COPPE
Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia
UFRJ

DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS POLIMÉRICAS INTELIGENTES PARA LIBERAÇÃO MODIFICADA DO PRAZIQUANTEL PARA O TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE

Thamiris Franckini Paiva

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

Orientadores: José Carlos Costa da Silva Pinto
Príamo Albuquerque Melo Jr.

Rio de Janeiro
Julho de 2019

DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS POLIMÉRICAS INTELIGENTES PARA LIBERAÇÃO MODIFICADA DO PRAZIQUANTEL PARA O TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE

Thamiris Franckini Paiva

TESE 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 DOUTOR EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA QUÍMICA.

Examinada por:

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

Prof. Príamo Albuquerque Melo Jr., D.Sc.

Prof. Ariane de Jesus Sousa Batista, D.Sc.

Prof. Helen Conceição Ferraz, D.Sc.

Prof. Helvécio Vinicius Antunes Rocha, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL

JULHO DE 2019

Paiva, Thamiris Franckini

Desenvolvimento de micropartículas poliméricas inteligentes para liberação modificada do praziquantel para o tratamento da esquistossomose/Thamiris Franckini Paiva. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2019.

XXIX, 232 p.: il.; 29, 7cm.

Orientadores: José Carlos Costa da Silva Pinto

Príamo Albuquerque Melo Jr.

Tese (doutorado) – UFRJ/COPPE/Programa de Engenharia Química, 2019.

Referências Bibliográficas: p. 190 – 214.

1. Micropartículas inteligentes. 2. Polimerização em suspensão. 3. Praziquantel. 4. Liberação modificada. I. Pinto, José Carlos Costa da Silva *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Química. III. Título.

"Se pude enxergar mais longe,

foi porque me apoiei sobre o

ombro de gigantes."

Isaac Newton

Agradecimentos

Agradeço a meus pais, irmão, primos e primas por serem os alicerces da minha vida, pelo amor, pela compreensão e pelo apoio absoluto quanto ao caminho que eu escolhi seguir, mesmo não entendendo o que eu tanto fazia nesses anos de trabalho e dedicação.

A meus orientadores Zé e Príamo pela oportunidade, orientação, confiança e incentivo durante todos esses anos. Vocês foram fundamentais para o crescimento e amadurecimento desta pesquisadora.

A minhas amigas, Aline, Celina, Evelyn e Luciana, por estarem sempre presentes, pela amizade, pelo apoio e pelos conselhos.

As grandes amigas conquistadas nessa jornada, Debs, Iza, Maíra, Mari, Lu e Ray, pelas risadas garantidas, pelas incontáveis conversas que despertaram novas ideias, por me questionarem, por me permitirem questionar, por estarem presentes! Ray e Iza, as mais experientes no laboratório, aprendi tanto com vocês! Fazem muito falta por aqui! Mari e Maíra, minha médica e minha gata rabugenta! Nossos caminhos estão se cruzando novamente e não tenham dúvidas do quão grata eu sou por me acolherem nessa nova empreitada! Debs (ou melhor, *meu xêru*), muito obrigada por ser meu suporte, meu apoio, minha companheira de tattoos (mesmo que viajando até o outro lado do estado)! Ninguém jamais entenderá e aceitará a típica ariana que eu sou (é o que dizem por aí...) como você! Lu, minha eterna companheira de papers, apresentações e projetos! Obrigada por me permitir dividir com você minhas aflições, meus medos, minhas vitórias, meus sucessos! Obrigada por estar sempre do meu lado, me apoiando e me dando forças nesses últimos meses do doutorado!

Dizer obrigada nunca vai ser suficiente para agradecer por tudo que vocês fizeram por mim! Amo vocês!!

A todo grupo EngePol, por compartilharem o conhecimento, por toda a ajuda, por tornarem os dias no *lab* menos cansativos (mesmo depois das reuniões) e por nossos memoráveis almoços (uma confusão só, mas que guardo no coração!). Em especial, agradeço a Jéssica e Lys, que sempre me ajudaram e me permitiram ajudar e se intrometer em suas respectivas pesquisas! Ao Marcel por sempre estar disposto a me ajudar, por nossas conversas extremamente confusas que não chegavam a lugar nenhum mas que, agora, estamos até conseguindo render! A Betina (*Gabi*) e Nathany por serem as melhores companheiras de projetos (e pipoca) e por serem meu suporte nesse finalzinho de doutorado! Ao Reifouls por me aguentar, com bastante paciência, nessa jornada de modelagem, me dando as melhores frases motivacionais (*"alguns diriam que está excelente, mas está apenas no caminho certo..."*)! Por fim, agradeço a outros grandes amigos que o laboratório me deu: Martina (mesmo não escrevendo meu nome certo), Gus, Debbie Way e Mateus.

Ao Cazumbá pela amizade nesses últimos anos, por ser meu eterno companheiro de gargalhadas, cafés, lanches e fofocas. Obrigada por tudo! Ao Gobs por ser o melhor amigo que o PEQ me deu, pelos conselhos, pelas conversas e pela companhia que foi essencial para eu chegar até aqui! Obrigada por essa linda amizade!

A Lari e Vanessa por se tornarem grandes amigas ao longo desses anos, além de serem as melhores gerentes que poderíamos ter em nossos laboratórios. A Nathalie e Camila pela paciência em realizar as inúmeras análises, e a Natasha pelo suporte nas compras. Ao Roberto pelo auxílio nas reações realizadas na Planta Piloto.

Aos laboratórios: Laboratório de Cromatografia e Adsorção (LabCads/UFRJ), Laboratório de Farmácia (CCS/UFRJ), Laboratório Multiusuário de RMN em Solução (LABRMN-2/UFRJ), Laboratório de Microscopia (MetalMat/UFRJ), Grupo Interdisciplinar de Fenômenos Interfaciais (GRIFIT/UFRJ), Laboratório de Apoio Instrumental (LAPIN/UFRJ), Laboratório de Farmacologia (Farmácia/UFF) e Laboratório de Farmacocinética (FIOCRUZ), pelas apoio nas análises realizadas

ao longo da tese.

Ao CNPq, CAPES e FAPERJ pelo auxílio financeiro.

E a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

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

DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS POLIMÉRICAS INTELIGENTES PARA LIBERAÇÃO MODIFICADA DO PRAZIQUANTEL PARA O TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE

Thamiris Franckini Paiva

Julho/2019

Orientadores: José Carlos Costa da Silva Pinto
Príamo Albuquerque Melo Jr.

Programa: Engenharia Química

A esquistossomose é um dos principais problemas de saúde pública do mundo. Mesmo sendo uma doença comum em crianças em idade pré-escolar, o tratamento é realizado por meio de comprimidos do fármaco praziquantel (PZQ), caracterizados pelo forte sabor amargo. O objetivo principal desta tese é o desenvolvimento de uma nova formulação para a administração oral do PZQ, com uso de micropartículas inteligentes para o encapsulamento e posterior liberação do fármaco no organismo. A técnica de polimerização em suspensão foi utilizada para a síntese das micropartículas poliméricas de PMMA e dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA), na presença do PZQ, tendo obtido tamanhos médios entre 80 e 400μm com elevada eficiência de encapsulamento do fármaco ($> 90\%$) e liberações próximas a 100 % após 1 hora de ensaio, com influência significativa do teor de comonômero e do diâmetro das partículas sobre a velocidade de liberação do fármaco. Além disso, os ensaios *in vivo* mostraram que as micropartículas inteligentes atingiram concentrações plasmáticas superiores ao do PZQ puro, indicando o aumento da biodisponibilidade do PZQ.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

DEVELOPMENT OF SMART POLYMER MICROPARTICLES FOR THE MODIFIED RELEASE OF PRAZIQUANTEL FOR TREATMENT OF SCHISTOSOMIASIS

Thamiris Franckini Paiva

July/2019

Advisors: José Carlos Costa da Silva Pinto

Príamo Albuquerque Melo Jr.

Department: Chemical Engineering

Schistosomiasis is one of the major public health problems worldwide. Although this is a common illness in preschool children, the treatment is carried out through the administration of praziquantel (PZQ) tablets, which are characterized by a strong bitter taste. The main objective of the present work is the development of a new PZQ oral formulation, with the use of smart microparticles for the encapsulation and subsequent release of the drug in the body. The suspension polymerization technique was used for the synthesis of the polymer microparticles of PMMA and copolymers P(MMA-co-DEAEMA) and P(MMA-co-DMAEMA), in the presence of PZQ, having mean diameter between 80 and 400 μm with high encapsulation efficiencies ($>$ 90 %) and release rates close to 100 % after 1 hour of assay, with significant influence of the comonomer content and particle diameter on the drug release rate. In addition, the *in vivo* tests showed that the smart microparticles reached plasma concentrations higher than the pure PZQ, indicating the increased bioavailability of PZQ.

Sumário

Lista de Figuras **xv**

Lista de Tabelas **xxiii**

1 Introdução **1**

1.1 Motivação 1

1.2 Histórico do grupo de pesquisa 4

1.3 Proposta 5

1.3.1 Objetivos específicos 5

1.4 Estrutura da tese 6

2 Revisão Teórica e Bibliográfica **9**

2.1 Esquistossomose 9

2.1.1 Ciclo de vida do parasita 11

2.1.2 Sintomas e tratamento da esquistossomose 13

2.2 Praziquantel 15

2.2.1 Mecanismo de ação 17

2.2.2 Forma farmacêutica e propriedades 18

2.2.3 Limitações 20

2.3 Sistemas de liberação modificada 21

2.4 Microencapsulação 32

2.4.1 Micropartículas poliméricas 34

2.4.2 Métodos de microencapsulação 38

2.5 Processos de polimerização 40

2.5.1 Polimerização em suspensão 41
2.5.1.1 Processo de formação das partículas na polimerização em suspensão 46
2.5.1.2 Mecanismo cinético da reação de polimerização do metacrilato de metila 47
2.5.1.3 Encapsulamento *in situ* de ativos na polimerização em suspensão 50
2.6 Controle na liberação dos fármacos em sistemas poliméricos 52
2.7 Polímeros inteligentes 55
2.8 Comentários finais 61

3 Materiais e Métodos **62**
3.1 Material 62
3.1.1 Reagentes 62
3.1.2 Equipamentos e acessórios 65
3.2 Métodos 68
3.2.1 Metodologia em escala de bancada - Reator 100 mL 68
3.2.2 Metodologia em escala de bancada - Reator 1L 71
3.2.3 Metodologia em escala piloto - Reator 12 L 73
3.3 Técnicas de caracterização do produto final 75
3.3.1 Conversão por gravimetria 75
3.3.2 Distribuição de tamanhos de partículas 75
3.3.3 Eficiência de encapsulamento 76
3.3.4 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) 77
3.3.5 Análise termogravimétrica (TGA) 77
3.3.6 Calorimetria exploratória diferencial (DSC) 78
3.3.7 Difratometria de Raios X (DRX) 79
3.3.8 Cromatografia de permeação em gel (GPC) 79
3.3.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) 80
3.3.10 Análise de viscosidade 80

3.3.11 Ressonância magnética nuclear (H-RMN) 80
3.3.12 Potencial zeta 81
3.3.13 Ângulo de contato 81
3.3.14 Tensão interfacial 82
3.3.15 Ensaios de dissolução 82

4 Resultados e Discussão - Produção de Partículas de PMMA 86

4.1 Avaliação dos tamanhos de partículas 87
4.2 Eficiência de encapsulamento 90
4.3 Distribuição de massas molares 91
4.4 Análises térmicas 94
4.5 Difratometria de raios X (DRX) 97
4.6 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) 99
4.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) 100
4.8 Ensaios de dissolução 103
4.9 Considerações preliminares 105

5 Resultados e Discussão - Produção de Partículas Inteligentes 107

5.1 Conversão das polimerizações em massa 108
5.2 Avaliação dos tamanhos de partícula 109
5.3 Eficiência de encapsulamento 112
5.4 Distribuição de massas molares 113
5.5 Análises térmicas 118
5.6 Difratometria de raios X (DRX) 122
5.7 Potencial zeta 123
5.8 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) 125
5.9 Ressonância magnética nuclear (H-RMN) e ângulo de contato 128
5.10 Análises de tensão interfacial 133
5.11 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) 134
5.12 Ensaios de dissolução 136

5.13 Considerações preliminares 140

6 Resultados e Discussão - Escalonamento do Processo 142

I Escalonamento - Reator 1 L 143

6.1 Avaliação dos tamanhos de partícula (R. 1L) 143

6.2 Eficiência de encapsulamento (R. 1L) 146

6.3 Análises térmicas (R. 1L) 147

6.4 Difratometria de raios X (DRX) (R. 1L) 148

6.5 Potencial zeta (R. 1L) 150

6.6 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) (R. 1L) 151

6.7 Ângulo de contato (R. 1L) 152

6.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) (R. 1L) 153

6.9 Ensaios de dissolução (R. 1L) 155

6.10 Considerações preliminares (R. 1L) 160

II Escalonamento - Reator 12 L 160

6.1 Avaliação dos tamanhos de Partícula (R. 12L) 161

6.2 Eficiência de encapsulamento (R. 12L) 162

6.3 Análises térmicas (R. 12L) 163

6.4 Difratometria de raios X (DRX) (R. 12L) 165

6.5 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) (R. 12L) 166

6.6 Ângulo de contato (R. 12L) 167

6.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) (R. 12L) 168

6.8 Ensaios de dissolução (R. 12L) 169

6.9 Considerações preliminares (R. 12L) 171

7 Resultados e Discussão - Avaliação Farmacocinética 173

7.1 Introdução 173

7.2 Metodologia experimental 176

7.2.1 Materiais 176
7.2.2 Ensaios *in vivo* 177
7.3 Resultados preliminares 179
7.4 Considerações preliminares 183

8 Considerações Finais **185**
8.1 Considerações finais 185
8.2 Melhor solução proposta 187
8.3 Sugestões para trabalhos futuros 188

Referências Bibliográficas **190**

Apêndices **215**

A Espectros de absorção do PZQ na região UV **216**

B Espectros de H-RMN **218**
B.1 Espectros de H-RMN de PMMA 218
B.2 Espectros de H-RMN de copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) 219
B.3 Espectros de H-RMN de copolímeros P(MMA-co-DMAEMA) 222

C Validação do método de quantificação do PZQ por HPLC **225**
C.1 Linearidade 225
C.2 Precisão 226
C.3 Exatidão 227
C.4 Limites de detecção e quantificação 229

D Comitê de Ética de Uso de Animais **230**

E Produção Acadêmica **231**

Lista de Figuras

2.1 Áreas endêmicas da esquistossomose no Brasil (SUCEN, 2006). 11

2.2 Ciclo biológico do parasita *S. mansoni* (adaptado de GENOME RESEARCH LIMITED (2016)). 13

2.3 Fórmula estrutural dos derivados de pirazino-isoquinoleínico. 16

2.4 Fórmula estrutural do praziquantel (*carbono quiral). 16

2.5 Comprimido de praziquantel produzido pela Bayer. 19

2.6 Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB). 20

2.7 Comparação entre a administração convencional e a liberação controlada de fármacos (adaptado de KIM *et al.* (2009)). 22

2.8 Representação das microesferas e microcápsulas poliméricas (ativo dissolvido no núcleo (A) ou adsorvido na parede polimérica (B)). . . . 35

2.9 Fórmula estrutural do poli(metacrilato de metila). 36

2.10 Esquema ilustrativo de reação de polimerização do metacrilato de metila (MMA). 41

2.11 Representação esquemática do processo de polimerização em suspensão. 42

2.12 Esquema ilustrativo do mecanismo de liberação por difusão. 53

2.13 Esquema ilustrativo do mecanismo de liberação por inchamento. . . . 54

2.14 Esquemas ilustrativos dos mecanismos do processo de erosão de sistemas poliméricos: (A) erosão em massa ("*bulk erosion*") e (B) erosão de superfície ("*surface erosion*"). 55

2.15 Esquema ilustrativo da dependência do inchamento com a ionização do grupo ionizável (adaptado de HUH *et al.* (2012)). 57

2.16 Fórmula estrutural do PDEAEMA e PDMAEMA. 59

3.1 Unidade de polimerização (minirreator). 69
3.2 Unidade de polimerização referente ao sistema do reator de 1 L. . . . 73
3.3 Unidade de polimerização referente ao sistema do reator de 12 L, presente na Planta Piloto. 74

4.1 Distribuição de tamanhos de partículas para as amostras produzidas via polimerização em suspensão. 89
4.2 Evolução temporal das viscosidades de soluções de MMA e de MMA com 1 % (m/m) de EGDMA, na presença de BPO (nas mesmas condições das reações de polimerização em suspensão). 89
4.3 Curva de calibração do fármaco praziquantel, usando água como solvente. 90
4.4 Distribuições de massas molares das micropartículas de PMMA produzidas com e sem praziquantel e com clorofórmio. 92
4.5 Análise termogravimétrica do praziquantel. 95
4.6 Análise termogravimétrica das micropartículas de PMMA produzidas com e sem praziquantel, com clorofórmio e com EGDMA. 95
4.7 Termogramas de DSC do praziquantel puro, da mistura física (PMMA e PZQ) e das micropartículas de PMMA produzidas com e sem praziquantel, com clorofórmio e com EGDMA. 97
4.8 Difratogramas de DRX do praziquantel puro, da mistura física (PMMA e PZQ) e das micropartículas de PMMA produzidas com e sem praziquantel, com clorofórmio e com EGDMA. 98
4.9 Espectro de FTIR do praziquantel puro e das micropartículas de PMMA produzidas com e sem praziquantel, com clorofórmio e com EGDMA. 100
4.10 Micrografias das micropartículas: (a) PMMA puro; (b) PMMA/PZQ; (c) PMMA-$CHCl_3$/PZQ e (d) PMMA-EGDMA/PZQ. 102

4.11 Perfis de liberação do PZQ das micropartículas PMMA-PZQ, para as diferentes faixas de tamanhos de partícula. 104
4.12 Perfis de liberação do PZQ das micropartículas PMMA-PZQ com clorofórmio, para as diferentes faixas de tamanhos de partícula. . . . 104
4.13 Perfis de liberação do PZQ das micropartículas PMMA-PZQ com EGDMA, para as diferentes faixas de tamanhos de partícula. 105

5.1 Conversões das reações de polimerização em massa do PMMA e dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos na Fase II do trabalho. 109
5.2 Distribuição de tamanhos de partículas para os copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos na Fase II do trabalho. 110
5.3 Distribuição de tamanhos de partículas para os copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA), produzidos na presença de PZQ na Fase II do trabalho. 111
5.4 Distribuições de massas molares dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos na Fase II do trabalho. 114
5.5 Distribuições de massas molares dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA), produzidos na presença de PZQ na Fase II do trabalho. 115
5.6 Testes de solubilidade realizados com os copolímeros em diferentes solventes. 117
5.7 Análise termogravimétrica das micropartículas de PMMA, micropartículas dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) e dos homopolímeros PDEAEMA e PDMAEMA obtidos via polimerização em massa na Fase II do trabalho. 119

5.8 Análise termogravimétrica das micropartículas de PMMA/PZQ e dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA), produzidos na presença de PZQ na Fase II do trabalho. 120
5.9 Termogramas de DSC do praziquantel puro, das misturas físicas e das micropartículas dos copolímeros produzidos na Fase II do trabalho e contendo PZQ. 120
5.10 Curvas de DSC do PMMA puro e das micropartículas dos copolímeros puros produzidas na Fase II do trabalho. 121
5.11 Difratogramas de DRX do praziquantel puro, das misturas físicas e das micropartículas dos copolímeros produzidas na Fase II do trabalho e contendo PZQ. 123
5.12 Potencial zeta dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos na Fase II do trabalho. 124
5.13 Comparação entre as transmitâncias do PMMA puro e dos diferentes copolímeros produzidos, com 5 %, 10 %, 20 %, 30 % e 40 % de comonômero (DEAEMA e DMAEMA), na Fase II do trabalho. 126
5.13 (Continuação) Comparação entre as transmitâncias do PMMA puro e dos diferentes copolímeros produzidos, com 5 %, 10 %, 20 %, 30 % e 40 % de comonômero (DEAEMA e DMAEMA), na Fase II do trabalho (cont.). 127
5.14 Espectros de FTIR do praziquantel puro e das micropartículas dos copolímeros produzidos na Fase II do trabalho e contendo PZQ. . . . 128
5.15 Estruturas químicas dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) e hidrogênios avaliados no RMN. 128
5.16 Espectro de H-RMN das micropartículas de PMMA. 130
5.17 Espectro de H-RMN das micropartículas DE-40. 130
5.18 Espectro de H-RMN das micropartículas DM-40. 131

5.19 Tensões interfaciais entre as fases monoméricas (MMA e os comonômeros - DEAEMA e DMAEMA) e fase aquosa (solução de PVA) das reações de polimerização em suspensão conduzidas na Fase II do trabalho. 134
5.20 Micrografias das micropartículas dos copolímeros produzidos: (a) DE-05, (b) DE-10, (c) DE-20, (d) DE-30, (e) DE-40, (f) DM-05, (g) DM-10, (h) DM-20, (i) DM-30 e (j) DM-40. 135
5.21 Micrografias das micropartículas dos copolímeros produzidos na presença de PZQ: (a) DE-05/PZQ, (b) DE-10/PZQ, (c) DE-20/PZQ, (d) DE-30/PZQ, (e) DE-40/PZQ, (f) DM-05/PZQ, (g) DM-10/PZQ, (h) DM-20/PZQ, (i) DM-30/PZQ e (j) DM-40/PZQ. 135
5.22 Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas de PMMA e dos copolímeros DE-05/PZQ e DM-05/PZQ, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d $<$ 75 μm (esquerda) e d $>$ 212 μm (direita).138
5.23 Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas de PMMA e dos copolímeros DE-10/PZQ e DM-10/PZQ, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d $<$ 75 μm (esquerda) e d $>$ 212 μm (direita).138
5.24 Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas de PMMA e dos copolímeros DE-20/PZQ e DM-20/PZQ, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d $<$ 75 μm (esquerda) e d $>$ 212 μm (direita).139
5.25 Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas de PMMA e dos copolímeros DE-30/PZQ e DM-30/PZQ, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d $<$ 75 μm (esquerda) e d $>$ 212 μm (direita).139
5.26 Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas de PMMA e dos copolímeros DE-40/PZQ e DM-40/PZQ, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d $<$ 75 μm (esquerda) e d $>$ 212 μm (direita).140

6.1 Distribuição de tamanhos de partículas para os copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro e no minirreator, nas Fases II e III do trabalho. . . . 145

6.2 Curvas termogravimétricas dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro na Fase III do trabalho. 147
6.3 Curvas de DSC dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro na Fase III do trabalho. 148
6.4 Difratogramas de DRX dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro na Fase III do trabalho. 149
6.5 Potencial zeta dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro na Fase III do trabalho. 151
6.6 Espectros de FTIR dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro na Fase III do trabalho. 152
6.7 Micrografias das micropartículas dos copolímeros produzidos na presença de PZQ no reator de 1 litro: (a) DE-20/PZQ-1L, (b) DE-30/PZQ-1L, (c) DE-40/PZQ-1L, (d) DM-20/PZQ-1L, (e) DM-30/PZQ-1L, (f) DM-40/PZQ-1L. 154
6.8 Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas produzidas no reator de 1 litro dos copolímeros DE-20/PZQ-1L e DM-20/PZQ-1L, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d $<$ 75 μm (esquerda) e d $>$ 212 μm (direita). 156
6.9 Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas produzidas no reator de 1 litro dos copolímeros DE-30/PZQ-1L e DM-30/PZQ-1L, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d $<$ 75 μm (esquerda) e d $>$ 212 μm (direita). 157

6.10 Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas produzidas no reator de 1 litro dos copolímeros DE-40/PZQ-1L e DM-40/PZQ-1L, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d $<$ 75 μm (esquerda) e d $>$ 212 μm (direita). 157
6.11 Distribuição de tamanhos de partículas para os copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto na Fase IV do trabalho, em comparação com os copolímeros produzidos na escala de bancada (minirreator) e no reator de 1 litro. 162
6.12 Curvas termogravimétricas dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto na Fase IV do trabalho. 164
6.13 Curvas de DSC dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto na Fase IV do trabalho. 165
6.14 Difratogramas de DRX dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto na Fase IV do trabalho. 166
6.15 Espectros de FTIR dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto na Fase IV do trabalho. 167
6.16 Micrografias das micropartículas dos copolímeros produzidos na presença de PZQ em escala piloto: (a) DE-30/PZQ-Planta e (b) DM-30/PZQ-Planta. 169
6.17 Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas produzidas em escala piloto dos copolímeros DE-30/PZQ-Planta e DM-30/PZQ-Planta, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d $<$ 75 μm (esquerda) e d $>$ 212 μm (direita). 171

7.1 Curvas de concentração plasmática de PZQ após a administração oral dos seguintes grupos: PZQ livre, PZQ encapsulado em micropartículas de PMMA (MP-PMMA), em micropartículas inteligentes (MPI-PZQ), em nanopartículas de PMMA secas (NP-PMMA) e em nanopartículas de PMMA na forma de látex (NP-PMMA-Látex). 182

A.1 Espectro de absorção UV do fármaco PZQ em água. 216

A.2 Espectro de absorção UV do fármaco PZQ em tampão fosfato com lauril sulfato de sódio (2 % (m/m)). 217

A.3 Espectro de absorção UV do fármaco PZQ em HCl 0,1M com lauril sulfato de sódio (2 % (m/m)). 217

B.1 Espectro de H-RMN das micropartículas de PMMA. 218

B.2 Espectro de H-RMN das micropartículas DE-05. 219

B.3 Espectro de H-RMN das micropartículas DE-10. 220

B.4 Espectro de H-RMN das micropartículas DE-20. 220

B.5 Espectro de H-RMN das micropartículas DE-30. 221

B.6 Espectro de H-RMN das micropartículas DE-40. 221

B.7 Espectro de H-RMN das micropartículas DM-05. 222

B.8 Espectro de H-RMN das micropartículas DM-10. 223

B.9 Espectro de H-RMN das micropartículas DM-20. 223

B.10 Espectro de H-RMN das micropartículas DM-30. 224

B.11 Espectro de H-RMN das micropartículas DM-40. 224

C.1 Curva de calibração para a verificação da linearidade do método cromatográfico. 226

D.1 Parecer técnico da Comissão de Ética no Uso de Animais aprovando os ensaios *in vivo*. 230

Lista de Tabelas

2.1 Resumo dos artigos que utilizam sistemas de liberação para o PZQ. . 24

2.1 Continuação. 25

2.2 Exemplos de produtos disponíveis no mercado e que utilizam a técnica de microencapsulação. 34

2.3 Vantagens e desvantagens das principais técnicas de microencapsulação (JAMEKHORSHID *et al.*, 2014; LAM e GAMBARI, 2014). 39

2.4 Exemplos de artigos encontrados na literatura sobre o uso dos polímeros PDEAEMA ou PDMAEMA para aplicações biomédicas. . . 60

3.1 Receita experimental das reações de polimerização em suspensão de MMA. 69

3.2 Receita experimental das reações de copolimerização em suspensão de MMA e comonômeros catiônicos. 71

3.3 Receita experimental das reações de copolimerização em suspensão realizadas no reator de 1 L com MMA e comonômeros catiônicos. . . 72

3.4 Receita experimental das reações de copolimerização em suspensão realizadas no reator de 12 L com MMA e comonômeros catiônicos. . . 74

4.1 Relação das micropartículas à base de PMMA preparadas e analisadas na Fase I do trabalho. 87

4.2 Tamanhos médios das micropartículas produzidas. 88

4.3 Eficiência de encapsulamento do PZQ nas micropartículas poliméricas. 91

4.4 Massas molares médias e índices de polidispersão das micropartículas de PMMA produzidas com e sem praziquantel e com clorofórmio. . . 93

5.1 Relação das micropartículas de P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) sintetizadas na Fase II do trabalho. 108

5.2 Relação dos tamanhos médios das partículas dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) obtidos na Fase II do trabalho. 112

5.3 Eficiências de encapsulamento de PZQ nos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) obtidos na Fase II do trabalho. 113

5.4 Massas molares médias e índices de polidispersão das micropartículas de PMMA e dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos na Fase II do trabalho. 116

5.5 Temperaturas de transição vítrea dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) obtidos na Fase II do trabalho. 122

5.6 Eficiências de incorporação dos comonômeros DEAEMA e DMAEMA nos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA), respectivamente, produzidos na Fase II do trabalho. 131

5.7 Ângulos de contato, em meio ácido, do PMMA e dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos na Fase II do trabalho. 133

6.1 Relação das micropartículas de P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) sintetizadas no reator de 1 litro na Fase III do trabalho. 143

6.2 Relação dos tamanhos médios das partículas dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro na Fase III do trabalho. 144

6.3 Eficiências de encapsulamento de PZQ nos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro na Fase III do trabalho. 146

6.4 Ângulos de contato, em meio ácido, do PMMA e dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro na Fase III do trabalho. 153

6.5 Eficiências de dissolução (ED) de PZQ dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro, nos meios com pH 1,2 e 6,8, na Fase III do trabalho. 159

6.6 Relação das micropartículas de P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) sintetizadas na reator de 12 litros (Planta Piloto) na Fase IV do trabalho. 161

6.7 Relação dos tamanhos médios das partículas dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto na Fase IV do trabalho. 162

6.8 Eficiências de encapsulamento de PZQ nos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto na Fase IV do trabalho. 163

6.9 Ângulos de contato, em meio ácido, do PMMA e dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto na Fase IV do trabalho. 168

6.10 Eficiências de dissolução (ED) de PZQ dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto, nos meios com pH 1,2 e 6,8. 171

7.1 Parâmetros farmacocinéticos do PZQ administrado na forma livre (PZQ-L), encapsulado em micropartículas (MP-PZQ e MPI-PZQ) e encapsulado em nanopartículas (NP-PZQ e NP-PZQ-Látex). 183

C.1 Desvios padrão relativos para a avaliação da precisão do método de quantificação do PZQ por HPLC. 227
C.2 Resultados de exatidão do método de quantificação do PZQ por HPLC.228

Lista de Abreviaturas

AIBN	Azobisisobutironitrila
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPO	Peróxido de benzoíla
$CDCl_3$	Clorofórmio deuterado
$CHCl_3$	Clorofórmio
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DEAEMA	Metacrilato de dietilaminoetila
DMAEMA	Metacrilato de dimetilaminoetila
DMF	N,N-Dimetilformamida
DRX	Difratometria de raios X
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
ED	Eficiência de dissolução
EGDMA	Dimetacrilato de etileno glicol
EngePol	Laboratório de Engenharia de Polímeros
FDA	*Food and Drug Administration* - Administração de Comidas e Remédios
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz

FTIR	Espectroscopia na região do infravermelho
GPC	Cromatografia de permeação em gel
HCl	Ácido clorídrico
HEMA	Metacrilato de 2-hidroxietila
HPLC	*High performance liquid chromatography* (Cromatografia líquida de alta eficiência)
HPLC-MS	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas
IP	Índice de polidispersão
LCST	Temperatura crítica mínima de solução
LMSCP	Laboratório de Modelagem, Simulação e Controle de Processos
LSS	Lauril sulfato de sódio
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MMA	Metacrilato de metila
Mn	Massa molar numérica média
Mw	Massa molar ponderal média
NaOH	Hidróxido de sódio
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAA	Poli(ácido acrílico)
PAAm	Poliacrilamida
PCL	Poli(ε-caprolactona)

PDEAEMA	Poli(metacrilato de dietilaminoetila)
PDMAEMA	Poli(metacrilato de dimetilaminoetila)
PEG	Poli(etileno glicol)
PHB	Poli(3-hidroxibutirato)
PLGA	Poli(ácido lático-co-ácido glicólico)
PMAA	Poli(ácido metacrílico)
PMMA	Poli(metacrilato de metila)
PVA	Poli(álcool vinílico)
PVAc	Poli(acetato de vinila)
PVP	Poli(vinilpirrolidona)
PZQ	Praziquantel
RMN	Ressonância magnética nuclear
SCB	Sistema de classificação biofarmacêutica
SEC	Cromatografia por exclusão de tamanho
TCB	1,2,4-Triclorobenzeno
Teb	Temperatura de ebulição
Tg	Temperatura de transição vítrea
TGA	Análise termogravimétrica
THF	Tetrahidrofurano
VAc	Acetato de vinila

Capítulo 1

Introdução

1.1 Motivação

A esquistossomose é uma doença parasitária que afeta milhões de pessoas, especialmente de baixa renda, sendo considerada um dos principais problemas de saúde pública nos países subdesenvolvidos e uma das doenças mais devastadoras do mundo (BRASIL, 2014). Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) apontam que pelo menos 220 milhões de pessoas necessitaram de tratamento para a esquistossomose em 2017, sendo que apenas cerca de 45 % dessas pessoas receberam o tratamento (OMS, 2019). Ainda de acordo com a OMS, nas áreas tropicais e subtropicais a esquistossomose é considerada a segunda doença mais importante em termos socioeconômicos e de saúde pública, superada apenas pela malária (OMS, 2019). Essa parasitose é relatada em 74 países da África, Ásia e América do Sul, sendo o Brasil o país mais afetado no continente americano (CHUAH *et al.*, 2019). Acredita-se que, no Brasil, aproximadamente 43 milhões de pessoas vivem em áreas de risco de infecção, sobretudo nas regiões Nordeste e Sudeste (SCHOLTE *et al.*, 2014). Ressalta-se que as crianças são especialmente vulneráveis à esquistossomose na idade escolar e são, por conta da doença, frequentemente comprometidas psicológica e intelectualmente (OSAKUNOR *et al.*, 2018).

A esquistossomose é causada pelos vermes do gênero *Schistosoma*, característico

de áreas com recursos hídricos precários, isto é, sem saneamento básico ou com saneamento inadequado (CIOLI *et al.*, 2014; COLLEY *et al.*, 2014). Portanto, a doença afeta principalmente as camadas mais pobres e desassistidas da população, sendo por isso uma doença negligenciada pelos grandes conglomerados farmacêuticos, que pouco investem no desenvolvimento de soluções para esse grave problema. De modo geral, a falta de ampla cobertura dos serviços de saúde e do controle da qualidade dos recursos naturais são fatores relevantes para a disseminação desta parasitose (BRASIL, 2014).

O uso de fármacos anti-helmínticos é a estratégia adotada para o controle da doença, sendo que o praziquantel (PZQ) é o fármaco de escolha da OMS (OMS, 2019). Essa seleção é baseada na eficácia, segurança e baixo custo do seu uso (CIOLI *et al.*, 2014). Atualmente, o praziquantel é administrado na forma de comprimidos de 600 mg, sendo necessária a partição do mesmo para o tratamento das crianças. Além disso, esse fármaco apresenta um forte sabor amargo, causando a rejeição por esses pacientes. Esse fator torna a esquistossomose ainda mais relevante socialmente, pois as crianças são mais gravemente acometidas pela doença e mais dificilmente tratadas.

Acredita-se que, para tornar o uso do praziquantel mais eficiente e eficaz, uma formulação em suspensão pode contornar os problemas de ajuste de dosagem (não sendo mais necessária a quebra dos comprimidos) e sabor, garantindo maior adesão dos pacientes ao tratamento e contribuindo com a melhoria da qualidade de vida das camadas negligenciadas da população. No entanto, embora o cenário atual exija mudanças e melhorias, é comum entre as doenças negligenciadas que não haja grande interesse da indústria farmacêutica nesse tema, o que dificulta o desenvolvimento de novas formulações (DECIT, 2010).

Tal como ocorre com o praziquantel, recentes estudos mostram que aproximadamente 70 % dos novos fármacos apresentam baixa solubilidade em água, resultando em pobre biodisponibilidade, especialmente nos casos da administração oral (KHADKA *et al.*, 2014). Os sistemas de liberação modificada constituem

alternativas promissoras para solucionar o problema de baixa solubilidade, oferecendo diversas vantagens, como maiores taxas de absorção, proteção do fármaco contra a degradação, redução da administração do medicamento, maior adesão do paciente ao tratamento, dentre outras (GRUND *et al.*, 2011). Contudo, apesar de proporcionar diversas vantagens, esses sistemas são usualmente insensíveis às mudanças fisiológicas presentes no corpo humano (BAWA *et al.*, 2009).

Dessa forma, uma abordagem avaliada no presente trabalho é o uso de polímeros inteligentes para o desenvolvimento dos sistemas de liberação. Quando submetidos a um estímulo externo, tais polímeros sofrem alterações de suas propriedades, sendo possível coordenar a liberação do fármaco no local mais apropriado para a absorção e ação terapêutica, tornando-a mais efetiva (ALMEIDA *et al.*, 2012). Para este trabalho, as mudanças de pH ao longo do trato gastrointestinal são levadas em conta para o desenvolvimento das novas formulações, de modo a tornar a entrega do PZQ mais eficaz (SCHMALJOHANN, 2006). Nesse contexto, o poli(metacrilato de dietilaminoetila) (PDEAEMA) e poli(metacrilato de dimetilaminoetila) (PDMAEMA) têm sido usualmente reportados na literatura como materiais úteis para a formação de hidrogéis sensíveis ao pH (CHEN *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2019; PIKABEA *et al.*, 2018), sendo caracterizados, em específico, pela ionização do grupo amina em pHs ácidos, resultando no inchamento das partículas nessas condições físicas.

Tendo como base as informações apresentadas acima, há forte motivação e relevância para o desenvolvimento de novas formulações de praziquantel baseadas em sistemas de liberação controlada e que possam ser aplicadas no tratamento da esquistossomose. Por isso, no presente trabalho é avaliado o uso de micropartículas poliméricas produzidas via polimerização em suspensão como veículos para a liberação do praziquantel. Diante das vantagens intrínsecas para a aplicação pretendida, o uso de polímeros inteligentes é analisado para a formulação de partículas que possam ser usadas para o encapsulamento e posterior liberação do fármaco.

1.2 Histórico do grupo de pesquisa

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Engenharia de Polímeros (EngePol) sendo parte da linha de pesquisa relativa ao uso de polímeros para aplicações biomédicas. De modo geral, o grupo já apresenta ampla experiência nesse tema, tendo diversas teses/dissertações, artigos e patentes publicados.

Nesse contexto, pode-se citar os trabalhos de LORCA (2012) e PAIVA (2015) que sintetizaram nanopartículas de PMMA para o encapsulamento *in situ* de filtros solares via a técnica de polimerização em miniemulsão. Por sua vez, a técnica de polimerização RAFT em miniemulsão foi estudada por MOREIRA *et al.* (2014) e WAY (2017) para produção de nanopartículas para aplicações biomédicas. Por outro lado, OLIVEIRA *et al.* (2011) e PINTO (2017) sintetizaram micropartículas poliméricas de casca-núcleo para encapsulamento *in situ* de fármacos e para suportes poliméricos para catalisadores enzimáticos, respectivamente. Além disso, micropartículas de PVAc-co-PMMA foram estudadas para o encapsulamento dos fármacos doxorrubicina e amoxicilina por OLIVEIRA *et al.* (2012b) e OLIVEIRA *et al.* (2012a).

Em particular para o praziquantel, FONSECA (2012) produziram nanopartículas poliméricas de PMMA via polimerização em miniemulsão para a liberação controlada do PZQ, avaliando a influência da presença do óleo mineral e do Eudragit, de modo a mascarar o sabor desagradável do fármaco em questão. Contudo, os resultados obtidos mostraram que o mascaramento não foi satisfatório tendo rápida liberação do PZQ. Por sua vez, VIEIRA (2014) utilizaram as micropartículas de PMMA, produzidas via polimerização em suspensão, para liberação controlada do PZQ. No entanto, os resultados apontaram alta resistência difusional impedindo a liberação do fármaco.

A originalidade principal do trabalho está associada ao desenvolvimento de uma nova formulação, em suspensão, para a administração oral do praziquantel, que não apresente o gosto amargo característico do fármaco e que promova o aumento

da biodisponibilidade do PZQ, constituindo uma alternativa altamente promissora em relação ao atual método de controle da doença. Dessa forma, o presente trabalho tem como principal objetivo avaliar o uso de micropartículas poliméricas inteligentes, produzidas via polimerização em suspensão, como veículos para a liberação controlada do praziquantel no organismo. Ressalta-se que pouquíssimos trabalhos são relatados na literatura voltados para a produção de micropartículas inteligentes, confirmando a originalidade do trabalho.

1.3 Proposta

O objetivo principal deste trabalho é o desenvolvimento de um sistema de liberação modificada de praziquantel para o tratamento da esquistossomose, baseado em micropartículas de poli(metacrilato de metila) (PMMA), poli(metacrilato de dietilaminoetila) (PDEAEMA) e poli(metacrilato de dimetilaminoetila) (PDMAEMA), que são materiais já amplamente utilizados em outras aplicações biomédicas. Ressalta-se que o ativo a ser estudado é o fármaco de referência para o tratamento da doença.

1.3.1 Objetivos específicos

Os objetivos específicos a serem alcançados ao longo do trabalho são:

- promover o encapsulamento do praziquantel em micropartículas de PMMA durante as reações de polimerização em suspensão;
- avaliar o perfil de liberação do fármaco, investigando a influência do diâmetro das micropartículas sobre os perfis de liberação;
- analisar se a presença de aditivos (solvente e agente reticulante) no meio reacional pode proporcionar o aumento de eficiência da liberação do fármaco;
- estudar a influência do uso de copolímeros inteligentes, à base de DMAEMA (metacrilato de dimetilaminoetila) e DEAEMA (metacrilato de

dietilaminoetila), sobre a eficiência da liberação do fármaco;

- investigar a influência do teor dos comonômeros inteligentes e do diâmetro das micropartículas dos copolímeros sobre os perfis de liberação;
- estudar o escalonamento do sistema de copolimerização em reatores de 1 L e 12 L;
- realizar ensaios *in vivo*, de modo a comparar a eficiência de liberação das micropartículas dos copolímeros em relação às micropartículas e nanopartículas de PMMA, já produzidas pelo grupo de pesquisa como qual esse trabalho está associado.

1.4 Estrutura da tese

Essa tese de doutorado está estruturada em oito capítulos que estão descritos brevemente nesta seção. Neste capítulo inicial, foi apresentada uma breve introdução ao tema, que contém a motivação principal para a realização do trabalho e os objetivos a serem alcançados neste estudo.

O Capítulo 2 apresenta uma revisão teórica e bibliográfica, destacando as principais características relacionadas à esquistossomose, assim como as limitações do uso do praziquantel. Além disso, são abordados os principais trabalhos que tratam de sistemas de liberação controlada reportados para o fármaco em estudo. Por fim, é dada ênfase à produção de micropartículas poliméricas obtidas via polimerização em suspensão, assim como ao uso de polímeros inteligentes em aplicações biomédicas.

No Capítulo 3 é descrita a metodologia experimental adotada para a síntese das micropartículas poliméricas em escala de bancada (minirreator e reator de 1 Litro) e escala piloto (reator de 12 Litros). São descritas também as técnicas de caracterização empregadas ao longo do trabalho: análise da distribuição de tamanhos das partículas, eficiência de encapsulamento, distribuição de massas

molares, morfologia das partículas, análises de viscosidade, análises térmicas (calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria), análises de difração de raios X, espectroscopia na região do infravermelho, ressonância magnética nuclear, potencial zeta, ângulo de contato e ensaios de dissolução *in vitro*.

De modo a facilitar a leitura e o entendimento do trabalho, os resultados obtidos foram divididos em 3 capítulos. O Capítulo 4 aborda os resultados obtidos com o uso das micropartículas de PMMA puro ou na presença de alguns aditivos selecionados (agente reticulante e solvente) para o encapsulamento de PZQ, sendo avaliada, também, a eficiência de liberação pelas micropartículas produzidas. O Capítulo 5 apresenta os resultados obtidos com o uso das micropartículas inteligentes baseadas nos copolímeros de P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA). Neste capítulo também é avaliado o processo de encapsulamento de PZQ nessas partículas inteligentes, assim como a eficiência de liberação em dois pHs diferentes. Frente aos resultados promissores obtidos, o Capítulo 6 apresenta o estudo do escalonamento da síntese das partículas inteligentes, em reatores de 1 L e 12 L, contendo também as etapas caracterização dessas micropartículas.

O Capítulo 7 apresenta um estudo com ensaios *in vivo*, avaliando a liberação de PZQ de nanopartículas de PMMA, micropartículas de PMMA e micropartículas inteligentes. Desse modo, o objetivo desse capítulo é analisar como os diferentes tamanhos de partículas afetam a liberação do fármaco estudado e assim, avaliar se o uso de partículas inteligentes são promissoras para a aplicação pretendida.

No Capítulo 8 são evidenciadas as principais conclusões obtidas ao longo da tese e as perspectivas para a continuação do trabalho de pesquisa. Em seguida, são apresentadas as referências bibliográficas consultadas.

Por último, são apresentados os apêndices, que contêm algumas informações adicionais utilizadas ao longo da pesquisa. No Apêndice A são apresentados os espectros de absorção do praziquantel em diferentes meios. No Apêndice B constam os espectros de H-RMN das micropartículas inteligentes, utilizados para a avaliação da incorporação dos comonômeros. O Apêndice C apresenta a validação do método

de quantificação do PZQ via HPLC. No Apêndice D consta o parecer técnico da Comissão de Ética no Uso de Animais, aprovando os ensaios *in vivo*, presentes no Capítulo 7. Por fim, o Apêndice E lista os trabalhos publicados ao longo do período do doutorado.

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Engenharia de Polímeros (EngePol) do Programa de Engenharia Química da COPPE da Universidade Federal do Rio de Janeiro (PEQ/COPPE/UFRJ), tendo a colaboração de diversos laboratórios:

- Laboratório de Cromatografia e Adsorção (LabCads/UFRJ), para análises de HPLC;
- Laboratório de Farmácia (CCS/UFRJ), para os ensaios de dissolução e análises de HPLC;
- Laboratório Multiusuário de RMN em Solução (LABRMN-2/UFRJ), para as análises de RMN;
- Laboratório de Microscopia (MetalMat/UFRJ), para as análises de MEV;
- Grupo Interdisciplinar de Fenômenos Interfaciais (GRIFIT/UFRJ), para as análises de potencial zeta;
- Laboratório de Apoio Instrumental (LAPIN/UFRJ), para as análises de DRX e DSC;
- Laboratório de Farmacologia (Farmácia/UFF), para a realização dos ensaios *in vivo*;
- Laboratório de Farmacocinética (FIOCRUZ), para as análises de HPLC-MS dos ensaios *in vivo*.

Capítulo 2

Revisão Teórica e Bibliográfica

2.1 Esquistossomose

A esquistossomose (também conhecida como bilharziose, xistose, doença dos caramujos, barriga d'água, dentre outros nomes menos usuais) é uma doença infecciosa que afeta mais de 250 milhões de pessoas ao redor do mundo, sendo causada pelos vermes do gênero *Schistosoma* (CIOLI *et al.*, 2014; COLLEY *et al.*, 2014). Sabe-se que existem diversas espécies deste parasita, sendo que as cinco principais espécies que podem infectar os seres humanos são *S. mansoni* (esquistossomose mansônica), *S. haematobium* (esquistossomose hematóbia, vesical ou urinária), *S. japonicum* (esquistossomose japonesa), *S. intercalatum* (esquistossomose intestinal, comum nos países da África Central) e *S. mekongi* (esquistossomose intestinal, comum no vale do rio Mekongi, no Laos e Camboja) (KATZ e ALMEIDA, 2003; ROKNI, 2012). Dentre estas espécies, apenas o *S. mansoni* existe nas Américas do Sul e Central.

Acredita-se que esta parasitose originou-se nas bacias do rio Nilo e do Yangtze, na África e na Ásia, respectivamente, sendo os ovos do *Schistosoma* encontrados nas vísceras de múmias egípcias. Com o avanço dos meios de transporte e, por conseguinte, com os fluxos migratórios, as esquistossomes foram dispersadas para outros continentes. A inserção da esquistossomose no Brasil, por volta de 1920, se

deve principalmente ao tráfico de escravos oriundos da costa ocidental da África. Inicialmente, a doença foi disseminada na região Nordeste, entre os estados do Rio Grande do Norte e Bahia. Contudo, com o declínio da produção açucareira no Nordeste e o intenso fluxo migratório devido ao início do ciclo do ouro e diamante, a doença alcançou o estado de Minas Gerais (BRASIL, 2014; NOVAES *et al.*, 1999). Ao longo do tempo, além destas primeiras áreas endêmicas, surgiram focos isolados no Rio de Janeiro, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (KATZ e ALMEIDA, 2003).

A esquistossomose ocorre predominantemente em áreas sem saneamento básico ou com saneamento inadequado, que se caracterizam pela situação precária dos recursos hídricos, sendo considerada uma das doenças mais disseminadas em relação àquelas que são transmitidas pela água. Outros fatores, tão importantes quanto o saneamento, podem favorecer a disseminação da esquistossomose, tais como: o nível socioeconômico e o grau de educação e informação da população presente na região (BRASIL, 2014). De modo geral, o território brasileiro apresenta condições favoráveis à transmissão da esquistossomose, sendo hoje considerado um grave problema de saúde pública, sobretudo nas regiões Nordeste e Sudeste do país (SCHOLTE *et al.*, 2014).

Dados recentes disponibilizados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) apontam que, em 2017, pelo menos 220 milhões de pessoas necessitavam de tratamento preventivo contra a esquistossomose, dos quais 70 % eram crianças em idade escolar. Por outro lado, os dados indicam que em torno de 102 milhões de pessoas receberam o tratamento necessário, o que equivale a uma cobertura global de, aproximadamente, apenas 45 % dos doentes (OMS, 2019). A Figura 2.1 retrata a distribuição da esquistossomose no Brasil, onde atualmente existem relatos de casos nos estados do Pará, Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Distrito Federal, Mato Grosso, Goiás, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Acredita-se que, no Brasil, aproximadamente 43 milhões de pessoas

vivem em áreas de risco de infecção e 7 milhões de pessoas estão infectadas (FREZZA *et al.*, 2015).

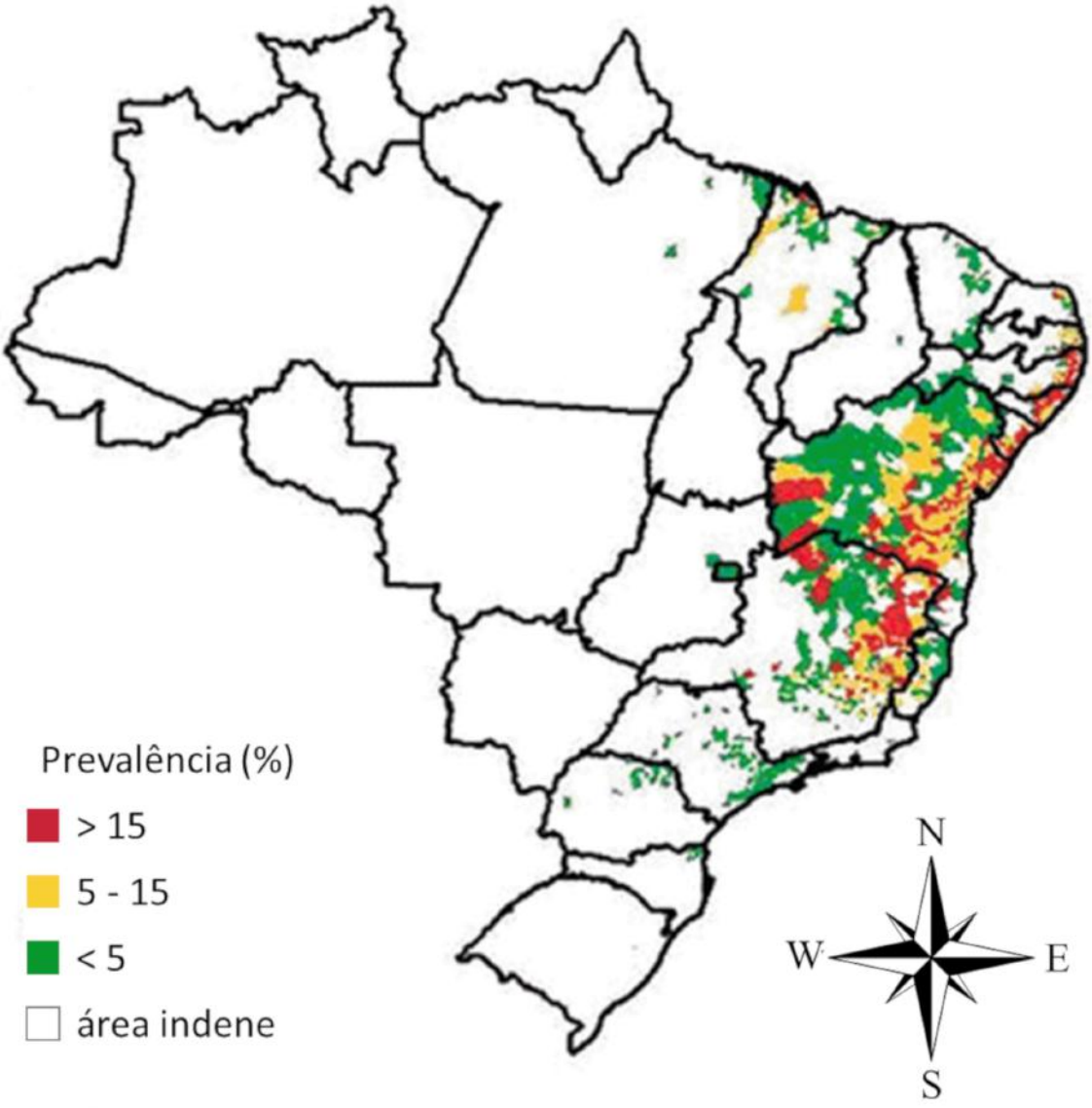


Figura 2.1: Áreas endêmicas da esquistossomose no Brasil (SUCEN, 2006).

2.1.1 Ciclo de vida do parasita

Como dito anteriormente, a esquistossomose é causada pelos vermes do gênero *Schistosoma*, que se caracterizam pelo dimorfismo sexual distinto entre macho e fêmea. O ciclo de vida deste parasita é complexo, requerendo um hospedeiro intermediário e outro definitivo vertebrado. Os caracóis de água doce desempenham o papel de hospedeiros intermediários; no entanto, cada parasita *Schistosoma* está

vinculado a uma espécie do caracol. Enquanto o parasita *S. mansoni* é transmitido pelo caracol da espécie *Biomphalaria*, os parasitas *S. haematobium* e *S. japonicum* são transmitidos pelos caracóis da espécie *Bulinus* e *Oncomelania*, respectivamente (COON, 2005). Devido à ausência dos outros hospedeiros intermediários em nosso território, apenas o *S. mansoni* é encontrado nas Américas do Sul e Central.

No Brasil, os caramujos hospedeiros intermediários do *S. mansoni* são encontrados em locais de águas paradas e sem muita correnteza, tais como açudes, lagos, lagoas, poços, alagados, brejos, rios, ribeirões, córregos, valas *etc.* (SUCEN, 2006).

Como mostrado na Figura 2.2, o ciclo biológico do parasita consiste nas seguintes etapas evolutivas: verme adulto (macho e fêmea), ovo, miracídio, esporocisto, cercária e esquistossômulo (KATZ e ALMEIDA, 2003). O ciclo inicia-se com os vermes fêmeas na fase adulta produzindo ovos fertilizados nos vasos sanguíneos que ligam o intestino ao fígado (sistema porta-hepático) do hospedeiro vertebrado. Como não apresenta órgão copulador, a fêmea insere-se no canal ginecóforo do macho e, uma vez instalada, é facilmente fecundada, iniciando a deposição dos ovos (COON, 2005; KATZ e ALMEIDA, 2003).

