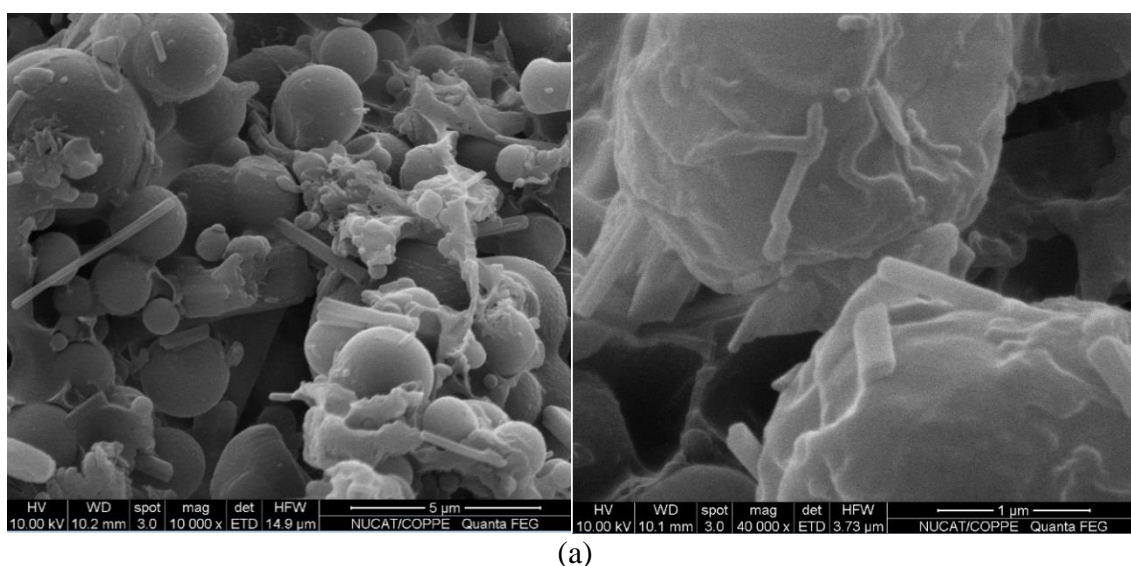


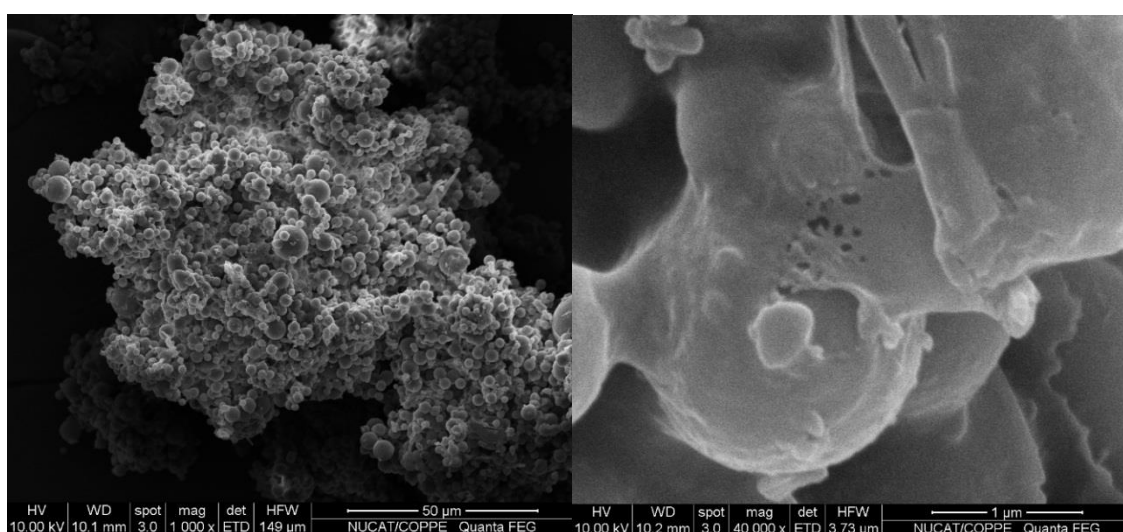
Figura 4.4.4 - Análises simultâneas de GPC e de UV das amostras dos produtos das reações (a) R1 e (b) R10.

4.4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens obtidas por MEV, exibidas na Figura 4.4.5, mostram a redução da escala de tamanho das partículas em ambas as formulações usadas no quarto grupo de reações. Por meio destas imagens, é possível perceber a presença de cristais de PZQ aderidos às superfícies das partículas, bem como entre estas. Devido ao tamanho reduzido das partículas, os cristais chegam a ser maiores que as partículas em algumas fotos. Isso indica que a redução excessiva dos tamanhos pode prejudicar o desempenho do processo, em termos de encapsulamento e sabor.



(a)



(b)

Figura 4.4.5- Imagens do MEV em dois graus de magnificação diferentes das amostras das reações (a) R10 e (b) R11, como definido na Tabela 4.4.1.

4.4.6 Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR)

Nos espectros obtidos por análises de FT-IR, apresentados na Figura 4.4.6, como nos casos anteriores, comprova-se a eficiência do encapsulamento do fármaco pelas partículas poliméricas de forma qualitativa, já que o espectro do PMMA é predominante nos espectros das amostras que contêm PZQ.

