



NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS BASEADAS EM COMONÔMEROS
CATIÔNICOS PARA LIBERAÇÃO DE PRAZIQUNTEL

Jéssica Bentes Alves

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

Orientadores: José Carlos Costa da Silva Pinto
Vera Maria Martins Salim

Rio de Janeiro
Abril de 2018

NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS BASEADAS EM COMONÔMEROS
CATIÔNICOS PARA LIBERAÇÃO DE PRAZIQUANTEL

Jéssica Bentes Alves

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 DA NANOTECNOLOGIA.

Examinada por:

Profa. Vera Maria Martins Salim, D.Sc.

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

Prof. Helvécio Vinícius Antunes Rocha, D.Sc.

Profa. Helen Conceição Ferraz, D.Sc.

Prof. Marcio Nele de Souza, D. Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

ABRIL DE 2018

Alves, Jéssica Bentes

Nanopartículas Poliméricas Baseadas em
Comonômeros Catiônicos Para Liberação de Praziquantel/
Jéssica Bentes Alves. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE,
2018.

XV, 128 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: José Carlos Costa da Silva Pinto

Vera Maria Martins Salim

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de
Engenharia da Nanotecnologia, 2018.

Referências Bibliográficas: p. 111-124.

1. Encapsulamento. 2. Polimerização. 3. Praziquantel.
I. Pinto, José Carlos Costa da Silva *et al.* II. Universidade
Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de
Engenharia da Nanotecnologia. III. Título.

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus por ter me ajudado até aqui.

A meu pai Francisco e mãe Deusa, por terem sonhando comigo e sempre impulsionando para seguir em frente, mesmo quando eu não queria mais. Vocês são minha inspiração.

A meus irmãos Andreia, Kíria e Ricardo pelas palavras de ânimo, e a meus sobrinhos Amanda, Vinicius, Isa, Bel e Mika pelas ligações, deixando meus dias mais leves e alegres.

A meu vô Délio por sua torcida. Infelizmente não comemoraremos juntos.

A todos os meus amigos, do Amazonas, Rio e espalhados por outros locais. Cometeria um grande erro se mencionasse nomes e esquecesse alguém, porque de todas as formas estiveram presentes comigo, sendo que cada um tem uma contribuição para esse trabalho. Porém, em especial a meu amigo Caio César Andrade, que não poderá ver esses agradecimentos, embora sua memória esteja guardada com muito amor.

Aos amigos que o PENt proporcionou: Juliana, Jéssica, Monique, Isabelle, Phill.

Aos colegas do LMSCP: Cazumbá, Lu, Izabella, Débora Vaz, Lys, Diulia, Natali, por fazerem os dias mais alegres e sempre dispostos a ajudar. Aprendi algo com cada um deles e particularmente Thamiris por ter sido minha terceira orientadora.

Aos professores Zé Carlos e Vera Salim pela orientação e incentivo ao longo desse trabalho.

À equipe do EngePol: Larissa, Jorge, Nathalie, Natasha, Roberto.

Ao Rafael, por me ajudar nas análises de HPLC realizadas no LABCADS.

Aos técnicos do IME, Leandro e Flávio, pelas análises de MEV.

Às técnicas do LAPIN-1/IMA, Mariana e Juliana, pelas análises de FTIR e DSC.

À CAPES, pelo auxílio financeiro.

Enfim, a todos que contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho.

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

NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS BASEADAS EM COMONÔMEROS CATIÔNICOS PARA LIBERAÇÃO DE PRAZIQUANTEL

Jéssica Bentes Alves

Abril/2018

Orientadores: José Carlos Costa da Silva Pinto

Vera Maria Martins Salim

Programa: Engenharia da Nanotecnologia

A esquistossomose é uma das principais doenças negligenciadas no mundo, atingindo milhões de pessoas, sendo que as principais vítimas são crianças menores de seis anos. O tratamento usual é realizado com o fármaco praziquantel (PZQ), que apresenta baixa solubilidade em água e sabor amargo característico. O PZQ é disponibilizado na forma de comprimidos, não havendo formulações pediátricas específicas. As nanopartículas poliméricas (NPPs) apresentam grande potencial para uso como carreadores de fármaco, por apresentarem boa resistência química e alta taxa de eficiência de encapsulamento. Nesse contexto, o presente trabalho estudou o encapsulamento do PZQ em nanopartículas poliméricas à base de metacrilato de metila (MMA) e dos comonômeros catiônico metacrilato de dietilaminoetila (DEAEMA) e metacrilato de dimetilaminoetila (DMAEMA), pela técnica de polimerização em miniemulsão. As NPPs foram obtidas de diferentes formas, utilizando um iniciador polar e um apolar e surfactantes aniônico e catiônico. As NPPs foram caracterizadas para avaliar as propriedades dos copolímeros produzidos, a eficiência de incorporação do fármaco e a interação existente entre o fármaco e o polímero. Por fim, foram conduzidos ensaios de liberação do PZQ para analisar a viabilidade da aplicação real do produto. As NPPs foram obtidas com altas conversões e taxas de eficiência de encapsulamento maiores que 98%. Os resultados obtidos mostraram que os diferentes comonômeros e o teor de fármaco afetam significativamente a estabilidade e o desempenho das NPPs.

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

POLYMER NANOPARTICLES BASED ON CATIONIC MONOMERS FOR
RELEASE OF PRAZIQUANTEL

Jéssica Bentes Alves

April/2018

Advisors: José Carlos Costa da Silva Pinto
Vera Maria Martins Salim

Department: Nanotechnology Engineering

Schistosomiasis is one of the most neglected diseases in the world in which millions of people are infected, but the young children are the most affected by this disease. The treatment is performed with the drug praziquantel (PZQ), which has poorly soluble and a characteristic bitter taste. The PZQ is mainly available in the form of tablets, but there are no specific pediatric formulations. Polymer nanoparticles (PPNs) have great potential as drug carriers, because of their chemical resistance and high rate encapsulation. The main objective of this work is to encapsulate the PZQ in nanoparticles of poly (methyl methacrylate) copolymerized with cationic comonomers (DEAEMA (diethylaminoethyl methacrylate) and DMAEMA (dimethylaminoethyl methacrylate)) by miniemulsion polymerization. PPNs were obtained through different compositions, evaluating the use of a polar and nonpolar initiator and an anionic and cationic surfactant. The PPNs were characterized evaluating the properties of the copolymers, drug incorporation and drug-polymer interaction. Also, PZQ release tests were conducted to analyze the feasibility of the final product. Nanoparticles were obtained with conversion around of 100% and the encapsulation efficiency was greater than 98%. The results obtained show that the different comonomers together with the drug content significantly affect the stability and performance of PPNs.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	X
Lista de Tabelas	xiv
Lista de Abreviaturas	xv
1 Introdução	1
1.1 Motivação	1
1.2 Objetivos	2
1.2.1 Objetivos específicos	3
1.3 Estrutura da dissertação	3
2 Revisão Bibliográfica.....	5
2.1 Esquistossomose	5
2.1.1 Distribuição da doença.....	5
2.1.2 Ciclo vital do parasita e sintomas.....	8
2.1.3 Tratamento	11
2.2 Praziquantel.....	12
2.2.1 Eficácia.....	13
2.2.2 Segurança	14
2.2.3 Custo	14
2.2.4 Mecanismo de Ação do Praziquantel	15
2.2.5 Limitações	16
2.2.6 Sistemas contendo praziquantel	17
2.3 Nanoestruturas Poliméricas	23
2.3.1 Nanopartículas poliméricas (NPP).....	25
2.3.2 Métodos de preparo de nanopartículas.....	27
2.4 Processos de polimerização	28
2.4.1 Mecanismo cinéticos da polimerização em cadeia	29
2.4.2 Síntese de nanopartículas poliméricas	31
2.5 Liberação Controlada.....	35

2.6 Polímeros Catiônicos	38
2.7 Comentários Finais	41
3 Material e Métodos.....	42
3.1 Material	42
3.1.1 Reagentes	42
3.1.2 Equipamentos	44
3.2 Métodos.....	45
3.2.1 Síntese das Nanopartículas Poliméricas.....	45
3.2.2 Caracterização das Nanopartículas Poliméricas.....	46
3.2.2.1 Análise termogravimétrica (TGA)	46
3.2.2.2 Calorimetria Exploratória de Varredura (DSC)	47
3.2.2.3 Conversão por gravimetria	47
3.2.2.4 Cromatografia de permeação em gel (GPC)	48
3.2.2.5 Determinação de pH	48
3.2.2.6 Determinação da viscosidade	49
3.2.2.7 Distribuição de tamanho da partícula (DTP)	49
3.2.2.8 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	
.....	50
3.2.2.9 Estudo do perfil de liberação	50
3.2.2.10 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	52
3.2.2.11 Potencial zeta.....	53
3.2.2.12 Taxa de encapsulamento de PZQ.....	53
3.2.2.13 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	54
4 Resultados e Discussões.....	55
4.1 Reações de polimerização em miniemulsão	55
4.2 Reações de polimerização – Meio I.....	56
4.2.1 Conversão.....	57
4.2.2 Distribuição de tamanho e potencial zeta.....	58
4.2.3 Distribuição de massa molar	62
4.2.4 Análises térmicas	64
4.2.5 Ressonância Magnética Nuclear	66
4.2.6 Nanopartículas dopadas com praziquantel.....	69

4.2.7 Conclusões parciais	74
4.3 Reações de polimerização – Meio II.....	75
4.3.1 Efeito de co-estabilizante	75
4.3.2 Efeito de carga do fármaco e comonômero.....	81
4.3.3 Ensaios de liberação do PZQ a partir da matriz polimérica.....	94
4.3.4 Conclusões parciais	95
4.4 Reações de polimerização – Meio III	96
4.4.1 Conversão.....	97
4.4.2 Distribuição de tamanho e potencial zeta.....	98
4.4.3 Distribuição de massas molares	99
4.4.4 Análises térmicas	101
4.4.5 Microscopia eletrônica de varredura.....	104
4.4.6 Ensaios de liberação do PZQ a partir da matriz polimérica	105
4.4.7 Conclusões parciais	108
5 Conclusões	109
5.1 Perspectivas para trabalhos futuros.....	110
6 Referências Bibliográficas	111
Apêndice I.....	124
Apêndice II	126

Lista de Figuras

Figura 2. 1 - Distribuição da esquistossomose segundo percentual de positividade em inquéritos coproscópicos – Brasil, 2012. Fonte: Sistema de Informação do Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose – SIS/PCE/SVS/MS	7
Figura 2. 2 - Ciclo biológico do parasita da esquistossomose (DDTHA, 2017).....	10
Figura 2. 3 - Fórmula molecular do Praziquantel (o carbono quiral é o carbono 3). ...	13
Figura 2. 4 - Aspecto do comprimido (Biltricide) fabricado pela Bayer, com 22 mm de comprimento (Fonte: Pediatric Praziquantel Consortium).....	15
Figura 2. 5 - Esquema ilustrativo de (a) nanoesferas e (b) nanocápsulas.....	25
Figura 2. 6 - Estrutura química do PMMA.	26
Figura 2. 7 - Esquema do processo de evaporação do solvente (adaptado de AKAGI et al., 2007).....	28
Figura 2. 8 - Esquema ilustrativo dos processos de polimerização miniemulsão e emulsão (a) antes e (b) depois da polimerização (Adaptado de RAO e GECKELER, 2011).	32
Figura 2. 9 - Esquema ilustram do processo de polimerização em miniemulsão.....	33
Figura 2. 10 - Ilustração dos perfis característicos de liberação do fármaco.	36
Figura 2. 11 - Mecanismo de liberação de fármaco a partir de nanopartículas poliméricas: (A) difusão a partir da matriz polimérica, (B) erosão “bulk”, (C) difusão através dos poros formados pelo solvente.....	37
Figura 2. 12 - Esquema ilustrativo da resposta ao pH de uma nanopartícula formada por um polímero catiônico.....	39
Figura 2. 13 - Estrutura química do DMAEMA (lado esquerdo) e DEAEMA (lado direito).	39
Figura 3. 1 - Unidade Experimental: Mini-reator.....	46
Figura 4. 1 - Estrutura química do surfactante aniônico LSS.	56
Figura 4. 2 - Perfil de conversão das reações conduzidas com o meio I a 80 °C.	58
Figura 4. 3 - Distribuições de tamanhos das partículas para os produtos das reações conduzidas com o Meio I (a) PMMA (b) P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 (c) P(MMA-co-DMAEMA) 90-10 (d) P(MMA-co-DEAEMA) 95-5 (e) P(MMA-co-DEAEMA) 90-10	59

Figura 4. 4 - Distribuições de massas molares dos produtos das reações conduzidos com o Meio I. (R0) PMMA (R1) P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 (R2) P(MMA-co-DMAEMA) 90-10 (R3) P(MMA-co-DEAEMA) 95-5 (R4) P(MMA-co-DEAEMA) 90-10.....	62
Figura 4. 5 - Efeito do diâmetro médio da partícula nas massas molares média.	63
Figura 4. 6 - Análise termogravimétrica de amostras dos produtos preparados com o Meio I. (R0) PMMA (R1) P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 (R2) P(MMA-co-DMAEMA) 90-10 (R3) P(MMA-co-DEAEMA) 95-5 (R4) P(MMA-co-DEAEMA) 90-10.....	65
Figura 4. 7 – Termogramas de DSC para amostras dos produtos finais das reações conduzidas com o Meio I. (R0) PMMA (R1) P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 (R2) P(MMA-co-DMAEMA) 90-10 (R3) P(MMA-co-DEAEMA) 95-5(R4) P(MMA-co-DEAEMA) 90-10	66
Figura 4. 8 - Espectro de H-RMN do produto final da reação de PMMA.	67
Figura 4. 9 - Espectro de H-RMN do produto final da reação de P(MMA-co-DMAEMA) 90-10.....	68
Figura 4. 10 - Espectro de H-RMN do produto final da reação P(MMA-co-DEAEMA) 90-10.....	68
Figura 4. 11 - Perfil de conversão nas reações P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 conduzidas na presença e ausência de 10% PZQ em relação à carga orgânica.....	69
Figura 4. 12 – Perfis de conversão dos produtos obtidos na presença de AIBN nas reações PMMA-PZQ e P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 na presença e ausência de 10% PZQ em relação à carga orgânica.	70
Figura 4. 13 - Distribuições de tamanhos de partícula do produto final da reação R5, conduzida na presença de KPS.....	71
Figura 4. 14 - Distribuições de tamanho de partícula obtidas na presença de AIBN nas reações (a) PMMA-PZQ (b) P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 (c) P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 –PZQ.	71
Figura 4. 15 - Aspectos dos látices obtidos na presença de PZQ.	72
Figura 4. 16 - Distribuições de massas molares dos produtos finais das reações (R5) P(MMA-co-DMAEMA) PZQ-KPS, (R6) PMMA-PZQ, (R7) P(MMA-co-DMAEMA) 95-5, (R8) P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 –PZQ.	74
Figura 4. 17 - Perfis de conversão nas reações (a) PMMA, (b) P(MMA-co-DMAEMA) e (c) P(MMA-co-DEAEMA) conduzidas na presença e ausência do praziquantel com 0 e 10% de óleo.	77
Figura 4. 18 - Aspecto do aglomerado observado ao final da reação R12.....	77

Figura 4. 19 - Distribuições de tamanho de partícula dos produtos finais das reações (a) PMMA, (b) P(MMA-co-DMAEMA) e (c) P(MMA-co-DEAEMA) conduzidas na presença e ausência do praziquantel com 0 e 10% de óleo.	78
Figura 4. 20 - Distribuições de massas molares dos produtos finais das reações (a) PMMA, (b) P(MMA-co-DMAEMA) e (c) P(MMA-co-DEAEMA) conduzidas na presença e ausência do praziquantel com 0 e 10% de óleo mineral.	79
Figura 4. 21 - Perfil de Conversão do PMMA e copolímeros (5%) com PZQ.	82
Figura 4.22 -Aspecto dos aglomerados formados na presença (A) comonômero DMAEMA (5%) com 30% de PZQ e (B) comonômero DMAEMA (20%) com 20% de PZQ.....	82
Figura 4. 23 - Distribuições de tamanhos de partícula do homopolímero PMMA e dos copolímeros produzidos na presença de 5% de comonômero e com 20 e 30% de PZQ.83	
Figura 4. 24 - Perfis de conversão nas reações P(MMA-co-DMAEMA) e P(MMA-co-DEAEMA) conduzidas na ausência e presença (20%) de praziquantel.	84
Figura 4. 25 - Distribuições de tamanhos de partícula dos produtos finais das reações conduzidas na presença de 10% comonômeros e 20% de praziquantel.	85
Figura 4. 26 - Distribuições de massas molares de produtos finais das reações conduzidas com 10% de comonômero e 20% de praziquantel.	86
Figura 4. 27 - Efeito do diâmetro médio da partícula nas massas molares médias nas reações conduzidas com 10% de comonômero e 20% de PZQ.....	87
Figura 4. 28 - Termogramas de DSC dos produtos finais das reações conduzidas com 10% de comonômero e 20% de praziquantel.	88
Figura 4. 29 – Espectros de FTIR dos produtos finais das reações conduzidas com 10% de comonômero e 20% de PZQ.....	89
Figura 4. 30 - Correlação entre as transmitâncias dos espectros de FTIR dos produtos finais obtidos nas reações com 10% de comonômero (a) PMMA, (b) P(MMA-co-DMAEMA) e (c) P(MMA-co-DEAEMA), com e sem PZQ.	90
(Figura 4. 31 – continua)	91
Figura 4. 32 - Micrografias das nanopartículas obtidas ao final das reações (A)R15: PMMA, (B)R21: PMMA-PZQ (C) R26:P(MMA-co-DMAEMA), (D) R27:P(MMA-co-DMAEMA)-PZQ, (E) R28:P(MMA-co-DEAEMA), (F) R29:P(MMA-co-DEAEMA)-PZQ.....	92

Figura 4. 33 - Perfis de liberação do praziquantel a partir nas nanopartículas de PMMA, P(MMA-co-DMAEMA), P(MMA-co-DEAEMA) contendo 10% de comonômero e 20% de PZQ em relação à carga orgânica permitiu obter pH 6,8 e 2,0.....	95
Figura 4. 34 - Estrutura química do surfactante catiônico CTAB.....	96
Figura 4. 35 - Perfis de conversão das reações conduzidas na presença dos surfactantes CTAB e LSS na ausência (A) e presença (B) de PZQ.	98
Figura 4. 36 - (A) Distribuições de tamanhos de partícula dos produtos obtidos nas reações conduzidas com CTAB e (B) evolução dos tamanhos ao longo dos dias do produto da reação P(MMA-co-DEAEMA)-PZQ.	99
Figura 4. 37 - Distribuição de massa molar das nanopartículas obtidas com CTAB..	100
Figura 4. 38 - Termograma de DSC dos produtos finais obtidos nas reações conduzidas com CTAB.....	101
Figura 4. 39 - Espectros de FTIR das nanopartículas obtidas com CTAB.....	102
Figura 4. 40 - Correlação entre as transmitâncias dos espectros de FTIR dos produtos finais obtidos nas reações conduzidas com CTAB (a) PMMA, (b) P(MMA-co-DMAEMA) e (c) P(MMA-co-DEAEMA) com e sem PZQ.	103
Figura 4. 41 - Micrografias das nanopartículas obtidas nas reações conduzidas com CTAB (A) PMMA, (B) PMMA-PZQ, (C) P(MMA-co-DEAEMA), (D) e (E) P(MMA-co-DEAEMA)-PZQ.....	105
Figura 4. 42 - Ensaio de liberação em pH 2 dos produtos das reações R31 e R35 realizados no béquer e no dissolutor.	107
Figura 4. 43 - Ensaio de liberação em pH 6,8 dos produtos das reações R31 e R35 realizados no béquer e no dissolutor.	107

Lista de tabelas

Tabela 2. 1 - Dados epidemiológicos da esquistossomose por região no Brasil.	8
Tabela 2. 2 - Produtos farmacêuticos à base de nanopartículas (PETROS e DESIMONE, 2010).....	24
Tabela 4. 1 - Sistemas reacionais utilizados.	55
Tabela 4. 2 - Quantidades dos componentes utilizados nas reações para o Meio I.	57
Tabela 4. 3 - Nomenclatura das reações da composição I.	58
Tabela 4. 4 - Propriedades das nanopartículas poliméricas obtidas ao final das reações conduzidas com o Meio I.....	61
Tabela 4.5 - Propriedades dos produtos finais obtidos na presença e ausência de PZQ com iniciador KPS e AIBN.	73
Tabela 4.6 – Composição do meio reacional do Meio II.....	75
Tabela 4.7 - Nomenclatura das reações realizadas para verificar o efeito do óleo mineral.....	76
Tabela 4.8 - Propriedades dos produtos finais obtidos na presença e ausência de PZQ com 0 (R9 a R14) e 10 (R15 a R20) % de óleo mineral em relação à carga orgânica. ..	80
Tabela 4. 9 - Nomenclatura das reações realizadas para verificar o efeito do teor do fármaco e comonômero sobre as propriedades do produto final.....	81
Tabela 4.10 - Propriedades dos produtos finais obtidos com 20 e 30% de PZQ.....	83
Tabela 4. 11 - Propriedades dos polímeros finais obtidos na ausência e presença de (20%) de praziquantel.....	93
Tabela 4. 12 - Quantidades dos componentes utilizados nas reações de Meio III.	97
Tabela 4. 13 - Massas molares obtidas os produtos finais obtidos nas reações conduzidas com o Meio III.	101
Tabela 4. 14 - Propriedades das nanopartículas poliméricas obtidas com CTAB.....	104

Lista de abreviaturas

AIBN	Azobisisobutironitrila
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CTAB	Brometo de cetil trimetil amônio
DEAEMA	Metacrilato de dietilaminoetila
DMAEMA	Metacrilato de dimetilaminoetila
DSC	Calorimetria exploratória de varredura
ENGEPOL	Laboratório de Engenharia de Polimerização
FTIR	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier
GPC	Cromatografia de permeação em gel
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
HFIP	Hexafluoropropan-2-ol
LSS	Lauril sulfato de sódio
M_n	Massa molar numérica média
M_w	Massa molar ponderal média
M_v	Massa molar viscosimétrica
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MMA	Metacrilato de metila
PMMA	Poli(metacrilato de metila)
P(MMA-co-DEAEMA)	Poli(metacrilato de metila-co-metacrilato de dietilaminoetila)
P(MMA-co-DMAEMA)	Poli(metacrilato de metila-co-metacrilato de dimetilaminoetila)
PZQ	Praziquantel
RMN	Ressonância magnética nuclear
THF	Tetrahidrofurano
TGA	Análise termogravimétrica

Capítulo I

Introdução

1.1 Motivação

A esquistossomose é causada pela infecção de parasitas (*Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma Japonicum*) e pode resultar em problemas graves e crônicos, tais como atrofia, anemia, desnutrição, prejuízo ao crescimento e ao desenvolvimento cognitivo e redução da capacidade de trabalho, além de poder levar à morte. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), há milhões de pessoas acometidas pela esquistossomose no mundo, sendo 24 milhões de crianças em idade pré-escolar e 65 milhões em idade escolar (OMS, 2016; ZONI e CATALÁ, 2014).

O praziquantel (PZQ) é o fármaco mais usado para o tratamento da esquistossomose no mundo, disponível usualmente na forma de comprimidos de 600mg. Os comprimidos devem ser, no entanto, administrados de acordo com a massa corpórea do paciente, tornando o fracionamento muitas vezes necessário, o que pode resultar em perdas e redução de eficácia do tratamento. O formato de comprimidos pode tornar a deglutição difícil para crianças, especialmente entre as idades de 2 e 6 anos. Além disso, a partição do comprimido revela o sabor amargo característico do PZQ, o que causa repulsa e dificulta o tratamento (CIOLI *et al.*, 2014). Até o momento não existe no Brasil uma formulação do fármaco adequada para uso pediátrico (Pediatric Praziquantel Consortium, 2017)

O PZQ é classificado como um fármaco da classe II, de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), referente aos fármacos de baixa solubilidade e alta permeabilidade no trato gastrointestinal (SILVA *et al.*, 2017). Desta forma, a taxa de dissolução no meio aquoso constitui um fator limitante para sua absorção.

Nanoencapsulamento de fármacos que apresentam baixa solubilidade em água em polímeros biocompatíveis constitui uma alternativa de grande potencial para aprimoramento e desenvolvimento de novos produtos da indústria farmacêutica.

Diferentes inovações baseadas na nanotecnologia têm sido desenvolvidas e adotadas pela indústria farmacêutica. Dentre elas, pode ser destacado o desenvolvimento de sistemas para administração de fármacos com um melhor perfil farmacocinético, com aumento da biodisponibilidade e da solubilidade no meio orgânico, assim como maiores estabilidade e taxa de dissolução (TOMIOTTO-PELLISSIER *et al.*, 2017). De forma geral, o fármaco pode ser dissolvido, aprisionado, encapsulado ou ligado quimicamente à nanopartícula polimérica (NPP). De forma similar, nanopartículas podem ser sintetizadas por vários métodos, dependendo dos requisitos da aplicação e das características físico-químicas do fármaco. Convencionalmente, as NPPs dopadas com os fármacos são preparadas por dois métodos principais: a precipitação de polímeros pré-formados e a polimerização *in situ* de monômeros por miniemulsão (VRIGNAUD *et al.*, 2011; FORBES *et al.*, 2013).

O típico sistema de polimerização em miniemulsão consiste de uma fase orgânica (monômeros, co-estabilizante e fármaco) emulsionada em solução aquosa (água, agentes emulsificantes e iniciador) com auxílio de um equipamento dispersor de alta energia e posteriormente submetida à polimerização em um reator. As gotas de monômero originais comportam-se como "nano-reatores". A principal vantagem do processo de polimerização em miniemulsão é a capacidade de produzir nanoestruturas em um único passo, promovendo a reação e o encapsulamento *in situ* (JEEVANANDAM *et al.*, 2016; MANGANIELLO *et al.*, 2012).

Em particular, a eficiência e eficácia terapêutica das NPPs podem ser aprimoradas por meio da modificação das estruturas moleculares dos carreadores, que podem ser sensíveis a múltiplos estímulos, tais como temperatura, pH, feixe de fótons, feixe de elétrons, enzimas, campo magnético, força iônica ou força elétrica. Por exemplo, na administração oral de fármacos, o uso de polímeros sensíveis ao pH pode facilitar o inchamento da cadeia polimérica, possibilitando a liberação do fármaco de acordo com a alteração do pH fisiológico (LIANG *et al.*, 2015; YOU e AUGUSTE, 2008), permitindo projetar a região do organismo em que o fármaco deve ser liberado. Portanto, o uso de nanopartículas poliméricas sensíveis ao pH constitui uma proposta promissora para solucionar alguns problemas associados com a utilização do praziquantel no tratamento da esquistossomose, como o mascaramento do gosto e a melhoria da disponibilidade no organismo.

1.2 Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo principal estudar o encapsulamento de praziquantel em nanopartículas poliméricas sensíveis ao pH baseadas no monômero metacrilato de metila (MMA) com monômeros catiônicos metacrilato de dietilaminoetila (DEAEMA) e metacrilato de dimetilaminoetila (DMAEMA), tendo como finalidade a obtenção de dosagens flexíveis e mascaramento do sabor amargo característico do PZQ.

1.2.1 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos conseguidos no presente estudo foram:

- Produzir nanopartículas à base de MMA com os monômeros catiônicos DEAEMA e DMAEMA, pela técnica de polimerização em miniemulsão, tendo em vista que esses sistemas de reação têm sido pouco estudados.
- Avaliar o efeito do uso de surfactantes aniônicos na presença de monômeros catiônicos.
- Analisar a influência dos iniciadores polar e apolar persulfato de potássio (KPS) e azobisisobutironitrila (AIBN), respectivamente, no andamento da reação.
- Encapsular o praziquantel em nanopartículas poliméricas à base de MMA, DEAEMA e DMAEMA.
- Analisar o perfil de liberação do praziquantel encapsulado nas nanopartículas produzidas em condições similares às do meio fisiológico.

1.3 Estrutura da dissertação

A presente dissertação de mestrado é composta por 6 capítulos, incluindo essa breve introdução, que expôs as motivações para realizar o trabalho e os objetivos que se pretendem alcançar.

No Capítulo 2 é apresentada uma revisão bibliográfica que contextualiza o problema associado à esquistossomose, discutindo o impacto da doença e como tratamento é realizado. Também descrevem-se as propriedades, as características físico-

químicas, o mecanismo de ação e as limitações do fármaco de referência, praziquantel. As nanoestruturas poliméricas mais comuns são relatadas, com ênfase particular nas nanopartículas poliméricas, descrevendo-se as técnicas usuais para sua produção. Os mecanismos cinéticos de polimerização são brevemente comentados, para melhor compreensão da síntese das nanopartículas, destacando o processo escolhido para o trabalho: a polimerização em miniemulsão. São discutidos alguns trabalhos que fizeram uso dessa técnica para o encapsulamento *in situ* de fármacos. O capítulo finaliza com uma discussão sobre os modelos matemáticos de liberação e as vantagens da utilização de polímeros catiônicos para aplicações de liberação.

O Capítulo 3 apresenta os materiais e métodos empregados ao longo do trabalho, especificando os principais reagentes e equipamentos utilizados. São apresentadas ainda as técnicas utilizadas para a caracterização dos ensaios e produtos obtidos: conversão de monômero por gravimetria, análise termogravimétrica (TGA), cromatografia de permeação em gel (GPC), calorimetria exploratória de varredura (DSC), microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), ressonância magnética nuclear (RMN), espalhamento de luz, potencial zeta e testes de eficiência de encapsulamento e liberação do fármaco.

Os resultados são discutidos no Capítulo 4, que está dividido em três seções principais, associadas às características químicas das nanopartículas produzidas. As principais conclusões obtidas com base nas análises dos resultados são apresentadas no Capítulo 5, assim como propostas para trabalhos futuros.

As atividades relacionadas ao presente trabalho foram realizadas no laboratório do Grupo Interdisciplinar de Fenômenos Interfaciais (GRIFIT), no Laboratório de Modelagem, Simulação e Controle de Processos (LMSCP) e no Laboratório de Engenharia de Polímeros (EngePol) do Programa de Engenharia Química do Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós Graduação e Pesquisa de Engenharia (PEQ/COPPE/UFRJ). Ressalta-se ainda a colaboração de outros laboratórios, como do: Laboratório de Cromatografia e Adsorção (LABCADS/UFRJ), para as análises de HPLC, do Laboratório Multiusuário de RMN em Solução (LABRMN-2/UFRJ), para as análises de H-RMN e do Laboratório de Apoio Instrumental (LAPIN-1/IMA/UFRJ), para as análises de DSC e de FTIR.

CAPÍTULO II

Revisão Bibliográfica

2.1 Esquistossomose

A esquistossomose, conhecida também como xistose, barriga d'água, doença dos caramujos ou bilharzíase, é uma infecção parasitária crônica causada por vermes do gênero *Schistosoma*, com três espécies principais adaptadas à infecção humana: *S. haematobium*, *S. mansoni* e *S. japonicum*. O parasita tem como hospedeiros intermediários os caramujos de água doce do gênero *Biomphalaria*, *Bulinus* (*S. haematobium*) e *Oncomelania* (*S. japonicum*), sendo muito comum nas populações rurais e empobrecidas (TOMIOTTO-PELLISSIER *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2017).

Os hábitos de vida do ser humano podem propiciar novos e extensos ambientes para os moluscos hospedeiros e para os parasitas. O contato da população com a água contaminada possibilita a infecção através da pele e mucosas. A movimentação do ser humano contaminado pode levar o parasita a novos e extensos ambientes em que existam os moluscos hospedeiros. Esses fatores se relacionam e favorecem a transmissão da doença, em maior ou menor intensidade, de acordo com a realidade local (BRASIL, 2014)

Embora seja difícil avaliar as taxas de mortalidade associadas à esquistossomose, estima-se que esta doença cause aproximadamente 280.000 mortes por ano, podendo ainda causar graves danos de saúde ao hospedeiro (GRYSEELS *et al.*, 2006).

2.1.1 Distribuição da doença

Dentre as parasitoses que afetam o homem, a esquistossomose é uma das mais disseminadas no mundo. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a esquistossomose ocupa o segundo lugar dentre as parasitoses mais frequentes depois da malária, caracterizando sua importância e repercussão socioeconômica. Particularmente uma das doenças de maior predominância, dentre aquelas veiculadas pela água. Nos países em desenvolvimento, a esquistossomose representa um dos principais riscos à

saúde das populações rurais e das periferias das cidades, abrangendo 76 países de forma endêmica (MDULUZA e MUTAPI, 2017; SIQUEIRA *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2017).

Segundo dados da OMS, pelo menos 258 milhões de pessoas necessitaram de tratamento contra a esquistossomose em 2014, incluindo 24 milhões de crianças em idade pré-escolar e 65 milhões em idade escolar, sendo que apenas 61 milhões de crianças receberam tratamento apropriado (OMS, 2016). Recentemente, a doença tem surgido também na Europa, na ilha francesa de Córsega, o que mostra a capacidade de espalhamento da doença (SIQUEIRA *et al.*, 2017).

As esquistossomoses originaram-se nas bacias dos rios Nilo, na África, e do Yangtze, na Ásia. Ovos de *Schistosoma* foram encontrados em vísceras de múmias egípcias, originárias de 1.250 a.C. Igualmente, existem relatos de que na cidade de Cehang-lha, na China, foram encontrados ovos de *S. japonicum* em cadáver de cerca de 2.000 anos (BRASIL, 2014).

Em 1852, no Cairo, Theodor Bilharz identificou pela primeira vez, em necrópsia de veias mesentéricas, os vermes que ficaram conhecidos como “esquistossomos”. Daí a denominação de “bilharziose” ou “bilharzíase” como sinônimo para esquistossomose (DOENHOFF *et al.*, 2008). Das seis espécies de *Schistosoma* que parasitam o homem, somente o *S. mansoni* existe nas Américas do Sul e Central. A migração de escravos é considerada como o principal fator responsável pela introdução da doença no continente. No século XVIII, com o início do ciclo do ouro e diamante e o declínio da produção açucareira no Nordeste, um fluxo migratório intenso permitiu a penetração da doença em outros territórios (SIQUEIRA *et al.*, 2017).

O Brasil é o país nas Américas com a maior área de incidência, totalizando 16 unidades federadas. A migração de pessoas contaminadas para outras regiões contribuiu para a ampla dispersão da doença. Conforme pode ser observado na Figura 2. 1 e na Tabela 2.1 , a esquistossomose abrange quase toda a costa litorânea do Nordeste e do Sudeste, a partir do Maranhão e em direção ao Sul.

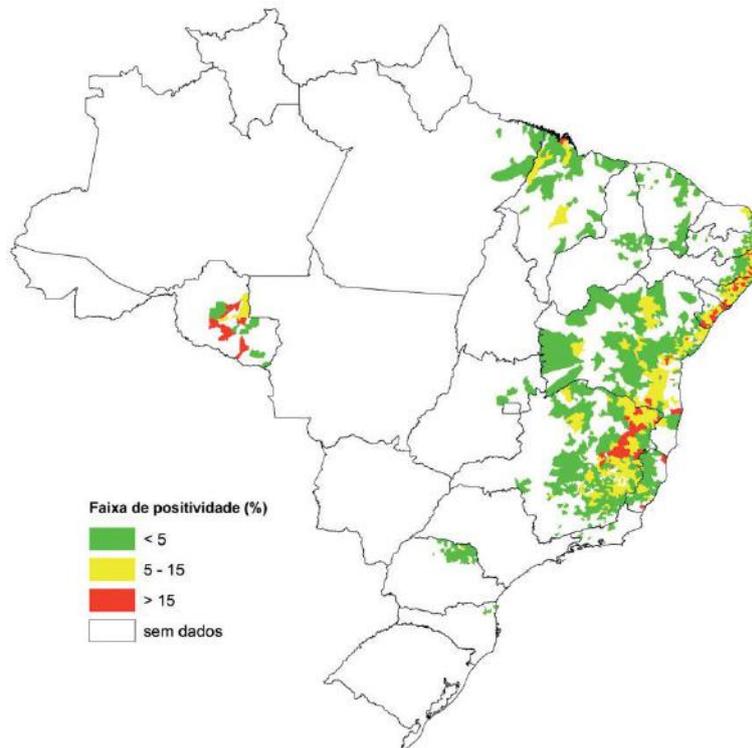


Figura 2. 1 - Distribuição da esquistossomose segundo percentual de positividade em inquéritos coproscópicos – Brasil, 2012. Fonte: Sistema de Informação do Programa de Vigilância e Controle da Esquistossomose – SIS/PCE/SVS/MS

Segundo a OMS, no Brasil apenas aproximadamente 15% das crianças que vivem nas áreas de risco recebem desparasitação regular (HOTEZ *et al.*, 2014). Apesar de existir um programa nacional para controle da esquistossomose desde 1975, que inclui a administração de medicamentos, a OMS estima que menos de 3% dos quase 1,5 milhões de brasileiros infectados com *S. mansoni* recebem tratamento adequado com praziquantel ou oxamniquina. (OMS, 2017)

Além do saneamento, outros fatores como nível socioeconômico, ocupação, lazer, grau de educação e informação da população alvo atuam como condicionantes e contribuem para a ocorrência da esquistossomose. Esses fatores se relacionam e favorecem a transmissão da doença, em maior ou menor intensidade, de acordo com a realidade local (ZONI e CATALÁ, 2015).

Tabela 2.1- Dados epidemiológicos da esquistossomose por região no Brasil.

Região	População trabalhada	Número de exames realizados	Resultados Positivos	Número de pessoas tratadas
Norte	15.948	11.997	244	244
Nordeste	3.630.669	2.590.010	115.258	85.043
Sudeste	1.323.220	985.040	28.509	24.218

Fonte: DATASUS (2017). PCE - Programa de Controle da Esquistossomose nos últimos cinco anos (2012-2017).

Nos países em desenvolvimento, a esquistossomose representa um dos principais riscos à saúde das populações rurais e das periferias das cidades. No Brasil, a extensa distribuição geográfica amplia a magnitude desse problema de saúde pública. Além disso, a ocorrência de formas graves da doença e os óbitos dela decorrentes fazem da esquistossomose uma das parasitoses de maior transcendência. A morbidade da esquistossomose representa grande problema de saúde pública, prejudicando a qualidade de vida das famílias pobres e causando muitas perdas de natureza social e econômica (HOTEZ *et al.*, 2007).

2.1.2 Ciclo vital do parasita e sintomas

Os vermes que causam a esquistossomose pertencem a dois filos principais: *Nematoda* (nematodes ou lombrigas) e *Platyhelminthes* (vermes achatados) (LEE *et al.*, 2014). Os esquistossomas adultos são vermes brancos ou acinzentados, com 7 a 20 mm de comprimento, com um corpo cilíndrico que apresenta duas ventosas terminais, um complexo tegumento, um trato digestivo e órgãos reprodutivos (GRYSEELS *et al.*, 2006).

A Figura 4.2 ilustra o ciclo vital do parasita. O macho e a fêmea encontram-se geralmente em único “corpo” acasalados. A fêmea aloja-se no canal ginecóforo do macho e, por ser mais longa, ultrapassa-o para diante ou para trás, recurvando-se em uma ou duas flexões (ZONI e CATALÁ, 2015). No ser humano, principal hospedeiro, é onde o ciclo sexual ocorre. No caracol, hospedeiro intermediário, é onde ocorre o ciclo assexuado.

Os vermes adultos se localizam no fígado e nos ramos terminais das veias mesentéricas, depois migram para as vênulas da submucosa intestinal, onde se dá a postura dos ovos. A migração dos ovos para a área intestinal provoca micro-hemorragias

e áreas de inflamação responsáveis pelo aparecimento de diarreia mucossanguinolenta e de outros distúrbios gastrointestinais (ZONI e CATALÁ, 2015).

A patogênese da esquistossomose humana começa quando os ovos se incorporam aos tecidos do intestino ou bexiga humana. No fígado, podem ocluir total ou parcialmente a passagem do sangue, causando fibrose periportal e ocasionando os efeitos mais acentuados da doença (LEE *et al.*, 2014). Os ovos maduros medem cerca de 150 μm de comprimento e 60 μm de largura. Por ocasião da postura, os ovos contêm o embrião ainda em formação. Somente após seis a sete dias o miracídio, que representa a primeira forma larvária do *S. mansoni*, torna-se maduro. O tempo de vida dos ovos maduros nos tecidos é de aproximadamente 20 dias, levando à morte do miracídio, caso a expulsão pelas fezes não ocorra. Uma fêmea de *S. mansoni* produz cerca de 300 ovos por dia, dos quais talvez metade seja eliminada nas fezes (ZONI e CATALÁ, 2015). Os ovos requerem o contato com a água para continuarem a evolução. Depois que a água penetra por osmose no ovo e rompe sua casca, o miracídio movimenta-se ativamente em busca do caramujo, hospedeiro intermediário (BRASIL, 2014; TOMIOTTO-PELLISSIER *et al.*, 2017).

O miracídio sobrevive até 24 horas na água, se as condições de temperatura forem adequadas. Este organismo procura o hospedeiro intermediário guiado por estímulos químicos, graças a sua mobilidade, proporcionada pelos numerosos cílios que revestem a delgada cutícula e se conectam ao sistema muscular (MALHADO *et al.*, 2016). Depois de penetrar o caracol, os miracídios se multiplicam assexuadamente na forma de esporocistos multicelulares e, depois de 4 a 7 dias, na forma de larvas cercárias (GRYSEELS *et al.*, 2006).