Estima-se que o verme adulto possa viver de 3 a 5 anos, podendo chegar a 25 anos, e que cada indivíduo infectado contenha de 4 a 2.000 vermes (SOUZA *et al.*, 2011). Cerca de 300 a 400 ovos são produzidos por dia, sendo depositados nos vasos capilares do intestino do hospedeiro, onde podem amadurecer, sendo em seguida eliminados nas fezes (COON, 2005; KATZ e ALMEIDA, 2003). Ao entrarem em contato com a água e sob efeitos de temperatura (28 °C), luminosidade intensa e níveis de oxigenação da água adequados, os ovos liberam larvas ciliadas chamadas de miracídios, que encontram eventualmente o hospedeiro intermediário, dando início ao ciclo no invertebrado (SOUZA *et al.*, 2011). Nos caramujos, os parasitas sofrem replicação assexuada, transformando-se em esporocistos primários, que geram os esporocistos secundários. Estes, por sua vez, dão origem a um número considerável de cercárias (forma infecciosa para os seres humanos) por reprodução assexuada

(COON, 2005; SOUZA *et al.*, 2011).

As cercárias deixam o caramujo a taxas de até 1.500 unidades por dia, por até 18 dias (COON, 2005). Essas larvas têm apenas um curto período de tempo para encontrar o hospedeiro vertebrado, transformando-se em esquistossômulos (larvas de maturação), que precisam de cerca de 5 a 7 semanas para se tornarem adultos e iniciarem a oviposição (COLLEY *et al.*, 2014). Completa-se, assim, o ciclo evolutivo do parasita (Figura 2.2). De modo geral, o ciclo evolutivo se completa em torno de 80 dias, sendo que cerca de 40 dias são transcorridos no homem e outros 40 dias no molusco (KATZ e ALMEIDA, 2003; SOUZA *et al.*, 2011).

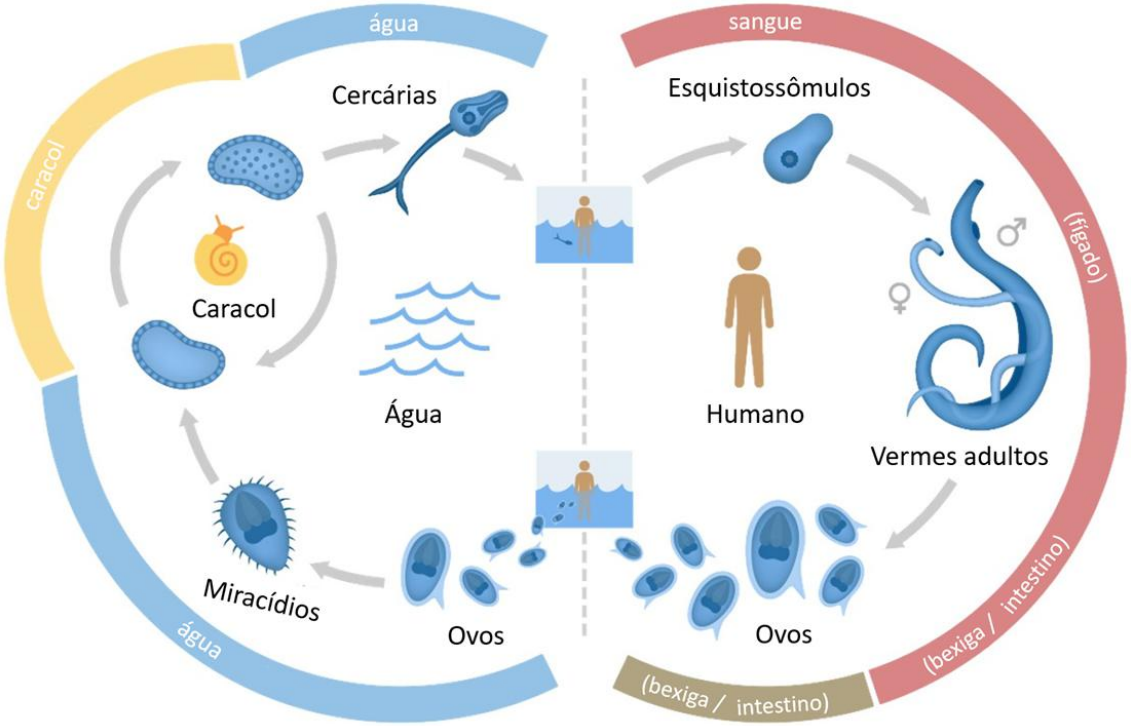


Figura 2.2: Ciclo biológico do parasita *S. mansoni* (adaptado de GENOME RESEARCH LIMITED (2016)).

2.1.2 Sintomas e tratamento da esquistossomose

A fase inicial da doença, que se inicia após o contato com as cercárias, é caracterizada pelas manifestações alérgicas nos indivíduos hipersensíveis. Na fase aguda da esquistossomose mansônica estão presentes os seguintes sintomas:

náuseas, vômitos, diarreia, febre, dor de cabeça, sudorese[1], astenia[2], anorexia[3] e emagrecimento. Além destes, são comuns os relatos de tosse e disenteria, acompanhados de incômodo, distensão ou dores no abdômen e de hipersensibilidade. Em média, a esquistossomose aguda dura quatro a oito semanas após o tratamento específico (KATZ e ALMEIDA, 2003; SOUZA *et al.*, 2011).

Sem o devido tratamento, a doença pode evoluir para a sua forma crônica, que apresenta dois estágios principais: forma intestinal ou hepato-intestinal e forma hepatoesplênica (a mais grave). Os sintomas da forma intestinal ou hepato-intestinal são difíceis de serem atribuídos à esquistossomose, sendo o diagnóstico acidental. Os sintomas são em geral náuseas, vômitos, sensação de plenitude abdominal (estômago cheio), dores abdominais e surtos diarreicos. A forma hepatoesplênica, além dos sintomas já citados, pode apresentar crescimento e endurecimento do fígado e do baço, que podem estar associados com fenômenos hemorrágicos (BRASIL, 2014; KATZ e ALMEIDA, 2003; SOUZA *et al.*, 2011).

Frente à gravidade da esquistossomose, o controle desta doença é de suma importância para as áreas endêmicas, requerendo as seguintes ações: diagnóstico precoce e tratamento adequado, controle dos hospedeiros intermediários, atividades educativas para a população e ações de saneamento para redução das condições favoráveis à transmissão (BRASIL, 2014). Contudo, entre os métodos de controle existentes, a quimioterapia é o único que oferece eficiência imediata para os milhares de indivíduos infectados (ROKNI, 2012; SECOR e COLLEY, 2006).

Como bem descrito por NOVAES *et al.* (1999), diversos medicamentos já foram utilizados para o tratamento da esquistossomose. Em 1918, o tratamento era realizado com o uso do tartarato de potássio e antimônio, sendo seguido pelo uso do dimercaptossuccinato de sódio e antimônio e o di-(pirocatecol-2,4-dissulfonato) de sódio e antimônio. Mais tarde, diante dos efeitos colaterais, os derivados antimoniais foram substituídos pela lucantona e hicantona, que são eficazes contra

[1]Eliminação do suor através dos poros da pele.
[2]Diminuição ou perda da força física.
[3]Perda ou diminuição acentuada de apetite.

S. mansoni e o *S. haematobium*, e pelo niridazol, eficaz contra *S. haematobium* e o *S. japonicum*. Atualmente, o tratamento ocorre com o uso dos fármacos praziquantel e oxamniquina (BRASIL, 2014). Enquanto a oxamniquina age somente contra o *S. mansoni* e, preferencialmente, sobre os vermes machos adultos, o praziquantel age com eficácia contra outros trematódeos, apresentando atividade farmacológica muito superior à da oxamniquina (CIOLI *et al.*, 2014; NOVAES *et al.*, 1999).

Tendo sua atividade limitada a infecções causadas pelo *S. mansoni*, a oxamniquina foi amplamente utilizada na América do Sul, onde este parasita está presente; por outro lado, em diferentes partes do mundo, a preferência é pelo uso do praziquantel, que é eficaz contra todos os *Schistosomas*. Esta limitação geográfica não incentiva a concorrência entre os produtores de oxamniquina, o que mantém o preço inalterado. Em contrapartida, o fenômeno oposto ocorreu com o praziquantel, que sofreu uma redução drástica do preço nos últimos anos (SECOR e COLLEY, 2006). Dessa forma, o praziquantel tem se tornado o fármaco de escolha para o tratamento da parasitose em questão (ARAUJO *et al.*, 2008; OMS, 2019; ROKNI, 2012).

2.2 Praziquantel

No início da década de 1970, os laboratórios *Merck* e *Bayer* detectaram que compostos derivados de pirazino-isoquinoleínico (Figura 2.3) apresentavam propriedades anti-helmínticas. Entre os 400 compostos sintetizados e testados, o praziquantel (PZQ) foi o escolhido pela atividade farmacológica de amplo espectro. Em 1977, o praziquantel (inicialmente chamado de "EMBAY 8440") mostrou-se promissor nos testes contra trematódeos, cestódeos e infecções esquistossômicas, e nos testes realizados em animais. Posteriormente, em 1978, foram relatados os primeiros testes em voluntários humanos com a cooperação da Organização Mundial de Saúde. Estes ensaios, assim como os inúmeros testes realizados *a posteriori*, foram extremamente bem sucedidos, tornando este fármaco o medicamento de escolha para o tratamento da esquistossomose (CIOLI e PICA-MATTOCCIA, 2003; CIOLI *et al.*,

1995). Em resumo, o sucesso do PZQ se deve à eficácia, segurança e baixos preços de produção (CIOLI *et al.*, 2014).

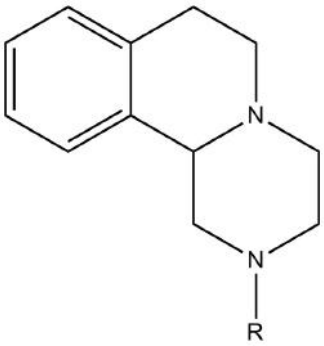


Figura 2.3: Fórmula estrutural dos derivados de pirazino-isoquinoleínico.

O praziquantel é o derivado de pirazino-isoquinoleínico apresentado na Figura 2.4. O nome químico do praziquantel é 2-(Cicloexilcarbonil)-1,2,3,6,7,11,b-hexaidro-4H-pirazino[2,1-a]isoquinolin-4-ona, apresentando massa molar de 312,414 g/mol (ANVISA, 2010).

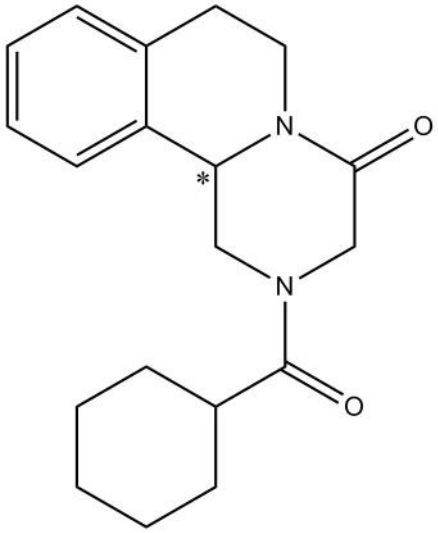


Figura 2.4: Fórmula estrutural do praziquantel (*carbono quiral).

O praziquantel é apresentado na forma de um pó cristalino branco ou quase branco, sendo estável sob condições normais de armazenamento, com ponto de fusão entre 136 e 142 °C (ANVISA, 2010; DOENHOFF *et al.*, 2008). Ademais, este composto é solúvel em alguns solventes orgânicos, porém apresenta baixa solubilidade em água (0,4 g/L) (DOENHOFF *et al.*, 2008; KASIM *et al.*, 2004;

WATSON, 2009).

Como visto na Figura 2.4, o PZQ apresenta um carbono assimétrico (destacado com um asterisco), sendo normalmente obtido como uma mistura racêmica composta pelos enantiômeros R(-) e S(+), na proporção de 1:1 (MEYER *et al.*, 2009). Contudo, apenas o enantiômero R apresenta atividade anti-*Schistossoma* (CIOLI *et al.*, 1995; DOENHOFF *et al.*, 2008; MEISTER *et al.*, 2014; WATSON, 2009). De fato, estudos indicam que tratamentos realizados com a mistura racêmica e com apenas o enantiômero ativo obtiveram a mesma atividade; no entanto, o uso do enantiômero promoveu a redução dos efeitos colaterais (CIOLI *et al.*, 1995; MEISTER *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2014). A purificação e produção do enantiômero ativo puro constituem, no entanto, desafio tecnológico ainda não completamente superado.

2.2.1 Mecanismo de ação

Mesmo sendo um fármaco de extrema importância para o tratamento da esquistossomose, o praziquantel ainda não tem seu mecanismo de ação integralmente esclarecido. De modo geral, os efeitos mais evidentes da ação do PZQ no parasita são contrações musculares e modificações na superfície, ambas ocorrendo no intervalo de alguns segundos (ANDREWS, 1985; CHAI, 2013; CIOLI *et al.*, 2014). Os canais de Ca^{+2} foram identificados como potenciais alvos da ação do PZQ (DOENHOFF *et al.*, 2008). Dessa forma, acredita-se que os efeitos citados sejam consequência direta ou indireta do influxo de íons de cálcio (Ca^{+2}) para o interior do parasita (DAY *et al.*, 1992).

Estudos realizados por PAX e seus colaboradores (PAX *et al.*, 1978) mostraram que, quando os vermes macho do *S. mansoni* entram em contato com o PZQ, imediatamente são submetidos a uma paralisia muscular intensa, acompanhada de um influxo rápido de íons de cálcio, um influxo mais lento de íons de sódio e uma diminuição do influxo de íons de potássio. Esses resultados confirmam a ação desreguladora na passagem de cátions nas membranas plasmáticas dos parasitas, o

que permite a permeabilidade seletiva a certos cátions, em especial ao íon cálcio.

Como consequência do fluxo de íons de cálcio, ocorre o aumento da atividade muscular, seguida pela contração e paralisia espática. Por fim, ocorre o deslocamento do verme das paredes dos vasos sanguíneos, sendo arrastados pela corrente sanguínea para o interior do fígado ou sendo expelidos (CAMPBELL e REW, 1986).

O praziquantel chama atenção por ser ativo não só contra os esquistossomos adultos, mas também contra as formas imaturas e as cercárias. No entanto, o fármaco não exerce efeito algum nas formas jovens do verme (CIOLI e PICA-MATTOCCIA, 2003). Sabe-se que o PZQ é ativo contra o esquistossomo nos dois primeiros dias após a infecção; contudo, após estes dias, ao longo de um período de quatro semanas, os parasitas perdem a sensibilidade ao fármaco, continuando o desenvolvimento. Após decorrido este tempo, os vermes voltam a ser afetados pelo medicamento (HAGAN *et al.*, 2004).

Esta dependência da atividade do fármaco com a idade do verme constitui a maior limitação ao tratamento, sendo responsável pelas suspeitas errôneas de que o tratamento é falho. Isso ocorre porque qualquer paciente no início do tratamento tem uma certa probabilidade de ter sido infectado nas 3-5 semanas anteriores. Assim, este paciente contém esquistossomos que não são sensíveis ao fármaco e continuam o amadurecimento, resultando na deposição dos ovos. A excreção de ovos pode dar a impressão de que o tratamento não foi eficiente (CIOLI e PICA-MATTOCCIA, 2003; HAGAN *et al.*, 2004). Diante deste problema, sugere-se que o tratamento seja realizado com duas doses, em um intervalo de três semanas, e que seja feito um exame de acompanhamento após duas semanas da segunda dose (CIOLI e PICA-MATTOCCIA, 2003).

2.2.2 Forma farmacêutica e propriedades

O praziquantel pode ser encontrado na forma de comprimidos revestidos de 150, 500 ou 600 mg (FONSECA *et al.*, 2013a). Este fármaco é comercializado por diversas empresas, dentre as quais se destacam a Bayer, que disponibiliza o

medicamento Biltricide®, e a Merck, com os medicamentos Cesol® e Cisticid® (TRASTULLO *et al.*, 2015). No Brasil, o medicamento é fornecido pelo próprio Ministério da Saúde, sendo produzido na FIOCRUZ (Fundação Oswaldo Cruz) (FIOCRUZ, 2018). No mercado internacional, o medicamento da Bayer de 600 mg e com 22 mm de comprimento (Figura 2.5) se destaca, sendo considerado produto de referência internacional.



Figura 2.5: Comprimido de praziquantel produzido pela Bayer.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, a dose de praziquantel considerada aceitável é entre 30 e 60 mg/kg, sendo 40 mg/kg a dose recomendada (WHO, 2002). Contudo, este tipo de administração apresenta sérios inconvenientes, relacionados, especialmente, ao tratamento das crianças. Como a dosagem do medicamento deve ser ajustada ao peso corporal do paciente, o tratamento é realizado com um quarto de um comprimido (150 mg) no caso das crianças (TRASTULLO *et al.*, 2015). Vale ressaltar que este processo de partição pode ocasionar variações nas dosagens do fármaco, reduzindo assim a eficiência do tratamento (KEISER *et al.*, 2011). Além disso, o tratamento apresenta dificuldades de aceitação por parte das crianças, devido ao gosto bastante amargo e característico do praziquantel (MEYER *et al.*, 2009). Em geral, os comprimidos tentam reduzir o sabor com o uso de um revestimento. Porém, o processo de partição prejudica a qualidade e eficiência da película, desfazendo o mascaramento do sabor.

Apesar do fármaco apresentar baixa toxicidade, sendo considerado seguro, alguns

efeitos adversos são relatados ao longo do tratamento, tais como dores abdominais, dores de cabeça, tontura, diarreia e náuseas (BARSOUM *et al.*, 2013). A incidência desses efeitos nos pacientes é de cerca de 10 a 15% (BYGOTT e CHIODINI, 2009).

No que diz respeito ao metabolismo, o praziquantel apresenta uma absorção rápida e eficiente no intestino; porém, a disponibilidade do PZQ varia consideravelmente entre os pacientes. Por outro lado, sabe-se que a biodisponibilidade é aumentada quando o fármaco é absorvido com os alimentos (WATSON, 2009). Por isso, recomenda-se, sempre que possível, que a administração do medicamento seja feita após as refeições.

A concentração plasmática máxima, para uma dose de 40 mg/kg, é de 0,2 a 2 μg/mL, ocorrendo entre 1 e 3 horas após a administração. A meia-vida plasmática do PZQ varia usualmente entre 0,8 e 2 horas e a eliminação é feita através da urina, atingindo mais de 80 % depois de 4 dias (sendo que 90 % dessa eliminação ocorre nas primeiras 24 horas) (BYGOTT e CHIODINI, 2009; OLLIARO *et al.*, 2014).

2.2.3 Limitações

Pelo sistema de classificação biofarmacêutica (SCB) (Figura 2.6), que adota como premissa que a solubilidade e a permeabilidade gastrointestinal são características específicas do fármaco, o praziquantel é considerado um fármaco de classe II; ou seja, caracteriza-se pela alta permeabilidade e baixa solubilidade em água (AMIDON *et al.*, 1995; LINDENBERG *et al.*, 2004).

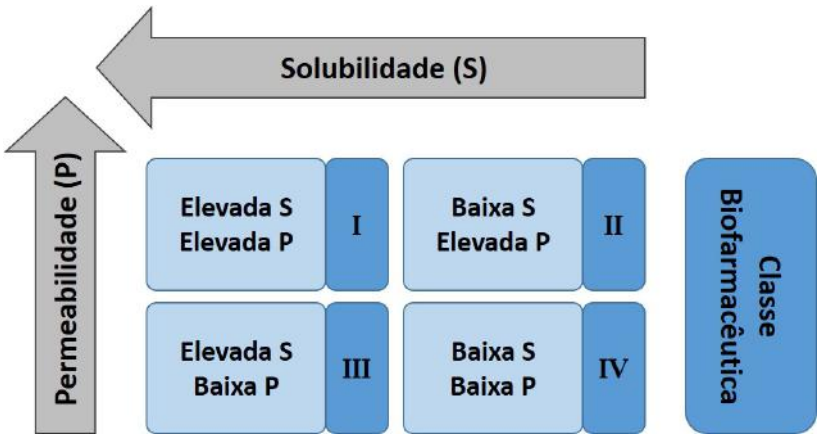


Figura 2.6: Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB).

Além disso, a forma farmacêutica a ser utilizada exerce grande influência sobre a absorção dos fármacos, afetando a biodisponibilidade. De modo geral, os fármacos devem estar dissolvidos nos fluidos gastrointestinais antes de serem absorvidos. Assim, quanto maior for o número de etapas entre a administração e a dissolução do fármaco, maior será a dificuldade para absorção, reduzindo a biodisponibilidade do fármaco. Sabe-se que a biodisponibilidade de um fármaco tende a ser reduzida de acordo com as seguintes formas farmacêuticas: solução aquosa > suspensão aquosa > formas farmacêuticas sólidas (pós, cápsulas, comprimidos, comprimidos revestidos) (BONAMICI, 2009).

Os comprimidos, que são a principal forma farmacêutica para o praziquantel, podem apresentar maiores problemas com relação à biodisponibilidade do fármaco. Nesse sentido, fica clara a necessidade de pesquisas que visem aumentar a solubilidade deste fármaco em água e, assim, evitar os problemas nas formulações farmacêuticas, como o gosto amargo, assim como os problemas de biodisponibilidade.

2.3 Sistemas de liberação modificada

A solubilidade dos fármacos, independentemente da forma de administração, representa um grande desafio para o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos (FONSECA *et al.*, 2013a; KOCBEK *et al.*, 2006). A quantidade de fármacos insolúveis ou pouco solúveis em água tem aumentado ao longo dos últimos anos, representando hoje cerca de 70 % entre os novos fármacos (KHADKA *et al.*, 2014). Para melhorar a taxa e a extensão de absorção desses fármacos, o uso de nanopartículas sólidas lipídicas, nanocristais, nanossuspensões, dispersões sólidas, emulsões, microemulsões, nanoemulsões, ciclodextrinas, lipossomas e a redução do tamanho das partículas são comumente relatados como alternativas para contornar o problema de baixa solubilidade (AGRAWAL *et al.*, 2015; FAHR e LIU, 2007).

Como mostrado na Figura 2.7, as formulações convencionais caracterizam-se pela dificuldade em manter a dose terapêutica durante períodos de tempo prolongados,

requerendo várias doses para obter o efeito final desejado. Em contrapartida, os sistemas de liberação modificada podem liberar o fármaco em um local específico, prolongando o tempo de atuação no organismo e mantendo o nível do fármaco na faixa terapêutica para o tratamento (KIM *et al.*, 2009).

Entre as vantagens oferecidas por estes sistemas, pode-se citar a melhora nas taxas de absorção, as concentrações mais uniformes do fármaco no organismo (dentro da faixa terapêutica durante um período de tempo mais longo), a proteção do fármaco contra a degradação, a entrega a sítios específicos, a redução da quantidade requerida para a administração do medicamento, a maior adesão do paciente e a redução dos custos do tratamento (GRUND *et al.*, 2011).

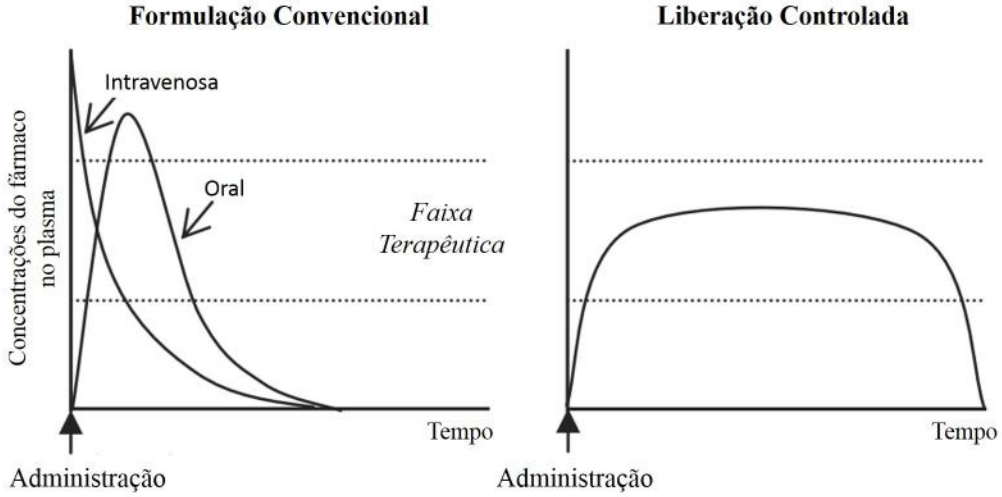


Figura 2.7: Comparação entre a administração convencional e a liberação controlada de fármacos (adaptado de KIM *et al.* (2009)).

De modo geral, os sistemas de liberação modificada representam as formulações em que a liberação do fármaco é modulada para fins terapêuticos, melhorando o desempenho final e aumentando a adesão do paciente como já discutido. De acordo com a modificação, os sistemas de liberação podem ocorrer de forma prolongada, retardada, repetida, sustentada ou controlada (PEZZINI *et al.*, 2007).

Os sistemas de liberação prolongada são caracterizados pela administração em duas doses, em que a dose inicial é responsável pela liberação do fármaco, garantindo o efeito farmacológico, sem causar danos ao organismo; e a segunda dose (dose de manutenção), responsável pela liberação gradual do fármaco, prolongando seu

efeito. Por sua vez, os sistemas de liberação retardada caracterizam-se pelo atraso existente entre a administração e a detecção do fármaco na correte sanguínea, sendo usado principalmente quando se deseja proteger o fármaco das condições ácidas do estômago (BRUSCHI, 2015).

Já os sistemas de liberação repetida possibilitam a manutenção do efeito farmacológico do fármaco, tendo liberação de doses a cada 4-6 horas, sendo indicado para fármacos que requerem doses baixas e cuja excreção é rápida. Por outro lado, os sistemas de liberação sustentada garantem o efeito terapêutico do fármaco por um longo período de tempo (dias) após uma única dose, garantindo a liberação gradual e contínua do fármaco no organismo (NATARAJAN *et al.*, 2014). Por fim, os sistemas de liberação controlada permitem a liberação do fármaco de acordo com um padrão cinético previsível, de modo que a liberação ocorre em taxas constantes ao longo do tempo (DESHPANDE *et al.*, 1996).

Nesse contexto, para aumentar a solubilidade e a biodisponibilidade do PZQ, diversos trabalhos têm utilizado variados sistemas de liberação controlada como estratégia para o desenvolvimento de novas formulações para o tratamento da esquistossomose, estando descritos a seguir e resumidos na Tabela 2.1.

AMMAR *et al.* (1994) utilizaram lipossomas de misturas lipídicas de L-α-dipalmitoilfosfatidilcolina e colesterol para encapsular o praziquantel e, assim, aumentar a atividade anti-*schistosoma*. Os testes *in vitro* realizados em camundongos mostraram que, após 24 horas de ensaio para fármaco puro, apenas 0,02 % do PZQ total ficam retidos no fígado. Por outro lado, as formulações lipossomais, que, apesar de proporcionarem uma eficiência de encapsulamento máxima de apenas 19,1 %, promoveram retenção de, aproximadamente, 50 % do PZQ após o mesmo intervalo de tempo. Esta quantidade éfoi reduzida ao longo do tempo, atingindo 0,25 % após 7 dias de ensaio. Os autores ainda mostraram que o uso dos lipossomas resultou no aumento da taxa de sobrevivência dos camundongos, assim como na redução significativa dos parasitas, comprovando a ação profilática da formulação. Resultados similares foram encontrados por MOURÃO *et al.* (2005)

e FREZZA *et al.* (2013).

Tabela 2.1: Resumo dos artigos que utilizam sistemas de liberação para o PZQ.

Sistema de encapsulamento	**Teor de PZQ***	**EE^{+}**	**Liberação *in vitro***	**Ensaios *in vivo***	**Referência**
Lipossomas	-	≈ 19 %	-	Aumento do tempo de residência do fármaco; aumento da taxa de sobrevivência dos camundongos; redução significativa dos parasitas.	AMMAR *et al.* (1994)
Ciclodextrinas	36 a 48 % (m/m)	7,5 a 12 %	94 a 74 % após 30 minutos	-	BECKET *et al.* (1999)
Ciclodextrinas	20 a 50 % (base molar)	4,8 a 11,5 %	-	-	MARAGOS *et al.* (2009)
Ciclodextrinas	50 % (base molar)	37 %	-	Aumento da eficácia do tratamento em camundongos infectados	DE JESUS *et al.* (2010)
Dispersões sólidas de PVP	10 a 100 % (m/m)	-	45 a 5 % após 10 horas	-	EL-ARINI e LEUENBERGER (1998)
Nanopartículas de PLGA	10 e 30 % (m/m)	82 ± 5%	6 e 20 % após 24 horas	-	MAINARDES e EVANGELISTA (2005)
Implantes de PCL	6.25 a 50 % (m/m)	≈ 100 %	67,5 a 75 % após 365 dias	-	CHENG *et al.* (2009)
Implantes de PEG/PCL	50 % (m/m)	≈100 %	≈ 90 % após 7 semanas	Altas concentrações plasmáticas após 6 semanas	CHENG *et al.* (2010)
Nanopartículas de óleo de rícino hidrogenado	20 % (m/m)	62,17 ± 6,53 %	62,24 % após 7 dias	Aumento da biodisponibilidade e do tempo de residência do fármaco	XIE *et al.* (2010)
Grânulos de PEG 400 ou Poloxamer 188	10 % m/m	≈ 11%	PEG: 20 % após 1 hora; Poloxamer: 34 % após 1 hora	-	PASSERINI *et al.* (2006)
Micropartículas lipídicas de Gelucire®	5 a 30 % m/m	7 a 34 %	60 % após 1 hora	-	PASSERINI *et al.* (2006)

* Em relação à carga orgânica.
+ EE: Eficiência de encapsulamento.
- Não mencionado ou não realizado.

Tabela 2.1: Continuação.

Sistema de encapsulamento	**Teor de PZQ***	**EE^{+}**	**Liberação *in vitro***	**Ensaios *in vivo***	**Referência**
Nanoesferas de MMA/HEMA	5 a 14 % (base molar)	69-98 %	45 % e 85 % após 1 dia em pH 1,2 e pH 7,4	-	MOUSTAFA *et al.* (2013)
Micropartículas de PHB/Eudragit	28 % (m/m)	52 a 78 %	30 a 99 % após 10 min	-	BAZZO *et al.* (2013)
Nanopartículas de PMMA	3 a 12 % (m/m)	75 a 100 %	PMMA: 13 % após 30 min; PMMA+Óleo Mineral: 65-70 % após 30 min	-	FONSECA *et al.* (2013b)
Nanopartículas de PMMA-Eudragit-EGDMA	12 a 17 % (m/m)	90 %	90-100 % (pH 1,2 e pH 6,8) após 3 horas	Promovem a contratura dos vermes após 1 hora, sendo observado uma alta taxa de mortalidade	FONSECA *et al.* (2013a)

* Em relação à carga orgânica.
+ EE: Eficiência de encapsulamento.
- Não mencionado ou não realizado.

As ciclodextrinas têm sido amplamente estudadas como excipientes farmacêuticos, tendo como principal aplicação o aumento da solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade de fármacos (LOFTSSON e BREWSTER, 1996). BECKET *et al.* (1999) demonstraram, com auxílio de isotermas de solubilidade, que o PZQ tem a solubilidade aumentada quando interage com ciclodextrinas. Além disso, os perfis de liberação a partir das ciclodextrinas foram evidentemente melhores, quando comparados ao fármaco puro. Quanto ao comportamento biofarmacêutico do PZQ após a inclusão em ciclodextrinas, MARAGOS *et al.* (2009) mostraram que o PZQ passa a se comportar como um fármaco de classe I no sistema SCB, quando encapsulado em β-ciclodextrinas e hidroxipropil-β-ciclodextrinas. Os autores observaram que a dose farmacêutica é um parâmetro importante neste estudo, sendo que apenas nas doses de 150 mg o fármaco teve o aumento da solubilidade independentemente do volume (250 ou 500

mL) de água utilizado para os ensaios *in vitro*. Nos testes com as doses de 600 mg, o PZQ comportou-se como classe I apenas quando foram utilizados 500 mL de água nos ensaios. Com base no trabalho de Becket e seus colaboradores, DE JESUS *et al.* (2010) avaliaram a eficácia destes complexos em camundongos infectados com *S. mansoni*. Os resultados obtidos mostraram que a eficácia do tratamento aumentou quando os camundongos foram tratados com PZQ em β-ciclodextrinas (99 %), em comparação ao PZQ puro (59%), ficando nítida a melhora na biodisponibilidade do fármaco.

EL-ARINI e LEUENBERGER (1998) investigaram o uso de dispersões sólidas de poli(vinilpirrolidona) (PVP) com PZQ para promover o aumento de solubilidade do fármaco. Sabe-se que o PVP é um polímero hidrossolúvel amplamente utilizado para o aumento da solubilidade e da taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis. Ao comparar os dados de dissolução dos sistemas PZQ-PVP com as misturas físicas destes componentes e com o PZQ puro, os autores observaram um aumento significativo na taxa de dissolução nas dispersões sólidas com carga de PZQ inferior a 40 % (m/m). Assim, os autores acreditam que, em concentrações reduzidas de PVP, o complexo de PZQ-PVP é formado somente em pequenas extensões, sendo recobertos pelo PZQ, resultando em uma taxa de dissolução mais baixa. Em concentrações mais elevadas de PVP, o complexo PZQ-PVP é considerado uma espécie química única, tendo propriedades diferenciadas. Resultados similares foram encontrados por DE LA TORRE *et al.* (1999).

O poli(ácido lático-co-ácido glicólico) (PLGA) é um polímero biodegradável e biocompatível, já bastante utilizado para a formulação de sistemas de liberação controlada de fármacos. MAINARDES e EVANGELISTA (2005) desenvolveram nanopartículas de PLGA, preparadas via técnica de emulsão e evaporação do solvente, para o encapsulamento do PZQ, de modo a promover a liberação controlada. As nanopartículas foram preparadas com 10 e 30 % (m/m) de PZQ em relação ao polímero, e apresentaram eficiências de encapsulamento de 82 ± 5 %. Os ensaios de liberação mostraram que, enquanto o fármaco puro atingia liberação

total em, aproximadamente, 2 horas, as nanopartículas de PLGA contendo 10 e 30 % de PZQ liberaram 6 e 20 % do fármaco, respectivamente, após 24 horas de ensaio. Os autores observaram que a cinética de liberação do PZQ foi governada pelo teor inicial, sendo que quanto maior era a carga no sistema, mais rápida era a liberação do fármaco.

CHENG *et al.* (2009) produziram, por meio da técnica de moldagem por injeção, implantes de liberação controlada de poli(ε-caprolactona) (PCL) carregados com PZQ. Os implantes foram preparados a partir da mistura do fármaco puro ao polímero PCL fundido, trabalhando em diferentes proporções (PZQ:PCL 1:15, 1:7, 1:3 e 1:1, m/m). Os ensaios *in vitro* de liberação mostraram que o processo pode ser dividido em duas etapas: a liberação inicial rápida e brusca, sendo seguida por uma etapa de liberação prolongada. Ao contrário do que foi observado no trabalho de MAINARDES e EVANGELISTA (2005), a liberação nos implantes parece não ter sofrido influência significativa do teor inicial de PZQ, de modo que todos os implantes liberaram cerca de 70 % do fármaco após 365 dias. Os autores observaram, ainda, a presença de duas zonas de colorações distintas nas seções transversais dos implantes: uma rosa interna rica em PZQ e uma branca periférica pobre em PZQ. Mostraram, assim, que a liberação ocorre por meio da difusão gradual, começando a partir do exterior para o interior dos implantes.

Dando continuidade ao trabalho, CHENG *et al.* (2010) avaliaram o uso de implantes formados a partir de misturas poliméricas de poli(etileno glicol)/poli(ε-caprolactona) (PEG/PCL). Os resultados obtidos mostraram que baixos teores de PEG facilitaram a dissolução do PZQ, porém sem um efeito significativo na taxa de liberação. Por outro lado, maiores teores de PEG (entre 10 e 30 %) levaram à formação de poros e canais interconectados, resultando em uma liberação mais rápida do PZQ. Os testes *in vivo* realizados após a implantação no tecido subcutâneo dos camundongos mostraram uma liberação mais lenta do que nos testes *in vitro*; porém, ainda assim, o fármaco atingiu concentrações elevadas após um período de 6 semanas.

As nanopartículas lipídicas sólidas têm ganhado atenção entre os sistemas de liberação controlada por apresentarem boa biocompatibilidade e biodegradabilidade e alta biodisponibilidade. XIE *et al.* (2010) desenvolveram nanopartículas lipídicas de óleo de rícino hidrogenado, carregadas com PZQ, por meio da técnica de homogeneização a quente e pelo método de ultrassom. As nanopartículas foram preparadas com 20 % (m/m) de PZQ e obtiveram eficiência de encapsulamento de 62,17 ± 6,53 %. Os ensaios *in vitro* mostraram comportamento semelhantes ao apresentado por CHENG *et al.* (2009), exibindo uma liberação rápida nas 2 primeiras horas de 21,27 % do PZQ e, em seguida, apresentando um perfil de liberação controlada, atingindo uma liberação de 62,24 % após 7 dias. Os ensaios *in vivo*, realizados em camundongos, confirmaram o aumento da biodisponibilidade pelo uso das nanopartículas lipídicas. Os resultados indicaram que o tempo de residência do fármaco aumentou de 7,6, 6,6 e 8,2 para 95,9, 151,6 e 48,2 horas após a administração oral, subcutânea e intramuscular, respectivamente. Esses resultados podem ser explicados, principalmente, pelo reduzido tamanho das partículas (344,0±15,1 nm), que favorece a bioadesão no trato gastrointestinal e o aumento da permeabilidade da membrana intestinal. Testes realizados nos parasitas *S. mansoni* por SOUZA *et al.* (2014) mostraram que as nanopartículas lipídicas, sem conter PZQ encapsulado, podem causar contrações e danos internos nos parasitas, causando a morte dos vermes em menos tempo do que no caso da administração do fármaco puro. Resultados similares foram encontrados quando se tem o PZQ encapsulado nas nanopartículas lipídicas.

PASSERINI *et al.* (2006) avaliaram a incorporação do PZQ em grânulos por meio da técnica de granulação fundida (*melt granulation*) e em micropartículas lipídicas por meio da técnica de congelamento em spray (*spray congealing*) para melhorar a taxa de dissolução do fármaco. Essas técnicas se destacam por não fazerem uso de solventes orgânicos e por serem de fácil escalonamento, rápidas, de baixo custo e, portanto, de fácil aplicabilidade industrial. Os grânulos foram produzidos usando PEG 400 (poli(etileno glicol)) ou Poloxamer 188 (copolímero em bloco de óxido

de etileno e propileno) com 10 % em massa do PZQ. As micropartículas foram produzidas com o uso do Gelucire® 50/13 (Polioxilglicerídeo), variando o teor de PZQ (5, 10, 20, e 30 % m/m). Os resultados obtidos pelo grupo mostraram que o uso do PEG 400 não promoveu uma diferença significativa na taxa de dissolução em relação ao fármaco puro, tendo liberado 20 % do PZQ em 1 hora em comparação com 15 % de liberação quando se tem o PZQ puro. Além disso, os autores observaram que o tamanho do grânulo não exerceu influência na dissolução do PZQ, sendo os perfis de dissolução, para diferentes tamanhos, quase sobreponíveis. Por sua vez, o uso do Poloxamer 188 resultou em uma liberação de 35 a 40 % do fármaco após 1 hora de ensaio. No que diz respeito às micropartículas, todas apresentaram melhora na taxa de dissolução do fármaco em relação ao fármaco puro. No entanto, o aumento do teor de PZQ (20 e 30 %) reduziu consideravelmente a taxa de dissolução do fármaco. Em especial, o teor de 10 % promoveu os melhores resultados em relação ao PZQ puro, atingindo 20 % e 60 % de fármaco dissolvido após 10 minutos e 1 hora de ensaio, respectivamente.

MOUSTAFA *et al.* (2013) sintetizaram nanoesferas do copolímero à base de metacrilato de metila e metacrilato de 2-hidroxietila (MMA/HEMA) com auxílio da técnica de polimerização em microemulsão diferencial, para encapsular fármacos hidrofílicos (varfarina sódica) e lipofílicos (ibuprofeno e praziquantel). A influência do teor de HEMA (MMA/HEMA: 90/10, 70/30 ou 50/50 m/m) e do teor do fármaco (monômero:fármaco 20:1, 10:1 ou 6:1 m/m) sobre a eficiência de encapsulamento e os ensaios de liberação foi avaliada. Os resultados mostraram que a eficiência de encapsulamento é influenciada pela razão entre os monômeros, pela característica do fármaco e pela razão entre os monômeros e o fármaco. De modo geral, os fármacos varfarina sódica e ibuprofeno apresentaram maiores eficiências de encapsulamento do que o praziquantel, por conta da alta lipofilicidade; no entanto, ao utilizar a razão monômero:fármaco de 6:1 m/m, as eficiências mantiveram-se elevadas (95-98 %) para todos os fármacos. Em relação aos ensaios de liberação, as nanoesferas de MMA/HEMA-50/50 apresentaram liberação mais rápida do que aquelas com

outras composições dos monômeros para todos os fármacos em estudo, o que está relacionado ao aumento da hidrofilicidade, por conta do monômero HEMA. No que diz respeito ao praziquantel, a nanopartícula MMA/HEMA-50/50 promove uma liberação total de 45 % e 85 % de PZQ após 4 horas em pH 1,2 e em pH 7,4, respectivamente. Por fim, os autores observaram que a liberação foi mais rápida quando o teor de fármaco aumentou em relação ao monômero, o que pôde ser explicado pelo menor conteúdo da matriz polimérica nas nanoesferas, facilitando a dissolução do fármaco.

BAZZO *et al.* (2013) produziram micropartículas de poli(3-hidroxibutirato) (PHB) e Eudragit® E (copolímero à base de metacrilato de dimetilaminoetila, metacrilato de butila e metacrilato de metila) por meio da técnica de emulsão óleo em água (O/A) e evaporação do solvente, para estudar a influência do tipo e da razão entre os polímeros (PHB/Eudragit® E: 100/0, 50/50, 25/75 m/m) na dissolução do praziquantel. Os resultados mostraram que o aumento do teor de Eudragit® E tornou a superfície das micropartículas mais porosas; porém, ocasionando a redução da eficiência de encapsulamento, atingindo 52,21 ± 8,27 % em comparação com a primeira formulação, que resultou em 78,01 ± 14,94 %. Os perfis de liberação mostraram que as razões de 100/0 e 50/50 entre os polímeros não promoveram um aumento considerável da liberação do fármaco em relação ao PZQ puro. Por outro lado, as micropartículas produzidas com maior teor de Eudragit® E atingiram, aproximadamente, 99 % de liberação após 10 minutos de ensaio, muito provavelmente devido à presença de poros de grande diâmetro na superfície das microesferas.

FONSECA *et al.* (2013b) sintetizaram nanopartículas poliméricas de poli(metacrilato de metila) (PMMA) por meio do processo de polimerização em miniemulsão, tendo sido feita a incorporação *in situ* do PZQ. O grupo ainda avaliou a influência do mecanismo de agitação, comparando o uso do Ultraturrax e do homogeneizador de alta pressão para realizar as dispersões. Frente a variadas condições experimentais, foi observado que a incorporação do fármaco não afetou as

taxas da reações de polimerização; no entanto, os autores sugeriram que o mesmo atua como um agente de transferência de cadeia, modificando a distribuição de massas molares do polímero final. Os resultados mostraram também que o uso do homogeneizador de alta pressão proporcionou maior estabilidade e elevadas eficiências de encapsulação (próximas a 100 %). Os ensaios de liberação apontaram que as nanopartículas promoveram uma liberação de apenas 13 % depois 30 minutos de ensaio. Em contrapartida, nas formulações contendo óleo mineral como co-estabilizador, as nanopartículas atingiram 65-70 % de liberação após o mesmo intervalo de tempo, sugerindo que óleo promoveu a formação de nanoesferas mais porosas e facilitou a liberação do fármaco.

Dando continuidade ao trabalho, FONSECA *et al.* (2013a) avaliaram o uso do Eudragit® E100 e do agente reticulante dimetacrilato de etileno glicol (EGDMA) no incremento da taxa de dissolução do PZQ. Os resultados mostraram que o fármaco era rapidamente liberado (90-100 %) tanto em pH 1,2 quanto no pH 6,8, alcançando concentrações próximas àquelas atingidas pelos comprimidos de praziquantel de 600 mg. Os ensaios *in vitro* realizados por meio de ensaio direto em vermes mostraram que as nanopartículas com PZQ promoveram a contratura dos vermes após 1 hora de ensaio, levando a resultados semelhantes aos obtidos nos ensaios realizados com os comprimidos de PZQ. Os ensaios *in vivo* confirmaram a atividade das nanopartículas com PZQ, observando-se uma taxa de mortalidade dos vermes extremamente alta.

Em suma, é importante observar que entre os trabalhos supracitados são poucos os que reportam altas eficiências de encapsulamento ($>$ 80 %) em conjunto com altas eficiências de liberação. De fato, como apresentado na Tabela 2.1, os sistemas baseados em nanopartículas poliméricas apresentaram os melhores desempenhos nesse quesito, o que pode estar relacionado com a melhor interação com o fármaco, juntamente com os menores tamanhos de partículas, que promovem maiores taxas de liberação do fármaco. Além disso, de modo geral, a avaliação da influência do pH sobre a liberação do PZQ foi muito pouco estudada nos trabalhos encontrados na literatura, não tendo sido o pH considerado como uma variável importante para

o processo. Por fim, ressalta-se, também, que a análise *in vivo*, seja diretamente nos vermes *Schistosoma* ou em animais infectados, foi moderadamente avaliada, apesar da importância de investigar a atividade do PZQ após o encapsulamento e posterior liberação.

2.4 Microencapsulação

As técnicas de microencapsulação englobam um conjunto de técnicas que permitem o desenvolvimento de formulações em que um determinado material é encapsulado ou revestido por um sistema físico. Nesse caso, a liberação do material encapsulado pode ser modificada para atuar em um local específico, por um determinado intervalo de tempo e a uma velocidade específica. As substâncias a serem encapsuladas, também chamadas de princípios ativos, apresentam-se usualmente no estado líquido ou sólido, mas também pode ser um gás, podendo ser encapsuladas sozinhas ou em combinação com outros ativos (JYOTHI *et al.*, 2010).

A técnica de microencapsulação foi inicialmente utilizada na década de 1930 para o encapsulamento de gelatina em microcápsulas pela técnica de coacervação; porém, somente em 1954 ocorreu a primeira aplicação em grande escala dessa técnica (CARVALHO *et al.*, 2016). A empresa norte americana *National Cash Register* foi a responsável por sintetizar, também com auxílio da técnica de coacervação, um papel de cópia sem carbono que continha uma fina camada de micropartículas de tinta, com diâmetro de 1 a 10 μm. Ao aplicar pressão com a ponta do lápis na superfície do papel, as micropartículas se rompiam, liberando o pigmento. Ao entrar em contato direto com o revestimento ácido da superfície frontal da segunda via, o papel mudava de cor, permitindo a obtenção da cópia (CAMPOS *et al.*, 2013; SUAVE *et al.*, 2006). O sucesso deste produto revolucionário estimulou as pesquisas da microencapsulação, promovendo o avanço das aplicações em diversas áreas.

Em 1970, Holliday e colaboradores foram pioneiros no uso das micropartículas na indústria farmacêutica, ao patentearem uma formulação de administração oral

de ácido acetilsalicílico encapsulado em um revestimento fino contínuo de acetato de celulose. Essas micropartículas proporcionaram a liberação gradual do ácido acetilsalicílico por um mecanismo de difusão durante um período de 4 horas e ofereceram 8 horas de alívio analgésico. O encapsulamento do ativo foi utilizado também com o intuito de reduzir o efeito irritante gástrico, a frequência de administração e, por consequência, melhorar a adesão do paciente ao tratamento (HOLLIDAY *et al.*, 1970).

Atualmente, existem inúmeras possibilidades de uso da microencapsulação como técnica para obtenção de produtos com alto valor agregado, sendo por isso empregada nas mais variadas áreas, tais como nas áreas alimentícia, têxtil, farmacêutica, cosmética e agroquímica (CARVALHO *et al.*, 2016). O uso da técnica na indústria farmacêutica pode ser explicado por diversas características adequadas para essa área, tais como (CAMPOS *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2003):

(i) permitir a liberação controlada dos materiais encapsulados, protegendo-os da degradação (promovida por umidade, luz, calor e/ou oxidação) e garantindo uma vida útil melhorada;

(ii) permitir o mascaramento das propriedades organolépticas dos materiais encapsulados, tais como a cor, o gosto e o odor;

(iii) resultar no melhoramento das características de escoamento do pó;

(iv) auxiliar na dispersão em meios aquosos de substâncias insolúveis em água;

(v) reduzir ou eliminar a irritação gástrica ou efeitos secundários oriundos de alguns fármacos.

Diante das vantagens desta tecnologia, diversos produtos farmacêuticos microencapsulados já podem ser encontrados no mercado, como mostrado na Tabela 2.2.

Tabela 2.2: Exemplos de produtos disponíveis no mercado e que utilizam a técnica de microencapsulação.

Produto	Ativo	Empresa	Indicação
Micro-K® ExtenCaps®	Cloreto de potássio	KV Pharmaceutical	Hipocalemia[4]
Fortovase®	Saquinavir	Roche	Tratamento de pacientes adultos infectados pelo HIV
Tagravit™	Vitaminas A, E e F	Tagra Biotechnologies	Tratamento anti-envelhecimento
Parlodel LAR ™	Bromocriptina	Novartis	Doença de Parkinson
SunCaps™	Filtros Solares	Tagra Biotechnologies	Proteção solar
Vivitrol™	Naltrexona	Alkermes	Tratamento contra dependência à opioides
Lupron Depot®	Leuprorrelina	AbbVie	Tratamento do câncer de próstata

2.4.1 Micropartículas poliméricas

De modo geral, a classe das micropartículas compreende as partículas de tamanho entre 1 e 1.000 μm. A depender da estrutura, as micropartículas poliméricas podem ser subdivididas em microcápsulas e microesferas (Figura 2.8). As microcápsulas são formadas por um núcleo recoberto por uma parede polimérica rígida, de espessura variável, em que o ativo pode estar adsorvido na parede polimérica ou dissolvido no núcleo. Por outro lado, as microesferas são constituídas por uma matriz polimérica na qual o ativo pode estar adsorvido na superfície ou dissolvido na matriz (SINGH *et al.*, 2010).

[4]Baixo nível do eletrólito potássio no sangue.

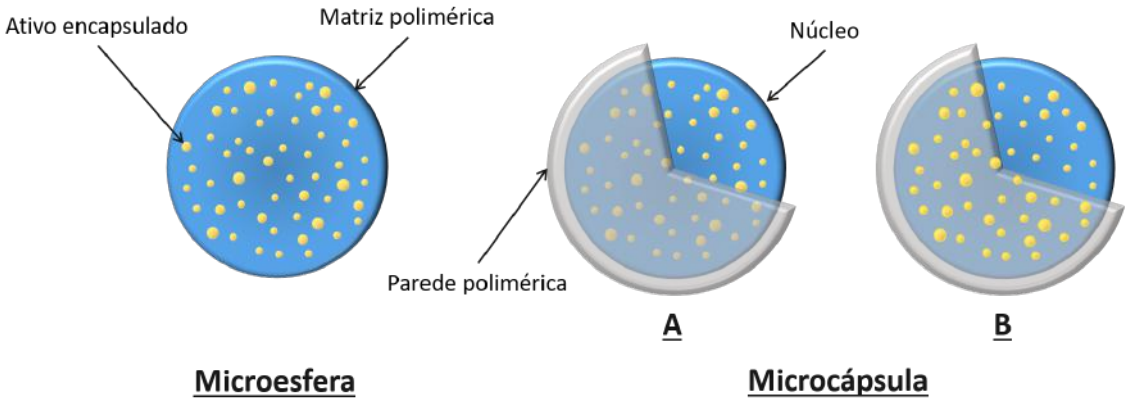


Figura 2.8: Representação das microesferas e microcápsulas poliméricas (ativo dissolvido no núcleo (A) ou adsorvido na parede polimérica (B)).

No que diz respeito aos sistemas de liberação de fármacos, as micropartículas mostram-se adequadas para administração oral, intravenosa ou parenteral. Ademais, por conta do pequeno tamanho, os fármacos podem ser amplamente distribuídos no trato gastrointestinal, aumentando a absorção dos mesmos e, por consequência, a eficiência do tratamento (BRUSCHI, 2015).

As micropartículas podem ser fabricadas a partir de uma grande variedade de materiais (naturais ou sintéticos) e por meio de diversas técnicas de preparação. A diversidade da escolha dos materiais e das técnicas de preparação proporcionam a formação de micropartículas com características que dependem da distribuição de tamanhos, da composição e da morfologia (ARSHADY, 1990; SAHIL *et al.*, 2011).

Nos últimos anos, os materiais poliméricos vêm sendo cada vez mais utilizados, por conta de sua versatilidade estrutural que permite que estejam presentes em uma vasta gama de aplicações, em especial em aplicações biotecnológicas, farmacêuticas e médicas (PICHOT, 2004). No que diz respeito aos sistemas de liberação controlada, estes materiais se destacam, pois: (i) os ativos podem ser liberados lentamente pelo processo de difusão ou pelo processo de decomposição gradual; (ii) permitem a presença de outros componentes que podem atuar, por exemplo, no controle da taxa de liberação dos fármacos; e ainda (iii) permitem que a liberação do fármaco ocorra em locais específicos (KAWAGUCHI, 2000).

Ainda hoje, há uma extensa discussão sobre a necessidade real da

biodegradabilidade dos polímeros utilizados em aplicações biomédicas. Polímeros biodegradáveis são aqueles que se degradam em metabólitos no corpo, formando produtos que podem ser facilmente eliminados pelo rim. O critério básico para a escolha de um polímero biodegradável é que produtos de degradação não sejam tóxicos e que a taxa de degradação corresponda à aplicação final pretendida (NAIR e LAURENCIN, 2006). A biodegradabilidade é uma propriedade normalmente investigada, uma vez que se deseja que não seja necessária a intervenção para a retirada do corpo do material polimérico utilizado (VILLANOVA *et al.*, 2010).

Por outro lado, em alguns casos, a não-biodegradabilidade constitui um ponto importante, quando se deseja que o sistema de entrega permaneça no organismo por mais tempo. Acredita-se que polímeros não-biodegradáveis, quando utilizados em sistemas de liberação, promovam uma liberação mais controlada e por maiores períodos de tempo (HOLZAPFEL *et al.*, 2005; OKABE *et al.*, 2003).

Particularmente, o poli(metacrilato de metila) (PMMA) (Figura 2.9) é um polímero sintético obtido a partir da polimerização do monômero metacrilato de metila, que apresenta boas propriedades mecânicas, fácil manuseio e processamento, alto brilho, boa resistência química, boas propriedades térmicas e baixo custo (MARK, 2002). Além disso, o PMMA é conhecido pela baixa toxicidade nas aplicações biomédicas, sendo utilizado amplamente como cimento dental, em próteses ósseas e no revestimento de fármacos para administração oral (BETTENCOURT e ALMEIDA, 2012; CAMPOS *et al.*, 2013; FEUSER *et al.*, 2014; MENDES *et al.*, 2012).