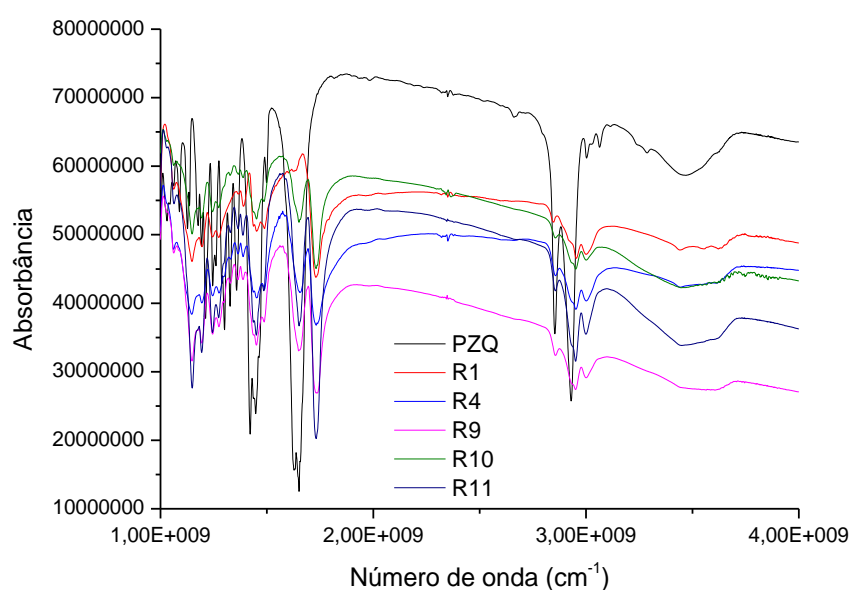


Figura 4.4.6 - Espectros de FT-IR do fármaco PZQ e dos produtos das reações R1, R4, R9, R10 e R11, como definido na Tabela 4.1.1, na Tabela 4.3.1 e na Tabela 4.4.1.

4.4.7 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Nas análises de DSC, apresentadas na Figura 4.4.7 e na Tabela 4.4.3, como nas reações anteriores, foi observada uma redução da temperatura de transição vítrea quando se comparam os resultados para os produtos que contêm PZQ com aqueles obtidos para o PMMA puro. Uma vez mais, não se observam nos produtos de reação os picos característicos da fusão do PZQ, indicando uma única fase sólida homogênea.

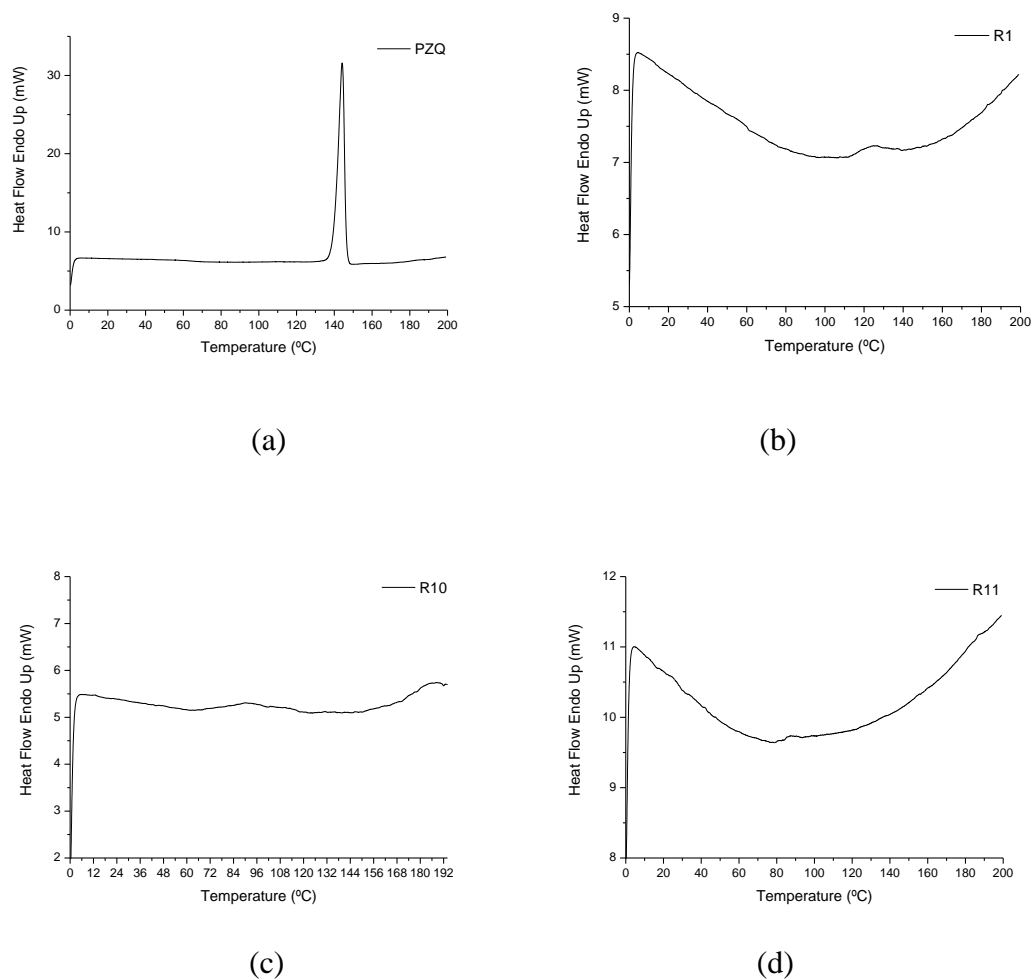


Figura 4.4.7 - Análises de DSC das amostras de (a) PZQ e dos produtos das reações (b) R1, (c) R10 e (d) R11, como definido na Tabela 4.4.1 e na Tabela 4.4.1.

Tabela 4.4.3- Temperatura de transição vítrea das amostras dos produtos das reações do quarto grupo

Amostras*	Tg (°C)
R10	81
R11	85

* condições reacionais definidas na Tabela 4.4.1.

4.4.8 Eficiência de Encapsulamento

Para o cálculo das quantidades de PZQ encapsuladas pelos produtos de cada reação, foram utilizadas as áreas obtidas nas curvas geradas pelas análises de HPLC, apresentadas na Figura 4.4.8. Na Tabela 4.4.4 observa-se que as porcentagens de PZQ encapsuladas pelos produtos das reações deste grupo foram elevadas, comprovando a eficiência do método de preparo utilizado e possivelmente indicando que a liberação do fármaco é mais simples nas partículas menores.