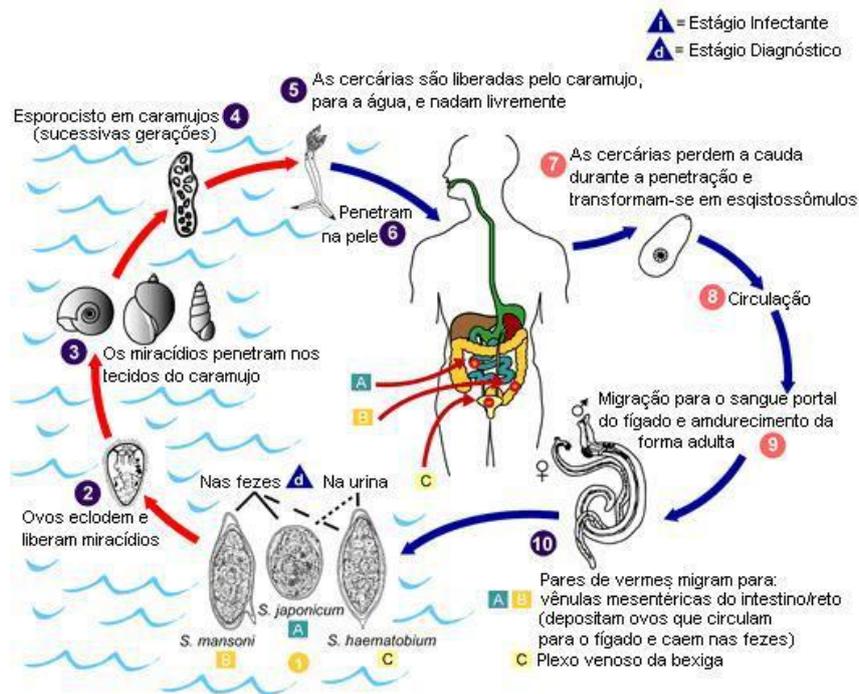


Figura 2.2 - Ciclo biológico do parasita da esquistossomose (Retirado de DDTHA, 2017).

É na forma de cercárias (chamadas furcocercárias, por apresentarem a cauda bifurcada) que o *S. mansoni* infecta o hospedeiro definitivo, seja o homem ou qualquer outro vertebrado suscetível (ZONI e CATALÁ, 2015). As cercárias começam a deixar o caracol entre 4 a 6 semanas depois da infecção, podendo ficar na água por até 72 h, na busca por um hospedeiro definitivo adequado (GRYSEELS *et al.*, 2006; SIQUEIRA *et al.*, 2017).

Uma vez nos tecidos do hospedeiro definitivo, as cercárias perdem a cauda e se transformam em esquistossômulos. Isto permite que circulem na corrente sanguínea ou linfática, podendo atingir a circulação venosa, e conseqüentemente o coração e aos pulmões, onde permanecem algum tempo e podem causar alterações mórbidas. Além disso, podem causar danos ao fígado, órgão preferencial de localização do verme. No fígado, estas formas jovens se diferenciam sexualmente e crescem, alimentando-se de sangue. Ainda imaturos, os parasitas migram para as veias, passando para as veias tributárias mesentéricas, onde completam sua evolução após 27 dias da penetração pelas cercárias (LEE *et al.*, 2014; SIQUEIRA *et al.*, 2017; ZONI e CATALÁ, 2015).

A sintomatologia apresentada depende da localização, da quantidade do parasita nos diferentes órgãos, das reações do organismo humano e da resposta ao tratamento. Na maioria dos casos de infecção, os efeitos patológicos mais importantes são observados na

fase crônica da doença, podendo ocorrer o agravamento hepático. Entretanto, na forma inicial pode também ocorrer consequências graves, como a paraplegia ou a morte (MDULUZA e MUTAPI, 2017).

A doença se manifesta inicialmente com febre, fadiga, mialgia, mal-estar, tosse e eosinofilia. Os sintomas abdominais podem se desenvolver mais tarde, causada pela migração e deslocamento dos vermes. A maioria dos pacientes recupera-se espontaneamente após 2 a 10 semanas de tratamento, embora em alguns casos os sintomas se tornam persistentes. Nestes casos, a doença se torna mais grave, com perda de peso, dispneia, diarreia, toxemia e erupções cutâneas generalizada (GRYSEELS *et al.*, 2006).

No grupo de alto risco (5-15 anos), os sintomas aparecem na forma de desnutrição, pobre desenvolvimento cognitivo, anemia e redução no desempenho escolar (MDULUZA e MUTAPI, 2017). As crianças constituem um grupo de alto risco e geralmente estão sujeitas a reinfecções mais rápidas e intensas, apresentando maior sensibilidade à terapia com praziquantel (SIQUEIRA *et al.*, 2017).

2.1.3 Tratamento

Os primeiros tratamentos para esquistossomose foram realizados com potássio e tartarato de antimônio (tártaro emético, introduzido em 1918), dimercaptosuccinato de sódio e antimônio e di-(pirocatecol-2,4-dissulfonato) de sódio e antimônio (conhecido como estibofeno). Nos anos seguintes, outros sais de antimônio foram introduzidos, tais como antimonilgluconato de sódio (Triostib[®]), antimoniato de sódio tiomielizado (Anthiomaline[®]) e gluconato de antimônio (Triostan[®]), administrados sempre por via parenteral. Os sais de antimônio, embora atuem eficazmente contra as espécies principais do gênero *Shistosoma*, não são mais utilizados no tratamento desse helminto, porque causam diversos efeitos colaterais, como a trombocitopenia e outras displasias sanguíneas (SILVA *et al.*, 2017).

A lucantona (Miracil D) e o seu principal metabolito, a hicantona (N-b-dietil-amino-etil-amino-4 (hidroximetil)-9-tioxantona), são eficazes especificamente contra *S. mansoni* e *S. haematobium*. O fármaco (1-(5-nitro-2-tiazolil)imidazolidina-2-ona), niridazol, é eficaz contra *S. haematobium* e *S. japonicum*. Esses medicamentos, administrados oralmente, já não são usados porque provocam reações adversas, como danos no fígado e nos rins, convulsões, psicoses, alucinações visuais e auditivas, estados

confusos e outros efeitos indesejáveis no sistema nervoso central (SIQUEIRA *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2017).

A oxamniquina é efetiva contra o *S. mansoni*, sendo usada principalmente no Brasil. Entretanto, pode provocar efeitos colaterais mais pronunciados, como sonolência, indução do sono e convulsões epiléticas (GRYSEELS *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2017).

Os derivados de artemisinina, que são medicamentos usados para o tratamento de malária, são eficazes contra os estágios imaturos de *S. japonicum* e *S. mansoni*. Contudo, o uso não desses medicamentos é aconselhável em áreas endêmicas de malária porque pode provocar a resistência dos parasitas desta doença (SILVA *et al.*, 2017; GRYSEELS *et al.*, 2006).

Atualmente, o controle da esquistossomose é baseado no monitoramento do caracol hospedeiro, com ações de educação em saúde, com programas de promoção de higiene e com saneamento melhorado. O medicamento de primeira escolha para o tratamento é o praziquantel, que atua contra todas as espécies *Schistosoma* (TOMIOTTOPELLISSIER *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2017; CIOLI *et al.*, 2014).

2.2 Praziquantel

O praziquantel (PZQ), descoberto em 1972, foi desenvolvido pela primeira vez para uso veterinário contra a classe de parasitas cestódeos. Uma pesquisa conduzida pelas empresas Merck e Bayer para encontrar novos tranquilizantes, resultou em uma série de compostos, que foram avaliados em termos de atividade anti-helmíntica (SIQUEIRA *et al.*, 2017). O PZQ e mais 400 compostos similares foram testados com ratos infectados e testes *in vitro* com diferentes parasitas (CIOLI *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2017).

O PZQ (2-(ciclo-hexilcarbonil)-1,2,3,6,7,11b-hexaidro-4H-pirazino-[2,1-a]isoquinolin-4-ona) é um derivado pirazino-isoquinoleínico, do grupo dos tioxantônicos, que possui um centro assimétrico, sinalizado na Figura 2. 3. O praziquantel é praticamente insolúvel em água, moderadamente solúvel em etanol, mas muito solúvel em clorofórmio e dimetilsulfóxido (SILVA *et al.*, 2017; SIQUEIRA *et al.*, 2017). Atualmente o PZQ é o único medicamento utilizado pelos programas de controle da esquistossomose no mundo, sendo usado para tratamentos em grande escala, com segurança e bons resultados (BRASIL, 2014; GRYSEELS *et al.*, 2006).

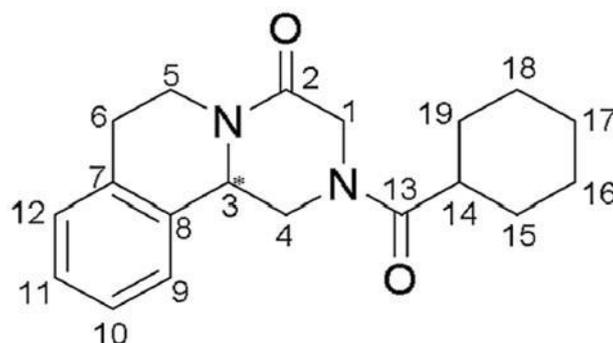


Figura 2. 3 - Fórmula molecular do Praziquantel (o carbono quiral é o carbono 3).

Nas condições ambientes, o PZQ é um pó branco, com sabor amargo e estável, nas condições normais de armazenamento, apresentando ponto de fusão na faixa de 136 a 142 °C (SILVA *et al.*, 2017; ANVISA, 2010). Os motivos principais do sucesso do PZQ no tratamento da esquistossomose são justificados por sua alta eficácia, alta segurança e baixo custo.

2.2.1 Eficácia

A ação anti-helmíntica do praziquantel é incerta; no entanto, pesquisadores sugerem que a inibição da ATPase de sódio-potássio ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$) em vermes adultos leva o aumento da permeabilidade da membrana do verme para determinados íons monovalentes e divalentes, especialmente Ca^{2+} , o que conduz à intensificação da atividade muscular, seguida de contração e paralisia espástica (TOMIOTTO-PELLISSIER *et al.*, 2017).

Os efeitos do PZQ podem ser avaliados pela análise do número de ovos dos parasitas eliminados em cerca de quatro semanas após o tratamento com doses diárias de 40 mg/kg. Observa-se a redução média de 80 a 95% do número de ovos excretados, quando comparados com pacientes não tratados (CIOLI *et al.*, 2014; DOENHOFF *et al.*, 2008).

É importante ressaltar que o fármaco não é eficaz contra vermes imaturos, devido ao rápido metabolismo após a administração oral, o que reduz a chegada até a corrente sanguínea (DOENHOFF *et al.*, 2008). Isto requer a administração de altas dosagens, capazes de manter as concentrações de fármaco necessárias para eliminação das formas mais imaturas encontradas na circulação sanguínea (TOMIOTTO-PELLISSIER *et al.*, 2017).

O PZQ está comercialmente disponível na forma racêmica; isto é, na forma de misturas equimolares dos dois enantiômeros. Contudo, a conformação (R) – Praziquantel é a que tem atividade antihelmíntica, enquanto a forma (S) – Praziquantel causa apenas efeitos colaterais, como o sabor desagradável (DOENHOFF *et al.*, 2008; CIOLI *et al.*, 2014). O eutômero, (R) – PZQ, quando administrado isoladamente permite reduzir parcialmente efeitos secundários quando comparado à mistura racêmica (COSTA *et al.*, 2016; ARRÚA *et al.*, 2015). No entanto, mesmo que a outra forma não apresente efeitos colaterais graves, o medicamento está comercialmente disponível na forma de mistura racêmica por razões econômicas (SILVA *et al.*, 2017), associados à dificuldade técnica e ao custo de separação.

2.2.2 Segurança

Ao longo dos anos foram realizados diferentes estudos sobre a segurança do PZQ, tanto em relação aos efeitos imediatos quanto de longo prazo. Os dados mostraram que o PZQ pode ser considerado como o mais seguro dentre os fármacos anti-helmínticos (DOENHOFF *et al.*, 2008). Concluiu-se que o PZQ apresenta baixa toxicidade e não apresenta risco mutagênico, cancerígeno ou teratogênico (SILVA *et al.*, 2017).

As reações adversas, a curto prazo, ocorrem em número significativo de relatos; porém, geralmente são de baixa intensidade e por pequeno intervalo de tempo (CIOLI *et al.*, 2014). Os efeitos mais comuns são náuseas, vômitos, desconforto abdominal, anorexia e diarreia. Em relação ao sistema nervoso, foram registrados efeitos adversos como dor de cabeça, tonturas e sonolência (SILVA *et al.*, 2017).

A frequência e a gravidade dos efeitos colaterais estão diretamente associadas à intensidade da infecção, sugerindo que uma parcela das reações está relacionada à ação do fármaco nos parasitas (CIOLI *et al.*, 2014). Os dados também sugerem que a morte ou migração dos vermes do mesentério para o fígado podem causar embolia e cólica intestinal.

2.2.3 Custo

O custo de produção do PZQ constitui grande desafio para a sua utilização em grandes quantidades na terapia humana. No entanto, em 1983 a empresa coreana Shin Poong desenvolveu um processo de fabricação que resultou na redução substancial do preço.

Atualmente, o Praziquantel está disponível no mercado como comprimido, nas doses de 150 (Cestol[®]), 500 (Cisticid[®]) e 600 (Biltricide[®]) mg, sendo os dois primeiros fabricados pela Merck e o último pela Bayer. A posologia depende do peso corporal do paciente e o tratamento é comumente aplicado na forma dose única (GRYSEELS *et al.*, 2006; DOENHOFF *et al.*, 2008; TRASTULLO *et al.*, 2015). No Brasil, o comprimido é produzido pelo Ministério da Saúde, na fábrica de Farmanguinhos/Fiocruz (Fundação Oswaldo Cruz), na dosagem de 600 mg.



Figura 2. 4 - Aspecto do comprimido (Biltricide) fabricado pela Bayer, com 22 mm de comprimento (Fonte: Pediatric Praziquantel Consortium).

2.2.4 Mecanismo de Ação do Praziquantel

O mecanismo principal de ação do praziquantel ainda é desconhecido; no entanto, a hipótese mais aceita é de que os efeitos iniciais exercidos pelo fármaco podem ser resumidos em três categorias principais: (i) influxo de cálcio, (ii) contração muscular e (iii) modificações superficiais (CIOLI *et al.*, 2014). A ação provavelmente está associada a uma mudança na função dos canais de Ca^{2+} , que exercem um papel crítico para regulação dos níveis intracelulares de Ca^{2+} e são essenciais para uma variedade de eventos celulares dos parasitas, como a contração muscular, expressão gênica e a liberação de neurotransmissores. É provável que o PZQ provoque contrações musculares incontroláveis e alterações nos tegumentos dos vermes (SILVA *et al.*, 2017; NOVAES *et al.*, 1999; BORREGO-SÁNCHEZ *et al.*, 2016).

A atividade anti-helmíntica do PZQ pode ser parcialmente inibida por alguns inibidores clássicos do canal de cálcio (nicardipina, nifedipina), sendo completamente abolida se os esquistossomas forem pré-incubados com o agente despolimerizante da actina, a citocalasina D (CIOLI *et al.*, 2014; DOENHOFF *et al.*, 2008).

2.2.5 Limitações

O PZQ é classificado, como um fármaco classe II (pouco solúvel em água e altamente permeável), devido à baixa solubilidade em água (apenas 0,04 g/100 mL) (COSTA *et al.*, 2016). Deste modo a taxa de dissolução do PZQ é um fator limitante para sua absorção e uma das principais razões para a aplicação de altas dosagens. A melhora dessa taxa constitui fator importante e desafiador para o desenvolvimento de novas formulações (SILVA *et al.*, 2017).

Devido à baixa biodisponibilidade e baixa solubilidade em água, diferentes estudos têm buscado desenvolver alternativas para melhorar a absorção oral deste medicamento. Além disso, estuda-se o desenvolvimento de novos fármacos, que possam vir a ser utilizados para a prevenção e tratamento desta doença (TOMIOTTO-PELLISSIER *et al.*, 2017).

No que se refere ao uso em crianças, os principais desafios estão associados ao tamanho do comprimido, à alta dosagem e à palatabilidade. A necessidade de fracionamento para administração da dosagem adequada revela o sabor amargo do princípio ativo, dificultando o tratamento e aumentando a rejeição ao medicamento (MDULUZA e MUTAPI, 2017).

Para obtenção de formulações pediátricas do praziquantel, algumas considerações devem ser seguidas:

- boa tolerância ao medicamento, minimizando efeitos colaterais;
- apresentação que evite o engasgo;
- desintegração oral fácil;
- apresentação que permita a administração com água;
- mascaramento do sabor amargo;
- apresentação que permita uma dose ajustável, para evitar o fracionamento do comprimido;
- estabilidade em condições úmidas e quentes.

Além disso, a dose padrão de 40 mg/kg ministrada em adultos pode ser alterada em crianças uma vez que vários estudos sugerem que a farmacocinética e a farmacodinâmica do PZQ podem ser diferentes em adultos e crianças (MDULUZA e MUTAPI, 2017).

2.2.6 Sistemas contendo praziquantel

Diante dos problemas associados com o PZQ, várias tecnologias têm sido estudadas para a melhoria das propriedades biofarmacêuticas. Dentre estas, destaca-se o uso de microemulsões, nanoemulsões, dispersões sólidas, nanopartículas sólidas lipídicas, lipossomas e ciclodextrinas, como veículos para o encapsulamento de PZQ, constituindo alternativas para a produção de novos medicamentos contra a esquistossomose.

O Consórcio Praziquantel Pediátrico (Pediatric Praziquantel Consortium, 2017) foi estabelecido em julho de 2012 como a primeira parceria público-privada internacional sem fins lucrativos, relacionada ao desenvolvimento de uma nova formulação pediátrica para combater a esquistossomose. A iniciativa é apoiada por líderes especializados mundialmente em doenças infecciosas parasitárias tropicais. Estratégias para o encapsulamento do PZQ são estimuladas por esse consórcio.

MOUSTAFA *et al.* (2013) encapsularam praziquantel em um processo contínuo, polimerização em microemulsão, de metacrilato de metila e metacrilato de 2-hidroxi-etila (MMA/HEMA), na presença de surfactantes biocompatíveis (PVP/PEG), sintetizando nanoesferas copoliméricas com composições mássicas de monômero MMA/HEMA iguais a 90/10, 70/30 e 50/50. Os resultados mostraram que o PZQ altera as propriedades das nanoesferas obtidas. Observou-se que o aumento do teor de HEMA leva ao aumento do diâmetro, da turbidez e da carga negativa e diminuição da tensão superficial. Além disso, o teor de HEMA afeta a taxa de encapsulamento e a hidrofobicidade do produto. Taxas de encapsulamento na faixa entre 69,5 e 94,6% foram observadas, dependendo da relação MMA/HEMA, sendo os melhores resultados obtidos para a relação MMA/HEMA de 50/50. Verificou-se que o teor de HEMA exerce grande efeito sobre as propriedades coloidais dos látices produzidos. A taxa de liberação do fármaco foi examinada com respeito à relação MMA/HEMA, ao pH e à proporção monômero:fármaco. Ensaio *in vitro* foram conduzidos a 37 °C em pH 1,2 e 7,4, condições que simulam o fluido gástrico e intestinal, respectivamente. A taxa de liberação do fármaco para o copolímero MMA/HEMA 50/50 em pH 1,2 atingiu 45% após 4 h; no entanto, em pH 7,4, a liberação atingiu 80,5% após 4 h. Essas taxas podem ser consideradas baixas para as aplicações reais.

A formulação de grânulos que permitam a dosagem flexível apresenta vantagens em relação do produto tradicional porque permite a administração na forma de solução,

dispersão em bebidas ou com alimentos, permitindo melhorar a formulação, a palatabilidade e a adesão à terapia. TRASTULLO *et al.* (2015) produziram grânulos pelo processo de granulação úmida em leite fluidizado, incorporando PZQ tanto na mistura em pó quanto na fase líquida, estabilizada por surfactantes. Vários excipientes (Avicel PH102, Flowlac 100, PVP (Polivinilpirrolidona) K30, Neorsob P100, GalenIQ 721, Sacrose, Sweet Pearl P90) e surfactantes (Lutrol micro 68, Cremophor RH 40 e Tween 80) foram testados, com conteúdos 10 a 20% em massa de fármaco. Os resultados mostraram boas propriedades de fluxo e boas taxas de encapsulamento, com melhores resultados na faixa de 150 a 250 μm de diâmetro médio do pó. Os autores sugeriram a ocorrência de interações químicas entre os componentes de mistura por meio da análise de DSC. As amostras apresentaram o pico endotérmico característico do PZQ (143 °C) e verificou-se o efeito do deslocamento desse pico nas misturas de PZQ e com os excipientes. Os resultados de FTIR sinalizaram o surgimento de uma banda em 1625 cm^{-1} (correspondente ao grupo carbonila do PZQ), sugerindo que o grupo carbonila atua como receptor de prótons e forma uma ligação de hidrogênio com os vários grupos hidroxila dos excipientes. A análise por difração de raios X mostrou, no entanto, que o PZQ permanece no seu estado cristalino original. A formulação de grânulos compostos por Lutrol, Neorsob, Flowlac contendo 20% em massa de PZQ, foram selecionadas para dispersão em leite e sucos de frutas. Os autores observaram que a solubilidade do fármaco aumentou quando administrado com leite, provavelmente devido à capacidade do leite para emulsionar o fármaco e formar micelas. Os resultados mostraram ainda que o processo de produção baseado na granulação úmida em leite fluidizado foi rápido e de fácil controle. Os granulados que continham 20% em massa de PZQ podem ser administrados com água, leite ou suco de frutas formando uma suspensão fina que é fácil de engolir. A manipulação da dose pode contribuir para aumentar a conformidade e a biodisponibilidade dos fármacos.

COSTA *et al.* (2016) estudaram misturas físicas (MF) e dispersões sólidas (DS) de polivinilpirrolidona (PVP) com PZQ pelo método de evaporação de solvente, utilizando etanol (E/E) ou misturas de etanol/água (E/A) na proporção de 1:1, 2:1 e 3:1 em massa. Esses sistemas promovem o aumento da área específica do produto final por conta da redução do tamanho de partícula, além de promover outras alterações, como a manutenção do fármaco no estado amorfo. A presença de PVP aumenta a solubilidade de PZQ de $0,31 \pm 0,01$ mg/mL para um valor máximo de $1,29 \pm 0,03$ mg/mL para DS 3:1 (E/E). A escolha do solvente na preparação de DS de PVP: PZQ é importante, pois pode

alterar dramaticamente a distribuição do fármaco no meio. A quantidade de polímero e o método de preparação são fatores importantes para determinar a concentração de PZQ na solução. Os pesquisadores observaram com dados de RMN-C no estado sólido e DSC que as misturas físicas apresentam fármaco no estado cristalino, enquanto as dispersões apresentam graus de amorfização do PZQ, dependendo do solvente. A presença de água induz a cristalização, enquanto a presença de etanol promove a formação de PZQ amorfo. A quantidade de PZQ amorfo presente nas amostras não se correlacionou com a quantidade de PVP presente, visto que o polímero promove o aumento da solubilidade do fármaco, embora o teor de água prejudique a formação de uma fase amorfa. Amostras com alto teor de fármaco preparadas em etanol resultaram em PZQ na fase amorfa. A principal diferença entre as amostras de dispersão sólida preparadas com razão 3:1 parecem estar associada com o tamanho dos cristais produzidos e a formação de aglomerados.

Os sistemas baseados em lipídios, como no caso de lipossomas e de nanopartículas lipídicas sólidas (NLC), têm encontrado muitas aplicações relacionadas à liberação de fármacos pouco solúveis em água. Os lipossomas têm recebido atenção considerável como sistemas de administração de fármacos, devido à capacidade de incorporar tanto fármacos hidrofílicos como hidrofóbicos, apresentando boa biocompatibilidade e baixa toxicidade. Os lipossomas são veículos microscópicos constituídos por uma ou mais esferas concêntricas de bicamadas lipídicas e separadas por compartimentos aquosos. As NLCs são partículas constituídas por uma matriz lipídica sólida na temperatura corporal. FREZZA *et al.* (2013) avaliaram a ação de lipossomas contendo PZQ (lip.PZQ) em diferentes concentrações contra *S. mansoni*. A eficiência desse sistema foi avaliada por meio da contagem de vermes (recuperados pela perfusão do sistema hepático) e do número de ovos encontrados no intestino e no fígado. A concentração mais promissora para todos os parâmetros foi de 300 mg/kg de lip.PZQ, que permitiu diminuir o número total de vermes em 68,8%, o número de ovos no intestino em 79% e o número de granulomas hepáticos em 98,4%, em comparação com os controles não tratados. Além disso, essa concentração resultou na diminuição da contagem de ovos em 55,5%. A eficácia melhorada do tratamento com lip.PZQ, especialmente quando administrada 45 dias após a infecção, em comparação com o grupo de controle positivo e os grupos que receberam PZQ livre, pode ser explicada pelo aumento da biodisponibilidade do PZQ no organismo hospedeiro. Os resultados dos testes *in vivo* indicaram que o fármaco atua sobre o tegumento, células vitelinas e ovários dos vermes,

o que pode ser explicado pela afinidade das partículas por fosfolipídios, resultando na absorção mais fácil do PZQ. Resultados similares foram encontrados por KOLENYAK-SANTOS *et al.* (2014), que estudaram o uso de carreadores lipídicos nanoestruturados, que apresentaram melhora do perfil de segurança do fármaco contra *S. mansoni*. Contudo, o transporte no intestino do PZQ livre e das NLC foram semelhantes; porém, a quantidade de PZQ absorvido foi melhor para a NLC.

As técnicas de extrusão e *spray drying* permitem eficientes taxas de encapsulamento de fármacos, constituindo alternativas para melhorar a solubilidade e o mascaramento do sabor. MÜNSTER *et al.* (2017) investigaram um sistema multiparticulado formado por polímero e lipídio com objetivo de mascarar o sabor e prover liberação imediata do PZQ no trato gastrointestinal. Para gerar as partículas lipídicas sólidas, foram usadas técnicas de extrusão e *spray drying*. A combinação que apresentou melhores resultados foi PZQ-Eudragit® EPO (copolímero à base de metacrilato de dimetilaminoetila, metacrilato de butila e metacrilato de metila). A dispersão do fármaco neste polímero melhorou a solubilidade e a hidrodinâmica nos ensaios de dissolução. As partículas secas apresentaram grandes diferenças em relação à distribuição de tamanhos e características morfológicas do PZQ encapsulado quando processadas por *spray drying* ou extrusão. Os pesquisadores observaram a formação de uma dispersão sólida amorfa de PZQ após secagem por *spray drying*, ao contrário dos extrudados moídos. Essa característica explica resultados dos estudos de liberação do fármaco, já que a fase amorfa permite melhor liberação em pH 6,8. Os ensaios de liberação foram realizados em meios simulados de saliva (SSF), fluido gástrico (spSGF) e fluido intestinal (FaSSIF). Os extrudados moídos induziram uma liberação retardada eficiente em SSF e liberação imediata e supersaturação em spSGF e FaSSIF PZQ. As amostras de *spray drying* mostraram uma cinética de solubilidade rápida e saturação até 5 vezes maior em meios biorrelevantes, contrariando o desejado efeito de mascaramento do sabor. Resultados de DRX indicaram a recristalização de PZQ nas amostras de *spray drying* durante o armazenamento, o que altera os perfis de dissolução. O sistema obtido por extrusão lipídica sólida combinada com o Eudragit® EPO possibilitou o mascaramento do gosto do PZQ em SSF e uma dissolução rápida em meios gástricos e intestinais simulados. COSTA *et al.* (2016) também observaram o aumento na solubilidade do PZQ para amostras que continham PZQ na forma amorfa.

As ciclodextrinas (CD) são oligossacarídeos cíclicos, com unidades de glicose (α -D-glicopiranosose) unidas por ligações tipo (α -1,4) e rearranjadas na forma de um cone.

Enquanto a superfície externa é hidrofílica, a lipofilicidade da cavidade interna é comparável à de uma solução etanólica. Os complexos com CD podem servir para aumentar a solubilidade e biodisponibilidade de fármacos lipofílicos em ambientes aquosos. CUGOVCAN *et al.* (2017) avaliaram o processo de ativação mecanoquímica, fazendo uso de diferentes aditivos de co-moagem para melhorar as propriedades físicoquímicas e biofarmacêuticas do PZQ. O fármaco foi submetido à moagem na presença de diversos aditivos, incluindo diferentes ácidos orgânicos e derivados de ciclodextrina, como os ácidos cítrico (AC), málico (AM), salicílico (AS) e tartárico (AT), levando a solubilidades e taxas de dissolução dependentes do pH. No entanto, o cocrystal mais solúvel de PZQ, preparado com AM, mostrou instabilidade química. Os resultados indicaram que o complexo hidroxipropil-beta-ciclodextrina amorfa (HP-beta-CD) com PZQ apresentou um perfil químico aceitável. Entretanto, a presença de MA resultou em produto uma vez mais altamente solúvel e quimicamente instável. Os autores verificaram a biocompatibilidade do complexo PZQ/HP-beta-CD por meio de estudos com células Caco-2 e mostraram que o processo não afetou negativamente a permeabilidade do PZQ. JESUS *et al.* (2010) também realizaram experimentos com a beta-ciclodextrina (β -CD) e determinaram a fração de PZQ ligada à β -CD (37%), avaliando a atividade em ratos infectados com *S. Mansoni*. Após 15 dias, foram obtidos dados de eficácia de remoção de vermes de 99%, contra 59% no caso do PZQ livre.

Dentre os polímeros biodegradáveis mais estudados na área biomédica, o poli(L-ácido láctico-co-ácido glicólico), PLGA, tem taxa de degradação associada ao peso molecular e à composição. MAINARDES e EVANGELISTA (2005) desenvolveram nanopartículas de PLGA dopadas com 10 a 30% em massa de PZQ, preparadas pelo método de emulsão e evaporação de solvente. Os autores observaram que o tamanho da partícula aumentou com aumento da incorporação do fármaco, mas que a eficiência de encapsulamento foi igual a $82,5 \pm 5\%$ para todas as amostras. Os ensaios de liberação *in vitro* mostraram que as nanopartículas liberaram entre 6 e 20% de PZQ após 24h, enquanto o PZQ livre atinge liberação total em 2h. Na prática, esses resultados parecem inadequados para aplicações médicas reais.

Os trabalhos do grupo EngePol com encapsulamento de praziquantel iniciaram com FONSECA *et al.* (2013a) investigando a produção de nanopartículas poliméricas de poli(metracrilato de metila), PMMA, dopadas *in situ* com PZQ por meio da técnica de polimerização em miniemulsão. Os ensaios que empregaram o homogeneizador para o preparo de emulsões resultaram em preparações com maior estabilidade e deslocamento

para tamanhos menores com diâmetros médios menores que 100nm. Os resultados mostraram que a presença do fármaco não afetou a alta conversão de monômero; porém, os dados de distribuição de massas molares sugeriram que o fármaco atua como um agente de transferência de cadeia, conduzindo à produção de polímero com massas molares menores na presença de PZQ. Em relação ao processo de secagem, ambos os processos de liofilização e *spray drying* foram eficazes, embora o último com menor rendimento. O óleo mineral usado como co-estabilizante proporcionou o preparo de nanopartículas mais porosas; como consequência, foi obtida uma faixa de liberação de 65-70% após 30 min, contra 13% no caso das que não continham o óleo na composição. Com o objetivo de melhorar o perfil de liberação, os autores (FONSECA *et al.*, 2013b) avaliaram o desempenho de nanopartículas de PMMA produzidas na presença dimetacrilato de etileno glicol (EGDMA) e Eudragit® E100, um copolímero catiônico formado por metacrilato de dimetilaminaetila e ésteres metacrílicos neutros. As nanopartículas produzidas na presença de EGDMA apresentaram melhor perfil de liberação, de 85% de PZQ em 15 min nos ensaios de liberação *in vitro* para todas as faixas de pH (1,2 e 6,8). A carga de 12% de fármaco em relação ao polímero foi a que levou às melhores taxas relativas de liberação. Os ensaios conduzidos *in vivo* destacaram que o PZQ não perde a eficiência no processo, não tendo sido observada alteração da sua atividade. As análises de toxicidade não apontaram potencial citotóxico das partículas. Por sua vez, o mascaramento do sabor amargo foi alcançado por período de cerca de 10 minutos em contato com a água, o que permitirá a produção de sachês sem gosto.

VIEIRA (2014) avaliou o preparo de micropartículas de PMMA na presença de aditivos, como O EGDMA e o clorofórmio, por meio da técnica de polimerização em suspensão e com incorporação *in situ* do PZQ. O EGDMA, foi usado como agente reticulante e o clorofórmio, como solvente do PZQ, foi empregado com o intuito de tornar as partículas poliméricas porosas e aumentar a solubilidade do fármaco nas gotas de monômero. As micropartículas foram obtidas com altas conversões de monômeros e taxa de eficiência de encapsulamento cerca de 80%. Os resultados mostraram que a liberação de PZQ é afetada pelo grau de reticulação do polímero. O aumento excessivo de agente reticulante no meio reacional, resultou em taxas de liberação menores. As micropartículas produzidas apresentaram perfil de liberação, com o máximo de 20% de PZQ em 15 min nos ensaios de liberação *in vitro* para o pH 6,8. Observou-se que as partículas lavadas e ressuspendidas foram capazes de manter a suspensão sem gosto por pelo menos 30 minutos. O trabalho de VIEIRA (2014) apresentou como principal diferença o tamanho

da partícula influenciando no ensaio de liberação, quando comparado com os resultados obtidos por FONSECA *et al.* (2013b).

PAIVA (2017) preparou micropartículas de PMMA pela técnica de polimerização em suspensão na presença de aditivos, como EDGMA e clorofórmio, dopadas com PZQ. A autora obteve micropartículas com altas massas molares e alta taxa de eficiência de encapsulamento. Os ensaios de liberação foram avaliados de acordo com o tamanho das partículas, mostrando a existência de resistência difusional, resultando em baixa taxa de liberação para todas as faixas de tamanho (<10% em 1 hora). Por isso, estudos foram realizados com polímeros catiônicos, à base de metacrilato de dietilaminoetila (DEAEMA) e metacrilato de dimetilaminoetila (DMAEMA), para a produção de copolímeros sensíveis a pH ácido e melhores taxas de liberação. Foi usada a técnica de polimerização em suspensão com base em resultados de H-RMN, foi possível observar a ocorrência de copolimerização com sucesso. Os copolímeros também permitiram obter alta conversão de monômeros e alta eficiência de encapsulamento. Nos ensaios de liberação conduzidos *in vitro*, foram observados os efeitos relacionados ao pH e ao tamanho da partícula.

2.3 Nanoestruturas Poliméricas

Dentre os sistemas apresentados como alternativas para encapsulamento do PZQ, os materiais nanoestruturados poliméricos (MNP) podem ser destacados, já que encontram muitos usos, tanto para o diagnóstico como para o tratamento de doenças. A evolução de MNPs como biomateriais tem permitido avanços na qualidade dos tratamentos de saúde, com a introdução de técnicas de liberação de drogas sítio dirigidas e a administração de doses mais baixas, com mais elevados efeitos terapêuticos (TANG *et al.*, 2016; NAAHIDI *et al.*, 2013). Outras vantagens significativas relacionadas ao MNPs são o aumento da solubilidade dos fármacos, a maior biodisponibilidade, a redução do potencial de desativação, a atividade antigênica reduzida e a diminuição da toxicidade sistêmica. Esses sistemas baseados em MNPs incluem micelas, nanogeis, nanofibras, dendrímeros, nanocompósitos e nanopartículas, que podem ser preparados de diversas formas (JEEVANANDAM *et al.*, 2016).

Transportadores à base de MNPs têm sido projetados para a liberação de fármacos em sítios específicos e para obter a biodisponibilidade máxima na circulação. Assim, a absorção, a distribuição e a eliminação do fármaco durante o transporte no organismo são

determinadas simultaneamente pelo medicamento e pelas propriedades físico-químicas do nanocarreador (HUNTER *et al.*, 2012).

Existe uma divergência a respeito da faixa de tamanho das partículas que caracteriza o sistema como nanoestruturado, tendo sido propostas a faixas em que ao menos uma dimensão do sistema varia entre 1 a 1000 nm, 100 a 1000 nm ou 10 a 100 nm. Essas nanopartículas dopadas podem ser definidas como fármacos sólidos ou transportadores nanométricos, que podem ou não ser biodegradáveis (REIS *et al.*, 2006; JEEVANANDAM *et al.*, 2016; NAAHIDI *et al.*, 2013; WILCZEWSKA *et al.*, 2012).

A primeira geração de nanopartículas utilizadas para aplicações biomédicas foi baseada em lipossomas e conjugados de polímero e fármaco. Em 1994, o conjugado PEG(polietileno glicol)-L-asparaginase (Oncospar, Enzon) tornou-se o primeiro conjugado a receber aprovação para uso do órgão americano *Food and Drug Administration* (FDA), para o tratamento de leucemia linfocítica aguda. Lipossomas são carreadores com estrutura de uma bicamada lipídica, que pode ser usado para encapsular ativos hidrofílicos e hidrofóbicos. O primeiro medicamento baseado em lipossomas foi a Doxorubicina (Doxil, OrthoBiotech), aprovado pelo FDA em 1995 para o tratamento de sarcoma de Kaposi relacionada ao HIV, posteriormente aprovado para o tratamento do câncer de ovário e múltiplos mielomas. (PETROS e DESIMONE, 2010). A Tabela 2. 2 apresenta produtos farmacêuticos à base de nanopartículas terapêuticas que já receberam aprovação do FDA.

Tabela 2. 2 - Produtos farmacêuticos à base de nanopartículas (PETROS e DESIMONE, 2010).

Produto	Empresa	Indicação
Sandimmune®	Novartis	Artrite reumatoide
Zoladex®	Astrazeneca	Câncer de mama e próstata
Adagen®	Enzon	Deficiência de adenosina desaminase (ADA)
Taxol®	Bristol-Myers Squibb	Câncer
Abelcet®	Teva	Infecções fúngicas
Doxil®	OrthoBiotech	Sarcoma de Kaposi
Gliadel®	Eisai	Câncer no cérebro

2.3.1 Nanopartículas poliméricas (NPP)

Dentre os MNPs, as nanopartículas poliméricas ocupam lugar de destaque, sendo geralmente classificados como nanoesferas ou nanocápsulas. Nas nanocápsulas o fármaco é usualmente confinado por um invólucro formado por uma membrana polimérica, podendo estar localizado na casca polimérica ou no núcleo líquido. Em contraste, as nanoesferas são sistemas constituídos por uma matriz polimérica, podendo o fármaco estar disperso na superfície ou no interior da partícula (Figura 2. 5) (HUNTER *et al.*, 2012; RAO e GECKELER, 2011).

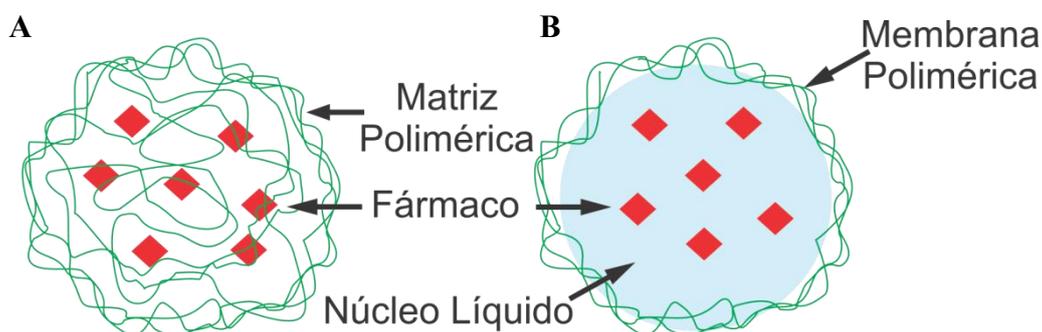


Figura 2. 5 - Esquema ilustrativo de (a) nanoesferas e (b) nanocápsulas.

De forma geral, as NPPs podem ser adequadas para quase todas as rotas de administração, incluindo injeções intravenosas ou intramusculares, absorções dérmicas ou nasais e administração oral. Algumas vantagens das NPPs como sistemas de entrega de ativos estão relacionadas às altas razões superfície/volume, o que tende a aumentar a porcentagem de moléculas ou átomos em contato com a superfície, proporcionando maior absorção intracelular e biodisponibilidade (YUAN *et al.*, 2013; LU *et al.*, 2011).

As nanopartículas podem estar baseadas em polímeros não biodegradáveis, como poliestireno (PS), poli(cianoacrilatos) (PCA), polieterimida (PEI) e poli(metacrilato de metila) (PMMA), ou polímeros biodegradáveis, como poli(L-ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), poli (ácido glicólico) (PGA), poli(caprolactona) (PCL) e outros materiais de origem natural, como a quitosana. Esses materiais têm sido usados para a formulação de fármacos que contêm estradiol, paclitaxel, tamoxifeno, vincristina e insulina. Por exemplo, a biodisponibilidade *in vivo* aumentou 10 vezes para o Taxol[®] formulado com NPPs, enquanto para nanopartículas dopadas com tamoxifeno comprovou-se um incremento de 3,8 vezes da biodisponibilidade, em comparação com o fármaco livre (HUNTER *et al.*, 2012).

A biodisponibilidade é uma característica muito importante, em particular quando associada a toxicidade, imunogenicidade e ausência de respostas trombogênicas e cancerígenas. Contudo, a biocompatibilidade é anatomicamente dependente, já que as reações a materiais específicos são diferentes em tecidos do corpo (NAAHIDI *et al.*, 2013).

O poli(metacrilato de metila) (PMMA) é um polímero que apresenta biocompatibilidade, baixo custo de produção, boa resistências mecânica e química, sendo classificado como um termoplástico. O PMMA é um material duro e rígido, com características quebradiças, com transição vítrea na faixa de 105 °C. Por ter destacada baixa toxicidade, o uso biomédico é aprovado pelo FDA, podendo ser utilizado amplamente em muitas aplicações biomédicas, principalmente nos campos da odontologia e ortopedia (CASA-RESINO *et al.*, 2014; PEIXOTO *et al.*, 2016; ADINOLF *et al.*, 2017). A estrutura molecular do PMMA é ilustrada na Figura 2. 6.