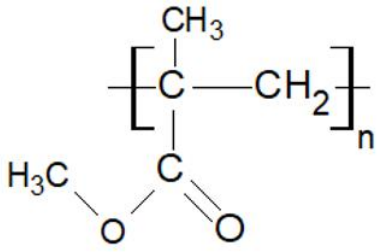


Figura 2.9: Fórmula estrutural do poli(metacrilato de metila).

Partículas de PMMA têm sido amplamente exploradas para a entrega dos mais

variados fármacos, seja por via oral ou local, tendo potencial tanto para estabilizar fármacos instáveis, como os antioxidantes, quanto para solubilizar fármacos pouco solúveis (BETTENCOURT e ALMEIDA, 2012). No que diz respeito a fármacos poucos solúveis, SIVAKUMAR e RAO (2002) propuseram o encapsulamento do anti-inflamatório ibuprofeno em microesferas de PMMA, com e sem grupos funcionais carboxílicos, via técnica de evaporação por solvente. As micropartículas com grupos funcionais carboxílicos apresentaram eficiências de encapsulamento ligeiramente maiores (54,02 ± 2,38 %) do que as micropartículas sem esses grupos funcionais (46,17 ± 1,30 %), o que pode estar relacionado com a maior porosidade apresentada pelas partículas. O mesmo comportamento foi obtido nos ensaios de liberação, em que as micropartículas de PMMA com os grupos funcionais liberaram o ativo mais rapidamente (64,7 % em 36 horas) do que as micropartículas sem os grupos funcionais (51,4 % em 48 horas), devido à natureza hidrofílica e à maior porosidade das micropartículas funcionalizadas.

YUKSEL *et al.* (2011) avaliaram o encapsulamento do anti-inflamatório indometacina em microesferas de PMMA, também a partir do método de evaporação por solvente, a fim de obter um perfil de liberação prolongado ao longo de um período de 24 horas. Com o intuito de aumentar a taxa de dissolução do fármaco a partir das microesferas, os autores avaliaram o uso do plastificante triacetina nas microesferas. Os resultados obtidos mostraram que, na ausência do plastificante, as microesferas de PMMA apresentavam uma eficiência de encapsulamento de 75,06 % e liberavam apenas 44 % do indometacina em 8 horas de ensaio. Por outro lado, o uso do plastificante resultou em um eficiência de encapsulamento de 100 % e liberação de 31 %, 72,91 % e 85,85 % do fármaco após 30 minutos, 8 horas e 24 horas, respectivamente, levando a crer que o plastificante pode favorecer a difusão do fármaco a partir do PMMA.

SAIRAM *et al.* (2007) estudaram o uso do PVP como um estabilizante estérico na produção das microesferas de PMMA, também para o encapsulamento do anti-inflamatório indometacina. As microesferas de PMMA-PVP foram produzidas

via polimerização em dispersão e promoveram uma eficiência de encapsulamento de até 84 %. Os ensaios de liberação mostraram que quase 100 % do fármaco foi liberado após 10 horas de ensaio.

2.4.2 Métodos de microencapsulação

Diversos métodos já foram propostos para microencapsulação, abrangendo os diversos tipos de materiais encapsulantes e materiais encapsulados, resultando em micropartículas com diferentes propriedades. A escolha do método de microencapsulação está diretamente relacionada com a aplicação final pretendida, com o material ativo a ser encapsulado, com o agente encapsulante e com o mecanismo de liberação desejado (MARTINS *et al.*, 2014; SUAVE *et al.*, 2006).

De modo geral, os métodos de microencapsulação mais comuns podem ser divididos em: (i) processos químicos (como a polimerização interfacial e a polimerização heterogênea por radicais livres); (ii) processos físico-químicos (como as técnicas de coacervação e geleificação ionotrópica), e (iii) processos mecânicos (como nos processos de leito fluidizado, evaporação/extração do solvente e *spray drying*) (JYOTHI *et al.*, 2010; LAM e GAMBARI, 2014). A Tabela 2.3 resume as vantagens e desvantagens das principais técnicas utilizadas para microencapsulação.

A técnica de coacervação é um dos métodos mais antigos e mais utilizados para a microencapsulação. Essa técnica consiste em três etapas básicas que ocorrem sob agitação contínua: (i) formação de uma emulsão de óleo em água, (ii) deposição do polímero (revestimento) em torno do núcleo que contém o ativo, e (iii) estabilização do revestimento (endurecimento) (MARTINS *et al.*, 2014). A coacervação pode ser usada para encapsular materiais lipofílicos ou materiais hidrofílicos; contudo, para os fármacos hidrofílicos, exige o uso de solventes orgânicos (SILVA *et al.*, 2003).

Também amplamente utilizada é a técnica de *spray drying*, que consiste, primeiramente, na solubilização do polímero em um solvente, com a posterior dissolução do ativo a ser encapsulado nesta solução polimérica. A emulsão formada é atomizada em uma corrente de ar quente, formando pequenas gotículas. Com a

evaporação do solvente, forma-se o revestimento ao redor das gotas do material ativo (SAHIL *et al.*, 2011).

A técnica de evaporação do solvente consiste, inicialmente, na emulsificação de uma mistura composta pelo solvente orgânico, pelo polímero e pelo ativo. Após a formação da emulsão, a mesma é submetida a agitação constante e o solvente é evaporado pelo aumento da temperatura ou por vácuo, levando à formação das partículas de polímero carregadas com o ativo (MAHAPATRO e SINGH, 2011; SPERNARTH e MAGDASSI, 2007).

Apesar destas técnicas serem bastante populares na área farmacêutica, o uso de solvente orgânico introduz riscos por causa da potencial toxicidade, além de requerer uma etapa extra de processamento para a retirada do solvente residual do produto e reciclagem do solvente, aumentando significativamente o custo do processo (DA SILVA *et al.*, 2005; GORINI *et al.*, 2014).

Tabela 2.3: Vantagens e desvantagens das principais técnicas de microencapsulação (JAMEKHORSHID *et al.*, 2014; LAM e GAMBARI, 2014).

Método de Microencapsulação	**Vantagens**	**Desvantagens**
Coacervação	Método simples; controle eficiente do tamanho de partículas	Aglomeração das partículas; difícil escalonamento
Evaporação do Solvente	Simplicidade	Alto custo; produção em escala laboratorial
Spray Drying	Equipamentos amplamente disponíveis e conhecidos; facilidade no escalonamento	Aglomeração das partículas; Perda de material durante o processo

Por outro lado, as micropartículas podem também ser produzidas com auxílio da técnica de polimerização *in situ*, sendo possível adaptar e otimizar as propriedades

de liberação do ativo a partir do sistema polimérico. Os processos de polimerização permitem a síntese de polímeros com propriedades melhoradas de liberação dos fármacos, proporcionando liberações em locais específicos (NGWULUKA, 2010).

Diferentemente das outras técnicas de encapsulação, a polimerização *in situ* promove o encapsulamento em uma única etapa, no decorrer do próprio processo de polimerização, já que os ativos são incorporados diretamente às gotas de monômero. Dessa forma, além da facilidade da incorporação, permite-se também o aumento da carga de ativo a ser encapsulado no sistema polimérico. Outro benefício dessa técnica é a possibilidade de obtenção de polímeros com comprimentos de cadeia e massas molares desejadas e projetadas especialmente para o sistema de administração de fármacos (NGWULUKA, 2010).

2.5 Processos de polimerização

De modo geral, os polímeros sintéticos podem ser obtidos por meio de dois mecanismos básicos de polimerização: polimerização em etapas (policondensação) ou polimerização em cadeias (poliadição). A diferença mais importante entre esses mecanismos diz respeito à identidade da espécie que reage. Na polimerização em etapas, a reação ocorre entre grupos funcionais distintos presentes nas moléculas de monômero. Neste mecanismo, o tamanho das cadeias aumenta em saltos; isto é, espécies de quaisquer tamanhos podem reagir entre si. Essas reações ocorrem em ritmo relativamente lento. Além disso, somente com conversões próximas a 100 % é possível obter massas molares elevadas, se as moléculas de monômero não forem polifuncionais (CANEVAROLO, 2006; ODIAN, 2004).

Por sua vez, na polimerização em cadeias, a formação da cadeia polimérica ocorre por conta da presença de uma espécie reativa especial, produzida por um iniciador ou um catalisador. Neste caso, a polimerização ocorre pela propagação do centro reativo por meio de reação com grande número de moléculas do monômero. Enquanto na polimerização em etapas a reação ocorre entre qualquer espécie presente no sistema, na polimerização em cadeias a reação ocorre somente entre o monômero e o centro

reativo. Assim, este tipo de mecanismo se caracteriza pela velocidade de reação elevada e pela presença de moléculas de polímero com altas massas molares mesmo em baixas conversões (ODIAN, 2004).

Os processos de polimerização podem ainda ser divididos em dois grandes grupos: sistemas homogêneos ou sistemas heterogêneos. Os sistemas homogêneos de polimerização ocorrem em uma única fase, englobando a polimerização em massa e em solução. Os sistemas heterogêneos de polimerização são caracterizados pela presença de ao menos duas fases distintas e compreendem as polimerizações em lama, em suspensão, em emulsão e em fase gasosa (MANO e MENDES, 1999).

No caso do PMMA, a obtenção do polímero ocorre normalmente por meio da reação de polimerização vinílica por poliadição via radicais livres do monômero metacrilato de metila (MMA), sendo ativada por um iniciador que reage com a ligação dupla do monômero (Figura 2.10). A técnica de polimerização em suspensão é uma das mais utilizadas para a obtenção do PMMA (MANO e MENDES, 1999), sendo amplamente utilizada para aplicações biotecnológicas e médicas.

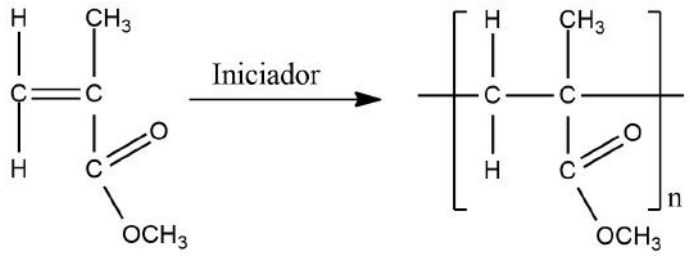


Figura 2.10: Esquema ilustrativo de reação de polimerização do metacrilato de metila (MMA).

2.5.1 Polimerização em suspensão

O processo usual de polimerização em suspensão consiste na dispersão de um ou mais monômeros insolúveis na fase contínua aquosa, com uso de um iniciador solúvel na fase orgânica. A dispersão é feita com auxílio de agitação vigorosa e com o uso de pequenas quantidades de estabilizadores ou agentes de suspensão, de modo a manter a estabilidade do sistema e evitar a aglomeração das gotas orgânicas

dispersas na fase aquosa. A polimerização ocorre nas gotas do monômero, que são gradativamente convertidas em grânulos pegajosos e viscosos, para em seguida tornarem-se partículas de polímero rígidas, com tamanhos característicos de 50 a 500 μm (ISLAM *et al.*, 2012; KOTOULAS e KIPARISSIDES, 2007; PINTO *et al.*, 2013). Se o processo for bem controlado, o polímero obtido se apresenta na forma de grânulos, que são fáceis de manipular e separar por filtração (ACOSTA-TORRES *et al.*, 2008).

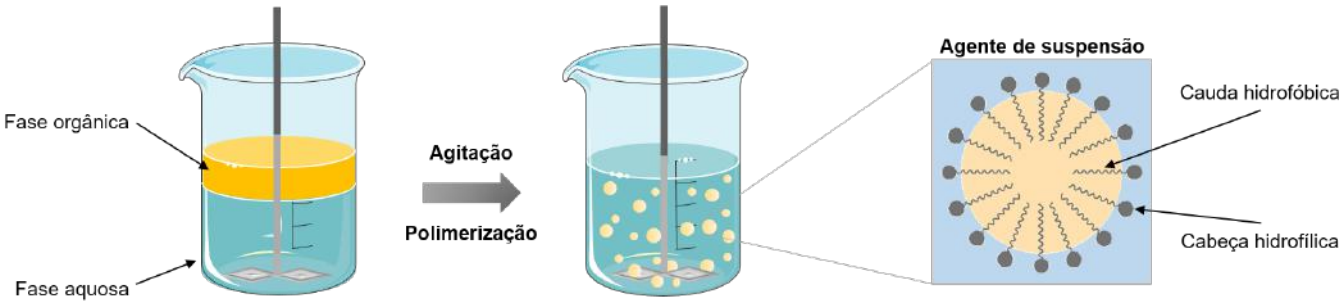


Figura 2.11: Representação esquemática do processo de polimerização em suspensão.

Dentre as diversas vantagens da polimerização em suspensão em relação às demais técnicas de polimerização (em massa, solução e emulsão), podem ser relatados: (i) maiores taxas de reação, ao aumentar a concentração do monômero, pois cada gota do monômero funciona como uma reator em massa; (ii) menores níveis de impurezas, por conta do pequeno número de componentes químicos e porque há facilidade para recuperação do produto final; (iii) formação de partículas esféricas e relativamente homogêneas; (iv) fácil controle da distribuição de tamanhos das partículas por meio da manipulação da agitação e da quantidade de agente de suspensão; (v) menor viscosidade do meio (mesmo com conversões altas), o que facilita a operação do sistema e a remoção do calor de reação (MACHADO *et al.*, 2007).

Em contrapartida, a polimerização em suspensão também apresenta algumas desvantagens, como: (i) menor produtividade por conta da presença de água; (ii) acúmulo de polímero sobre a parede do reator, o agitador e outras superfícies; (iii) grande volume de água usado; (iv) inexistência de processo contínuo comercial

(VIVALDO-LIMA *et al.*, 1997).

A depender do processo de polimerização, o polímero formado pode apresentar características específicas para uma determinada aplicação. Sabe-se que a natureza do processo de polimerização afeta diretamente a cinética de reação, a morfologia e a homogeneidade do produto final (PINTO *et al.*, 2013). Dessa forma, a polimerização em suspensão pode ser basicamente dividida nos sete principais tipos mostrados a seguir (MACHADO *et al.*, 2007).

(i) Polimerização em suspensão do *tipo pérola*:

Caracteriza-se pelo fato de que monômero é o solvente do próprio polímero formado, ocorrendo a formação de partículas rígidas e com morfologia regular na forma de pérolas (MACHADO *et al.*, 2007). Este tipo de polimerização é um dos mais utilizados para a obtenção de partículas esféricas de PMMA.

(ii) Polimerização em suspensão do *tipo granular*:

Neste tipo de processo, o polímero não é solúvel em seu monômero, ocorrendo a precipitação do polímero ao longo da reação. O polímero formado apresenta-se usualmente na forma de pós ou grãos irregulares (MACHADO *et al.*, 2007; PINTO *et al.*, 2013).

(iii) Polimerização em suspensão do *tipo massa-suspensão* ou *tipo semi-suspensão*:

Este tipo de processo é constituído por duas etapas: primeiramente faz-se a polimerização em massa, até que se atinja uma determinada conversão (tipicamente 25-30 %). Em seguida, a mistura reacional é conduzida a um outro reator, que contém uma solução do agente estabilizante, para que ocorra a etapa de polimerização em suspensão. A segunda etapa ocorre até que se atinja a conversão final desejada. O processo em semi-suspensão permite o controle mais preciso da distribuição de tamanhos de partículas, obtendo-se distribuições de tamanho mais estreitas (MACHADO *et al.*, 2007).

(iv) Polimerização em suspensão-*inversa*:

Este tipo de processo ocorre quando monômeros solúveis em água são dispersos em uma fase orgânica contínua (MACHADO *et al.*, 2007).

(v) Polimerização em suspensão do *tipo suspensão-emulsão*:

Esse processo se caracteriza pela combinação de dois processos de polimerização, obtendo-se, ao final, partículas com morfologia casca-núcleo. Inicialmente, o núcleo rígido da partícula é formado a partir do processo de polimerização de suspensão, para então ocorrer a formação da casca porosa por meio da polimerização em emulsão. Ademais, partículas de distribuição de massas molares bimodais também podem ser obtidas neste processo, como consequência da obtenção de polímeros de baixas massas molares na etapa de polimerização em suspensão e de altas massas molares na etapa de polimerização em emulsão (PINTO *et al.*, 2013).

(vi) Polimerização em suspensão do *tipo dispersão*:

Diferentemente dos outros processos de polimerização em suspensão, este processo se inicia como um processo de polimerização homogêneo (monômero, um solvente orgânico, o iniciador solúvel na fase orgânica e um agente estabilizante), tornando-se heterogêneo com a precipitação do polímero formado, que não é solúvel no solvente. As partículas de polímero obtidas apresentam tamanhos característicos na faixa de 1 a 10 μm (MACHADO *et al.*, 2007).

(vii) Polimerização em suspensão do *tipo microssuspensão*:

Este processo se caracteriza por apresentar características cinéticas similares às do processo em suspensão clássico; porém, consegue atingir conversões elevadas como em um processo em emulsão. As partículas formadas apresentam tamanhos mais reduzidos, por conta do uso de altas taxas de cisalhamento, com tamanhos característicos na faixa de 0,1 a 10 μm, o que compreende tamanhos intermediários entre as partículas produzidas por meio da polimerização em suspensão e por meio da polimerização em emulsão (MACHADO *et al.*, 2007).

Os iniciadores utilizados nos processos de polimerização em suspensão caracterizam-se pela solubilidade na fase orgânica, já que a reação de polimerização ocorre predominantemente no interior nas gotas do monômero. Usualmente, os iniciadores mais utilizados são os peróxidos orgânicos e os azocompostos (PINTO *et al.*, 2013). De modo geral, a carga de iniciador utilizada está entre 0,1 e 0,5 % em massa em relação à carga de monômero (VIVALDO-LIMA *et al.*, 1997).

Como mencionado anteriormente, as polimerizações em suspensão fazem uso de pequenas quantidades dos chamados agentes de suspensão ou agentes estabilizantes. Esses agentes adsorvem na superfície externa da gota do monômero, reduzindo a tensão interfacial entre o monômero e a água, promovendo, assim, o aumento da estabilidade das gotas (JAHANZAD *et al.*, 2005a). A estabilidade contra a coalescência depende da capacidade do agente de suspensão formar um filme protetor na interface das gotas. Ressalta-se a existência de uma concentração crítica do agente de suspensão, a partir da qual novos aumentos exercem pouco efeito sobre a estabilidade das gotas (BROOKS, 2010). Fica clara a importância da natureza e da concentração do agente sobre o controle da distribuição de tamanhos das partículas.

Os agentes de suspensão, basicamente, consistem de uma mistura de polímeros polares, com caráter anfifílico, apresentando caráter hidrofílico e hidrofóbico simultaneamente. Agentes inorgânicos insolúveis nas duas fases do sistema também podem ser empregados (PINTO *et al.*, 2013). O poli(álcool vinílico) (PVA) é um dos agentes de suspensão mais utilizados nos processos de polimerização em suspensão (JAHANZAD *et al.*, 2005a), sendo caracterizado pela viscosidade em solução aquosa (propriedade ligada à sua massa molar média) e pelo grau de hidrólise (propriedade ligada à porcentagem de radicais acetila substituídos por radicais hidroxila durante a reação de hidrólise do poli(acetato de vinila)) (MACHADO *et al.*, 2007). Acredita-se que o PVA com as melhores características para ser usado como agente de suspensão seja aquele com grau de hidrólise entre 70 e 80 % (BROOKS, 2010) e massa molar média acima de 70.000 Da (JAHANZAD *et al.*, 2005a).

2.5.1.1 Processo de formação das partículas na polimerização em suspensão

Apesar do controle da distribuição de tamanhos das partículas exercer grande influência sobre a qualidade do produto final da polimerização em suspensão, ainda é pouco compreendido o mecanismo de formação da partícula para esse sistema (KIPARISSIDES, 1996). De modo geral, acredita-se que o processo de formação das partículas envolva três estágios distintos, como descrito por KIPARISSIDES (1996):

(i) Estágio de Transição: Período de predominância do mecanismo de quebra das gotículas, caracterizado pela redução do tamanho das gotas do monômero, por conta do cisalhamento imposto pelo misturador, e pelas distribuições de tamanhos de partículas mais estreitas;

(ii) Estágio de Crescimento: Período caracterizado pelo aumento da viscosidade da fase dispersa. Neste estágio, ocorre a redução da taxa de quebra das gotas, tendo como consequência a formação de distribuições de tamanhos mais largas e deslocadas para tamanhos maiores, por conta do aumento da taxa de coalescência em relação à taxa de quebra;

(iii) Estágio de Identificação: Por fim, se a suspensão for instável, ocorre o descontrole da taxa de coalescência, resultando em aumento considerável dos tamanhos das partículas por conta da contínua aglomeração. Em contrapartida, se a estabilidade da suspensão prevalecer, então ocorre o equilíbrio entre as taxas de coalescência e quebra, definindo a distribuição final dos tamanhos de partículas. Após uma conversão limite, denominada de ponto de identificação da partícula, não é mais possível modificar a distribuição de tamanho das gotas por conta da formação de partículas rígidas.

Nesse contexto, variáveis como densidade e viscosidade das fases contínua e dispersa, tensão interfacial, tipo e concentração de agente de suspensão, tipo

de impelidor, velocidade de agitação afetam consideravelmente a distribuição de tamanhos de partículas (JAHANZAD *et al.*, 2005b).

JAHANZAD *et al.* (2004) constataram a presença de um estágio de estado quase-estacionário, que ocorre logo após o estágio inicial, em que as taxas de quebra e coalescência estão próximas do equilíbrio. De acordo com os autores, este estágio nem sempre é alcançado, sendo dependente das condições experimentais utilizadas (JAHANZAD *et al.*, 2005a).

2.5.1.2 Mecanismo cinético da reação de polimerização do metacrilato de metila

Como mencionado anteriormente, a produção do PMMA ocorre primordialmente via polimerização vinílica por poliadição (também chamada de polimerização em cadeias) via radicais livres do monômero metacrilato de metila (MMA) (Figura 2.10). O mecanismo cinético da polimerização em cadeias consiste de três etapas básicas e que ocorrem simultaneamente ao longo da reação: iniciação, propagação e terminação (ODIAN, 2004).

A etapa de iniciação é a responsável pela geração dos radicais livres, por conta da decomposição do iniciador. Esses radicais livres (centros ativos) dão início à reação de polimerização pela reação com a molécula de monômero, desencadeando a formação da cadeia polimérica. Sabe-se que a reação de decomposição do iniciador pode ser desencadeada pela ação da temperatura (caracterizando a iniciação térmica) ou ainda pela ação da radiação ou de um composto químico (CANEVAROLO, 2006). A decomposição ocorre pela cisão homolítica da ligação covalente fraca na molécula do iniciador, gerando a espécie ativa que reage com o monômero, formando o radical livre que inicia a polimerização (MANO e MENDES, 1999).

Usualmente, as reações que fazem parte da etapa de iniciação são:

$$I \longrightarrow 2\,R^{*} \tag{2.1}$$

$$R^* + M \longrightarrow P_1{}^* \tag{2.2}$$

em que I é o iniciador, R^* é o radical livre formado, M é o monômero e $P_1{}^*$ é o macrorradical que contém uma molécula de monômero.

A etapa de propagação é considerada a etapa mais importante da polimerização, sendo responsável pelo crescimento da cadeia polimérica (MANO e MENDES, 1999). O radical livre formado na etapa de iniciação reage com a molécula de monômero, resultando na transferência do centro ativo para a cadeia em crescimento. Esse novo centro ativo é, então, combinado com outra molécula de monômero, criando um novo centro ativo e tornando a cadeia polimérica cada vez maior. A reação ocorre sucessivamente, como representado pela Equação 2.3:

$$P_i^* + M \longrightarrow P_{i+1}{}^* \qquad i \geq 1 \tag{2.3}$$

em que $P_i{}^*$ é o macrorradical de tamanho i e $P_{i+1}{}^*$ é o macrorradical de tamanho $i+1$.

Por fim, na etapa de terminação ocorre a interrupção do crescimento da cadeia polimérica por conta da desativação do centro ativo. Essa desativação pode ocorrer de dois modos: por combinação ou por desproporcionamento. A terminação por combinação (Equação 2.4) é resultado da união de duas cadeias poliméricas em crescimento, formando uma única cadeia polimérica "morta" e com massa molar relativamente mais alta. Este tipo de terminação pode estar ausente, caso haja impedimento estérico entre os grupos laterais presentes em cada cadeia. Por sua vez, na terminação por desproporcionamento (Equação 2.5) ocorre a transferência do hidrogênio de uma cadeia para uma outra cadeia, gerando uma cadeia polimérica insaturada e outra saturada (CANEVAROLO, 2006). De modo geral, para a obtenção de polímeros com massa molar elevada, é fundamental que não haja excesso de centros ativos no meio reacional (MANO e MENDES, 1999).

$$P_i^* + P_j^* \longrightarrow \Lambda_{i+j} \qquad i,j \geq 2 \tag{2.4}$$

$$P_i^* + P_j^* \longrightarrow \Lambda_i + \Lambda_j \qquad i,j \geq 2 \tag{2.5}$$

em que Λ_i é a cadeia polimérica morta de tamanho i, Λ_j é a cadeia polimérica morta de tamanho j e Λ_{i+j} é a cadeia polimérica morta de tamanho $i+j$.

Outra etapa de reação que também ocorre usualmente nos sistemas de polimerização é a reação de transferência de cadeia (Equações 2.6 e 2.7), em que ocorre a transferência do hidrogênio ou de outro átomo presente em algum composto do sistema (monômero, iniciador ou solvente) para a cadeia polimérica, cessando o crescimento da cadeia e criando uma outra espécie ativa (ODIAN, 2004). No caso da transferência de cadeia para uma molécula de polímero inativa, esse mecanismo pode proporcionar a formação de ramificações:

$$P_i^* + XA \longrightarrow P_i{-}X + A^* \tag{2.6}$$

$$A^* + M \longrightarrow P_1 \tag{2.7}$$

em que XA pode ser o monômero, iniciador ou solvente, e X é o átomo a ser transferido.

Efeito Gel e Vítreo

Os efeitos gel e vítreo são fenômenos típicos de reações de polimerização (MACHADO *et al.*, 2007). O efeito gel (também chamado de efeito *Trommsdorff-Norrish*) caracteriza-se pelo aumento repentino da viscosidade do meio, ocorrendo geralmente quando a conversão do monômero está entre 20 e 40% (POLACCO *et al.*, 1996). Por conta das limitações difusionais do meio e que impedem o movimento das macromoléculas em crescimento, a taxa da reação de terminação pode diminuir de forma significativa com o aumento da viscosidade, promovendo, assim, um aumento acentuado da constante de velocidade global da polimerização. Por consequência, pode ocorrer a liberação de grande quantidade de energia, pois as reações de polimerização por radicais livres são altamente exotérmicas. Uma vez que o meio está muito viscoso, torna-se difícil remover o calor liberado pela

reação, resultando no aumento abrupto da temperatura do meio (CIOFFI *et al.*, 2001; POLACCO *et al.*, 1996). Este efeito promove o aumento da massa molar média do polímero final, exerce grande influência nas propriedades finais do polímero e compromete a segurança de operação (KIPARISSIDES, 1996).

O efeito vítreo está relacionado com a redução drástica da taxa de propagação, como consequência da diminuição da mobilidade das moléculas de monômero em um meio muito viscoso (KIPARISSIDES, 1996; POLACCO *et al.*, 1996). Este fenômeno ocorre usualmente em polimerizações em que a temperatura de reação é inferior à temperatura de transição vítrea do polímero e provoca o virtual congelamento da mistura reacional (KIPARISSIDES, 1996). Ao contrário do observado no efeito gel, o polímero final neste caso é caracterizado pela redução da massa molar média (POLACCO *et al.*, 1996) e o fenômeno normalmente ocorre a conversões superiores a 90 %.

2.5.1.3 Encapsulamento *in situ* de ativos na polimerização em suspensão

A incorporação *in situ* de ativos nas reações de polimerização constitui uma estratégia conhecida para a produção de sistemas de liberação de fármacos. Com base nesta técnica, é possível obter o polímero final com o ativo encapsulado em uma única etapa, de forma que o processo de produção é mais simples. No entanto, a incorporação *in situ* pode afetar o processo de polimerização e as propriedades finais dos polímeros obtidos, causando modificações do comportamento térmico, das distribuições de massas molares e das distribuições de tamanhos de partículas (MOREIRA *et al.*, 2014).

Apesar do encapsulamento *in situ* garantir maior proteção do ativo contra os processos de degradação, infelizmente são poucos os estudos que relatam o uso desta técnica na polimerização em suspensão. No entanto, o Laboratório de Engenharia de Polimerização (EngePol) do Programa de Engenharia Química da COPPE/UFRJ tem conduzido trabalhos de encapsulamento de ativos em sistemas de polimerização em suspensão.

OLIVEIRA *et al.* (2011) avaliaram a incorporação do fármaco amoxicilina durante a síntese de partículas casca-núcleo de PVA/PVAc-co-PMMA. Os resultados indicam que a incorporação *in situ* do fármaco promoveu7 uma série de alterações nas características finais das partículas dos polímeros, tais como na morfologia das micropartículas obtidas, na distribuição de massas molares e na temperatura de transição vítrea. A depender do teor e da estratégia de encapsulamento, o antibiótico pode afetar diretamente as propriedades finais do polímero obtido.

Dando continuidade ao trabalho anterior, OLIVEIRA *et al.* (2012a) estudaram o encapsulamento da amoxicilina nas reações de copolimerização em suspensão do acetato de vinila e metacrilato de metila (PVAc-co-PMMA). Os autores reportaram que o fármaco interage com as cadeias de polímero em crescimento, preferencialmente com os radicais do acetato de vinila (VAc), resultando em alterações significativas na distribuição da massas molares do copolímero final. Além disso, os resultados mostraram que a amoxicilina exerce um efeito inibitório sobre a conversão do monômero nas reações do homopolímero VAc; porém, este efeito é minimizado na presença do MMA.

Ao promover o encapsulamento do quimioterápico doxorrubicina nas reações de polimerização em suspensão do PVAc-co-PMMA, OLIVEIRA *et al.* (2012b) relataram que a incorporação deste fármaco também provocou modificações sobre a morfologia das partículas produzidas e sobre a cinética da reação. Assim como ocorreu com a amoxicilina, a doxorrubicina também promoveu um aumento repentino da massa molar média do polímero final, indicando um possível efeito de reticulação das cadeias.

VIEIRA (2014) avaliou o tamanho, a morfologia e a reticulação da matriz polimérica para o encapsulamento de praziquantel em micropartículas poliméricas de PMMA produzidas via polimerização em suspensão. Os resultados indicaram que o fármaco atuou como agente de transferência de cadeia nas reações de polimerização, reduzindo significativamente as massas molares médias do polímero formado desde o início da reação. Além disso, o autor destacou que as partículas produzidas foram

capazes de manter a suspensão sem gosto por, pelo menos, 30 minutos.

Por fim, RODRIGUES (2017) utilizou a polimerização em suspensão para o encapsulamento de agentes inibidores de corrosão para a liberação gradual em poços de petróleo, de modo a minimizar as perdas e as distribuições não-homogêneas nos dutos e equipamentos, aumentando a eficiência do tratamento. Nesse estudo, as imidazolinas 18OH e 18NH (agentes anticorrosivos) foram incorporadas em micropartículas de PMMA, tendo atingido tempos de vida útil entre 109 a 535 dias (a 25 °C) e 1 a 59 dias (a 70 °C).

Fora do grupo EngePol, poucos trabalhos foram encontrados a respeito do uso da técnica de polimerização em suspensão para o encapsulamento de ativos. Entre eles, SHIM *et al.* (2002) estudaram a incorporação *in situ* de nanopartículas inorgânicas de óxido de zinco (ZnO) em micropartículas de PMMA, de modo a melhorar as propriedades mecânicas e de dispersão dos compósitos inorgânicos/orgânicos. FERREIRA *et al.* (2012) utilizaram micropartículas do tipo casca/núcleo de poli(álcool vinílico)/poli(acetato de vinila) para o encapsulamento *in situ* de nanopartículas superparamagnéticas de Fe_3O_4 para aplicações biomédicas, tendo promovido a formação de uma nova classe de materiais magnéticos, ditas partículas magneto-poliméricas. CARREIRA *et al.* (2017) avaliaram o encapsulamento de octadecano (ativo com propriedades termorreguladoras) em microcápsulas à base de polímeros acrílicos na presença de agentes reticulantes, avaliando diferentes tipos de iniciadores.

2.6 Controle na liberação dos fármacos em sistemas poliméricos

Os sistemas de liberação controlada destinam-se a controlar a liberação do fármaco ao longo do tempo, a ajudar o fármaco a cruzar barreiras fisiológicas, guiando-o ao local de ação desejado, e minimizando a liberação do fármaco em outras partes do organismo. Existem diversos mecanismos por meio dos quais a liberação

do ativo pode ser controlada em um sistema, sendo importante entendê-los para que seja possível o desenvolvimento dos sistemas de liberação controlada.

Basicamente, são três os principais mecanismos de liberação controlada: difusão, inchamento e erosão/degradação (ARIFIN *et al.*, 2006; KRAITZER e ZILBERMAN, 2012). De forma geral, a liberação controlada sempre envolve o processo de difusão, podendo estar ou não combinado com algum outro mecanismo (ARIFIN *et al.*, 2006).

No caso do sistema polimérico não-biodegradável, a liberação pode ser controlada pelo processo de difusão e/ou inchamento e ocorre por consequência do gradiente de concentração estabelecido entre o meio e o interior da partícula. Por outro lado, a liberação nos sistemas poliméricos biodegradáveis é usualmente controlada pela clivagem das cadeias do polímero, que promove a erosão da matriz e facilita a liberação. Este mecanismo está sempre associado ao processo de difusão (ARIFIN *et al.*, 2006).

A difusão é o processo caracterizado pela transferência espacial de massa de moléculas de uma determinada substância (Figura 2.12), sendo associada à existência de um gradiente de concentração. Na liberação controlada, a difusão do fármaco é inibida pela matriz do polímero, de tal modo que o ativo precisa percorrer caminhos tortuosos no interior da partícula até a liberação (UHRICH *et al.*, 1999). As propriedades estruturais da matriz, como morfologia, área específica, existência e tamanho de poros, são fatores importantes para caracterizar o processo de difusão do ativo (PILLAI e PANCHAGNULA, 2001).

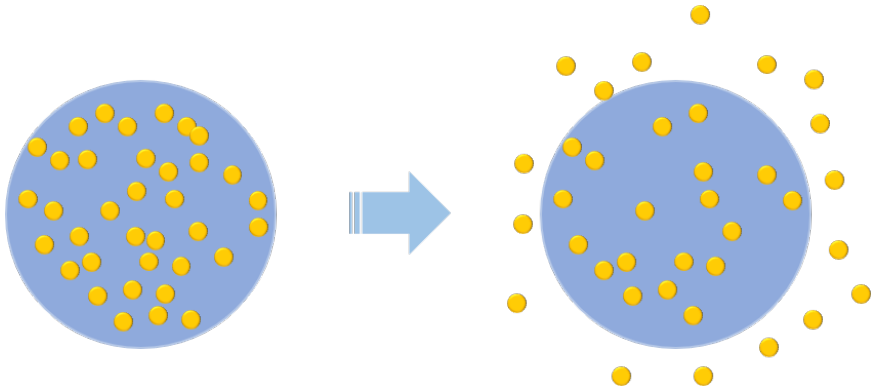


Figura 2.12: Esquema ilustrativo do mecanismo de liberação por difusão.

Os sistemas de liberação controlados pelo inchamento caracterizam-se pelo aumento do teor do solvente (água ou outro fluido corporal) no interior da formulação, de tal modo que as cadeias do polímero organizam-se em uma forma tridimensional, promovendo a difusão facilitada do ativo através do sistema inchado para o ambiente externo (KRAITZER e ZILBERMAN, 2012) (Figura 2.13). Fatores como a presença de aditivos, a hidrofilicidade do polímero, a presença de ligações cruzadas, temperatura e pH são importantes para determinar o grau de inchamento da matriz e, por consequência, atuam no controle de liberação do fármaco (OMIDIAN e PARK, 2008; SIEGEL e RATHBONE, 2012).

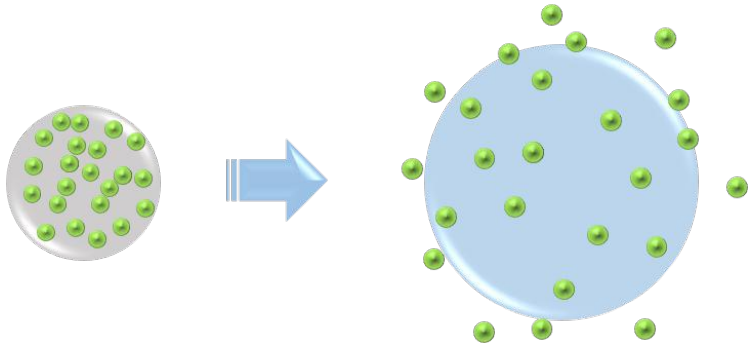


Figura 2.13: Esquema ilustrativo do mecanismo de liberação por inchamento.

Por fim, o processo de erosão pode ser considerado como a combinação de processos de degradação e dissolução. De modo geral, o contato com a água pode resultar na degradação do polímero, conduzindo à formação de oligômeros e monômeros. A degradação contínua pode alterar a estrutura da matriz, levando à formação de poros e reduzindo o tamanho de partícula. Assim, os produtos de degradação e o fármaco podem difundir simultaneamente e de forma facilitada para fora do sistema (GÖPFERICH, 1996; SACKETT e NARASIMHAN, 2011). O processo de erosão pode ocorrer de dois modos: erosão de superfície ("*surface erosion*") ou erosão em massa ("*bulk erosion*") (Figura 2.14). Os sistemas de erosão de superfície são observados com monômeros relativamente hidrofóbicos, que resistem à entrada da água, de maneira que a degradação ocorre principalmente na superfície. Por outro lado, os sistemas de erosão em massa permitem a permeação da água através da matriz polimérica (VARDE e PACK, 2004). Nesse caso, o controle

da liberação do ativo ocorre principalmente por conta da cinética da degradação da matriz, que é específica para cada sistema.

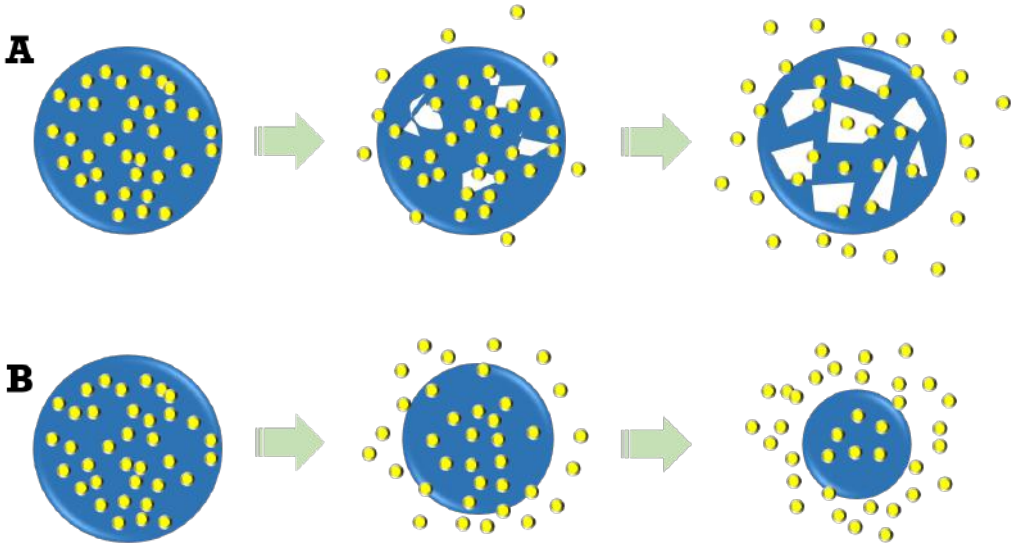


Figura 2.14: Esquemas ilustrativos dos mecanismos do processo de erosão de sistemas poliméricos: (A) erosão em massa ("*bulk erosion*") e (B) erosão de superfície ("*surface erosion*").

2.7 Polímeros inteligentes

Nos últimos anos, os grupos de polímeros chamados polímeros inteligentes ("*smart polymers*" ou "*stimuli-responsive polymers*") têm ganhado atenção da comunidade científica, especialmente em aplicações biomédicas, particularmente nos sistemas de liberação controlada de fármacos (HUH *et al.*, 2012; PRIYA JAMES *et al.*, 2014). Embora os sistemas de liberação controlada convencionais apresentem uma gama de vantagens, esses sistemas em geral são insensíveis às mudanças fisiológicas presentes no corpo humano (BAWA *et al.*, 2009). Por outro lado, os polímeros inteligentes são capazes de responder a essas variações, coordenando a liberação do fármaco e, portanto, tornando-a mais efetiva.

De modo geral, esses polímeros são caracterizados pela alteração de suas propriedades em resposta a um estímulo externo, tais como: alterações de pH, de temperatura, de força iônica, de um campo magnético, dentre outros. Do ponto de vista biomédico, mudanças de pH e temperatura apresentam maior importância.

Nesses casos, o estímulo externo pode ocasionar mudanças na conformação, na solubilidade, no inchamento e na liberação do ativo (CABANE *et al.*, 2012; SCHMALJOHANN, 2006).

Diante das diversas variações de pH presentes no corpo humano (por exemplo, o pH no sangue está tipicamente na faixa entre 7,35 - 7,45; no estômago, entre 1,0 - 3,0; no intestino, entre 5,0 - 8,0), o estímulo externo químico oriundo do pH se mostra de grande valia para os estudos de liberação controlada. De forma mais específica, a mudança de pH ao longo do trato gastrointestinal pode ser levada em conta nos sistemas de liberação oral (SCHMALJOHANN, 2006).

Além disso, os polímeros sensíveis ao pH têm sido frequentemente utilizados na síntese de nanopartículas aplicadas para a liberação de fármacos em sítios específicos (ROOINTAN *et al.*, 2018). Em particular, esses sistemas são amplamente empregados para a entrega de fármacos diretamente para os tumores (LI *et al.*, 2018; LING *et al.*, 2014; MENG *et al.*, 2014; PAN *et al.*, 2018), devido à diferença de pH existente entre as células tumorais e as células saudáveis, favorecendo, portanto, o uso de sistemas inteligentes (RATEMI, 2018; ROOINTAN *et al.*, 2018).

Os polímeros sensíveis ao pH são caracterizados pela presença de grupos ionizáveis em suas estruturas, apresentando propriedades físico-químicas dependentes dessa variável. Esses grupos podem ser ácidos (por exemplo, ácido carboxílico) ou básicos (por exemplo, íons amônio), que podem aceitar ou liberar prótons frente a mudanças de pH, de modo que, quando estão carregados, geram repulsões eletrostáticas que permitem o aumento do volume hidrodinâmico das cadeias e da solubilidade do polímero (MANO, 2012; QIU e PARK, 2001).

De modo geral, os grupos ácidos não incham nas regiões mais baixas de pH, já que não estão ionizados; somente com o aumento do pH, o polímero adquire a carga negativa, promovendo o inchamento do mesmo. O comportamento oposto é observado nos grupos básicos, em que a ionização ocorre com o decréscimo do pH. Como mostrado na Figura 2.15, a ionização é uma resposta inversa à mudança de pH (HUH *et al.*, 2012).

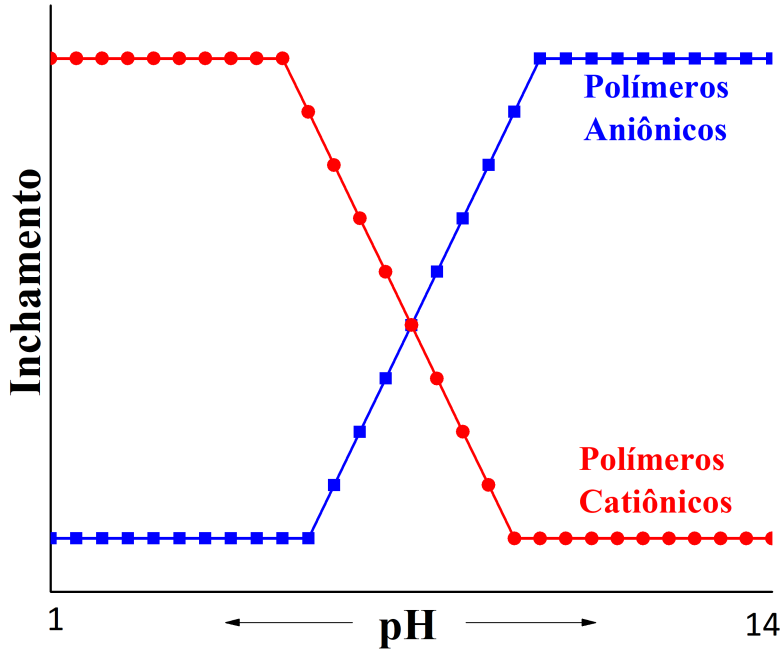


Figura 2.15: Esquema ilustrativo da dependência do inchamento com a ionização do grupo ionizável (adaptado de HUH *et al.* (2012)).

Os polímeros mais comumente estudados como sensíveis ao pH são a poliacrilamida (PAAm), o poli(ácido acrílico) (PAA), o poli(ácido metacrílico) (PMAA), o poli(metacrilato de dietilaminoetila) (PDEAEMA) e poli(metacrilato de dimetilaminoetila) (PDMAEMA) (GUPTA *et al.*, 2002). A seguir são apresentados alguns trabalhos, dentre os diversos existentes, que fazem uso desses polímeros em sistemas de liberação controlada.

KULKARNI e SA (2009) desenvolveram hidrogéis de alginato de sódio enxertado com poliacrilamida para a liberação do anti-inflamatório cetoprofeno no intestino. De modo a obter um hidrogel sensível ao pH básico, o copolímero obtido foi hidrolisado com o intuito de converter os grupos $-CONH_2$ presentes na PAAm em grupos $-COOH$. Como consequência, o inchamento e a liberação do fármaco em pH gástrico foram reduzidos, minimizando os efeitos colaterais relacionados ao uso de anti-inflamatórios. Os materiais obtidos apresentaram grau de inchamento dependente do pH, confirmando a formação de polímeros sensíveis ao pH. Além disso, a liberação do fármaco foi significativamente aumentada com a mudança do pH de ácido para alcalino.

BASHIR *et al.* (2016) estudaram a combinação do polímero natural quitosana

com o polímero sintético poli(ácido metacrílico), de modo a melhorar as propriedades mecânicas do polímero final, controlar o grau de inchamento e formar um hidrogel mais estável. Os resultados mostraram que o grau de inchamento sofre forte influência do pH e da concentração dos monômeros. Além disso, tanto a a eficiência de encapsulamento quanto a liberação mostraram-se dependentes da composição do hidrogel e do pH, em que a máxima liberação obtida foi próxima a 90% no meio gástrico e 13% no meio intestinal.

QI *et al.* (2016) investigaram o copolímero formado pela união do poli(etilenoglicol) com a poli(ε-caprolactona), por meio da ligação hidrazona, que se caracteriza pela sensibilidade ao pH. Tal sistema foi desenvolvido para liberação controlada do fármaco paclitaxel, que foi efetivamente encapsulado no sistema polimérico. Os ensaios mostraram que o material obtido apresentou uma taxa de liberação mais elevada no meio ácido do que no meio fisiológico, como consequência da presença da ligação hidrozona. Nos materiais que foram sintetizados sem a ligação, não houve resposta diferenciada frente à mudança de pH.

Dentre os polímeros sensíveis a pH, o PDEAEMA e PDMAEMA são polímeros catiônicos biocompatíveis caracterizados pela presença de aminas terciárias em suas cadeias laterais (Figura 2.16), que apresentam também sensibilidade à temperatura e ao CO_2 (SONG *et al.*, 2016), sendo os mais estudados na comunidade científica (SHIRIN-ABADI *et al.*, 2017). Desse modo, a protonação e a desprotonação dos grupo aminas, que resulta no inchamento das partículas, pode ocorrer por três modos: (*i*) mudança de pH; (*ii*) ao atingir a temperatura crítica mínima de solução (LCST)[5]; ou (*iii*) pela adição ou remoção de CO_2 (DARABI *et al.*, 2016). Apesar de exibirem estruturas similares, esses compostos apresentam algumas diferenças principalmente no que diz respeito à solubilidade em água. Enquanto o PDMAEMA é considerado um polímero hidrofílico, o PDEAEMA é insolúvel em pHs neutro ou básico (MUÑOZ-BONILLA *et al.*, 2007).

[5]Propriedade característica de polímeros termossensíveis, que define uma transição de fase de um estado insolúvel para um estado de completa dissolução em água.

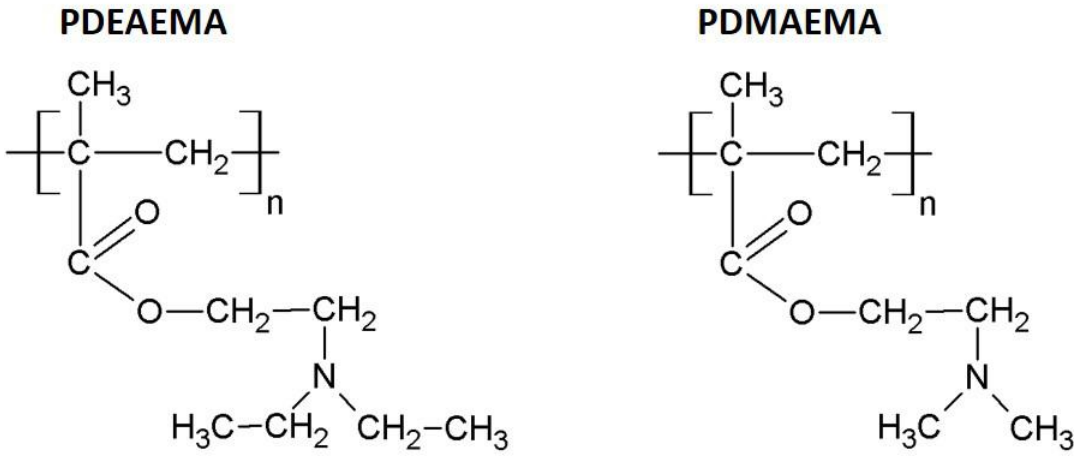


Figura 2.16: Fórmula estrutural do PDEAEMA e PDMAEMA.

De fato, conforme apresentado na Tabela 2.4, diversos trabalhos podem ser encontrados na literatura com o uso desses monômeros catiônicos para aplicações biomédicas, resultando na melhora significativa das propriedades finais dos materiais poliméricos. No entanto, a partir dessa mesma busca bibliográfica, foi possível observar que pouquíssimos trabalhos são voltados para a produção de micropartículas inteligentes e que, para esses monômeros catiônicos, a literatura faz constante uso das técnicas de polimerização controlada em solução, ao invés de técnicas de polimerização em suspensão.

Tabela 2.4: Exemplos de artigos encontrados na literatura sobre o uso dos polímeros PDEAEMA ou PDMAEMA para aplicações biomédicas.

Sistema Polimérico	**Aplicação**	**Processo**	**Autores**
P(St-co-DMAEMA)	Liberação controlada do fármaco modelo cumarina-6	Polimerização em emulsão	HU *et al.* (2014)
P(EC-g-DEAEMA)	Liberação controlada do fármaco modelo rifampicina	Polimerização controlada via ATRP	WANG *et al.* (2011)
P(DMAEMA-co-HEMA)	Liberação controlada do fármaco paclitaxel	Fotopolimerização em emulsão	YOU e AUGUSTE (2008)
P(DMAEMA-b-MMA)	Encapsulamento de materiais fotocrômicos	Polimerização controlada via RAFT	KHAKZAD *et al.* (2016)
PCL-g-PDMAEMA	Liberação controlada de fármacos e gene	Polimerização controlada via ATRP	GUO *et al.* (2010)
P(DEAEMA-co-St)	Liberação controlada do fármaco modelo ibuprofeno	Polimerização em miniemulsão	JIA *et al.* (2017)
Nanogel de PDEAEMA com PEGMA	Liberação controlada do fármaco doxorrubicina	Polimerização em emulsão	PIKABEA *et al.* (2018)
PEG-b-P(BMA-co-DEAEMA) e PEG-b-P(St-co-DEAEMA)	Liberação controlada do fármaco modelo ibuprofeno	Polimerização controlada via ATRP	ZHANG *et al.* (2012)
MPEG-PDEAEMA	Liberação controlada do fármaco doxorrubicina	Polimerização controlada via ATRP	YANG *et al.* (2017)
βCD-PDMAEMA	Liberação controlada do fármaco doxorrubicina	Polimerização controlada via ATRP	ZHOU *et al.* (2018)

St: Estireno; EC: Etil Celulose; HEMA: Metacrilato de 2-hidroxietila;
PCL: Poli(ϵ-caprolactona); PEGMA:Metacrilato de poli(etilenoglicol)
PEG: Poli(etileno glicol); BMA: Metacrilato de n-butila;
MPEG: Poli(etileno glicol) metil éter; βCD: β-Ciclodextrina
ATRP: Polimerização radicalar por transferência de átomos
RAFT: Transferência reversível de cadeia por adição-fragmentação

2.8 Comentários finais

Como discutido até aqui, a esquistossomose é uma doença negligenciada que acomete milhões de pessoas ao redor do mundo, sendo, no Brasil, considerada um grave problema de saúde pública. O tratamento é realizado majoritariamente pela administração do praziquantel, constatando sua importância. Contudo, este fármaco é caracterizado pelo forte amargor, sendo rejeitado principalmente pelas crianças e, por consequência, gerando redução da eficiência do tratamento. Ademais, o fármaco apresenta baixa solubilidade em água, dificultando o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos.

Dessa forma, é inquestionável que o cenário atual requer o desenvolvimento de novas alternativas para o tratamento da esquistossomose. Em particular, o desenvolvimento de uma formulação em suspensão parece constituir uma boa alternativa para resolver os problemas de ajuste de dosagem.

Os sistemas de liberação controlada são comumente relatados como opções promissoras para a produção de novas formulações farmacêuticas por conta das diversas vantagens. Dentre estas, as micropartículas poliméricas mostram-se adequadas para administração oral, intravenosa ou parenteral.

Desse modo, propõe-se o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada baseados em micropartículas poliméricas de poli(metacrilato de metila) (PMMA) para o encapsulamento do praziquantel, avaliando principalmente o perfil de liberação do fármaco ao longo do tempo. Uma abordagem também bastante promissora para este trabalho é o desenvolvimento de micropartículas poliméricas inteligentes, com o uso dos monômeros metacrilato de dietilaminoetila (DEAEMA) e metacrilato de dimetilaminoetila (DMAEMA), para que as partículas sejam sensíveis ao pH e facilitem a liberação do fármaco ao longo do trato gastrointestinal. Ressalta-se que estudos similares ao proposto não estão disponíveis na literatura consultada.

Capítulo 3

Materiais e Métodos

3.1 Material

3.1.1 Reagentes

Os reagentes utilizados nas reações de polimerização conduzidas no presente trabalho, com as respectivas origens e purezas, são listados a seguir. Todos os reagentes e solventes foram usados assim como recebidos, sem realizar qualquer purificação adicional.

- Acetona P.A. com 99,5 % de pureza, fabricado pela Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), usada para limpeza das vidrarias.
- Acetonitrila com grau HPLC, fabricado pela Tedia (Ohio, USA), usado como fase móvel no HPLC.
- Ácido clorídrico (HCl) com concentração de 37 % em água, fabricado pela LabSynth (São Paulo, Brasil), usado para o meio ácido dos ensaios de liberação.
- Água ultra pura (Gehaka, Master System MS 2000, São Paulo, Brasil), usada nas reações de polimerização.