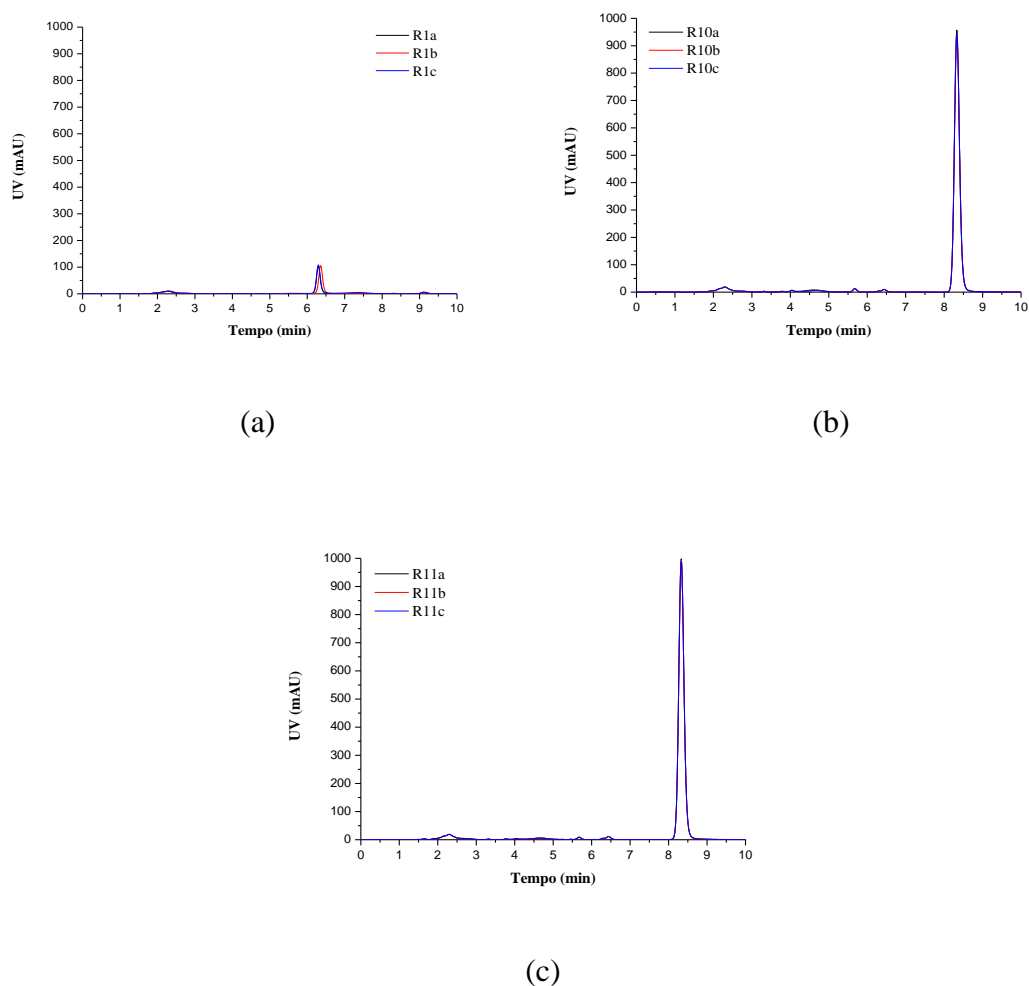


Figura 4.4.8- Análises de HPLC das amostras dos produtos das reações (a) R1, (b) R10, (c) R11, como definido na Tabela 4.1.1 e na Tabela 4.4.1.

Tabela 4.4.4- Quantidade de Praziquantel encapsulada em cada amostra das reações do quarto grupo

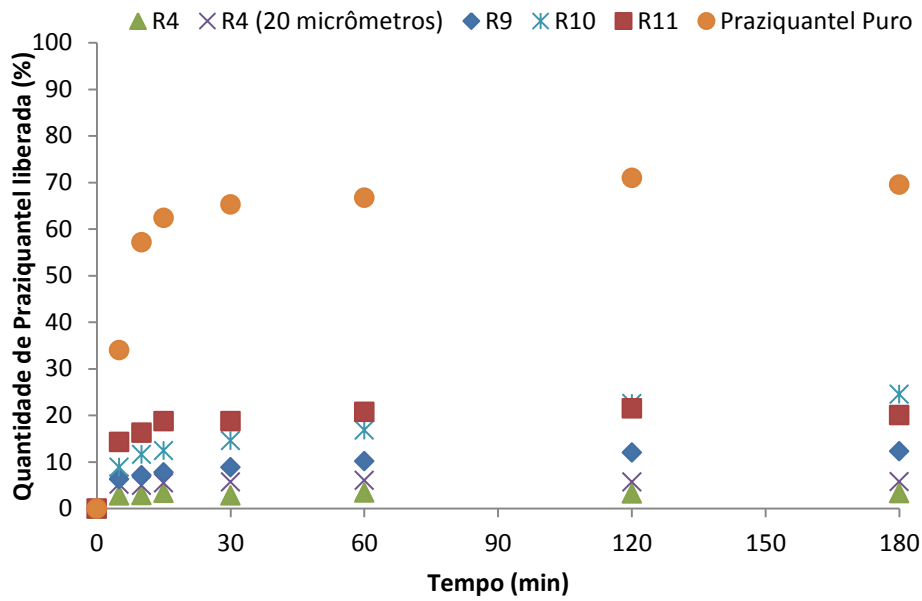
Amostras	g(PZQ)/g(Partícula)	% Encapsulada
R10	0,1966	87
R11	0,2085	93