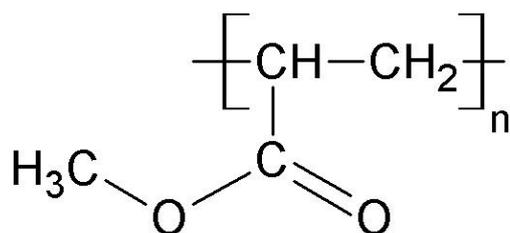


Figura 2. 6 - Estrutura química do PMMA.

Diversos autores têm investigado a aplicação do PMMA para a produção de nanopartículas voltadas à área biomédica, como para o tratamento de distrofia muscular de Duchenne, do câncer, entre outros. A citotoxicidade das nanopartículas de PMMA foi avaliada e não se observou qualquer efeito adverso sobre a viabilidade celular (MENDES *et al.*, 2012). Além disso, outros estudos mostraram que NPs de PMMA administradas *in vivo* foram excretados em fezes em quantidades de até 80% (administração intraperitoneal) ou 100% (administração oral), sem qualquer toxicidade significativa para os animais (ADINOLF *et al.*, 2017).

LEKSHMI *et al.* (2010) realizaram estudos *in vitro* e *in vivo* com nanopartículas de PMMA dopadas com repaglinida, medicamento usado no tratamento de diabetes e que apresenta baixas biodisponibilidade e absorção intestinal. As nanopartículas, com diâmetro médio de 108 nm, foram produzidas pela técnica de evaporação de solvente. Dentre as três composições fármaco e polímero estudadas, a que apresentou melhor

resultado foi a de 1:4 (base mássica), com $90 \pm 0,6$ de eficiência de encapsulamento. Análises térmicas não indicaram a existência de interação química entre o fármaco e o polímero. Os ensaios de liberação resultaram em liberação rápida no início e depois uma taxa menor e praticamente constante. Os autores atribuíram a liberação rápida inicial ao fármaco adsorvido na superfície das partículas. Os ensaios de toxicidade *in vivo*, após administração oral, indicaram desenvolvimento seguro dessas nanopartículas.

YUAN *et al.* (2013) investigaram o efeito do iniciador, de surfactantes, da temperatura de reação e da carga de monômeros o tamanho das partículas e a massa molar do PMMA, produzido com auxílio da técnica de polimerização em microemulsão. Foi observado que o aumento da temperatura da reação (70-95 °C) e da quantidade de iniciador (0,01-0,13g) alteram de forma significativa o tamanho final da partícula, permitindo a produção de partículas menores nas mais altas taxas de reação.

A proteína survivina é um marcador usado para o tratamento do câncer. ADINOLF *et al.* (2017) desenvolveram nanopartículas de PMMA do tipo casca-núcleo dopadas com survivina. Os resultados obtidos permitiram mostrar a alta eficiência do encapsulamento da proteína pelas nanopartículas, que passaram a gerar um sinal fluorescente, potencializando uma avaliação em tempo real e constituindo uma alternativa promissora para a detecção intracelular e monitoramento da proliferação de células cancerígenas.

2.3.2 Métodos de preparo de nanopartículas

Nanopartículas poliméricas têm sido sintetizadas principalmente por duas técnicas: polimerização de monômeros meios dispersos e dispersão de polímeros pré-formados em não solventes.

A dispersão de polímeros pré-formados em não solventes engloba vários métodos, tais como o método de evaporação do solvente (VIJAYAN *et al.*, 2013), de emulsificação espontânea, de *salting out*, nanoprecipitação, diálise e expansão de fluidos supercríticos. Todos esses métodos se iniciam com a dissolução do polímero em meio solvente e em seguida provocam a precipitação do polímero por conta de alguma perturbação termodinâmica, como mudança de temperatura, pressão ou composição. Estes métodos levam a produtos com melhores biodistribuição e propriedades farmacocinéticas e maiores homogeneidade estrutural e química, o que é altamente benéfico para aplicação farmacêutica (JEEVANANDAM *et al.*, 2016). Dentre estes métodos, o mais comum é o

de evaporação do solvente (Figura 2. 7). O método consiste na dissolução inicial do polímero em um solvente orgânico na presença do fármaco (por exemplo, diclorometano, clorofórmio ou acetato de etila), seguida do preparo de uma emulsão de óleo em água (O/A) na presença de um surfactante e com auxílio de equipamento dispersor de alta energia. Após a formação da emulsão estável, o solvente é evaporado sob agitação a temperaturas elevadas ou pressões reduzidas para obtenção das nanopartículas (AKAGI *et al.*, 2007). Em etapa posterior, as nanopartículas são lavadas com água destilada e passam pelo processo de ultracentrifugação para remover aditivos. Finalmente, o produto é normalmente liofilizado (RAO e GECKELER, 2011).

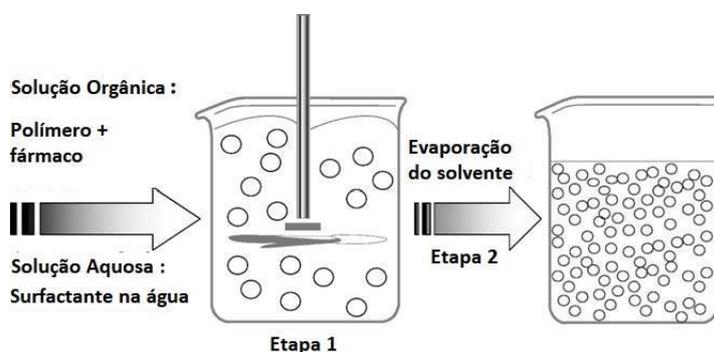


Figura 2. 7 - Esquema do processo de evaporação do solvente (adaptado de AKAGI *et al.*, 2007).

Visto que a dispersão dos polímeros frequentemente faz uso de solventes orgânicos tóxicos, fluidos supercríticos e ambientalmente amigáveis podem ser usados para a síntese de nanopartículas. Existem dois métodos principais baseados em fluidos supercríticos: expansão rápida da solução supercrítica (RESS) e expansão rápida da solução supercrítica em solvente líquido (RESOLV). O soluto deve ser inicialmente dissolvido em um fluido supercrítico na presença de um fármaco, sendo depois a solução expandida através de um bico capilar em uma atmosfera gasosa (RESS) ou em um líquido (RESOLV). A principal desvantagem desses métodos é que polímeros de alta massa molar apresentam baixa solubilidade em fluidos supercríticos (JEEVANANDAM *et al.*, 2016).

2.4 Processos de polimerização

Os avanços relacionados à produção de nanoesferas poliméricas dopadas com fármacos para aplicação de liberação controlada têm sido crescentes. Tendo em vista a produção *in situ* a partir da polimerização de monômeros, faz-se a seguir uma breve revisão sobre os principais mecanismos de polimerização em cadeia.

2.4.1 Mecanismos cinéticos da polimerização em cadeia

A polimerização por adição, também denominada de polimerização em cadeia, consiste na adição de uma molécula a outra por meio da quebra de uma dupla ligação insaturada de uma molécula de monômero de forma sucessiva, originando a cadeia polimérica. O processo de polimerização pode ser dividido em ao menos três etapas: iniciação (geração de um centro ativo), propagação (crescimento da cadeia, com a transferência do centro ativo para cada nova molécula de monômero adicionada) e terminação (desaparecimento do centro ativo) (CANEVAROLO, 2007).

i. Iniciação

A iniciação ocorre com auxílio de um iniciador. No caso de reação de radicais livres, os centros ativos são formados por meio de decomposição de um iniciador, usualmente por adição de energia térmica ou por ação da radiação. Os radicais livres (centros ativos) são gerados pela cisão homolítica de uma ligação covalente fraca na molécula do iniciador. A espécie ativa gerada reage com a dupla ligação do monômero (M), transferindo o centro ativo e dando início à polimerização (CANEVAROLO, 2007).



Em que P_1^* é o macrorradical formado por uma única molécula de monômero. Na Equação 2.1. O iniciador (I) se decompõe para dar origem a dois radicais R^* , denominados radicais

primários. A constante de velocidade específica para essa reação a uma determinada temperatura é k_d (CANEVAROLO, 2007).

ii. Propagação

A etapa de propagação é a etapa de crescimento, em que acontece a transferência do centro ativo uma outra molécula de monômero de forma sucessiva (MANO e MENDES, 1999), como expresso na Equação 2.2.



iii. Terminação

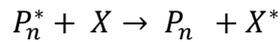
A etapa de terminação é responsável pela desativação do macrorradical que contém o centro ativo. Para a obtenção de massas molares elevadas, é necessário que não haja excesso de centros ativos no meio reacional. Quando a finalização da polimerização ocorre pela reação entre dois centros ativos, o processo é chamado de terminação por combinação. A ligação entre os carbonos ativados produz uma única cadeia morta. Esse tipo de terminação produz polímeros com massa molar mais alta (MANO e MENDES, 1999).



Quando existe a transferência de um átomo de hidrogênio de uma cadeia ativa para outra, saturando uma extremidade e origina-se uma dupla ligação na extremidade da outra cadeia. Este processo é chamado de terminação por desproporcionamento. O mecanismo de desproporcionamento é favorecido na presença de um grupo lateral volumoso, que causa impedimento estérico para a aproximação dos carbonos ativos das duas cadeias (CANEVAROLO, 2007).



Durante o crescimento da cadeia, se pode obter um próton de outra molécula com algum caráter ácido, interrompendo o crescimento da cadeia. Esse processo é chamado de transferência de cadeia (PAINTER e COLEMAM, 2008).



2.5

Em que, X é uma espécie presente no meio reacional.

Durante o decorrer das reações de polimerização, pode ocorrer o fenômeno chamado de efeito gel, efeito de *Trommsdorff* ou autoaceleração da reação. Esse comportamento está associado ao aumento da viscosidade no meio, que afeta a difusão das moléculas, em partículas das moléculas grandes, e por consequência a velocidade da reação. Por envolver moléculas grandes, esse efeito causa a redução pronunciada das taxas de terminação levando ao acúmulo de radicais e ao aumento global da velocidade da reação (PAINTER e COLEMAM, 2008).

Quando o efeito gel ocorre, grande quantidade de calor é repentinamente liberada, porque a polimerização é um processo altamente exotérmico. Como o meio de reação é muito viscoso, o calor liberado pelo efeito gel é de difícil dissipação, provocando aumento rápido da temperatura no meio reacional (BITYURIN *et al.*, 1981), o que pode levar ao descontrole térmico e a acidentes (CIOFFI *et al.*, 2002).

Esse fenômeno é especialmente importante para monômeros acrílicos e vinílicos, resultado em polímero de alta massa molar e alto índice de polidispersão. Fatores que podem influenciar este fenômeno são a temperatura, a viscosidade do meio e a composição de mistura (GRIFFIN e SULLIVAN, 1990).

2.4.2 Síntese de nanopartículas poliméricas

Dentre as várias técnicas usadas para conduzir polimerizações de monômeros, podem ser citadas as polimerizações em emulsão, em miniemulsão, em microemulsão, interfacial, em suspensão, entre outras. As duas primeiras técnicas são as mais reportadas na literatura para a produção de nanopartículas poliméricas (ANTONIETTI e LANDFESTER, 2002).

No sistema convencional de polimerização em emulsão (Figura 2.8), os monômeros são inicialmente dispersos numa fase contínua, geralmente composta por água e surfactante. O início da polimerização ocorre por meio da decomposição térmica do iniciador solúvel na fase contínua. No final da reação, as nanopartículas são formadas como misturas de muitas cadeias poliméricas, apresentando-se como uma dispersão de polímero denominada látex (RAO e GECKELER, 2011). O uso de água como meio de

dispersão é ambientalmente amigável e permite excelente taxa de dissipação de calor durante o curso da polimerização. A quantidade de surfactante presente deve estar acima da concentração micelar crítica (CMC), formando micelas inchadas com monômeros. Gotas de monômero estabilizadas pelo surfactante são formadas e funcionam como reservatórios. Segundo o modelo de nucleação micelar, primeiramente os radicais livres reagem com moléculas de monômero formados na água que estão dissolvidas na fase aquosa, resultando no aumento da hidrofobicidade dos radicais oligoméricos. Quando um tamanho crítico da cadeia é alcançado, os radicais migram principalmente para dentro das micelas, que apresentam área específica muito elevada por conta do pequeno diâmetro, inferior a 10 nm. Devido à pressão osmótica, os monômeros das gotas migram para as micelas, onde ocorre a propagação das cadeias. A etapa de nucleação da partícula (Intervalo I) termina quando acontece a exaustão das micelas. A etapa de crescimento da partícula (Intervalo II) termina quando as gotas de monômero desaparecem, sendo que o consumo do monômero residual ocorre nas partículas de polímero no Intervalo III (CHERN, 2006).

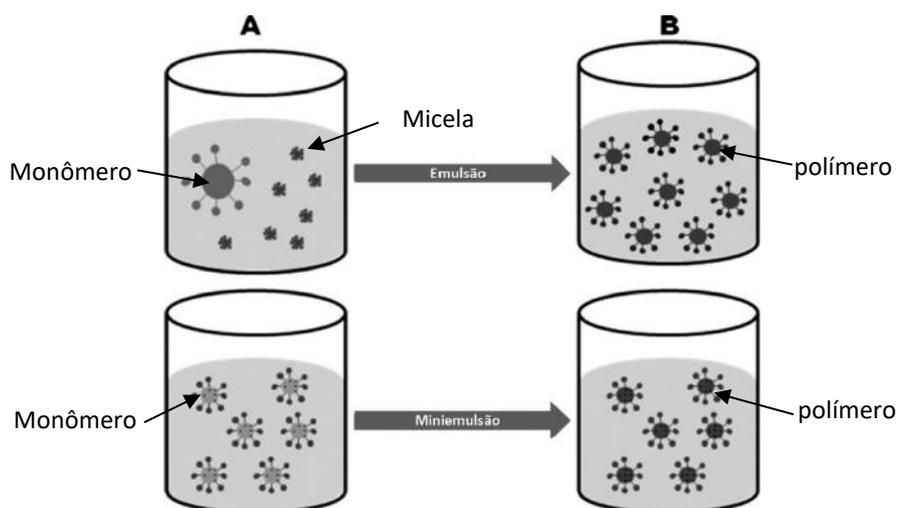


Figura 2. 8 - Esquema ilustrativo dos processos de polimerização miniemulsão e emulsão (a) antes e (b) depois da polimerização (Adaptado de RAO e GECKELER, 2011).

O processo de polimerização em miniemulsão (Figura 2.9) tem sido amplamente reportado na literatura, sendo aplicado no desenvolvimento de uma ampla gama de materiais poliméricos. A formulação típica utilizada na polimerização em miniemulsão consiste em água, monômeros, co-estabilizador, surfactante e iniciador (Figura 2.9). A principal diferença entre a polimerização em emulsão e a polimerização em miniemulsão

é a utilização de um composto de baixa massa molecular como co-estabilizador, além do uso de um dispositivo de alto cisalhamento (ultrassom, homogeneizador de alta pressão, turrax) para formar uma dispersão inicial suficientemente fina. As miniemulsões não são termodinamicamente estáveis, exigindo alta quantidade de energia para a dispersão inicial (RAO e GECKELER, 2011).

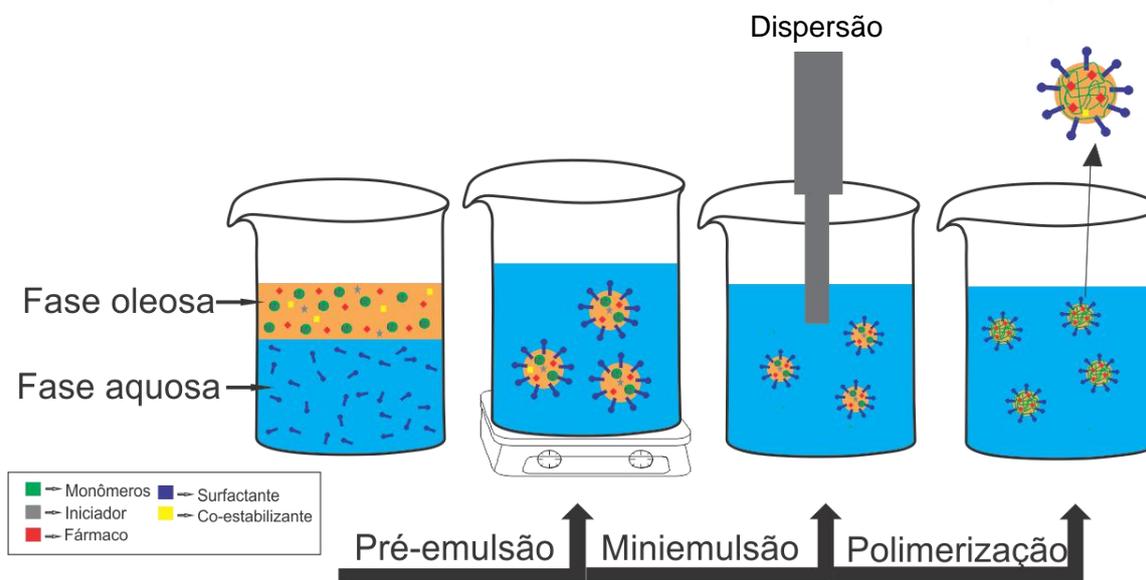


Figura 2. 9 - Esquema ilustram do processo de polimerização em miniemulsão.

A miniemulsão é composta por gotas estabilizadas por surfactante, de modo a evitar a coalescência, e por um co-estabilizante, que gera uma pressão osmótica desfavorável ao processo de degradação das gotas, minimizando a degradação difusa de Ostwald (SHORK *et al.*, 1999). Na ausência de co-estabilizante, as moléculas de monômero presentes na interface das pequenas gotas tendem a migrar para as gotas maiores, para reduzir a energia do sistema.

O equipamento de ultrassom ou sonicador produz ondas de ultrassom que fazem com que as moléculas oscilem em torno da posição principal, à medida que as ondas se propagam. As ondas de pressão de alta frequência geram nanocavidades que tendem a desagregar a fase dispersa. Para garantir com sucesso a quebra de todas as gotas de monômero, é necessário manter o sistema sob agitação. O tempo de sonicação é essencial para o processo (ASUA, 2002).

De acordo com ASUA (2002) e ANTONIETTI e LANDFESTER (2002), supondo a utilização de um iniciador hidrofílico, o processo de polimerização em miniemulsão envolve as seguintes etapas:

- i. Formação de radicais na fase aquosa, devido à decomposição térmica do iniciador;

- ii. Polimerização dos radicais na fase aquosa, gerando oligômeros;
- iii. Migração dos oligômeros, após adquirirem hidrofobicidade suficiente, para as gotas de monômeros (nucleação nas gotas) e micelas (nucleação micelar), ou se tornarem insolúveis na água e precipitarem (nucleação homogênea);
- iv. Nucleação e crescimento das partículas no interior das gotas, que funcionam como um “nano-reatores”. Nesta etapa, as gotas de monômero podem desaparecer por coalescência com outras gotas ou com partículas de polímero. Pode ainda ocorrer degradação difusional, caso um co-estabilizante não esteja presente.

Para que a nucleação micelar não seja favorecida, o ideal é que a concentração de surfactante na fase aquosa esteja abaixo da CMC. Geralmente, a nucleação nas gotas é o mecanismo predominante quando a distribuição de tamanhos das partículas não varia ao longo da reação (CHERN *et al.*, 2006). A alta estabilidade da miniemulsão é necessária para uma eficiente nucleação das partículas (ASUA, 2014).

Por conta do apelo ambiental, a polimerização em miniemulsão é muito conveniente, por fazer uso de solventes não tóxicos, como água, e devido à redução da quantidade de surfactante. Destacam-se também outras vantagens, como a boa estabilidade do látex e a possibilidade de realizar o encapsulamento *in situ*.

Após mais de 40 anos do trabalho pioneiro e da vasta literatura disponível, o processo em miniemulsão ainda não é comumente usado em aplicações comerciais, devido a dificuldades para o controle da distribuição de tamanhos de partícula, da funcionalidade e morfologia da partícula e da distribuição de massas molares. Os desafios para tornar o processo industrialmente viável exigem a síntese de um material de alto desempenho, e condições seguras e ambientalmente amigáveis para a operação, além de boa reprodutibilidade (ASUA, 2014).

MOREIRA *et al.* (2014) usaram a técnica de polimerização em miniemulsão para produzir nanopartículas de PMMA dopadas com tamoxifeno, um fármaco utilizado no tratamento de câncer de mama e com baixa solubilidade. Avaliaram a polimerização por radicais livres convencionais e controlada (RAFT) e obtiveram êxito na incorporação do fármaco por ambos métodos, com taxa de encapsulamento na faixa entre 80 e 90 %. As partículas apresentaram distribuições de tamanhos estreitas e unimodais, refletindo a eficiência da etapa de nucleação das partículas. Mesmo obtendo partículas maiores pela polimerização RAFT, o látex mostrou boa estabilidade e não foram detectadas interações químicas entre o fármaco e o polímero. Resultados similares foram encontrados por

CAMPOS *et al.* (2016) para o preparo de nanopartículas de PMMA com ácido acrílico (PMMA-co-AA). Os autores verificaram com auxílio de dados de potencial zeta que a estabilização do látex ocorre pela repulsão de cargas.

PEIXOTO *et al.* (2016) investigaram monômeros hidrofílicos, como ácido acrílico (AA), ácido metacrílico (MAA), 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) e metacrilamida (MAM), com o objetivo de controlar o tamanho da partícula produzida por copolimerização em miniemulsão com MMA, e adicionar grupos reativos na superfície. As distribuições de tamanhos da partícula do homopolímero PMMA indicaram efeitos dos iniciadores persulfato de potássio (KPS) e peróxido de benzoíla (BPO) sobre o mecanismo de nucleação da partícula. Na presença do iniciador hidrofílico (KPS), a distribuição era bimodal após 15 minutos de reação e o diâmetro aumentava para aproximadamente 100 nm ao final da reação, indicando a ocorrência de mecanismos de nucleação secundária. Quando presente o iniciador solúvel na fase orgânica (BPO), não foi observada a nucleação secundária. Observou-se que a polimerização em miniemulsão conduzida na presença de comonômeros hidrofílicos e promovida por iniciadores solúveis na fase orgânica pode prevenir a nucleação secundária de partículas, levando a produtos com distribuições de tamanhos de partículas mais homogêneas, o que constitui um efeito benéfico para aplicações biomédicas de PMMA.

2.5 Liberação Controlada

A liberação controlada de fármacos constitui assunto de grande importância, envolvendo o desenvolvimento de novos materiais, com novas funções e maior complexidade, com objetivo de maximizar a biodisponibilidade, a eficácia e facilitar a aplicabilidade clínica.

O controle da taxa de liberação de fármacos em sistemas com dimensões nanométricas constitui um desafio devido à alta razão superfície/volume da partícula e à falta de um método universal para quantificar a liberação *in vitro*. O objetivo principal para exercer esse controle está relacionado à manutenção da concentração de fármaco na corrente sanguínea dentro do intervalo terapêutico, entre a concentração mínima efetiva (CME) e a concentração mínima tóxica (CMT) (Figura 2. 10), melhorando assim o nível de eficácia (PARK, 2014). A liberação do fármaco a partir da matriz polimérica é influenciada por vários fatores, como a composição do sistema, as interações físicas e

químicas do ativo com os componentes da formulação e o método de preparação (LEE e YEO, 2015; FOU e KAO, 2010).

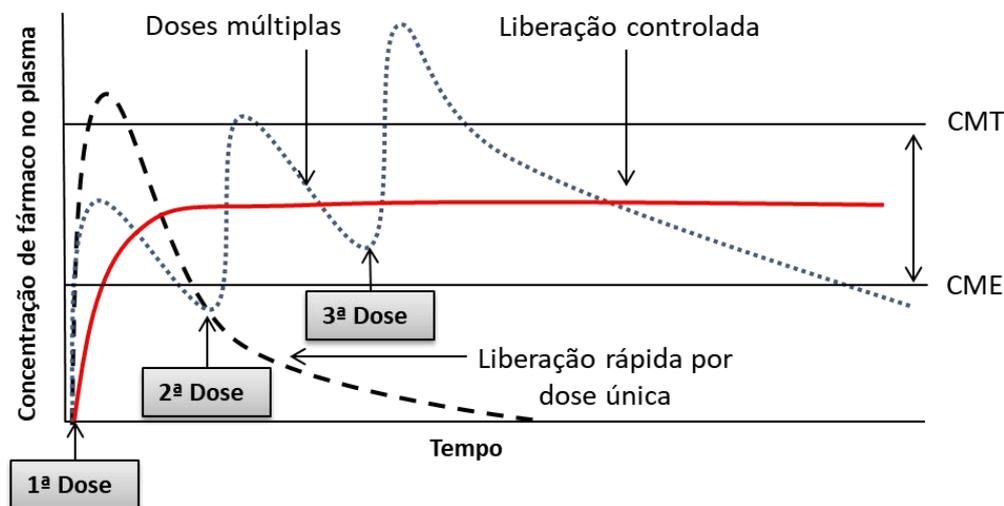


Figura 2. 10 - Ilustração dos perfis característicos de liberação do fármaco.

A denominação “*Burst Release*” é aplicada para uma liberação rápida e curta no início do processo de liberação, seguida por um platô estável. Em algumas situações esse comportamento pode ser desejável; no entanto, na maioria dos casos é indesejável. Isso é particularmente verdadeiro quando o objetivo é mascarar o sabor. Os fatores que levam a esse comportamento incluem: (i) condições de armazenamento, permitindo que o fármaco difunda para a superfície; (ii) matriz polimérica heterogênea ou apresentando defeitos na estrutura; (iii) coeficiente de partição do fármaco inadequado, principalmente quando são usadas grandes concentrações; (iv) dano na estrutura durante o processo de secagem das partículas. A redução da hidrofiliabilidade da matriz polimérica pode afetar a taxa de liberação inicial, minimizando a entrada de água na partícula e reduzindo o tamanho dos poros da matriz polimérica (RAMBHIA e MA, 2015; HUANG e BRAZEL, 2001).

De modo geral, a liberação do fármaco pode ocorrer por difusão, inchamento ou erosão da matriz polimérica, podendo também ocorrer simultaneamente por mais de um mecanismo (FREDENBERG *et al.*, 2011). Quando o mecanismo de liberação é controlado pela difusão, as moléculas do fármaco difundem através da matriz polimérica, sendo importante principalmente para fármacos hidrofóbicos dispersos em uma matriz polimérica orgânica. Se a difusão é a principal força motriz para a liberação do fármaco, a taxa é influenciada pelas propriedades morfológicas da partícula polimérica (como tamanho, permeabilidade e espessura) (KAMALY *et al.*, 2016). As mudanças na

mobilidade e densidade da cadeia polimérica também afetam a taxa de difusão do fármaco através do polímero. A mobilidade e a densidade da cadeia podem ser afetadas pela hidrólise, por efeitos de plastificação do polímero e pela cristalização de oligômeros retidos no interior da matriz. Em sistemas carreadores do tipo matriz polimérica, o mecanismo de difusão normalmente resulta em alta taxa de liberação inicial, seguida pelo decréscimo gradual da liberação do fármaco incorporado na matriz (FREDENBERG *et al.*, 2011).

A imersão de um sistema polimérico em solvente (fluido corporal ou água) pode conduzir a um aumento do teor do solvente no sistema particulado por causa da absorção do solvente. O aumento do teor de solvente resulta no inchamento das partículas poliméricas, permitindo a liberação do fármaco através dos poros formados na matriz (liberação controlada pelo inchamento). Nesse caso, a taxa de liberação do fármaco é determinada pela taxa de absorção do solvente e pela taxa de relaxação da cadeia polimérica (LEE e YEO, 2015).

Para que o mecanismo de erosão da matriz seja predominante, é necessário que a taxa de difusão de fármaco através do polímero seja baixa (FREDENBERG *et al.*, 2011). No mecanismo de erosão, que ser tanto superficial ou *bulk*, ocorre a degradação do polímero, de forma que o tamanho da partícula é reduzido lentamente, liberando o fármaco. Esse tipo de mecanismo é adequado para muitas aplicações de medicamentos (KAMALY *et al.*, 2016; PEPPAS e NARASIMHAN, 2014).

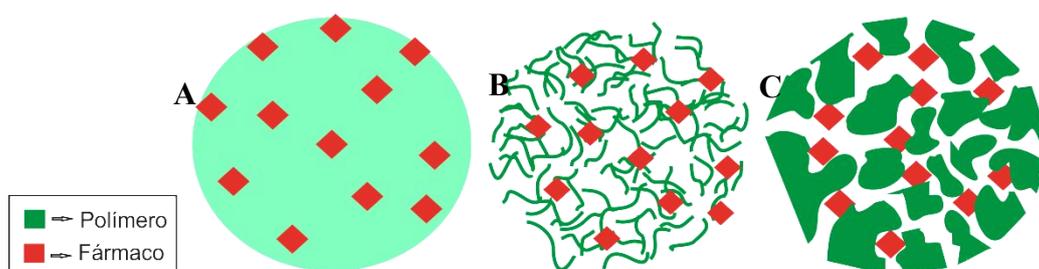


Figura 2. 11 - Mecanismo de liberação de fármaco a partir de nanopartículas poliméricas: (A) difusão a partir da matriz polimérica, (B) erosão “bulk”, (C) difusão através dos poros formados pelo solvente.

A erosão superficial ocorre quando a taxa de erosão excede a taxa de permeação no meio solvente (quase sempre água) no volume do polímero. Nesse caso, o tamanho da partícula é reduzido, mas a partícula mantém a forma geométrica original. Durante a degradação da matriz, oligômeros e muitos resíduos de degradação são gerados, o que

pode comprometer a segurança da aplicação. A erosão de polímeros é mais complexa porque depende de muitos processos, como a reação de degradação, o inchamento da partícula, a dissolução, a difusão dos oligômeros e resíduos de degradação (GÖPFERICH, 1996; UHRICH *et al.*, 1999).

2.6 Polímeros Catiônicos

Um grupo de compostos macromoleculares é conhecidos como polímeros inteligentes ou polímeros sensíveis ao estímulo. Estes polímeros são sensíveis aos estímulos físicos, exibindo mudanças das propriedades físico-químicas como resposta a pequenas mudanças das propriedades do ambiente circundante, como por exemplo, a temperatura, o pH, a presença de luz, de campos elétricos e de estresse mecânico (KAROLEWICZ, 2016). As respostas de um polímero a perturbações de estímulos químicos são usualmente associadas à destruição e formação de forças secundárias, incluindo ligações de hidrogênio, das forças de Van der Waals e de interação eletrostática (PRYIA JAMES *et al.*, 2014).

Em particular, os polímeros sensíveis ao pH são usualmente polieletrólitos. Um polieletrólito é uma macromolécula que pode dissociar-se para dar origem a íons quando dissolvidos em água ou outros solventes ionizantes. Se os íons macromoleculares forem positivos, são chamados de polímeros catiônicos; caso contrário, são polímeros aniônicos. Ao diminuir o pH, o polímero catiônico pode ser ionizado (carregado positivamente), ocorrendo repulsão entre cargas na cadeia polimérica e expansão devido ao inchamento (Figura 2. 12). O caso contrário, ocorre com polímeros polianiônicos, sensível à ionização com aumento do pH. Os polieletrólitos incluem em sua estrutura grupos ácidos ou básicos fracos que aceitam ou libertam prótons em resposta a uma mudança no pH do meio. O grupo ácido ou básico desses polieletrólitos pode ser ionizado com grupos ácidos ou básicos de monoácidos ou monobases fortes; no entanto, a ionização completa destes sistemas é mais difícil devido aos efeitos eletrostáticos exercidos por outros agentes adjacentes (REYES-ORTEGA, 2014).

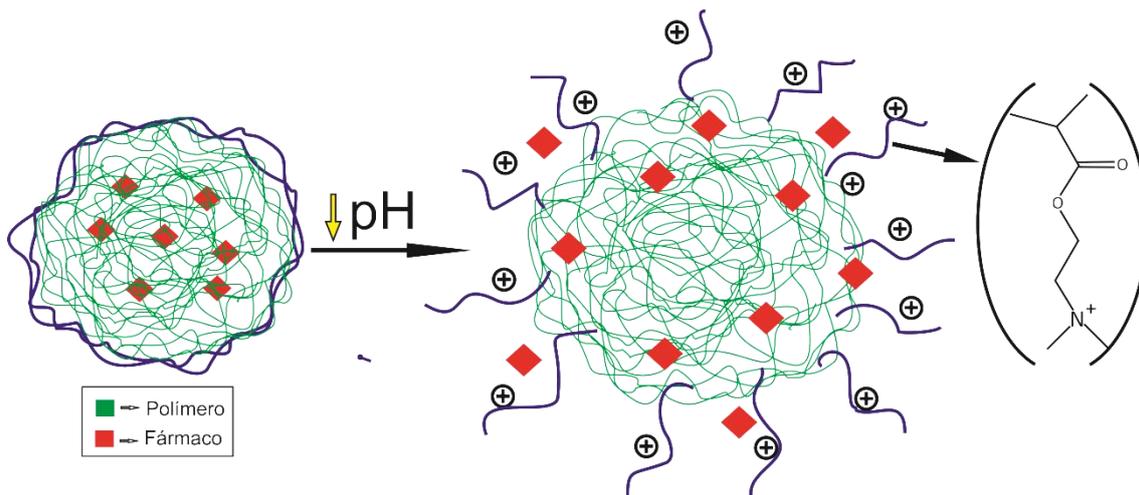


Figura 2. 12 - Esquema ilustrativo da resposta ao pH de uma nanopartícula formada por um polímero catiônico.

Metacrilato de dietilaminoetila (DEAEMA) e metacrilato de dimetilaminoetila (DMAEMA) (Figura 2. 13) são as polibases poliméricas mais frequentemente utilizadas para produzir polímeros sensíveis ao pH, podendo apresentar a capacidade de mascarar o sabor das substâncias ativas administradas (KAROLEWICZ , 2016). O grupo amina é protonado a pH baixo, podendo servir também como sítios para formação de reticulação. A quaternização de sais de amônio resulta em maior hidrofiliabilidade, o que leva também a maior capacidade de absorção de água e, assim, a maior mobilidade das cadeias para liberação de medicamentos (BASF, 2015; PRYIA JAMES *et al.*, 2014).

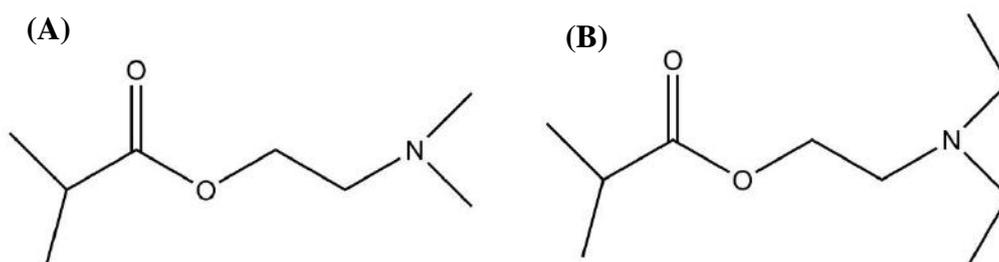


Figura 2. 13 - Estrutura química do DMAEMA (A) e DEAEMA (B).

O DMAEMA e DEAEMA são monômeros muito versáteis. O estado da carga nestes materiais é facilmente revertido ao retornar o pH da solução. Assim, o comportamento de comutação de materiais inteligentes sensíveis ao pH preparados com esses monômeros também é reversível (REYES-ORTEGA, 2014; PLAMPER *et al.*, 2014). A constante de transição crítica pK_a do polímero à base de DMAEMA é igual 7,6

e à base de DEAEMA é igual 8,8 em água pura e a temperatura crítica mínima da solução (LCST) de ambos em meio aquoso está na faixa entre 38 e 50°C (HU *et al.*, 2014; WU *et al.*, 2011; DAI *et al.*, 2008; DARABI e CUNNINGHAM, 2017). Abaixo da LCST, o PDEAEMA é solúvel em fase aquosa; contudo, apresenta insolubilidade em condições fisiológicas normais (KANELLOU *et al.*, 2015). PDEAEMA tem uma conformação hiper-enovelada porque tem a presença de grupos hidrofóbicos mais longos, tais como os grupos etila, que induzem interações hidrofóbicas mais fortes como forças de agregação, resultando em conformação mais compacta (PRYIA JAMES *et al.*, 2014). O PDEAEMA é um polímero biocompatível e não tóxico (JIA *et al.*, 2017).

O desafio farmacológico em relação ao mascaramento do sabor é alcançar uma liberação tardia na saliva e uma liberação imediata em meios gástricos e intestinais, para garantir a alta absorção do fármaco (MOGOŞANU *et al.*, 2016). Uma grande vantagem dos carreadores sensíveis ao pH é a capacidade para responder especificamente a um “gatilho” fisiológico, melhorando a eficácia terapêutica e ao mesmo tempo minimizando os efeitos colaterais indesejáveis. Esse sistema inteligente pode ser uma plataforma muito promissora para a administração de fármacos, pois o corpo exhibe variações extremas do pH fisiológico ao longo do trato gastrointestinal (GI), que podem variar de pH 2 no estômago a pH 7 dentro do cólon. Existem vários exemplos deste tipo de polímeros já comercializados, incluindo Eudragit L[®] e Eudragit S[®] da Evonik Röhm GmbH (à base de ácido metacrílico e metacrilato de metila); ou CMEC, da Freund Sangyo Co.; e PAC, da Wako Pure Chemicals Ltda. A geometria esférica tem sido a morfologia mais utilizada para o preparo de sistemas inteligentes (PLAMPER *et al.*, 2014; MÜNSTER *et al.*, 2017).

HOREV *et al.* (2015) desenvolveram nanopartículas copoliméricas dibloco constituídos por DMAEMA, metacrilato de butila (BMA) e ácido 2-propilacrílico (PAA) (p (DMAEMA)- b - p(DMAEMA-co-BMA-co-PAA)) capazes de funcionalizar hidroxiapatita (HA), a HA revestido com saliva (sHA) e exopolissacarídeos. Devido aos núcleos hidrofóbicos, uma carga de 22% em peso de farnesol foi incorporada. O tempo de meia-vida (tempo necessário para a concentração decair em 50%) do fármaco foi de $t_{1/2} = 7h$ e $15h$ para pH 4,5 e 7,2, respectivamente. As aplicações tópicas das nanopartículas carregadas com fármaco interromperam o crescimento de filamentos de *Streptococcus mutans* de forma quatro vezes mais eficaz do que o farnesol livre. Testes *in vivo* foram realizados, utilizando um regime de tratamento tópico clinicamente relevante (2x/dia) em um modelo de doença de cárie dentária de roedores. Os autores observaram que o tratamento com nanopartículas carregadas com farnesol reduziu tanto

o número como a gravidade das lesões cariosas, enquanto o farnesol livre não exerceu o mesmo efeito. As nanopartículas carregadas com farnesol aumentaram de forma robusta a solubilidade aquosa dos fármacos, o que poderia facilitar o desenvolvimento da formulação adicional.

2.7 Comentários finais

Diante da revisão apresentada, pode-se concluir que a esquistossomose é uma doença negligenciada que afeta em grande parte a população pobre, sendo este um motivo para não atrair atenção das indústrias farmacêuticas para resolver os vários problemas associados ao uso do praziquantel, fármaco de referência. A falta de dosagem pediátrica é uma das principais problemáticas associadas a esse fármaco, pois as crianças constituem a grande maioria da população atingida por essa doença. As nanopartículas poliméricas apresentam grande potencial como alternativa para a solução desses problemas, usando comômeros catiônicos, que permitem modificar as partículas, tornando-as sensíveis ao pH. Dessa forma, a liberação poderia ser controlada, permitindo o mascaramento do sabor amargo do fármaco e simultaneamente a liberação no trato gastro intestinal. Dentre as técnicas usadas para a síntese de nanopartículas, pode se destacar a polimerização em miniemulsão, que permite o encapsulamento *in situ* numa única etapa, sendo por isso a técnica escolhida para conduzir o trabalho experimental da presente dissertação.

Capítulo III

Material e Métodos

3.1 Material

Os reagentes e equipamentos utilizados nas reações de polimerização e para caracterização das nanopartículas poliméricas são listados a seguir, em ordem alfabética e com suas especificações básicas.

3.1.1 Reagentes

- Acetona com 99,5% de pureza, fornecido pela Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), usada para limpeza das vidrarias.
- Acetonitrila com grau HPLC, fornecido pela Tedia (Rio de Janeiro, Brasil), usado como fase móvel no HPLC.
- Ácido clorídrico (1N), fornecido pela Merck (Darmstadt, Alemanha), usado para preparo do meio do ensaio de liberação.
- Água ultrapura (Gehaka, Master System MS 2000, São Paulo, Brasil), usada nas reações de polimerização.
- Azobisisobutironitrila (AIBN) de marca Akzo Nobel (Arnhem, Holanda) com pureza mínima de 99%, usado como iniciador orgânico.
- Bicarbonato de Sódio P.A, fornecido pela Proquimios (Rio de Janeiro, Brasil), usado como agente tamponador nas reações de polimerização.
- Brometo de cetil trimetil amônio (CTAB) P.A, fornecido pela REAGEN (Colombo, Paraná), usado como surfactante do meio preparado para as reações de polimerização.
- Clorofórmio deuterado com pureza mínima de 99,8%, fornecido pela Cambridge Isotope Laboratories Inc. (Tewksbury, Estados Unidos); utilizado nas análises de ressonância magnética nuclear (RMN).