- Azobisisobutironitrila (AIBN) de marca Akzo Nobel (Países Baixos), com pureza mínima de 99 %.

- Clorofórmio P.A. ACS com pureza mínima de 99,8 % e estabilizado com amileno, fabricado pela Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), utilizado como solvente do fármaco nas reações de polimerização.

- Clorofórmio deuterado com pureza mínima de 99,8 %, fabricado pela Cambridge Isotope Laboratories Inc. (EUA).

- Etanol P.A. com 99,8 % de pureza mínima, fabricado pela Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), usado no preparo das soluções de leitura no espectrofotômetro UV-Vis.

- Dimetacrilato de etileno glicol (EGDMA) com pureza mínima de 98 %, fabricado pela Sigma-Aldrich (Missouri, EUA), usado como agente reticulante nas reações de polimerização.

- N,N-Dimetilformamida (DMF) com pureza mínima de 99 %, fabricado pela Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), usado nos testes de solubilização das micropartículas dos copolímeros.

- Fosfato de sódio dibásico P.A. anidro com pureza mínima de 99 %, fabricado 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 99 % e contendo 2 % de água, fabricado pela Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), usado para o preparo do tampão de pH 6,8 para os testes de liberação.

- Hidróxido de sódio (NaOH) lentilhas P.A. com pureza mínima de 99 % e contendo 3 % de água, fabricado pela Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), usado para ajustes de pH do tampão utilizado nos ensaios de liberação.

- Lauril sulfato de sódio (LSS) com pureza mínima de 99 % e contendo 10 % de água, fabricado pela Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), usado como tensoativo do meio preparado para os ensaios de liberação.

- Metacrilato de dietilaminoetila (DEAEMA) com pureza mínima de 99 % e contendo 1.500 ppm do inibidor hidroquinona monometil éter, fabricado 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, fabricado pela Sigma Aldrich (Missouri, EUA), utilizado como comonômero nas reações de polimerização.

- Metacrilato de metila (MMA) com pureza mínima de 99,5 %, fabricado pela Sigma Aldrich (Missouri, EUA), utilizado como monômero nas reações de polimerização.

- Padrões de poli(estireno) com massas molares na faixa de 5×10^3 a 1×10^6 Da com pureza mínima de 99 %, fabricado pela Viscotek (Worcestershire, Inglaterra).

- Peróxido de benzoíla (BPO) com pureza mínima de 99 % e contendo 25 % de umidade, fabricado pela Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), usado como iniciador nas reações de polimerização.

- Poli(álcool vinílico) (PVA) P.S. com pureza mínima de 98 %, grau de hidrólise de 88 % e massa molar ponderal média de $2{,}5\times10^4$ Da, fabricado pela Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), usado como agente estabilizante nas reações de polimerização.

- Praziquantel (PZQ) (mistura racêmica equimolar) (Lote 062018), fabricado por *Yixing City Xing Yu Medicine Chem.* e fornecido por Farmanguinhos

(Rio de Janeiro, Brasil), usado como fármaco a ser encapsulado nas reações de polimerização.

- Tetrahidrofurano (THF) com grau HPLC, fabricado pela Tedia (Ohio, USA), utilizado nas análises de GPC, como fase móvel e na solubilização das amostras.
- 1,2,4-Triclorobenzeno (TCB) com pureza mínima de 99 %, fabricado pela Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil), usado nos testes de solubilização das micropartículas dos copolímeros.

3.1.2 Equipamentos e acessórios

A seguir são listados os equipamentos e acessórios utilizados para conduzir as reações de polimerização e os ensaios de caracterização das micropartículas obtidas.

- Agitador eletromagnético (Bertel - Indústria Metalúrgica, São Paulo - Brasil) de peneiras para análises granulométricas.
- Analisador de tamanhos de partículas (Malvern Instruments, modelo Mastersizer 2000, Malvern - Reino Unido), usado para a determinação da distribuição de tamanhos de partículas por espalhamento dinâmico de luz;
- Analisador térmico (Perkin Elmer, modelo DSC 8500, Massachusetts - EUA), utilizado para avaliar a interação entre o princípio ativo e o polímero.
- Balança analítica com capacidade para pesar materiais de 100 mg até 210 g (BEL Equipamentos Analíticos Ltda., modelo U210A, São Paulo - Brasil), utilizada na pesagem de reagentes e produtos reacionais.
- Centrífuga (Thermo Scientific, modelo Megafuge 16R, Massachusetts - EUA), utilizada nas análises de eficiência de encapsulamento.
- Cromatógrafo de permeação em gel (Viscotek, modelo GPC Max VE 2001, 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 $1{,}5\times10^3$ e 5×10^3 Å, utilizado para determinação das massas molares dos polímeros.

- Cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) (JASCO, modelo LC-2000, Tóquio - Japão) equipado com injetor automático (JASCO AS-2059 Plus), detector UV-VIS (JASCO UV-2075) e uma bomba (JASCO PU-2087), utilizado para quantificação do fármaco liberado nos ensaios de liberação.

- Cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) (Perkin Elmer, modelo Flexar-LC, Massachusetts - EUA) equipado com detector UV-VIS (modelo Flexar-LC) e uma bomba (modelo Flexar-LC), utilizado para quantificação do fármaco liberado nos ensaios de liberação.

- Difratômetro de raios X (Rigaku, modelo Miniflex, Tóquio - Japão), utilizado para a análise da estrutura cristalina dos materiais.

- Dispositivo de ultrafiltração com membrana de celulose regenerada de 3 KDa (AMICON Ultra-15 3 K Millipore, Massachusetts - EUA), utilizado nas análises de eficiência de encapsulamento.

- Dissolutor de 8 cubas (LabIndia, modelo DS 8000, Thane - Índia) equipado com o aparato 2 (pá), para a realização dos ensaios de dissolução.

- Espectrofotômetro UV-VIS (Perkin-Elmer, modelo Lambda 35, Massachusetts - EUA), utilizado nas análises de eficiência de encapsulamento.

- Espectrômetro de ressonância magnética nuclear (Bruker, modelo AVIII-500, Massachusetts - EUA), utilizado para determinar as estruturas químicas dos produtos formados.

- Estufa de recirculação (Quimis, modelo Q317M-72, São Paulo - Brasil), usada para a secagem das amostras.

- Espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) (Thermo Scientific, modelo Nicolet 6700, Massachusetts - EUA), equipado com acessório *Smart Orbit* que permite análise direta do material sólido por reflectância difusa alternada, utilizado para análises de FTIR das amostras.

- Microscópio eletrônico de varredura (JEOL Milestones, modelo 6460LV, Tóquio - Japão), usado para as análises de morfologia das partículas.

- Minirreator de vidro com capacidade de 100 mL (EasyMax™102 - Mettler Toledo, Ohio - EUA) encamisado, equipado com termopar, agitador e condensador, utilizado para a realização das reações de polimerização.

- Papel de filtro qualitativo (Qualy, Brasil) com 12,5 cm de diâmetro, 205 μm de espessura e diâmetro de poro de 14 μm, usado para a filtração das amostras produzidas.

- Peneiras granulométricas (Bertel - Indústria Metalúrgica, São Paulo - Brasil) com diâmetros de poro de: 75, 106, 150, 212 e 300 μm.

- Medidor de pH de bancada (GEHAKA, modelo PG 1800, São Paulo - Brasil), para avaliação do pH da solução tampão.

- Placa de agitação com aquecimento (IKA, modelo C-MAG HS7, Staufen - Alemanha), utilizada para homogeneização das soluções.

- Placa de agitação (com 5 pontos) com aquecimento (IKA, modelo RT 5 Power, Staufen - Alemanha), usada nos ensaios de dissolução.

- Potenciômetro (Antoon Parr, modelo SurPass, Graz - Áustria), usado para as análises de potencial zeta das micropartículas.

- Reator de vidro borossilicato encamisado e com capacidade de 1 L (FGG Equipamentos Científicos, São Paulo - Brasil), combinado com uma tampa de aço inox com entrada para o agitador mecânico (IKA, modelo RW20 digital,

Staufen - Alemanha) com impelidor com seis pás dispostas verticalmente e para o condensador de refluxo do tipo serpentina.

- Reator de aço inoxidável de 12 L (Implantação, Rio de Janeiro - Brasil) provido de 3 chicanas retas a 120° uma da outra ao longo da circunferência do reator.
- Tensiômetro (Kruss Process, modelo K100, Hamburgo - Alemanha), para as medidas de ângulo de contato das micropartículas.

3.2 Métodos

O procedimento adotado para a obtenção das micropartículas foi a polimerização em suspensão, conforme metodologia descrita detalhadamente a seguir, sendo avaliado também o encapsulamento do PZQ. Ao longo do trabalho, a técnica de polimerização foi aplicada em reatores de volumes diferentes para o escalonamento do processo de formação das micropartículas.

3.2.1 Metodologia em escala de bancada - Reator 100 mL

Micropartículas de PMMA

O preparo das micropartículas poliméricas de PMMA, contendo (ou não) o fármaco, foi feito por intermédio da técnica de polimerização em suspensão, com o uso da unidade experimental apresentada na Figura 3.1. O procedimento experimental foi desenvolvido com base na metodologia descrita por OLIVEIRA *et al.* (2011) e OLIVEIRA *et al.* (2012a). A receita experimental empregada está apresentada na Tabela 3.1, em que a quantidade de PZQ usada foi de 30 % (m/m) em relação à carga de monômero.

Além disso, outra abordagem avaliada para melhorar o perfil de liberação do fármaco considerou o uso do solvente clorofórmio e do agente reticulante, a fim de formar poros nas micropartículas ou uma rede tridimensional, para melhorar a difusão do PZQ através das micropartículas. As reações de polimerização em

suspensão foram realizadas na presença de 10 % (m/m) de clorofórmio ($CHCl_3$) ou 1 % (m/m) de dimetacrilato de etileno glicol (EGDMA).

Tabela 3.1: Receita experimental das reações de polimerização em suspensão de MMA.

Reação	**Massa (g)**						
	PVA	**H_2O**	**BPO**	**MMA**	**PZQ**	**$CHCl_3$**	**EGDMA**
PMMA	0,24	60,0	0,54	20,0	-	-	-
PMMA/PZQ	0,24	60,0	0,54	20,0	6,0	-	-
PMMA-$CHCl_3$/PZQ	0,24	60,0	0,54	20,0	6,0	2,0	-
PMMA-EGDMA/PZQ	0,24	60,0	0,54	20,0	6,0	-	0,20

- Não utilizado na reação.

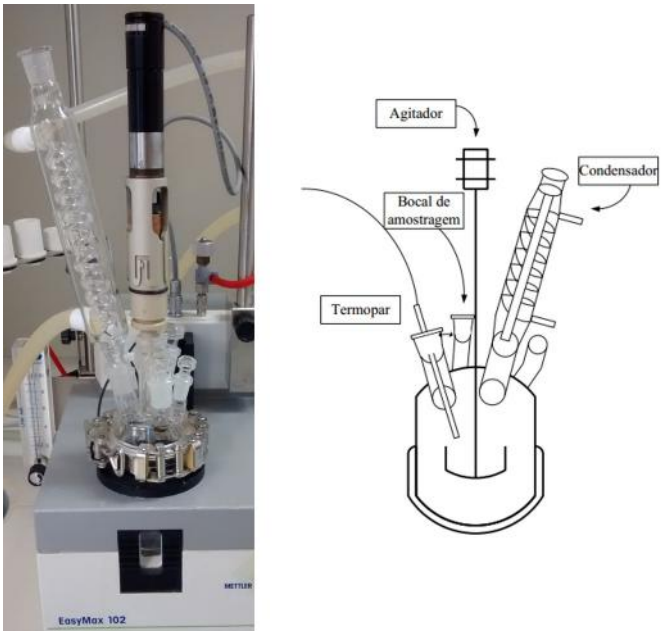


Figura 3.1: Unidade de polimerização (minirreator).

Primeiramente, a fase aquosa constituída pela solução de poli(álcool vinílico) em água com concentração de 0,4 % (m/m), usado como agente de suspensão, foi preparada previamente por conta da dificuldade de dissolução. A solução foi mantida sob agitação por, aproximadamente, 12 horas.

Após a montagem do mini-reator, a solução de PVA foi adicionada ao sistema, sendo aquecida até 80 °C e mantida sob agitação constante. Ao atingir a temperatura desejada, a fase orgânica (constituída pela solução de MMA, PZQ,

BPO e os aditivos) foi também vertida no mini-reator através do orifício na tampa. Para reduzir a perda de monômero do meio reacional, um condensador resfriado a 10 °C foi conectado ao reator. As reações de polimerização em suspensão foram conduzidas a 80 °C, sob agitação constante de 900 rpm e por um tempo de reação de 2 horas. Ao final, as micropartículas obtidas foram filtradas a vácuo, sendo exaustivamente lavadas com água destilada para, em seguida, serem secas na estufa de circulação a 30 °C.

Micropartículas inteligentes de P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA)

De modo a melhorar o perfil de liberação do fármaco, testou-se o desenvolvimento de micropartículas sensíveis ao pH. Para que haja liberação no meio estomacal, o uso de polímeros catiônicos são aconselhados como já discutido, sendo que o poli(metacrilato de dietilaminoetila) (PDEAEMA) e o poli(metacrilato de dimetilaminoetila) (PDMAEMA) são os polímeros sintéticos mais amplamente utilizados para esse fim.

Este estudo consistiu em realizar a copolimerização do MMA com DEAEMA ou DMAEMA, usando 5 a 40 % (m/m) dos comonômeros. A receita experimental empregada está apresentada na Tabela 3.2, em que a quantidade de PZQ encapsulada foi mantida em 30 % (m/m).

O procedimento experimental foi o mesmo utilizado no preparo das micropartículas de PMMA, descrito na seção anterior, sendo a fase orgânica constituída também pelos comonômeros. Essas reações de polimerização em suspensão também foram conduzidas na unidade experimental apresentada na Figura 3.1, a 80 °C, sob agitação de 900 rpm e por um tempo de reação de 2 horas.

Cabe ressaltar que o iniciador utilizado nessas reações foi o azobisisobutironitrila (AIBN), usualmente reportado para as polimerizações de comonômeros catiônicos.

Tabela 3.2: Receita experimental das reações de copolimerização em suspensão de MMA e comonômeros catiônicos.

Reação	**Massa(g)**					
	PVA	**H_2O**	**AIBN**	**MMA**	**DEAEMA ou DMAEMA**	**PZQ**
DE-05 ou DM-05	0,24	60,0	0,2	19,0	1,0	-
DE-10 ou DM-10	0,24	60,0	0,2	18,0	2,0	-
DE-20 ou DM-20	0,24	60,0	0,2	16,0	4,0	-
DE-30 ou DM-30	0,24	60,0	0,2	14,0	6,0	-
DE-40 ou DM-40	0,24	60,0	0,2	12,0	8,0	-
DE-05/PZQ ou DM-05/PZQ	0,24	60,0	0,2	19,0	1,0	6,0
DE-10/PZQ ou DM-10/PZQ	0,24	60,0	0,2	18,0	2,0	6,0
DE-20/PZQ ou DM-20/PZQ	0,24	60,0	0,2	16,0	4,0	6,0
DE-30/PZQ ou DM-30/PZQ	0,24	60,0	0,2	14,0	6,0	6,0
DE-40/PZQ ou DM-40/PZQ	0,24	60,0	0,2	12,0	8,0	6,0

Na literatura, encontram-se diversos trabalhos que reportam o uso do persulfato de potássio (SHARIFI-SANJANI *et al.*, 2000), persulfato de amônio (YU *et al.*, 1999), acetileto de paládio (PANG *et al.*, 2004) e AIBN (COTANDA *et al.*, 2013; ROOINTAN *et al.*, 2018; ROY *et al.*, 2012) como iniciadores; porém, não é mencionado o uso do BPO para essas reações de polimerização.

De fato, testes iniciais (que não estão apresentados neste documento) realizados usando BPO como iniciador (nas mesmas condições da síntese das micropartículas de PMMA puro) não promoveram a formação de micropartículas poliméricas, sendo caracterizados por conversões baixíssimas. Diante disso, optou-se por prosseguir as reações de copolimerização, na presença dos comonômeros catiônicos, usando AIBN como iniciador.

3.2.2 Metodologia em escala de bancada - Reator 1L

Diante dos resultados promissores que estão apresentados no Capítulo 5, optou-se por escalonar a produção das melhores micropartículas para o reator de 1 L e assim

melhorar a caracterização quanto ao ensaio de dissolução, que requer o uso de quantidades significantes de material, o que não era possível produzir quando se trabalha no minirreator.

Neste caso, as reações de copolimerização MMA com DEAEMA ou DMAEMA foram realizadas com 20 a 40 % (m/m) dos comonômeros. A Tabela 3.3 apresenta a receita experimental empregada para as reações realizadas no reator de 1 L (Figura 3.2), em que a quantidade de PZQ a ser encapsulada foi mantida em 30 % (m/m) em relação à carga monomérica.

O procedimento experimental utilizado foi o mesmo descrito anteriormente, que consistiu inicialmente na alimentação da solução de PVA ao reator, seguida pela adição da fase orgânica. As reações de polimerização foram executadas a 80 °C, sob agitação de 1000 rpm e por um tempo de reação de 2 horas.

Tabela 3.3: Receita experimental das reações de copolimerização em suspensão realizadas no reator de 1 L com MMA e comonômeros catiônicos.

Reação	**Massa (g)**					
	PVA	**H_2O**	**AIBN**	**MMA**	**DEAEMA ou DMAEMA**	**PZQ**
DE-20/PZQ-1L DM-20/PZQ-1L	1,8	450,0	1,5	120,0	30,0	45,0
DE-30/PZQ-1L DM-30/PZQ-1L	1,8	450,0	1,5	105,0	45,0	45,0
DE-40/PZQ-1L DM-40/PZQ-1L	1,8	450,0	1,5	90,0	60,0	45,0



Figura 3.2: Unidade de polimerização referente ao sistema do reator de 1 L.

3.2.3 Metodologia em escala piloto - Reator 12 L

De maneira similar, com base nos melhores resultados obtidos pelas micropartículas produzidas no reator de 1 L, foi feita a seleção para o escalonamento para a Planta Piloto do Laboratório de Engenharia de Polimerização (EngePol/PEQ/COPPE).

Para esta metodologia, as reações de copolimerização do MMA com DEAEMA ou DMAEMA foram realizadas com 30 % (m/m) dos comonômeros, estando a receita experimental descrita na Tabela 3.4. Para estas reações, a solução de PVA utilizada passou a ser de 0,9 % (m/m), para garantir a estabilidade do sistema.

As reações foram conduzidas no reator de 12 L, ilustrado na Figura 3.3, obtendo-se ao final em torno de 1,5 kg dos materiais poliméricos. Mais uma vez, o procedimento experimental empregado foi semelhante ao descrito nas seções

Tabela 3.4: Receita experimental das reações de copolimerização em suspensão realizadas no reator de 12 L com MMA e comonômeros catiônicos.

Reação	**Massa (g)**					
	PVA	**H_2O**	**AIBN**	**MMA**	**DEAEMA ou DMAEMA**	**PZQ**
DE-30/PZQ-Planta DM-30/PZQ-Planta	40,5	4.500,0	15,0	1.050,0	450,0	450,0

anteriores; porém neste caso, a solução de PVA foi aquecida a 70 °C, e somente depois da adição da fase orgânica o sistema era conduzido para 80 °C, sob agitação constante de 1.200 rpm.



Figura 3.3: Unidade de polimerização referente ao sistema do reator de 12 L, presente na Planta Piloto.

Cabe salientar que o objetivo perseguido foi o de aumentar a produção de partículas com menores tamanhos, de modo a obter maior eficiência de liberação de PZQ no final do processo. Por isso, ao longo do escalonamento, optou-se por sempre trabalhar nas máximas agitações permitidas por cada sistema.

3.3 Técnicas de caracterização do produto final

3.3.1 Conversão por gravimetria

As reações de polimerização em suspensão são conhecidas porque permitem a sedimentação rápida das partículas ao longo do tempo, de maneira que a coleta de amostras pode ser muito difícil, pois a agitação não pode ser interrompida. Dessa forma, a análise de conversão para essas reações apresenta oscilações, principalmente no final do processo de reação. Diante disso, de modo a caracterizar a influência dos comonômeros na cinética de polimerização das micropartículas copolimerizadas, o teste de conversão foi realizado em tubos de ensaio, por meio da técnica de polimerização em massa. Esse teste não deve ser subestimado, já que, na polimerização em suspensão, cada gota funciona como um pequeno reator em massa.

Para a análise de conversão, as reações foram conduzidas a 80 °C com auxílio de um banho de etileno glicol, sendo cada tubo de ensaio usado para um pré-determinado tempo de reação. A mistura reacional consistia do iniciador (AIBN) e dos monômeros (MMA, DEAEMA, DMAEMA), nas mesmas concentrações das reações de polimerização em suspensão. Após a solubilização do iniciador na carga monomérica, a cada tubo de ensaio foram adicionados aproximadamente 2g da mistura e colocados no banho de etileno glicol já na temperatura de reação.

Após decorrido o tempo de reação, a solução do inibidor (hidroquinona 1 % m/m) era adicionada a cada tubo de ensaio. As amostras foram transferidas para estufa com recirculação a 30 °C para secagem e posterior medida da massa de polímero formado. De modo geral, o cálculo da conversão consiste em relacionar o polímero seco obtido e a massa de monômero inicial na amostra.

3.3.2 Distribuição de tamanhos de partículas

A determinação das distribuições de tamanhos de partículas foi feita por meio da técnica de espalhamento de luz, utilizando um analisador de tamanhos de partículas

da marca Malvern Instruments, modelo Mastersizer 2000 (Malvern - Reino Unido). Esse equipamento mede as distribuições de tamanhos das partículas por medição da variação angular na intensidade da luz espalhada, à medida que um feixe de *laser* interage com as partículas dispersas da amostra. Sabe-se que partículas grandes dispersam a luz em ângulos relativamente pequenos em relação ao feixe de *laser*, enquanto que partículas pequenas dispersam a luz em ângulos maiores.

Para a análise, o equipamento utiliza uma fonte de *laser* neon de hélio, com faixa de detecção que vai de 0,1 a 1000 μm, sendo o comprimento de onda utilizado nas leituras igual a 632,8 nm. As micropartículas poliméricas eram dispersas em água destilada para serem colocadas no compartimento do equipamento, até que o nível de obscurescência atingisse 15 %. A presença de um sistema de agitação garantia a dispersão e a homogeneização das partículas no meio. As análises foram sempre realizadas em triplicata e o equipamento fornecia automaticamente a média dos três resultados obtidos.

3.3.3 Eficiência de encapsulamento

A determinação da quantidade de PZQ efetivamente encapsulada nas micropartículas poliméricas produzidas foi feita por meio da técnica de separação conhecida como ultrafiltração-centrifugação, que é bastante utilizada para caracterização de nanopartículas (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003). Nesta técnica, utiliza-se uma membrana de ultrafiltração para a separação da fração livre de fármaco na fase aquosa da suspensão com o auxílio da centrifugação. A concentração de fármaco livre é determinada no filtrado, sendo a concentração de fármaco encapsulada calculada pela diferença entre a fração livre e o total esperado. No presente trabalho, os filtrados foram analisados com auxílio do espectrofotômetro UV-VIS da marca Perkin-Elmer (modelo Lambda 35, Massachusetts - EUA).

Como a quantificação é feita do PZQ que migra para a fase aquosa, inicialmente, foi feita a curva de calibração do fármaco em água, a partir de uma solução mãe do ativo, que foi preparada e diluída a diversas concentrações. A solução mãe preparada

apresentava concentração de 0,02 g/L de PZQ em água, sendo feitas diluições para a obtenção de soluções nas concentrações de 0,015, 0,010, 0,005, 0,002 e 0,0005 g/L de PZQ em água. Todas as soluções da curva foram analisadas no espectrofotômetro na posição do pico máximo de absorção do ativo, determinado a partir da varredura no intervalo de 190 a 400 nm (λ_{PZQ} = 193 nm, vide Apêndice A).

Tendo em mãos a curva de calibração do PZQ, as análises de ultrafiltração-centrifugação foram realizadas com uma alíquota do sobrenadante recolhida diretamente após o final da reação de polimerização em suspensão, filtrada na membrana de celulose regenerada de 3 kDa (AMICON Ultra-15 3 K Millipore, Massachusetts - EUA) com o uso da por 15 minutos. Como discutido anteriormente, a partir da análise no espectrofotômetro UV-VIS do filtrado é possível obter a fração de PZQ que se encontra livre e, por consequência, determina-se a fração de PZQ de fato encapsulada.

3.3.4 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

A técnica de espectroscopia no infravermelho se baseia no princípio de que as ligações químicas de uma molécula vibram em frequências específicas, sendo portanto possível identificar os grupos funcionais presentes em uma determinada amostra (SILVERSTEIN *et al.*, 2006).

As análises de infravermelho foram realizadas na região do infravermelho médio (4.000 - 400 cm^{-1}) com resolução de 4 cm^{-1} no espectrômetro FTIR (Thermo Scientific, modelo Nicolet 6700, Massachusetts - EUA) equipado com detector DTGS KBr. Cada espectro foi registrado como resultado da média de 128 varreduras. As medidas foram feitas diretamente na fase sólida usando um dispositivo de ATR (reflectância difusa atenuada).

3.3.5 Análise termogravimétrica (TGA)

As análises termogravimétricas são importantes para determinar a temperatura em que se inicia o processo de degradação das amostras produzidas e do fármaco em

estudo. Dessa forma, deve-se evitar trabalhar nas proximidades dessas condições, de maneira a garantir a integridade destes materiais.

As análises de TGA das micropartículas poliméricas e do PZQ foram realizadas com amostras de 10 mg em um analisador térmico da marca Perkin Elmer (modelo STA-6000, Massachusetts - EUA), na faixa de 25 a 600 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min. As análises foram conduzidas em atmosfera inerte, com vazão de nitrogênio de 20 mL/min.

3.3.6 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A análise de DSC foi utilizada para verificar se ocorria interação entre o ativo e o polímero (MAINARDES *et al.*, 2006; SCHAFFAZICK *et al.*, 2003). O método termoanalítico mede o fluxo de calor gerado ao aquecer ou resfriar uma amostra, comparando-o com uma amostra de referência (material termicamente estável). A inexistência das transições térmicas características dos ativos indica a solubilização dos materiais na matriz polimérica.

As análises das micropartículas poliméricas e do PZQ foram realizadas no equipamento da marca Perkin-Elmer (modelo 8500, Massachusetts - EUA), sendo feita a pesagem de aproximadamente 5 mg da amostra em cadinhos de alumínio fechados. As amostras foram submetidas a uma faixa de aquecimento de 0 a 200 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min, sob atmosfera de nitrogênio a uma vazão de 30 mL/min. Vale ressaltar que foi utilizada a primeira varredura térmica, por conta da possível degradação dos ativos e da destruição de domínios cristalinos.

Além disso, as análises de DSC também permitiram a visualização da temperatura de transição vítrea (Tg) dos copolímeros produzidos, permitindo assim avaliar a copolimerização. Para esta análise, foi utilizada a segunda varredura de aquecimento, a fim de apagar o histórico térmico das amostras, e melhorando assim a determinação da Tg.

3.3.7 Difratometria de Raios X (DRX)

A estrutura cristalina dos polímeros produzidos foi avaliada através de análises de difração de raios X (DRX) (Rigaku, modelo Miniflex, Tóquio - Japão) com radiação CuKα. Esta técnica permite identificar a estrutura cristalina dos materiais por meio do espalhamento dos raios X pelas estruturas organizadas.

Os difratogramas foram adquiridos com variação do ângulo de Bragg (2θ) de 2° a 90°, com passos de 0,05° e tempo de contagem de 2 s por passo.

3.3.8 Cromatografia de permeação em gel (GPC)

A técnica de GPC, também conhecida como cromatografia por exclusão de tamanho (SEC), foi utilizada para determinar as massas molares médias dos polímeros obtidos. Nesta análise, o polímero é solubilizado em um solvente adequado, para então ser injetado em uma coluna de gel poroso. A porosidade do recheio permite a separação das moléculas de diferentes tamanhos de cadeia. As moléculas maiores, como não penetram nos poros da coluna, são eluídas primeiro. Em contrapartida, as moléculas menores precisam que um volume maior de solvente percorra a coluna para que sejam eluídos, já que penetram nos poros.

As análises das micropartículas poliméricas foram realizadas em um cromatógrafo de permeação em gel da marca Viscotek (modelo GPC Max VE 2001, Worcestershire - Inglaterra), equipados com um detector refratométrico da marca Viscotek (modelo VE 3580) e um conjunto de colunas lineares da marca Shodex (modelos KF-48 804L e KF-805L), com tamanhos máximos de poro de $1{,}5\times10^3$ e 5×10^3 Å. O equipamento foi calibrado com padrões de poli(estireno) com massas molares na faixa de 5×10^3 a 1×10^6 Da.

Para a realização da análise, foram solubilizados 3 mg da amostra em 3 mL do solvente tetrahidrofurano (THF). As análises foram realizadas a 40 °C, usando como fase móvel o solvente THF, mantido a uma vazão constante de 1,0 mL/min.

3.3.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A análise de MEV foi utilizada para visualização das superfícies das micropartículas poliméricas obtidas. Para a realização das análises, as amostras foram metalizadas com ouro. As análises foram realizadas no microscópio eletrônico de varredura da marca JEOL Milestones (modelo 6460LV, Tóquio - Japão), equipado com filamento de tungstênio e resolução de 10 nm, operando com tensão máxima de 30 kV. O metalizador utilizado foi da marca Emitech (Kent - Inglaterra) modelo K550, usando uma taxa de deposição de 50 nm/min e tamanho de partícula de 5 nm.

3.3.10 Análise de viscosidade

Com o intuito de avaliar a influência do fármaco na cinética das reações de polimerização, análises de viscosidade do MMA puro e da solução de MMA contendo 30 % (m/m) de PZQ (condição reacional) foram realizadas no reômetro TA Instruments (modelo AR-G2, New Castle, EUA). As análises foram conduzidas usando a geometria cilindro coaxial com taxa de cisalhamento de 300 s^{-1} por 5 minutos a 80 °C.

De modo a caracterizar a influência do EGDMA na evolução da viscosidade do sistema, as análises de viscosidades do MMA puro e da solução de MMA com 1 % (m/m) de EGDMA na presença de BPO (mesmas condições das reações de polimerização em suspensão) foram realizadas no viscosímetro (Ofite, modelo 900, Texas, EUA) com geometria cilindro coaxial a 80 °C e 100 rpm.

3.3.11 Ressonância magnética nuclear (H-RMN)

A análise de espectrometria de ressonância magnética nuclear é uma das técnicas mais importantes para caracterização de polímeros, permitindo a determinação da estrutura química do material. Esta técnica se baseia na análise da frequência de ressonância quando os núcleos atômicos (^{1}H e/ou ^{13}C) absorvem a radiação

eletromagnética como resposta a uma variação do campo magnético externo (BOVEY e MIRAU, 1996; PAVIA *et al.*, 2001).

A análise de RMN foi utilizada para avaliar a inserção dos comonômeros DEAEMA e DMAEMA durante as reações de copolimerização. A análise de RMN de hidrogênio foi realizada no equipamento da Bruker (modelo AVIII-500, Massachusetts - EUA), com frequência de 500.1 MHz e sonda de 5 mm. As amostras dos copolímeros e do PMMA puro foram solubilizadas em clorofórmio deuterado ($CDCl_3$).

3.3.12 Potencial zeta

A análise do potencial zeta permite inferir informações sobre a carga efetiva na superfície das micropartículas poliméricas. No caso das partículas inteligentes, esta análise possibilita avaliar a influência do pH sobre as micropartículas, analisando a diferença de potencial zeta e confirmando assim a protonação do grupo amina.

O potencial zeta das micropartículas em diferentes pHs foi avaliada por um potenciômetro (Anton Paar, modelo SurPASS, Graz - Áustria). As medidas de potencial zeta foram realizadas de pH 3 a 10, utilizando soluções de HCl 0,1 M e NaOH 0,1 M para ajuste de pH.

3.3.13 Ângulo de contato

A fim de avaliar se os copolímeros produzidos apresentavam maior hidrofilicidade em meio ácido, por consequência da protonação dos grupos amina, medidas de ângulo de contato foram realizadas em solução HCl 0,1 M.

Dessa forma, para determinar o grau de hidrofilicidade, as medidas de ângulo de contato foram realizadas com o auxílio de um tensiômetro (Kruss Process, modelo K100, Hamburgo - Alemanha) usando o método da placa de Wilhelmy, que permite a análise dos materiais prensados na forma de pastilhas. Para a realização da análise, as medidas das pastilhas devem ser fornecidas previamente ao software. Durante a análise, as pastilhas são colocadas na balança do equipamento com o auxílio de uma

pequena garra (acessório do equipamento), e então são imersas no meio de análise.

3.3.14 Tensão interfacial

De modo a avaliar a interação dos comonômeros com a fase aquosa (PVA em água) das reações de polimerização em suspensão, as análises de tensão interfacial foram realizadas entre as fases orgânicas e a fase aquosa. As análises foram conduzidas usando as mesmas proporções entre MMA e os comonômeros (DEAEMA e DMAEMA) das reações em suspensão, ou seja, com 5, 10, 20, 30 e 40 % dos comonômeros. As análises de tensão interfacial foram realizadas com o tensiômetro da Kruss Process (modelo K100, Hamburgo - Alemanha) pelo método da placa de Wilhelmy, à temperatura ambiente.

3.3.15 Ensaios de dissolução

Os ensaios de dissolução desempenham um papel essencial para o desenvolvimento e caracterização das novas formulações de liberação controlada, e por isso merecem grande destaque. Esses ensaios se caracterizam por serem uma técnica rápida e barata para avaliar a eficiência de liberação das formulações antes dos testes clínicos (DA SILVA *et al.*, 2016).

Duas metodologias foram aqui adotadas: ensaios preliminares em menor escala e os ensaios no dissolutor (equipamento indicado para ensaios de dissolução) (DA SILVA *et al.*, 2016). Em ambos os casos, os ensaios foram realizados com o objetivo de simular o comportamento das micropartículas poliméricas produzidas no meio intestinal e no meio gástrico e, assim, obter o perfil de liberação do fármaco para cada amostra. O ensaio de dissolução foi baseado na metodologia descrita por FONSECA *et al.* (2013b) e na Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2010).

De modo a avaliar a influência dos tamanhos das partículas sobre os perfis de liberação do praziquantel, as amostras poliméricas foram separadas por faixas de tamanho, com o auxílio de um conjunto de peneiras (diâmetros de poro de 75, 106, 150, 212 e 300 μm) em um agitador eletromagnético. Para os ensaios de liberação,

optou-se por trabalhar nas 2 faixas de diâmetros (d) mais distantes:

(i) d < 75 μm;

(ii) 212 μm $<$ d $<$ 300 μm.

Em menor escala, os ensaios foram conduzidos em béqueres de 50 mL, sendo usado um volume de 25 mL da solução receptora (tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 6,8 e em solução de HCl 0,1 M pH 1.2, ambas com 2 % (m/m) de lauril sulfato de sódio (LSS)) na temperatura de 37 °C e sob agitação constante de 100 rpm por um período de 3 horas. Nos ensaios, foi utilizada uma quantidade de micropartículas correspondente a 0,67 g/L de PZQ (condição similar ao ensaio de dissolução do comprimido de PZQ, de acordo com a Farmacopeia Brasileira). Os ensaios em menor escala foram realizados para as micropartículas obtidas em escala de bancada (reator 100 mL).

Para aumentar a solubilidade de fármacos insolúveis ou pouco solúveis em água, é amplamente recomendado o uso de tensoativos (PARK e CHOI, 2006; SHAH *et al.*, 1995), sendo esta alternativa aprovada pela FDA (*Food and Drug Administration* - Administração de Comidas e Remédios), órgão que determina critérios para a utilização de fármacos comercialmente nos EUA (NOORY *et al.*, 2002). O uso de tensoativos sintéticos, como o LSS, é frequentemente citado nos ensaios de dissolução descritos na Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2010).

Ao longo do ensaio, alíquotas de 3 mL foram coletadas (com reposição da solução tampão) nos tempos de 5, 10, 15, 30, 60, 120 e 180 minutos. Essas alíquotas foram filtradas com filtros de seringa de PTFE (poli(tetrafluoretileno)) de 0,45 μm, sendo analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC), no cromatógrafo da JASCO (Tóquio - Japão) equipado com injetor automático (JASCO AS-2059 Plus), detector UV-VIS (JASCO UV-2075) e uma bomba (JASCO PU-2087). As condições da análise foram:

- 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/H_2O 60/40, em base volumétrica;
- detector UV em 210 nm;
- vazão de 1,0 mL/min;
- volume de injeção de 7 μL;
- temperatura de análise de 30 °C.

Previamente, a curva de calibração do PZQ também foi construída para a determinação de fármaco presente nas alíquotas. A quantidade de PZQ acumulada no meio em cada tempo foi calculada, considerando o volume total de solução, a concentração de PZQ no tempo t e a quantidade de fármaco retirada nas coletas das amostras anteriores, sendo determinada na forma:

$$C_{real} = \frac{C_t V_{total} + V_a C_{a,t-1}}{V_{total}} \tag{3.1}$$

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 à concentração de PZQ acumulada no tempo $t-1$).

Para as micropartículas produzidas em maior escala (reator 1 L e reator 12 L), os ensaios de dissolução passaram a ser conduzidos no dissolutor de 8 cubas de 1 litro (LabIndia, modelo DS8000, Thane - Índia) com o aparato 2 (pá), que demanda maior quantidade de amostra para os ensaios. Nesses casos, os ensaios de dissolução foram executados com 900 mL da solução receptora a 37 °C, sob agitação constante de 50 rpm por um período de 3 horas. Para estes ensaios, as soluções receptoras (tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 6,8 e em solução de HCl 0,1 M pH 1,2) foram preparadas com 0,25 % (m/m) de LSS e a quantidade de micropartículas correspondia a 0,18 g/L de PZQ.

Nos mesmos tempos anteriormente citados, alíquotas de 5 mL foram coletadas (sem reposição da solução tampão), filtradas com filtros de seringa de 0,45 μm e posteriormente analisadas por HPLC, no cromatógrafo da Perkin-Elmer (modelo Flexar-LC, Massachusetts - EUA) equipado com detector UV-VIS (modelo Flexar-LC) e uma bomba (modelo Flexar-LC), usando a coluna C18 com dimensões de 8 mm x 25 cm x 10 da marca Kromasil. As condições das análises, assim como o cálculo da quantidade de PZQ liberado, foram similares ao reportado anteriormente.

Capítulo 4

Resultados e Discussão - Produção de Partículas de PMMA

Neste capítulo, são apresentados os resultados referentes à produção de micropartículas de PMMA para a incorporação de PZQ, assim como os resultados das análises de caracterização dos materiais obtidos. Avaliou-se, também, a influência da presença do solvente clorofórmio e do agente reticulante EGDMA sobre os perfis de dissolução do praziquantel. As reações de polimerização para a síntese de partículas de PMMA foram conduzidas segundo o procedimento experimental descrito no Capítulo 3.

No que diz respeito ao uso do clorofórmio, a inclusão de solvente pode alterar a morfologia das partículas, permitindo a obtenção de estruturas porosas (MACHADO *et al.*, 2007). Portanto, os poros eventualmente formados podem facilitar a difusão de PZQ encapsulado na matriz polimérica, promovendo uma liberação mais eficiente do fármaco. O diluente escolhido, clorofórmio, não é indicado em aplicações farmacêuticas, sendo utilizado neste trabalho apenas como modelo.

Em relação à utilização do EGDMA nas reações de polimerização, acredita-se que este material promova a reticulação do polímero, resultando na redução da mobilidade das cadeias poliméricas (MIN *et al.*, 2014). Contudo, apesar de promover a formação de uma estrutura mais rígida, é comumente relatado na literatura a vantagem na utilização de cadeias reticuladas para o controle mais efetivo da

liberação do fármaco (SUN e LEE, 2014). Isso se deve, principalmente, ao fato das cadeias poliméricas reticuladas inibirem o acúmulo inicial de fármaco no meio de dissolução, promovendo, por sua vez, a inibição da recristalização rápida do fármaco dissolvido (SUN *et al.*, 2012). Nesse quesito, vale ressaltar que a forma amorfa de um fármaco se dissolve mais rapidamente que sua forma cristalina, permitindo alcançar maiores concentrações no meio.

A Tabela 4.1 resume as micropartículas sintetizadas e analisadas nesta parte do trabalho.

Tabela 4.1: Relação das micropartículas à base de PMMA preparadas e analisadas na Fase I do trabalho.

Reação	**Considerações**
PMMA	PMMA puro
PMMA/PZQ	PMMA com 30 % de PZQ
PMMA-$CHCl_3$/PZQ	PMMA com 30 % de PZQ e 10 % de clorofórmio
PMMA-EGDMA/PZQ	PMMA com 30 % de PZQ e 1 % de EGDMA

4.1 Avaliação dos tamanhos de partículas

As análises de distribuição de tamanhos das micropartículas foram obtidas com o auxílio da técnica de espalhamento de luz. A Figura 4.1 e a Tabela 4.2 apresentam as distribuições de tamanho e os diâmetros médios das micropartículas produzidas, respectivamente.

Como observado, todas as amostras apresentaram tamanho micrométrico, como esperado para polímeros produzidos por meio de polimerizações em suspensão (KIPARISSIDES, 1996). Observa-se que a inserção de 30 % de PZQ na micropartícula de PMMA promoveu o aumento de tamanho da partícula final, que pode ser explicado pelo aumento da viscosidade da fase orgânica ($1{,}2\times10^{-3}$ Pa.s para MMA puro e $1{,}9\times10^{-3}$ Pa.s para solução de MMA contendo 30 % (m/m)

de PZQ), o que afeta as taxas de quebra e coalescência das gotas de monômero e das partículas do polímero formado. Esse comportamento também foi reportado por OLIVEIRA *et al.* (2012b) ao encapsular o fármaco doxorrubicina em micropartículas do copolímero poli(acetato de vinila-co-metacrilato de metila) na polimerização em suspensão. Portanto, o ajuste dos tamanhos das partículas carregadas com PZQ pode requerer mudanças nas condições de agitação do meio. Resultados similares também foram reportados por MAINARDES e EVANGELISTA (2005).

Como observado na Figura 4.1, a adição de clorofórmio não provoca qualquer alteração significativa nas distribuições de tamanhos, indicando que a viscosidade inicial do meio controla as distribuições de tamanho final das micropartículas. Por sua vez, a reação na presença de 1 % do agente reticulante mostrou o comportamento oposto, levando à redução do tamanho médio das micropartículas, não tendo a formação do 'ombro' deslocado para tamanhos maiores, quando o PZQ é encapsulado. Este efeito está possivelmente relacionado ao rápido aumento da viscosidade das gotas na presença do EGDMA (como mostrado na Figura 4.2), que reduz o tempo de coalescência e, consequentemente, o crescimento das micropartículas.

Tabela 4.2: Tamanhos médios das micropartículas produzidas.

Reação	**Tamanho Médio** (μm)	$\mathbf{d_{10}}$ (μm)	$\mathbf{d_{50}}$ (μm)	$\mathbf{d_{90}}$ (μm)	**Span***
PMMA	126,13	74,63	112,46	169,40	0,843
PMMA/PZQ	230,09	71,18	145,26	477,73	2,799
PMMA-$CHCl_3$/PZQ	253,13	83,06	172,80	490,42	2,357
PMMA-EGDMA/PZQ	145,74	64,30	109,04	199,48	1,240

*Span = $(d_{90} - d_{10})/d_{50}$

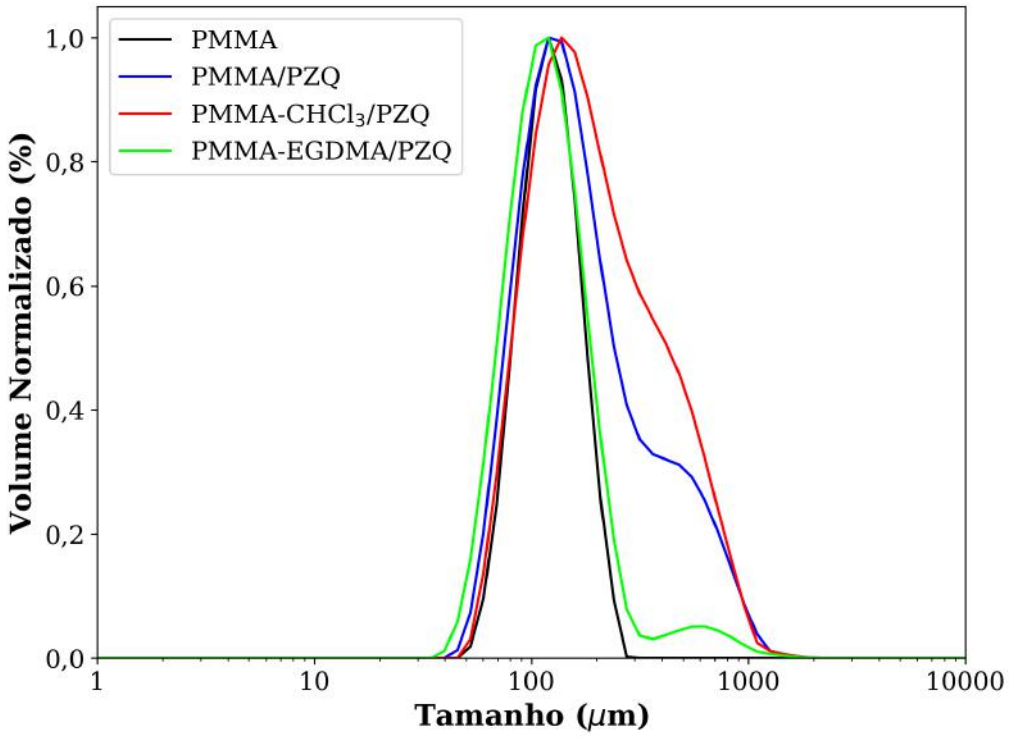


Figura 4.1: Distribuição de tamanhos de partículas para as amostras produzidas via polimerização em suspensão.

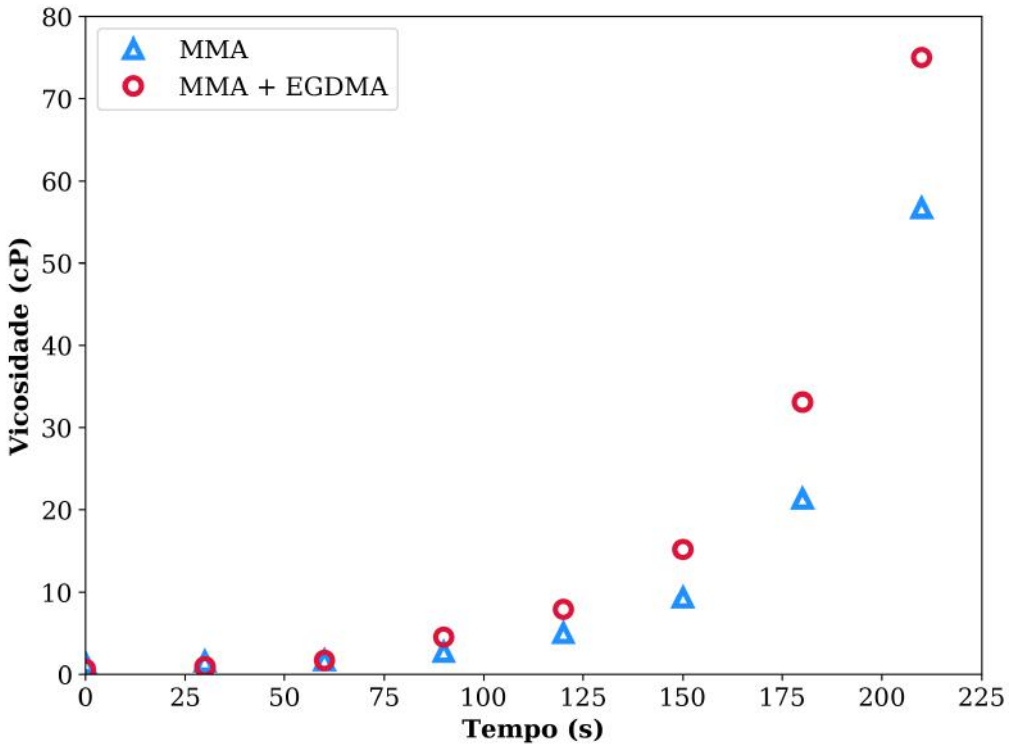


Figura 4.2: Evolução temporal das viscosidades de soluções de MMA e de MMA com 1 % (m/m) de EGDMA, na presença de BPO (nas mesmas condições das reações de polimerização em suspensão).

4.2 Eficiência de encapsulamento

O cálculo do teor de praziquantel efetivamente incorporado nas micropartículas foi realizado a partir da técnica de ultrafiltração-centrifugação, com o auxílio do espectrofotômetro UV-VIS. Como relatado anteriormente, uma curva de calibração deve ser previamente construída para permitir o cálculo das eficiências de encapsulamento. Como mostrado na Figura 4.3, a curva de calibração é essencialmente linear, tendo coeficiente de correlação elevado, garantindo assim a credibilidade do cálculo.

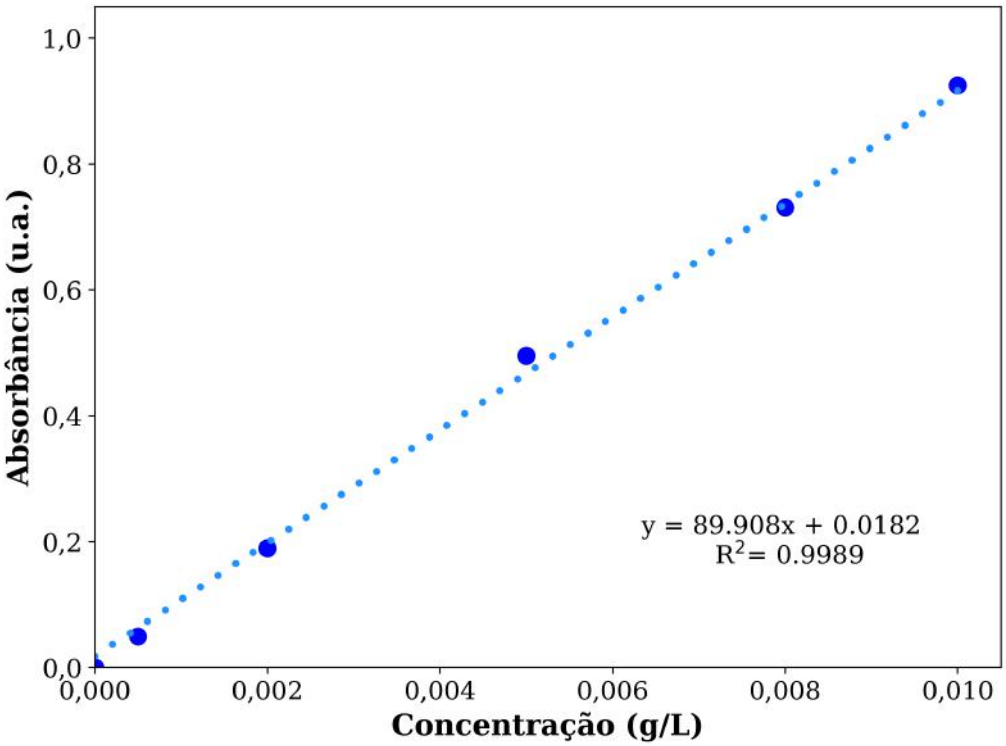


Figura 4.3: Curva de calibração do fármaco praziquantel, usando água como solvente.

Os resultados obtidos de eficiência de encapsulamento são mostrados na Tabela 4.3. Os resultados indicam uma elevada eficiência de encapsulamento em todos os casos, o que já era esperado, por conta da baixíssima solubilidade do PZQ em água (0,4 g/L), que evita assim a migração do fármaco para a fase aquosa. Para ratificar que a medição da absorbância estava relacionada apenas ao fármaco, não sendo influenciada por interposição de outro componente, a análise também foi

realizada para o polímero puro. No entanto, não foi detectada qualquer absorbância significativa no comprimento de onda utilizado para a análise.

Tabela 4.3: Eficiência de encapsulamento do PZQ nas micropartículas poliméricas.

Reação	**Eficiência de Encapsulamento (%)**
PMMA/PZQ	98,61
PMMA-$CHCl_3$/PZQ	98,66
PMMA-EGDMA/PZQ	98,49

4.3 Distribuição de massas molares

As análises de Cromatografia de Permeação em Gel (GPC) foram realizadas de modo a obter informações sobre as propriedades do polímero final, assim como informações importantes sobre o mecanismo de reação. Na Figura 4.4, são apresentadas as distribuições de massas molares das micropartículas de PMMA, contendo ou não o fármaco praziquantel.

Os resultados obtidos mostram que as micropartículas PMMA-PZQ exibiram uma distribuição de massas molares menos larga e deslocada para massas molares menores, em comparação às micropartículas de PMMA puro. Dessa forma, os resultados parecem indicar que o fármaco pode estar afetando o comportamento cinético da reação, como também foi reportado por FONSECA *et al.* (2013b), ao encapsular o praziquantel em nanopartículas via polimerização em miniemulsão. OLIVEIRA *et al.* (2012a) observaram que a incorporação de fármacos nas reações de polimerização pode provocar mudanças nas distribuições de massas molares dos produtos finais, o que pode estar relacionado com a presença dos grupos funcionais presentes nesses ativos. Os autores indicam que, dependendo da estrutura molecular, o fármaco pode atuar como um agente de transferência de cadeia, um inibidor ou um agente retardante da reação de polimerização.

A transferência de cadeia para PZQ pode ser resultado da abstração de átomos de hidrogênio ácidos ligados a átomos de carbono que estão ligados a átomos de

oxigênio (como em polimerizações do acetato de vinila) ou a átomos de nitrogênio. Ou ainda, pode ser devido a reações mais complexas de abertura de anel. Entende-se que esses mecanismos de reação são bastante complexos, e por isso, deve ser melhor estudado em trabalhos futuros.

Além disso, a adição de altas quantidades de compostos inertes no meio reacional reduz a concentração de monômeros e a importância do efeito gel, levando a materiais poliméricos de menor massa molar média. É importante enfatizar, contudo, que, ainda assim, a massa molar obtida para o polímero final é suficientemente alta ($> 10^4$) para permitir o uso seguro e adequado do material produzido.