4.4.9 Teste de Liberação do Fármaco

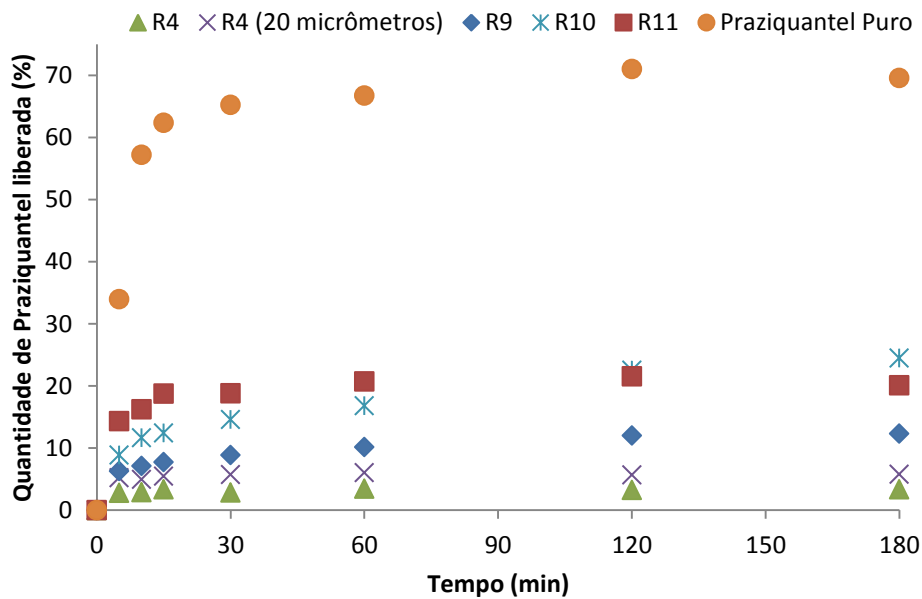
Nos testes de liberação do PZQ pelas partículas produzidas neste quarto grupo de reações, observou-se uma significativa elevação da quantidade de Praziquantel liberada, como visto na Figura 4.4.9. Como as partículas produzidas apresentaram diâmetros muito pequenos, não foi possível a separação nas faixas de tamanhos antes empregadas, sendo as partículas utilizadas sem o emprego de qualquer tipo de separação. Para fins de comparação, mostra-se também o perfil de liberação do fármaco puro.

As duas formulações, R10 e R11, preparadas com a utilização da mesma metodologia, apresentaram significativo aumento das taxas de liberação, quando comparadas com as taxas de liberação dos produtos das reações R4 e R9, preparadas com a mesma formulação, porém conduzidas de formas diferentes.

Os produtos deste quarto grupo de reações apresentaram perfis de liberação bem próximos, se comparados entre si. Na reação R11, porém, a liberação aparentemente ocorre nos primeiros 15 minutos, permanecendo aparentemente constante depois. Já na reação R10, apesar de apresentar uma liberação inicial menos expressiva, o perfil de liberação deste produto é ascendente durante todo o tempo do ensaio. Mesmo sendo mais expressivas, as taxas de liberações observadas são inferiores às observadas para o fármaco puro e reportadas por Fonseca (2012) para produtos de miniemulsão. Isso parece mostrar que o tamanho das partículas constitui um elemento fundamental para a análise do processo, que é controlado pela difusão.



(a)



(b)

Figura 4.4.9- Comparação entre os perfis de liberação de PZQ, em (a) escala até 100% e (b) perfis mais detalhados, pelas partículas produzidas nas reações R4, R9, R10 e R11, como definido na Tabela 4.1.1, na Tabela 4.3.1 e na Tabela 4.4.1.

4.5 Viscosimetria

A medida da viscosidade das soluções de metacrilato de metila, MMA, carregadas com as diferentes quantidades empregadas do Praziquantel, foi realizada a 85°C, temperatura na qual as reações de polimerização foram conduzidas, com a finalidade de quantificar o aumento de viscosidade observado no meio reacional. Maiores valores de viscosidade podem justificar mudanças nas distribuições de tamanhos de partículas e no comportamento cinético. Por isso, foram realizadas as medições apresentadas na Figura 4.5.1.

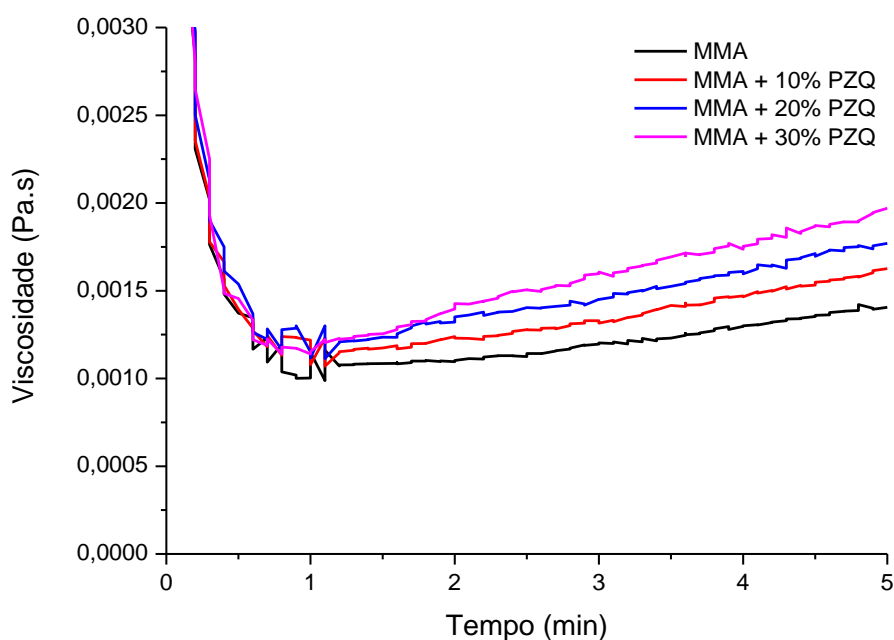


Figura 4.5.1- Viscosidades das soluções contendo o monômero (MMA) e diferentes cargas do fármaco (PZQ): 0%, 10%, 20% e 30%.

No primeiro minuto de análise, o comportamento descendente da curva gerada é devido a um período de inércia do equipamento. A partir deste primeiro minuto, os valores das viscosidades não estabilizam, sendo registrado um aumento constante. Este perfil em forma de rampa é justificado pela formação de polímero, ocorrida durante a

análise, particularmente visível durante a realização das análises das amostras com 20% de PZQ e 30% de PZQ. Estes resultados reafirmam o efeito causado pelo PZQ na viscosidade e na cinética da reação, quando adicionado à reação de polimerização do metacrilato de metila.

4.6 Teste do Sabor

Com a finalidade de verificar se houve o mascaramento do sabor do PZQ, definido como extremamente desagradável, foram preparadas suspensões em água, com concentrações próximas a 0,1 g/ml com as partículas produzidas nas reações R4 e R10. Estas partículas foram selecionadas por apresentarem a mesma formulação e diferentes perfis de liberação. As partículas produzidas na reação R10 apresentaram maior taxa de liberação e as partículas preparadas na reação R4 resultaram em menor quantidade do fármaco liberada, dentre as formulações em que foram utilizados 30% de PZQ. O teste mostrou que a amostra de partículas provenientes da reação R10 começou a apresentar um leve sabor do fármaco após cerca de 5 minutos de contato com a água. Já na suspensão das partículas R4, a leve presença do sabor começou a ser detectada após 15 minutos. O sabor amargo foi intensificado significativamente após 40 minutos de contato das partículas com a água.