- Clorofórmio P.A. estabilizado com amileno, fornecido pela Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), usado para as análises de viscosidade.
- Fosfato de sódio difásico P.A. anidro, fornecido pela Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), usado para o preparo do tampão de pH 6,8 para os testes de liberação.
- Fosfato de sódio monobásico monohidratado com pureza mínima de 98% e contendo 2% de água, fornecido pela Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), usado para o preparo do tampão de pH 6,8 para os testes de liberação.
- Hexafluoropropan-2-ol (HFIP) com grau HPLC, fornecido pela Apollo Scientific Limited (Manchester, EUA).
- Hidróxido de sódio P.A., fornecido pela Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), usado para ajustes de pH do tampão utilizado nos ensaios de liberação.
- Hidroquinona P.A, fornecido por MPBio (Solon, Estados Unidos), usado como inibidor da reação de polimerização.
- Lauril sulfato de sódio (LSS) com pureza mínima de 90% e contendo 10% de água, fornecido pela Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), usado como surfactante do meio preparado para as reações de polimerização e ensaio de liberação.
- Metacrilato de dietilaminoetila (DEAEMA) com pureza mínima de 99% e contendo 1.500 ppm do inibidor hidroquinona monometil éter, fornecido pela Sigma Aldrich (Missouri, EUA), utilizado como comonômero nas reações de polimerização.
- Metacrilato de dimetilaminoetila (DMAEMA) com pureza mínima de 98 % e contendo entre 700 a 1.000 ppm do inibidor hidroquinona monometil éter, fornecido pela Sigma Aldrich (Missouri, EUA), utilizado como comonômero nas reações de polimerização.
- Metacrilato de metila (MMA) com pureza mínima de 99,5% e contendo cerca de 100ppm de terc-butil catecol, fornecido pela Sigma Aldrich (Missouri, EUA), utilizado como monômero nas reações de polimerização.
- Óleo mineral (Vaselina Líquida), fornecido pela Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), usado como co-estabilizante para as reações de polimerização.
- Persulfato de potássio com pureza mínima de 99%, fornecido pela Proquimios (Rio de Janeiro, Brasil), usado como iniciador hidrossolúvel.

- Praziquantel (PZQ) com pureza mínima de 99%, fabricado por Yixing City Xing Yu Medicine Chem., fornecido pela Fiocruz/Farmanguinhos (Rio de Janeiro, Brasil), usado como fármaco a ser encapsulado nas reações de polimerização.
- Tetrahidrofurano (THF) com grau HPLC, fornecido pela Tedia (Rio de Janeiro, Brasil), usado nas análises de GPC.

3.1.2 Equipamentos

- Balança analítica – U210A, BEL Equipamentos Analíticos Ltda., São Paulo – Brasil.
- Calorímetro Exploratório Diferencial – DSC Q1000, TA Instruments, New Castle – EUA.
- Centrífuga - Megafuge 16R , Thermo Scientific, Massachusetts – EUA.
- Cromatógrafo de permeação em gel - modelo GPC Max VE 2001, Viscotek, Worcestershire - Inglaterra, equipado com detector refratométrico (modelo VE 3580) e conjunto de colunas lineares (Shodex (modelos KF-48804L e KF-805L), Tóquio - Japão) com tamanhos máximos de poro de $1,5 \times 10^3$ e 5×10^3 Å.
- Cromatógrafo a líquido de alta eficiência (CLAE) - JASCO, São Paulo – Brasil, equipado com injetor automático (JASCO AS-2059 Plus), detector UV-VIS (JASCO UV-2075) e uma bomba dosadora (JASCO PU-2087).
- Dispositivo de ultrafiltração equipado com membrana de celulose regenerada de 100 kDa -AMICON Ultra-15 100 K, Merck Millipore, Darmstadt – Alemanha.
- Espectrofotômetro UV-VIS – M51, BEL Photonics, São Paulo – Brasil.
- Espectrômetro na região do infravermelho - FTIR 3100 (Excalibur Series), Varian, Palo Alto – EUA.
- Espectrômetro de ressonância magnética nuclear - AVIII-500, Bruker, Massachusetts – EUA.
- Estufa de circulação - Q317M-72, Quimis, São Paulo – Brasil.
- Ultrassom – Branson Sonifier 450, Fisher Scientific, Hampton – EUA.
- Microscópio eletrônico de varredura (MEV) – Quanta FEG 250, Bruker, Massachusetts – EUA.
- Mini-reator para polimerização – EasyMax 102, Mettler Toledo, Ohio – EUA.
- Placa de Agitação - C-MAG HS7, IKA, Staufen – Alemanha.

- Analisador de potencial zeta e distribuição de tamanho de partícula – Zeta Sizer Nano ZS, Malvern Instruments, Malvern – Reino Unido.
- Medidor de pH de bancada – PG 1800, GEHAKA, São Paulo – Brasil.
- Viscosímetro – SVM 3000, Anton Paar, Graz – Austria.

3.2 Métodos

3.2.1 Síntese das Nanopartículas Poliméricas

As reações de polimerização neste trabalho foram realizadas por meio da técnica de polimerização em miniemulsão iniciada por radicais livres. Para concepção dos sistemas emulsionados, foram necessárias três etapas, descritas a seguir.

A primeira etapa consistiu na preparação das fases aquosa e orgânica separadamente, para depois misturá-las. A preparação da fase aquosa consistiu na solubilização do surfactante (LSS ou CTAB) e do agente tamponador (bicarbonato de sódio, NaHCO_3) em água. A fase orgânica foi preparada solubilizando o praziquantel (PZQ) no monômero metacrilato de metila (MMA) com o comonômero DMAEMA ou DEAEMA e o co-estabilizante (óleo mineral) a 35 °C, para a completa solubilização do fármaco. Quando usado o iniciador orgânico (AIBN), após a adição era usado banho de gelo para garantir que não ocorresse o início da polimerização. As fases foram misturadas com o auxílio de um agitador magnético por 5 minutos, para obtenção da pré-emulsão.

A segunda etapa consistiu na preparação da miniemulsão, realizada por homogeneização com ultrassom, usando uma amplitude de 40% igual a 160 W durante 5 min.

Na terceira fase, a miniemulsão foi adicionada ao mini-reator, constituído com vidro encamisado, com volume de 100 mL (Figura 3.1), e contendo uma tampa de seis orifícios, sendo a entrada central utilizada para a haste do agitador. As demais entradas foram empregadas para adição da amostra e do iniciador, inserção do termômetro, conexão do condensador e retirada de alíquotas durante o processo. Os orifícios que não foram utilizados permaneceram tampados durante a reação.

As reações de polimerização com iniciador hidrossolúvel (KPS) foram iniciadas após a adição do iniciador ao mini-reator e ocorriam a 80 °C e sob agitação de 500 rpm, com um tempo de reação de 2 horas.



Figura 3. 1 - Unidade Experimental: Mini-reator.

O controle da temperatura do meio reacional foi mantido por meio de circulação de água através da camisa do reator, usando um banho termostático. Foi conectado um condensador, resfriado com água, em um dos orifícios do reator para evitar a perda do monômero do meio reacional por evaporação e arraste.

As nanopartículas obtidas foram secas a 50 °C por um período de 5 a 7 dias em estufa com circulação, até peso constante.

3.2.2 Caracterização das Nanopartículas Poliméricas

3.2.2.1 Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica permite determinar a temperatura característica de início da degradação das amostras, permitindo também determinar as condições de trabalho adequadas para que as propriedades sejam mantidas dos materiais. As análises foram realizadas no equipamento Perkin Elmer (modelo STA 6000) na faixa de 25 a 700 °C, conduzidas em atmosfera inerte, com fluxo constante de nitrogênio a 20 mL/min e razão de aquecimento constante a 10 °C/min.

3.2.2.2 Calorimetria Exploratória de Varredura (DSC)

Esta técnica mede o fluxo de calor gerado durante o aquecimento ou resfriamento de uma amostra e comparada com uma referência, colocadas em cápsulas idênticas e posicionadas sobre um disco termoelétrico (CANEVAROLO, 2007). As análises foram realizadas no equipamento calorímetro exploratório diferencial (DSC Q1000) com cerca de 6 mg de amostra aquecidas na faixa de 25 °C a 250 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C/min, usando fluxo de nitrogênio numa vazão de 50 mL/min e cadinho de alumínio com tampa furada. Análises térmicas possibilitam a avaliação de ocorrência de interações entre o fármaco e o polímero e a obtenção de informações sobre interações intermoleculares. Desta forma é possível obter dados sobre a incompatibilidade do fármaco com o sistema, sobre a morfologia do polímero cristalino e do estado sólido e sobre a dispersão molecular do fármaco no sistema polimérico (MAINARDES *et al.*, 2006).

A análise de DSC permite a avaliação rápida de ocorrência de possíveis incompatibilidades, revelando mudanças na aparência, mudança ou desaparecimento do ponto de fusão e ocorrência de processos endotérmicos ou exotérmicos (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003).

3.2.2.3 Conversão por gravimetria

A análise de conversão por gravimetria foi determinada como a razão entre a massa de polímero seco e a massa de monômero alimentada que gerou o polímero.

Os cadinhos eram inicialmente pesados (m_{c0}). Logo após, adicionavam-se 3 gotas da solução do inibidor (hidroquinona 1,0% m/m). O cadinho era pesado novamente (m_{c1}) e uma vez mais após a retirada da alíquota (m_{c2}). As amostras eram colocadas na estufa de circulação por um período de 5 a 7 dias a 50 °C, até peso constante. Após esse período, o resíduo seco obtido era novamente pesado (m_{cf}). Para o cálculo da massa do polímero era necessário subtrair a massa de hidroquinona (HQN). As alíquotas foram coletadas em 1, 5, 15, 30, 60, 120 minutos.

$$\text{Conversão} = \frac{(m_{cf} - m_{c0} - m_{HQN})}{(m_{c2} - m_{c0}) \times FO} \times 100\% \quad 3.1$$

Em que, $m_{HQN} = (m_{c1} - m_{c0}) \times 0,01$ e FO é o teor da fase orgânica.

3.2.2.4 Cromatografia de permeação em gel (GPC)

A técnica empregada para determinar a distribuição de massas molares do polímero foi a cromatografia de permeação em gel (GPC), que permite o fracionamento das cadeias poliméricas de um polímero. Após a amostra ser solubilizada em um determinado solvente, ela é injetada nem umacoluna de gel poroso. A separação é realizada de acordo com o volume hidrodinâmico que a cadeia ocupa em solução. As cadeias mais curtas penetram os poros da coluna e demoram mais a sair.

As análises que utilizaram tetrahidrofurano (THF) foram realizadas em um equipamento da marca Viscotek (modelo GPC Max VE 2001), composto por um detector refratométrico da marca Viscotek (modelo VE 3580) e um conjunto de colunas lineares da marca Shodex (modelos KF-804L e KF-805L), com tamanhos máximos de poro de $1,5 \times 10^3$ e 5×10^3 Å. A calibração do equipamento foi realizada com padrões de poliestireno com massas molares na faixa de $5 \cdot 10^2$ a $1 \cdot 10^7$ Da. As análises que utilizaram hexafluoropropan-2-ol (HFIP) foram realizadas em um equipamento da marca Viscotek (modelo GPC Max VE 2001), composto por um detector refratométrico da marca Viscotek (modelo VE 3580), bomba isocrática fabricada pela YL Instruments, modelo YL9112, por um forno fabricado pela Phenomenex, modelo Thermasphere TS-430. Um conjunto de colunas lineares da marca Shodex (modelos HFIP-803, HFIP-804 e HFIP-805), com tamanhos máximos de poro de 5×10^2 , $1,5 \times 10^3$ e 5×10^3 Å, foi usado nas análises. A calibração do equipamento foi realizada com padrões de poli (metacrilato de metila) com massas molares na faixa de 7×10^2 a 2×10^6 Da.

As análises foram realizadas a 40 °C e o solvente THF ou HFIP foram utilizados como fase móvel e mantido a uma vazão constante de 1,0 mL/min. Foi necessário solubilizar 9 mg da amostra em 3 mL de THF ou HFIP para conduzir as análises.

3.2.2.5 Determinação de pH

As análises de pH foram realizadas logo após o término das reações usando o pHmetro da GEHAKA PG1800. A calibração foi realizada com as soluções tampão de pH 7,0 e 4,0 (Merck), na temperatura ambiente.

3.2.2.6 Determinação da Viscosidade

A viscosidade de soluções diluídas é função do volume hidrodinâmico do soluto na solução (isto é, sua massa molar). Quanto maior é a massa molar do soluto, mais viscosa é a solução. Medidas da viscosidade de soluções poliméricas diluídas permitem o cálculo de uma massa molar média viscosimétrica (CANEVAROLO, 2007).

A viscosidade foi medida para determinar a viscosidade intrínseca, com base na relação de Mark-Houwking-Sakurada, e então calcular a massa molar do polímero, na forma:

$$[\eta] = KM^\alpha \quad 3.2$$

Em que, $[\eta]$ é a viscosidade intrínseca, M é a massa molar viscosimétrica, K e α são as constantes de Mark-Houwking-Sakurada (WAGNER, 1987). Esse método não é absoluto, visto que a viscosidade depende de uma série de outras propriedades molares, além da massa molar.

As análises foram conduzidas com soluções na concentração de 0,1% (m/v) de amostra em clorofórmio, preparadas em balões volumétricos de 10 mL, com auxílio do viscosímetro (SVM 3000, Anton Paar) a 25 °C.

3.2.2.7 Distribuição de tamanho da partícula (DTP)

Para análise da distribuição de tamanhos de partícula, as amostras (em suspensão) foram analisadas pela técnica de espalhamento dinâmico da luz (DLS), também conhecida como espectroscopia de correlação de fótons (PCS) ou dispersão de luz quase elástica (QELS). Quando a luz incide sobre uma partícula, ela espalha luz em todas as direções. A técnica de DLS é uma técnica não invasiva que fornece a média da intensidade de espalhamento de luz das partículas que estão em movimento browniano em um sistema de suspensão coloidal. Supondo que as partículas sejam esféricas, a equação de Stokes-Einstein pode ser usada para o cálculo do diâmetro efetivo (D_{ef}) ou hidrodinâmico (BRAR e VERMA, 2011).

As alterações da distribuição do tamanho da partícula ao longo do tempo podem sugerir tendências para aglomeração e sedimentação das nanopartículas (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003). Para as medidas de tamanho, uma ou duas gotas do látex eram adicionadas ao meio de análise e o volume da cubeta era completado com água

ultrapura. As análises foram feitas no equipamento Malvern Instruments ZetaSizer (modelo Nano-ZS) na temperatura ambiente.

3.2.2.8 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia na região do infravermelho (IR) é uma técnica de grande relevância permitindo obter informações sobre as principais ligações e grupos funcionais de uma determinada substância orgânica. Assim, torna-se possível propor uma estrutura, dado que uma molécula absorve apenas algumas frequências específicas da radiação infravermelha. Além disso, a técnica pode informar a ocorrência de associação do fármaco a nanopartículas (LOPES e FASCIO, 2004).

Um espectro de infravermelho determina as posições e os tamanhos relativos de todas as absorções, ou picos, na região infravermelha. O gráfico de intensidade de absorção versus número de onda (ou comprimento de onda) é chamado de espectro infravermelho do composto (PAVIA *et al.*, 2009).

As análises foram realizadas na região do infravermelho médio (4.000-600 cm^{-1}) no equipamento FTIR 3100 (Excalibur Series), Varian com 120 varreduras para a geração do espectro. As medidas foram feitas diretamente na fase sólida, usando um dispositivo de amostragem no modo ATR (refletância difusa atenuada).

3.2.2.9 Estudo do perfil de liberação

O ensaio de liberação do praziquantel a partir da matriz polimérica ocorreu em condições que simulassem as condições do trato gastrointestinal. A metodologia foi baseada em FONSECA *et al.* (2013), PAIVA (2017) e na Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2010).

Os ensaios foram realizados em béquer de 50 mL contendo 25 mL do meio receptor, em uma placa multiponto aquecida com água, para manter de modo homogêneo a temperatura de 37 °C nos meios. A agitação foi mantida constante igual a 100 rpm por um período de três horas. Os meios receptores foram preparados com pH 6,8 (intestinal) e 2,0 (gástrico) e estão descritos abaixo:

- pH 6,8 – tampão fosfato de sódio 0,1M – Pesaram-se 0,7 g de fosfato de sódio dibásico e 0,8166 g de fosfato de sódio monobásico monohidratado no balão

volumétrico de 100 mL, que foi avolumado com água destilada.

- pH 2,0 – HCl (0,1M) – Diluíram-se 10 mL de HCl (1M) em um balão volumétrico de 100 mL com água destilada.

Em todos os meios foram adicionados 2% (p/v) de LSS, para que aumentasse a solubilidade do fármaco no meio, alternativa utilizada pela Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2010). As soluções também foram aferidas quanto ao pH e ajustados, quando necessário, com solução de hidróxido de sódio ou ácido clorídrico.

As nanopartículas, após secagem na estufa, e o látex foram submetidos aos ensaios para obtenção dos perfis de dissolução, utilizando uma quantidade correspondente a 0,67 g/L de praziquantel. Nesta concentração, a condição *sink* é mantida; isto é, que a concentração de fármaco no meio de liberação seja aproximadamente 1/3 da concentração de saturação (ROSA e VILHENA, 2012).

Alíquotas de 3 mL foram retiradas nos tempos de: 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180 min e submetidas a técnica de ultrafiltração-centrifugação, em que a alíquota era filtrada numa membrana de celulose regenerada de 100 kDa (AMICON Ultra-15 100kDa – Milipore) e depois centrifugada a 6000 rpm por 5min. Logo depois de filtradas com filtros de seringa de 0,20 µm, os filtrados foram levados para análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC), no cromatógrafo da JASCO, nas seguintes condições:

- coluna empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (C18), com dimensões de 4 mm x 25 cm x 10 µm da marca Fortis® Technologies;
- fase móvel: acetonitrila: água (60:40) em base volumétrica;
- detector UV: 210 nm - detector UV-VIS (JASCO UV-2075);
- vazão: 1,0 mL/min;
- volume de injeção: 7 µL;
- temperatura: 30 °C.

A curva de calibração foi obtida para determinação do fármaco presente nas alíquotas. O tempo de análise foi fixado em 8,5 min. Em cada intervalo de tempo, foi quantificado o PZQ no meio, conforme a equação proposta por PAIVA (2017):

$$C_{real} = \frac{C_t V_{total} + V_a C_{a,t-1}}{V_{total}} \quad 3.3$$

Em que, C_{real} é concentração de PZQ acumulada no tempo t , C_t é a concentração de PZQ medida no tempo t , V_{total} é o volume total da solução receptora, V_a é o volume da alíquota retirada no tempo $t - 1$ e $C_{a, t-1}$ é a concentração de PZQ da alíquota do tempo $t - 1$ (refere-se a concentração de PZQ acumulada no tempo $t - 1$).

3.2.2.9.1 Ensaio de liberação no dissolutor

Os ensaios de liberação no dissolutor foram realizados no equipamento da LabIndia modelo DS8000, com 8 cubas, empregando o aparato 2 (pá), com os mesmos meios utilizados na etapa anterior, porém para manter a condição *sink* no meio foi adicionado 0,25% (p/v) de LSS. O volume utilizado foi de 900 mL. A velocidade de agitação usada foi de 50 rpm e a temperatura do meio de dissolução nas cubas foi de 37 °C. As nanopartículas após secagem foram pesadas para ter a dose equivalente 0,18 mg de PZQ no meio. Os tempos de obtenção das alíquotas foram os mesmos da etapa anterior, mas as alíquotas foram de 5 mL, filtradas com filtro Millex de 0,20 µm (Millipore) e posteriormente levadas para análise no HPLC conforme descrito anteriormente.

3.2.2.10 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A técnica de MEV foi utilizada para analisar a morfologia das nanopartículas e realizada no equipamento MEV FEG 250, da Bruker. O detector empregado foi de elétrons secundários (ETD), com tensão de 10 kV e magnitudes de 5.000, 7.000, 80.000, 120.000 vezes. As amostras foram dispersas numa fita de dupla face de carbono, que foi aderida ao suporte. Pelo fato de o polímero apresentar baixa condutividade elétrica, foi necessário metalizar a amostra com ouro por 15 min.

3.2.2.11 Potencial zeta

A determinação do potencial zeta foi realizada com auxílio da técnica de eletroforese das amostras em suspensão. Este método é baseado no movimento de uma partícula carregada em relação ao líquido em que está suspenso, sob a influência de um campo elétrico aplicado. As forças viscosas que atuam sobre as partículas tendem a se opor a esse movimento. Quando o equilíbrio é alcançado entre essas duas forças opostas, as partículas se movem com velocidade constante. A velocidade de uma partícula em um campo elétrico unitário é referida como sua mobilidade eletroforética. O potencial zeta está relacionado com a mobilidade eletroforética pela equação de Smoluchowski (MORFESIS, 2010).

Para as medidas, todas as amostras foram diluídas 500 vezes em água ultrapura com auxílio de uma micropipeta, transferidas para uma cubeta específica. Depois as amostras foram analisadas no equipamento Malvern Instruments ZetaSizer (modelo Nano-ZS).

3.2.2.12 Taxa de encapsulamento de PZQ

A eficiência de encapsulamento foi avaliada pela técnica de ultrafiltração-centrifugação, em que uma alíquota obtida após o final da reação de polimerização foi filtrada na membrana de celulose regenerada de 100kDA (AMICON Ultra-15 100kDa – Milipore) com auxílio da centrífuga (Thermo Scientific, modelo Megafuge 16R) a 6.000 rpm por 10 min. O filtrado, correspondente à fração livre de fármaco, foi analisado no espectrofotômetro UV-VIS – Bel Photonics (modelo UV-M51).

A partir de uma curva de calibração de fármaco em água, tendo como solução mãe uma solução preparada na concentração de 0,01 g/L de PZQ, foram realizadas diluições nas concentrações de 0,002, 0,004, 0,006, 0,008 g/L de PZQ em água. As soluções foram lidas no espectrofotômetro no comprimento de 196 nm, que corresponde ao pico de maior absorção determinado pela varredura na faixa de 190 a 500 nm. As alíquotas filtradas foram então analisadas no espectrofotômetro. Sendo assim, a concentração de fármaco encapsulado foi calculada com a diferença entre a fração livre de PZQ e o total esperado de praziquantel.

3.2.2.13 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A técnica de RMN é um método de espectroscopia em que as moléculas são colocadas sobre a ação de um campo magnético externo e a absorção de radiação de baixa energia (radiofrequências) causa excitação de certos núcleos, sendo medida de uma forma muito precisa a frequência e intensidade da radiação absorvida pelos diversos átomos (por exemplo, ^1H e ^{13}C) (PAVIA *et al.*, 2009). A técnica de RMN de hidrogênio foi empregada para avaliar a ocorrência da copolimerização, sendo realizada no equipamento da Bruker (modelo AVIII-500), na frequência de 500.1 MHz e com sonda de 5 mm, utilizando 25 mg de amostra dissolvidas em clorofórmio deuterado.

Capítulo IV

Resultados e Discussões

4.1 Reações de Polimerização em Miniemulsão

Neste capítulo são apresentados os resultados das caracterizações dos produtos obtidos conforme a metodologia descrita no Capítulo 3. Esse capítulo foi dividido em três seções. Na Seção 4.2 são apresentados os resultados para a primeira composição reacional, que usou um iniciador polar e um surfactante aniônico. Esta etapa teve por objetivo avaliar a influência dos monômeros catiônicos no sistema previamente estudado pelo grupo de pesquisa (FONSECA *et al.* 2013a; PEIXOTO *et al.* 2016; LORCA *et al.*, 2012).

Na Seção 4.3 ocorreu uma alteração relevante na composição reacional passando-se a utilizar para um iniciador apolar, porque as reações com praziquantel apresentaram melhor desempenho na presença desse iniciador. Além disso, a quantidade de co-estabilizante, fármaco e comonômero foram alteradas, com a finalidade de obter nanopartículas com melhores propriedades.

Na Seção 4.4 é apresentada a terceira composição reacional que possui um surfactante catiônico com o objetivo de estudar o efeito das cargas nos perfis de liberação. A Tabela 4. 1 resume as composições reacionais, com base nos iniciadores persulfato de potássio (KPS) e azobisisobutironitrila (AIBN) e nos surfactantes lauril sulfato de sódio (LSS) e brometo de cetil trimetil amônio (CTAB).

Tabela 4. 1 - Sistemas reacionais utilizados.

Meio	Iniciador	Surfactante
I	KPS	LSS
II	AIBN	LSS
III	AIBN	CTAB

Tabela 4. 2 - Quantidades dos componentes utilizados nas reações para o Meio I.

Reações	Componente [g]							
	Fase orgânica				Fase aquosa			
	MMA	Óleo Mineral	DMAEMA	DEAEMA	LSS	NaHCO ₃	KPS	Água
R0	17,7	5,3	0	0	0,9	0,069	0,14	52
R1	16,85	5,3	0,887	0	0,9	0,069	0,14	52
R2	15,9	5,3	1,77	0	0,9	0,069	0,14	52
R3	16,85	5,3	0	0,887	0,9	0,069	0,14	52
R4	15,9	5,3	0	1,77	0,9	0,069	0,14	52

Todas as condições reacionais usadas levaram à formação de um látex estável ao longo de 12 meses. As interações entre polímero e surfactante são importantes para compreender a estabilidade da emulsão. Em particular, os polímeros catiônicos podem ser protonados em pH baixo, como discutido na Seção 2.6. No entanto, todas as reações terminaram com pH acima de 7. Havia a expectativa de que pudesse ocorrer instabilidade promovida pela mudança das cargas na superfície das partículas com a introdução dos monômeros catiônicos, o que não parece ter sido importante por conta do pH elevado.

PETKOVA *et al.* (2013) relataram que as interações entre espumas formadas por um polímero catiônico (polivinilamina, PVAm) e diferentes surfactantes aniônicos, como LSS e dodecil oxietileno sulfato de sódio (LSP1S), provoca instabilidades nas espumas em pHs inferiores a 6, sendo que a interação pode depender significativamente do grupo principal característico do surfactante.

4.2.1 Conversão

A Figura 4. 2 mostra o perfil dinâmico da conversão ao longo das reações, em que altas conversões foram obtidas para todas as reações após 10 minutos, resultado já esperado para a polimerização de MMA. Ademais, as reações não levaram a diferenças significativas da conversão final para os diferentes copolímeros, nas distintas proporções utilizadas. Esses resultados são muito importantes porque mostram que a adição dos comonômeros catiônicos no meio reacional em grandes quantidades não afeta de modo

pronunciado as taxas de reação, não sendo possível identificar efeitos inibitórios significativos, o que incentiva o desenvolvimento dos copolímeros catiônicos.

Tabela 4.3 - Nomenclatura das reações da composição I.

Reações	Legenda
R0	PMMA
R1	P(MMA-co-DMAEMA) 95-5
R2	P(MMA-co-DMAEMA) 90-10
R3	P(MMA-co-DEAEMA) 95-5
R4	P(MMA-co-DEAEMA) 90-10

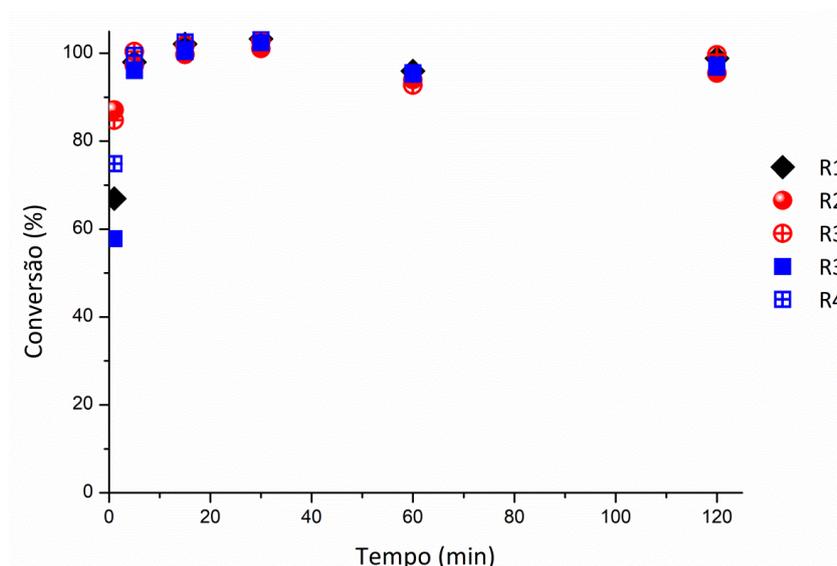


Figura 4.2 - Perfil de conversão das reações conduzidas com o meio I a 80 °C.

4.2.2 Distribuição de Tamanho e Potencial Zeta

As distribuições de tamanhos das partículas ao longo das reações estão ilustradas na Figura 4.3, onde é possível observar que as amostras poliméricas produzidas apresentaram diâmetro médio abaixo de 80 nm. De modo geral, as nanopartículas de PMMA apresentaram distribuições unimodais com baixo índice de polidispersão como pode ser visto na Tabela 4.4. Além disso, os dois copolímeros apresentaram comportamentos similares, em que o aumento do teor mássico dos mesmos promoveu um singelo deslocamento da distribuição para tamanhos menores.

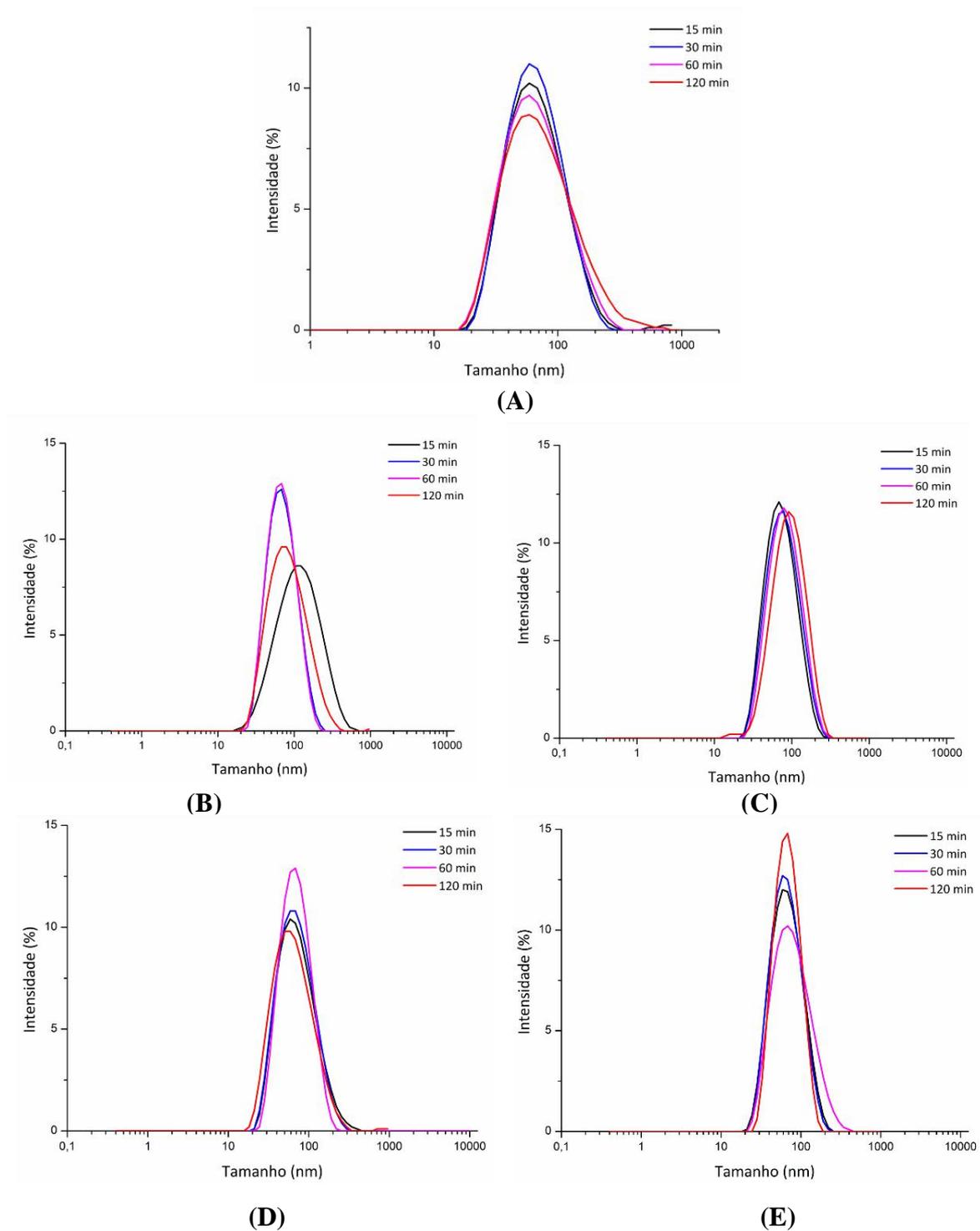


Figura 4. 3 - Distribuições de tamanhos das partículas para os produtos das reações conduzidas com o Meio I (a) PMMA (b) P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 (c) P(MMA-co-DMAEMA) 90-10 (d) P(MMA-co-DEAEMA) 95-5 (e) P(MMA-co-DEAEMA) 90-10

É possível notar na Figura 4. 3 que as distribuições de tamanho ao longo da reação não sofrem alterações significativas. Isso se deve ao fato das reações terem terminado após cerca de 10 min e de os látices serem estáveis. Portanto, não é possível afirmar que

o mecanismo de nucleação nas gotas foi o predominante, devido à alta concentração de LSS.

Consequentemente, não se pode afirmar que as nanopartículas foram obtidas pela técnica de polimerização em miniemulsão, já que pode ter ocorrido nucleação micelar, embora as distribuições estreitas sugiram que a nucleação micelar não foi dominante.

No presente trabalho não foi observado efeito significativo dos comonômeros sobre a estabilidade coloidal da emulsão, apesar da possibilidade de interação do monômero catiônico com o surfactante aniônico, como mencionado anteriormente. PEIXOTO (2013) observou o efeito do comonômero DMAEMA sobre a produção de nanopartículas de P(MMA-co-DMAEMA) produzidas com dois iniciadores, KPS e o peróxido de benzoíla (BPO). As reações, no entanto, apresentaram desestabilização após 15 min de reação para o KPS e 1h e 30min, no caso do BPO, ao contrário dos resultados obtidos no presente trabalho. As quantidades de surfactante (LSS) e DMAEMA utilizadas por PEIXOTO (2013) foram iguais 1% e 7% em relação ao monômero, confirmando a necessidade de usar cargas elevadas de surfactante para o presente estudo.

Os resultados de potencial zeta das nanopartículas são mostrados na Tabela 4. 4. Foram obtidos valores negativos, justificados pela presença da carga do surfactante aniônico na superfície, indicando que a estabilização ocorre principalmente por repulsão eletrostática. Como esperado, a presença dos monômeros catiônicos reduziu o potencial zeta absoluto das nanopartículas em relação ao PMMA, em todos os casos, porém não o suficiente para causar a desestabilização do látex. Um valor absoluto maior do potencial zeta pode indicar que a partícula apresenta maior densidade de cargas e espessura da camada de Stern, de forma que a energia de atração originária das forças de Van der Waals será menor do que as forças de repulsão, resultando na estabilidade coloidal da miniemulsão (MORFESIS, 2010). No modelo de Stern para a dupla camada elétrica, a primeira camada de Stern é uma região compreendida pelos íons adsorvidos na superfície e a segunda é composta por contra-íons, formando uma camada difusa. O aumento da espessura da camada de Stern implica na melhora da estabilidade do sistema (BUTT *et al.*, 2003). É curioso, no entanto, observar que o potencial zeta em ambos os casos foi mais negativo para as partículas produzidas com maiores teores do comonômero, o que pode indicar a ocorrência de efeitos secundários sobre as distribuições de cargas no sistema estudado. É também curioso observar que os potenciais zeta são menos negativos na presença do DEAEMA, provavelmente por conta da menor

solubilidade do monômero na água e maior incorporação final nas partículas, por conta de sua maior hidrofobicidade.

Tabela 4. 4 - Propriedades das nanopartículas poliméricas obtidas ao final das reações conduzidas com o Meio I.

Reações	Massa Molar			comonômero incorporado (%)	Tamanho médio da partícula		Potencial Zeta
	Mn x 10 ³ (Da)	Mw x 10 ³ (Da)	IP (M _w /M _n)		(d. nm)	IP*	
R0	617	1478	2,4	-	60,1	0,26	-43,30 ±2,47
R1	1518	1934	1,27	3,64	74,2	0,14	-30,5 ±5,0
R2	1583	1985	1,25	7,52	80,1	0,20	-37,10 ±1,67
R3	138	688	4,97	4,46	57,6	0,22	-20,70 ±3,61
R4	86	523	6,04	8,49	62,6	0,43	-35,21 ±3,39

*IP: Medida da amplitude da distribuição de tamanhos (variância relativa), calculada a partir da curva de análise cumulativa dos dados, de acordo com a ISO 13321:1996: $IP = \sigma^2 / x$ (σ é o desvio padrão e x é o tamanho médio), valores menores que 0,04 são considerados monodispersos (NIST, 2015)

Em alguns aspectos, a interação entre um surfactante aniônico e um polieletrólito catiônico poderia ser similar à de um surfactante com uma superfície carregada com carga oposta, implicando na adsorção do surfactante com sua parte polar voltada para superfície e sua parte apolar para a fase contínua, formando (hemi) micelas, como estudado por WESLEY *et al.* (2005) para copolímeros dibloco hidrofílico-hidrofóbico (PMMA-b-PDMAEMA) na presença de LSS. Esses autores observaram que os copolímeros adotam uma estrutura do tipo “estrela”, com um núcleo de PMMA, especialmente se o pH ácido permite a protonação do PDMAEMA. Conforme as moléculas do surfactante se ligam ao polímero catiônico, isso leva a um arranjo mais eficiente das cadeias poliméricas, induzindo o crescimento micelar. Os autores acreditam que, em altas concentrações de LSS (10000 ppm), as frações de PMMA podem ser solubilizadas pelas micelas, enquanto os blocos de PDMAEMA interagem com o surfactante, gerando uma estrutura tipo “colar de pérolas”. No presente trabalho, os copolímeros têm estrutura aleatória por conta da natureza radicalar da reação, de forma que esse efeito não é esperado. Assim, a presença do comonômero na superfície pode deslocar moléculas de surfactante e inverter a orientação espacial das cadeias de LSS, levando em ambos os casos à redução em termos absolutos do potencial zeta.

4.2.3 Distribuição de Massa Molar

As análises de distribuições de massa molares foram realizadas para obter informações sobre o processo de polimerização. Os resultados de caracterização, apresentados na Figura 4.4 e Tabela 4.4, mostram a obtenção de altas massas molares, na faixa de 10^6 Da, para as nanopartículas poliméricas de PMMA, como esperado ((FONSECA *et al.*, 2013a). No entanto, é possível observar um pequeno deslocamento para massas molares maiores nas distribuições dos copolímeros com DMAEMA (Reação R1 e R2) em relação ao PMMA (Reação R0). Por outro lado, os copolímeros produzidos com DEAEMA (Reações R3 e R4) apresentaram distribuições mais largas e deslocadas para massas molares menores. Na Tabela 4.4 estão apresentados os valores das massas molares médias e do índice de polidispersão. Os altos índices de polidispersão ($IP > 3$) para amostras dos copolímeros produzidos com DEAEMA refletem a produção de cadeias heterogêneas.

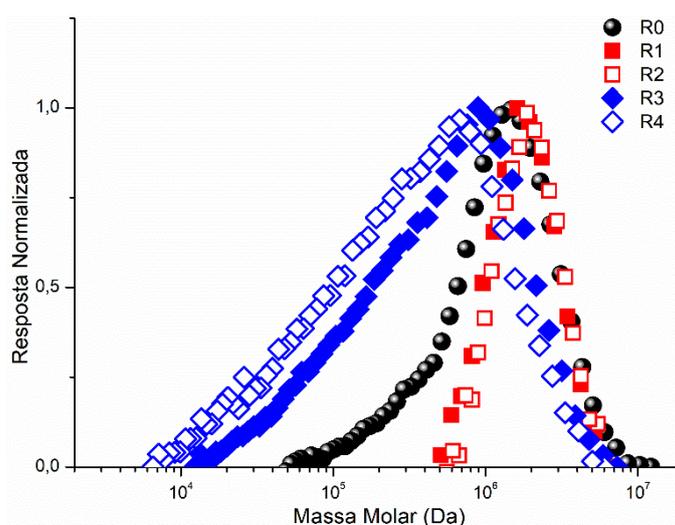


Figura 4.4 - Distribuições de massas molares dos produtos das reações conduzidos com o Meio I. (R0) PMMA (R1) P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 (R2) P(MMA-co-DMAEMA) 90-10 (R3) P(MMA-co-DEAEMA) 95-5 (R4) P(MMA-co-DEAEMA) 90-

10

Em contrapartida, os copolímeros produzidos com DMAEMA apresentaram índices de polidispersão muito baixos, indicando a formação de cadeias mais homogêneas. A Figura 4.5 mostra a influência do diâmetro médio das partículas nas massas molares média. Observa-se um aumento das massas molares média com aumento

do diâmetro, o que contraria o mecanismo clássico de polimerização em emulsão. Portanto, as variações de massas molares não podem ser associados a variações de tamanho no presente caso. Possivelmente isso pode estar relacionado à alta solubilidade do iniciador e dos comonômeros na fase aquosa, promovendo o mecanismo de adsorção e dessorção dos radicais da partícula para o meio aquoso e vice-versa, não permitindo um completo confinamento do radical na gota. Também foi notado que a massa molar mais alta foi obtida para o DMAEMA, monômero que apresenta maior afinidade pela água, o que pode estar associado à formação de PDMAEMA na fase aquosa.

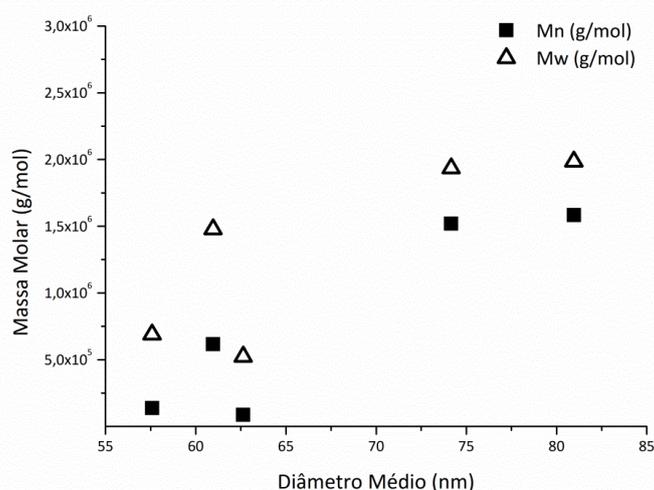


Figura 4. 5 - Efeito do diâmetro médio da partícula nas massas molares média.