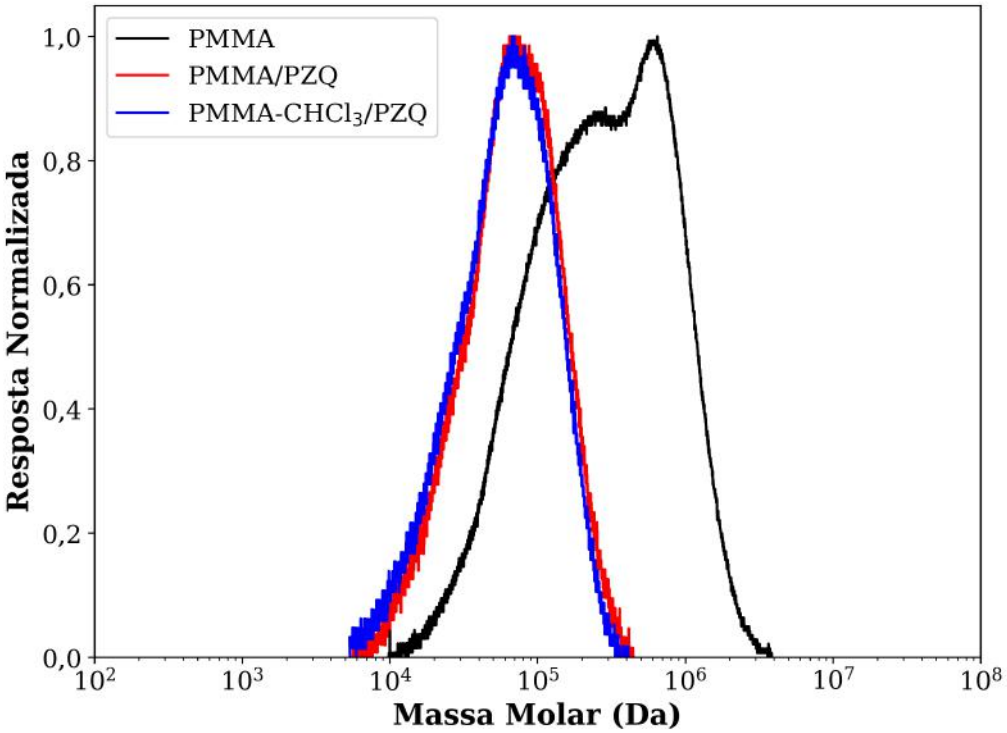


Figura 4.4: Distribuições de massas molares das micropartículas de PMMA produzidas com e sem praziquantel e com clorofórmio.

Em relação aos aditivos, é possível observar que a inserção de clorofórmio no meio reacional não afetou significativamente a distribuição de massas molares em relação às micropartículas PMMA-PZQ, o que provavelmente indica que os efeitos cinéticos (como a transferência de cadeia para PZQ) induzidos pela presença de PZQ controlam a evolução das distribuições de massa molar dos polímeros. Por outro lado, a influência do EGDMA não pôde ser avaliada, pois a presença do mesmo no

meio reacional promoveu a reticulação do produto final, tornando-o insolúvel em THF e, consequentemente, impossibilitando a realização da análise de GPC.

A Tabela 4.4 relaciona as massas molares médias numérica e ponderal (Mn e Mw, respectivamente) das micropartículas produzidas de PMMA, contendo ou não praziquantel, assim como seus respectivos índices de polidispersão (IP). Pode-se notar que as amostras contendo o fármaco exibiram redução expressiva de Mw em relação às micropartículas de PMMA puro. No que diz respeito à massa molar numérica média (Mn), observa-se também uma redução, mas não tão significativa quanto observado com a massa molar ponderal média (Mw). Esses dados corroboram as observações feitas em relação às distribuições de massas molares.

Como descrito por OLIVEIRA *et al.* (2013), o tamanho médio das cadeias dos polímeros provenientes das reações de polimerização via radicais livres diminui com o tempo de reação, principalmente devido ao decaimento da concentração de monômero no meio reacional. Por conseguinte, essas reações caracterizam-se pela formação de cadeias bastante heterogêneas, acarretando em elevados índices de polidispersão. Como observado na Tabela 4.4, as micropartículas de PMMA confirmam essa característica, tendo resultado em altos índices de polidispersão (IP $>$ 3,0). Por outro lado, os índices de polidispersão das micropartículas contendo praziquantel apresentaram valores menores, o que está relacionado com as distribuições de massa molares mais estreitas e ao provável efeito de transferência de cadeia exercido pelo fármaco.

Tabela 4.4: Massas molares médias e índices de polidispersão das micropartículas de PMMA produzidas com e sem praziquantel e com clorofórmio.

Reação	**Mn (Da)**	**Mw (Da)**	**IP (Mw/Mn)**
PMMA	$1{,}16\times10^5$	$3{,}62\times10^5$	3,105
PMMA/PZQ	$4{,}21\times10^4$	$7{,}72\times10^4$	1,836
PMMA-$CHCl_3$/PZQ	$3{,}96\times10^4$	$7{,}16\times10^4$	1,811

4.4 Análises térmicas

As propriedades térmicas das micropartículas obtidas foram caracterizadas por TGA e por DSC. As análises termogravimétricas foram realizadas de modo a caracterizar os materiais produzidos quanto à estabilidade térmica. O termograma obtido para o praziquantel (Figura 4.5) aponta a máxima degradação térmica do fármaco em temperaturas próximas a 370 °C. Desta forma, a análise termogravimétrica confirma que a incorporação *in situ* deste fármaco nas reações de polimerização, a 90 °C, não compromete a estabilidade do PZQ.

Os termogramas apresentados na Figura 4.6 indicam a temperatura de máxima degradação térmica do PMMA puro em torno de 350 °C, sendo seu perfil de degradação definido em 3 etapas, estando de acordo com a literatura (FERRIOL *et al.*, 2003). Como relatado por KASHIWAGI *et al.* (1986), a primeira etapa de perda de massa (em torno de 160 °C) pode ser atribuída à cisão das ligações H-H, resultantes das reações de terminação por combinação; a segunda etapa (próximo a 270 °C) refere-se à degradação das ligações insaturadas nas extremidades das cadeias, formadas pelas reações de terminação por desproporcionamento; e, por fim, a terceira etapa de perda de massa (por volta de 350 °C) seria iniciada pelas cisões aleatórias dentro da cadeia polimérica.

Ademais, os termogramas apontam que as micropartículas de PMMA contendo praziquantel apresentaram temperaturas de máxima degradação próximas de 400 °C, indicando que a inserção do fármaco no meio reacional promoveu o aumento da estabilidade térmica dos polímeros finais.

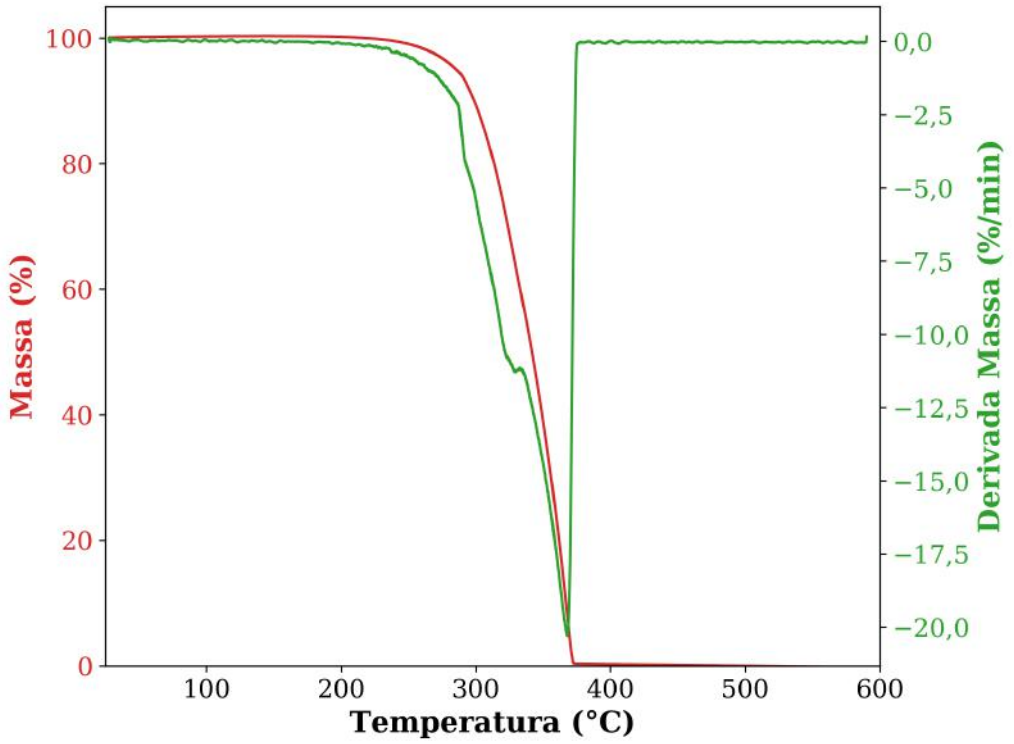


Figura 4.5: Análise termogravimétrica do praziquantel.

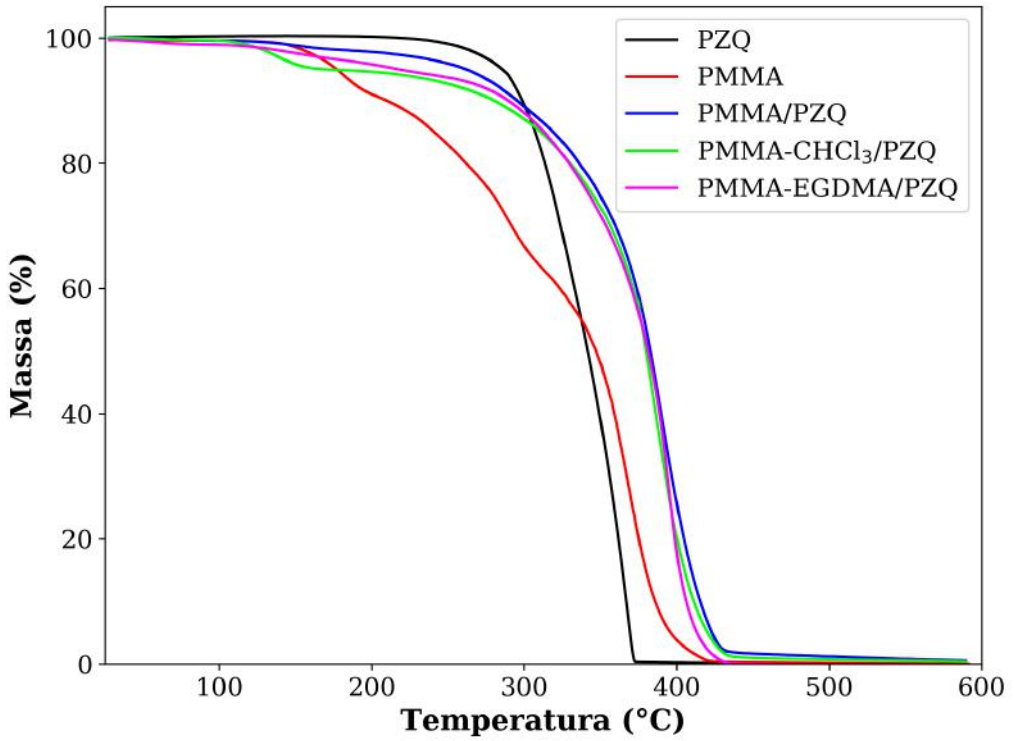


Figura 4.6: Análise termogravimétrica das micropartículas de PMMA produzidas com e sem praziquantel, com clorofórmio e com EGDMA.

As análises de DSC permitem caracterizar os materiais produzidos quanto à

temperatura de transição vítrea, assim como obter informações quanto à interação entre o fármaco encapsulado e o polímero, permitindo avaliar a qualidade do encapsulamento. Como indicado na Figura 4.7, o fármaco praziquantel apresenta um pico endotérmico em torno de 140 °C, que condiz com seu ponto de fusão, estando próximo ao reportado pela literatura (ANVISA, 2010). A mistura física (MF) de PMMA com PZQ foi estudada para fins de comparação, sendo possível observar o pico característico de fusão do PZQ na mistura, confirmando a existência dos cristais de PZQ na forma de uma fase segregada. A menor intensidade do pico de fusão se dá pela presença de PMMA na mistura, que se comporta como um diluente para o fármaco.

Ao comparar os termogramas das micropartículas de PMMA e do fármaco, observa-se que as micropartículas não apresentaram a transição endotérmica característica da fusão do praziquantel, sugerindo que o fármaco não formou uma fase cristalina distinta e que estava dissolvido na matriz polimérica. Interpretações similares foram descritas por LORCA (2012), FONSECA *et al.* (2013b) e MAINARDES *et al.* (2006).

Ressalta-se que essas análises de DSC foram conduzidas apenas com a primeira história térmica e, por isso, não obteve informações sobre a temperatura de transição vítrea do PMMA. De fato, tal dado nesse momento não agregaria nenhuma informação relevante e por isso não foi reportado neste capítulo.

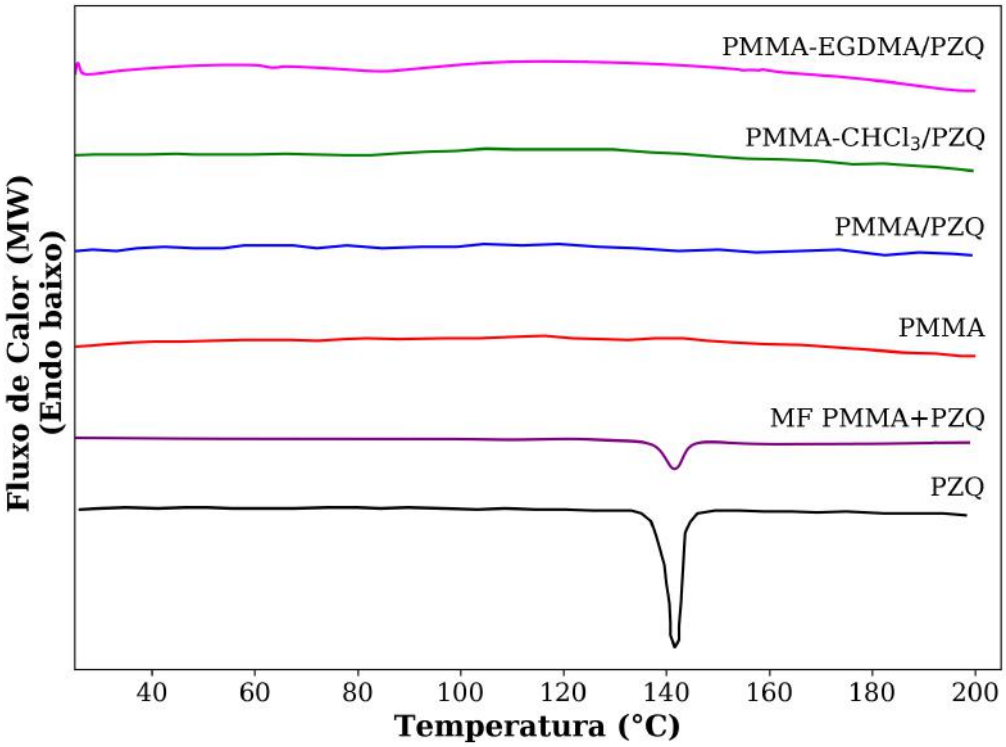


Figura 4.7: Termogramas de DSC do praziquantel puro, da mistura física (PMMA e PZQ) e das micropartículas de PMMA produzidas com e sem praziquantel, com clorofórmio e com EGDMA.

4.5 Difratometria de raios X (DRX)

Com o intuito de analisar a estrutura cristalina dos materiais poliméricos produzidos, foi feita a análise de difração de raios X. Conforme observado na Figura 4.8, o praziquantel apresenta um perfil cristalino, apresentando picos agudos característicos do fármaco entre $2\theta = 10°$ a $2\theta = 30°$, estando de acordo com os dados reportados na literatura (LIU *et al.*, 2004; PASSERINI *et al.*, 2006). Tal perfil é observado também para a mistura física de PMMA com PZQ, confirmando a presença do PZQ na sua forma cristalina na superfície do material polimérico. A menor intensidade dos picos pode ser justificada pelo efeito diluente do PMMA nesse sistema.

Por outro lado, a Figura 4.8 aponta que os polímeros produzidos (contendo ou não PZQ) apresentam picos largos em $2\theta = 15{,}5°$, $2\theta = 30{,}7°$ e $2\theta = 42{,}9°$, não sendo observado os picos característicos do PZQ. Dessa forma, os resultados sugerem

que o PZQ estava disperso na forma amorfa nos materiais poliméricos produzidos, confirmando os resultados obtidos por DSC. De maneira análoga, MOHAMED *et al.* (2017) utilizaram a mesma abordagem para avaliar a interação entre o fármaco clindamicina e filmes de alginato e filmes de quitosana.

Os resultados obtidos são bastante promissores, visto que a solubilidade de um fármaco em seu estado amorfo é de 100 a 1.000 vezes maior do que quando presente na forma cristalina, aumentando sua absorção e, consequentemente, sua resposta farmacológica (KHADKA *et al.*, 2014; LEUNER e DRESSMAN, 2000). Esse comportamento ocorre pela maior mobilidade molecular, como resultado da ausência de uma estrutura cristalina tridimensional.

Ressalta-se que o perfil amorfo do PMMA, caracterizado pelos picos largos próximos a 13,5°, 30,5° e 42°, já é bem relatado na literatura, como descrito por MATHEW *et al.* (2015) e FATTOUM *et al.* (2008).

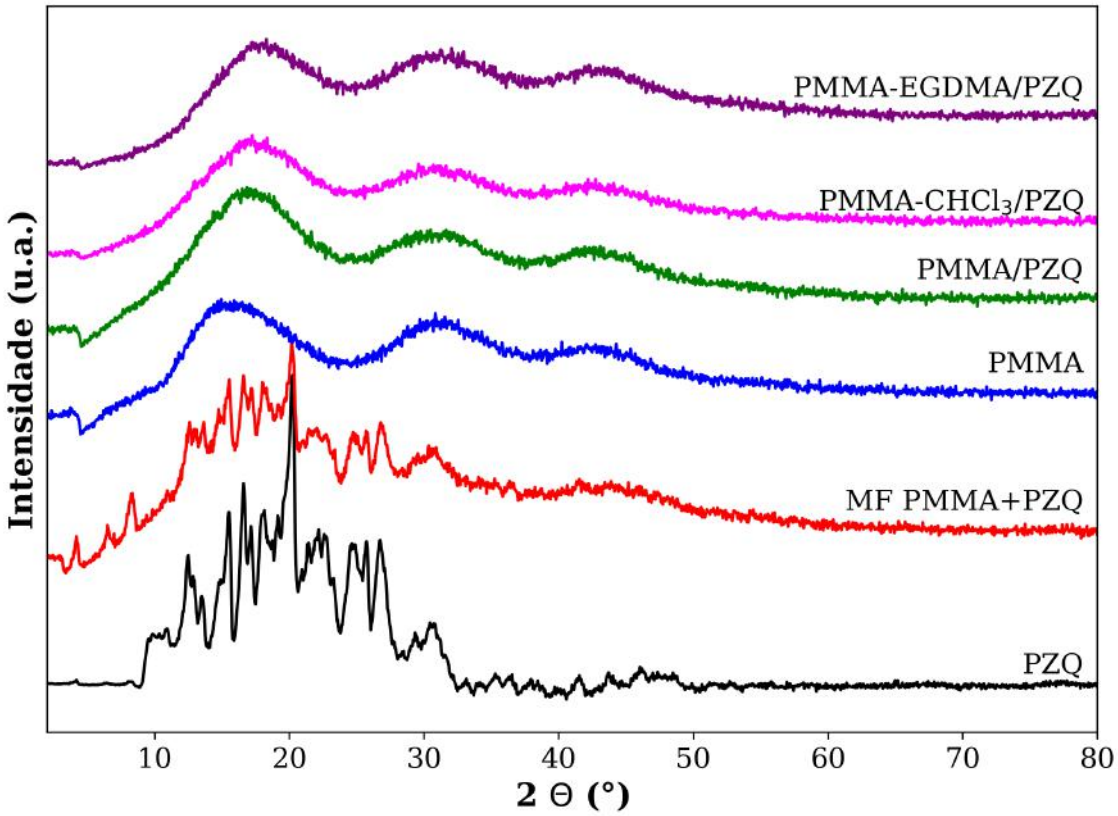


Figura 4.8: Difratogramas de DRX do praziquantel puro, da mistura física (PMMA e PZQ) e das micropartículas de PMMA produzidas com e sem praziquantel, com clorofórmio e com EGDMA.

4.6 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

De modo a avaliar os grupos funcionais presentes na superfície das partículas, foram realizadas as análises de FTIR das amostras produzidas. Os espectros de FTIR são apresentados na Figura 4.9, sendo também apresentado o espectro do fármaco praziquantel para fins de comparação.

O espectro de FTIR da amostra do praziquantel mostra as principais bandas características dos grupos funcionais presentes em sua molécula, tais como: (i) em 1.640 cm^{-1}, característica do grupo carbonilo (C=O) na amida terciária; (ii) entre 2.900 e 3.000 cm^{-1}, referente às ligações -CH; e (iii) entre 1.000 e 1.350 cm^{-1}, característica da ligação C-N (PAVIA *et al.*, 2001). O espectro da micropartícula de PMMA puro exibe uma banda mais acentuada em 1.720 cm^{-1}, que pode ser atribuído ao grupo carbonilo (C=O) do éster e uma banda próxima a 1.140 cm^{-1}, referente às ligações C-O presentes no éster. Além disso, as bandas observadas na região entre 2.900 e 3.000 cm^{-1} referem-se à deformação angular das ligações -CH. De modo geral, todas as micropartículas apresentaram as bandas características do PMMA em seus espectros (PAVIA *et al.*, 2001).

Ressalta-se, ainda, que, nas micropartículas contendo praziquantel foi possível observar uma banda próxima a 1640 cm^{-1}, região característica do grupo carbonilo do PZQ, como relatado anteriormente. Dessa forma, esses espectros sugerem a presença de praziquantel, não só dissolvido na matriz polimérica, como foi concluído pelas análises de DSC, mas também presente nas camadas superficiais das micropartículas. Além disso, os espectros não apontam a ausência de bandas novas, sugerindo que o fármaco não interagiu com a matriz polimérica.

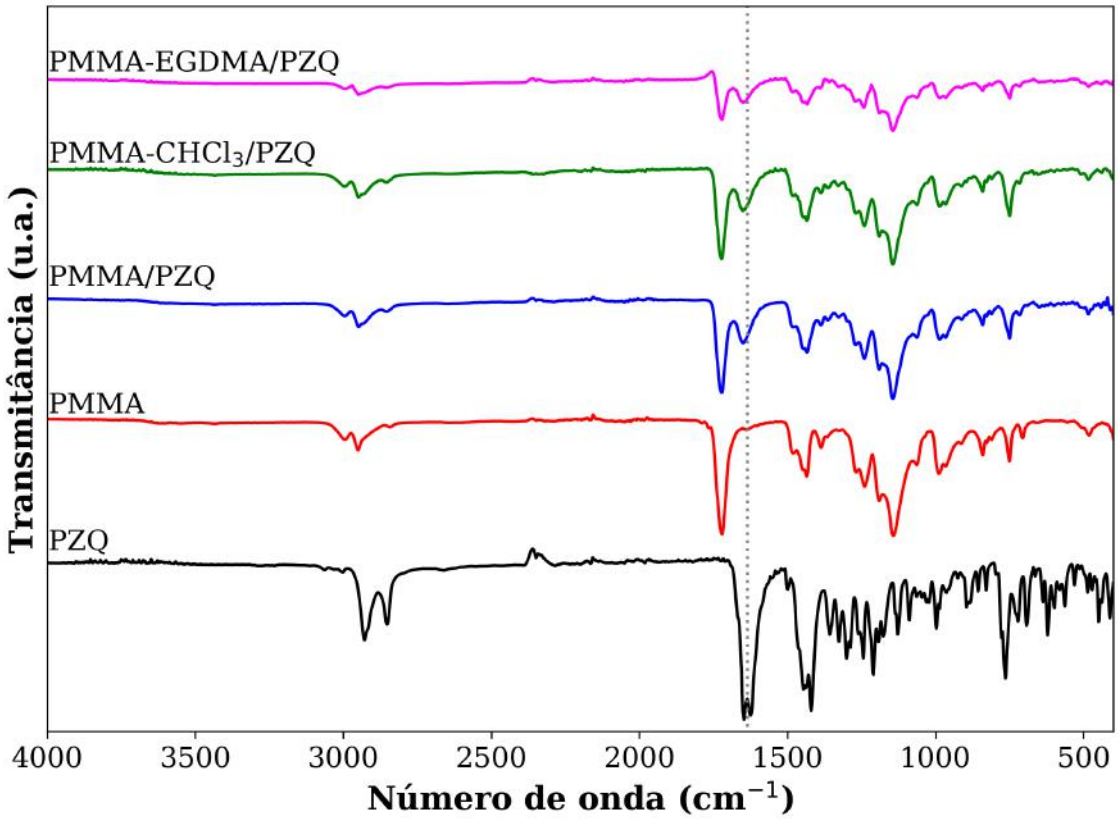


Figura 4.9: Espectro de FTIR do praziquantel puro e das micropartículas de PMMA produzidas com e sem praziquantel, com clorofórmio e com EGDMA.

4.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As micropartículas obtidas foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura para caracterização morfológica e confirmação dos tamanhos das partículas na escala micrométrica. As imagens obtidas pela técnica de MEV (Figura 4.10) confirmam a formação de partículas esféricas com superfícies lisas. Ressalta-se que mesmo as micropartículas que foram produzidas em presença do solvente clorofórmio apresentaram superfícies lisas, sem presença de poros, contrariando o objetivo inicial do uso do solvente, indicando que o uso de 10% de clorofórmio não foi suficiente para alterar de forma significativa a morfologia das partículas.

De maneira similar, o uso do agente reticulante também não promoveu mudança significativa na morfologia das micropartículas. De fato, análises de BET confirmaram que a porosidade das micropartículas estava abaixo dos limites de detecção da técnica (em torno de 5 m^2/g), indicando que as quantidades de

clorofórmio e EGDMA não foram suficientes para induzir a formação de matrizes poliméricas porosas. Contudo, análise mais detalhada (por exemplo a criofratura) é necessária para caracterizar a mudança de estrutura nanoporosa da partícula.

Uma possível explicação para a presença dos furos esparsos na Figura 4.10-d pode ser a liberação de monômero residual presente nas micropartículas ao final da reação. No entanto, é de conhecimento as altas conversões finais obtidas por este sistema polimérico, sendo mais razoável supor que os defeitos da estrutura estejam relacionados com a rede polimérica formada na presença do agente reticulante.

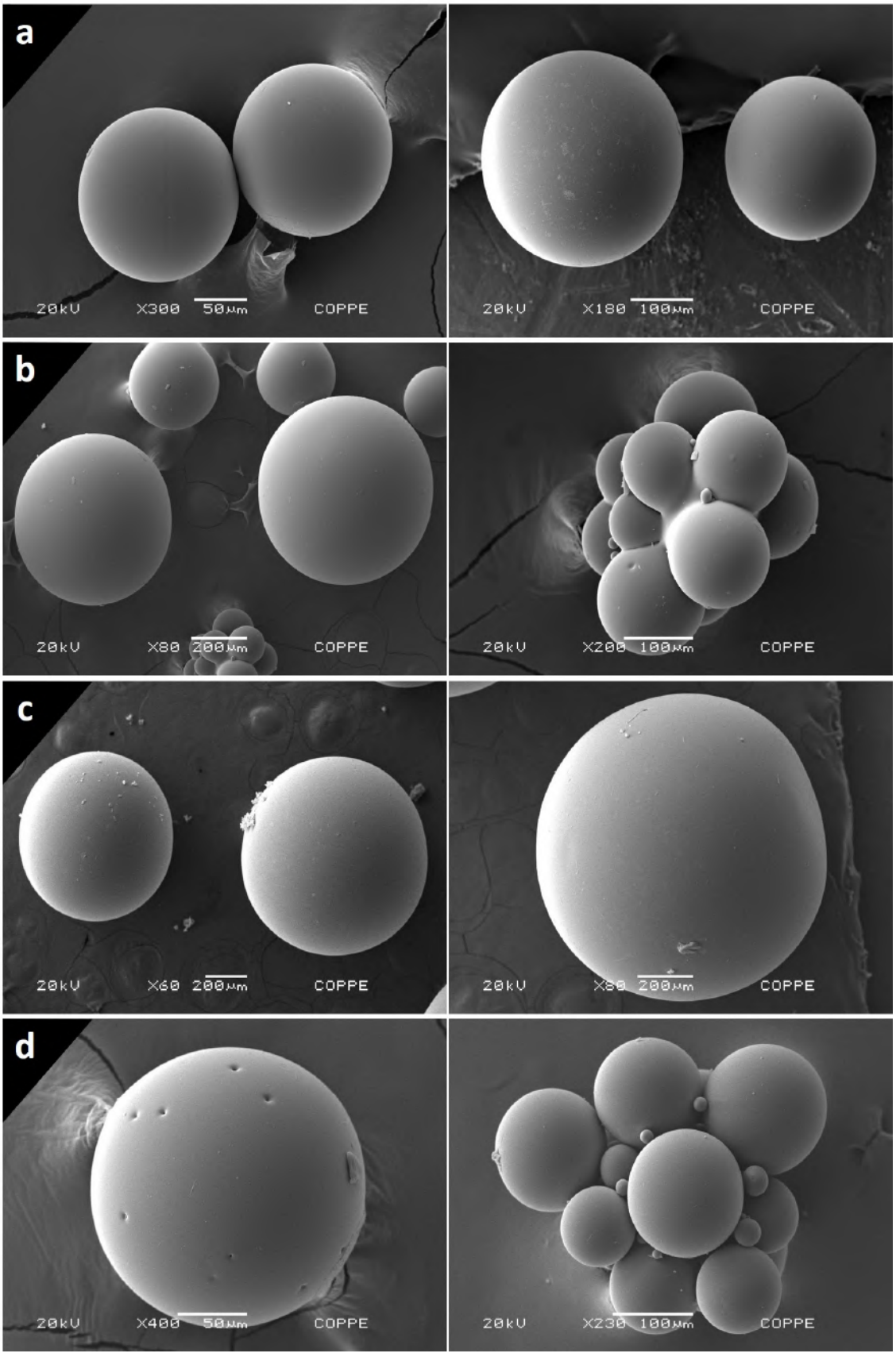


Figura 4.10: Micrografias das micropartículas: (a) PMMA puro; (b) PMMA/PZQ; (c) PMMA-$CHCl_3$/PZQ e (d) PMMA-EGDMA/PZQ.

4.8 Ensaios de dissolução

Os ensaios de dissolução foram realizados em solução tampão pH 6,8, simulando o pH do meio intestinal. Com o intuito de avaliar a influência da distribuição de tamanhos de partículas na eficiência de liberação do fármaco, os ensaios foram feitos para cada faixa de tamanhos previamente selecionada, como descrito na Seção 3.3.15.

Conforme apresentado na Figura 4.11, a quantidade de PZQ liberado pela micropartícula de PMMA foi muito baixa, alcançando apenas valores próximos a 5 % no início do ensaio e permanecendo quase constante até o final. Esses resultados sugerem que houve a liberação somente do fármaco que poderia estar adsorvido na superfície. Observa-se, ainda, que os diferentes tamanhos de micropartículas não afetaram de forma muito significativa a eficiência de liberação, na faixa de tamanhos estudada.

Comportamentos similares foram obtidos para as micropartículas de PMMA com os aditivos utilizados (Figuras 4.12 e 4.13), mostrando que a presença dos aditivos não foi suficiente para resultar em um efeito relevante no perfil de liberação do praziquantel. Tais resultados confirmam a natureza não-porosa das micropartículas poliméricas, indicando que o processo de liberação seja controlado pela difusão do PZQ através da matriz polimérica.

Em contrapartida, os resultados obtidos por FONSECA *et al.* (2013b), no estudo de liberação do PZQ através de nanopartículas poliméricas, mostraram uma liberação próxima a 85 % nesse mesmo tempo. Dessa forma, os resultados indicam que as partículas no tamanho micrométrico apresentam uma resistência difusional muito significativa, impedindo quase completamente a liberação do fármaco, em comparação com as partículas nanométricas. Portanto, esses resultados mostram que as distribuições de tamanho podem ser importantes, como esperado em sistemas controlados pela difusão.

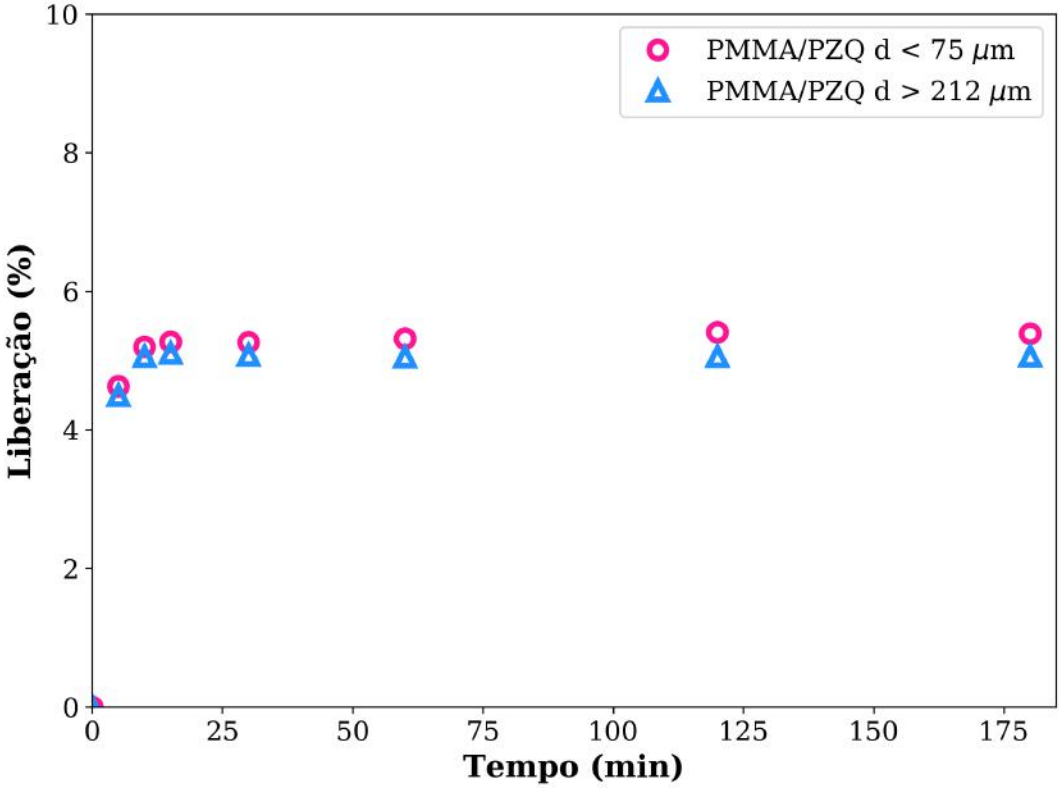


Figura 4.11: Perfis de liberação do PZQ das micropartículas PMMA-PZQ, para as diferentes faixas de tamanhos de partícula.

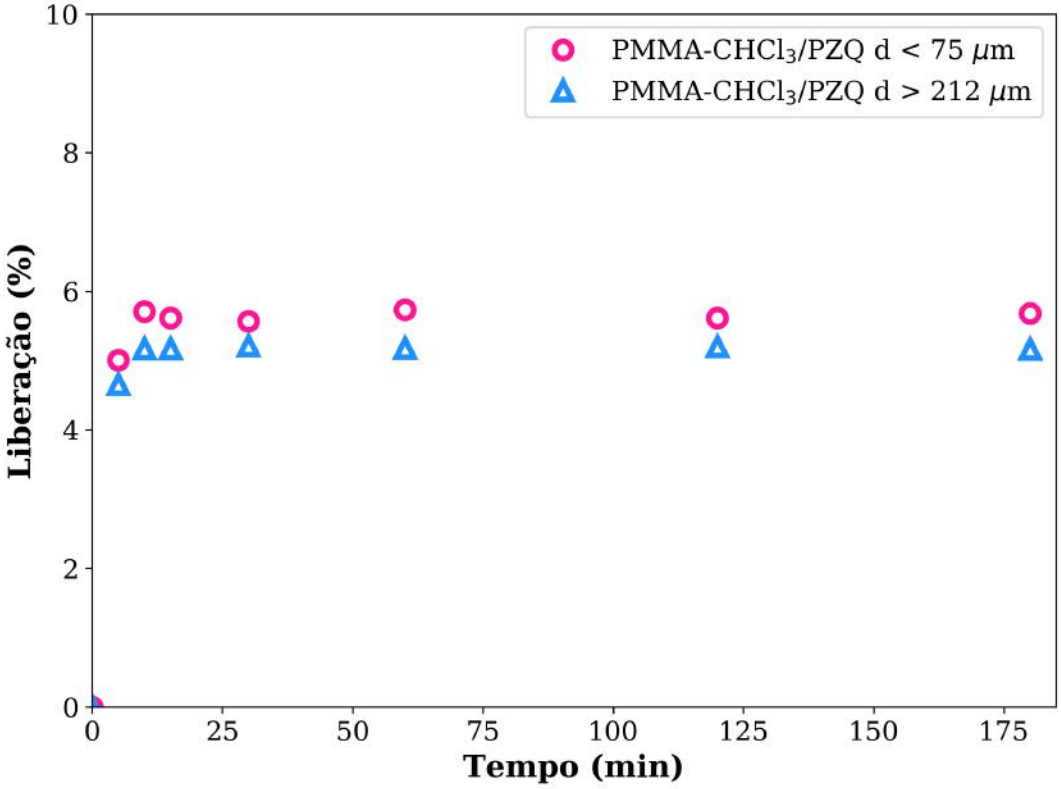


Figura 4.12: Perfis de liberação do PZQ das micropartículas PMMA-PZQ com clorofórmio, para as diferentes faixas de tamanhos de partícula.

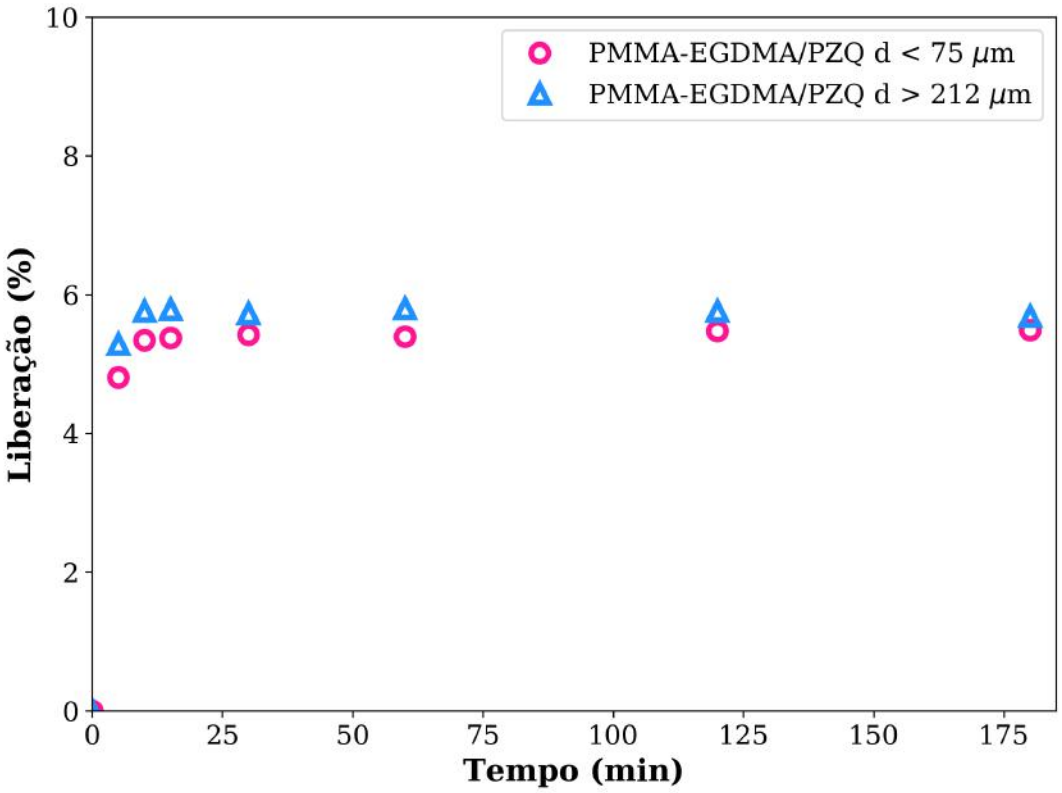


Figura 4.13: Perfis de liberação do PZQ das micropartículas PMMA-PZQ com EGDMA, para as diferentes faixas de tamanhos de partícula.

4.9 Considerações preliminares

Os resultados apresentados até este momento mostram que é possível obter partículas na faixa micrométrica a partir de uma técnica relativamente simples, em relação às outras técnicas de polimerização existentes. No que diz respeito ao encapsulamento do praziquantel, os resultados indicaram uma elevada incorporação do fármaco, porém existindo indícios da presença do fármaco na superfície das amostras.

De modo geral, os resultados mostram que, apesar das micropartículas de PMMA terem sido eficientes para encapsular o praziquantel, essas amostras apresentaram baixíssimas taxas de liberação do fármaco, mesmo nas partículas com menores diâmetros. Além disso, a presença dos aditivos não promoveu mudança significativa alguma nos perfis de liberação, indicando que o processo difusivo na matriz

polimérica controla as taxas de liberação. Em resumo, em caráter preliminar, pode-se dizer que o uso de partículas na faixa micrométrica pode resultar em grande resistência para a liberação do fármaco.

Diante dessa situação, optou-se por avaliar a eficiência dos chamados polímeros inteligentes para a liberação do PZQ. O cenário da aplicação mostra-se promissor para este grupo de polímeros, visto que o trato gastrointestinal (meio de liberação do PZQ) apresenta diferentes faixas de pH.

Capítulo 5

Resultados e Discussão - Produção de Partículas Inteligentes

O presente capítulo aborda o estudo realizado para a produção de micropartículas inteligentes à base de copolímeros de MMA com DEAEMA e MMA com DMAEMA. Ambos os comonôneros avaliados são catiônicos e sensíveis ao pH, sendo usualmente reportados na literatura para a síntese de hidrogéis (CHEN *et al.*, 2017; LI *et al.*, 2019; PIKABEA *et al.*, 2018). Neste estudo, foi avaliada a influência do teor dos comonômeros sobre as diferentes propriedades do material polimérico produzido, em especial sobre a eficiência de liberação do PZQ. Acredita-se que a inserção de um segundo monômero pode fornecer características adicionais e/ou melhorar as propriedades do polímero final, tais como temperatura de transição vítrea, polaridade e solubilidade, por exemplo (MACHADO *et al.*, 2007).

As reações de copolimerização em suspensão foram conduzidas de acordo com o procedimento experimental descrito no Capítulo 3. É importante ressaltar que poucos trabalhos relatam a produção de tais copolímeros por meio de reações de polimerização convencionais via radicais livre (CAMAIL *et al.*, 1995; HU *et al.*, 2014; RUSEN *et al.*, 2008; SOLJIC *et al.*, 2009; ZHENG *et al.*, 2015). No entanto, não foram encontrados trabalhos que reportassem a síntese de micropartículas inteligentes por meio da técnica de polimerização em suspensão, confirmando a originalidade do presente trabalho. De modo geral, a literatura faz uso das técnicas

de polimerização radicalar controlada (RADZEVICIUS *et al.*, 2017; YANG *et al.*, 2017; YUAN *et al.*, 2015; ZHOU *et al.*, 2018), que se caracterizam pela formação de materiais poliméricos com arquiteturas moleculares bem definidas e massas molares bem controladas em solução (POURJAVADI *et al.*, 2019).

A Tabela 5.1 resume as micropartículas sintetizadas nesta segunda parte do trabalho.

Tabela 5.1: Relação das micropartículas de P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) sintetizadas na Fase II do trabalho.

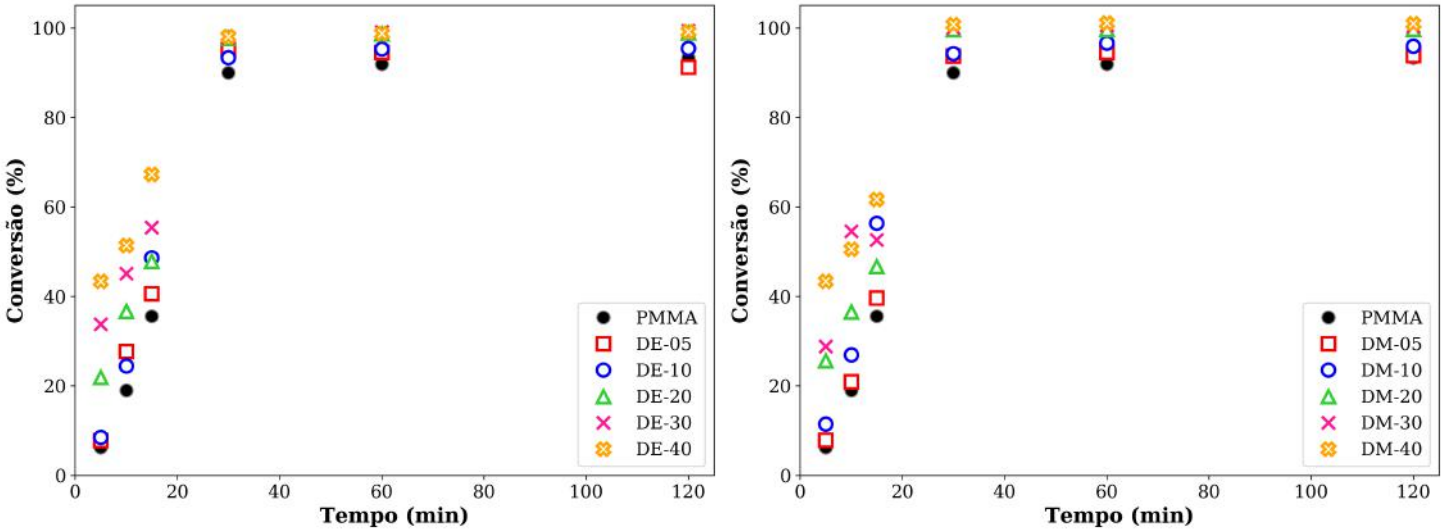
Reação	**Considerações**
DE-05 ou DM-05	5 % de comonômero (DEAEMA ou DMAEMA)
DE-10 ou DM-10	10 % de comonômero (DEAEMA ou DMAEMA)
DE-20 ou DM-20	20 % de comonômero (DEAEMA ou DMAEMA)
DE-30 ou DM-30	30 % de comonômero (DEAEMA ou DMAEMA)
DE-40 ou DM-40	40 % de comonômero (DEAEMA ou DMAEMA)
DE-05/PZQ ou DM-05/PZQ	5 % de comonômero com 30 % de PZQ
DE-10/PZQ ou DM-10/PZQ	10 % de comonômero com 30 % de PZQ
DE-20/PZQ ou DM-20/PZQ	20 % de comonômero com 30 % de PZQ
DE-30/PZQ ou DM-30/PZQ	30 % de comonômero com 30 % de PZQ
DE-40/PZQ ou DM-40/PZQ	40 % de comonômero com 30 % de PZQ

DE: Copolímeros P(MMA-co-DEAEMA)
DM: Copolímeros P(MMA-co-DMAEMA)

5.1 Conversão das polimerizações em massa

De modo a acompanhar a evolução cinética das reações de copolimerização, foi feita a análise de conversão ao longo do tempo. Como explicado anteriormente, as análises de conversão para as reações de polimerização em suspensão apresentam algumas dificuldades intrínsecas, já que as partículas podem decantar, tornando difícil o processo de coleta de amostragem. Dessa forma, para avaliar a influência dos comonômeros sobre a cinética da reação, foram realizadas reações de copolimerização em massa, como já discutido.

A Figura 5.1 apresenta as curvas de conversão obtidas para o PMMA puro e para os copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA). Como observado, as curvas de conversão são bastante similares, com ambos os sistemas atingindo conversões máximas após 1 hora de reação. Tal resultado mostra que tanto o DEAEMA quanto o DMAEMA não apresentam efeito inibitório sobre a reação de polimerização e podem ser incorporados no polímero de forma eficiente. De fato, os perfis de conversão mostram que os copolímeros apresentam cinéticas de reação mais rápidas do que aquela da formação do PMMA. É importante ressaltar que esses dados não estão disponíveis na literatura consultada.



(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

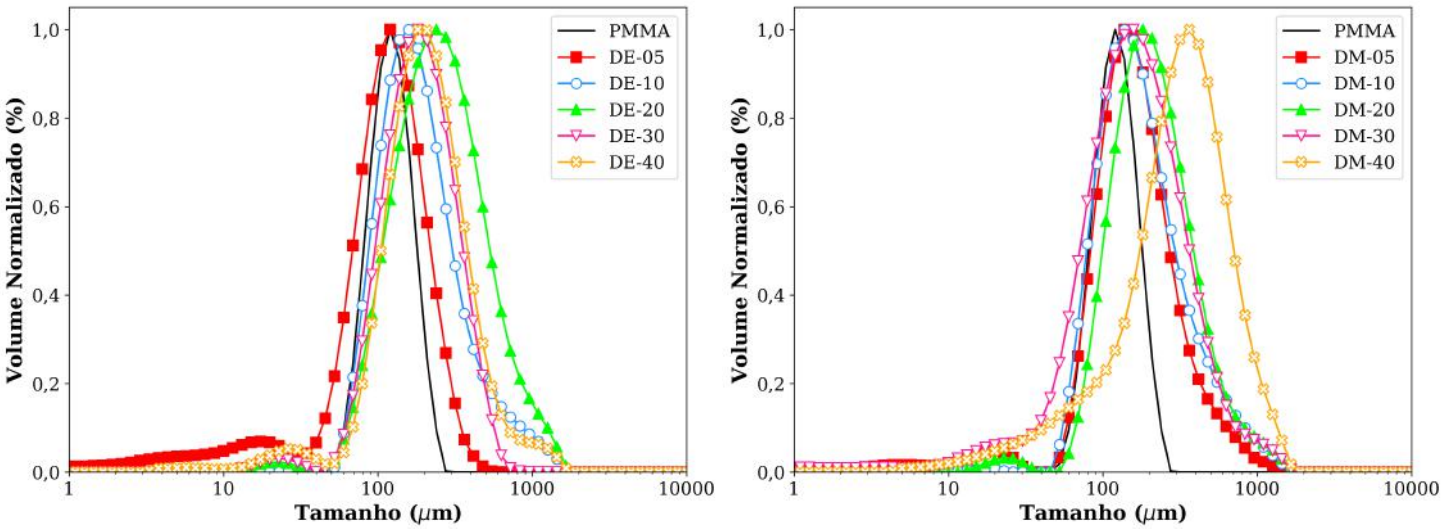
Figura 5.1: Conversões das reações de polimerização em massa do PMMA e dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos na Fase II do trabalho.

5.2 Avaliação dos tamanhos de partícula

Com auxílio da técnica de espalhamento de luz foram obtidas as distribuições de tamanhos de partículas dos copolímeros produzidos. A Figura 5.2 e a Tabela 5.2 exibem as distribuições de tamanhos de partícula e os diâmetros médios obtidos para os copolímeros sintetizados.

Assim como as partículas obtidas de PMMA, os copolímeros apresentam

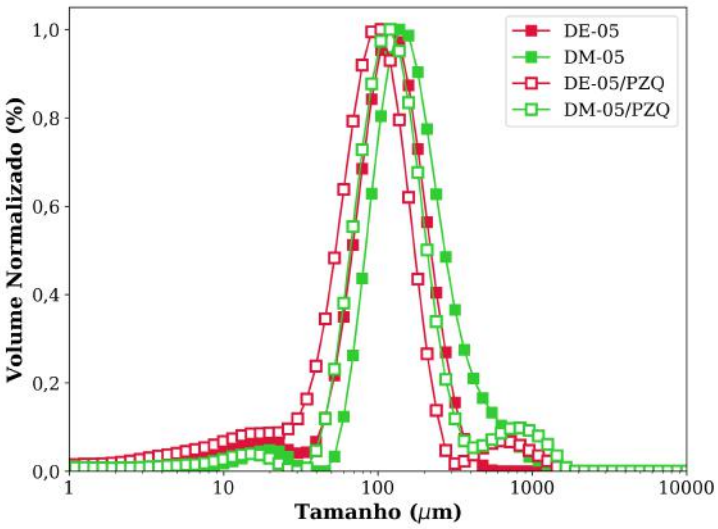
tamanhos micrométricos, como resultado da técnica de polimerização em suspensão (KIPARISSIDES, 1996). Ademais, observa-se que os copolímeros apresentam distribuições de tamanhos bastante similares às do PMMA puro, sendo apenas um pouco mais largas ou apresentando pequenos ombros em tamanhos menores. A exceção diz respeito ao copolímero produzido com 40 % de DMAEMA, que exibiu um pequeno deslocamento na distribuição para diâmetros maiores. Dessa forma, os tamanhos médios obtidos indicam um pequeno aumento de tamanho médio em relação ao do PMMA, em resposta a essas distribuições menos estreitas. De forma geral, a partir desses resultados, pode-se dizer que a presença do comonômero pouco afetou o andamento da reação; logo, a polimerização em suspensão também pode ser conduzida de forma eficiente na presença dos dois monômeros catiônicos.



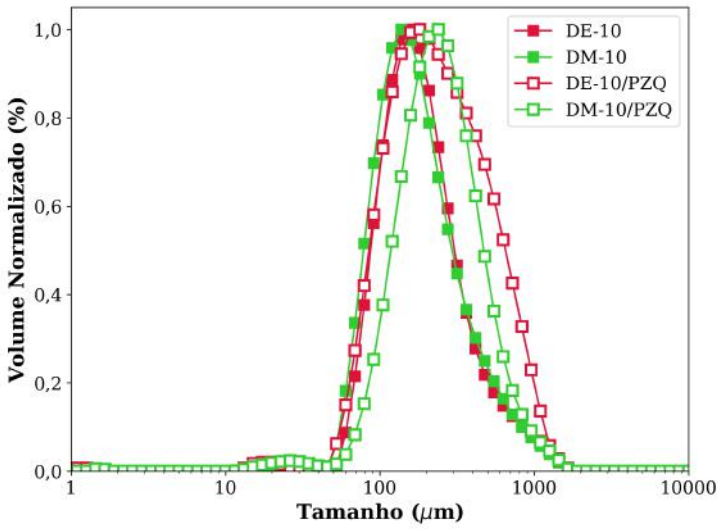
(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

Figura 5.2: Distribuição de tamanhos de partículas para os copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos na Fase II do trabalho.

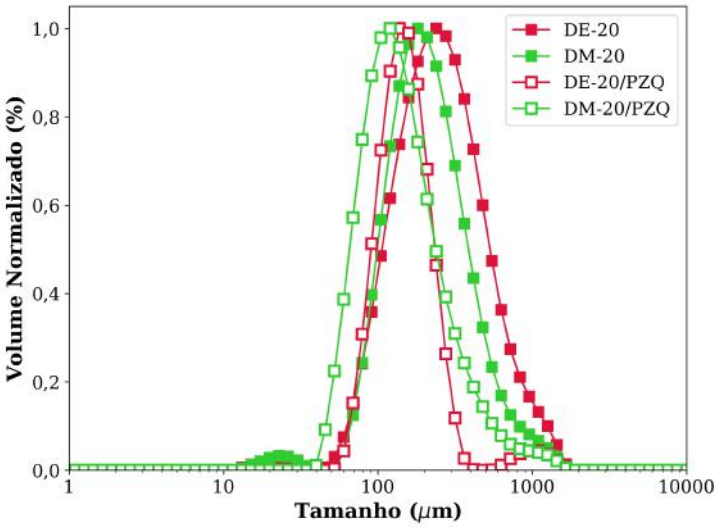
Novamente, o encapsulamento de 30 % de PZQ afetou as taxas de quebra e coalescência das gotas, tendo resultado em distribuições levemente mais largas ou com a formação de um segundo pico em diâmetros maiores (Figura 5.3). Como já explicado, esse efeito está possivelmente relacionado às maiores viscosidades do sistema no início da reação, devido à presença do fármaco.