Como foi observada a presença de cristais de PZQ na superfície das partículas, foi realizada a lavagem de algumas amostras com a solução utilizada para a realização dos testes de liberação, com o objetivo de remover o fármaco residual. Uma quantidade de 1,5 g de amostras foi agitada em 150 ml da solução por três minutos. Decorrido este tempo, as amostras foram filtradas e lavadas com bastante água destilada. A amostra produzida na reação R4 e lavada foi suspensa em água e experimentada. Ao longo de trinta minutos de teste, não foi detectado qualquer sabor, indicando que o sabor apresentado nas suspensões anteriores era devido ao PZQ residual não encapsulado. Isso mostra que a remoção do PZQ residual é fundamental para o bom andamento do processo.

Para verificar se as baixas taxas de liberação apresentadas pelas partículas produzidas no primeiro e segundo grupos eram referentes ao PZQ aderido à superfície,

foram realizados testes de liberação com amostras de partículas lavadas. Para isso, foi utilizado uma amostra de partículas produzidas na reação R6. Na Figura 4.6.1 é apresentado o resultado do teste de liberação da amostra lavada, R6 L, que é comparado ao resultado obtido com a amostra não lavada, R6. Observa-se que a liberação do fármaco. Ocorre em menor quantidade na amostra lavada, sugerindo que uma parte do PZQ extraído pode estar livre, causando gosto.

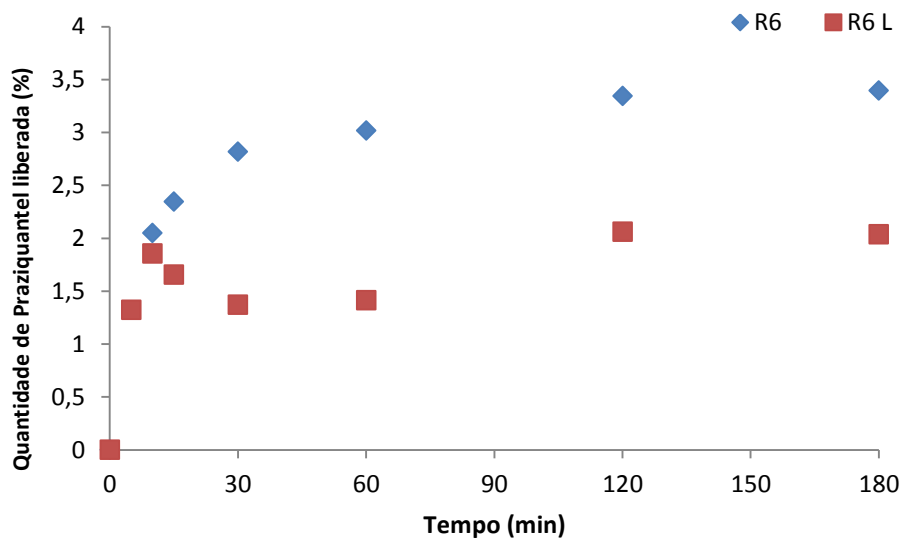


Figura 4.6.1- Comparação entre os perfis de liberação de PZQ pelas partículas produzidas na reação R6, como definido na Tabela 4.2.1, antes e depois da lavagem.

Capítulo V

Conclusões e Sugestões para Trabalhos Futuros

5.1 Conclusões

Por meio dos resultados apresentados e discutidos na presente dissertação, pôde-se observar a influência da distribuição dos tamanhos de partículas sobre o perfil de liberação do Praziquantel pelas partículas poliméricas produzidas em suspensão e à base de PMMA. Os resultados parecem indicar que a liberação é controlada por difusão, sendo também afetada pelo grau de reticulação do polímero, que provoca a formação de poros nas partículas poliméricas. Contudo, um aumento excessivo do grau de reticulação da matriz polimérica, resultante da maior adição de agente reticulante no meio reacional, pode resultar no aprisionamento do fármaco no interior do polímero, devido ao excesso de ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas, dificultando a liberação.

Pôde-se concluir também que o Praziquantel, inserido no meio reacional na polimerização do metacrilato de metila, além de promover uma aceleração na conversão do monômero, atua como um agente de transferência de cadeia, reduzindo significativamente os valores das massas molares médias do polímero formado desde o início da reação.

Os dados obtidos mostraram ainda que a remoção do Praziquantel residual acumulado na forma de pequenos cristais sobre as partículas poliméricas podem ser responsáveis pela remoção do gosto amargo das suspensões formadas com o fármaco.

Partículas lavadas e ressuspensas foram capazes de manter a suspensão sem gosto por pelo menos 30 minutos.

5.2 Sugestões para trabalhos Futuros

Como sugestões para trabalhos futuros, podem ser realizados:

- Um estudo de modelagem cinética da reação de polimerização do metacrilato de metila conduzida na presença do Praziquantel, para a determinação da constante cinética da reação de transferência de cadeia devida à presença do fármaco;
- A investigação sobre a característica de aceleração da reação de polimerização do metacrilato de metila em presença do Praziquantel, para entender se esse fenômeno pode estar relacionado ao efeito gel;
- Realização de testes *in vivo*, para que seja testada a eficiência dos sistemas de liberação prolongada de Praziquantel produzidos, tanto no tratamento da esquistossomose quanto no combate dos esquistossomos jovens, que não são afetados pelo medicamento; contudo, o perfil de liberação mais lento apresentado por certas formulações pode contribuir com o tratamento dos esquistossomos;

Capítulo VI

Referências Bibliográficas

AMMAR, H. O., EL-RIDY, M. S., GHORAB, M., GHORAB, M. M., - “Evaluation of the Antischistosomal Effect of Praziquantel in a Liposomal Delivery System in Mice”. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 103, pp. 237-241, 1994.

APPLE, D.J., SIMS, J., - “Harold Ridley and the Invention of the Intraocular Lens”. *Survey of Ophthalmology*, v. 40, pp. 279-292, 1996.