Os resultados não indicaram a ocorrência de distribuições bimodais para os produtos das reações, apenas uma larga distribuição para o DEAEMA. Apesar de ter sido utilizado um iniciador solúvel em água, o que poderia propiciar um mecanismo de nucleação micelar, não se pode confirmar esse efeito com base nas distribuições de massas molares. Segundo GUO e ZETTERLAND (2011), a ocorrência de distribuições multimodais de massas molares pode estar relacionada com diferentes mecanismos de nucleação de partículas. Caso exista nucleação secundária significativa, a massa molar formada nas partículas pequenas seria maior do que nas gotículas maiores de monômero, levando à geração de distribuições bimodais. Com base na Figura 4.4 e na Tabela 4. 4, é importante observar que o alargamento das distribuições de massa molar na presença de DEAEMA provavelmente refletem a mudança das condições de reação ao longo do tempo, como esperado nos casos em que as razões de reatividade são distintas de 1 (KANELLOU *et al.*, 2015). Contudo, as estreitas distribuições de massas molares produzidas na presença de DMAEMA não refletem o caráter usual das polimerizações

radicalares e sugerem a existência de caráter vivo na reação (OLIVEIRA *et al.*, 2013). Esse interessante aspecto de reação deverá ser investigado mais profundamente no futuro próximo.

4.2.4 Análises Térmicas

As caracterizações térmicas foram realizadas com o objetivo de determinar a estabilidade térmica dos materiais sintetizados e a influência do comonômero sobre o desempenho térmico do produto. Os resultados obtidos estão sumarizados na Figura 4.6, que apresenta as curvas de TG do PMMA puro e de amostras preparadas com os diferentes comonômeros. As curvas de TGA mostram que acima de 180 °C, o homopolímero começa a se degradar, ou seja, é o início da despolimerização de metacrilato de metila (MMA) (LUCAS *et al.*, 1993). A decomposição dos copolímeros inicia a uma temperatura maior que a do PMMA. Estes resultados mostram que a presença dos comonômeros catiônicos aumentou a estabilidade térmica do produto final em todos os casos.

A curva de DTG (derivada da curva TGA) do PMMA puro mostra que a temperatura em que ocorre a velocidade máxima de perda de massa é próxima de 370 °C, como esperado (PAIVA, 2017), enquanto para os copolímeros é aproximadamente 400 °C. Todas as amostras apresentam dois estágios de degradação, no primeiro com uma perda de massa na faixa de 22-30% se estende até 315 °C e o segundo estágio na faixa de 67-75%. Esse resultado tem importância prática e incentiva o uso dos comonômeros catiônicos para preparação do produto final.

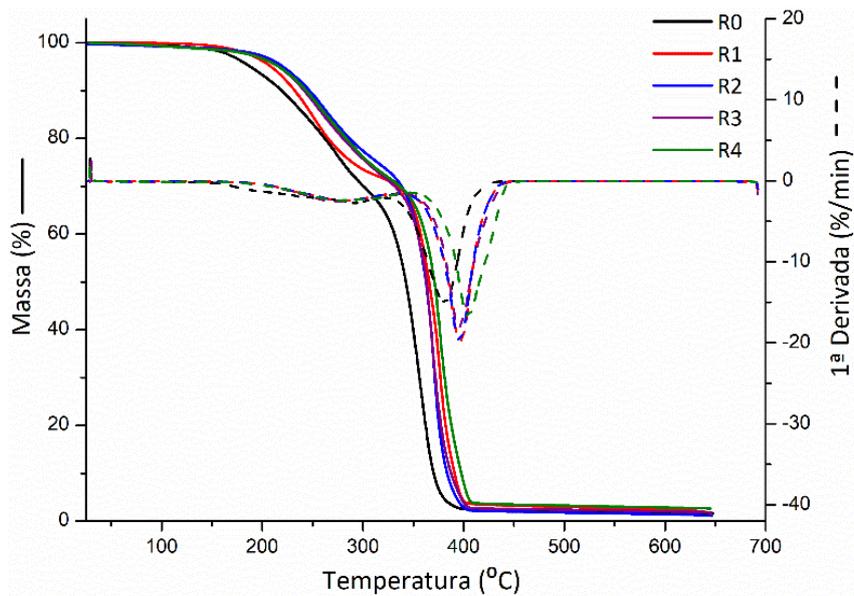


Figura 4. 6 - Análise termogravimétrica de amostras dos produtos preparados com o Meio I. (R0) PMMA (R1) P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 (R2) P(MMA-co-DMAEMA) 90-10 (R3) P(MMA-co-DEAEMA) 95-5 (R4) P(MMA-co-DEAEMA) 90-10.

As análises de DSC usadas para caracterizar a temperatura de transição vítrea (T_g) das amostras. As curvas de DSC da Figura 4.7 não indicaram qualquer deslocamento significativo para temperaturas menores, por conta da presença dos monômeros catiônicos, sendo determinada a T_g em torno de 105 °C. A T_g reportada na literatura para o PMMA é aproximadamente igual a 112,9 °C, enquanto são iguais a 18,5°C e 19,85 °C para o PDMAEMA e PDEAEMA, respectivamente (ROY *et al.*, 2013) (KANELLOU e SPILIOTI, 2015). Esses resultados são provavelmente associados ao baixo teor utilizado dos comonômeros catiônicos e à possível formação de blocos de PMMA que controlam a T_g do produto final.

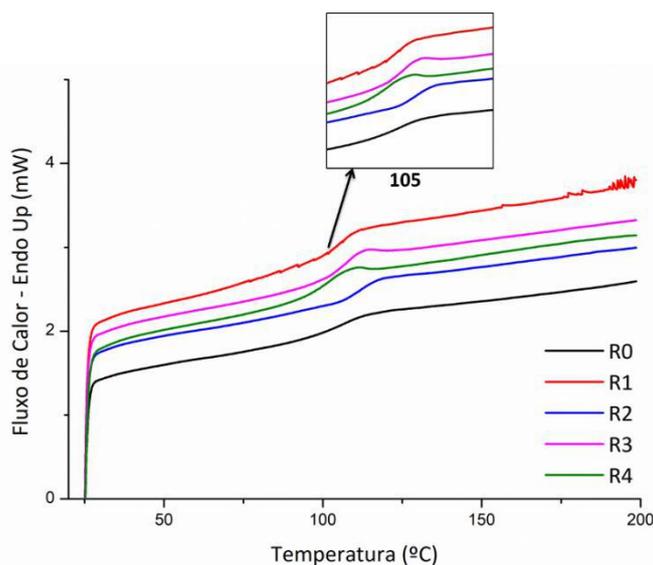


Figura 4. 7– Curvas de DSC para amostras dos produtos finais das reações conduzidas com o Meio I. (R0) PMMA (R1) P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 (R2) P(MMA-co-DMAEMA) 90-10 (R3) P(MMA-co-DEAEMA) 95-5 (R4) P(MMA-co-DEAEMA) 90-

10

4.2.5 Ressonância Magnética Nuclear

A técnica de H-RMN foi aplicada para avaliar a incorporação dos comonômeros nas nanopartículas poliméricas finais. As Figura 4.8, 4.9 e 4.10 mostram espectros de RMN de amostras das nanopartículas copoliméricas obtidas e as estruturas químicas, assim como os átomos de hidrogênio sinalizados e utilizados nos cálculos.

Segundo PAVIA *et al.* (2001), os deslocamentos químicos localizados em 0,8 a 1,5 ppm estão relacionados com os hidrogênios dos grupos metila (A3, B3) e dos grupos metilênicos (A1, B1). Ademais, os sinais posicionados em aproximadamente 3,6 ppm está relacionado ao hidrogênio da metila do éster do PMMA, enquanto o sinal localizado 4,1 ppm é típico dos comonômeros está associado ao hidrogênio presente no grupo O-CH₂-R (ROY *et al.*, 2013; KANELLOU e SPILIOTI, 2015; MANGANIELLO *et al.*, 2012).

Os cálculos da quantidade incorporada por H-RMN estão detalhados no APENDICE II e baseou-se na área do pico referente aos átomos de hidrogênio presentes no grupo metila do éster do PMMA (A2) e na área do pico referente aos átomos de hidrogênio existentes no grupo O-CH₂-R característico dos comonômeros (B2). Os valores das áreas respectivas foram divididas pelo número de átomos de hidrogênios

associados ao pico (3 para A2 e 2 para B2). Foi observada uma boa formação de copolímeros e altas incorporações em massa, em relação aos teores nominais iguais a 3,64% e 7,52% para DMAEMA e 4,46 e 8,49% para DEAEMA. Os resultados obtidos estão de acordo com os resultados reportados por ROY *et al.* (2013) e PEIXOTO (2013), que observaram altas taxas de incorporações de DMAEMA em nanopartículas de P(MMA-co-DMAEMA). Esse resultado é muito importante do ponto de vista prático porque confirma a incorporação de comonômero no produto final em grandes quantidades.

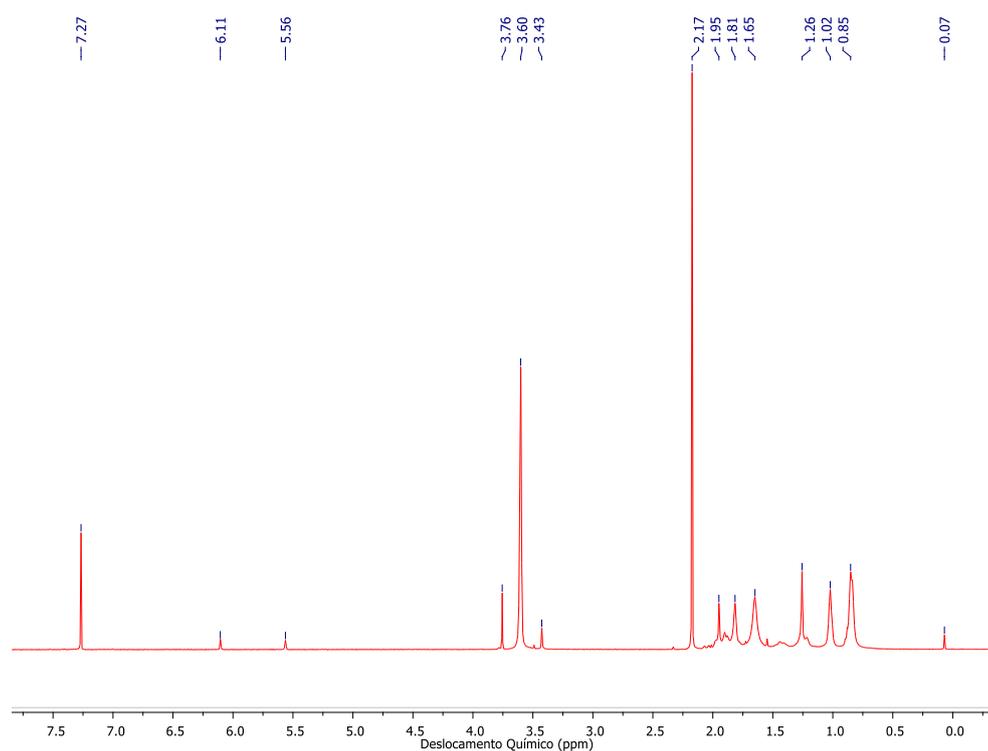


Figura 4. 8 - Espectro de H-RMN do produto final da reação de PMMA.

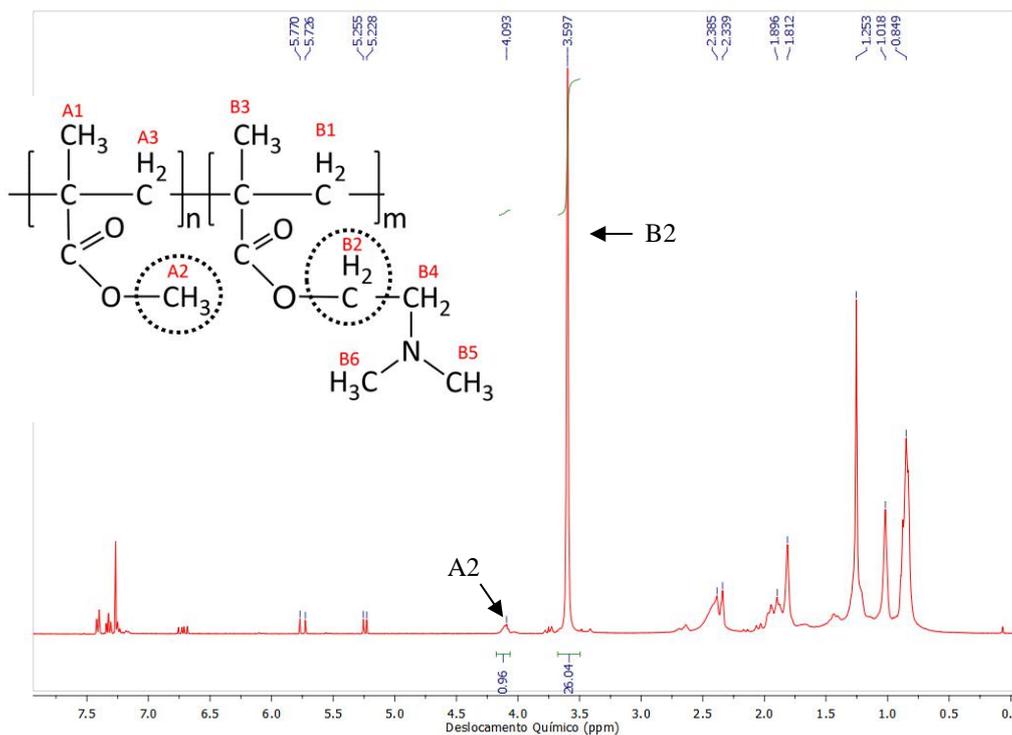


Figura 4. 9 - Espectro de H-RMN do produto final da reação de P(MMA-co-DMAEMA) 90-10.

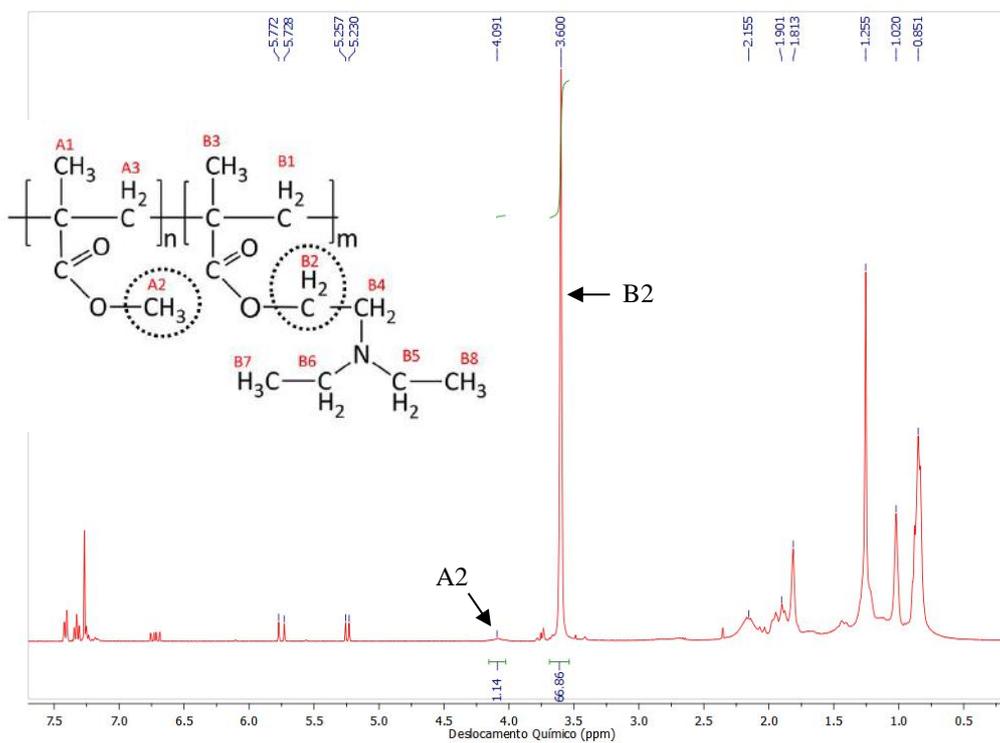


Figura 4. 10 - Espectro de H-RMN do produto final da reação P(MMA-co-DEAEMA) 90-10.

4.2.6 Nanopartículas dopadas com Praziquantel

Com base nos resultados apresentados, pode-se afirmar que as nanopartículas poliméricas de P(MMA-co-DMAEMA) e P(MMA-co-DEAEMA) foram satisfatoriamente obtidas pela técnica de polimerização em miniemulsão na presença de um surfactante aniônico, apresentando boa estabilidade. Além disso, a metodologia empregada permitiu obter copolímeros com boa taxa de incorporação, potencializando seu uso como carreadores de fármacos. Diante deste resultado, foi iniciada a etapa de estudo da incorporação do praziquantel (10%) em massa em relação à carga orgânica, adotando a metodologia acima descrita.

Os experimentos conduzidos com a formulação P(MMA-co-DMAEMA)95-5 foram avaliados na presença de dois iniciadores, sendo um solúvel em água (KPS) (R5) e outro na fase orgânica (AIBN). O objetivo foi o de verificar se a iniciação na fase aquosa poderia afetar a reação, dado que os comonômeros são parcialmente solúveis em água. Observou-se uma redução de cerca de 30% na conversão final do monômero na presença do fármaco, utilizando KPS (Figura 4.11).

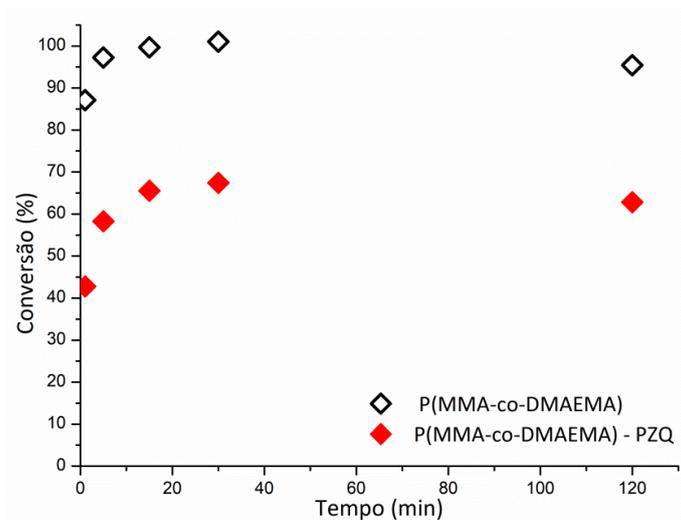


Figura 4.11 - Perfil de conversão nas reações P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 conduzidas na presença e ausência de 10% PZQ em relação à carga orgânica

Com base na Figura 4.11, o fármaco parece exercer um efeito inibidor relevante na cinética da reação. A presença do PZQ no meio pode modificar a resistência difusional e superficial para os radicais no processo de adsorção/dessorção, modificando as taxas de polimerização. Como a molécula do PZQ é complexa e multifuncional, diferentes interações podem ocorrer com os radicais, fazendo com que a taxa de reação menor.

OLIVEIRA *et al.* (2012) notaram que a presença de doxorrubicina afeta a taxa de copolimerização de PVAc-co-PMMA, gerando conversões mais baixas. FONSECA (2012) observou também uma cinética mais lenta com o aumento do teor de PZQ nas nanopartículas de PMMA, atingindo conversões em torno de 60%, muitos similares as que foram aqui obtidas. No entanto, na presença de AIBN as reações PMMA-PZQ (R6), P(MMA-co-DMAEMA) (R7) e P(MMA-co-DMAEMA)-PZQ (R8) resultaram em altas conversões, conforme revelado na Figura 4.12. Provavelmente, o caráter apolar do iniciador e a ausência da migração de radicais da fase aquosa para a fase orgânica minimizam as interações com o fármaco e reforçam a interpretação de que o efeito inibitório pode estar associado às taxas de sorção e desorção de radicais. Esse resultado é muito importante e sugere que as nanopartículas carregadas com PZQ sejam produzidas com iniciadores hidrofóbicos, como AIBN.

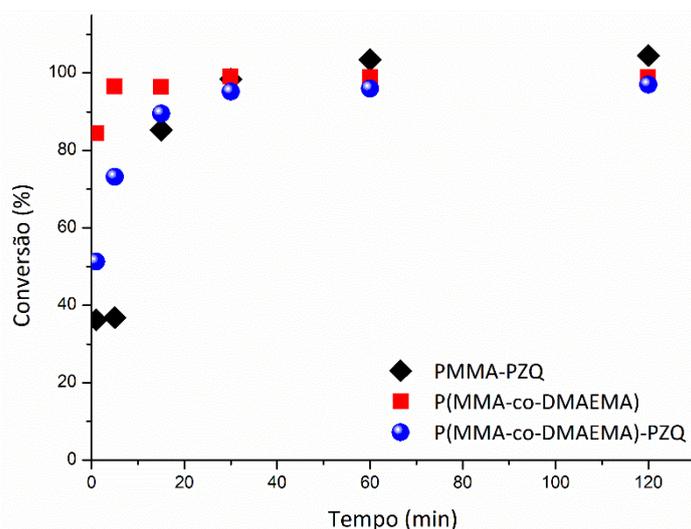


Figura 4.12 – Perfis de conversão dos produtos obtidos na presença de AIBN nas reações PMMA-PZQ e P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 na presença e ausência de 10% PZQ em relação à carga orgânica.

Nas Figura 4.13 e 4.14 estão apresentadas as distribuições de tamanho de partículas das nanopartículas obtidas nessa etapa. Os resultados apresentados na Figura 4.13 para a reação P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 –PZQ (R5) mostram o deslocamento para tamanhos maiores, indicando uma instabilidade ao longo da reação ou a ocorrência de nucleação micelar. Observou-se que 4h após o término da reação, o látex coagulou, reforçando a possível instabilidade do meio. A aglomeração indica que as forças de Van der Waals superaram as forças de repulsão, no caso estudado e que a presença do PZQ pode afetar a estabilidade do meio reacional.

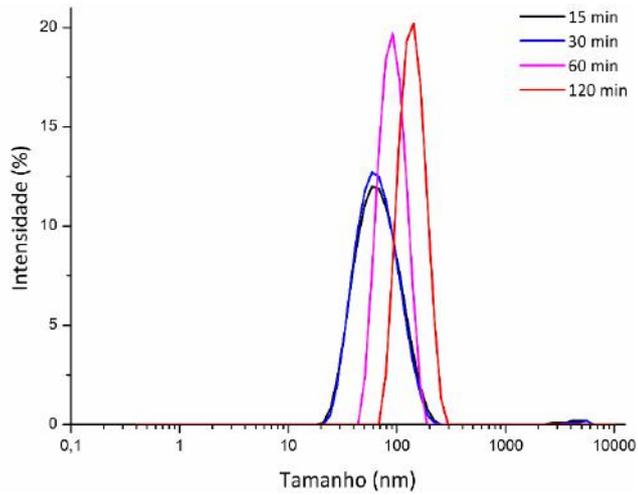


Figura 4.13 - Distribuições de tamanhos de partícula do produto final da reação R5, conduzida na presença de KPS.

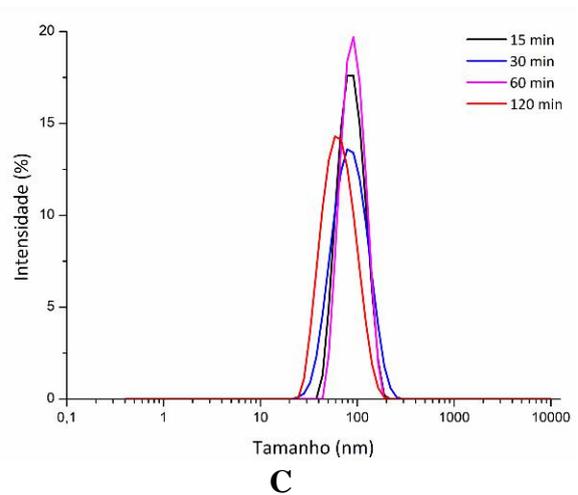
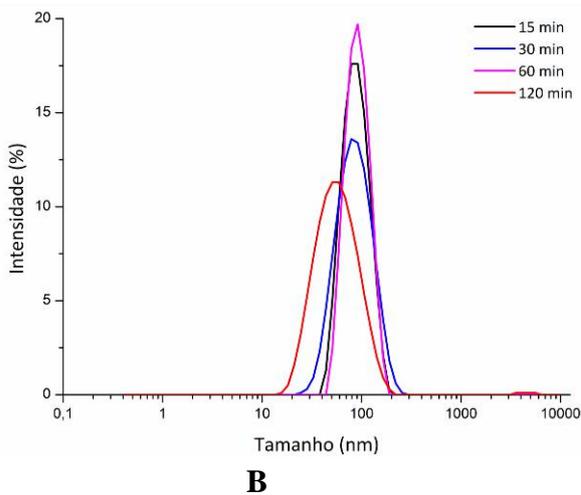
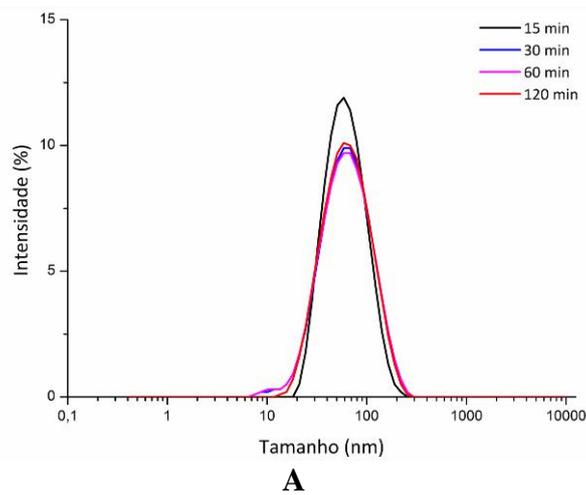


Figura 4.14 - Distribuições de tamanho de partícula obtidas na presença de AIBN nas reações (a) PMMA-PZQ (b) P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 (c) P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 -PZQ.

A Figura 4.14 mostra que as DTPs dos produtos finais iniciados na presença de AIBN eram monomodais e não apresentaram deslocamentos muito significativos ao longo da reação. Isso reforça a interpretação de que a reação segue o processo clássico de miniemulsão de forma predominante. Observou-se que 24h após o término da reação ocorreu uma aglomeração com as nanopartículas de P(MMA-co-DMAEMA) na presença de PZQ, constatando-se que o fármaco afeta o equilíbrio de cargas e a estabilidade do meio. A Figura 4. 15 ilustra os aspectos dos látices obtidos na presença do PZQ.



Figura 4. 15 - Aspectos dos látices obtidos na presença de PZQ.

ZHANG *et al.* (2015) também observaram diferenças na produção de nanopartículas de poliacrilonitrila (PAN) na presença dos iniciadores KPS e AIBN. Os resultados indicaram que a estabilização mais eficiente das nanopartículas foi possível para o sistema AIBN-LSS. Como a taxa de polimerização do monômero era mais baixa nesse caso, tanto a aglomeração de radicais oligoméricos do núcleo primário quanto o crescimento das partículas eram mais lentos, facilitando a estabilização. No sistema preparado com KPS, os radicais livres gerados na fase aquosa podem iniciar a polimerização e gerar oligômeros, afetando a estabilidade e qualidade do produto final. Resultados similares foram encontrados por GUO e ZETTERLAND (2011).

PEIXOTO *et al.* (2016) estudaram a influência do iniciador solúvel em água (KPS) e na fase orgânica (BPO) com monômeros hidrofílicos e concluíram que a combinação de iniciador orgânico com monômeros parcialmente solúveis em água pode resultar no controle melhor do mecanismo de nucleação. HU *et al.* (2014) obteve nanopartículas de P(S-co-DMAEMA) com boa estabilidade e altas conversões via técnica de polimerização em emulsão, utilizando como iniciador AIBN, LSS como surfactante e

um fármaco hidrofóbico. De forma geral, parece unânime a observação de que o uso de iniciadores hidrofóbicos ou hidrofílicos pode afetar de distintas formas a evolução da reação.

Na Tabela 4.5 estão dispostos os valores de potencial zeta, massa molar e tamanho médio da partícula dos produtos finais dopados com PZQ. Observa-se o aumento do diâmetro médio com a incorporação do PZQ na reação R5 como observado por MOUSTAFA *et al.* (2012). A presença do fármaco induz ainda uma leve redução do valor absoluto do potencial zeta, refletindo o efeito do PZQ sobre o balanço de cargas. Segundo a literatura, valores absolutos de potencial zeta acima de 60 mV proporcionam excelente estabilidade; acima de 30 mV proporcionam boa estabilidade; cerca de 20 mV proporciona estabilidade a curto prazo; enquanto valores entre -5 mV e +5 mV indicam rápida agregação (HONARY e ZAHIR, 2013). Esses dados ajudam a explicar o efeito deletério da presença do PZQ sobre a estabilidade do látex.

Tabela 4.5 - Propriedades dos produtos finais obtidos na presença e ausência de PZQ com iniciador KPS e AIBN.

Reações	Legenda	Massa Molar			Tamanho médio da partícula		Potencial Zeta
		$M_n \times 10^3$ (Da)	$M_w \times 10^3$ (Da)	IP (M_w/M_n)	(d. nm)	IP	
R5	P(MMA-co-DMAEMA) PZQ*	491	995	2,02	133,2±0,6	0,05	-28,61 ± 1,35
R6	PMMA-PZQ	58	186	3,18	54,2±0,5	0,21	- 44,0 ± 3,0
R7	P(MMA-co-DMAEMA)	26	108	4,13	50,3±0,22	0,18	-29,91 ± 1,43
R8	P(MMA-co-DMAEMA) PZQ	30	77	2,56	60,1±0,10	0,12	-19,31 ± 0,35

*Iniciador KPS

As distribuições de massas molares dos produtos obtidos na presença de PZQ são mostrados na Figura 4.16 e sugerem a influência do fármaco sobre a cinética da polimerização. Além do efeito inibidor do fármaco, observaram-se massas molares menores na presença do fármaco, associado a mecanismos de transferência de cadeia mencionados na Seção 2.4.1. O praziquantel pode atuar como um agente de transferência de cadeia doando prótons para as cadeias em crescimento, por conta dos múltiplos grupos funcionais. FONSECA (2012) e PAIVA (2017) também destacaram esse efeito do PZQ sobre a cinética de polimerização. A presença dos comonômeros causa também redução

das massas molares, indicando a possível existência de mecanismos distintos de interação do PZQ com os radicais terminados por cada um dos monômeros estudados.

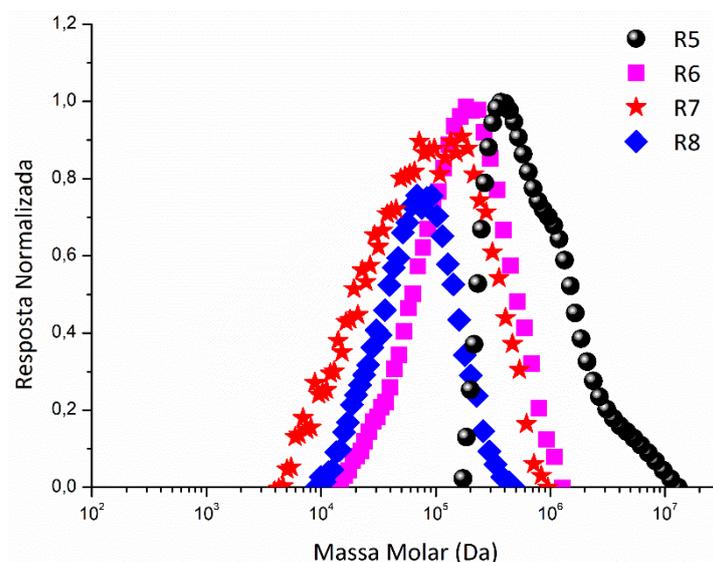


Figura 4.16 - Distribuições de massas molares dos produtos finais das reações (R5) P(MMA-co-DMAEMA) PZQ-KPS, (R6) PMMA-PZQ, (R7) P(MMA-co-DMAEMA) 95-5, (R8) P(MMA-co-DMAEMA) 95-5 –PZQ.

4.2.7 Conclusões parciais

As polimerizações conduzidas em miniemulsões compostas por MMA, comonômeros catiônicos, iniciador KPS e surfactante aniônico permitem a síntese de nanopartículas estáveis com tamanhos médios abaixo de 100 nm, e com eficiente copolimerização. No entanto, nas reações conduzidas na presença de praziquantel, a obtenção de um látex estável após o final da reação não foi possível.

A instabilidade do látex, no entanto, não representa necessariamente um obstáculo para a industrialização desta fórmula, uma vez que ao final da polimerização o produto deve ser submetido às etapas de secagem. Observou-se ainda que o uso de AIBN permite a obtenção de produtos com melhor estabilidade na presença do PZQ, indicando que as reações na fase aquosa são relevantes para explicar o andamento da reação.

Com base nestes resultados iniciais, definiu-se que a continuidade do trabalho utilizaria o iniciador AIBN, devido ao seu melhor desempenho, como também relatado por outros autores para outros sistemas reacionais (PEIXOTO *et al.*, 2016; ASUA, 2002).

4.3 Reações de Polimerização – Meio II

Nesta seção serão apresentados os resultados das reações conduzidas com o iniciador AIBN, devido aos resultados apresentados na seção anterior. Com o objetivo de verificar a influência do teor do co-estabilizante na reação, foram realizadas diferentes reações com 10% de fármaco em massa em relação à fase orgânica, na ausência e presença de 10% de óleo em relação à fase orgânica, sendo fixado em 5% em massa a percentagem do comonômero em relação ao MMA. Trabalhos da literatura utilizaram quantidades menores, em torno de 1% do coestabilizantes em relação à fase orgânica (LORCA *et al.*, 2012; MOREIRA *et al.*, 2014; PEIXOTO *et al.*, 2016) enquanto outros trabalhos utilizaram até 30% de óleo na fase orgânica (FONSECA *et al.*, 2013). Com a quantidade de 10% de óleo estabelecida, foi fixado o teor de 5% de comonômero e aumentou-se o teor de fármaco em até 30%. Posteriormente, com a carga de fármaco definida, a carga de comonômero foi aumentada para 20%.

Na Tabela 4.6 estão apresentadas as quantidades que foram mantidas constantes neste bloco de reações. O iniciador AIBN apresenta taxa de decomposição de $k_d = 3,7 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ a 80 °C, menor do que a do KPS ($k_d = 6,9 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ a 80 °C), levando a reações um pouco mais lentas. O iniciador foi utilizado na concentração de 1% em relação ao monômero, exigindo o ajuste das demais quantidades para manter as proporções corretas entre fase orgânica e fase aquosa.

Tabela 4.6 – Composição do meio reacional do Meio II.

Componentes	Quantidade (g)
LSS	1,21
Bicarbonato de sódio	0,073
Água	54,95
AIBN	0,24

4.3.1 Efeito do co-estabilizante

O óleo mineral funciona como um co-estabilizante e agente de pressão osmótica, com a função de minimizar a degradação difusional de Ostwald, que leva à formação de partículas maiores, através da difusão de monômeros das pequenas gotículas para as grandes gotículas. No entanto, este fenômeno pode não influenciar significativamente o

diâmetro médio final da partícula, já que a presença do co-estabilizante diminui a atividade do monômero nas gotas. A Tabela 4.7 exibe a nomenclatura das reações feitas com 0 e 10% de óleo mineral.

Tabela 4.7 - Nomenclatura das reações realizadas para verificar o efeito do óleo mineral.

Reações	Legendas	Óleo Mineral
R9	PMMA	0
R10	PMMA-PZQ	0
R11	P(MMA-co-DMAEMA)	0
R12	P(MMA-co-DMAEMA)-PZQ	0
R13	P(MMA-co-DEAEMA)	0
R14	P(MMA-co-DEAEMA)-PZQ	0
R15	PMMA	10
R16	PMMA-PZQ	10
R17	P(MMA-co-DMAEMA)	10
R18	P(MMA-co-DMAEMA)-PZQ	10
R19	P(MMA-co-DEAEMA)	10
R20	P(MMA-co-DEAEMA)-PZQ	10

A Figura 4.17 mostra que a ausência de óleo retarda um pouco a evolução da conversão, especialmente na presença de praziquantel (R10, R12, R14), em que este efeito é mais pronunciado. Este efeito é mais expressivo para os copolímeros (R12, R14), dificultando o processo de polimerização. A reação R12 foi interrompida após 30 min devido à formação de um aglomerado em torno da haste de agitação e do termopar, conforme apresentado na Figura 4.18. O mesmo fenômeno foi observado na reação R14 que, no entanto, foi levada até o tempo final de 2 horas. Esses resultados sugerem que a carga de óleo mineral deve ser usada, já que ela favorece não apenas a estabilidade do meio, mas também favorece a evolução de reação. Nesse caso, o efeito deve ser devido à diluição de carga na gota.

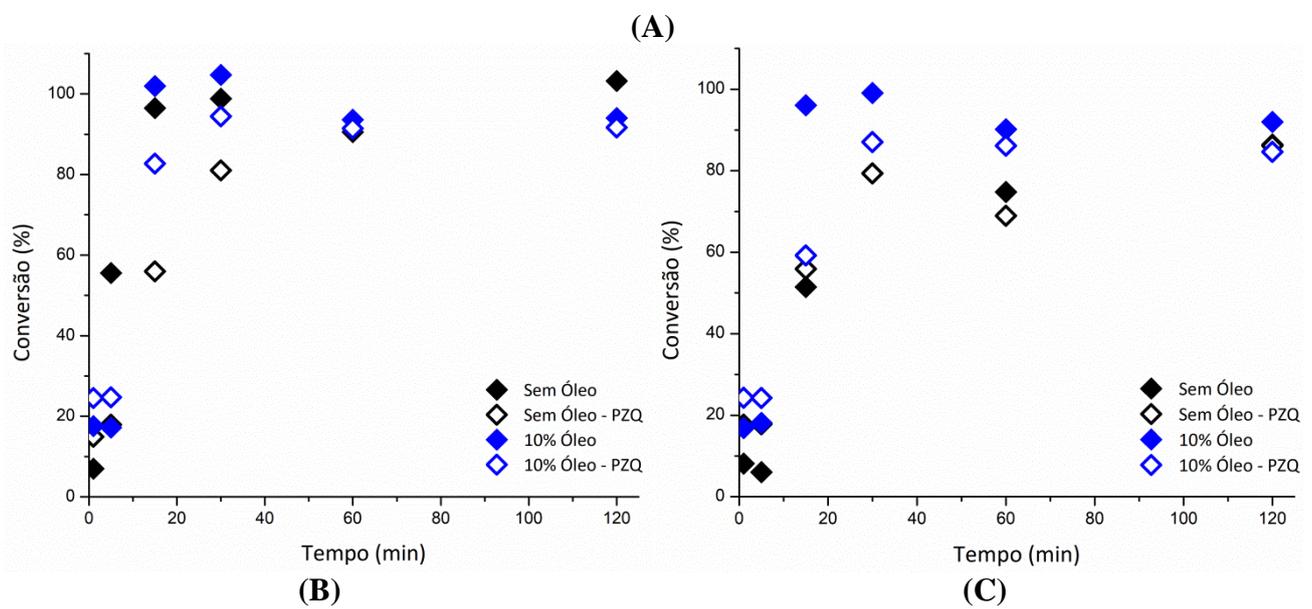
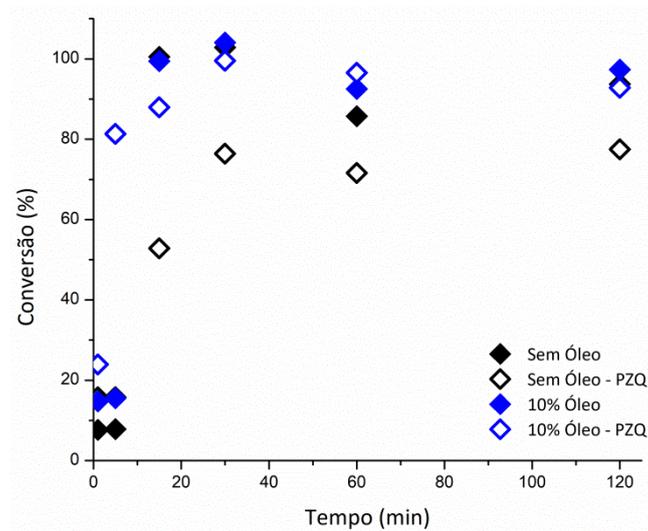


Figura 4.17 - Perfis de conversão nas reações (a) PMMA, (b) P(MMA-co-DMAEMA) e (c) P(MMA-co-DEAEMA) conduzidas na presença e ausência do praziquantel com 0 e 10% de óleo.

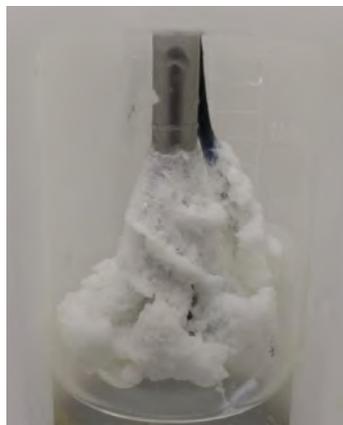


Figura 4.18 - Aspecto do aglomerado observado ao final da reação R12.

Observou-se também em todas as reações, com exceção das reações R12 e R14 que não foram estáveis, que as distribuições de tamanhos das partículas não foram afetadas significativamente pelo teor de co-estabilizante. Nestas duas condições foram obtidas nanopartículas com diâmetros médios em torno de 100 nm, com distribuições estreitas e baixos índices de polidispersão, conforme apresentado na Tabela 4.8 e Figura 4.19. GUO e ZETTERLAND (2011) observaram que a variação de hexadecano (0-7) % em relação ao monômero na produção de nanopartículas de estireno não afetou significativamente o curso das reações. Portanto, pode-se inferir que o fenômeno de degradação de Ostwald não é muito importante nas condições avaliadas, provavelmente por causa das altas taxas de reação.