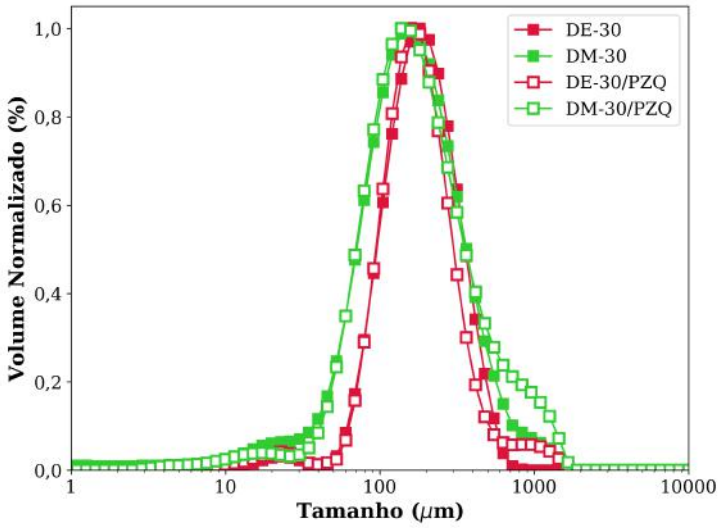
(a) 5 %



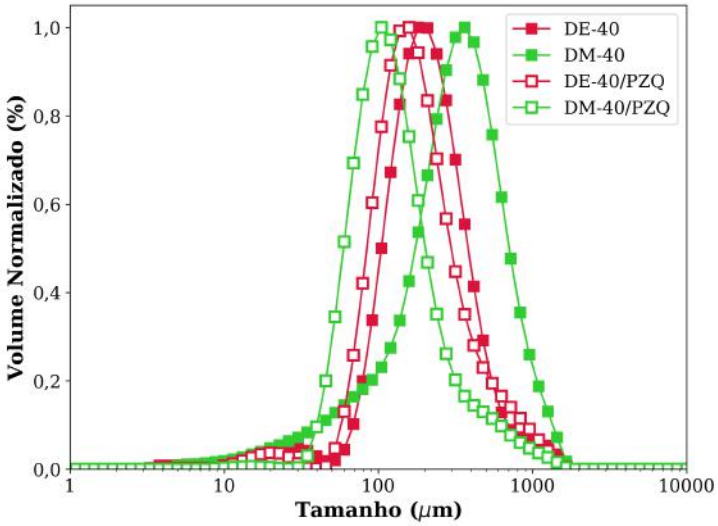
(b) 10 %



(c) 20 %



(d) 30 %



(e) 40 %

Figura 5.3: Distribuição de tamanhos de partículas para os copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA), produzidos na presença de PZQ na Fase II do trabalho.

Tabela 5.2: Relação dos tamanhos médios das partículas dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) obtidos na Fase II do trabalho.

Reação	**Tamanho Médio** (μm)	$\mathbf{d_{10}}$ (μm)	$\mathbf{d_{50}}$ (μm)	$\mathbf{d_{90}}$ (μm)	**Span***
DE-05	143,15	28,21	107,10	206,39	1,664
DM-05	223,41	72,05	143,92	331,22	1,801
DE-05/PZQ	139,45	19,37	84,31	175,47	1,852
DM-05/PZQ	205,04	55,30	112,87	264,47	1,853
DE-10	273,97	85,22	163,54	416,51	2,026
DM-10	258,47	77,47	153,39	411,75	2,179
DE-10/PZQ	350,18	87,58	211,64	593,58	2,391
DM-10/PZQ	333,93	103,40	223,59	489,95	1,729
DE-20	360,23	9,94	229,11	572,03	2,453
DM-20	296,16	93,19	189,10	440,08	1,834
DE-20/PZQ	209,38	84,51	138,49	234,31	1,082
DM-20/PZQ	211,23	65,08	124,83	313,94	1,994
DE-30	237,61	84,74	170,72	336,46	1,474
DM-30	239,63	54,43	145,87	382,18	2,247
DE-30/PZQ	245,72	80,29	158,96	333,84	1,595
DM-30/PZQ	285,34	61,14	154,53	507,32	2,887
DE-40	286,32	88,47	185,63	407,28	1,717
DM-40	427,26	73,06	294,71	684,77	2,076
DE-40/PZQ	264,13	76,63	158,96	406,36	2,074
DM-40/PZQ	194,40	60,30	121,08	429,11	3,046

*Span = (d_{90} - d_{10})/d_{50}

5.3 Eficiência de encapsulamento

O teor de praziquantel efetivamente encapsulado nas micropartículas foi avaliado, usando o mesmo método desenvolvido para as micropartículas de PMMA e a curva de calibração em água apresentada na Figura 4.3. A Tabela 5.3 apresenta os resultados obtidos de eficiência de encapsulamento para as micropartículas dos copolímeros. Observa-se que a baixa solubilidade do PZQ na fase aquosa garante a

alta eficiência de encapsulamento (> 80 %), mesmo na presença dos comonômeros catiônicos hidrofílicos.

Nota-se que o aumento do teor dos comonômeros promove uma ligeira redução da eficiência de encapsulação, provavelmente devido ao aumento da hidrofilicidade da fase orgânica com a maior presença dos comonômeros catiônicos. De fato, a presença dos grupos etila no DEAEMA garante um maior comportamento hidrofóbico (mesmo que em menor grau) em comparação ao DMAEMA (THAVANESAN *et al.*, 2014), justificando portanto a maior eficiência de encapsulamento por parte dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA).

Tabela 5.3: Eficiências de encapsulamento de PZQ nos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) obtidos na Fase II do trabalho.

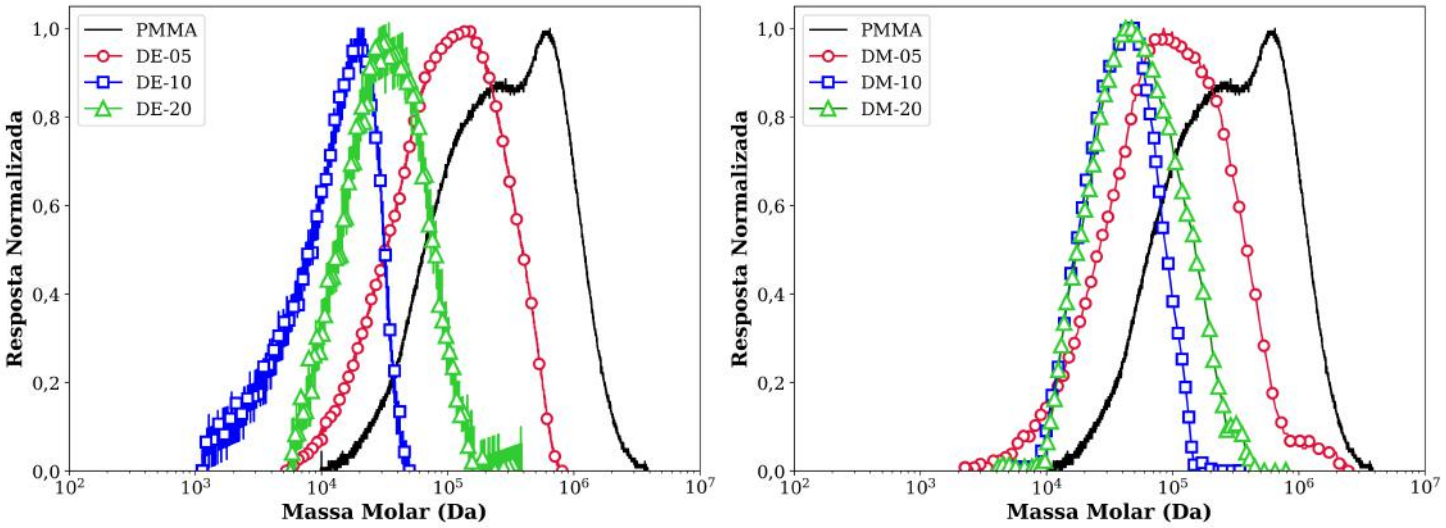
Reação	**Eficiência de Encapsulamento (%)**
DE-05/PZQ	98,86
DM-05/PZQ	97,59
DE-10/PZQ	97,82
DM-10/PZQ	96,94
DE-20/PZQ	95,14
DM-20/PZQ	90,53
DE-30/PZQ	92,01
DM-30/PZQ	90,12
DE-40/PZQ	91,23
DM-40/PZQ	84,44

5.4 Distribuição de massas molares

As análises de GPC dos copolímeros foram realizadas para avaliar eventuais mudanças das propriedades do polímero em relação ao PMMA puro. A Figura 5.4 apresenta as distribuições de massas molares das micropartículas de PMMA e dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA).

Os resultados apontam que a inserção dos comonômeros promoveu o deslocamento das distribuições para massas molares menores, sendo esse comportamento mais evidente com o aumento do teor mássico dos comonômeros, tanto para o DEAEMA quanto para o DMAEMA. Dessa forma, comprova-se a forte influência do comonômero sobre as propriedades do polímero final.

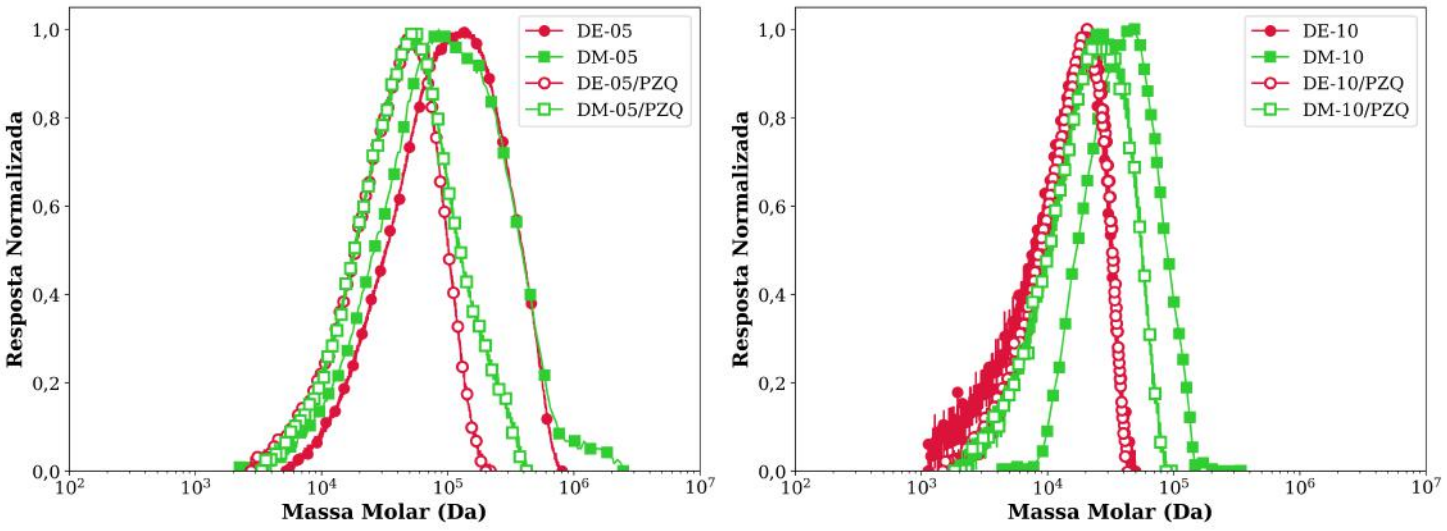
Este deslocamento das distribuições de massas molares pode estar relacionado com o aumento da reação de transferência de cadeia para os comonômeros catiônicos, já que a etapa de terminação das reações de polimerização do MMA ocorrem principalmente por desproporcionamento (NAKAMURA e YAMAGO, 2015; NAKAMURA *et al.*, 2017) e as conversões foram altas em todos os casos, não sendo afetadas significativamente pela adição dos comonômeros catiônicos. Sabe-se que a transferência do centro ativo para outra cadeia é favorecida quando o grupo lateral presente na cadeia principal é volumoso (CANEVAROLO, 2006; ODIAN, 2004), dificultando a aproximação das moléculas maiores dos comonômeros aos centros reativos devido ao impedimento estérico.



(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

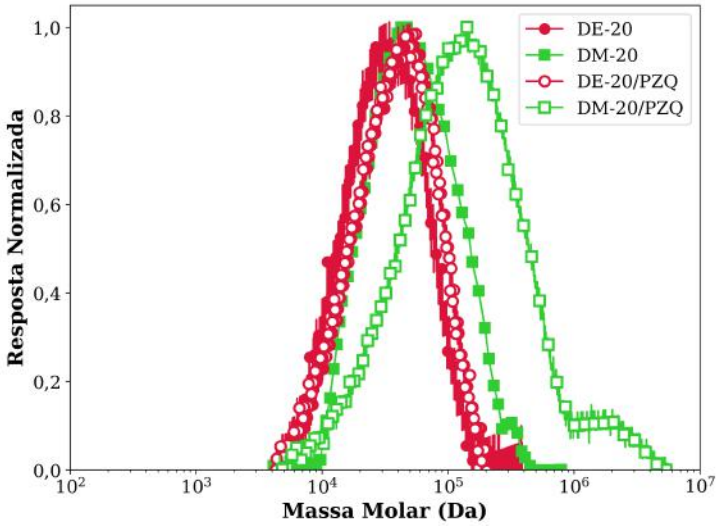
Figura 5.4: Distribuições de massas molares dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos na Fase II do trabalho.

A Figura 5.5 mostra que, para os copolímeros, a presença do praziquantel resultou em um comportamento complexo, tendo em alguns casos massas molares muito similares à dos copolímeros puros (copolímeros com DEAEMA com 10 e 20



(a) 5 %

(b) 10 %



(c) 20 %

Figura 5.5: Distribuições de massas molares dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA), produzidos na presença de PZQ na Fase II do trabalho.

%), mas também promoveu um leve deslocamento para massas molares menores (copolímeros com 5 %) e para massas molares maiores (copolímeros com DMAEMA com 20 %). De modo geral, os resultados parecem indicar que a influência dos grupos volumosos dos comonômeros é mais predominante do que a influência dos grupos funcionais do fármaco, justificando portanto sua ação na cinética menos significativa.

As massas molares médias dos copolímeros produzidos, bem como os respectivos índices de polidispersão, estão apresentados na Tabela 5.4. É possível observar que os copolímeros apresentaram redução significativa das massas molares médias,

mantendo os baixos índices de polidispersão, confirmando os dados obtidos pelas distribuições de massas molares.

Tabela 5.4: Massas molares médias e índices de polidispersão das micropartículas de PMMA e dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos na Fase II do trabalho.

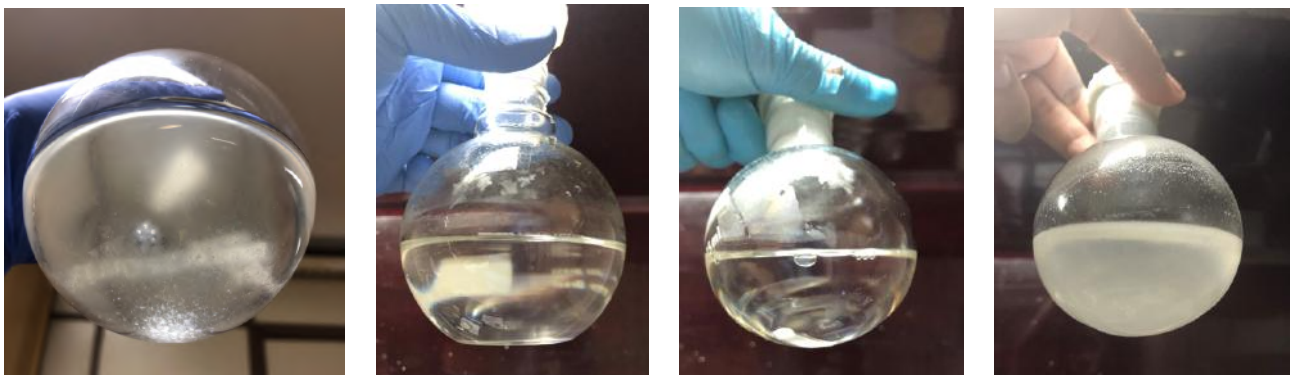
Amostra	**Mn (Da)**	**Mw (Da)**	**IP (Mw/Mn)**
PMMA	$1{,}16 \times 10^5$	$3{,}62 \times 10^5$	3,105
DE-05	$5{,}44 \times 10^4$	$1{,}30 \times 10^5$	2,390
DM-05	$4{,}29 \times 10^4$	$1{,}43 \times 10^5$	3,331
DE-05/PZQ	$2{,}95 \times 10^4$	$6{,}22 \times 10^4$	1,797
DM-05/PZQ	$2{,}56 \times 10^4$	$4{,}60 \times 10^4$	2,108
DE-10	$9{,}65 \times 10^3$	$1{,}62 \times 10^4$	1,678
DM-10	$2{,}81 \times 10^4$	$4{,}52 \times 10^4$	1,613
DE-10/PZQ	$1{,}48 \times 10^4$	$2{,}56 \times 10^4$	1,530
DM-10/PZQ	$1{,}10 \times 10^4$	$1{,}68 \times 10^4$	1,723
DE-20	$4{,}90 \times 10^4$	$2{,}19 \times 10^5$	4,462
DM-20	$3{,}56 \times 10^4$	$6{,}21 \times 10^4$	1,747
DE-20/PZQ	$2{,}28 \times 10^4$	$4{,}21 \times 10^4$	1,850
DM-20/PZQ	$2{,}20 \times 10^4$	$3{,}46 \times 10^4$	1,572

Como observado, os dados de massa molar dos copolímeros produzidos com 30 e 40 % dos comonômeros catiônicos não foram apresentados nesta seção. Isso se deve à grande dificuldade para filtrar as soluções destes materiais em THF (solvente utilizado nas análises de GPC), impossibilitando a injeção das mesmas no cromatógrafo. Nesse cenário, duas vertentes podem explicar esse comportamento: os copolímeros formados podem estar reticulados ou os copolímeros não se solubilizam

na temperatura ambiente no solvente utilizado.

Desse modo, alguns testes de solubilidade em tetrahidrofurano (THF) a 60 °C, em N,N-dimetilformamida (DMF) a 90 °C e em 1,2,4-triclorobenzeno (TCB) a 150 °C foram realizados, mantendo os copolímeros sob agitação por 2 horas. Vale ressaltar que os solventes selecionados são usualmente utilizados em análises de GPC e as temperaturas utilizadas são temperaturas próximas aos pontos de ebulição de cada solvente (Teb_{THF} = 65 °C, Teb_{DMF} = 153 °C e Teb_{TCB} = 213 °C) (PUBCHEM, 2019).

De fato, os testes indicaram que os copolímeros se comportam de maneiras diferentes na presença de cada solvente em cada temperatura avaliada. Como ilustrado na Figura 5.6, os copolímeros não solubilizaram em THF a 60 °C, mantendo-se na forma precipitada após as 2 horas de agitação. Por outro lado, nos testes realizados com DMF a 90 °C, observou-se que os copolímeros foram completamente solubilizados. No entanto, quando o sistema foi resfriado, foi possível observar a precipitação do material polimérico na forma de um gel inchado. Tal comportamento também foi visualizado quando foi utilizado o solvente TCB a 150 °C, já que o material ficou completamente solubilizado a quente, mas voltou a precipitar após o resfriamento.



(a) THF a 40 °C (b) DMF a 90 °C (c) TCB a 150 °C (d) TCB - Após resfriar

Figura 5.6: Testes de solubilidade realizados com os copolímeros em diferentes solventes.

Desse modo, os testes de solubilidade indicaram que os copolímeros não parecem estar reticulados e que, na verdade, a temperatura é uma variável de extrema

importância para a solubilização dos copolímeros produzidos. Frente a esses resultados, é possível que os dados de massas molares obtidos para os copolímeros produzidos com 5, 10 e 20 % dos comonômeros possam também estar afetados pelos efeitos de solubilização em alguma medida.

Como consequência, as análises de GPC dos copolímeros, que permitiriam obter informações sobre as massas molares dos copolímeros produzidos, devem ser idealmente realizadas a altas temperaturas. O desenvolvimento dessa técnica, ainda não descrita na literatura, extrapola os interesses específicos da presente tese e deverá ser melhor investigado em trabalhos futuros.

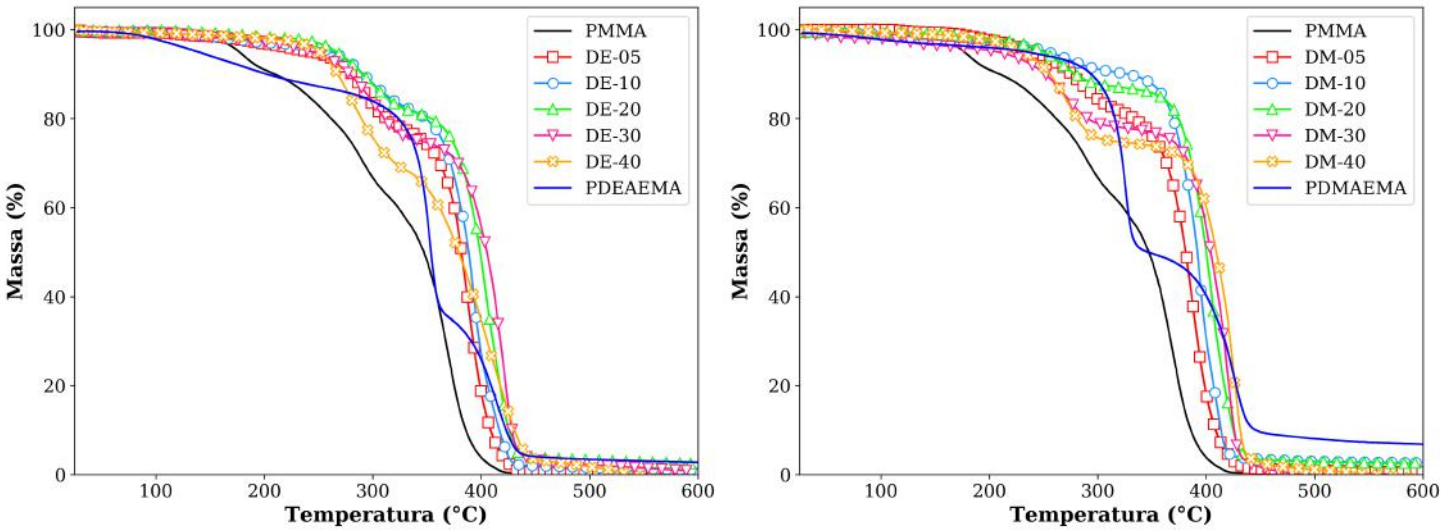
5.5 Análises térmicas

Os copolímeros produzidos foram caracterizados termicamente por meio das análises de TGA. A Figura 5.7 exibe as curvas termogravimétricas dos copolímeros, em comparação com seus respectivos homopolímeros.

Como pode ser observado, os copolímeros sintetizados apresentaram maior estabilidade térmica em comparação à do PMMA puro, sendo a temperatura de máxima degradação térmica atingida em torno de 400 °C tanto para os copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) quanto para P(MMA-co-DMAEMA). De modo geral, é possível observar também que os copolímeros são ligeiramente mais estáveis termicamente que os homopolímeros PDEAEMA e PDMAEMA, respectivamente.

Como apontado na Figura 5.7, os copolímeros exibem duas etapas de degradação, que provavelmente se referem à perda dos grupos dimetilaminoetila e dietilaminoetila ligados à carbonila do éster (em torno de 350 °C) e às cisões aleatórias dentro da cadeia polimérica (próximo a 400 °C). Ao que tudo indica, como os termogramas são muito diferentes em relação aos respectivos homopolímeros, pode-se concluir que ocorreram, de fato, mudanças nas composições dos materiais poliméricos sintetizados, não tendo sido produzidos blocos de cada homopolímero do copolímero.

Por sua vez, a presença do fármaco nas micropartículas não afetou significativamente a estabilidade térmica dos materiais poliméricos (Figura 5.8).

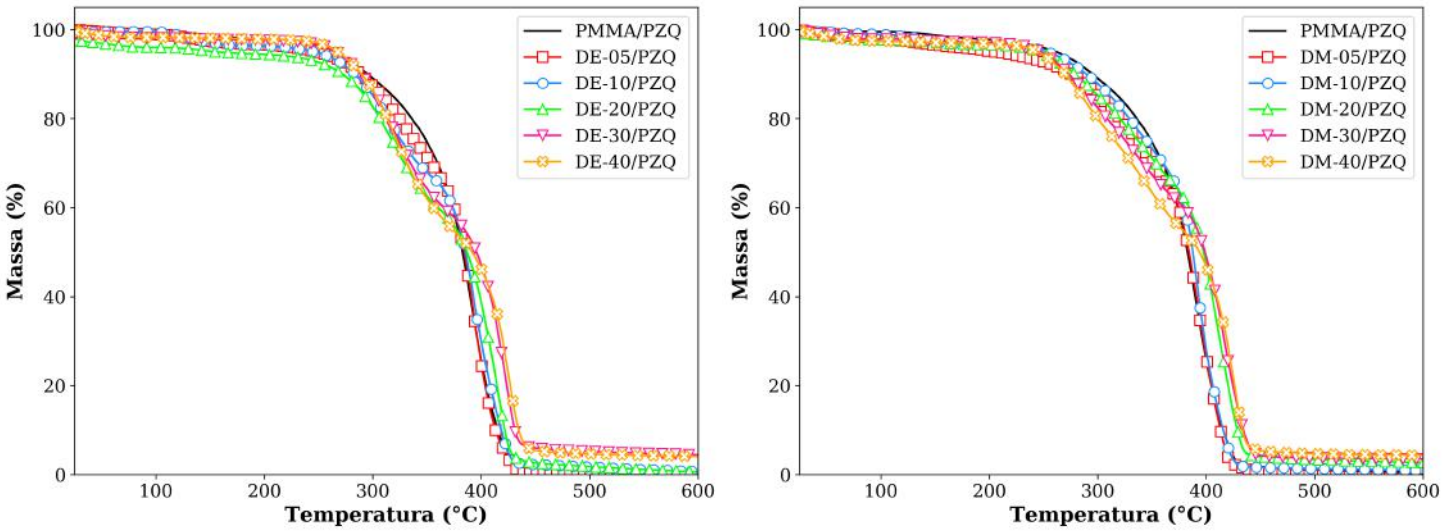


(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

Figura 5.7: Análise termogravimétrica das micropartículas de PMMA, micropartículas dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) e dos homopolímeros PDEAEMA e PDMAEMA obtidos via polimerização em massa na Fase II do trabalho.

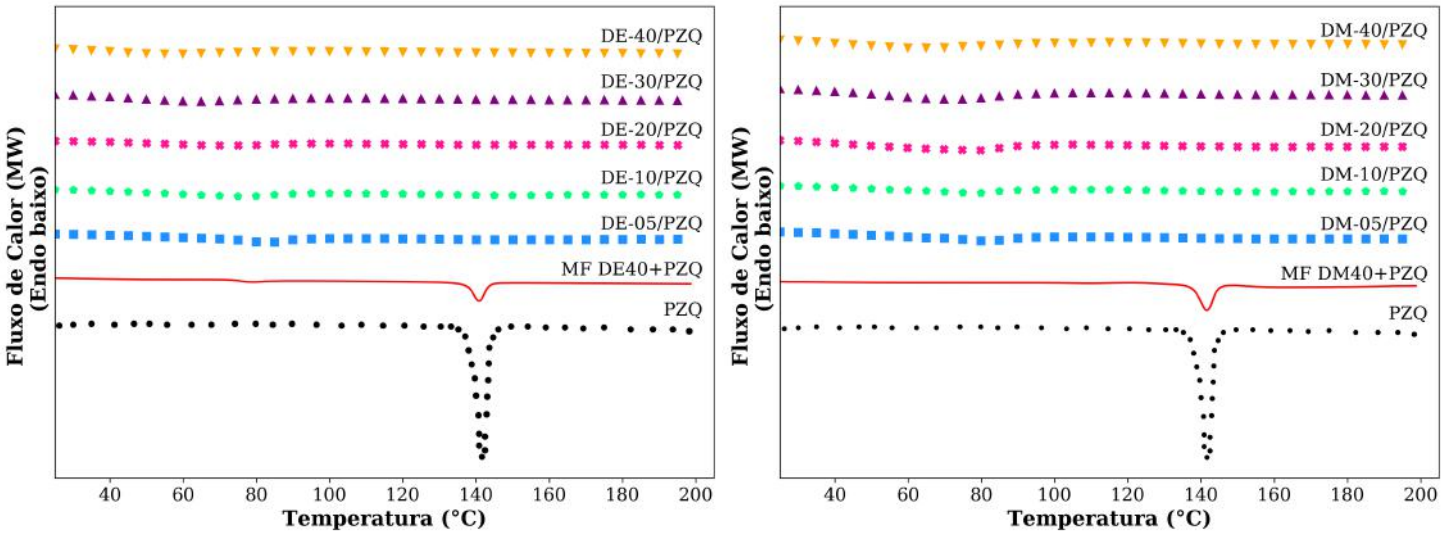
As análises de DSC, usando a primeira etapa de aquecimento, foram realizadas de modo a obter mais informações quanto à interação entre o PZQ e os copolímeros produzidos. Como mencionado no capítulo anterior, o PZQ apresenta um pico endotérmico em torno de 140 °C, característico do seu ponto de fusão (ANVISA, 2010). Como observado na Figura 5.9, as misturas físicas dos copolímeros puros com o fármaco também exibem esse pico endotérmico, ratificando a existência de uma fase segregada contendo os cristais do fármaco. Mais uma vez, a presença dos copolímeros puros na mistura resulta na redução da intensidade do pico, por se comportarem como diluentes, como já discutido. Por outro lado, as micropartículas dos copolímeros não exibem em seus termogramas esse evento térmico, o que pode ser atribuído à dispersão do PZQ nas partículas, não apresentando a formação de uma fase cristalina distinta.

Ademais, as análises de DSC também permitem caracterizar a ocorrência da copolimerização, por meio dos dados de temperatura de transição vítrea (Tg), obtida por meio da segunda etapa de aquecimento. Teoricamente, espera-se que a Tg do copolímero esteja situada entre os valores da Tg de cada homopolímero



(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

Figura 5.8: Análise termogravimétrica das micropartículas de PMMA/PZQ e dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA), produzidos na presença de PZQ na Fase II do trabalho.



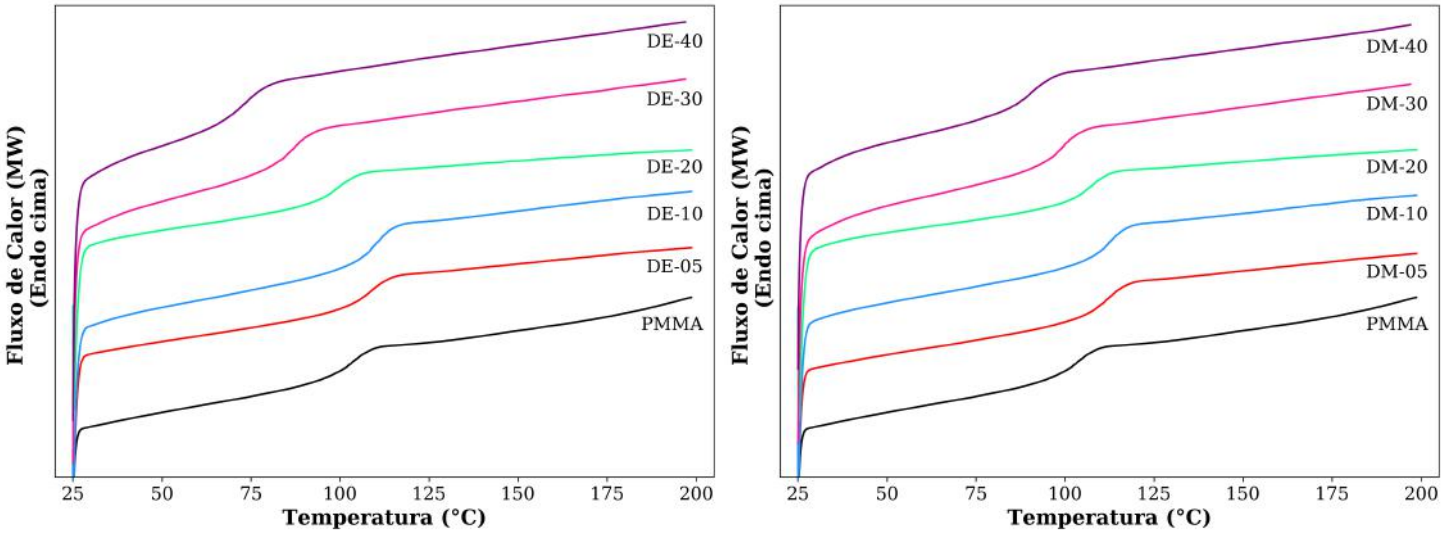
(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

Figura 5.9: Termogramas de DSC do praziquantel puro, das misturas físicas e das micropartículas dos copolímeros produzidos na Fase II do trabalho e contendo PZQ.

(CANEVAROLO, 2006). A literatura reporta que a Tg do PMMA encontra-se próxima a 115 °C, enquanto a Tg do PDEAEMA está situada entre 16-24 °C e a Tg do PDMAEMA está próxima a 20 °C (BRANDUP *et al.*, 1999).

Primeiramente, como observado na Figura 5.10, os materiais poliméricos produzidos apresentaram temperaturas de transição vítrea únicas, sugerindo que os copolímeros formados são homogêneos, tendo tido a formação de copolímeros

aleatórios ou alternados (CANEVAROLO, 2006). Desse modo, sugere-se que não houve a formação de fases separadas referentes a cada homopolímero. De fato, a eficiência da reação de copolimerização é determinada pela razão de reatividade dos monômeros (r_1 e r_2). Quanto mais próximas as razões de reatividade estão de 1, menor é a seletividade para um dos monômeros, de modo que a incorporação do comonômero ocorre de forma mais aleatória. Nesse contexto, a literatura reporta que as razões de reatividade para o sistema DEAEMA e MMA são $r_1 = 0{,}88$ e $r_2 = 1{,}12$, enquanto que para o sistema DMAEMA e MMA são $r_1 = 0{,}94$ e $r_2 = 0{,}99$ (JIN, 2014; MIRAGLIA, 1989), confirmando que as copolimerizações ocorrem sem que haja preferência dos centros ativos por um dos monômeros e favorecendo, portanto, a formação de copolímeros aleatórios.



(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

Figura 5.10: Curvas de DSC do PMMA puro e das micropartículas dos copolímeros puros produzidas na Fase II do trabalho.

Como indicado na Tabela 5.5, menores teores de comonômero (5 e 10 %) aparentemente pouco influenciaram as propriedades térmicas dos materiais produzidos. A influência na temperatura de transição vítrea foi mais significativa ao se trabalhar com 20 % a 40 % dos comonômeros, sendo as mudanças mais expressivas para os copolímeros com DEAEMA. De tal modo, os resultados sugerem que houve de fato a mudança nas propriedades do PMMA, indicando a formação de um novo

material polimérico. Por isso, pode-se admitir que a copolimerização de fato ocorreu.

Tabela 5.5: Temperaturas de transição vítrea dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) obtidos na Fase II do trabalho.

Reação	**Temperatura de transição vítrea (Tg) (°C)**
PMMA	103,48
DE-05	111,44
DM-05	112,07
DE-10	106,78
DM-10	108,14
DE-20	109,35
DM-20	99,22
DE-30	87,05
DM-30	98,99
DE-40	73,11
DM-40	90,52

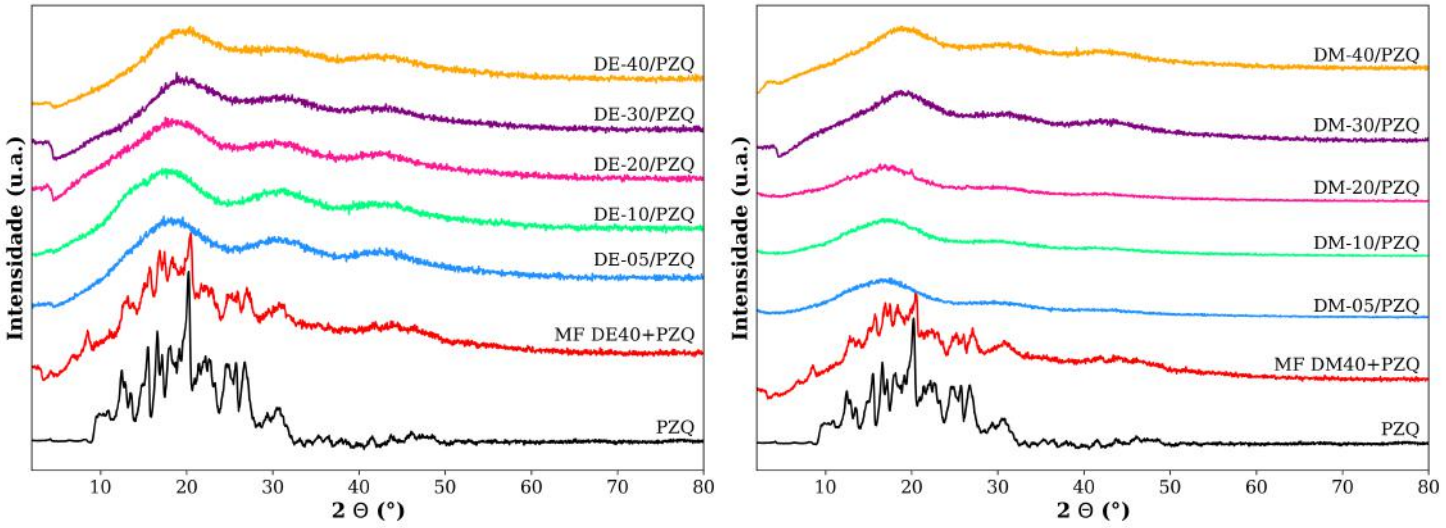
5.6 Difratometria de raios X (DRX)

Ainda com o intuito de avaliar a qualidade do encapsulamento do PZQ nos materiais poliméricos produzidos, as análises de DRX foram realizadas, de modo a analisar a estrutura cristalina dos copolímeros produzidos. Como indicado anteriormente (no Capítulo 4), o praziquantel apresenta um perfil cristalino com picos agudos entre $2\theta = 10°$ a $2\theta = 30°$, estando de acordo com os dados reportados na literatura (YANG *et al.*, 2018). Como era esperado, as misturas físicas apresentam também esse comportamento, como resultado da presença dos cristais do fármaco na mistura.

Em contrapartida, as micropartículas dos copolímeros não exibem, em seus difratogramas, os picos característicos do PZQ, mas picos largos similares aos observados para o PMMA puro. Desse modo, os resultados permitem presumir

que o fármaco está presente em sua forma amorfa, não tendo a presença de uma fase cristalina segregada, confirmando os resultados de DSC apresentados anteriormente.

É importante enfatizar que esse resultado é de suma importância, pois sugere a ausência de cristais de PZQ na superfície das micropartículas. Além disso, como bem relatado na literatura, o fato do PZQ estar em seu estado amorfo pode promover maior solubilidade e, por consequência, maior biodisponibilidade (GRAESER *et al.*, 2010; KALEPU e NEKKANTI, 2015).



(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

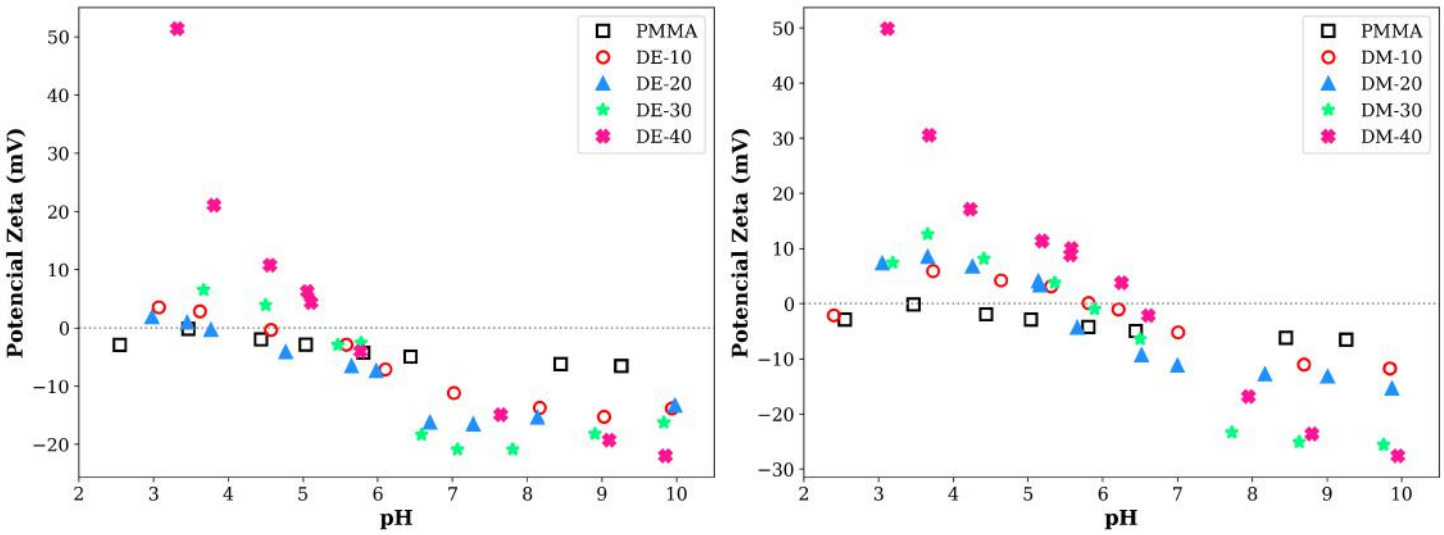
Figura 5.11: Difratogramas de DRX do praziquantel puro, das misturas físicas e das micropartículas dos copolímeros produzidas na Fase II do trabalho e contendo PZQ.

5.7 Potencial zeta

As análises de potencial zeta permitem inferir informações sobre a carga efetiva na superfície das micropartículas poliméricas produzidas. Entende-se que esta análise permite confirmar a formação de copolímeros sensíveis ao pH, por conta da protonação dos grupos amina apenas em meio ácido, o que resulta em cargas positivas nessa faixa de pH.

Como ilustrado na Figura 5.12, as micropartículas de PMMA puro apresentam, em toda faixa de pH estudada, potencial zeta próximo a zero ou levemente negativo. Por outro lado, é nítida a influência do pH sobre o potencial zeta das

micropartículas dos copolímeros de forma que, em pHs básicos, as amostras estão predominantemente com cargas negativas e que, em pHs ácidos, as cargas passam a ser positivas.



(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

Figura 5.12: Potencial zeta dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos na Fase II do trabalho.

Ressalta-se que o potencial zeta das micropartículas se intensifica com o aumento do teor dos comonômeros. Isso ocorre, uma vez que o potencial zeta está intimamente relacionado com a presença das aminas terciárias; portanto, quanto maior é o teor do comonômero catiônico (DEAEMA ou DMAEMA), maior é a carga superficial das micropartículas. Resultados similares foram reportados por HU *et al.* (2014) ao sintetizarem nanopartículas do copolímero poli(estireno-co-metacrilato de dimetilaminoetila). Além disso, com base nos resultados obtidos, é possível estabelecer que os copolímeros à base de DEAEMA e DMAEMA apresentaram pontos isoelétricos entre 4,5-5,5 e 5,5-6,5, respectivamente.

De modo geral, o resultado dessa análise é crucial para o trabalho, pois confirma que a técnica de polimerização em suspensão foi eficiente para a formação de micropartículas inteligentes. Desse modo, espera-se que em pHs ácidos, com a protonação do grupo amina e, por consequência, com a repulsão eletrostática, os materiais inchem e liberem o fármaco. Por outro lado, com a "desprotonação" do

grupo amina em pHs básicos, não deve ocorrer o inchamento das partículas e, por conseguinte, o fármaco não deve ser liberado. Em resumo, ocorrendo a formação de partículas inteligentes, torna-se possível coordenar a liberação do fármaco, tornando o processo mais eficiente.

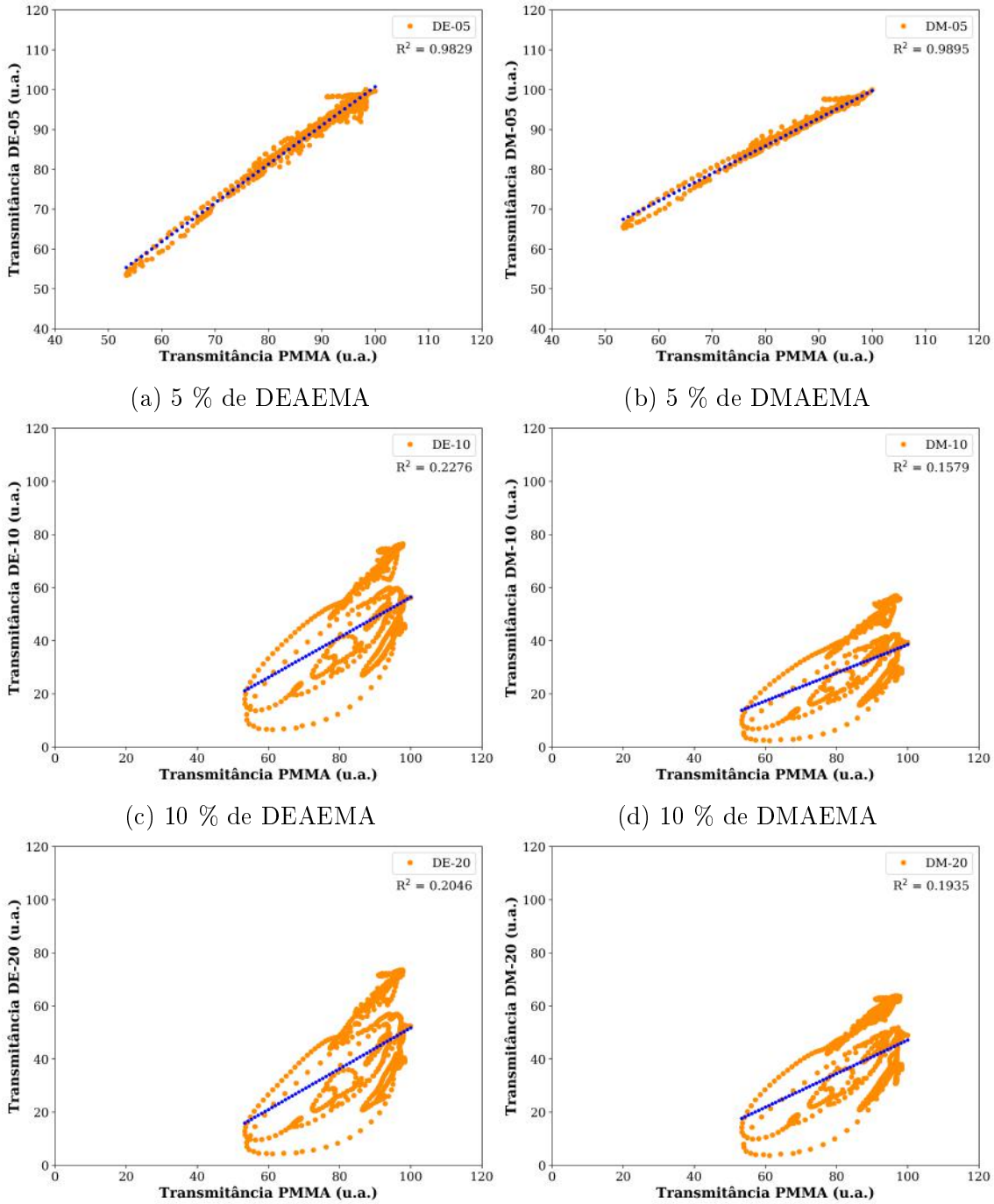
5.8 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

As análises de FTIR foram realizadas, de modo a averiguar os grupos funcionais presentes nas micropartículas produzidas. Ressalta-se que o grupo funcional principal dos comonômeros, as aminas terciárias, não podem ser caracterizadas via FTIR; contudo, a ligação -C-N pode ser identificada com uma banda presente entre 1.000 e 1.350 cm^{-1} (PAVIA *et al.*, 2001). Porém, cabe salientar que, nessa região, há também a banda característica da ligação -C-O, impossibilitando, portanto a confirmação da presença dos comonômeros catiônicos. Desse modo, apresentar os espectros dos copolímeros puros pode não trazer qualquer relevante para a análise apresentada nesse trabalho.

Tendo em vista essa dificuldade, optou-se por apresentar os dados de transmitância dos copolímeros produzidos em comparação com a transmitância do PMMA puro, de modo que se facilite a visualização da similaridade ou da discrepância entre esses dados. De modo geral, acredita-se que, quanto mais similares forem os espectros em relação ao do PMMA, mais lineares estarão os dados e, portanto, maiores serão os coeficientes de correlação.

Todavia, como ilustrado na Figura 5.13, com exceção dos copolímeros produzidos com 5 % dos comonômeros, é nítida a diferença entre as transmitâncias avaliadas, resultando coeficientes de correlação entre 0,2 e 0,3. Ao que tudo indica, como as colinearidades foram relativamente baixas, os resultados parecem sugerir que as composições dos copolímeros produzidos foram significativamente distintas das do PMMA puro, indicando que houve mudança na estrutura dos materiais poliméricos.

Desse modo, esses resultados também parecem indicar que a copolimerização foi bem sucedida.

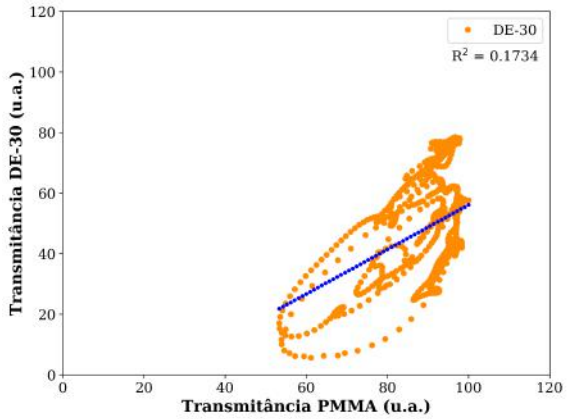


(a) 5 % de DEAEMA (b) 5 % de DMAEMA

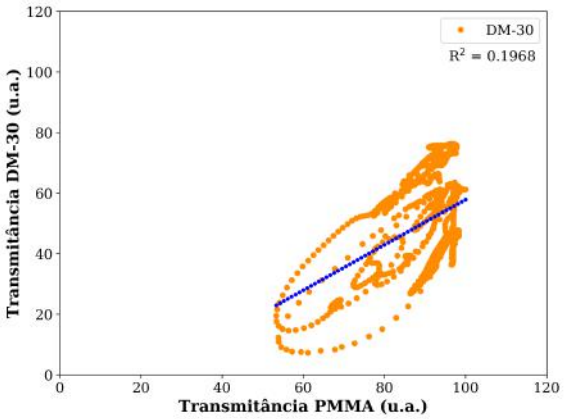
(c) 10 % de DEAEMA (d) 10 % de DMAEMA

(e) 20 % de DEAEMA (f) 20 % de DMAEMA

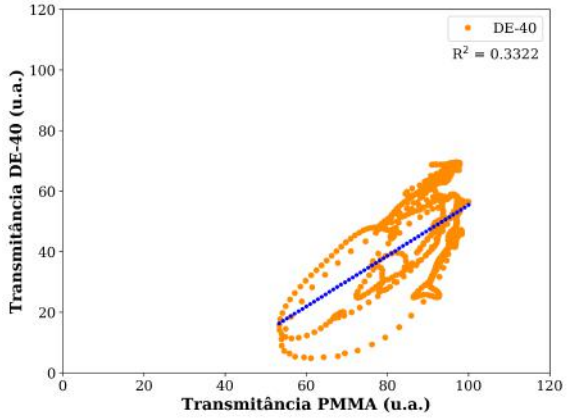
Figura 5.13: Comparação entre as transmitâncias do PMMA puro e dos diferentes copolímeros produzidos, com 5 %, 10 %, 20 %, 30 % e 40 % de comonômero (DEAEMA e DMAEMA), na Fase II do trabalho.



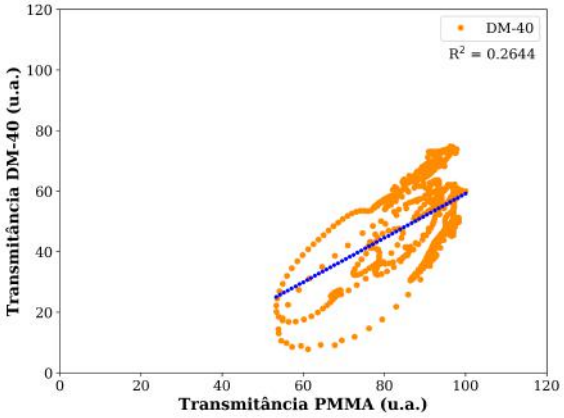
(g) 30 % de DEAEMA



(h) 30 % de DMAEMA



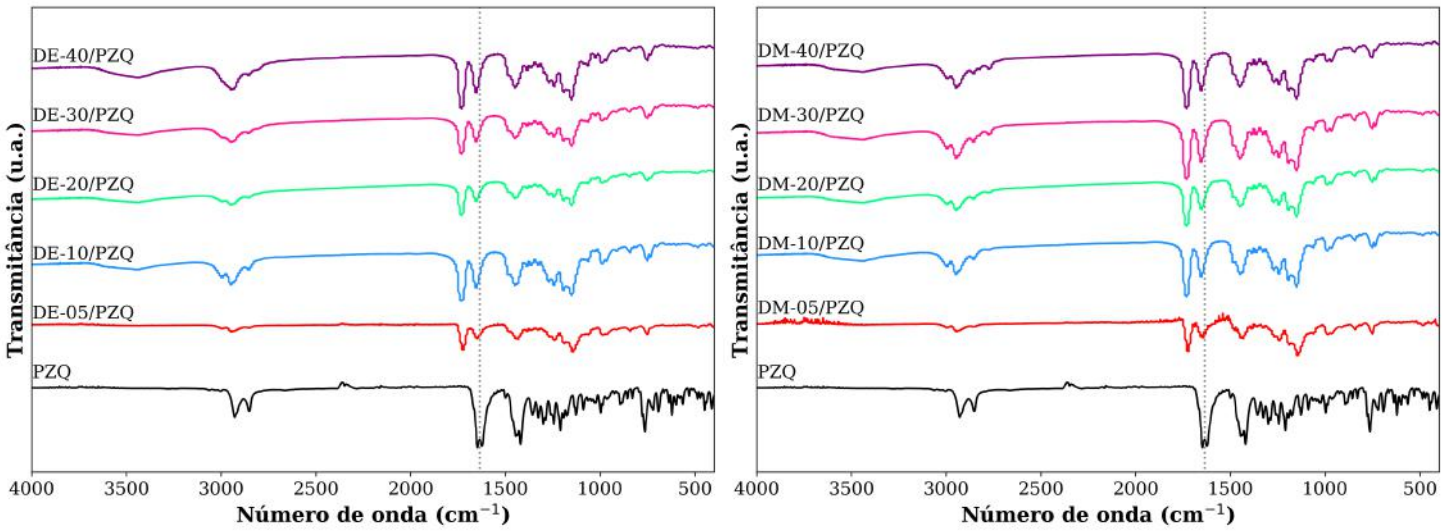
(i) 40 % de DEAEMA



(j) 40 % de DMAEMA

Figura 5.13: (Continuação) Comparação entre as transmitâncias do PMMA puro e dos diferentes copolímeros produzidos, com 5 %, 10 %, 20 %, 30 % e 40 % de comonômero (DEAEMA e DMAEMA), na Fase II do trabalho (cont.).