BAMFORD, C. H., EASTMOND, G. C., WHITTLE, D., “Network Formation III- Influence of Organometallic Initiator on Network Structure”, *Polymer*, v. 10, pp. 771-783, 1969.

BASILE, R. P., BASILE, A. C., “Farmacologia: Conceitos Básicos”, (2008). Disponível em: <<http://www.portaleducacao.com.br/enfermagem/artigos/681/farmacologia-conceitos-basicos>>. Acesso em 25 de Novembro de 2012.

BECKET, G., SCHEP, L. J., TAN, M. Y., “Improvement of the *In Vitro* Dissolution of Praziquantel by Complexation with α -, β - and γ -cyclodextrins”. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 179, pp. 65-71, 1999.

BILLMEYER, F. W., *Textbook of Polymer Science*. 2 ed, New York, John Wiley & Sons, 1971.

BRUNTON, L. L., CHABNER, B. A., KNOLLMANN, B. C., *As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman*. 12ª ed., AMGH Editora, Brasil, 2012.

BYGOTT, J. M., CHIODINI, P. L., “Praziquantel: Neglected drug? Ineffective Treatment? Or Therapeutic Choice in Cystic Hydatid Disease?”. *Acta Tropica*, v. 111, pp. 95-101, 2009.

CAMPOS, F. S., *Desenvolvimento de Hidrogéis de Dextrano Contendo Praziquantel*. Dissertação de M.Sc., Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas/UNESP, Araraquara, SP, Brasil, 2009.

CARDOSO, A. M., LUCAS, E. F., BARBOSA, C. C. R., “Influência das Condições Reacionais nas Características de Copolímeros de Metacrilato de Metila e Divinilbenzeno Obtidos por Polimerização em Suspensão”. *Polímeros*, v. 14, n. 3, pp. 201-205, 2004.

CASTOR, C. A., *Incorporação In-Situ de Cargas Poliméricas na Polimerização em Suspensão*. Dissertação de M.Sc., PEQ/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2010.

CHENG, L., GUO, S., WU, W., “Characterization and *In Vitro* Release of Praziquantel from Poly(ϵ -caprolactone) Implants”. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 377, pp. 112-119, 2009.

CHENG, L., LEI, L., GUO, S., “*In Vitro* and *In Vivo* Evaluation of Praziquantel Loaded Implants Based on PEG/PCL Blends”. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 387, pp. 129-138, 2010.

CHIRRA, H. D., DESAI, T. A., “Emerging Microtechnologies for the Development of Oral Drug Delivery Devices”. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 64, pp. 1569- 1578, 2012.

CHIU, W. Y., GREGORY, M. C., SOONG, D. S., “A computer model for the gel effect in free-radical”. *Macromolecules*, v. 16, pp. 348-357, 1983.

CHURCH, J. M., SHINNAR, R., “Stabilizing Liquid-Liquid Dispersions by Agitation”. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v. 53, pp. 479-484, 1961.

CIOLI, D., PICA-MATTOCCIA, L., “Praziquantel”. *Parasitology Research*, v. 90, *issue 1 suppl.*, S3-S9, 2003.

COUTINHO, F. M. B., OLIVEIRA, C. M. F., *Reações de Polimerização em Cadeia: Mecanismo e Cinética*. 1 ed., Interciencia, 2006.

DEUS, J. F., *Síntese e Propriedades Físicas de Poli(Metacrilato de Metila-co-Metacrilato de 9-Metil Antracênica)*. Dissertação de M.Sc., PIPE/Setor de Tecnologia/UFPR, Curitiba, PR, Brasil, 2003.

DOWDING, P. J., GOODWIN, J. W., VINCENT, B., “The Characterization of Porous Styrene-Glycidyl Methacrylate Copolymer Beads Prepared by Suspension Polymerization”. *Colloids and Surfaces*, v. 145, pp. 263-270, 1998.

DOWDING, P. J., VINCENT, B., “Suspension Polymerization to Form Polymer Beads”. *Colloids and Surfaces*, v. 161, pp. 259-269, 2000.

DUNCAN, R., “The Drawing Era of Polymer Therapeutics”. *Nature Reviews*, v. 2, pp. 347-360, 2003.

EL-ARINI, S. K., LEUENBERG, H., “Dissolution Properties of Praziquantel-PVP Systems”. *Pharmaceutica Acta Helveticae*, v. 73, pp. 89-94, 1998.

ENSIGN, L. M., CONE, R., HANES, J., “Oral Drug Delivery with Polymeric Nanoparticles: The Gastrointestinal Mucus Barriers”. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 64, pp. 557-570, 2012.

FIOCRUZ, CPqRR, Laboratório de Educação em Saúde. Disponível em: http://alpha.cpqrr.fiocruz.br:81/labes/paginas/pagina_interna_disc.asp?cod_menusc=17&cod_submenu=9>. Acesso em 5 de Dezembro de 2012.

FONSECA, L. B., *Desenvolvimento de Nanopartículas Poliméricas Contendo Praziquantel para o Tratamento da Esquistossomose*. Tese de D.Sc., PEQ/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2012.

FRANCHETTI, S. M. M., MARCONATO, J. C., “Polímeros Biodegradáveis – Uma Solução Parcial para Diminuir a Quantidade dos Resíduos Plásticos”. *Química Nova*, v. 29, pp. 811-816, 2006.

GASPAR, R., DUNCAN, R., “Polymeric Carriers: Preclinical Safety and the Regulatory Implications for Design and Development of Polymer Therapeutics”. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 61, pp. 1220-1231, 2009.

GIANCHANDANI, Y., “Emerging Micro- and Nanotechnologies at the Interface of Engineering, Science, and Medicine for the Development of Novel Drug Delivery Devices and Systems”. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 64, pp. 1545-1546, 2012.

GOMES, F. W., *Estudo da Polimerização do Poli(2,5-Furanodicarboxilato de Etileno)*. Dissertação de M.Sc., PEQ/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2013.