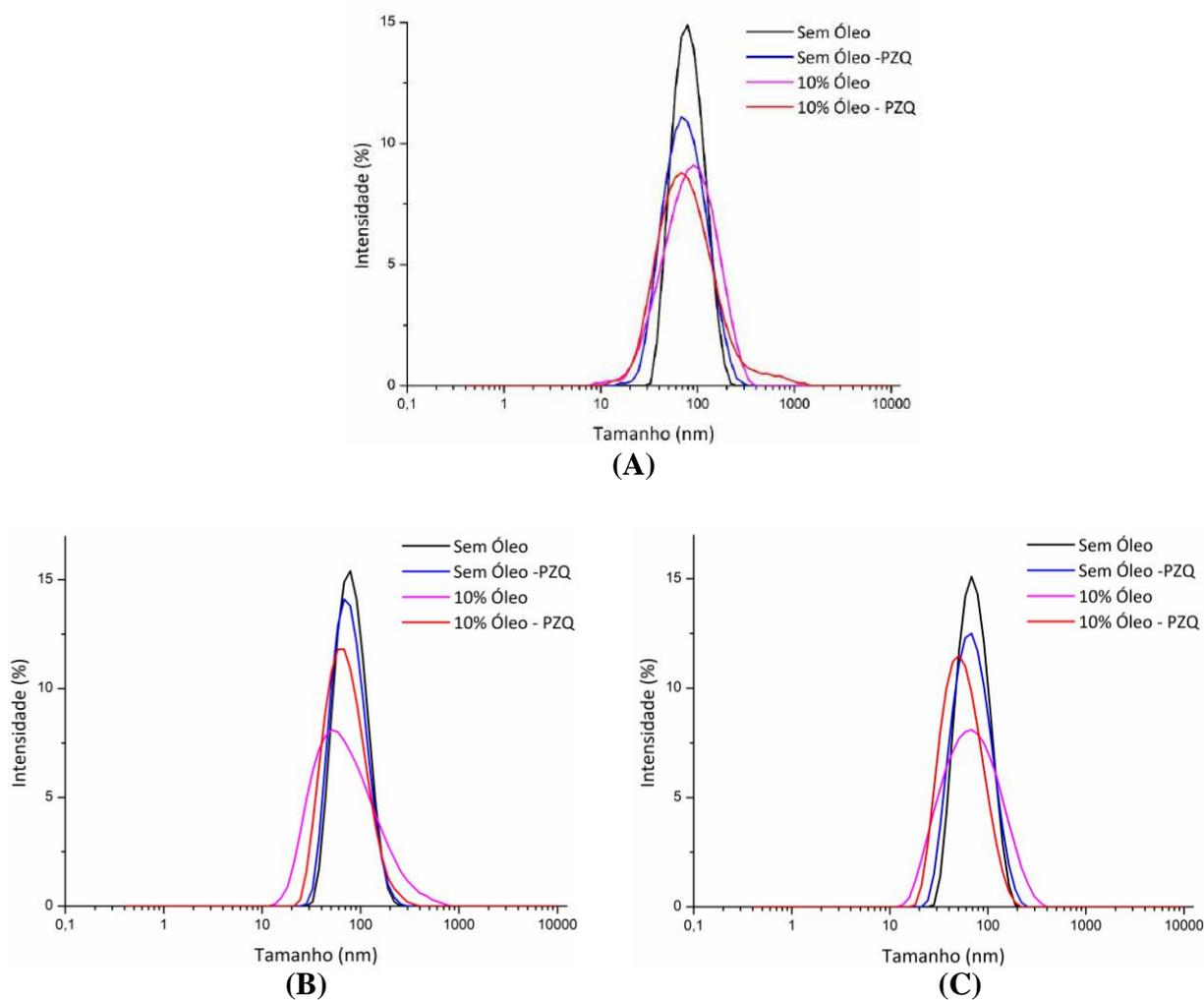
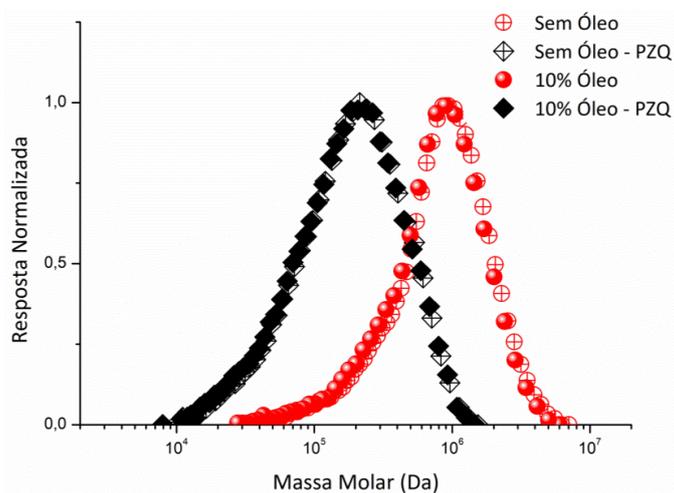
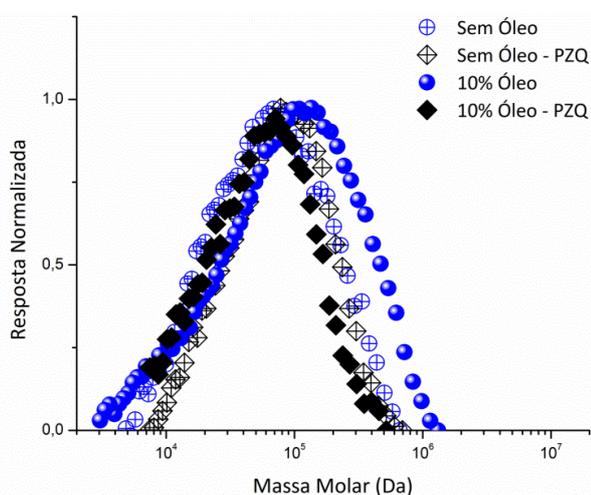


Figura 4.19 - Distribuições de tamanho de partícula dos produtos finais das reações (a) PMMA, (b) P(MMA-co-DMAEMA) e (c) P(MMA-co-DEAEMA) conduzidas na presença e ausência do praziquantel com 0 e 10% de óleo.

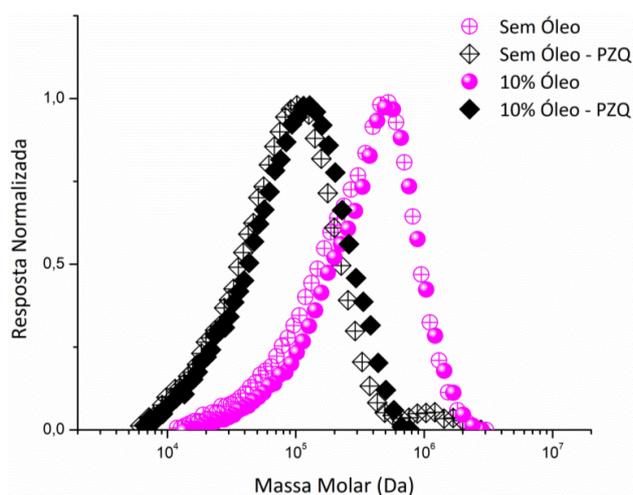
Os perfis das distribuições de massas molares apresentados na Figura 4.20 mostram que o efeito do óleo é pouco relevante, tendo sido observada mudança de distribuição em apenas um caso (Figura 4.20b). Esse efeito reforça a observação de que a adição de óleo é pouco importante para a produção das nanopartículas nas condições avaliadas.



(A)



(B)



(C)

Figura 4.20 - Distribuições de massas molares dos produtos finais das reações (a) PMMA, (b) P(MMA-co-DMAEMA) e (c) P(MMA-co-DEAEMA) conduzidas na presença e ausência do praziquantel com 0 e 10% de óleo mineral.

Os resultados associados à determinação do potencial zeta das nanopartículas, apresentados na Tabela 4.8, mostra uma vez mais a interferência do praziquantel sobre a carga da superfície das partículas copoliméricas, aumentando o valor do módulo de 16,8 para 43,1 (R17 e R18) e de 16,1 para 34,9 (R19 e R20), com consequente aumento da

estabilidade. No entanto, é preciso registrar que foi observada a instabilidade do látex após períodos de 4 horas de término da reação para as nanopartículas de P(MMA-co-DMAEMA) e P(MMA-co-DEAEMA) com praziquantel (R18 e R20), de forma que as partículas avaliadas e mantidas em suspensão podem não representar de fato o sistema. A nanopartícula de PMMA-PZQ (R16) com potencial zeta semelhante às produzidas em R18 e R20 apresentou boa estabilidade após o término da reação, o que sugere que o monômero catiônico pode exercer um papel importante para estabilização do látex.

Tabela 4.8 - Propriedades dos produtos finais obtidos na presença e ausência de PZQ com 0 (R9 a R14) e 10 (R15 a R20) % de óleo mineral em relação à carga orgânica.

Reações	Massa Molar			Tamanho médio da partícula		Potencial Zeta
	Mn x 10 ³ (Da)	Mw x 10 ³ (Da)	IP (M _w /M _n)	(d. nm)	IP	
R9	452	1001	2,21	75,4±0,1	0,1	-
R10	83	215	2,60	67,8±0,2	0,2	-
R11	32	87	2,75	75,0±0,9	0,1	-
R12	44	94	2,12	73,6±5,5	0,2	-
R13	141	379	2,69	66,5±0,1	0,1	-
R14	44	97	2,20	64,1±0,6	0,2	-
R15	410	930	2,26	73,6±1,3	0,3	-38,9±2,3
R16	74	211	2,85	68,1±1,7	0,3	-39,5±7,4
R17	35	144	4,07	57,3±0,4	0,3	-16,8±3,6
R18	33	68	2,07	71,3±4,9	0,3	-43,1±2,2*
R19	159	432	2,71	58,6±1,6	0,3	-16,1±0,6
R20	121	214	2,22	51,7±1,1	0,2	-34,9±4,5*

*Observada a coagulação do látex final.

Os resultados obtidos mostram que a redução do teor original de 23% de óleo usado no Meio I pode ser reduzido para 10%, possibilitando a produção de nanopartículas com melhores propriedades e menor custo. Na ausência de óleo, o processo de aglomeração lenta do látex dificulta a operação e pode inviabilizar a aplicação desta formulação em escala industrial.

4.3.2 Efeito da carga do fármaco e comonômero

As reações a seguir foram realizadas com o objetivo de aumentar os teores de fármaco e de comonômero nas nanopartículas. Numa primeira etapa, foi fixado em 5% a quantidade de comonômero em relação à carga orgânica (DMAEMA ou DEAEMA) e variado o teor de fármaco na faixa de 10-30%. Numa segunda etapa, após o ajuste do teor de fármaco, foi variado o teor de comonômeros na faixa de 5-20%. Os resultados obtidos estão apresentados, ao longo desta Seção e sumarizados nas Tabelas 4.9 a 4.11 e nas Figuras 4.21 a 4.32.

Tabela 4. 9 - Nomenclatura das reações realizadas para verificar o efeito do teor do fármaco e comonômero sobre as propriedades do produto final.

Reações	Legendas	PZQ (%)	DMAEMA(%)	DEAEMA(%)
R21	PMMA-PZQ	20	-	-
T1	PMMA-PZQ	30	-	-
R23	P(MMA-co-DMAEMA)-PZQ	20	5	-
R24	P(MMA-co-DMAEMA)-PZQ	30	5	-
R25	P(MMA-co-DEAEMA)-PZQ	20	-	5
R26	P(MMA-co-DEAEMA)-PZQ	30	-	5
R26	P(MMA-co-DMAEMA)	0	10	-
R27	P(MMA-co-DMAEMA)-PZQ	20	10	-
T2	P(MMA-co-DMAEMA)-PZQ	20	20	-
R28	P(MMA-co-DEAEMA)	0	-	10
R29	P(MMA-co-DEAEMA)-PZQ	20	-	10
T3	P(MMA-co-DEAEMA)-PZQ	20	-	20

No que se refere ao aumento da carga de praziquantel, foi observado que o aumento do teor para 20% em relação à fase orgânica, requer o aumento da temperatura de mistura para 40 °C e uma maior tempo de agitação para a solubilização na fase orgânica. Sabendo que a solubilidade do PZQ em MMA a 25 °C é igual 42,8 mg/mL e 250 mg/mL a 90 °C, (FONSECA *et al.*, 2013) a quantidade de 20% permanece abaixo da concentração de saturação para a temperatura programada no mini-reator, enquanto a carga de 30% fica próxima da concentração de saturação do PZQ em MMA.

As reações R24 e R26, que foram produzidas com comonômeros e 30% de PZQ,

foram interrompidas após 15 min, devido à expressiva aglomeração em torno da haste do reator (Figura 4. 22a). Estes materiais não foram caracterizados porque não foi observada a produção do látex nestes experimentos. No experimento realizado com homopolímero PMMA (T1), o final da reação ($t=2h$) foi alcançado; contudo, observou-se aglomeração logo após a interrupção da agitação.

Para as reações R21, R23 e R25 foram obtidas altas conversões após 30 min de reação, como mostrado na Figura 4. 22. No entanto, como já observado, o efeito inibitório do PZQ parece nítido, com tempos mais longos de reação.

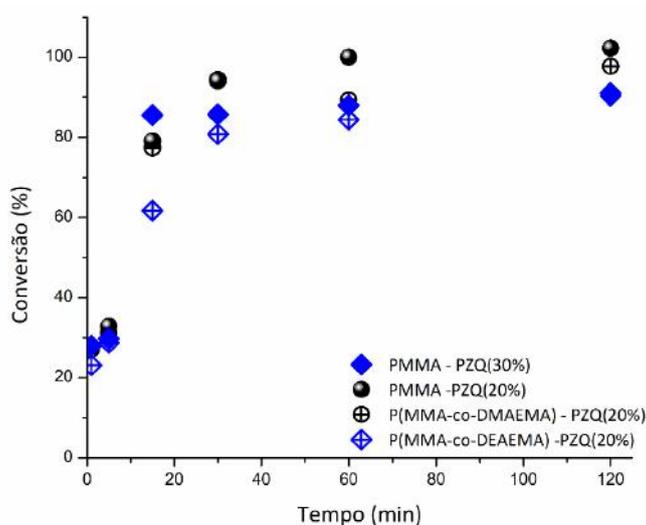


Figura 4. 21 - Perfil de Conversão do PMMA e copolímeros (5%) com PZQ.

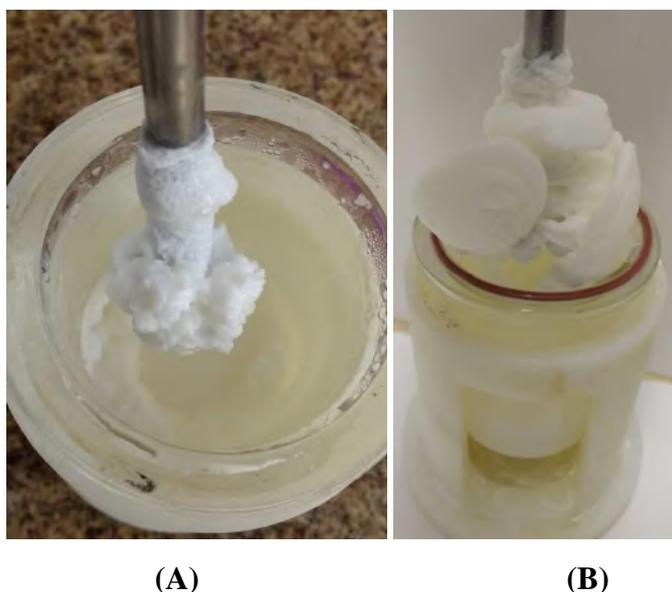


Figura 4. 22 -Aspecto dos aglomerados formados na presença (A) comonômero DMAEMA (5%) com 30% de PZQ e (B) comonômero DMAEMA (20%) com 20% de PZQ.

As análises das distribuições de tamanhos de partícula (Figura 4.23) das amostras com 5% de comonômero e com 20 e 30% de PZQ revelaram distribuições mais largas e intensidades deslocadas para diâmetros maiores, embora os índices de polidispersão tenham ficado abaixo de 1 (Tabela 4.10). Isto provavelmente aponta para uma tendência de aglomeração, o que foi observado 6 horas após o término da reação, induzido pelo PZQ, em função do efeito do fármaco sobre a distribuição das cargas superficiais.

Com base nos resultados de estabilidade, parece claro que a incorporação de 30% de PZQ parece ser excessiva nas condições avaliadas.

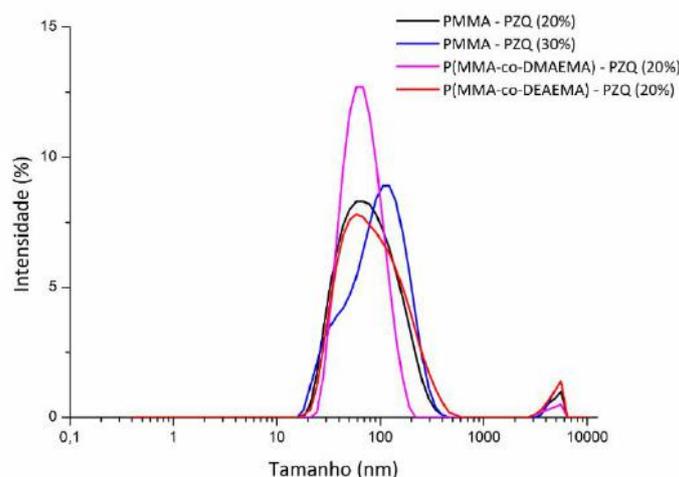


Figura 4.23 - Distribuições de tamanhos de partícula do homopolímero PMMA e dos copolímeros produzidos na presença de 5% de comonômero e com 20 e 30% de PZQ.

Tabela 4.10 - Propriedades dos produtos finais obtidos com 20 e 30% de PZQ.

Reações	Legenda	Tamanho médio da partícula	
		(d. nm)	IP
R21	PMMA-PZQ (20%)	68,8±1,8	0,28
T1	PMMA-PZQ (30%)	81,3±0,3	0,41
R23	P(MMA-co-DMAEMA)95-5 – PZQ(20%)	63,0±0,6	0,20
R25	P(MMA-co-DEAEMA)95-5 – PZQ (20%)	75,9±0,4	0,35

Os resultados associados à avaliação do efeito do teor de comonômero, usando 20% fármaco, são apresentados nas Figuras 4.24 a Figura 4.26. Os experimentos (T2 e T3) foram iniciados usando 20% de comonômero e 20% praziquantel, tendo sido observada aglomeração em torno da haste e do termopar após 15 min de reação, como pode ser visualizado na Figura 4.21b. Este resultado mostra que o aumento do teor de comonômero causou um desequilíbrio de cargas, responsável pela instabilidade da

reação. Essas amostras não foram caracterizadas. É provável que esses sistemas formem partículas do tipo “*hairy particles*” ou partículas “peludas”, que são compostas por um núcleo hidrofóbico e uma camada de cadeias hidrofílicas de polímero que são aderidas na superfície do núcleo por ligações covalentes e estendidas no meio aquoso por conta de suas propriedades hidrofílicas. Essas partículas podem ser projetadas para exibir diferentes estruturas e propriedades, ajustadas para diferentes condições dos meios fisiológicos (LI *et al.*, 2014). Este comportamento pode estar associado a exposição na superfície da partícula dos grupamentos amina dos comonômeros. Partículas do tipo “*hairy*” foram sintetizadas por MARTÍN-FABIANI *et al.* (2016) em polimerização de poli (ácido metacrílico). Em pHs baixos, as cadeias desses polímeros polares são protonadas e permanecem colapsadas contra o núcleo da partícula; à medida que o pH aumenta, as cadeias desprotonam e se estendem.

No que se refere ao efeito do praziquantel sobre a estabilidade da emulsão, o fármaco afeta o equilíbrio de cargas e afeta a estabilidade da emulsão, principalmente no momento em que as taxas são mais elevadas. Por exemplo, alterações foram visualizadas por meio da formação de espuma e aumento de volume do meio reacional, sendo necessário diminuir a temperatura e/ou agitação da reação para manter o controle. VIEIRA (2014) também relatou efeito da na adição de PZQ na reação de polimerização em suspensão de MMA. Dessa forma, as demais reações foram realizadas com 10% de comonômero e 20% de praziquantel. Nestas condições, foram sempre atingidas altas conversões e obtidas nanopartículas poliméricas estáveis após 30 minutos de reação (Figura 4.24).

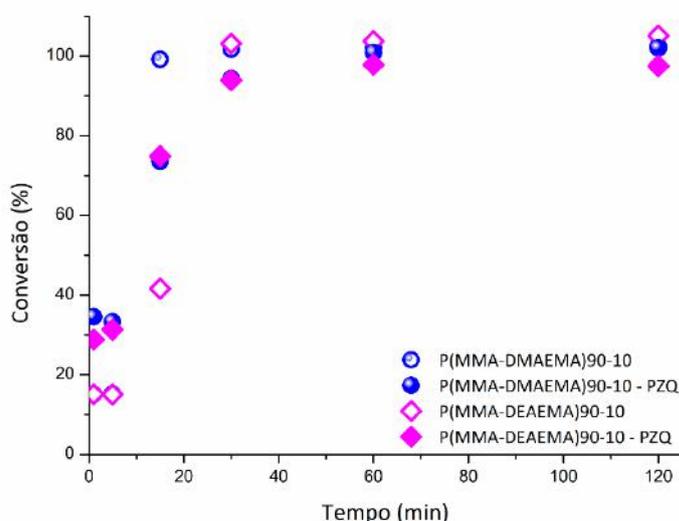


Figura 4.24 - Perfis de conversão nas reações P(MMA-co-DMAEMA) e P(MMA-co-DEAEMA) conduzidas na ausência e presença (20%) de praziquantel.

Os resultados obtidos para distribuições de tamanhos de partícula para as reações R26 a R29, em que foram usados 10% de comonômero e 20% de praziquantel, são apresentados na Figura 4.25. Observa-se que foram geradas nanopartículas com distribuições mais estreitas. Novamente destaca-se o aumento do diâmetro com a incorporação do fármaco. As partículas produzidas na presença de DMAEMA experimentaram alterações mais acentuadas, de 42,1 nm (R26-sem PZQ) para 141,2 nm (R27-com PZQ) com uma população razoável acima de 200 nm, enquanto para o DEAEMA foi de 53,4 nm (R28- sem PZQ) para 87,7 nm (R29- com PZQ).

Estes resultados apresentaram diâmetros maiores que os obtidos para as reações R23 e R25, com a mesma quantidade de PZQ e menor carga de comonômero, indicando que o aumento da carga do comonômero gera mais instabilidade. Neste caso, para as reações R27 e R29 foi observada aglomeração 1h após finalizar a reação. No entanto, essas nanopartículas foram caracterizadas com a finalidade de avaliar melhor os fenômenos ocorridos, já que existem métodos industrialmente empregados para o tratamento das partículas após o fim da reação.

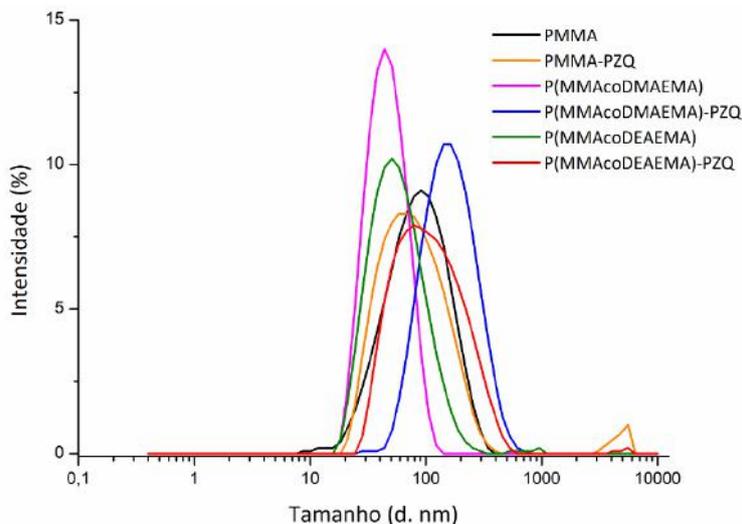


Figura 4. 25 - Distribuições de tamanhos de partícula dos produtos finais das reações conduzidas na presença de 10% comonômeros e 20% de praziquantel.

As distribuições de massas molares apresentadas na Figura 4.26 apontam para o mesmo comportamento relatado anteriormente sobre a influência do praziquantel, DMAEMA, DEAEMA sobre a cinética de polimerização. O aumento dos teores desses

reagentes causou a redução das massas molares, embora tenham sido obtidas altas massas molares, na ordem de 10^5 e 10^6 Da.

FREIBERG e ZHU (2004) observaram várias vantagens para nanoesferas produzidas com altas massas molares. Nesses sistemas, a quantidade de produtos de degradação e a massa do polímero permaneceram essencialmente constantes por longo tempo enquanto que nas esferas constituídas por cadeias de baixa massa molar a quantidade de produtos de degradação aumentou com o tempo, levando também à diminuição de massa do polímero. Além disso, as propriedades térmicas e mecânicas de nanoesferas são menos sensíveis ao método de produção quando apresentam massas molares suficientemente altas.

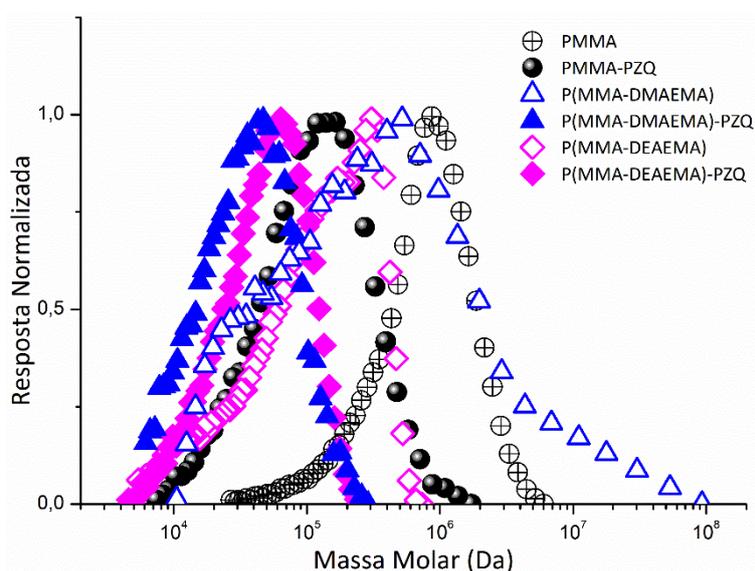


Figura 4.26 - Distribuições de massas molares de produtos finais das reações conduzidas com 10% de comonômero e 20% de praziquantel.

A Figura 4.27 registra os resultados a respeito do efeito do diâmetro médio de partícula sobre as massas molares médias. Observa-se que o aumento do diâmetro médio provoca a diminuição da massa molar média, sugerindo que o mecanismo de polimerização pode ter sido controlado pela teoria clássica de polimerização em emulsão, sendo o efeito de compartimentalização dos radicais nas partículas responsável pela geração de polímeros com alta massa molar. Tal efeito não foi observado quando o iniciador KPS foi usado. Observando-se um resultado contrário ao observado com o iniciador AIBN, sua hidrofobicidade permitiu um melhor confinamento do radical na gota de monômero. De qualquer forma, é importante observar uma vez mais que o PZQ

interage com o sistema reacional, exercendo papel clássico de agente de transferência de cadeia.

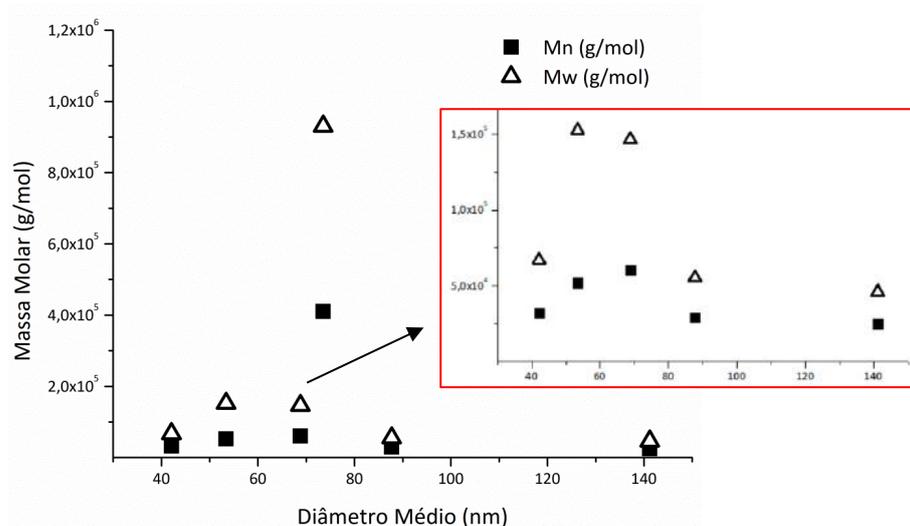


Figura 4. 27 - Efeito do diâmetro médio da partícula nas massas molares médias nas reações conduzidas com 10% de comonômero e 20% de PZQ.

As análises térmicas permitiram avaliar as interações do fármaco com o polímero. A curva de DSC do praziquantel, apresentada na Figura 4.28, mostra um pico endotérmico em 140,65 °C, que é característico do ponto de fusão da mistura racêmica do fármaco conforme registros da literatura (ANVISA, 2010; TRASTULO *et al.*, 2015; MAINARDES *et al.*, 2006). Devido ao estado amorfo do polímero não se observa nenhum pico de fusão para as nanopartículas. Na Figura 4.28, as nanopartículas (R21, R27) carregadas com o fármaco também não mostraram o pico endotérmico característico do praziquantel. Este resultado mostra que o fármaco está disperso no seu estado amorfo na matriz polimérica, o que é adequado para aplicações de liberação de fármaco. Enquanto, a nanopartícula derivada da reação R29 (PMMA-co-DEAEMA-PZQ) apresenta o pico endotérmico com menor intensidade deslocado para esquerda, sugerindo indícios de cristais de PZQ. O deslocamento do pico de fusão do PZQ provavelmente está associado ao PMMA, pois nesse sistema se comporta como um diluente.

As análises de caracterização por FTIR foram realizadas para avaliar possíveis interações entre fármaco e polímero por meio das alterações na frequência e intensidade dos picos de absorção de vibrações características de grupamentos químico da amostra. (MAINARDES *et al.*, 2006). No entanto a copolimerização não pode ser identificada por esta técnica devido a sobreposição das bandas, uma vez que PMMA, PDMAEMA e

PDEAEMA possuem um grupo carbonila C=O associados à banda posicionada em 1720 cm^{-1} (HU *et al.*, 2014).

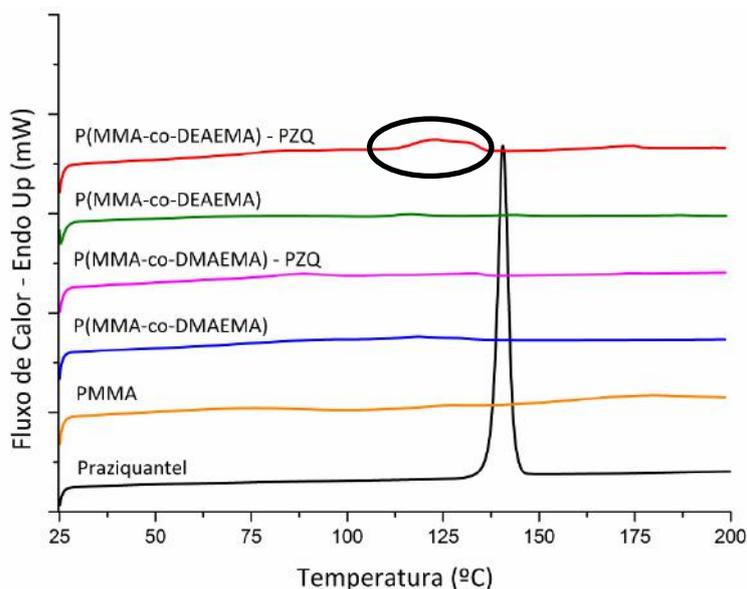


Figura 4. 28 - Termogramas de DSC dos produtos finais das reações conduzidas com 10% de comonômero e 20% de praziquantel.

A Figura 4.29 mostra o espectro de FTIR do praziquantel livre e das nanopartículas produzidas nas reações R15, R26, R27, R28 e R29, mostrando bandas características dos seus grupos funcionais do fármaco. As absorções fortes em 2900 cm^{-1} e 3000 cm^{-1} correspondem aos grupos $-\text{CH}$, $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$, com bandas localizadas em 1640 cm^{-1} ($-\text{C}=\text{O}$), 1000-1350 cm^{-1} ($-\text{C}-\text{N}$) e 1630 cm^{-1} (anel aromático), conforme reportado na literatura (TRASTULO *et al.*, 2015; MAINARDES *et al.*, 2006). As demais bandas estão relacionadas com absorção dos grupos funcionais constituintes da estrutura polimérica. A banda localizada em aproximadamente 2950 cm^{-1} corresponde à ligação C-H dos carbonos alifáticos, $\text{O}-\text{CH}_3$ (2850-2815 cm^{-1}), $-\text{C}=\text{O}$ (1650-1790 cm^{-1}), $-\text{CH}_3$ (1430-1470 cm^{-1}), de acordo com SHI *et al.* (2015) e MENDES *et al.* (2012).

Os resultados de FTIR mostram semelhança para os espectros das nanopartículas poliméricas, uma vez que ambos possuem bandas características semelhantes. Os espectros das nanopartículas carregadas com praziquantel mostram a banda localizada em 1640 cm^{-1} , referente ao fármaco, sugerindo a presença de fármaco e a ausência de interação química entre fármaco e polímero, resultado que reafirma a observação da caracterização por DSC.

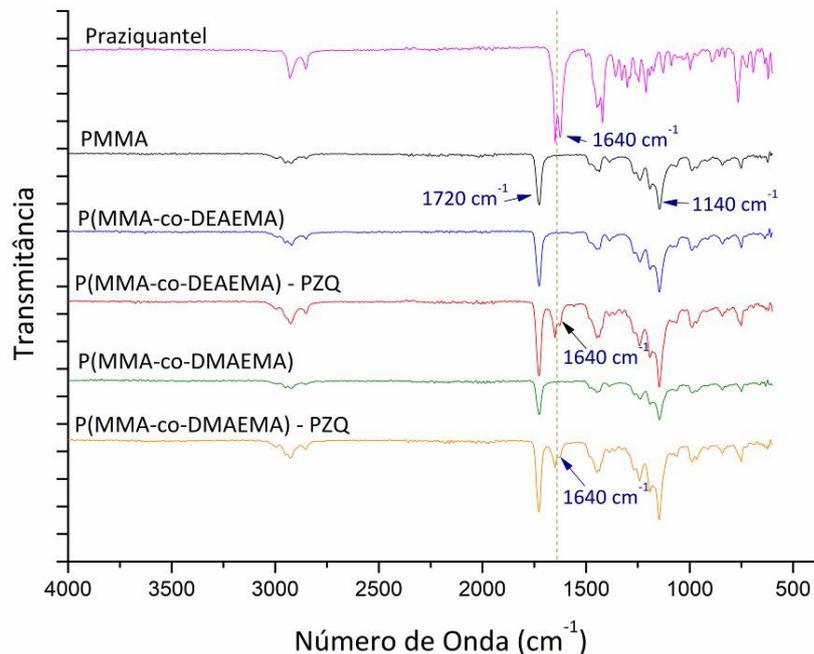
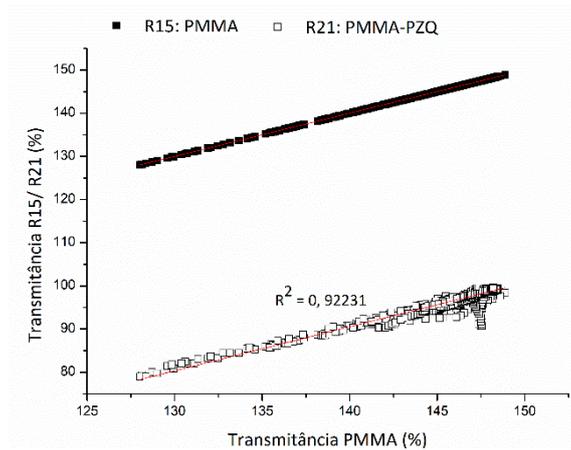


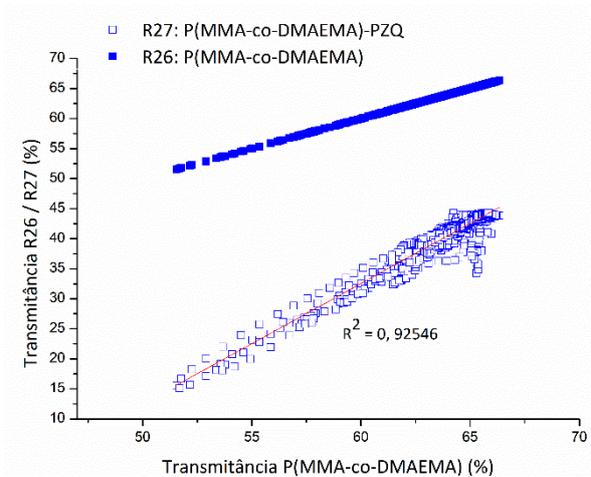
Figura 4. 29 – Espectros de FTIR dos produtos finais das reações conduzidas com 10% de comonômero e 20% de PZQ.

A Figura 4.30 mostra os espectros de correlação dos produtos obtidos em relação aos espectros dos produtos obtidos sem PZQ, ficando claro que a presença do PZQ perturba os espectros, confirmando a sua presença.

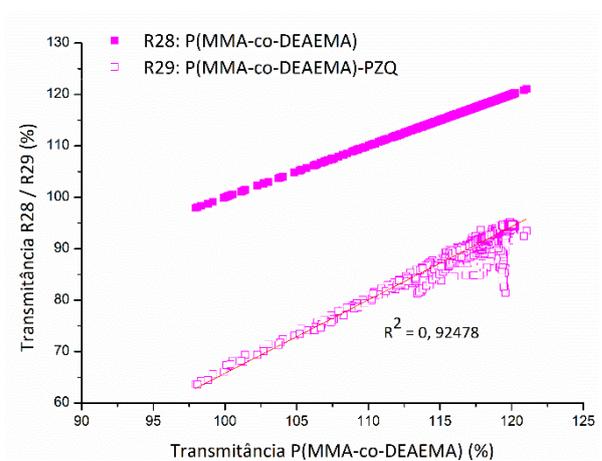
ARAÚJO *et al.* (2017) estudaram o efeito do óleo de soja para produção de dispersões líquidas de praziquantel e observaram que fármaco pode interagir tanto com a fase oleosa quanto com o surfactante na interface óleo/água. Dessa forma, os autores sugerem que uma quantidade do fármaco fica adsorvida no filme de surfactante. Assim, a ancoragem de PZQ na interface óleo/água poderia induzir uma adsorção competitiva com moléculas de surfactantes, deslocando-as e induzindo um efeito desestabilizador.



(A)



(B)



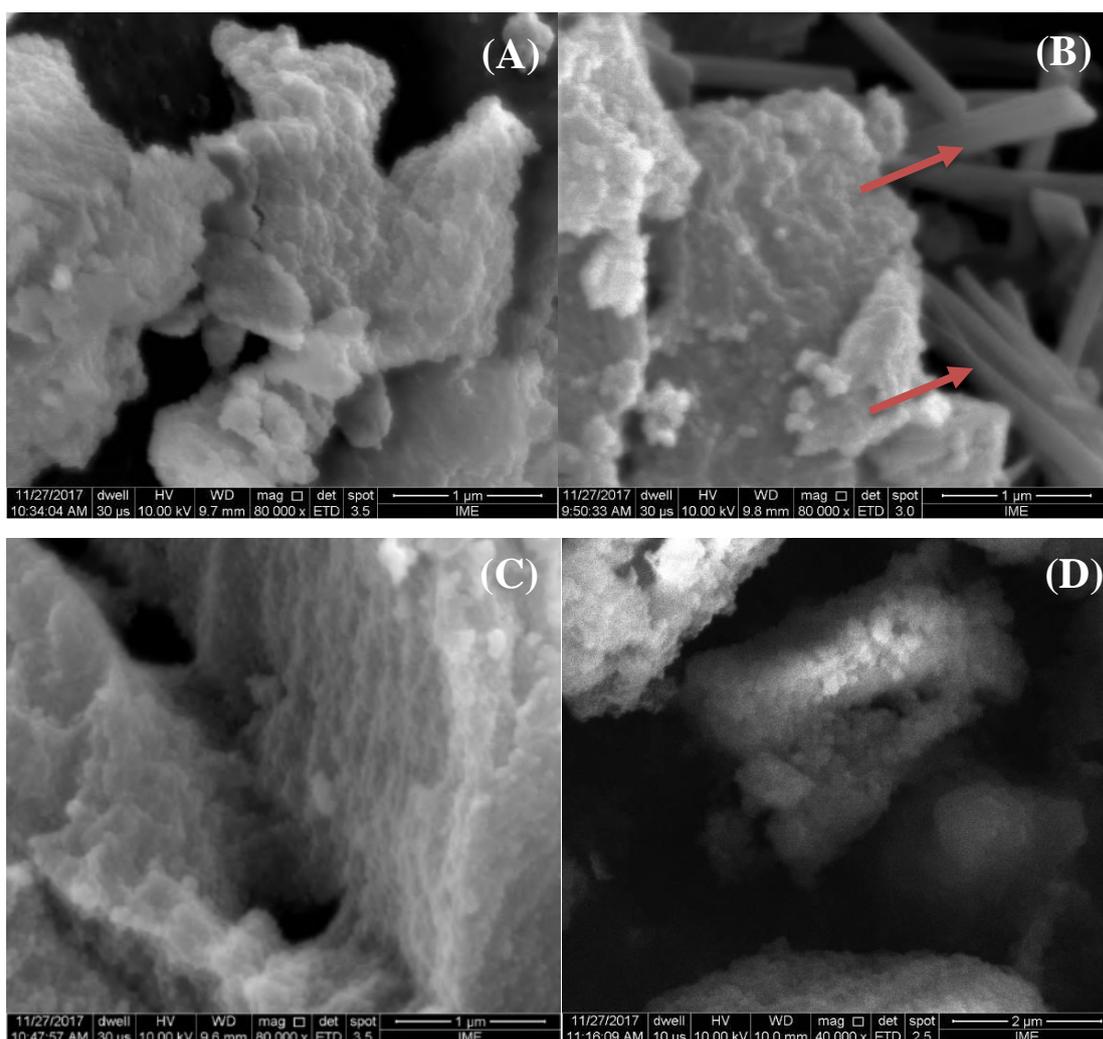
(C)

Figura 4.30 - Correlação entre as transmitâncias dos espectros de FTIR dos produtos finais obtidos nas reações com 10% de comonômero (a) PMMA, (b) P(MMA-co-DMAEMA) e (c) P(MMA-co-DEAEMA), com e sem PZQ.