Os espectros dos copolímeros catiônicos na presença do PZQ estão apresentados em conjunto com os do PZQ puro, para facilitar a comparação, como observado na Figura 5.14. De modo geral, os espectros apontam as principais bandas referentes aos grupos funcionais presentes nos polímeros metacrilatos, tais como o pico posicionado em 1.720 cm^{-1} atribuído ao grupo carbonilo (C=O) do éster; em 1.140 cm^{-1}, referente às ligações C-O presentes no éster; e em 2.900 cm^{-1}, concernente às ligações -CH (PAVIA *et al.*, 2001). Como foi observado para as micropartículas de PMMA puro, os espectros dos copolímeros também indicam a presença da banda característica do fármaco, em 1.640 cm^{-1}, referente ao grupo carbonilo presente na estrutura do PZQ. Desse modo, esses resultados parecem indicar que o fármaco praziquantel está presente nas camadas superficiais da matriz polimérica.



(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

Figura 5.14: Espectros de FTIR do praziquantel puro e das micropartículas dos copolímeros produzidos na Fase II do trabalho e contendo PZQ.

5.9 Ressonância magnética nuclear (H-RMN) e ângulo de contato

As análises de H-RMN também foram realizadas com o intuito de investigar se houve a ocorrência ou não da copolimerização. Na Figura 5.15 são apresentadas as estruturas químicas esperadas para os copolímeros, bem como os átomos de hidrogênio a serem avaliados.

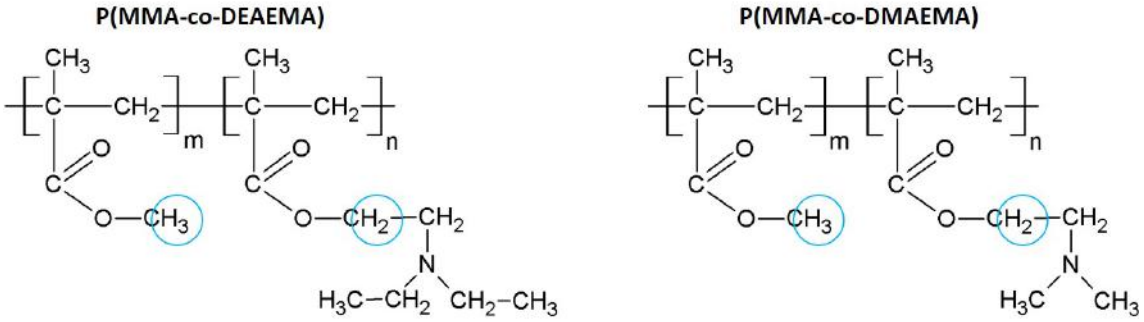


Figura 5.15: Estruturas químicas dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) e hidrogênios avaliados no RMN.

A Figura 5.16 exibe o espectro de H-RMN referente à micropartícula do PMMA puro. De acordo com PAVIA *et al.* (2001), os sinais entre 0,7 e 1,3 ppm podem ser

referentes aos átomos de hidrogênio presentes no grupo metila ($R-CH_3$). Ademais, os sinais presentes entre 1,2 e 1,4 ppm podem ser atribuídos ao átomo de hidrogênio do grupo $R-CH_2-R$. Além disso, como relatado por PAVIA *et al.* (2001), o sinal próximo a 3,5 ppm refere-se ao átomo de hidrogênio presente no grupo metila do éster ($O-CH_3$).

Por sua vez, o átomo de hidrogênio existente no grupo $O-CH_2-R$ presente nos comonômeros é caracterizado pelo sinal próximo a 4,1 ppm (ROY *et al.*, 2012; YILDIRIM *et al.*, 2015). Os espectros de H-RMN das amostras dos copolímeros DE-40 (Figura 5.17) e DM-40 (Figura 5.18) exibiram um sinal em torno de 4,3 ppm, comprovando a efetiva incorporação dos comonômeros. Os espectros dos demais copolímeros sintetizados estão dispostos no Apêndice B.

O cálculo aproximado da quantidade de comonômero efetivamente incorporado foi feito correlacionando a integração do pico dos átomos de hidrogênio do grupo $O-CH_3$, presente apenas no PMMA, com a integração do pico dos átomos de hidrogênio do grupo $O-CH_2-R$, presente na estrutura dos comonômeros DEAEMA e DMAEMA. Os resultados dos cálculos estão apresentados na Tabela 5.6.

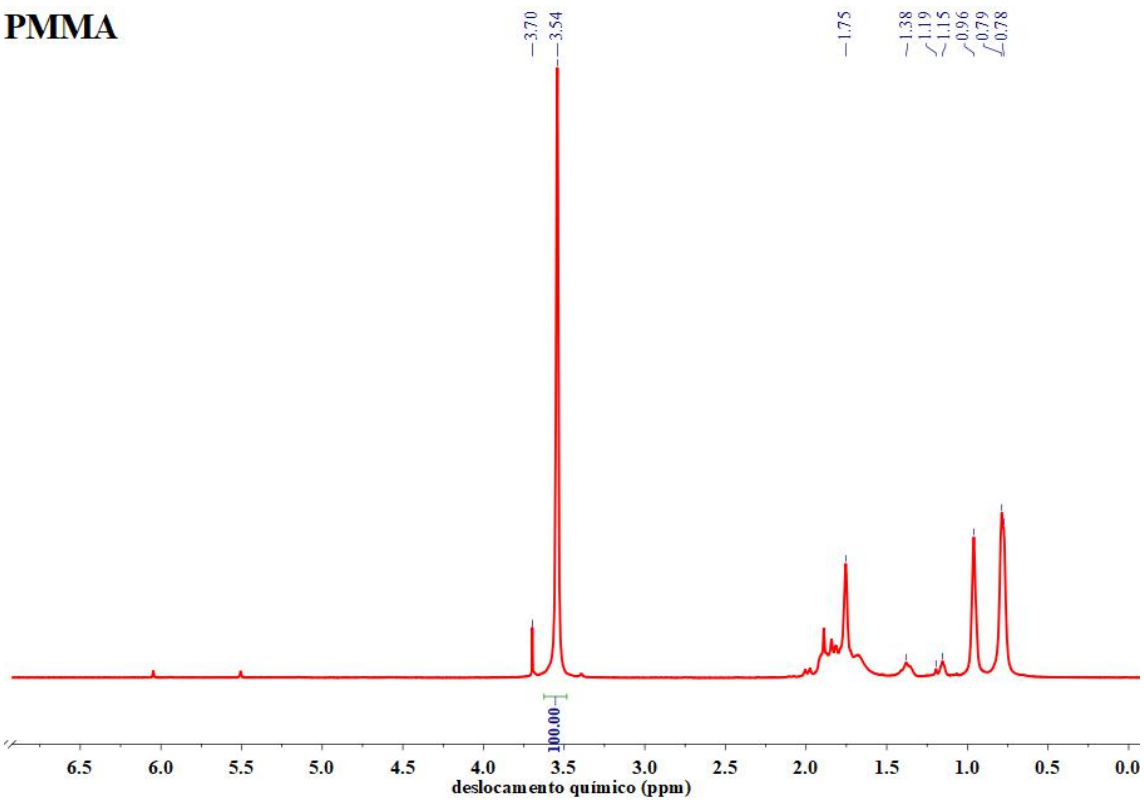


Figura 5.16: Espectro de H-RMN das micropartículas de PMMA.

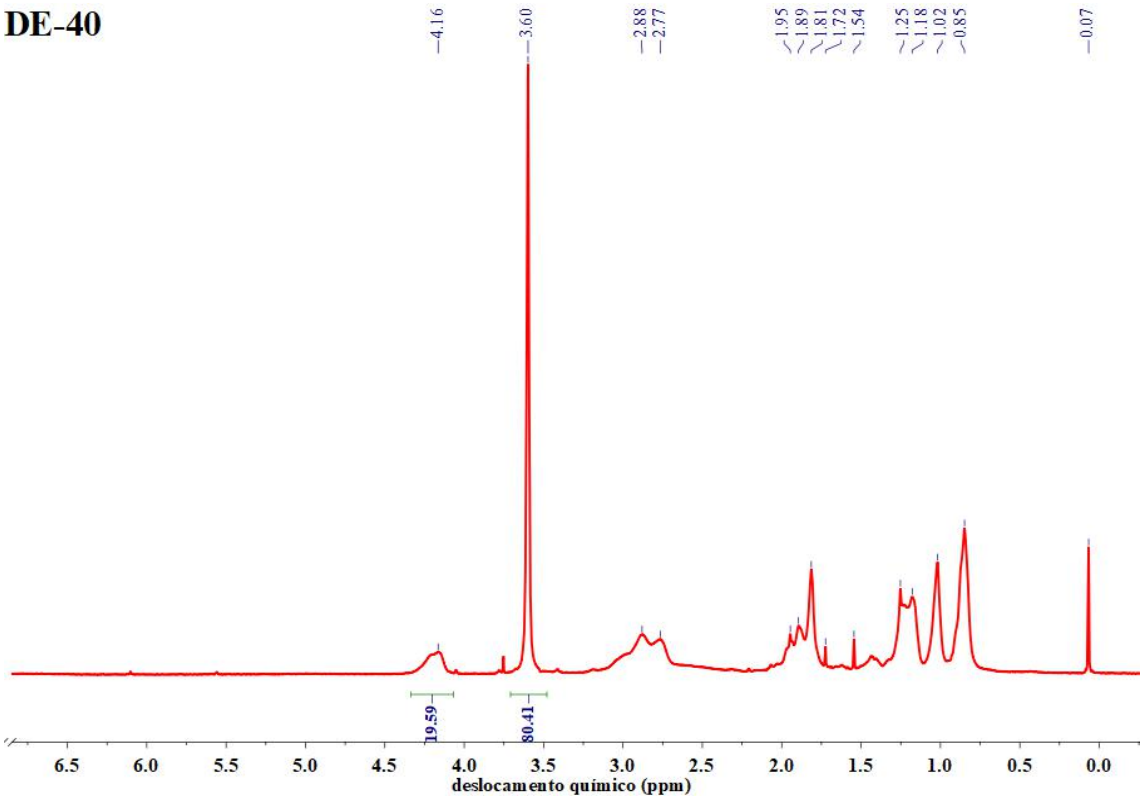


Figura 5.17: Espectro de H-RMN das micropartículas DE-40.

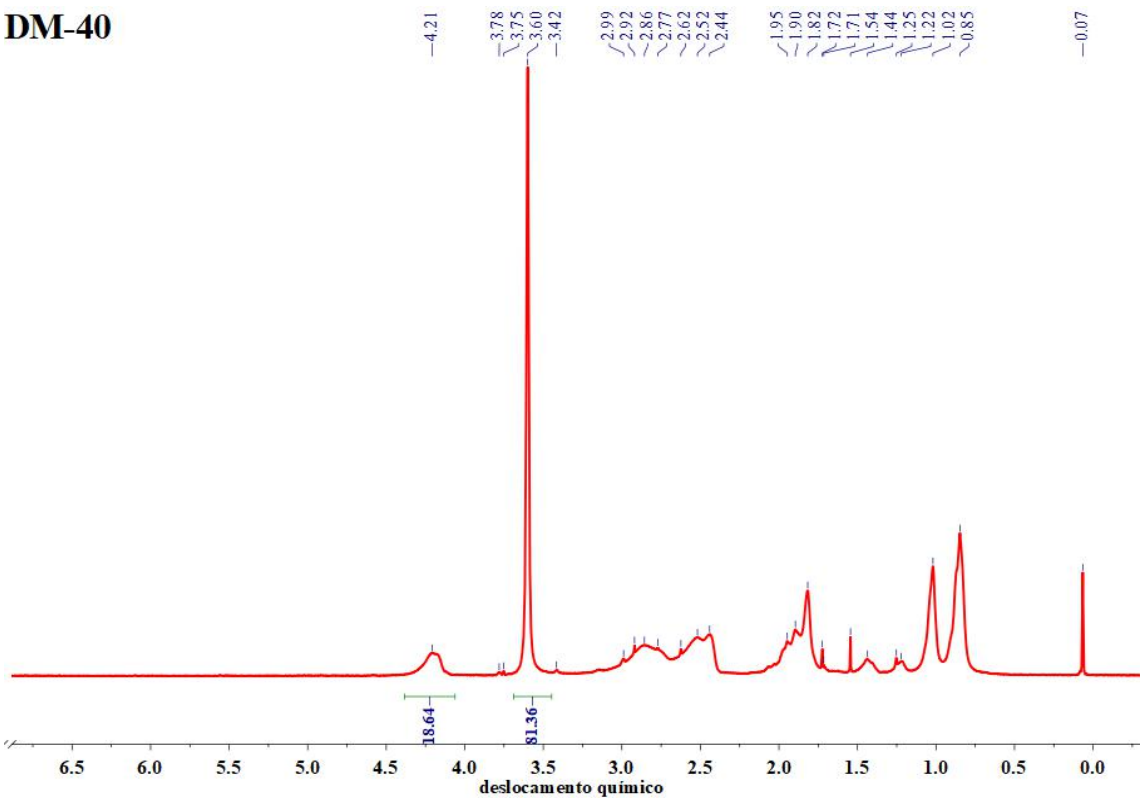


Figura 5.18: Espectro de H-RMN das micropartículas DM-40.

Tabela 5.6: Eficiências de incorporação dos comonômeros DEAEMA e DMAEMA nos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA), respectivamente, produzidos na Fase II do trabalho.

Reação	**Eficiência de incorporação (%)**
DE-05	46,0
DM-05	67,9
DE-10	53,0
DM-10	67,7
DE-20	80,5
DM-20	73,9
DE-30	100,7
DM-30	80,7
DE-40	101,1
DM-40	85,8

De modo geral, pode-se concluir que houve a formação dos copolímeros

P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) e que a modificação da matriz foi expressiva. Ressalta-se que a eficiência de incorporação é favorecida, à medida que o teor do comonômero aumenta no meio reacional, em especial para os copolímeros com DEAEMA. Isso provavelmente ocorre porque o DMAEMA apresenta maior hidrofilicidade, resultando na maior migração para a fase aquosa. Tais resultados confirmam a conclusão anterior para os resultados das eficiências de encapsulamento.

Outra abordagem utilizada com o intuito de confirmar a incorporação dos comonômeros foi conduzir análises de ângulo de contato em meio ácido. Acredita-se que os grupos amino presentes apenas nos comonômeros catiônicos estejam protonados em meio ácido, aumentando assim a hidrofilicidade das partículas. Em teoria, sabe-se, que quanto maior é a hidrofilicidade do material, menor é o ângulo de contato entre o material e o líquido avaliado (ROSEN e KUNJAPPU, 2012).

Como apontado na Tabela 5.7, os copolímeros produzidos apresentam menores ângulos de contato em relação ao do PMMA puro, confirmando a formação de copolímeros sensíveis ao pH, por conta da maior hidrofilicidade em meio ácido. Observa-se que, quanto maior foi o teor do comonômero, mais hidrofílico tornou-se o material polimérico final, o que está de acordo com os resultados encontrados anteriormente.

Tabela 5.7: Ângulos de contato, em meio ácido, do PMMA e dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos na Fase II do trabalho.

Reação	**Ângulo de Contato (°)**
PMMA	72,37
DE-05	65,52
DM-05	65,67
DE-10	61,96
DM-10	63,56
DE-20	61,00
DM-20	60,21
DE-30	61,55
DM-30	57,89
DE-40	60,40
DM-40	60,49

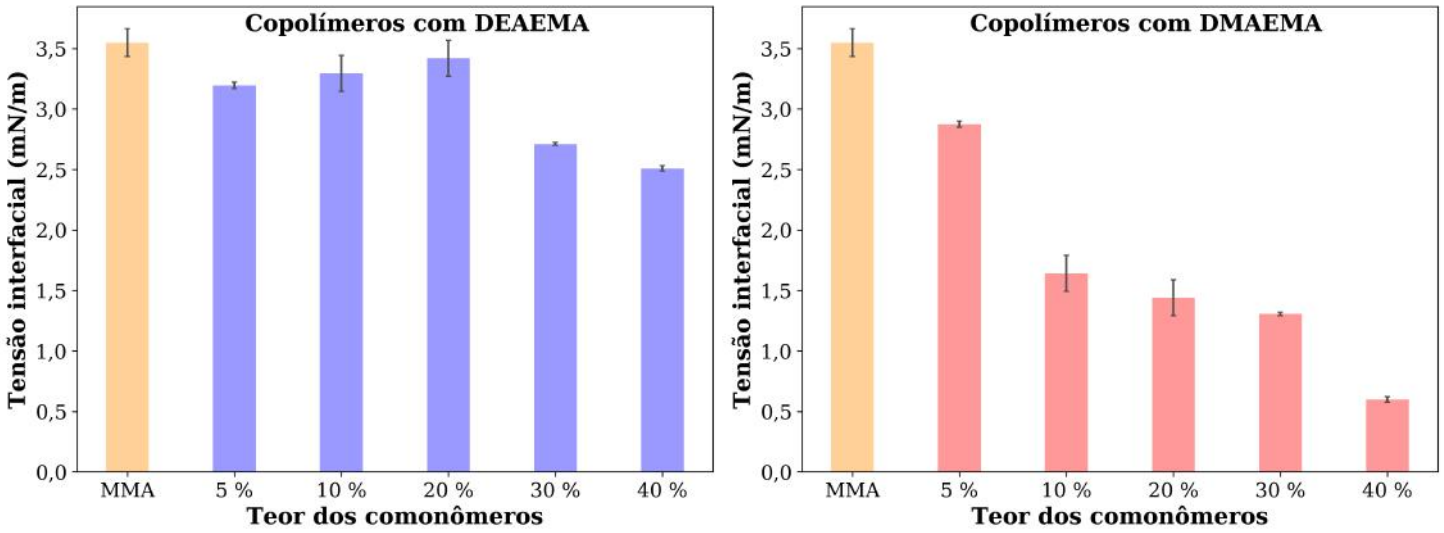
5.10 Análises de tensão interfacial

As análises de tensão interfacial foram realizadas com o intuito de avaliar a influência da presença dos comonômeros catiônicas na interação entre a superfície das gotas das fases orgânicas com a fase aquosa nas reações de polimerização em suspensão. A Figura 5.19 ilustra as tensões interfaciais medidas para diferentes proporções de MMA e de comonômeros (DEAEMA e DMAEMA) (fase orgânica) e a solução de PVA (fase aquosa).

Como pode ser visto, à medida que se aumentou o teor dos comonômeros, a tensão interfacial se reduziu drasticamente, confirmando a maior interação desses compostos com a fase aquosa. Esse comportamento é ainda mais notório para os copolímeros com DMAEMA, mesmo com apenas 5 % do comonômero, o que pode ser justificado pela maior hidrofilicidade, como reportado por THAVANESAN *et al.* (2014).

Por outro lado, os resultados obtidos mostram que a presença do DEAEMA

em até 20 % parece não afetar tão significativamente a estabilidade dos sistemas. Apenas com maiores quantidades desse comonômero foi possível observar uma influência mais expressiva sobre a tensão interfacial. Mesmo assim, a tensão interfacial observada nesses sistemas não se equipara aos resultados obtidos pelas fases monoméricas compostas pelo DMAEMA. Como as menores tensões interfaciais favorecem a produção de partículas menores, as variações das distribuições de tamanhos de partícula (Figura 5.2) não são controladas por essa variável, mas por aspectos cinéticos e físico-químicos relacionados à cinética de reação e à evolução das taxas de coalescência e quebramento relacionadas à evolução das viscosidades do sistema.



(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

Figura 5.19: Tensões interfaciais entre as fases monoméricas (MMA e os comonômeros - DEAEMA e DMAEMA) e fase aquosa (solução de PVA) das reações de polimerização em suspensão conduzidas na Fase II do trabalho.

5.11 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As micrografias obtidas via MEV dos copolímeros produzidos estão exibidas nas Figuras 5.20 e 5.21, sendo possível caracterizar morfologicamente as micropartículas formadas. As imagens confirmam a formação de partículas esféricas com tamanhos micrométricos, indicando que a incorporação dos comonômeros pouco afetou a

formação das micropartículas. No entanto, as partículas apresentam superfícies irregulares, sendo possível verificar a presença de aglomerados, o que provavelmente está relacionado com a hidrofilicidade dos monômeros catiônicos, que tendem a migrar para a fase aquosa. Esses aglomerados podem explicar os maiores tamanhos de partícula da Figura 5.2. Ademais, na superfície das micropartículas, não é possível observar cristais de PZQ, que apresentam um formato característico de bastões, confirmando os resultados obtidos por DSC e DRX.

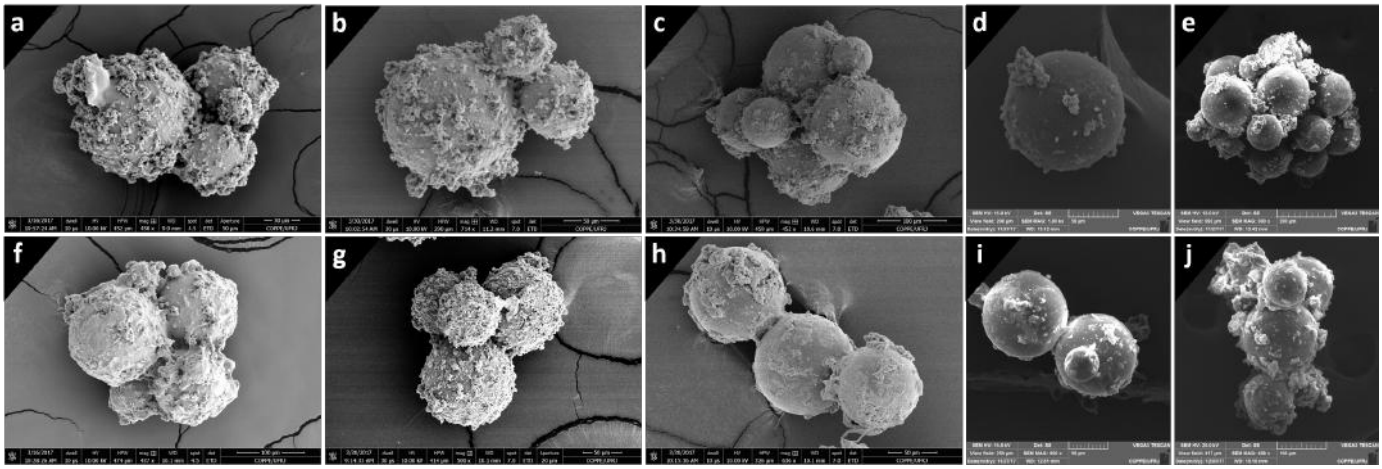


Figura 5.20: Micrografias das micropartículas dos copolímeros produzidos: (a) DE-05, (b) DE-10, (c) DE-20, (d) DE-30, (e) DE-40, (f) DM-05, (g) DM-10, (h) DM-20, (i) DM-30 e (j) DM-40.

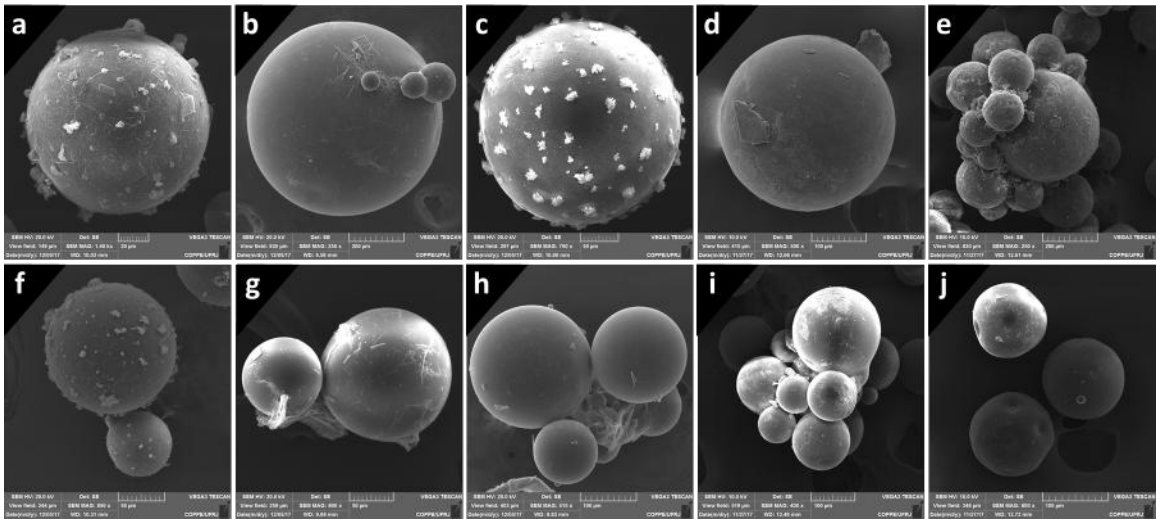


Figura 5.21: Micrografias das micropartículas dos copolímeros produzidos na presença de PZQ: (a) DE-05/PZQ, (b) DE-10/PZQ, (c) DE-20/PZQ, (d) DE-30/PZQ, (e) DE-40/PZQ, (f) DM-05/PZQ, (g) DM-10/PZQ, (h) DM-20/PZQ, (i) DM-30/PZQ e (j) DM-40/PZQ.

5.12 Ensaios de dissolução

Como previamente descrito na Seção 3.3.15, os ensaios de liberação *in vitro* foram realizados em duas faixas de pH, com o intuito de avaliar se os copolímeros produzidos apresentaram propriedades sensíveis a esse parâmetro. A influência da distribuição de tamanhos de partícula dos copolímeros também foi avaliada na liberação do fármaco.

As Figuras 5.22, 5.23, 5.24, 5.25 e 5.26 exibem os perfis de liberação do PZQ através dos copolímeros com 5, 10, 20, 30 e 40 % em massa de comonômero, respectivamente, para diferentes faixas de tamanho e pH. Como observado, já nos copolímeros produzidos com 5 % de comonômero (DE-05/PZQ e DM-05/PZQ), a mudança para pH ácido promoveu um pequeno aumento na liberação, sendo mais significante em diâmetros menores que 75 μm, em que há menor resistência difusional para o transporte do fármaco. De acordo com os resultados mostrados, é possível notar que o copolímero consegue promover o dobro da liberação em relação às micropartículas de PMMA puro em meio ácido, confirmando a sensibilidade ao pH.

Os copolímeros produzidos com 10 % em massa de comonômero (DE-10/PZQ e DM-10/PZQ) apresentaram resultados mais significativos, em que a presença do DEAEMA proporcionou uma liberação próxima a 20 % em meio ácido, em contraste com 6 % de liberação em meio neutro, para partículas com diâmetros menores que 75 μm. Os copolímeros com DMAEMA, com diâmetros menores que 75 μm, também mostraram bons resultados, atingindo liberação próxima a 16 % em pH 1,2 em comparação com 6 % de liberação em meio neutro.

Nos copolímeros produzidos com 20 % em massa de comonômero (DE-20/PZQ e DM-20/PZQ), é nítida a diferença na cinética de liberação entre os pHs, já que, em meio ácido, os copolímeros atingiram liberações em torno de 65 % com 15 minutos de ensaio, enquanto em meio neutro após 15 minutos as liberações foram de apenas 10 %, para partículas com diâmetros menores que 75 μm. Este resultado é de

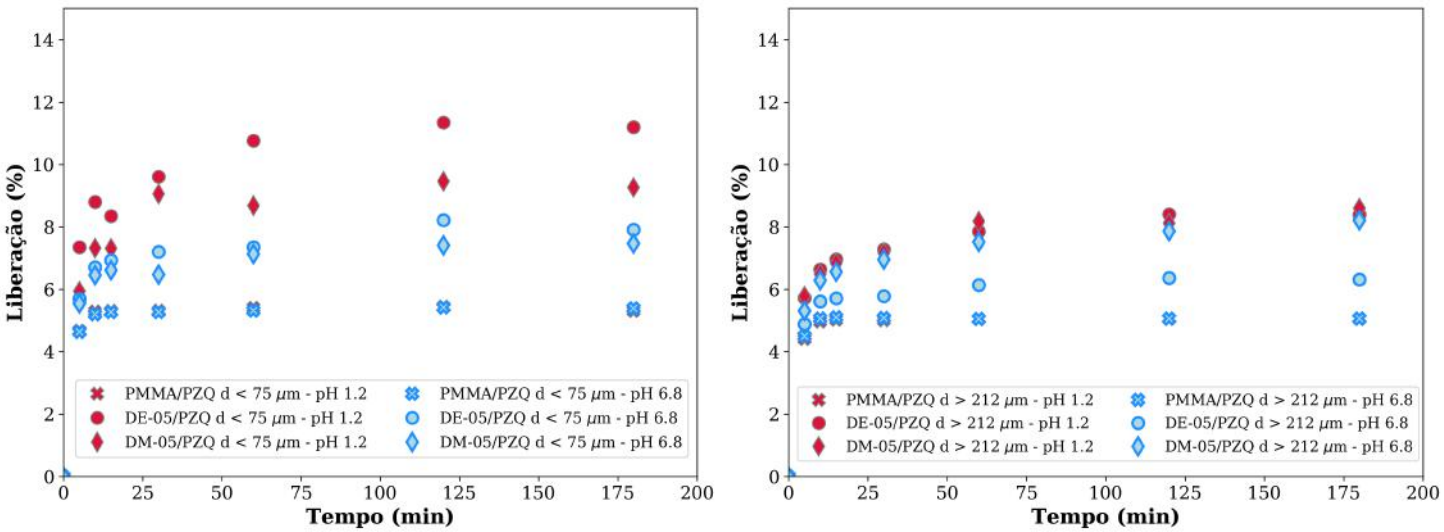
suma importância, pois indica que a liberação do fármaco não é favorecida em pHs próximos daqueles observados na boca humana, melhorando o mascaramento do sabor.

Por sua vez, os copolímeros produzidos com 30 e 40 % em massa de comonômero (DE-30/PZQ e DM-30/PZQ; DE-40/PZQ e DM-40/PZQ) alcançaram liberações próximas a 70 e 85 %, respectivamente, em pHs ácidos pelas partículas com tamanhos menores de 75 μm. No entanto, como pode ser observado, com tais teores de comonômeros catiônicos, os resultados mostram que mesmo no meio neutro as partículas apresentaram altas eficiências de liberação, indicando que, nessas micropartículas, o caráter hidrofílico é alto, favorecendo a liberação do fármaco.

Ademais, nas Figuras 5.24, 5.25 e 5.26, é possível observar que as partículas apresentaram decaimento da liberação ao longo do tempo, principalmente a partir dos 15 minutos. Esse comportamento pode ser justificado pela possível formação de um gel inchado, que foi também coletado nas alíquotas. Ressalta-se que, na prática, foi observada maior dificuldade na filtração das alíquotas com a saturação dos filtros de seringa, sugerindo realmente a remoção desse gel. Desse modo, as coletas consecutivas resultavam na redução de partículas no meio que ainda poderiam liberar mais fármaco, promovendo, assim, a diminuição da eficiência de liberação com o decorrer do ensaio.

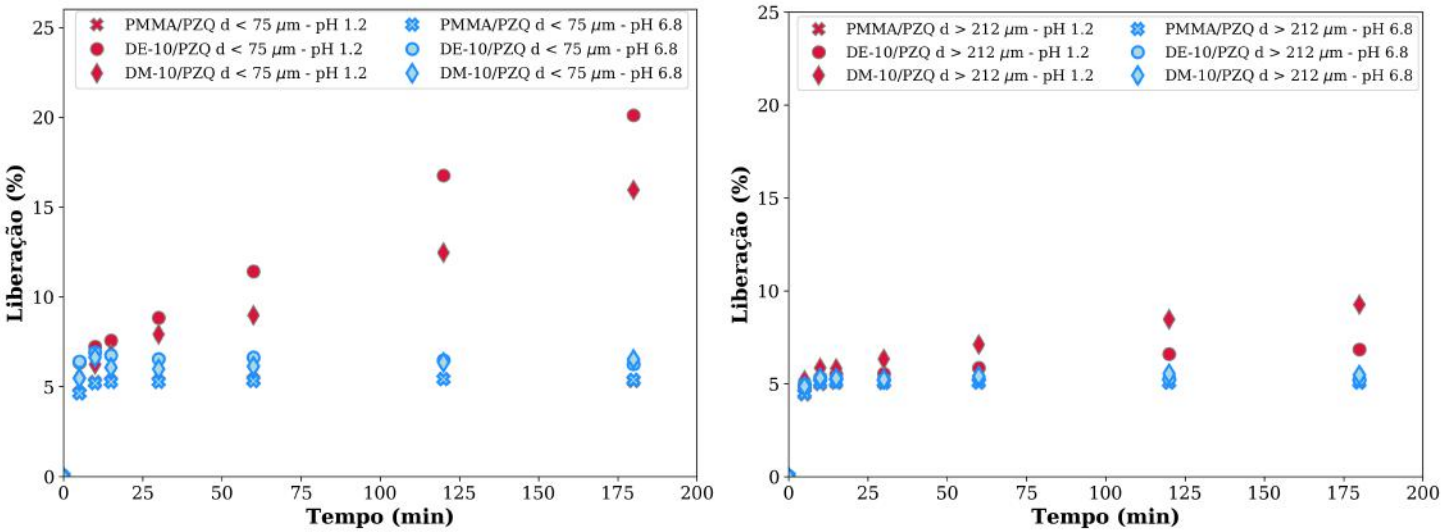
De modo geral, os resultados obtidos para os copolímeros mostram a nítida influência do pH na liberação do PZQ, confirmando a formação de copolímeros inteligentes e sensíveis ao pH. Acredita-se que, em pH ácido, ocorra a protonação dos grupos dietilaminoetila e dimetilaminoetila presentes na estrutura do PDEAEMA e PDMAEMA, respectivamente, resultando em estruturas hidrofílicas e, portanto, promovendo a melhor liberação do fármaco, por conta do inchamento das partículas.

Além disso, nos ensaios de liberação dos copolímeros, foi possível observar a influência mais significativa do tamanhos de partículas sobre a liberação, já que os resultados com diâmetros menores foram melhores do que aqueles com maiores diâmetros, devido à menor resistência difusional presente (ARIFIN *et al.*, 2006).



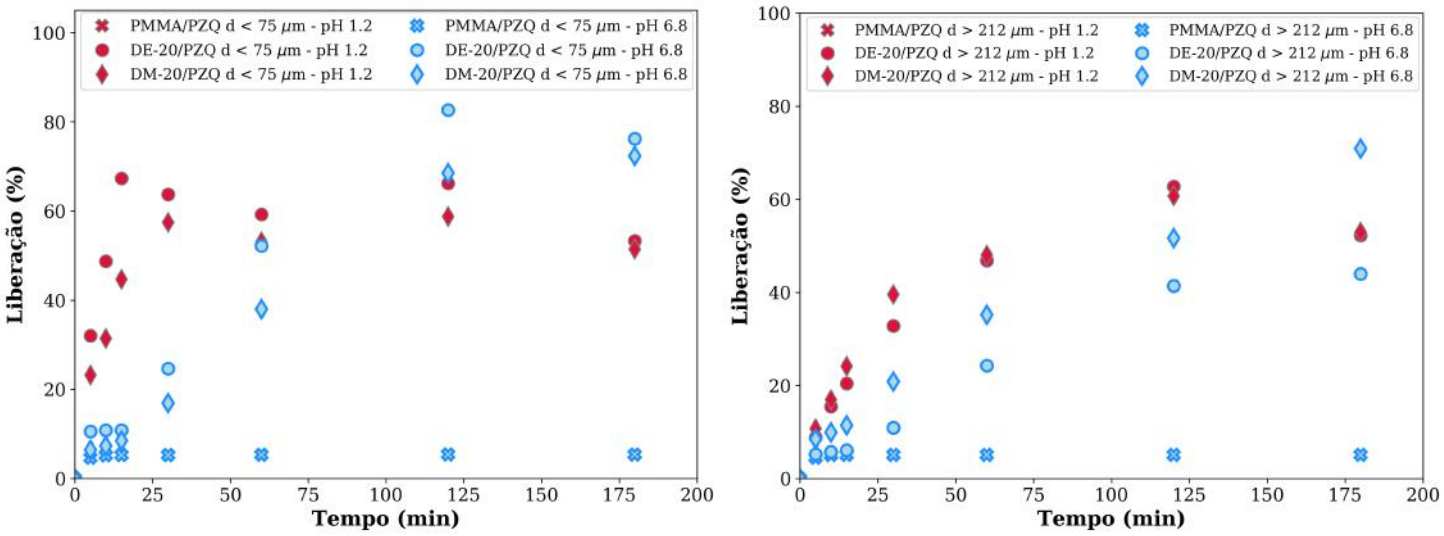
(a) d $<$ 75 μm (b) d $>$ 212 μm

Figura 5.22: Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas de PMMA e dos copolímeros DE-05/PZQ e DM-05/PZQ, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d $<$ 75 μm (esquerda) e d $>$ 212 μm (direita).



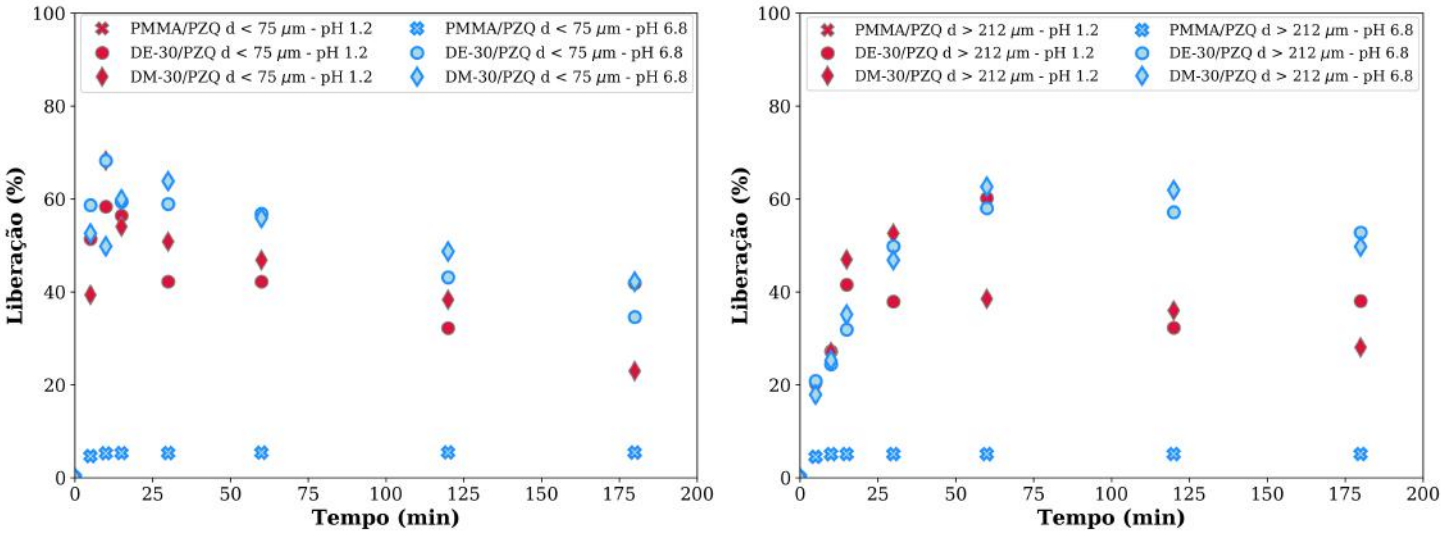
(a) d $<$ 75 μm (b) d $>$ 212 μm

Figura 5.23: Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas de PMMA e dos copolímeros DE-10/PZQ e DM-10/PZQ, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d $<$ 75 μm (esquerda) e d $>$ 212 μm (direita).



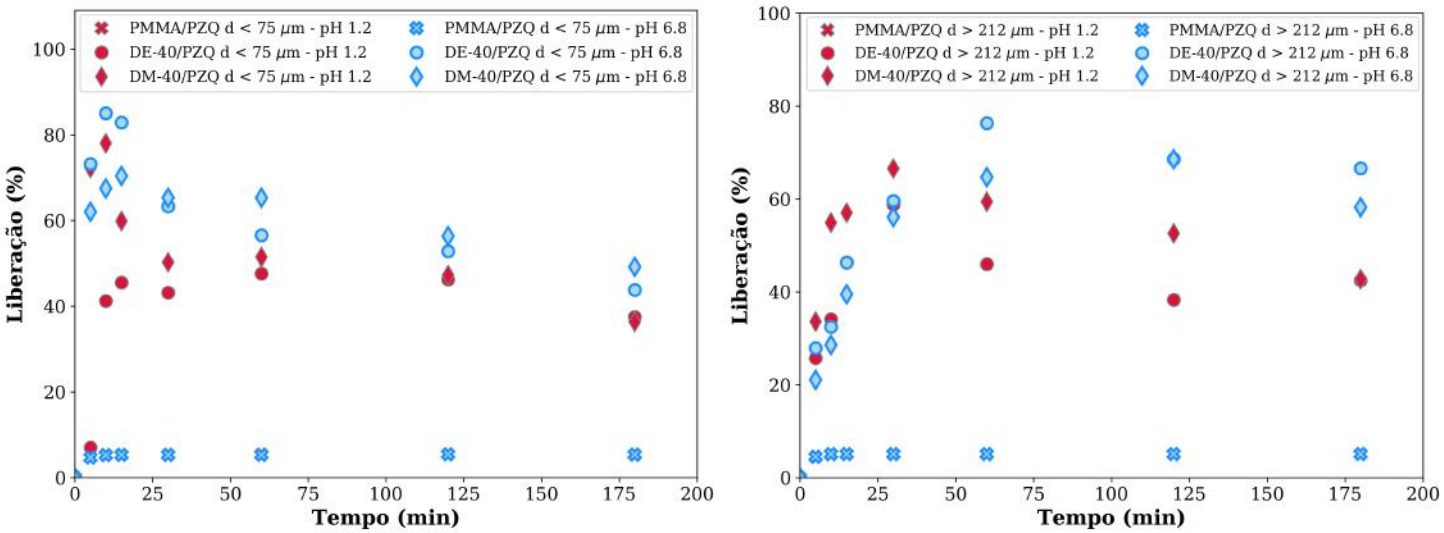
(a) d $<$ 75 μm (b) d $>$ 212 μm

Figura 5.24: Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas de PMMA e dos copolímeros DE-20/PZQ e DM-20/PZQ, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d $<$ 75 μm (esquerda) e d $>$ 212 μm (direita).



(a) d $<$ 75 μm (b) d $>$ 212 μm

Figura 5.25: Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas de PMMA e dos copolímeros DE-30/PZQ e DM-30/PZQ, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d $<$ 75 μm (esquerda) e d $>$ 212 μm (direita).



(a) d < 75 μm (b) d > 212 μm

Figura 5.26: Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas de PMMA e dos copolímeros DE-40/PZQ e DM-40/PZQ, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d < 75 μm (esquerda) e d > 212 μm (direita).

5.13 Considerações preliminares

Os resultados dispostos neste capítulo apontam que é possível sintetizar partículas inteligentes no tamanho micrométrico por meio da técnica de polimerização em suspensão. Ressalta-se que não foram encontrados trabalhos que reportem tal procedimento, confirmando a originalidade do presente trabalho. Além disso, os resultados apresentados mostram que foi possível obter altas eficiências de encapsulamento, mesmo na presença dos comonômeros catiônicos (DEAEMA e DMAEMA).

Os resultados obtidos confirmaram a formação de partículas inteligentes, que apresentam sensibilidade ao pH, como indicado principalmente pelas análises de potencial zeta e pelos ensaios de dissolução. Contudo, entende-se que o aparato utilizado nos ensaios de dissolução não é o recomendado pela Farmacopeia Brasileira, e que novos ensaios de dissolução devem ser realizados no dissolutor, aparato sugerido pela ANVISA (2010). Porém, por conter 8 cubas de 1 L, o dissolutor demanda maiores quantidades de material polimérico.

Desse modo, diante dos resultados promissores obtidos e da necessidade

de maiores quantidades de micropartículas, foram selecionados os copolímeros produzidos com 20, 30 e 40 % em massa de comonômero (DEAEMA e DMAEMA) para dar início ao escalonamento do processo. Primeiramente, o escalonamento foi feito para o reator de 1 litro e, posteriormente, para o reator de 12 litros, presente na planta piloto localizada no EngePol.

Capítulo 6

Resultados e Discussão - Escalonamento do Processo

Este capítulo apresenta os resultados obtidos no estudo do escalonamento da produção das micropartículas inteligentes para os reatores de 1 litro e de 12 litros. Ressalta-se que todas as partículas produzidas continham 30 % de PZQ. Cabe ressaltar também que, apesar de entendermos a importância das reações de síntese dos copolímeros puros para o estudo, optamos por realizar diretamente as reações na presença do fármaco, de modo a minimizar o gasto de reagente.

Outro ponto a ser salientado que, infelizmente, não está contido neste capítulo, são os resultados de massa molar, que usualmente são obtidos via cromatografia de permeação em gel (GPC). Como descrito no capítulo anterior, houve grande dificuldade para solubilização dos materiais poliméricos no solvente da análise (tetrahidrofurano). Em suma, os resultados de diversos testes de solubilização permitiram chegar à conclusão de que os materiais produzidos requerem que a análise de GPC seja realizada em altas temperaturas; contudo, diante da inexistência de técnica desenvolvida para esse fim, não foi possível obter os resultados de massa molar.

Parte I

Escalonamento - Reator 1 L

A Tabela 6.1 resume as micropartículas selecionadas para esta terceira parte do trabalho.

Tabela 6.1: Relação das micropartículas de P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) sintetizadas no reator de 1 litro na Fase III do trabalho.

Reação	**Considerações**
DE-20/PZQ-1L ou DM-20/PZQ-1L	20 % de comonômero com 30 % de PZQ
DE-30/PZQ-1L ou DM-30/PZQ-1L	30 % de comonômero com 30 % de PZQ
DE-40/PZQ-1L ou DM-40/PZQ-1L	40 % de comonômero com 30 % de PZQ

6.1 Avaliação dos tamanhos de partícula (R. 1L)

A Figura 6.1 e a Tabela 6.2 mostram as distribuições de tamanhos e os diâmetros médios dos copolímeros sintetizados no reator de 1 litro via técnica de espalhamento de luz. Conforme pode ser visto, as partículas produzidas exibiram distribuições de tamanhos na faixa micrométrica, como consequência do uso da técnica de polimerização em suspensão, como discutido nos capítulos anteriores. Além disso, como pode ser observado, os copolímeros apresentam distribuições com um pequeno ombro em tamanhos maiores e um pequeno pico próximo a 10 μm.

Para fins de comparação, as micropartículas estão apresentadas com as suas similares que foram produzidas em escala de bancada, no minirreator. Quando comparadas, os copolímeros produzidos no reator de 1 litro apresentaram distribuições deslocadas para tamanhos menores, o que provavelmente se deve à maior agitação aplicada ao sistema, indicando que é possível obter partículas menores dos copolímeros.

De modo geral, no que diz respeito à aplicação final desejada (liberação de

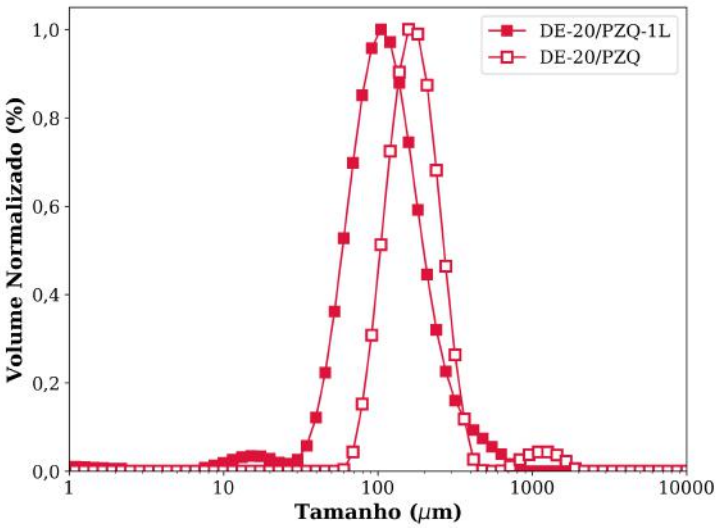
fármacos), acredita-se que menores tamanhos de partículas exibem resistências difusionais menos acentuadas e, portanto, resultam em maior eficiência de liberação de fármaco. Desse modo, os resultados obtidos podem levar a melhores perfis de liberação do PZQ.

Em resumo, pode-se concluir que o ajuste dos tamanhos das micropartículas dos copolímeros pode ser realizado por meio das condições de agitação do sistema utilizado; o que, por sua vez, pode permitir a coordenação da liberação de fármacos.

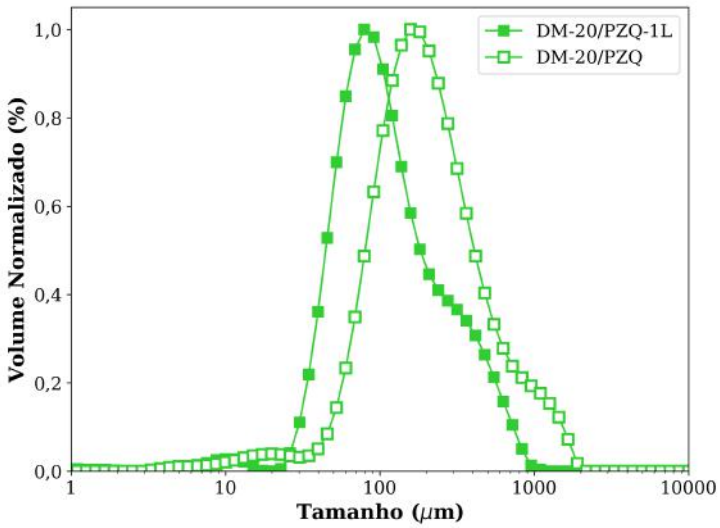
Tabela 6.2: Relação dos tamanhos médios das partículas dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro na Fase III do trabalho.

Reação	**Tamanho Médio** (μ**m**)	$\mathbf{d_{10}}$ (μ**m**)	$\mathbf{d_{50}}$ (μ**m**)	$\mathbf{d_{90}}$ (μ**m**)	**Span***
DE-20/PZQ-1L	132,87	57,97	116,92	250,94	1,650
DM-20/PZQ-1L	159,13	50,04	109,54	394,01	3,140
DE-30/PZQ-1L	126,86	46,76	98,38	269,80	2,267
DM-30/PZQ-1L	185,42	53,07	132,16	445,58	2,970
DE-40/PZQ-1L	148,89	64,69	127,85	250,46	1,453
DM-40/PZQ-1L	92,56	27,64	65,35	226,88	3,049

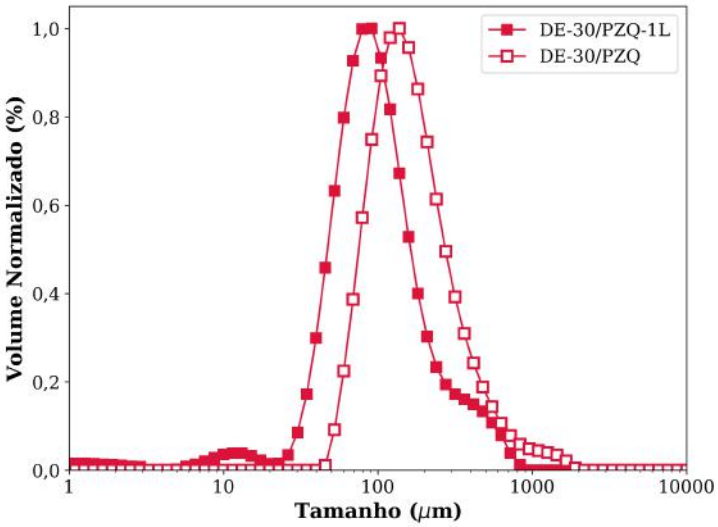
*Span = (d_{90} - d_{10})/d_{50}



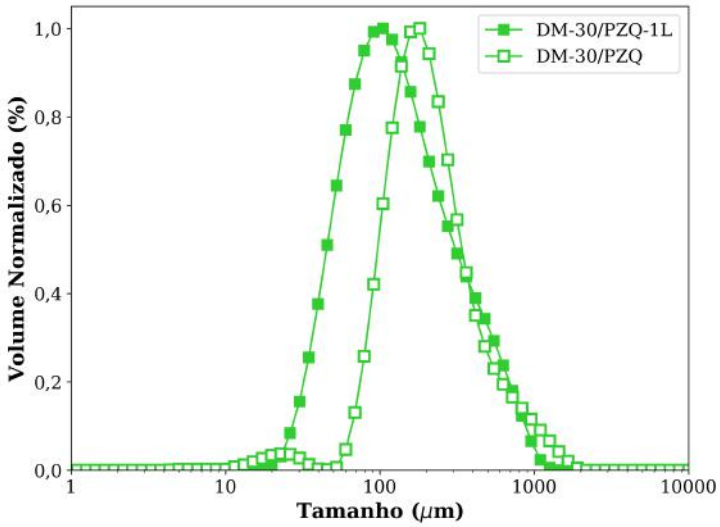
(a) 20 % de DEAEMA



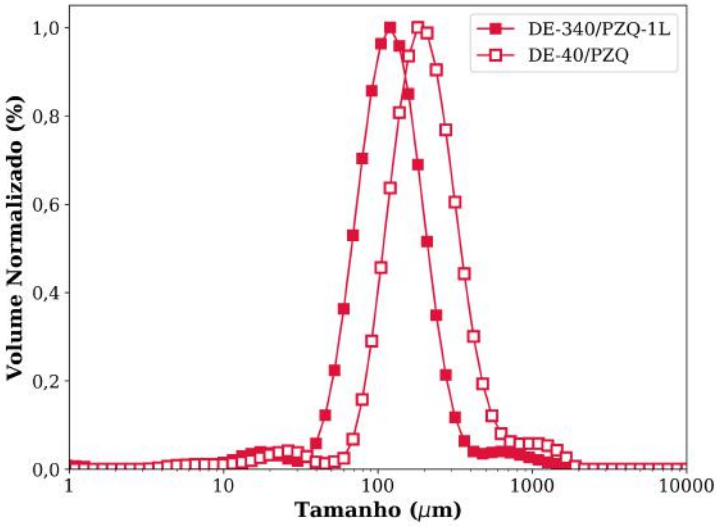
(b) 20 % de DMAEMA



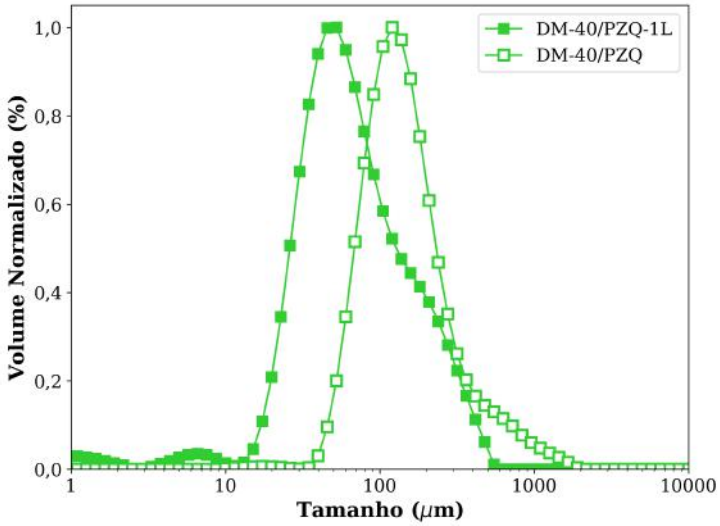
(c) 30 % de DEAEMA



(d) 30 % de DMAEMA



(e) 40 % de DEAEMA



(f) 40 % de DMAEMA

Figura 6.1: Distribuição de tamanhos de partículas para os copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro e no minirreator, nas Fases II e III do trabalho.