- GONZÁLEZ-ESQUIVEL, D., RIVERA, J., CASTRO, N., YEPEZ-MULIA, L., COOK, H. J., “In Vitro Characterization of Some Biopharmaceutical Properties of Praziquantel”. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 295, pp. 93-99, 2005.
- GRIFFITH, L. G., “Polymeric Biomaterials”. *Acta Materialia*, v. 48, pp. 263-277, 2000.
- GRUND, S., MARIUS, B., FISCHER, D., “Polymers in Drug Delivery: State of the Art and Future Trends”. *Advanced Engineering Materials*, v. 13, B61-B87, 2011.
- HOFFMAN, A. S., “Review The Origins and Evolution of “Controlled” Drug Delivery Systems”. *Journal of Controlled Release*, v. 132, pp. 153-163, 2008.
- IMANISHI, Y., “Polymeric Biomaterials”. *Materials Science and Engineering*, C1, pp. 143-147, 1994.
- KALFAS, G.; YUAN, H.; RAY, W. H. “Modeling and Experimental Studies of Aqueous Suspension Polymerization Processes. 2. Experimentals in Batch Reactors ”. *Ind. Eng. Chem.*, v. 32, pp. 1831-1838, 1993.
- KATZ, N., “A Descoberta da Esquistossomose no Brasil – The Discovery of *Schistosomiasis Mansoni* in Brazil”. *Gazeta Médica da Bahia*, v. 78, n 2, pp. 123-125, 2008.
- KIPARISSIDES, C., "Polymerization Reaction Modeling: A Review of Recent Developments and Future Directions". *Chemical Engineering Science*, v. 51, n 10, pp. 1637-1659, 1996.
- LAZRAK, N., BOLAY, N. L., RICARD, A., “Droplet Stabilization in High Holdup Fraction Suspension Polymerization Reactors”. *European Polymer Journal*, v. 34, n 11, pp. 1637-1647, 1998.
- LEONG, K. W., LANGER, R., “Polymeric Controlled Drug Delivery”. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 1, pp. 199-233, 1987.
- LUCAS, E. F., SOARES, B. G., MONTEIRO, E., “Caracterização de Polímeros: Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica”. Rio de Janeiro, E-papers, 2001.

- MA, Z., MOULTON, B., “Recent Advances of Discrete Coordination Complexes Polymers in Drug Delivery”. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 255, pp. 1623-1641, 2011.
- MACHADO, F., LIMA, E. L., PINTO, J. C. “Uma Revisão Sobre os Processos de Polimerização em Suspensão”. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 17, pp. 166 – 179, 2007.
- MAINARDES, R. M., GREMIÃO, M. P. D. EVANGELISTA, R. C., “Thermoanalytical Study of Praziquantel loaded-PLGA Nanoparticles”. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 42, pp. 523-530, 2006.
- MANO, E. B., MENDES, L. C., *Introdução a Polímeros*. 2ed, São Paulo, Edgar Blücher, 1999.
- MASCHIO, G., BELLO, T., SCALI, C., “Optimization of Batch Polymerization Reactors: Modelling and Experimental Results for Suspension Polymerization of Methyl MethAcrylate”. *Chemical Engineering Science*, v. 47, pp. 2609-2614, 1992.
- MAYERS, D. L., LERNER, S. A., OUELLETTE, M., SOBEL, J. D., *Antimicrobial Drug Resistance: Volume 1 Mechanisms of Drug Resistance*, Humana Press, New York, 2009.
- MEHLHORN, H., *Encyclopedia of Parasitology*, 3ª ed., Springer, New York, 2008.
- MELO, C. K., *Reciclagem de Materiais Poliméricos por Incorporação In-Situ na Polimerização em Suspensão do Estireno*. Dissertação de M.Sc., PEQ/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2009.
- MEYER, T., SEKLJIC, H., FUCHS, S., BOTHE, H., SCHOLLMAYER, D., MICULKA, C., “Taste, A New Incentive to Switch to (R)-Praziquantel in Schistosomiasis Treatment”. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 3(1): e 357, (2009).
- MICHEL, R. C., “Métodos Físicos Aplicados a Polímeros (MMP-712)”. Anotações de Aula; Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, IMA/UFRJ, Rio de Janeiro, 2012.
- MODY, V. V., “Introduction to Polymeric Drug Delivery”. *Internet Journal of Medical Update*, v. 5, pp. 1-2, 2010.

MORISHITA, M., PEPPAS, N. A., “Advances in Oral Drug Delivery: Improved Bioavailability of Poorly Absorbed Drugs by Tissue and Cellular Optimization”. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 64, pp. 479, 2012.

MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE) “Vigilância em Saúde: Dengue, Esquistossomose, Hanseníase, Malária, Tracoma e Tuberculose”. Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica, 2 ed. rev, Brasília, Ministério da Saúde, 2008-a.

MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE) *Formulário Terapêutico Nacional 2008 – Rename 2006*, 1ª ed., Ministério da Saúde, Brasília-DF, 2008-b.

MURRAY, P. R., ROSENTHAL, K. S., PFALLER, M. A., *Microbiologia Médica*, 6ª ed., MOSBY Elsevier, 2009.

NOGI, T., ZHANG, D., CHAN, J. D., MARCHANT, J. S., “A Novel Biological Activity of Praziquantel Requiring Voltage-Operated Ca²⁺ Channel β Subunits: Subversion of Flatworm Regenerative Polarity”. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 3(6): e464.

NOVAIS, M. H., AGUIAR, A. P., AGUIAR, M. R. M. P., MARIA, L. C. S., “Synthesis of Porous Copolymers Network Based on Methyl Methacrylate and Evaluation in the Cu (II) Extraction”. *Materials Letters*, v. 60, pp. 1412-1415, 2006.

NUNES, R. C. P., *Síntese e Caracterização de Poli(Metacrilato de Metila-co-Acetato de Vinila) e sua Avaliação como Redutor de Filtrado em Fluidos de Perfuração em Poços de Petróleo*. Dissertação de M.Sc., IMA/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2011.

ODIAN, G., *Principles of Polymerization*. 4 ed., New Jersey, John Wiley & Sons, 2004.

OLIVEIRA, M. A. M., *Produção de Micropartículas e Nanopartículas Poliméricas para Aplicações Biomédicas em Sistemas Heterogêneos de Polimerização*. Tese de D.Sc., PEQ/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2011.