As micrografias para as partículas R15, R21, R26-R29, amostras preparadas com teores máximos de PZQ e comonômeros, estão apresentadas na Figura 4.32. As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV), que propiciam conhecimento sobre a morfologia e tamanho, mostram diferentes estruturas na forma de aglomerados e bastões. Durante as análises de MEV, houve dificuldades para a geração de imagens com boa resolução devido ao carregamento eletrostático, proveniente do acúmulo de cargas na amostra. As imagens, obtidas com uma régua de 1 μ m, possibilitaram a visualização das nanopartículas aglomeradas, comportamento comum após processo de secagem segundo registros da literatura (HUNTER *et al.*, 2012; ULBRICH *et al.*, 2016). Nas imagens das partículas com praziquantel, podem ser identificados bastões referentes aos cristais do

fármaco sinalizados por setas, assim como verificado por FONSECA *et al.* (2013a) e LORENA (2014).

Os cristais estão associados com a existência de praziquantel não encapsulado ou originados à sua cristalização de PZQ dissolvido na água. COSTA *et al.* (2016) observaram que o PVP aumentou a solubilidade do fármaco na presença de água utilizada na composição do solvente, induzindo a recristalização. ARAÚJO *et al.* (2014) observaram o efeito similar em emulsões O/A.



(Figura 4.31 – Micrografias das nanopartículas obtidas ao final das reações (A)R15: PMMA, (B)R21: PMMA-PZQ (C) R26:P(MMA-co-DMAEMA), (D) R27:P(MMA-co-DMAEMA)-PZQ, (E) R28:P(MMA-co-DEAEMA), (F) R29:P(MMA-co-DEAEMA)-PZQ - continua na próxima página).

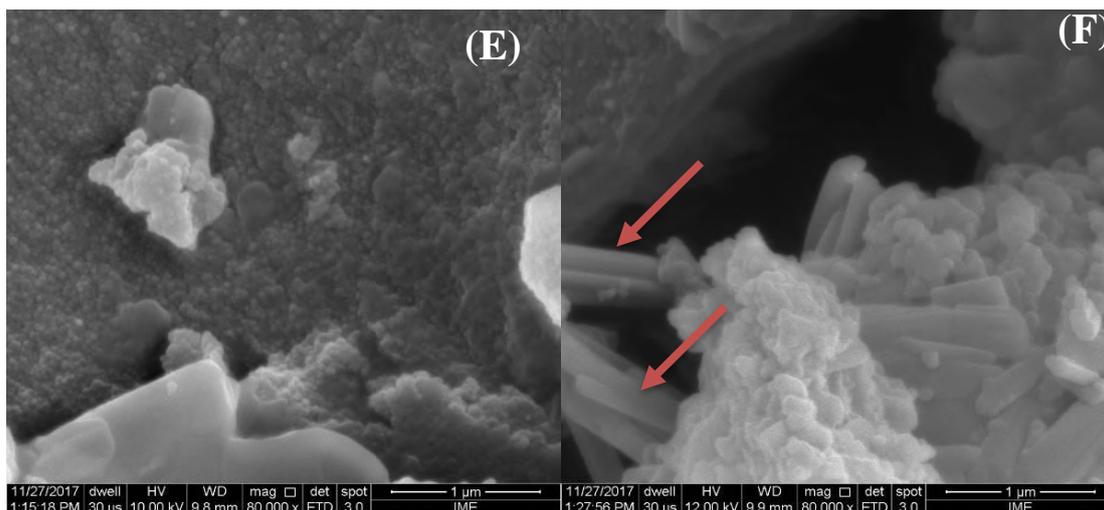


Figura 4.32 - Micrografias das nanopartículas obtidas ao final das reações (A)R15: PMMA, (B)R21: PMMA-PZQ (C) R26:P(MMA-co-DMAEMA), (D) R27:P(MMA-co-DMAEMA)-PZQ, (E) R28:P(MMA-co-DEAEMA), (F) R29:P(MMA-co-DEAEMA)-PZQ.

A Tabela 4.11 apresenta os valores de potencial zeta, mostrando cargas negativas e com o maior em valor absoluto para o PMMA. Observa-se a mesma influência dos comonômeros sobre a carga da superfície. A presença do fármaco impactou pouco nos valores de potencial zeta. Este resultado mostra que estabilidade do látex formado com comonômeros e PZQ exige uma maior repulsão eletrostática, ou seja, maiores valores absolutos de valores de potencial zeta uma vez que as nanopartículas copoliméricas (R26 e R28) não apresentaram aglomeração.

No que se refere à influência dos comonômeros, a diminuição do potencial mostra, mais uma vez, que as bases poliméricas DMAEMA e DEAEMA tendem a acumular na superfície das partículas. A presença dos grupos de amina terciária na superfície altera o potencial zeta e a hidrofiliabilidade das nanopartículas, propriedades importantes para o comportamento das nanopartículas *in vivo*.

HU *et al.* (2014) avaliaram nanopartículas de P(S-co-DMAEMA) obtidas via técnica de polimerização em emulsão, utilizando como iniciador AIBN, LSS como surfactante e um fármaco hidrofóbico como modelo. Os autores observaram uma quantidade considerável de unidades de DMAEMA na superfície, influenciando a hidrofiliabilidade e o potencial zeta das nanopartículas.

Os resultados das análises para eficiência de encapsulamento a partir do látex, são apresentados na Tabela 4. 11, sendo igual a 98,93 % para o PMMA (R21), igual a 95,74%

para o PMMA-co-DMAEMA (R27) e igual 97,47 % para o PMMA-co-DEAEMA (R29). As partículas apresentaram altas taxas de eficiência de encapsulamento, umas das características da incorporação *in situ* nas reações de polimerização (MOREIRA *et al.*, 2014). Como discutido anteriormente, a afinidade dos comonômeros pela fase aquosa pode viabilizar, juntamente com o LSS e temperatura de 80 °C, o transporte parcial do PZQ para a água. A nanopartícula com DMAEMA (R27) por conta da sua maior hidrofilicidade, permite que uma quantidade de 192 mg de praziquantel permaneça na forma livre e não encapsulada. Embora esse valor seja baixo, segundo FONSECA (2012), é suficiente para conferir o característico sabor amargo para o produto. Por isso, a eventual remoção de fase aquosa pode ser importante para o produto final.

A incorporação de comonômero nas nanopartículas iniciadas por AIBN foi baixa, igual a 6,18% para o DMAEMA e 2,22 % para o DEAEMA. Portanto, a polimerização na fase aquosa permite aumentar o conteúdo de comonômero no produto final como imaginado. Isto possibilita a migração do comonômero para a fase aquosa diminuindo a eficiência da copolimerização se o iniciador é apolar.

Tabela 4. 11 - Propriedades dos polímeros finais obtidos na ausência e presença de (20%) de praziquantel

Reações	Massa Molar			Tamanho médio da partícula		Potencial Zeta	Eficiência de Encapsulamento (%)	Comonômero incorporado (%)
	Mn x 10 ³ (Da)	Mw x 10 ³ (Da)	IP (M _w /M _n)	(d. nm)	IP			
R15	410	930	2,26	73,6	0,25	-38,9±2,9	-	-
R26	74	1213	16,34	42,1±0,2	0,13	5,2±2,6	-	6,18
R28	52	152	2,92	53,4±0,6	0,29	-17,1± 0,6	-	2, 22
R21	60	146	2,42	68,8±1,8	0,27	-41,5±0,3	98,93 ± 0,06	-
R27	25	46	1,83	141,2±0,7	0,21	-19,3±3,9	95,74 ± 0,27	-
R29	29	55	1,89	87,7±0,8	0,25	-18,8±0,7	97,47 ± 0,13	-

4.3.3 Ensaios de liberação do PZQ a partir da matriz polimérica

Os ensaios de liberação foram primeiramente realizados com o látex. Contudo, a viscosidade do látex dificultava a determinação experimental, gerando perfis de liberação não confiáveis. Por esse motivo, os ensaios foram conduzidos com as nanopartículas secas.

O comportamento desejado da liberação de fármacos deve estar diretamente relacionado à estabilidade do fármaco e aos resultados terapêuticos. A taxa de liberação a partir das nanopartículas como mencionadas anteriormente depende de muitos fatores, como: (1) dessorção do fármaco ligado/adsorvido à superfície, (2) difusão nas nanopartículas, (3) erosão das nanopartículas, (4) existência de processos combinados de erosão/difusão.

Na Figura 4.33 estão apresentados os perfis de liberação obtidos para as nanopartículas secas em pH 6,8 e 2,0, simulando condições do trato gastrointestinal. É possível notar que existe um efeito de “*burst release*”, com uma liberação rápida nos primeiros minutos. Este comportamento pode ser atribuído à liberação de uma fração do fármaco localizado nas proximidades da superfície das partículas, de acordo com MOUSTAFA *et al.* (2012) e LU *et al.* (2011). A intensidade da liberação depende da afinidade do fármaco com o polímero e a fase aquosa, assim como da natureza do polímero. Também deve ser considerada a possibilidade de haver fármaco localizado na superfície das partículas, resultante também de recristalização, como identificado nos ensaios de FTIR e de MEV.

Após cerca de 30 min, a liberação permaneceu praticamente estagnada num máximo de 21,4 % para R29 no pH 6,8. Este resultado contraria o comportamento esperado para um polímero catiônico, já que se esperava obter a maior liberação no pH 2, devido à protonação do polímero e inchamento das partículas. Além deste comportamento inesperado para o pH, os valores de liberação foram baixos. Esperava-se que o uso de teor adicional de óleo mineral poderia conduzir a formação de uma matriz mais porosa, permitindo a liberação com maior eficiência, como observado por FONSECA (2012), que também realizou ensaios de liberação com nanopartículas de PMMA produzidas a 80 °C. Neste trabalho foi observado que em pH 2 e na ausência de óleo foi obtida uma liberação de 10%. Aumentando o teor de óleo para 30% foram obtidos aproximadamente 39% de liberação de PZQ.

Os resultados mostram que não houve diferença expressiva para os dois pHs analisados, mas os resultados foram muito similares aos obtidos por FONSECA (2012). Logo, parece importante destacar que há efeitos secundários que controlam a taxa de liberação, não diretamente associados à composição do copolímero, nas condições avaliadas. Um desses fatores pode ser a barreira elétrica imposta pelo surfactante, como discutido por ARAÚJO *et al.* (2017).

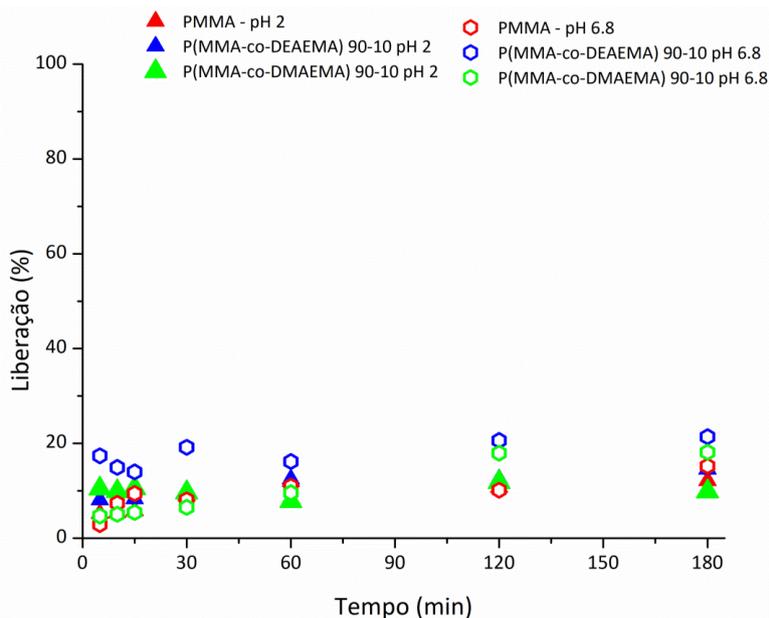


Figura 4. 33 - Perfis de liberação do praziquantel a partir nas nanopartículas de PMMA, P(MMA-co-DMAEMA), P(MMA-co-DEAEMA) contendo 10% de comonômero e 20% de PZQ em relação à carga orgânica permitiu obter pH 6,8 e 2,0.

4.3.4 Conclusões Parciais

A redução do teor de co-estabilizante de 23% para 10% em relação à carga orgânica permitiu obter nanopartículas com tamanhos inferiores a 100 nm, com altas conversões de monômero, distribuições de tamanho estreitas e massas molares com baixos índices de polidispersão. Nessas condições foram obtidas altas taxas de eficiência de encapsulamento do fármaco. No entanto, a presença de praziquantel afetou a estabilidade do látex, conforme resultados apresentados por potencial zeta, FTIR e MEV. Através das análises de DSC observaram que o fármaco está disperso no seu estado amorfo e na matriz polimérica.

As taxas de liberação do praziquantel foram muito baixas. Nas condições

estudadas, foram definidos como adequado os teores de 10% de comonômero e 20% de PZQ para os ensaios, não tendo sido observadas diferenças expressivas para os diferentes pHs. Como o estado da superfície das nanopartículas pode afetar os perfis de dissolução, então, procurou-se utilizar um surfactante catiônico para estabilizar as cargas positivas na superfície e melhorar o desempenho do sistema.

4.4 Reações de Polimerização – Meio III

Nesta seção são apresentados os resultados obtidos usando um surfactante catiônico. A nova composição tinha como objetivo de aprimorar a estabilidade da emulsão após o término da reação e melhorar o desempenho do processo. O brometo de cetil trimetil amônio (CTAB) é largamente usado para esse fim, apresentando uma cabeça hidrofílica com carga positiva, massa molar de 364,5 g/mol e CMC a 25°C de 0,092 mol/L (DALTIM, 2011). A Figura 4.34 mostra a estrutura molecular do CTAB.

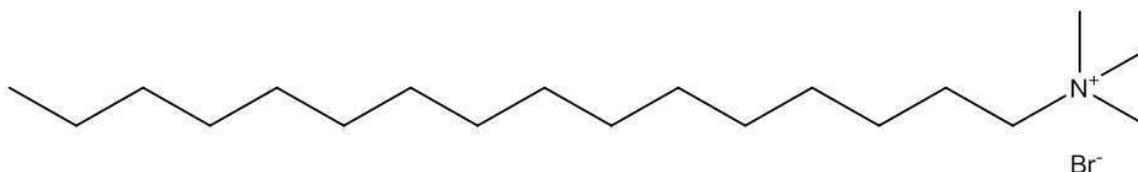


Figura 4.34 - Estrutura química do surfactante catiônico CTAB.

Inicialmente foram realizados testes preliminares com o surfactante CTAB e o iniciador KPS na presença do comonômero DMAEMA (1%) sem o praziquantel; porém, depois de 15 min de reação, ocorreu aglomeração, comprometendo as análises de caracterização que não foram realizadas. Resultados similares ocorreram na presença do iniciador AIBN, tanto na presença como na ausência do fármaco. Provavelmente, a interação do surfactante catiônico com o DMAEMA não é sinérgica para este sistema com a consequente impossibilidade de obtenção de um látex estável. Provavelmente este comportamento está associado à densidade de carga desse sistema, o que será melhor discutido na Seção 4.4.2.

As quantidades utilizadas no estudo estão apresentadas na Tabela 4. 12. O novo teor de 3% (0,72 g) de surfactante, em relação à fase orgânica, foi baseado no trabalho de CAMPOS *et al.* (2017). As demais quantidades dos componentes da fase aquosa são

0,073g, 0,24g e 55g, de agente tamponante, iniciador e água. O teor de co-estabilizante foi mantido em 10% em relação à carga orgânica (2,4g).

Tabela 4. 12- Quantidades dos componentes utilizados nas reações de Meio III.

Reações	Legenda	Componentes (g)			
		MMA	DMAEMA	DEAEMA	PZQ
R30	PMMA	21,6	0	0	0
R31	PMMA-PZQ	21,6	0	0	4,8
R32	P(MMA-co-DMAEMA)	19,4	2,16	0	0
R33	P(MMA-co-DMAEMA)-PZQ	19,4	2,16	0	4,8
R34	P(MMA-co-DEAEMA)	19,4	0	2,16	0
R35	P(MMA-co-DEAEMA)-PZQ	19,4	0	2,16	4,8

4.4.1 Conversão

Os perfis de conversão obtidos estão apresentados Figura 4.35 para comparação dos dois surfactantes utilizados nesse trabalho. Na ausência do praziquantel (Figura 4.35a) e após 30 min de reação, a conversão atingiu valores cerca de 100% e o CTAB não apresentou qualquer efeito inibidor. Porém, na presença do praziquantel (Figura 4.35b), a conversão caiu para 78,3% (R35) e 82,9 (R31), confirmando uma vez mais o efeito inibidor sobre a cinética de polimerização. VIEIRA (2014) encapsulou praziquantel em microcápsulas de PMMA preparadas a partir da técnica de polimerização em suspensão. Nestes ensaios foi observada uma autoaceleração da conversão na presença do fármaco, atribuída ao aumento da viscosidade no meio.

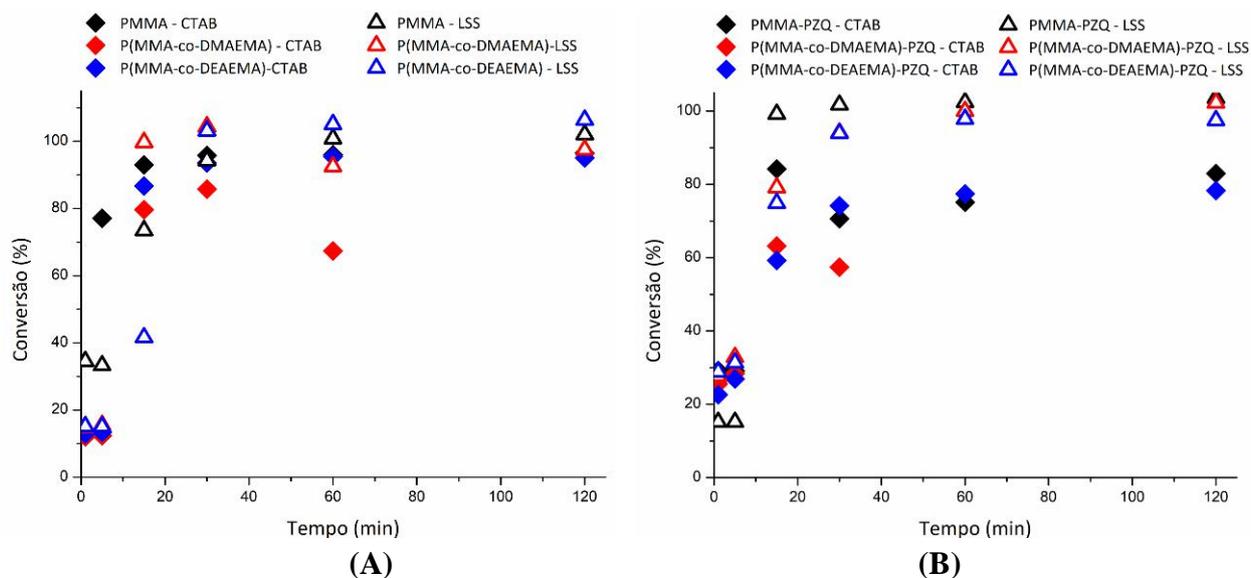


Figura 4. 35 - Perfis de conversão das reações conduzidas na presença dos surfactantes CTAB e LSS na ausência (A) e presença (B) de PZQ.

4.4.2 Distribuição de Tamanho e Potencial Zeta

Os resultados das análises de DTP (Figura 4.36a) mostram que a distribuição estreita e similares em todos os casos indica a predominância do mecanismo de nucleação nas gotas para este sistema. Os tamanhos foram, contudo, maiores que os obtidos com LSS (Tabela 4. 14).

Os cálculos usados para a quantificação do percentual de surfactante livre e apresentados no APENDICE I, mostram que não devem existir micelas por excesso de surfactante nessas condições.

As medidas de potencial zeta, expostas, na Tabela 4. 14 indicam valores positivos proveniente da carga do surfactante catiônico. Resultado de acordo com os obtidos por CAMPOS *et al.* (2017). Conforme pode ser observado na Tabela 4. 14, o potencial zeta é menor para as partículas com DMAEMA, que possui uma carga relativamente baixa, quando comparado com o DEAEMA, com peso molecular similar. O grupo etila torna a molécula de DEAEMA mais positiva, pelo fato de ser um melhor doador de elétrons do que o grupo metila associado ao DMAEMA. Conseqüentemente, a repulsão eletrostática é maior com o DEAEMA, permitindo assim a formação de um látex mais estável, como descrito por MANGANIELLO *et al.* (2012).

As nanopartículas carregadas com praziquantel exibem menores valores do potencial, sugerindo uma vez mais que a presença do PZQ afeta o balanço de cargas da

superfície. Nesse caso, o praziquantel parece atuar como uma carga negativa, reduzindo o potencial positivo. A reação R32 conduzida na presença de DMAEMA com AIBN, formou aglomerados após 1 h de início da reação.

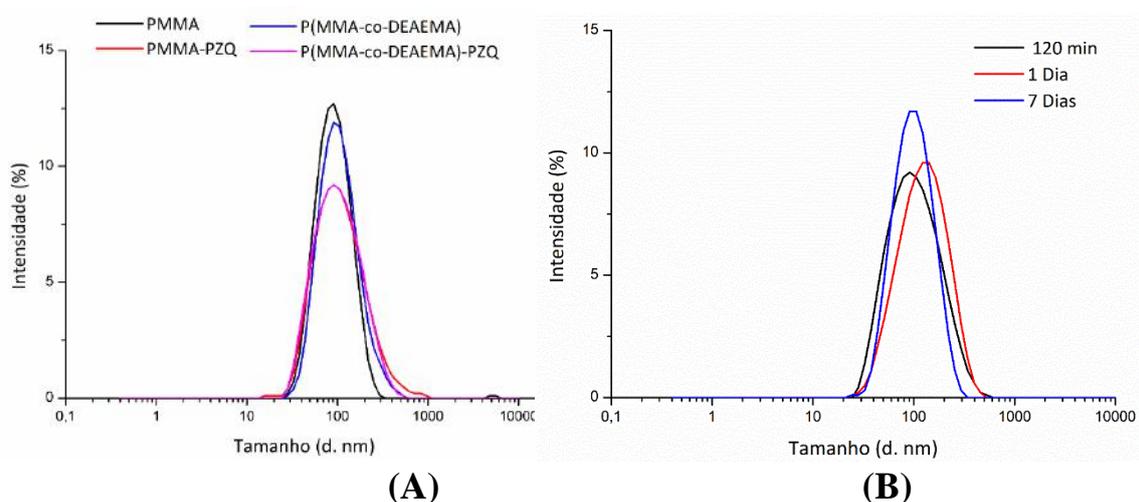


Figura 4. 36 - (A) Distribuições de tamanhos de partícula dos produtos obtidos nas reações conduzidas com CTAB e (B) evolução dos tamanhos ao longo dos dias do produto da reação P(MMA-co-DEAEMA)-PZQ.

O valor de o potencial zeta está relacionado com a estabilidade coloidal, pois indica o grau de repulsão eletrostática entre partículas dispersas. No caso das reações com comonômero e PZQ (R33 e R35), um valor absoluto do potencial zeta acima de 50mV indica uma composição estável e com boa resistência contra a agregação de partículas.

A superfície das nanopartículas é muito importante para sistemas de entrega de fármacos. Geralmente, nanopartículas convencionais (sem modificação da superfície) e partículas carregadas negativamente podem ser rapidamente opsonizadas e massivamente liberada pelos macrófagos. O sistema reticuloendotelial, principalmente o fígado e baço, constitui um grande obstáculo para a circulação das partículas, devido à capacidade de reconhecer os sistemas nanoestruturados, removendo-os da circulação e, consequentemente, evitando a entrega efetiva dos fármacos (REIS *et al.*, 2006).

4.4.3 Distribuição de massas molares

A determinação da distribuição de massa molar das nanopartículas, preparadas com surfactante CTAB, foi realizada pela análise de viscosidade devido sua solubilidade

parcial em THF. Também foi utilizado outro meio fluido (HFIP) para gerar as distribuições de massas molares como expostas na Figura 4.37. Isso mostra a mudança de natureza dos polímeros produzidos.

A análise de massa molar das reações R31 e R34 apresentaram distribuições largas e índice de polidispersão altos. Ademais, não seguiram o mesmo comportamento observado nas outras Seções. Parecem existir muitas variáveis que devem ser consideradas simultaneamente, requerendo investigação mais profunda sobre o mecanismo de polimerização. Na Tabela 4. 13 estão dispostas as massas molares médias obtidas para as condições propostas. A massa molar viscosimétrica (M_v) é um valor obtido a partir da viscosidade intrínseca e está situada entre M_n e M_w .

Observa-se uma vez mais o efeito de agente de transferência de cadeia exercido pelo PZQ, em particular na análise do M_v , dado que a presença do PZQ afeta a viscosidade do meio que escoou no capilar e reduz a massa efetiva de polímero na amostra.

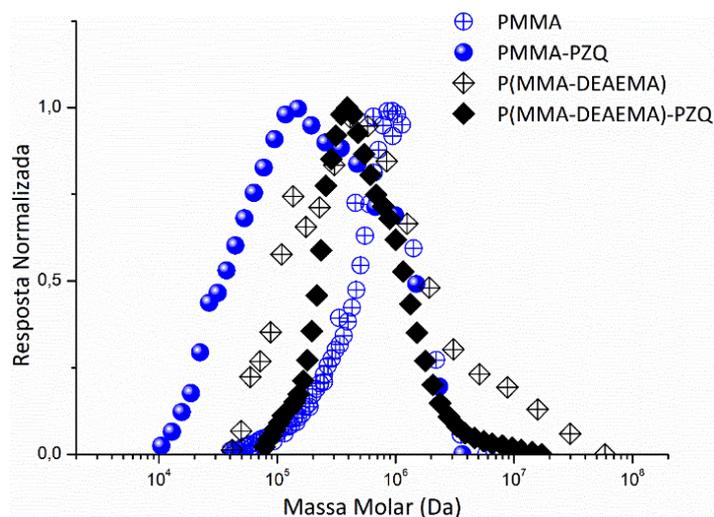


Figura 4. 37 - Distribuição de massa molar das nanopartículas obtidas com CTAB.

Tabela 4. 13 - Massas molares obtidas os produtos finais obtidos nas reações conduzidas com o Meio III.

Reações	Legenda	Massa Molar			
		$M_v \times 10^3$ (Da)	$M_n \times 10^3$ (Da)	$M_w \times 10^3$ (Da)	IP (M_w/M_n)
R30	PMMA	519	466	812	1,74
R31	PMMA-PZQ	14	77	320	4,15
R32	P(MMA-co-DMAEMA)	456	-	-	-
R33	P(MMA-co-DMAEMA)-PZQ	97	-	-	-
R34	P(MMA-co-DEAEMA)	423	232	1445	6,21
R35	P(MMA-co-DEAEMA)-PZQ	71	351	725	2,06

4.4.4 Análises Térmicas

As análises térmicas permitem avaliar a interação entre o fármaco e o polímero, mostraram resultados similares às obtidas para as nanopartículas produzidas com surfactante aniônico; ou seja, a alteração do surfactante, manteve a dispersão do praziquantel na forma amorfa dispersa em uma solução com a matriz polimérica (Figura 4.38). LEKSHMI *et al.* (2010) também não observaram interações da carga de repaglinida em nanopartículas de PMMA por meio das análises de DSC.

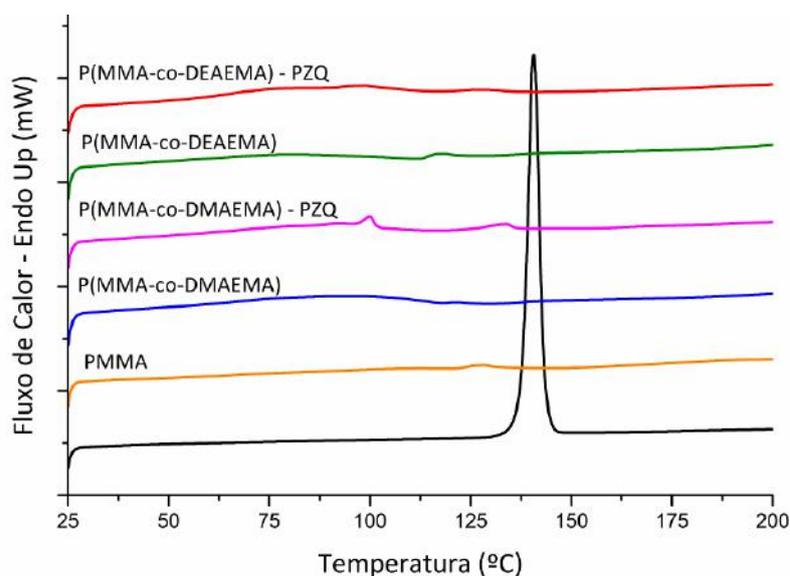


Figura 4. 38 - Termograma de DSC dos produtos finais obtidos nas reações conduzidas com CTAB.

A Figura 4.39 mostra os resultados para as caracterizações por FTIR e apresenta resultados similares aos obtidos na seção anterior. A análise dos espectros mostra que o fármaco não apresenta interação molecular com o polímero uma vez que a banda característica em 1640 cm^{-1} e associado ao grupo ($-\text{C}=\text{O}$) do praziquantel aparece no espectro das nanopartículas carregadas com PZQ. A Figura 4.40 mostra as correlações espectrais para as nanopartículas preparadas com CTAB e não apontaram uma modificação tão acentuada em decorrência do uso do fármaco, como as que foram obtidas com LSS (Figura 4.30). Estes resultados indicam que o praziquantel pode estar principalmente disperso na matriz polimérica e pouco disponível na superfície, mas suficiente para afetar o balanço de cargas como apresentado nos resultados de potencial zeta.

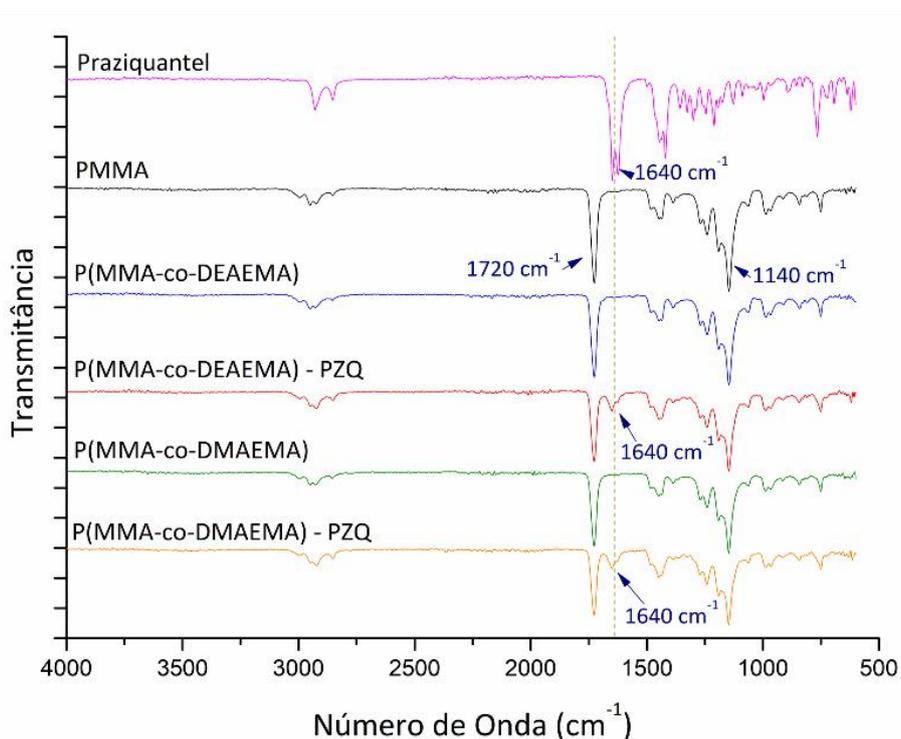


Figura 4. 39 - Espectros de FTIR das nanopartículas obtidas com CTAB.

A análise de eficiência de encapsulamento e incorporação do comonômero para amostras preparadas obtidas com a reação R33 (P(MMA-co-DMAEMA)-PZQ) não foi realizada devido sua aglomeração ainda no reator. As demais reações resultaram em alta eficiência de encapsulamento cerca de 98% da quantidade inicial inserida (Tabela 4. 14), mostrando que a alteração de surfactante não impactou esses resultados. A quantidade não encapsulada pode ser atribuída à perda de material ou migração para a fase aquosa. FONSECA *et al.* (2013a) que obtiveram 80% de eficiência de encapsulamento para NPs

de PMMA com 6% de PZQ e sem co-estabilizante a 80 °C. Apenas nas reações conduzidas a 90 °C alcançaram 99% de eficiência de encapsulamento. Isso pode indicar uma vantagem comparativa do uso do surfactante catiônico.

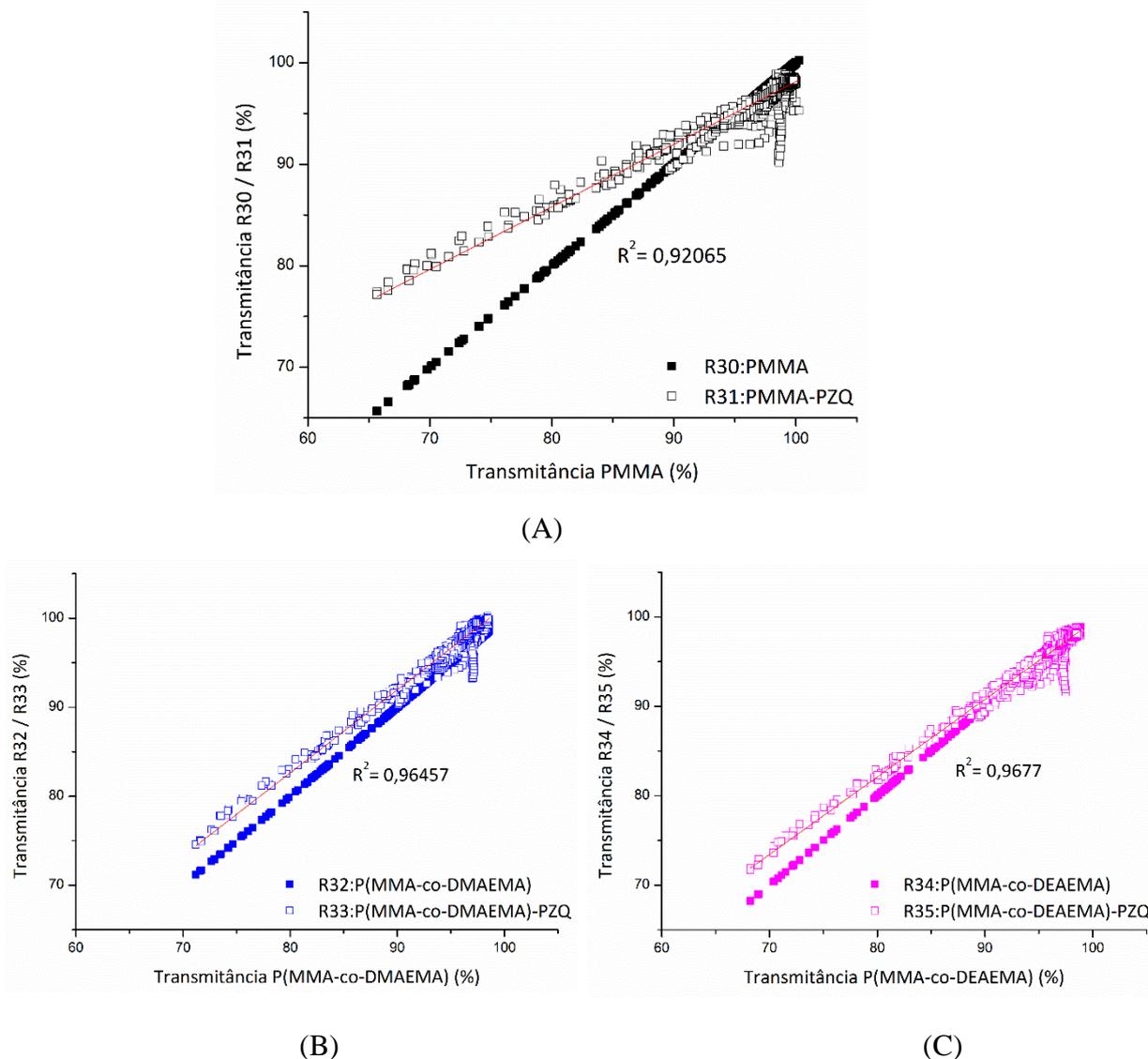


Figura 4. 40 - Correlação entre as transmitâncias dos espectros de FTIR dos produtos finais obtidos nas reações conduzidas com CTAB (a) PMMA, (b) P(MMA-co-DMAEMA) e (c) P(MMA-co-DEAEMA) com e sem PZQ.

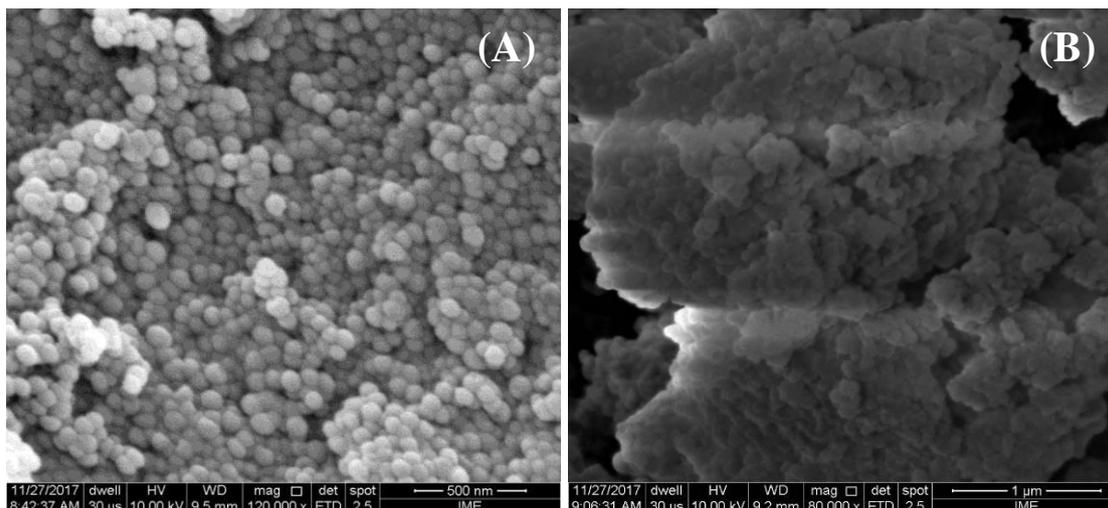
A análise de H-RMN permitiu calcular a incorporação do monômero DEAEMA e apontou 10,54% da quantidade inserida inicialmente, que corresponde à total incorporação do material. A alteração do surfactante possibilitou o aumento de incorporação de comonômero, provavelmente porque a carga positiva da superfície minimizou migração do comonômero para fase aquosa.

Tabela 4. 14 - Propriedades das nanopartículas poliméricas obtidas com CTAB.

Reações	Tamanho médio da partícula		Potencial Zeta	Eficiência de Encapsulamento (%)	Comonômero incorporado (%)
	(d. nm)	IP			
R30	82,7±0,9	0,16	59,3±2,3	-	-
R31	93,2±1,0	0,25	45,3±2,4	98,82±0,5	-
R32	120,7±0,9	0,18	48,2± 0,8	-	-
R33	248,2±0,4	0,21	43,9±0,1	-	-
R34	95,3±2,2	0,18	59,0±2,1	-	10,54
R35	106,6±0,6	0,18	54,7±1,3	98,84±0,12	-

4.4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura

As imagens de MEV apresentadas na Figura 4.42 mostram, após processo de secagem, nanopartículas com formato esférico e agregadas, não são observados vestígios de cristais de praziquantel na superfície, como observado no Meio II. A carga elevada de superfície pode prevenir a migração do PZQ e do monômero para a fase aquosa, minimizando o efeito de recristalização do PZQ.