OLIVEIRA, M. A. M., MELO, P. A., NELE, M., PINTO, J. C. “Suspension Copolymerization of Vinyl Acetate and Methyl Methacrylate in the Presence of Amoxicillin”. *Macromolecular Reaction Engineering*, v. 6, pp. 280-292, 2012.

O' NEIL, G. A., WISNUDEL, M. B., TORKELSON, J. M., "A Critical Experimental Examination of the Gel Effect in Free Radical Polymerization: Do Entanglements Cause Autoacceleration?". *Macromolecules*, v. 29, pp. 7477-7490, 1996.

PASSERINI, N., ALBERTINI, B., PERISSUTTI, B., RODRIGUEZ, L., "Evaluation of Melt Granulation and Ultrasonic Spray Congealing as Techniques to Enhance the Dissolution of Praziquantel". *International Journal of Pharmaceutics*, v. 318, pp. 92-102, 2006.

PEPAS, L. B., "Recent Advances on the Use of Biodegradable Microparticles and Nanoparticles in Controlled Drug Delivery". *International Journal of Pharmaceutics*, v. 116, pp. 1-9, 1995.

PEPAS, N. A., "An Introduction to the Most Cited Papers in the History of Advanced Drug Delivery Reviews (1987-2012)". *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 64, pp. 1-3, 2012.

PEPAS, N. A., "Historical Perspective on Advanced Drug Delivery: How Engineering Design and Mathematical Modeling Helped the Field Mature". *Advanced Drug Delivery Reviews*, < <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.040> >, 2012.

PINTO, J. C.; RAY, W. H. "The Dynamic Behavior of Continuous Solution Polymerization Reactors-VII. Experimental study of a Copolymerization Reactor ". *Chemical Engineering Science.*, v. 50, pp. 715-736, 1995.

POLLACO, G., SEMINO, D., PALLA, M., "Temperature Profiles in Batch Methylmethacrylate Polymerization in Gelled Suspension". *Polymer Engineering and Science*, v. 36, n. 16, pp. 2088-2100, 1996.

PROW, T. W., GRICE, J. E., LIN, L. L., FAYE, R., BUTLER, M., BECKER, W., WURM, E. M. T., YOONG, C., ROBERTSON, T. A., SOYER, H. P., ROBERTS, M. S., "Nanoparticles and Microparticles for Skin Drug Delivery". *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 63, pp. 470-491, 2011.

ROBINSON, J. R., LEE, V. H., *Controlled Drug Delivery Fundamentals and Applications*. 2 ed., Drugs and the Pharmaceutical Sciences.

SAMAD, A., ALAM, M. I., SAXENA, K., “Dendrimers: A Class of Polymers in the Nanotechnology for the Delivery of Active Pharmaceuticals”. *Current Pharmaceutical Design*, v. 15, pp. 2958-2969, 2009.

SANTOS, J. G. F., *Otimização do Processo de Obtenção de Cimento Ósseo à Base de PMMA*. Dissertação de M.Sc., PEQ/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2007.

SANTOS, J. G. F., *Monitoramento e Controle dos Tamanhos de Partículas em Polimerizações em Suspensão do MMA usando NIRS*. Tese de D.Sc., PEQ/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2012.

SHI, J., VOTRUBA, A. R., FAROKHZAD, O. C., LANGER, R., “Nanotechnology in Drug Delivery and Tissue Engineering: From Discovery to Applications”. *Nano Letters*, v.10, pp. 3223-3230, 2010.

SILVA, A. A., *Nanocompósitos à Base de Poli(Metacrilato de Metila)*. Dissertação de M.Sc., IMA/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2007.

SOUZA, A. L. R., *Avaliação de Efeito do Praziquantel Veiculado em Dispersões Lipídicas no Tratamento de Camundongos Infectados com Schistosoma Mansoni*. Dissertação de M.Sc., Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas/UNESP, Araraquara, SP, Brasil, 2008.

SOUZA, A. L. R., *Desenvolvimento de Nanopartículas Lipídicas Sólidas Contendo Praziquantel*. Tese de D.Sc., Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas/UNESP, Araraquara, SP, Brasil, 2011.

SULEIMAN, M. I., A/KARIM, E. I., IBRAHIM, K. E. E., AHMED, B. M., SAEED, A. E. M., HAMID, A. E. M. E., “Photo-Thermal Stability of Praziquantel”. *Saudi Pharmaceutical Journal*, v. 12, pp. 157-162, 2004.

TALELLI, M. MORITA, K., RIJCKEN, C. J. F., ABEN, R. W. M., LAMMERS, T., SCHEEREN, H. W., NOSTRUM, C. F., STORM G., HENNINK, W. E., “Synthesis and Characterization of Biodegradable and Thermosensitive Polymeric Micelles with Covalently Bound Doxorubicin-Glucuronide Prodrug via Click Chemistry”. *Bioconj. Chem.*, v. 22, pp. 2519-2530, 2011.

UPTON, C. E., KELLY, C. A., SHAKESHEFF, K. M., HOWDLE, S. M., “Perspective One Dose or Two? The Use of Polymers in Drug Delivery”. *Polymer International*, v. 56, pp. 1457-1460, 2007.

UHRICH, K. E., CANNIZZARO, S. M., LANGER, R. S., SHAKESHEFF, K. M., “Polymeric Systems for Controlled Drug Release”. *Chemical Reviews*, v. 99, pp. 3181-3198, 1999.

WAY, D. V., *Estudo da Reação de Produção de Partículas de Gelatina para Aplicação na Liberação Controlada de Doxiciclina*. Dissertação de M.Sc., PEQ/COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2013.

WEN, H., PARK, K., *Oral Controlled Release Formulation Design and Drug Delivery Theory to Practice*. New Jersey, John Wiley & Sons, 2010.

“WHO Model List of Essential Medicines”. 18ª lista, (2013). Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/93142/1/EML_18_eng.pdf?ua=1>. Acesso em 29 de Janeiro de 2014.

WILSON, C. G., CROWLEY, P. J., *Controlled Release in Oral Drug Delivery*. New York, Springer, 2011.

ZERBI, G. *Modern Polymer Spectroscopy*. 1ª ed. Weinheim – German, Wiley-VCH, 1999.