(Figura 4. 41 - Micrografias das nanopartículas obtidas nas reações conduzidas com CTAB (A) PMMA, (B) PMMA-PZQ, (C) P(MMA-co-DEAEMA), (D) e (E) P(MMA-co-DEAEMA)-PZQ – continua na próxima página)

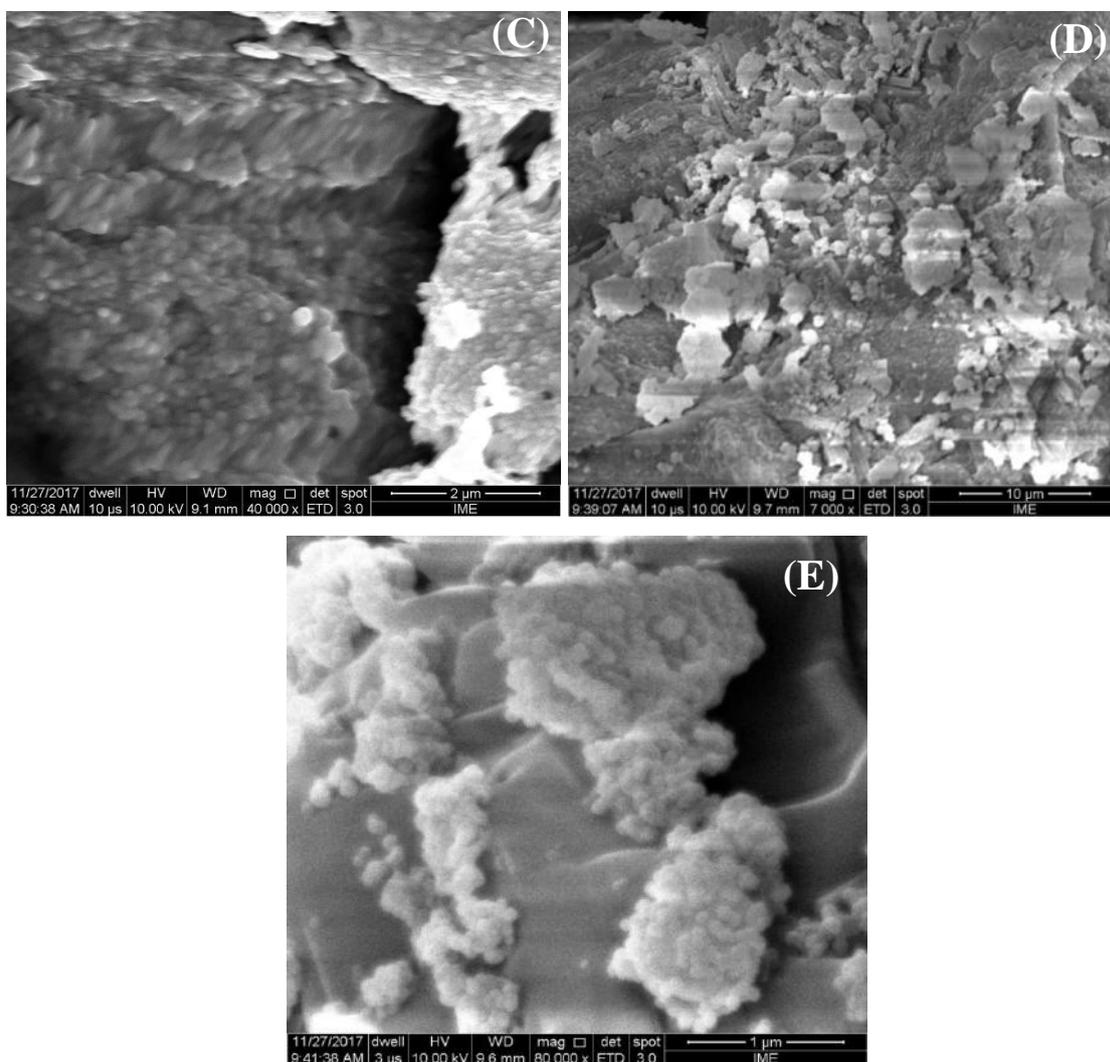


Figura 4. 42 - Micrografias das nanopartículas obtidas nas reações conduzidas com CTAB (A) PMMA, (B) PMMA-PZQ, (C) P(MMA-co-DEAEMA), (D) e (E) P(MMA-co-DEAEMA)-PZQ.

4.4.6 Ensaio de liberação do PZQ a partir da matriz polimérica

Os ensaios de liberação do PZQ em meio fisiológico (pH 2 e 6,8) foram realizados com látex em béquer com 25 mL de meio e com nanopartículas secas no dissolutor com 900 mL de meio, objetivando determinar a influência do surfactante CTAB no processo de dissolução do fármaco a partir da matriz polimérica. Os perfis de liberação obtidos são apresentados nas Figura 4.43 e 4.44 mostram diferenças na cinética de dissolução entre

os ensaios conduzidos no béquer e no dissolutor. Os resultados foram similares entre si, embora os ensaios no béquer apresentem “*burst*” inicial mais intenso.

A maior concentração de fármaco no meio (0,67 g/L) nos ensaios com béquer possa ter ocorridos maiores erros durante a retirada de alíquotas, através de remoção de partículas do meio, dando origem aos resultados obtidos. É importante destacar que o uso do filtro na faixa micrométrica não garante uma eficiente filtração das nanopartículas. No entanto, os resultados convergem ao final da análise, para os dois métodos, indicando a mesma intensidade de liberação.

As nanopartículas apresentam boa redispersão no meio, porém os valores de liberação para ambos os pHs ainda são muito baixos. O valor desejado para liberação seria de 70% em 1h (BRASIL, 2010). Também não foram observadas variações expressivas de desempenho entre os pHs testados, apesar de ter sido incorporado 10,5 % de DEAEMA na ausência do praziquantel. A protonação do grupo amina não resultou em aumento da taxa de liberação do fármaco.

Da mesma forma a síntese de nanopartículas com grande área superficial não foi efetiva para promover altas taxas de liberação. Como afirmado anteriormente, existem outros fatores que estão relacionados também com a liberação do fármaco, incluindo a estrutura do polímero, a concentração do polímero, a de expansão do volume da partícula e a interação entre o polímero e o fármaco. Além do mais, (YOU e AUGUSTE (2008) comentam que o inchamento pode estar associado com a capacidade de o fármaco desenvolver interações fortes com a matriz polimérica e que a alta viscosidade do meio pode causar resistência ao transporte do fármaco para o meio.

Nesse ponto, é preciso considerar alguns fatos. Em primeiro lugar, os resultados aqui obtidos são similares aos obtidos por (FONSECA, 2012), quando usou MMA puro e baixo conteúdo de óleo. Isso confere consistência aos valores apresentados. Para atingir taxas de liberação próximas de 100%, FONSECA (2012) adicionou 30% de óleo e um agente reticulante (EGDMA) para formar uma estrutura porosa e de baixa resistência à difusão. Em segundo lugar, PAIVA (2017) mostrou que a adição de monômeros catiônicos ao MMA em polimerizações em suspensão introduz o efeito de sensibilidade ao pH de forma marcante, permitindo altas liberações do fármaco em menos de 1 hora em pHs ácidos, quando partículas de 75 µm são usadas nos ensaios.

Combinando esses dados, parece razoável admitir que a resistência ao transporte do PZQ nas nanopartículas é oferecida pela barreira elétrica do surfactante e pela viscosidade elevada do meio polimérico. Sendo assim, o sistema deverá ser adaptado às

condições mais próximas das sugeridas por FONSECA (2012), como meio de permitir o melhor controle sobre as taxas de liberação do fármaco, na presença dos monômeros catiônicos.

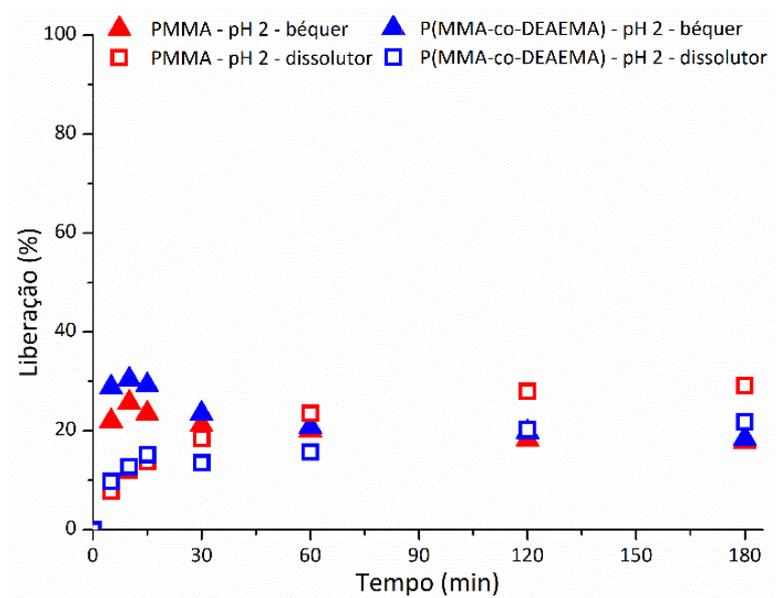


Figura 4. 43 - Ensaio de liberação em pH 2 dos produtos das reações R31 e R35 realizados no béquer e no dissolutor.

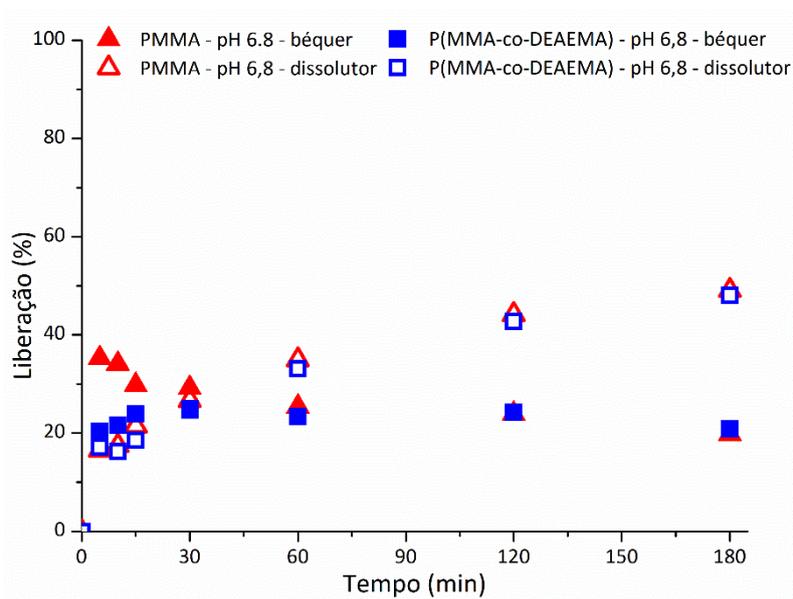


Figura 4. 44 - Ensaio de liberação em pH 6,8 dos produtos das reações R31 e R35 realizados no béquer e no dissolutor.

4.4.7 Conclusões Parciais

A alteração de surfactante para um com natureza catiônica possibilitou a produção de nanopartículas estáveis, sem ocorrência de aglomeração depois de finalizada a reação. A caracterização dos produtos preparados, identificaram-se boas propriedades para uso como carreadores de fármacos.

No entanto, como os perfis de liberação do praziquantel continuaram a revelar o comportamento similar aos da etapa anterior, com baixas taxas alcançadas e diferenças de desempenho pouco significativas entre os pHs. Isso permite especular que outros fatores estejam controlando as taxas de liberação, além do possível inchamento da cadeia polimérica promovida pela protonação dos comonômeros catiônicos, como a intensidade de barreira elétrica e a viscosidade do meio. Sugere-se, portanto, a continuidade dos estudos com uso de maiores quantidades de óleo e de agentes reticulantes, como recomendado por FONSECA (2012).

CAPÍTULO V

Conclusões

O trabalho desenvolvido permitiu demonstrar a viabilidade da produção de nanopartículas poliméricas baseadas em MMA com monômeros catiônicos pela técnica de polimerização em miniemulsão na presença de surfactante aniônico, com alta incorporação dos comonômeros verificada pela análise de H-RMN.

Constatou-se que a presença do praziquantel afeta o equilíbrio do processo, podendo promover a aglomeração depois de finalizada a reação. Além do mais, o fármaco e o comonômero exercem efeitos significativos sobre a cinética da polimerização, deslocando as massas molares para valores menores.

Destaca-se que o iniciador AIBN possibilitou obter nanopartículas com maior conversão, melhor controle dos tamanhos de partícula e melhor estabilidade na presença do PZQ.

A redução do teor de co-estabilizante não provocou diferença expressiva nas caracterizações das nanopartículas. Por isso, decidiu-se definir o teor de 10% de óleo mineral como co-estabilizante.

O aumento dos teores de fármaco e comonômeros exercem forte influência sobre a estabilidade da reação. O teor máximo e que se conseguiu incorporar nas nanopartículas foi 20% de PZQ em relação à carga orgânica e 10% de comonômeros em relação à carga de monômeros. Essas nanopartículas não apresentaram nas análises de DSC e FTIR interações entre fármaco e polímero, porém análises de FTIR e MEV atestaram a modificação da superfície, sendo detectados cristais de PZQ na forma de bastão, sugerindo a cristalização do fármaco. Os ensaios de liberação de PZQ geraram taxas baixas e sem diferença de desempenho nos diferentes pHs analisados.

As nanopartículas preparadas com surfactante catiônico mostraram boas propriedades físico-químicas, evitando em particular a aglomeração e a cristalização do PZQ. Ademais, verificou-se através de resultados de potencial zeta que o uso do comonômero DEAEMA resulta em maior densidade de carga na superfície das partículas, quando comparado com o DMAEMA. Entretanto, os ensaios de liberação continuaram a

apresentar taxas de liberação baixas, de modo que outros fatores controlam as taxas de liberação, como a barreira elétrica de superfície e a viscosidade interna das partículas.

5.1 Perspectivas para trabalhos futuros

Para pesquisas futuras, sugerem-se estudos para avaliar a cinética de polimerização do MMA na presença dos comonômeros, a fim de compreender seu efeito sobre as massas molares e a composição do copolímero. Além disso, outras análises, como de variação do potencial zeta com o pH, de microscopia de força atômica e de microscopia eletrônica de transmissão devem ser realizados com a finalidade de caracterizar melhor a superfície das partículas e permitir estudar melhor a distribuição das cargas expostas.

Visto que o surfactante catiônico proporcionou melhor estabilidade do látex, seria interessante realizar outras reações na tentativa de aumentar o teor de praziquantel e do monômero DEAEMA, com a finalidade de obter melhores perfis de liberação. Assim, como maiores teores de óleo e agente reticulante para promover uma matriz mais porosa e facilitar o transporte do fármaco. O aumento do teor de praziquantel é um ponto crítico, porque pode alterar a estabilidade do sistema e está associado com a dosagem do medicamento, considerando que será adicionado outros componentes na formulação, influencia na quantidade a ser ingerida.

Recomenda-se realizar testes de citotoxicidade para analisar se os componentes oferecem algum dano celular.

Por fim, como não existe um protocolo estabelecido para conduzir os ensaios de liberação a partir das nanopartículas, os melhores resultados obtidos devem ser usados como base para conduzir ensaios de liberação *in vivo*, para verificação de eficiência do carreador e de liberação.

CAPÍTULO VI

Referências Bibliográficas

- ADINOLFI, B. et al. “Molecular beacon-decorated polymethylmethacrylate core-shell fluorescent nanoparticles for the detection of survivin mRNA in human cancer cells”. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 88, p. 15–24, 2017.
- AKAGI, T.; BABA, M.; AKASHI, M. “Preparation of nanoparticles by the self-organization of polymers consisting of hydrophobic and hydrophilic segments: Potential applications”. *Polymer*, v. 48, n. 23, p. 6729–6747, 2007.
- ALFRED RUDIN, P. C. *Ciência e engenharia de polímeros*. 3. ed. [s.l.] Elsevier Brasil, 2016.
- ANTONIETTI, M. et al. “Polyreactions in non-aqueous miniemulsions”. *Progress in Polymer Science*, v. 27, p. 689–757, 2001.
- ANVISA. *Farmacopéia Brasileira*. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, v. 1, p. 546, 2010.
- ASUA, J. M. “Challenges for industrialization of miniemulsion polymerization”. *Progress in Polymer Science*, v. 39, n. 10, p. 1797–1826, 2014.
- ASUA, J. M. “Miniemulsion polymerization”. *Prog. Polym. Sci.*, v. 27, p. 1283–1346, 2002.
- BITYURIN, N. M. et al. “On the gel-effect mechanism in radical polymerization”. *Polymer Science U.S.S.R.*, v. 23, n. 8, p. 1873–1882, 1981.

- BORGET, P.; LAFUMA, F.; BONNET-GONNET, C. “Characterizations and properties of hairy latex particles”. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 285, n. 1, p. 136–145, 2005.
- BORREGO-SÁNCHEZ, A. et al. “Molecular and crystal structure of praziquantel. Spectroscopic properties and crystal polymorphism”. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 92, p. 266–275, 2016.
- BRAR, S. K.; VERMA, M. “Measurement of nanoparticles by light-scattering techniques”. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, v. 30, n. 1, p. 4–17, 2011.
- BRASIL, M. DA S. *VIGILÂNCIA DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI - Diretrizes técnicas*. Brasília, 2014.
- BUTT, H.-J.; GRAF, K.; KAPPL, M. *Physics and Chemistry of Interfaces*. 2003rosa
- CAMPOS, I. M. F.; FERRAZ, H. C.; PINTO, J. C. “Production and Functionalization of P(MMA-co-AA) Nanoparticles by Miniemulsion Polymerization”. *Macromolecular Symposia*, v. 368, n. 1, p. 70–77, 2016.
- CANEVAROLO JÚNIOR, S. V. *Técnicas de Caracterização de Polímeros*. 1a ed. São Paulo: Artliber Editora, 2007.
- LU, X.; WU, D. *Polymer Nanoparticles I*. “Definition and General Ingredients of Polymer Nanoparticles”. 1. ed. [s.l.] *Elsevier Inc.*, 2011. v. 104
- CARVALHO GARBI NOVAES, M. R.; DE SOUZA, J. P.; CLEMENTE DE ARAÚJO, H. “Anthelmintic praziquantel synthesis from glycine”. *Química Nova*, v. 22, n. 1, p. 5–10, 1999.
- CASA-RESINO, I. DE LA; PÉREZ-LÓPEZ, M.; SOLER-RODRÍGUEZ, F. “Methyl Methacrylate”. *Encyclopedia of Toxicology*, v. 3, p. 314–317, 2014.

- CHERN, C. S. “Emulsion polymerization mechanisms and kinetics”. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, v. 31, n. 5, p. 443–486, 2006.
- CIOFFI, M.; HOFFMANN, A. C.; JANSSEN, L. P. B. M. “Reducing the gel effect in free radical polymerization”. *Chemical Engineering Science*, v. 56, p. 911–915, 2001.
- CIOLI, D. et al. “Schistosomiasis control: Praziquantel forever?” *Molecular and Biochemical Parasitology*, v. 195, n. 1, p. 23–29, 2014.
- CLARA ZONI, A.; CATALÁ, L. *Prevalencia e intensidad de infección de esquistosomiasis en los países de Latinoamérica y el Caribe, 1942-2014*. Washington DC: [s.n.]. Disponible em: <[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_download &Itemid=&gid=28847&lang=en](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_download&Itemid=&gid=28847&lang=en)>.
- CONSÓRCIO PRAZIQUANTEL PEDIÁTRICO 2017, Disponible em: <<https://www.pediatricpraziquantelconsortium.org/>>
- COSTA, E. D. et al. “Unexpected solvent impact in the crystallinity of praziquantel/poly(vinylpyrrolidone) formulations. A solubility, DSC and solid-state NMR study”. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 511, n. 2, p. 983–993, 2016.
- CRISTINA, A. et al. “Use of Hydrophilic Monomers to Avoid Secondary Particle Nucleation in Miniemulsion Polymerizations of Methyl Methacrylate”. *Journal of Research Updates in Polymer Science*, v. 5, n. 2, p. 60–71, 2016.
- CRUCHO, C. I. C.; BARROS, M. T. “Polymeric nanoparticles: A study on the preparation variables and characterization methods”. *Materials Science and Engineering C*, v. 80, p. 771–784, 2017.

- CUGOVČAN, M. et al. “Biopharmaceutical characterization of praziquantel cocrystals and cyclodextrin complexes prepared by grinding”. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 137, p. 42–53, 2017.
- DALTIN, D. *Tensoativos: Química, propriedades e aplicações*. São Paulo: Blucher, 2011.
- DDTHA, Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. *Manual de doenças transmitidas por água e alimentos*. São Paulo, 2017. Disponível em: <http://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/doencas-transmitidas-por-agua-e-alimentos/doc/parasitas/if_esqui0405.pdf>.
- DE ARAÚJO, M. M. et al. “Surfactant-oil interactions overcoming physicochemical instability and insoluble praziquantel loading in soybean oil dispersions”. *Journal of Molecular Liquids*, 2017.
- DE JESUS, M. B. et al. “Improvement of the oral praziquantel anthelmintic effect by cyclodextrin complexation Oral praziquantel anthelmintic effect by cyclodextrin complexation” *Journal of Drug Targeting*, v. 18, n. 1, p. 21–26, 2010.
- DHANA LEKSHMI, U. M. et al. “In vitro characterization and in vivo toxicity study of repaglinide loaded poly (methyl methacrylate) nanoparticles”. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 396, n. 1–2, p. 194–203, 2010.
- DOENHOFF, M. J.; CIOLI, D.; UTZINGER, J. “Praziquantel: Mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis”. *Current Opinion in Infectious Diseases*, v. 21, n. 6, p. 659–667, 2008.
- FELBER, A. E.; DUFRESNE, M. H.; LEROUX, J. C. “pH-sensitive vesicles, polymeric micelles, and nanospheres prepared with polycarboxylates”. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 64, n. 11, p. 979–992, 2012.

FONSECA, L. B. DA. *DESENVOLVIMENTO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONTENDO PRAZIQUANTEL PARA O TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE*, (TESE DE DOUTORADO), UFRJ, 2012.

FONSECA, L. B. et al. “Production of PMMA Nanoparticles Loaded with Praziquantel Through “In Situ” Miniemulsion Polymerization”. *Macromolecular Reaction Engineering*, v. 7, n. 1, p. 54–63, 2013a.

FONSECA, L. DA et al. “Desenvolvimento de um medicamento brasileiro nanoencapsulado para o tratamento da esquistossomose”. *Vigilância Sanitária em Debate*, v. 1, n. 4, p. 85–91, 2013b.

FORBES, D. C. et al. “Polycationic nanoparticles synthesized using ARGET ATRP for drug delivery”. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 84, n. 3, p. 472–478, 2013.

FREZZA, T. F. et al. “Liposomal-praziquantel: Efficacy against *Schistosoma mansoni* in a preclinical assay”. *Acta Tropica*, v. 128, n. 1, p. 70–75, 2013.

FU, Y.; KAO, W. J. “Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems”. *Expert Opinion on Drug Delivery*, v. 7, n. 4, p. 429–444, 2010.

GÖPFERICH, A. “Mechanisms of Polymer Degradation and erosion”. *Biomaterials*, v. 17, n. 2, p. 103–114, 1996.

GRIFFIN, A. C.; SULLIVAN, S. L. “Gel Effect Leading to High Molecular Weight Side-Chain Liquid-Crystalline Polymers”. *Macromolecules*, v. 23, n. 26, p. 5362–5364, 1990.

GRYSEELS, B. et al. “Human schistosomiasis”. *The Lancet*, v. 368, p. 1106–1118, 2006.

- GUO, Y.; ZETTERLUND, P. B. “Particle formation mechanism in radical polymerization in miniemulsion based on in situ surfactant formation without high energy homogenization”. *Polymer*, v. 52, n. 19, p. 4199–4207, 2011.
- HECHT, L. L. et al. “Surfactant concentration regime in miniemulsion polymerization for the formation of MMA nanodroplets by high-pressure homogenization”. *Langmuir*, v. 27, n. 6, p. 2279–2285, 2011.
- HONARY, S.; ZAHIR, F. “Effect of Zeta Potential on the Properties of Nano - Drug Delivery Systems - A Review (Part 2)”. *Tropical Journal of Pharmaceutic al Research*, v. 12, n. 2, p. 265–273, 2013.
- HOREV, B. et al. “pH-activated Nanoparticles for Controlled Topical Delivery of Farnesol to Disrupt Oral Biofilm Virulence”. *ACS Nano*, v. 9, n. 3, p. 2390–2404, 2015.
- HOTEZ, P. J. et al. “Control of Neglected Tropical Diseases”. *The New England Journal of Medicine*, v. 357, p. 1018–1027, 2007.
- HOTEZ, P. J.; FUJIWARA, R. T. “Brazil’s neglected tropical diseases: an overview and a report card”. *Microbes and Infection*, v. 16, n. 8, p. 601–606, 2014.
- HU, Y. et al. “Synthesis and characterization of monodispersed P(St-co-DMAEMA) nanoparticles as pH-sensitive drug delivery system”. *Materials Science and Engineering C*, v. 45, p. 1–7, 2014.
- HUANG, X.; BRAZEL, C. S. “On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems”. *Journal of Controlled Release*, v. 73, n. 2–3, p. 121–136, 2001.
- HUNTER, A. C. et al. “Polymeric particulate technologies for oral drug delivery and targeting: A pathophysiological perspective”. *Maturitas*, v. 73, n. 1, p. 5–18, 2012.

- INSTRUMENTS, M. *Zeta potential: An Introduction in 30 minutes*. Zetasizer Nano Serles Technical Note. MRK654-01, v. 2, p. 1–6, 2011.
- JAMES, H. P. et al. “Smart polymers for the controlled delivery of drugs – a concise overview”. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, v. 4, n. 2, p. 120–127, 2014.
- JEEVANANDAM, J.; CHAN, Y. S.; DANQUAH, M. K. “Nano-formulations of drugs: Recent developments, impact and challenges”. *Biochimie*, v. 128–129, p. 99–112, 2016.
- JIA, J. et al. “Drug release of yolk/shell microcapsule controlled by pH-responsive yolk swelling”. *Chemical Engineering Journal*, v. 327, p. 953–961, 2017.
- KANELLOU, A.; SPILIOTI, A.; GV, T. “Copolymers of Benzyl Methacrylate and Diethylaminoethyl Methacrylate : Monomer Reactivity Ratios and Thermal Properties Abstract”. *Journal of Organic & Inorganic Chemistry*, p. 1–11, 2015.
- KAROLEWICZ, B. “A review of polymers as multifunctional excipients in drug dosage form technology”. *Saudi Pharmaceutical Journal*, v. 24, n. 5, p. 525–536, 2016.
- RITGER, P. L.;
- KOLENYAK-SANTOS, F. et al. “Nanostructured Lipid Carriers as a Strategy to Improve the In Vitro Schistosomiasis Activity of Praziquantel”. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 15, n. 1, p. 761–772, 2015.
- KOOK, B.; HEE, Y.; PARK, K. “Smart nanoparticles for drug delivery : Boundaries and opportunities”. *Chemical Engineering Science*, v. 125, p. 158–164, 2015.
- L. STRECK, M.M. DE ARAÚJO, I. DE SOUZA, M.F. FERNANDES-PEDROSA, E.S.T. DO EGITO, A.G. DE OLIVEIRA, A.A. DA SILVA-JÚNIOR, “Surfactant–cosurfactant interactions and process parameters involved in the formulation of stable and small droplet-sized benznidazole-loaded soybean O/W emulsions”, *J. Mol. Liq.*, 196 (2014) 178-186.

- LAMPMAN, P. et al. *Introduction to Spectroscopy*. Fourth ed. Belmont: Brooks/Cole Cengage Learning., 2009.
- LEE, E. F. et al. “Apoptosis in schistosomes : toward novel targets for the treatment of schistosomiasis”. *Trends in Parasitology*, v. 30, n. 2, p. 75–84, 2014.
- LEE, J. H.; YEO, Y. “Controlled drug release from pharmaceutical nanocarriers”. *Chemical Engineering Science*, v. 125, p. 75–84, 2015.
- LENZI, M. K. et al. “Semibatch styrene suspension polymerization processes”. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 89, n. 11, p. 3021–3038, 2003.
- LI, C. Y.; ZHAO, B.; ZHU, L. “Hairy particles: Theory, synthesis, behavior, and applications”. *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*, v. 52, n. 24, p. 1581–1582, 2014.
- LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. “Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos”. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 41, n. 2, p. 143–154, 2005.
- LOPES, W. A.; FASCIO, M. “Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho”. *Química Nova*, v. 27, n. 4, p. 670–673, 2004.
- LORCA, B. S. S. et al. “Preparation of PMMA nanoparticles loaded with benzophenone-3 through miniemulsion polymerization”. *Macromolecular Symposia*, v. 319, n. 1, p. 246–250, 2012.
- MAINARDES, R. M. et al. “Thermoanalytical study of praziquantel-loaded PLGA nanoparticles”. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 42, n. 4, 2006.
- MALHADO, M. et al. “Preclinical pharmacokinetic evaluation of praziquantel loaded in poly (methyl methacrylate) nanoparticle using a HPLC – MS / MS”. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 117, p. 405–412, 2016.

- MANGANIELLO, M. J. et al. “Diblock copolymers with tunable pH transitions for gene delivery”. *Biomaterials*, v. 33, n. 7, p. 2301–2309, 2012.
- MANO, E. B., MENDES, L. C., 1999, *Introdução a Polímeros*. 2 ed. São Paulo, Editora Edgard Blücher. ISBN: 85-212-0247-4.
- MARTÍN-FABIANI, I. et al. “pH-Switchable Stratification of Colloidal Coatings: Surfaces “on Demand””. *ACS Applied Materials and Interfaces*, v. 8, n. 50, p. 34755–34761, 2016.
- MDULUZA, T. ; F. M. “Putting the treatment of paediatric schistosomiasis into context”. *Infectious Diseases of Poverty*, v. 6, p. 1–6, 2017.
- MENDES, A. N. et al. “Preparation and cytotoxicity of poly(methyl methacrylate) nanoparticles for drug encapsulation”. *Macromolecular Symposia*, v. 319, n. 1, p. 34–40, 2012.
- MOGOSANU, G. D. et al. “Polymeric protective agents for nanoparticles in drug delivery and targeting”. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 510, p. 419–429, 2016.
- MOREIRA, T. S. A. et al. “Synthesis of nanoparticles loaded with tamoxifen by in situ miniemulsion RAFT polymerization”. *Macromolecular Symposia*, v. 344, n. 1, p. 101–107, 2014.
- MORFESIS, A. “Paint Formulations and the Need for Zeta Potential”. *Paint and Coatings Industry magazine*, n. April, 2010.
- MOUSTAFA, A. B. et al. “Synthesis and In Vitro Release of Guest Drugs-Loaded Copolymer Nanospheres MMA / HEMA via Differential Microemulsion Polymerization”. *Journal of Applied Polymer Science*, p. 853–865, 2013.

- MÜNSTER, M. et al. “Multiparticulate system combining taste masking and immediate release properties for the aversive compound praziquantel”. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 109, n. August, p. 446–454, 2017.
- NAAHIDI, S. et al. “Biocompatibility of engineered nanoparticles for drug delivery”. *Journal of Controlled Release*, v. 166, n. 2, p. 182–194, 2013.
- NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. 2018, Disponível em: < <https://www.nist.gov/>>
- OMS. “Neglected tropical diseases. PCT databank, schistosomiasis”. Geneva, Organização Mundial da Saúde, 2017. Disponível em: <http://www.who.int/neglected_diseases/preventive_chemotherapy/sch/en/> Acessado em Janeiro, 2018.
- OMS. *Weekly epidemiological record*. Geneva: Organização Mundial da Saúde, v. 128, 5, p.53-60, 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/wer/>>.
- OLIVEIRA, M. A. M.; NELE, M.; PINTO, J. C. Polimerização RAFT em Miniemulsão. *Polímeros Ciência e Tecnologia*, v. 23, n. 6, p. 784–797, 2013.
- ORO, D.; ARAÚJO, P. H. H.; SAYER, C. “Polimerização de estireno em miniemulsão. efeito das condições de preparo da pré-emulsão”. *Anais do 8º Congresso Brasileiro de Polímeros*, p. 974–976, 2014.
- PAIVA, T. F. *Desenvolvimento de micropartículas poliméricas para liberação controlada do praziquantel para o tratamento da esquistossomose*. (Qualificação de doutorado). Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2017.
- PARK, K. “Controlled drug delivery systems: Past forward and future back”. *Journal of Controlled Release*, v. 190, p. 3–8, 2014.
- PAUL C. PAINTER, M. M. C. “Essentials of Polymer Science and Engineering”. *DEStech Publications*, 2008.

- PEIXOTO, A. C. B. *Funcionalização de nanopartículas poliméricas para liberação de medicamentos sítio-dirigida*. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2013.
- PETKOVA, R.; TCHOLAKOVA, S.; DENKOV, N. D. “Role of polymer-surfactant interactions in foams: Effects of pH and surfactant head group for cationic polyvinylamine and anionic surfactants”. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 438, p. 174–185, 2013.
- PETROS, R. A.; DESIMONE, J. M. “Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications”. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 9, n. 8, p. 615–627, 2010.
- PINTO REIS, C. et al. “Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles”. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, v. 2, n. 1, p. 8–21, 2006.
- PLAMPER, F. A. et al. “Star-shaped poly[2-(dimethylamino)ethyl methacrylate] and its derivatives: toward new properties and applications”. *Polimery*, v. 59, n. 1, p. 66–73, 2014.
- RAMBHIA, K. J.; MA, P. X. “Controlled drug release for tissue engineering”. *Journal of Controlled Release*, v. 219, p. 119–128, 2015.
- RAO, J. P.; GECKELER, K. E. “Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters”. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, v. 36, n. 7, p. 887–913, 2011.
- REYES-ORTEGA, F. “pH-responsive polymers: Properties, synthesis and applications”. *Woodhead Publishing Limited*, 2014.

- ROSA, M. F., VILHENA, R. D. O., 2012, “Dissolução Intrínseca: Conceito e Aplicações na Indústria Farmacêutica”, *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. IX, n. 1, pp. 49–61
- SCHAFFAZICK, S. R. et al. “Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos”. *Química Nova*, v. 26, n. 5, p. 726–737, 2003.
- SCHORK, F. . et al. “Miniemulsion polymerization. Colloids and Surfaces”: *Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 153, n. 1–3, p. 39–45, 1999.
- SHI, J. et al. “Synthesis and thermal properties of a novel nanoencapsulated phase change material with PMMA and SiO₂ as hybrid shell materials”. *Thermochimica Acta*, v. 617, p. 90–94, 2015.
- SIGMA ALDRICH. *Applications: Free Radical Initiators*. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-Aldrich/docs/Aldrich/General_Information/thermal_initiators.pdf?utm_source=redirect&utm_medium=promotional&utm_campaign=insite_thermal_initiators>. Acesso em: 16 mar. 2017.
- SILVA, V. B. R. DA et al. “Medicinal chemistry of antischistosomal drugs: Praziquantel and oxamniquine”. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, v. 25, n. 13, p. 3259–3277, 2017.
- SIQUEIRA, P. et al. “Schistosomiasis: Drugs used and treatment strategies”. *Acta Tropica*, v. 176, n. July, p. 179–187, 2017.
- TANG, Z. et al. “Polymeric nanostructured materials for biomedical applications”. *Progress in Polymer Science*, v. 60, p. 86–128, 2016.
- TOMIOTTO-PELLISSIER, F. et al. “Nanotechnology as a potential therapeutic alternative for schistosomiasis”. *Acta Tropica*, v. 174, n. May, p. 64–71, 2017.

- TRASTULLO, R. et al. “Development of flexible and dispersible oral formulations containing praziquantel for potential schistosomiasis treatment of pre-school age children”. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 495, n. 1, p. 536–550, 2015.
- UHRICH, K. E.; CANNIZZARO, S. M. “Polymeric systems for controlled drug release”. *Chemical Reviews*, v. 99, p. 3181–3198, 1999.
- VIEIRA, L. M. *Encapsulamento in situ de praziquantel na polimerização em suspensão do metacrilato de metila para a produção de sistemas de liberação controlada*. (Dissertação de Mestrado). UFRJ, 2014.
- VIJAYAN, V. et al. “Optimization and characterization of repaglinide biodegradable polymeric nanoparticle loaded transdermal patches: In vitro and in vivo studies”. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 111, p. 150–155, 2013.
- WAGNER, H. L. “The Mark-Houwink-Sakurada Relation for Poly(Methyl Methacrylate)”. *J. Phys. Chem. Ref. Data*, v. 16, n. 2, p. 165–173, 1987.
- WILCZEWSKA, A. Z. et al. “Nanoparticles as drug delivery systems”. *Pharmacol Rep*, v. 64, n. 5, p. 1020–1037, 2012.
- WU, W. et al. “Drug release behaviors of a pH sensitive semi-interpenetrating polymer network hydrogel composed of poly(vinyl alcohol) and star poly[2-(dimethylamino) ethyl methacrylate]”. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 416, n. 1, p. 104–109, 2011.
- YOU, J. O.; AUGUSTE, D. T. “Feedback-regulated paclitaxel delivery based on poly(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate-co-2-hydroxyethyl methacrylate) nanoparticles”. *Biomaterials*, v. 29, n. 12, p. 1950–1957, 2008.
- YUAN, L. et al. “Synthesis of poly(methyl methacrylate) nanoparticles via differential microemulsion polymerization”. *European Polymer Journal*, v. 49, n. 1, p. 41–48, 2013.

ZHANG, Q. et al. “Wettability switching between high hydrophilicity at low pH and high hydrophobicity at high pH on surface based on pH-responsive polymer”. *Chemical Communications*, v. 0, n. c, p. 1199–1201, 2008.

ZHANG, Y. et al. “Synthesis of polyacrylonitrile nanoparticles at high monomer concentrations by AIBN-initiated semi-continuous emulsion polymerization method”. *European Polymer Journal*, v. 67, p. 57–65, 2015.

APÊNDICE I

Cálculo da massa do surfactante livre para formação de micelas

Área específica da emulsão:

$$a_s^* = \frac{6\varphi}{\rho_{MMA} \cdot C_{surf} \cdot k \cdot x_{3,2}} \left(\frac{m^2}{g} \right) \quad \text{I.1}$$

Massa de surfactante adsorvida nas partículas:

$$M_s^{ad} = \frac{A_{total}}{a_s} = \frac{6M}{\rho_{MMA} \cdot d \cdot a_s} (g) \quad \text{I.2}$$

Massa de surfactante livre:

$$M_s^{\hat{}} = M_s^o - M_s^{ad} (g) \quad \text{I.3}$$

Concentração de surfactante na água:

$$C_s = \frac{M_s^{\hat{}}}{Vol_{\acute{a}gua}} \left(\frac{g}{mL} \right) \quad \text{I.4}$$

Símbolo	Legenda	Referência
$M_s^{\hat{}}$	Massa do surfactante disponível para formar micela	
a_s^*	Área ocupada pelo surfactante/eficiência de cobertura	(PEIXOTO, 2013)
M_s^{ad}	Massa de surfactante adsorvido na interface	
A_{total}	Área total das gotículas de monômero	
M	Massa dos monômeros alimentada	
ρ_{MMA}	Volume específico do monômero	(PEIXOTO, 2013)
d	Diâmetro médio da gota	
M_s^o	Massa de surfactante alimentada	
φ	Fração da fase orgânica	

$x_{3,2}$	Diâmetro médio de Sauter	
k	Fator de correlação que leva em conta a concentração dissolvida no meio contínuo	(HECHT <i>et al.</i> , 2011)
C_{surf}	Concentração de surfactante em massa total	

Para a reação R2 – P(MMA-co-DMAEMA) 90-10, por exemplo:

$$a_s^* = \frac{6 \cdot (0,3)}{(0,94 \cdot 10^6 \frac{g}{m^3}) \cdot 0,0112 \cdot 0,8 \cdot (80 \cdot 10^{-9} m)} = 2,68 \cdot 10^3 \frac{m^2}{g} \quad I.5$$

$$M_s^{ad} = \frac{A_{total}}{a_s} = \frac{6 \cdot (17,67 g)}{(94 \cdot 10^4 \frac{g}{m^3}) \cdot (80 \cdot 10^{-9} m) \cdot (2,68 \cdot 10^3 \frac{m^2}{g})} = 0,53 g \quad I.6$$

$$M_s^{\dot{}} = M_s^o - M_s^{ad} = 0,9 - 0,53 = 0,37 g \quad I.7$$

$$C_s = \frac{M_s^{\dot{}}}{Vol_{\dot{a}gua}} = \frac{0,37}{52} = 7,18 \cdot 10^{-3} \frac{g}{mL} > CMC_{LSS} \quad I.8$$

Sendo que:

$$CMC_{LSS} = 2,36 \cdot 10^{-3} g/mL *$$

$$CMC_{CTAB} = 5,7 \cdot 10^{-3} g/mL *$$

*(DALTIM, 2011)

APÊNDICE II

Cálculo da incorporação dos comonômeros via técnica de H-RMN

Exemplo de cálculo para a reação R1 - P(MMA-co-DMAEMA) 95-5.

O resultado da análise de RMN é gerado em termos de relação molar, logo é necessária a conversão da massa inicial dos monômeros para o número de mols.

1º Passo: Converter número de mols

$$n_{MMA} = \frac{m_{alimentada}}{MM} = \frac{16,8592}{100,121 \text{ g/mol}} = 0,1684 \text{ mols} \quad 1$$

$$n_{DMAEMA} = \frac{m_{alimentada}}{MM} = \frac{0,8926}{157,2 \text{ g/mol}} = 0,0057 \text{ mols} \quad 2$$

2º Passo: Calcular a porcentagem de mols do comonômero em relação ao MMA.

$$\% DMAEMA_{teórica} = \frac{0,0057}{0,1684} \times 100\% = 3,37\% \quad 3$$

3º Passo: A partir do resultado do RMN, obter a integral do pico correspondente do hidrogênio característico de cada molécula.

$$PMMA: O - CH_3 = \frac{47,56}{3 \text{ (hidrogênios)}} = 15,85 \quad 4$$

$$PDMAEMA: O - CH_2 = \frac{0,78}{2 \text{ (hidrogênios)}} = 0,39 \quad 5$$

4º Passo: Calcular a porcentagem real de mols do comonômero em relação ao MMA.

$$\% DMAEMA_{real} = \frac{0,39}{15,85} \times 100\% = 2,46\% \quad 6$$

5º Passo: Converter a porcentagem teórica de mols do comonômero em relação ao MMA para valor mássico.

$$\% DMAEMA_{real} = \frac{2,46 \times 5}{3,37} = 3,65 \% \quad 7$$

Logo, na realidade foram incorporados 3,65% da quantidade inicial de 5% em massa de DMAEMA.