6.2 Eficiência de encapsulamento (R. 1L)

Como indicado no Capítulo 3, as eficiências de encapsulamento foram obtidas via técnica de ultrafiltração-centrifugação e estão apresentadas na Tabela 6.3. Como observado, os copolímeros catiônicos produzidos no reator de 1 litro também promoveram altas eficiências de encapsulamento, sendo superiores a 80 %. De modo geral, os resultados obtidos foram muito próximos às eficiências exibidas pelos copolímeros sintetizados no minirreator.

Novamente, o teor de fármaco efetivamente encapsulado foi levemente inferior nos copolímeros com DMAEMA do que com DEAEMA. Essa diferença, relativamente pequena, pode ser atribuída à maior hidrofilicidade do grupo DMAEMA (THAVANESAN *et al.*, 2014), resultando na maior perda do PZQ para a fase aquosa.

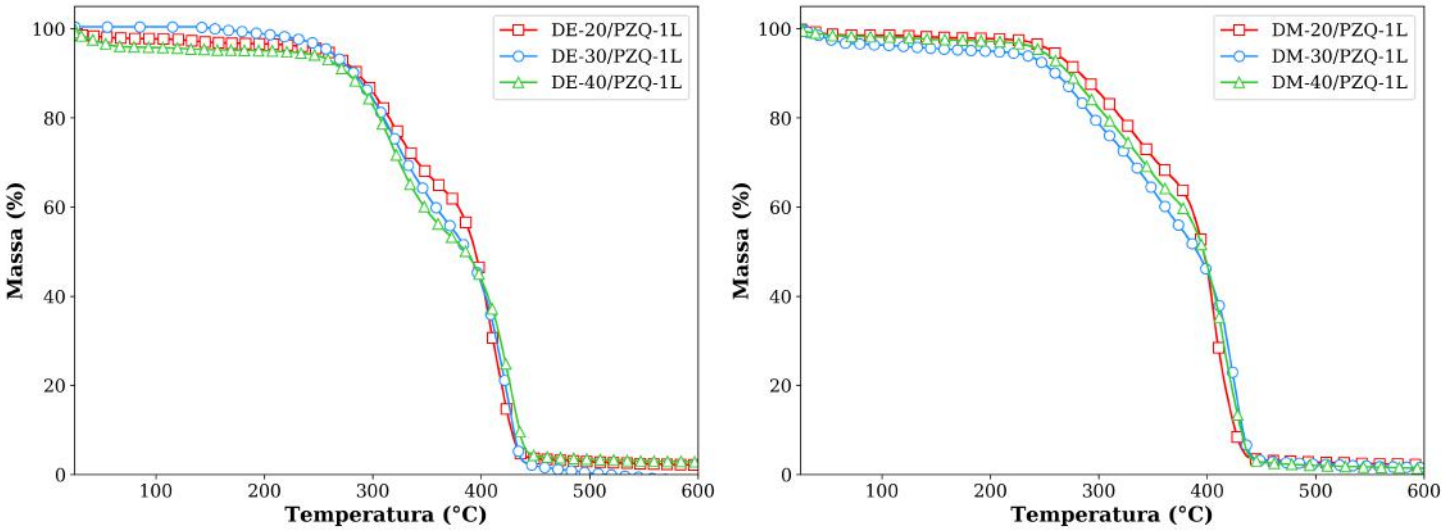
Contudo, de maneira geral, a técnica de polimerização em suspensão dos materiais poliméricos, na presença dos comonômeros catiônicos, não parece afetar o desempenho de encapsulamento do fármaco.

Tabela 6.3: Eficiências de encapsulamento de PZQ nos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro na Fase III do trabalho.

Reação	**Eficiência de Encapsulamento (%)**
DE-20/PZQ-1L	90,47
DM-20/PZQ-1L	90,69
DE-30/PZQ-1L	90,71
DM-30/PZQ-1L	88,75
DE-40/PZQ-1L	90,15
DM-40/PZQ-1L	88,83

6.3 Análises térmicas (R. 1L)

Os copolímeros sintetizados no reator de 1 litro foram caracterizados por meio das análises de TGA e DSC, de modo a obter informações das suas propriedades térmicas. As análises termogravimétricas (Figura 6.2) permitem inferir que, de modo geral, todos os copolímeros produzidos (tanto com DEAEMA quanto com DMAEMA) apresentaram perfis de degradação muito similares, tendo temperaturas de máxima degradação próximas a 400 °C. Além disso, os materiais produzidos mostraram curvas de degradação térmica muito semelhantes às apresentadas pelos copolímeros sintetizados em escala de bancada (Figura 5.7), sugerindo que o escalonamento para o reator de 1 litro não afetou a estabilidade térmica dos copolímeros.



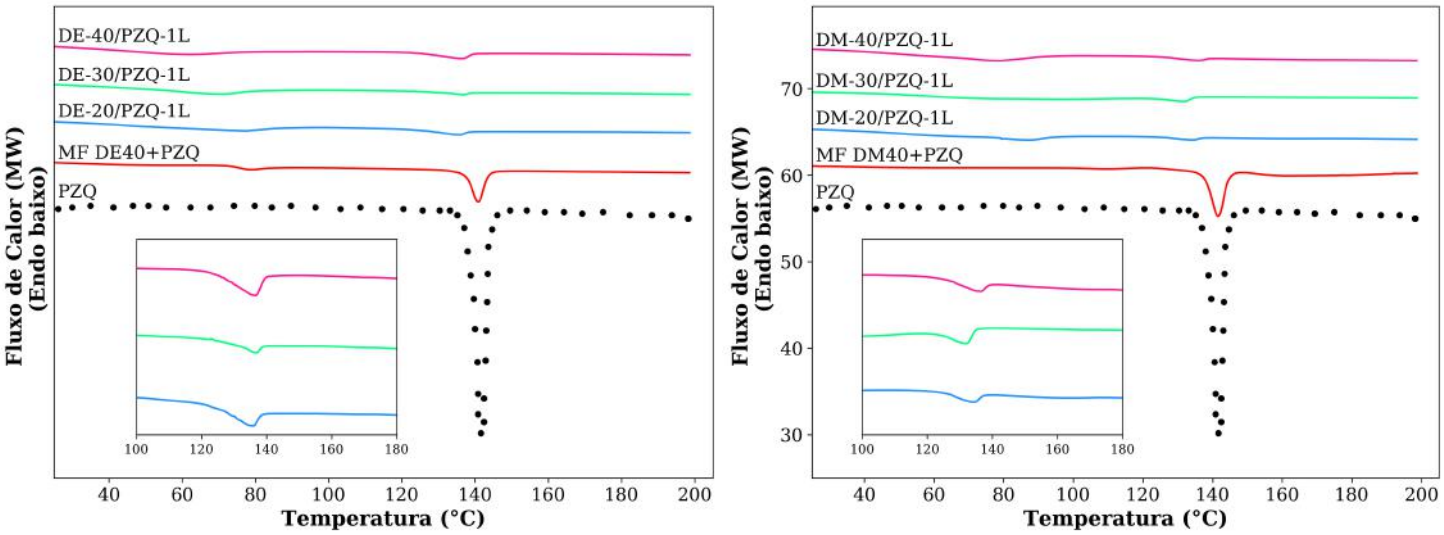
(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

Figura 6.2: Curvas termogravimétricas dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro na Fase III do trabalho.

Com o intuito de caracterizar a interação entre os copolímeros sintetizados e o fármaco encapsulado e, por consequência, avaliar a qualidade do encapsulamento, as análises de DSC foram realizadas, usando apenas o primeiro aquecimento. Como bem reportado, o praziquantel exibe uma transição endotérmica próximo a 140 °C, referente ao seu ponto de fusão (ANVISA, 2010), estando presente no termograma

do fármaco puro e das misturas físicas (Figura 6.3). Sua detecção no termograma das misturas físicas se dá pela formação de uma fase cristalina segregada, que por efeito diluente da presença dos copolímeros, fica com uma menor intensidade.

Como ilustrado na Figura 6.3, os termogramas dos copolímeros produzidos no reator de 1 litro apresentaram o pico característico do fármaco, indicando que o praziquantel estava presente na forma de cristais na superfície das micropartículas. Ressalta-se que a presença de uma fase cristalina segregada pode prejudicar o mascaramento do sabor, deixando presente na superfície o amargor característico do PZQ. Acredita-se que tal resultado pode ser contornado com novos processos de lavagem e filtração das micropartículas, como realizado por FONSECA *et al.* (2013b).



(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

Figura 6.3: Curvas de DSC dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro na Fase III do trabalho.

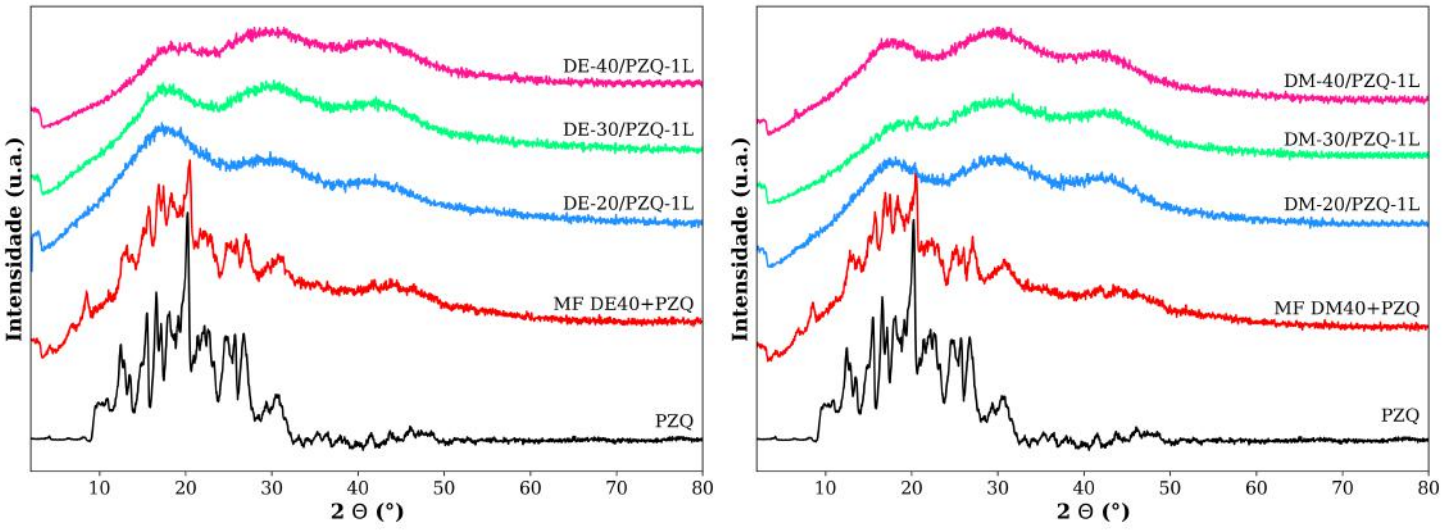
6.4 Difratometria de raios X (DRX) (R. 1L)

Como anteriormente apresentado, as análises de difratometria de Raios X (DRX) do fármaco puro exibem picos agudos intensos entre $2\theta = 10°$ a $2\theta = 30°$, caracterizando sua estrutura cristalina, como bem reportado por PASSERINI *et al.* (2006) e LIU *et al.* (2004). De maneira análoga, os difratogramas das misturas físicas

também evidenciam a presença dos cristais do PZQ, porém em menor intensidade por estarem na presença dos copolímeros puros.

Por outro lado, a Figura 6.4 aponta que as micropartículas obtidas no reator de 1 litro mostram uma redução significativa da rede cristalina do PZQ, evidenciando a estrutura amorfa do fármaco nesses materiais poliméricos. Esses resultados sugerem que os copolímeros tenham desordenado a estrutura espacial do fármaco, estando o mesmo disperso na matriz polimérica. Desse modo, os resultados obtidos via DRX parecem não ratificar as conclusões definidas pelas análises de DSC e a sugerir a ausência de cristais de PZQ na mistura.

Esses resultados mais uma vez são de grande importância para o trabalho, pois confirmam a capacidade desses sistemas poliméricos em amorfizar uma grande quantidade de fármaco. Vale ressaltar que, apesar da forma cristalina de um ativo proporcionar alta pureza e estabilidade física, a mesma é caracterizada pela limitação na dissolução, resultando na menor eficiência da formulação final. Desse modo, os resultados obtidos são promissores pela presença do PZQ no seu estado amorfo, que por sua vez oferece uma menor barreira de energia, resultando na maior facilidade de solubilização (BAGHEL *et al.*, 2016; SUN *et al.*, 2016).



(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

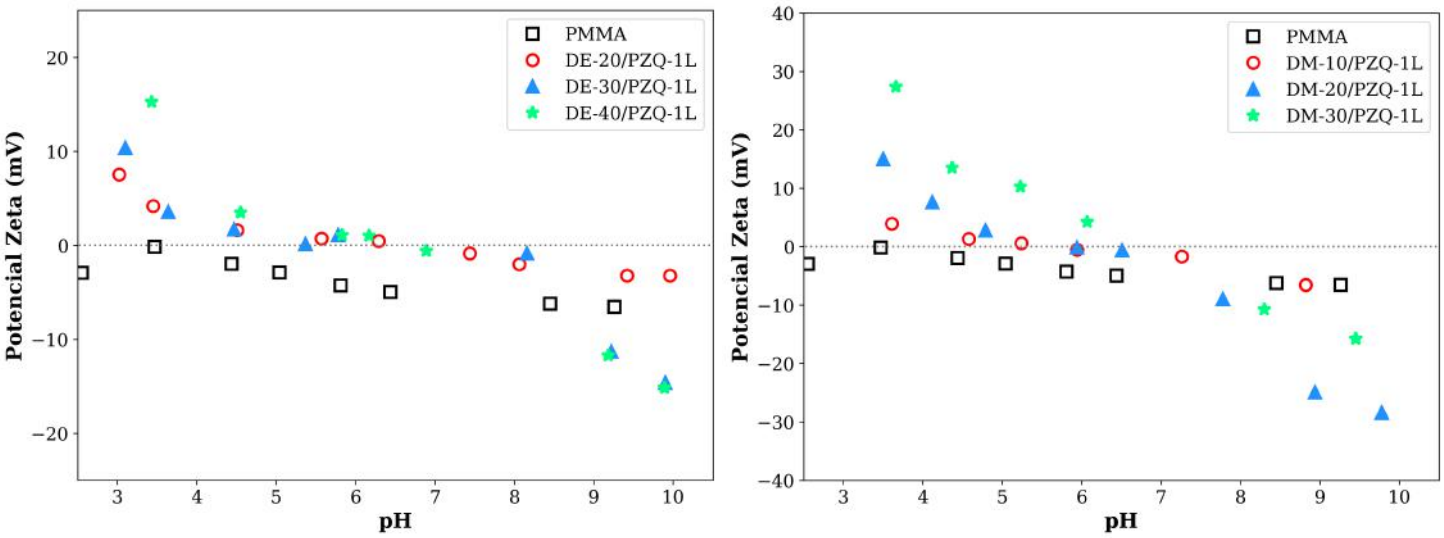
Figura 6.4: Difratogramas de DRX dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro na Fase III do trabalho.

6.5 Potencial zeta (R. 1L)

As análises de potencial zeta foram conduzidas de modo a confirmar a presença dos monômeros catiônicos nos copolímeros produzidos. Visto que essa análise permite caracterizar a carga superficial das micropartículas como função do pH, acredita-se que é possível verificar a ionização dos grupos amino presentes apenas nos comonômeros catiônicos. Os potenciais zeta das micropartículas sintetizadas no reator de 1 litro estão apresentados na Figura 6.5. Para fins de comparação, o potencial zeta das micropartículas de PMMA puro (produzido no minirreator) também está presente na Figura 6.5.

Como observado, a influência do pH é fortemente significativa para os copolímeros catiônicos produzidos, em que fica evidente a protonação dos grupos amino em meios ácidos. Ademais, é possível observar que o aumento do teor dos comonômeros resultou no incremento das cargas superficiais, o que se deve à maior concentração das aminas terciárias nos materiais poliméricos produzidos. Por sua vez, em pHs básicos os copolímeros apresentaram cargas negativas, como consequência da "desprotonação" dos grupos amino. Resultados similares foram reportados por HU *et al.* (2007).

Ao comparar o curva do potencial zeta dos copolímeros com aquela do PMMA puro, fica nítida a importância do pH sobre as propriedades dos copolímeros catiônicos. Desse modo, os resultados parecem confirmar a mudança na composição dos materiais produzidos, sugerindo que houve de fato a formação de materiais poliméricos inteligentes e sensíveis ao pH, mostrando-se promissor para a aplicação pretendida.



(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

Figura 6.5: Potencial zeta dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro na Fase III do trabalho.

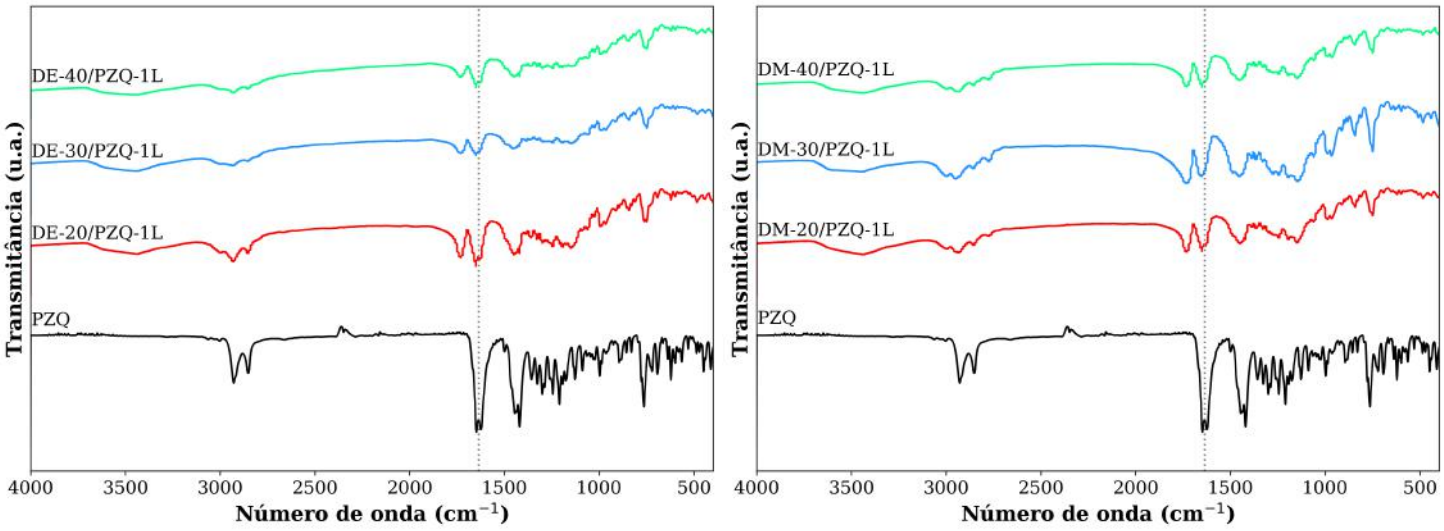
6.6 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) (R. 1L)

Os espectros de FTIR dos copolímeros sintetizados no reator de 1 litro estão apresentados na Figura 6.6. De modo geral, as análises de FTIR permitem identificar ligações e grupamentos químicos presentes na estrutura das cadeias poliméricas. Infelizmente, as aminas terciárias não são possíveis de serem caracterizadas via FTIR (PAVIA *et al.*, 2001); no entanto, a incorporação dos comonômeros catiônicos pode ser confirmada pela presença da ligação -C-N.

De maneira geral, é possível delimitar as bandas características do éster, presente tanto no PMMA quanto nos comonômeros catiônicos (DEAEMA e DMAEMA), em 1.720 cm^{-1} (banda característico do grupo carbonila) e em 1.140 cm^{-1} (banda característico da ligação -C-O). Por outro lado, a ligação -C-N, no geral, é caracterizada por uma banda entre 1.000 e 1.350 cm^{-1}, região em que o PMMA puro também apresenta a banda característica da ligação C-O (PAVIA *et al.*, 2001). Desse modo, não é possível concluir de forma inequívoca sobre a formação dos copolímeros.

Ademais, os copolímeros produzidos também apresentam a banda característica do PZQ (em 1.640 cm^{-1}) em seus espectros, sugerindo que o fármaco está presente nas camadas superficiais da matriz polimérica. Vale salientar que a banda próxima a 3.500 cm^{-1} refere-se ao estiramento da ligação -OH da água, indicando que as amostras poliméricas contêm um certo teor de umidade.

Em suma, os espectros apresentados na Figura 6.6 não apresentam mudanças significativas em relação aos espectros dos copolímeros sintetizados em escala de bancada.



(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

Figura 6.6: Espectros de FTIR dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro na Fase III do trabalho.

6.7 Ângulo de contato (R. 1L)

As análises de ângulo de contato foram realizadas de modo a inferir informações a respeito da hidrofilicidade dos materiais poliméricos produzidos e, por consequência, confirmar a presença dos comonômeros catiônicos hidrofílicos. As análises foram conduzidas em meio ácido, visto que as aminas terciárias presentes nas estruturas dos monômeros DEAEMA e DMAEMA ficam protonadas nesta faixa de pH, resultando no acréscimo da hidrofilicidade do material final.

Os resultados obtidos estão presentes na Tabela 6.4 e mostram a nítida redução do ângulo de contato dos copolímeros em relação ao do PMMA puro, confirmando a formação de micropartículas hidrofílicas, em meio ácido (ROSEN e KUNJAPPU, 2012). Esse comportamento mostra-se como um forte indício da presença dos comonômeros catiônicos, principalmente porque os ângulos de contato decaem com o aumento do teor desses compostos.

De modo geral, assim como os resultados de potencial zeta, as medidas de ângulo de contato sugerem que a copolimerização ocorreu de maneira eficiente, tendo a formação de micropartículas poliméricas sensíveis ao pH.

Tabela 6.4: Ângulos de contato, em meio ácido, do PMMA e dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro na Fase III do trabalho.

Reação	**Ângulo de Contato (°)**
PMMA*	72,37
DE-20/PZQ-1L	46,76
DM-20/PZQ-1L	60,13
DE-30/PZQ-1L	44,92
DM-30/PZQ-1L	56,68
DE-40/PZQ-1L	42,84
DM-40/PZQ-1L	54,71

*PMMA produzido em escala de bancada (minirreator).

6.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) (R. 1L)

A Figura 6.7 ilustra as micrografias dos copolímeros sintetizados no reator de 1 litro. Como pode ser observado, as micrografias corroboram a formação de partículas esféricas que apresentam tamanhos micrométricos. De modo geral, a presença dos comonômeros catiônicos parece não interferir na formação das micropartículas;

contudo, é possível observar que as partículas apresentam superfícies irregulares. Esse comportamento provavelmente é resultado da maior interação dos comonômeros com a fase aquosa, que, por consequência, tendem a migrar para a superfície das micropartículas.

As micrografias ainda permitem avaliar a presença do praziquantel na superfície das partículas. Sabe-se que o PZQ apresenta uma forma característica de bastão, como reportado por FONSECA (2012). Dentre os copolímeros produzidos, a micrografia das micropartículas DE-40/PZQ-1L (Figura 6.7-c) parece indicar a presença de pequenos bastões, como anteriormente previsto pelas análises de DSC. No entanto, vale salientar que as análises de DRX não identificaram a presença de cristais nas micropartículas.

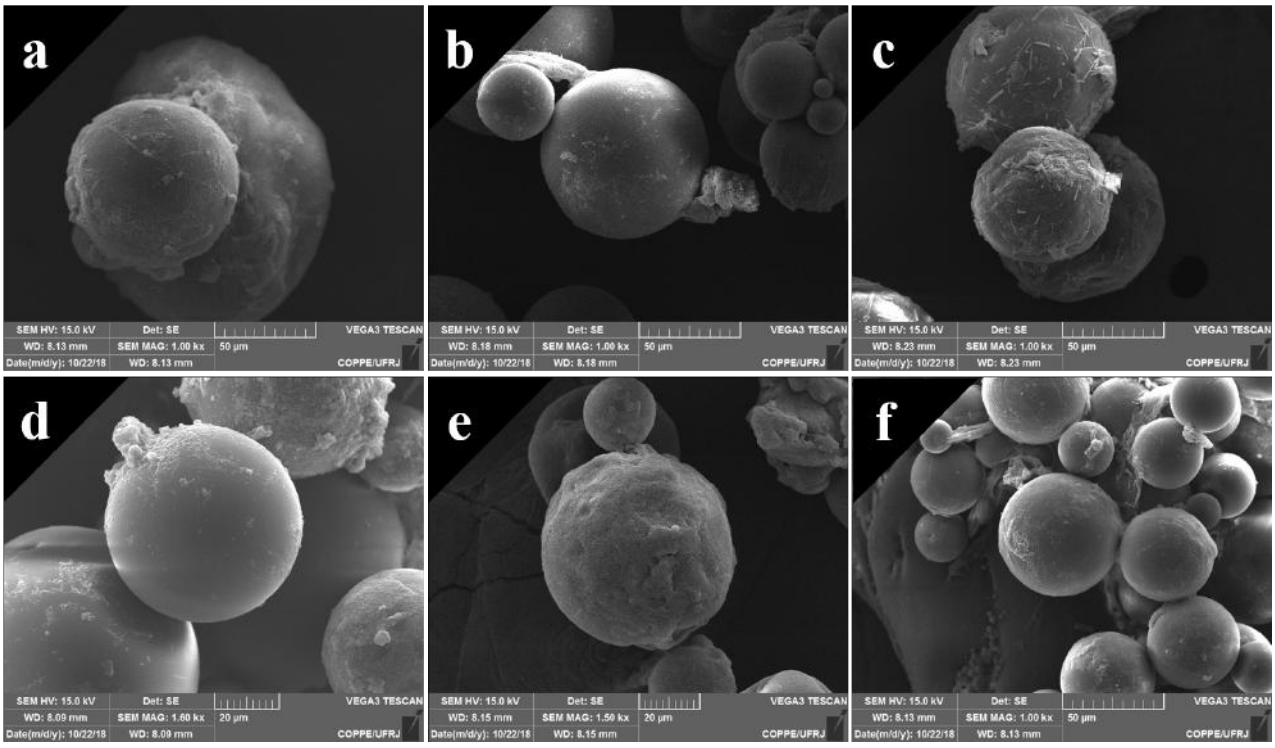


Figura 6.7: Micrografias das micropartículas dos copolímeros produzidos na presença de PZQ no reator de 1 litro: (a) DE-20/PZQ-1L, (b) DE-30/PZQ-1L, (c) DE-40/PZQ-1L, (d) DM-20/PZQ-1L, (e) DM-30/PZQ-1L, (f) DM-40/PZQ-1L.

6.9 Ensaios de dissolução (R. 1L)

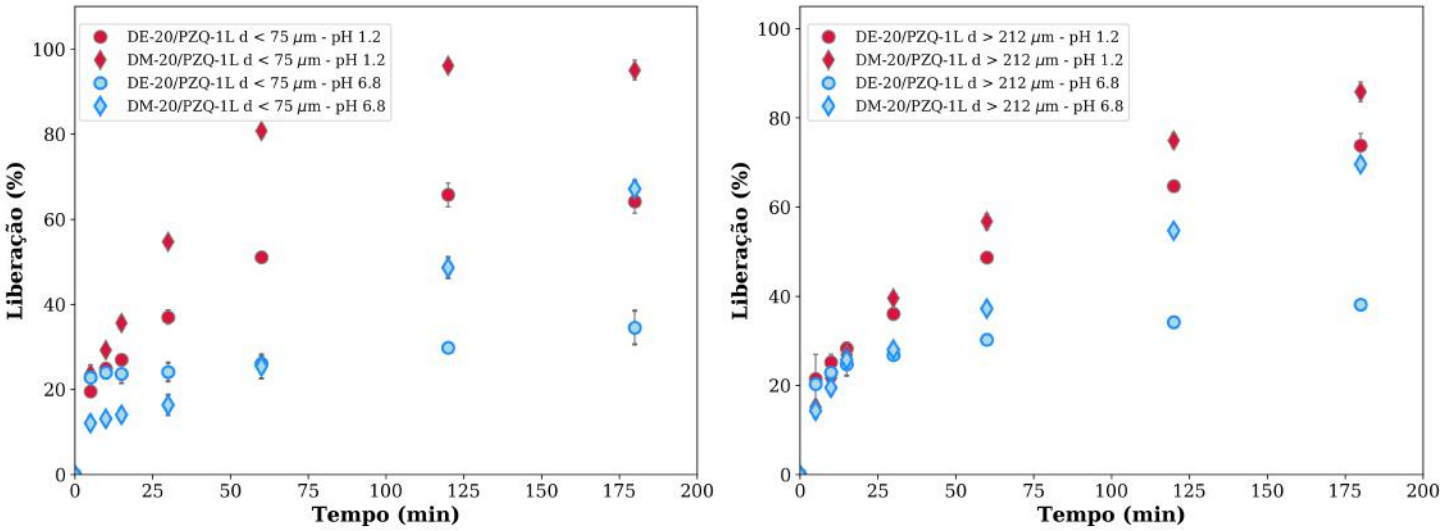
Os ensaios de dissolução dos copolímeros produzidos no reator de 1 litro foram conduzidos no dissolutor, por ser o aparato recomendado pela ANVISA (2010). Seguindo a mesma abordagem do capítulo anterior, as influências do pH e do diâmetro de partícula foram avaliadas para os ensaios de dissolução. Em resumo, os ensaios foram conduzidos em duas faixas de pH (1,2 e 6,8) e em duas faixas de diâmetro ($d < 75$ μm e $d > 212$ μm). A influência do pH é de suma importância para o trabalho, visto que torna possível confirmar a formação de micropartículas inteligentes. Por sua vez, estudar a influência do diâmetro permite obter informações sobre o mecanismo que governa o processo de liberação do fármaco.

As Figuras 6.8 a 6.10 mostram os perfis de liberação do PZQ através das micropartículas dos copolímeros produzidos com 20 %, 30 % e 40 % dos comonômeros, respectivamente. Ao contrário do que foi observado nos ensaios de dissolução realizados em escala de bancada (em béqueres para um volume de 25 mL), os resultados apontam que não houve o decaimento da quantidade de PZQ liberado ao longo do tempo, indicando que o volume de ensaio e o meio de agitação são parâmetros importantes para a realização dos ensaios de dissolução. De acordo com a ANVISA (2010), é importante que a amostra analisada não flutue no meio de dissolução, o que de fato ocorria nos ensaios em escala de bancada e, por consequência, poderia estar favorecendo a formação do gel inchado, como reportado anteriormente (Seção 5.12).

De modo geral, os resultados apontam que, nos copolímeros produzidos com 20 % de comonômero, as quantidades de PZQ liberadas foram mais pronunciadas na presença do DMAEMA do que para os copolímeros com DEAEMA, o que provavelmente pode ser justificado pela maior hidrofilicidade do DMAEMA. Contudo, com 30 e 40 % de comonômero, os copolímeros apresentaram respostas bastante similares, alcançando 100 % de liberação com 30 minutos de ensaio. No que diz respeito à formulações de liberação modificada, a ANVISA recomenda que os

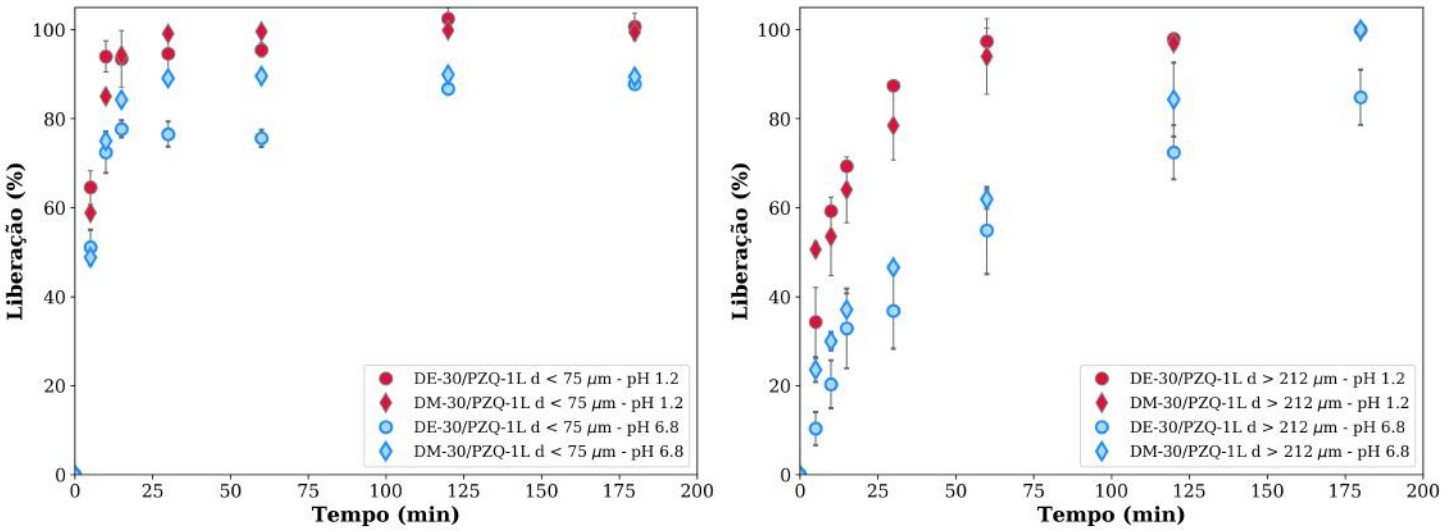
materiais atinjam pelo menos 85 % de liberação, confirmando o potencial promissor dos copolímeros produzidos.

Assim como reportado para os ensaios de dissolução em escala de bancada, os resultados mostram que, mesmo no pH 6,8, os copolímeros com 30 e 40 % de comonômero conseguem, ao final do ensaio, alcançar altas eficiências de liberação de PZQ. Desse modo, os resultados parecem indicar que as partículas estão altamente hidrofílicas, favorecendo portanto a liberação do fármaco.



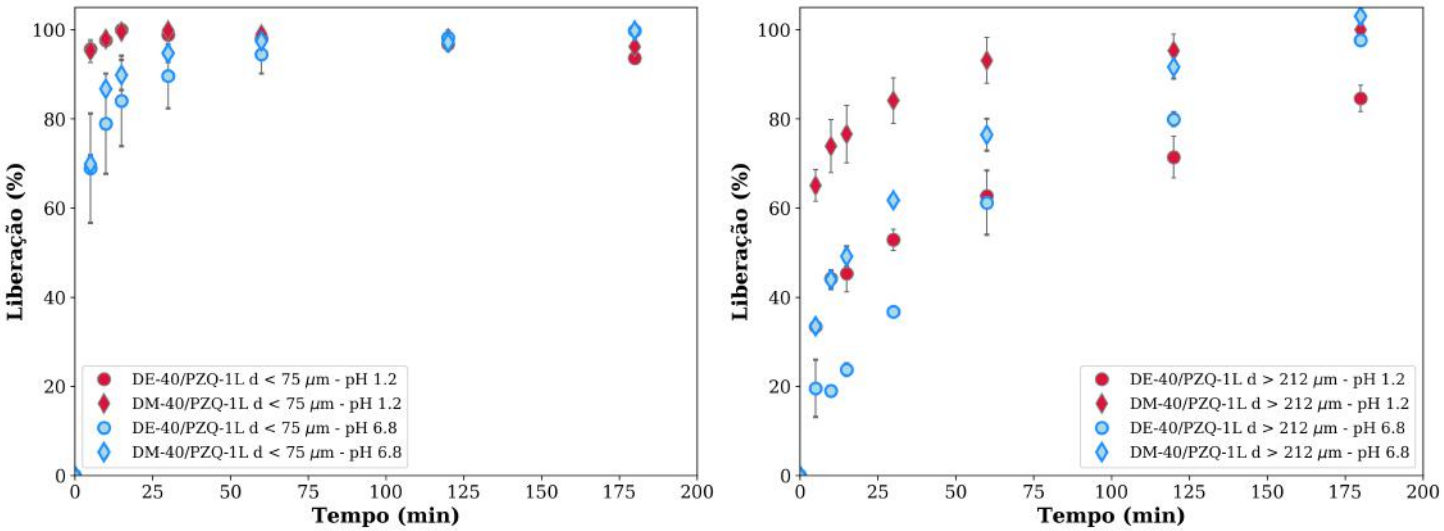
(a) d $<$ 75 μm (b) d $>$ 212 μm

Figura 6.8: Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas produzidas no reator de 1 litro dos copolímeros DE-20/PZQ-1L e DM-20/PZQ-1L, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d $<$ 75 μm (esquerda) e d $>$ 212 μm (direita).



(a) d $<$ 75 μm (b) d $>$ 212 μm

Figura 6.9: Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas produzidas no reator de 1 litro dos copolímeros DE-30/PZQ-1L e DM-30/PZQ-1L, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d $<$ 75 μm (esquerda) e d $>$ 212 μm (direita).



(a) d $<$ 75 μm (b) d $>$ 212 μm

Figura 6.10: Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas produzidas no reator de 1 litro dos copolímeros DE-40/PZQ-1L e DM-40/PZQ-1L, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d $<$ 75 μm (esquerda) e d $>$ 212 μm (direita).

Em suma, os resultados apresentados confirmam a formação de micropartículas inteligentes, visto que o pH influencia significativamente as taxas de dissolução do fármaco, sendo nítida a diferença na cinética de dissolução entre os pHs estudados. Mais uma vez, esse comportamento está intimamente relacionado à presença das aminas terciárias na estrutura dos comonômeros, que ficam protonadas

em meio ácido, resultando no maior inchamento das partículas por conta da repulsão eletrostática. Essa resposta sensível ao pH foi confirmada por meio dos resultados de potencial zeta, como apresentado na Seção 6.5.

É importante ressaltar que a diferença nos diâmetros de partículas também promoveu a modificação na cinética de liberação, já que as partículas com d $>$ 212 μm apresentam uma cinética mais lenta de dissolução do que as partículas com d $<$ 75 μm, muito provavelmente devido à maior resistência difusional (ARIFIN *et al.*, 2006). Desse modo, pode-se afirmar que o processo de liberação do PZQ está sendo governado pela sensibilidade ao pH e pelo processo de difusão.

De modo a melhor compreender a diferença na cinética de dissolução entre os copolímeros avaliados, as eficiências de dissolução (ED) foram calculadas e estão apresentadas na Tabela 6.5. Como bem reportado na literatura, a eficiência de dissolução é considerada como um parâmetro de confiança para a avaliação da qualidade das dissoluções das formulações farmacêuticas, sendo representativo da quantidade real de fármaco que está dissolvido no meio de dissolução (SERRA e STORPIRTIS, 2007). Além disso, por ser determinado pela área sob a curva de dissolução ao longo de todo o período do ensaio, a eficiência de dissolução é considerada uma boa opção para fazer uma comparação mais justa entre diferentes formulações (MANADAS *et al.*, 2002).

Como apresentado na Tabela 6.5, fica nítida a influência do pH sobre as eficiências de dissolução dos copolímeros nos meios avaliados, sendo mais significativo nos copolímeros produzidos com 20 % de comonômero, confirmando o que já foi discutido anteriormente. Por fim, os resultados também confirmam que o aumento do teor dos comonômeros promove eficiências de dissolução muito similares nos dois meios de dissolução avaliados. Contudo, de maneira geral, os resultados das eficiências de dissolução permitem afirmar que os copolímeros produzidos com 30 % de comonômero (DE-30/PZQ-1L e DM-30/PZQ-1L) apresentaram liberações tão eficientes quanto os copolímeros produzidos com 40 % de comonômero (DE-40/PZQ-1L e DM-40/PZQ-1L).

Tabela 6.5: Eficiências de dissolução (ED) de PZQ dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos no reator de 1 litro, nos meios com pH 1,2 e 6,8, na Fase III do trabalho.

Reação	**Diâmetro**	**pH**	**Eficiência de Dissolução (%)**
DE-20/PZQ-1L	d $<$ 75 μm	1,2	52,72 ± 1,39
DE-20/PZQ-1L		6,8	27,81 ± 1,84
DE-20/PZQ-1L	d $>$ 212 μm	1,2	53,42 ± 0,77
DE-20/PZQ-1L		6,8	31,22 ± 0,23
DM-20/PZQ-1L	d $<$ 75 μm	1,2	78,32 ± 0,45
DM-20/PZQ-1L		6,8	37,25 ± 2,16
DM-20/PZQ-1L	d $>$ 212 μm	1,2	60,92 ± 1,56
DM-20/PZQ-1L		6,8	45,03 ± 0,44
DE-30/PZQ-1L	d $<$ 75 μm	1,2	96,21 ± 1,58
DE-30/PZQ-1L		6,8	79,75 ± 0,56
DE-30/PZQ-1L	d $>$ 212 μm	1,2	91,04 ± 0,98
DE-30/PZQ-1L		6,8	59,27 ± 7,20
DM-30/PZQ-1L	d $<$ 75 μm	1,2	95,26 ± 0,59
DM-30/PZQ-1L		6,8	86,51 ± 0,19
DM-30/PZQ-1L	d $>$ 212 μm	1,2	88,66 ± 3,84
DM-30/PZQ-1L		6,8	69,60 ± 3,09
DE-40/PZQ-1L	d $<$ 75 μm	1,2	95,67 ± 0,90
DE-40/PZQ-1L		6,8	92,95 ± 3,59
DE-40/PZQ-1L	d $>$ 212 μm	1,2	68,64 ± 2,52
DE-40/PZQ-1L		6,8	65,02 ± 2,06
DM-40/PZQ-1L	d $<$ 75 μm	1,2	96,85 ± 0,52
DM-40/PZQ-1L		6,8	94,56 ± 1,57
DM-40/PZQ-1L	d $>$ 212 μm	1,2	90,34 ± 3,77
DM-40/PZQ-1L		6,8	70,43 ± 2,06

6.10 Considerações preliminares (R. 1L)

De modo geral, os resultados apresentados nesta terceira parte do trabalho mostram que o escalonamento para o reator de 1 litro pouco interferiu na formação das micropartículas esféricas, tendo permitido obter também altas eficiências de encapsulamento. Mais uma vez, os resultados de potencial zeta confirmaram a protonação das aminas terciárias apenas em meios ácidos, corroborando a formação de partículas inteligentes.

Além disso, a sensibilidade ao pH foi também verificada por meios dos ensaios de dissolução, que mostraram que nos pHs avaliados os copolímeros apresentavam cinéticas de dissolução diferentes. Nesse quesito, é importante ressaltar os resultados promissores obtidos nos ensaios de dissolução, em que foram alcançadas liberações próximas a 100 % após 60 minutos de ensaio.

Como previamente reportado, os copolímeros que obtiveram os melhores resultados nas análises de dissolução foram selecionados para a etapa de escalonamento para a escala piloto (reator de 12 litros situado na Planta Piloto do EngePol), estando os resultados desse escalonamento apresentados a seguir. Cabe salientar que esse estudo do escalonamento é de grande valia para o projeto, visto que no futuro deseja-se a produção em grande escala do material polimérico final.

Frente aos resultados apresentados na Tabela 6.5, optou-se por selecionar os copolímeros produzidos com 30 % de comonômero para dar prosseguimento ao escalonamento, por apresentar resultados eficientes de liberação, tal como os copolímeros produzidos com 40 % de comonômero.

Parte II

Escalonamento - Reator 12 L

A Tabela 6.6 resume as micropartículas sintetizadas nesta quarta parte do trabalho.

Tabela 6.6: Relação das micropartículas de P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) sintetizadas na reator de 12 litros (Planta Piloto) na Fase IV do trabalho.

Reação	**Considerações**
DE-30/PZQ-Planta DM-30/PZQ-Planta	30 % de comonômero com 30 % de PZQ

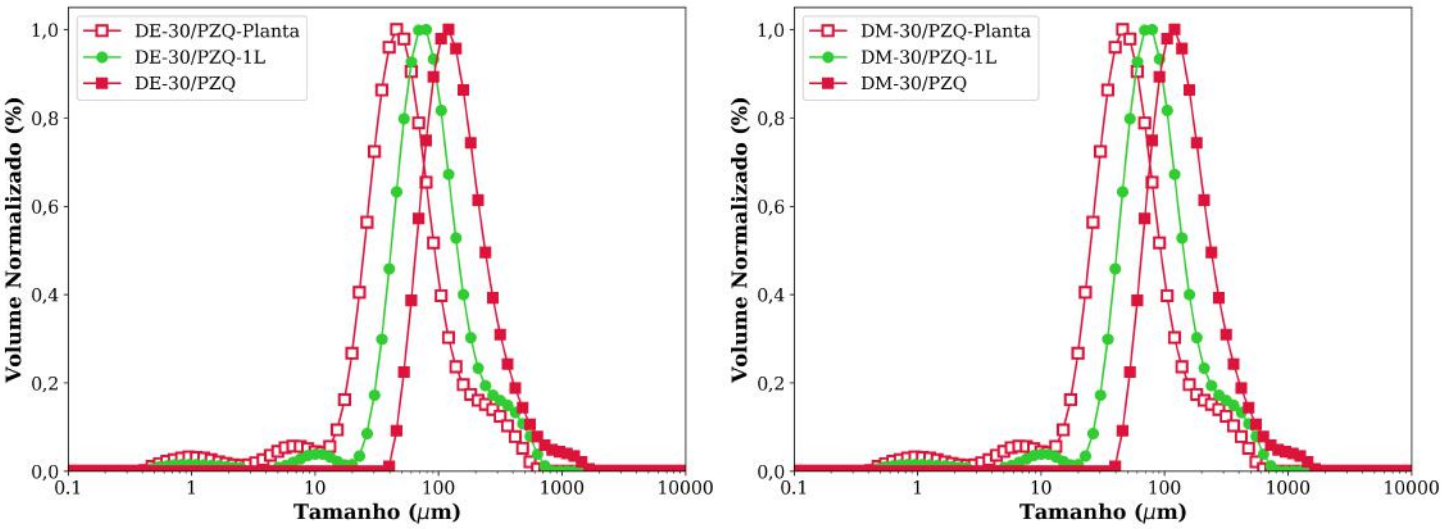
6.1 Avaliação dos tamanhos de Partícula (R. 12L)

Por meio da técnica de espalhamento de luz, foi possível avaliar as distribuições de tamanho (Figura 6.11) e os diâmetros médios (Tabela 6.7) das micropartículas produzidas dos copolímeros sintetizados em escala piloto, no reator de 12 litros.

Novamente, a técnica de polimerização em suspensão foi eficiente para produzir partículas no tamanho micrométrico, mesmo na presença dos comonômeros catiônicos hidrofílicos (DEAEMA e DMAEMA), indicando mais uma vez que o processo de escalonamento pouco afeta a formação das micropartículas. Ademais, além do pequeno ombro em diâmetros maiores, as distribuições apresentaram pequenos picos entre 1 e 10 μm, provavelmente devido à maior agitação aplicada na unidade reacional.

Como também ilustrado na Figura 6.11, o processo de escalonamento promoveu o deslocamento das distribuições para tamanhos menores, visto que as agitações aplicadas nos sistemas foram sempre os valores máximos permitidos em cada unidade ($\text{Agitação}_{100mL} = 900$ rpm, $\text{Agitação}_{1L} = 1.000$ rpm e $\text{Agitação}_{12L} = 1.200$ rpm). Isso ocorreu porque a agitação influencia diretamente as taxas de quebra e coalescência das gotas monoméricas, favorecendo principalmente a etapa de quebra.

Ressalta-se que esses resultados são de extrema importância para o projeto, pois partículas de diâmetros menores promovem liberações mais eficientes (AL-KASSAS *et al.*, 1993). De modo geral, os resultados apontam que a agitação do sistema é uma variável importante a ser avaliada no ajuste das melhores condições de liberação de princípios ativos. Os tamanhos mais adequados podem ser posteriormente ajustados



(a) 30 % de DEAEMA (b) 30 % de DMAEMA

Figura 6.11: Distribuição de tamanhos de partículas para os copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto na Fase IV do trabalho, em comparação com os copolímeros produzidos na escala de bancada (minirreator) e no reator de 1 litro.

na unidade de produção por meio do controle da velocidade de agitação e do teor de agente de suspensão.

Tabela 6.7: Relação dos tamanhos médios das partículas dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto na Fase IV do trabalho.

Reação	**Tamanho Médio (μm)**	**d_{10} (μm)**	**d_{50} (μm)**	**d_{90} (μm)**	**Span***
DE-30/PZQ-Planta	83,98	24,79	60,92	184,86	2,628
DM-30/PZQ-Planta	101,54	25,10	77,51	237,55	2,741

*Span = (d_{90} - d_{10})/d_{50}

6.2 Eficiência de encapsulamento (R. 12L)

A fração de praziquantel efetivamente encapsulado nas micropartículas produzidas em escala piloto foi obtida via técnica de ultrafiltração-centrifugação, assim como ocorreu para as demais micropartículas, como usualmente reportado na literatura (CHASSOT *et al.*, 2016; MORAES *et al.*, 2009).

Os resultados, dispostos na Tabela 6.8, mostram que os copolímeros mantiveram as altas eficiências de encapsulamento do PZQ, como também foi alcançado para os copolímeros produzidos em menor escala. Mais uma vez, esses resultados se devem à alta hidrofobicidade do fármaco, tornando sua migração para a fase aquosa menos propensa. Por sua vez, a presença dos comonômeros catiônicos no material polimérico resulta na redução da eficiência de encapsulação em comparação com os resultados obtidos para as micropartículas de PMMA (Capítulo 4), por conta da hidrofilicidade desses compostos. Essa atenuação é mais evidente para o copolímero DM-30/PZQ-Planta, por conta da maior hidrofilicidade do comonômero DMAEMA em relação ao DEAEMA (THAVANESAN *et al.*, 2014).

Tabela 6.8: Eficiências de encapsulamento de PZQ nos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto na Fase IV do trabalho.

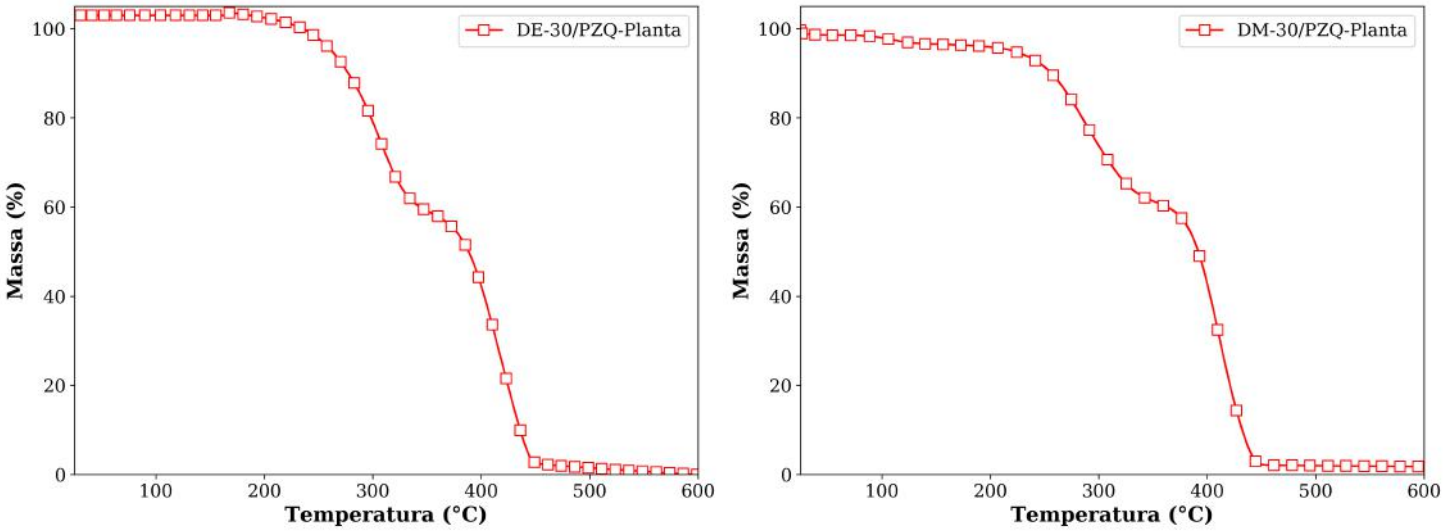
Reação	**Eficiência de Encapsulamento (%)**
DE-30/PZQ-Planta	91,93
DM-30/PZQ-Planta	84,83

6.3 Análises térmicas (R. 12L)

Os copolímeros produzidos foram caracterizados quanto à degradação térmica (via análises de TGA) e quanto à interação com o praziquantel (via análises de DSC).

No que diz respeito à estabilidade térmica, os termogramas mostrados na Figura 6.12 apontam que os copolímeros apresentaram máxima taxa de degradação térmica em torno de 410 °C. Além disso, as curvas termogravimétricas indicam que a degradação de ambos os copolímeros ocorrem em duas etapas, sendo a primeira próxima a 300 °C e a segunda em torno de 400 °C. Acredita-se que o primeiro estágio da degradação se deve à perda das cadeias laterais ligadas à carbonila do éster, enquanto o segundo estágio refere-se às cisões dentro das cadeias poliméricas.

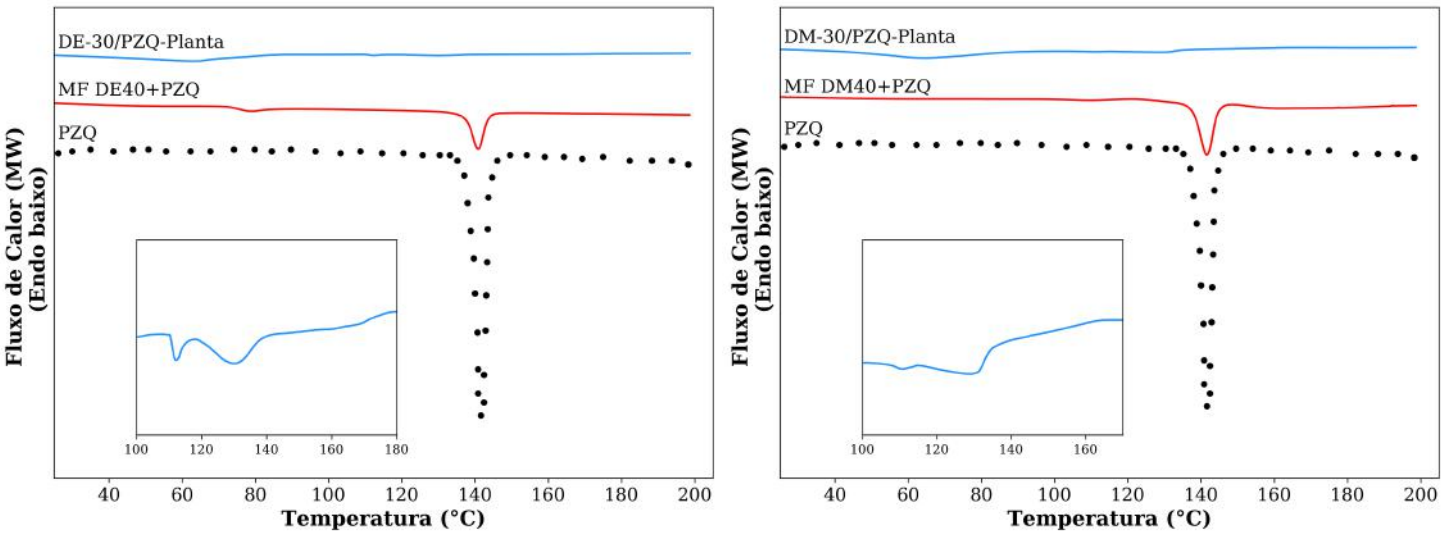
H



(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

Figura 6.12: Curvas termogravimétricas dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto na Fase IV do trabalho.

Por sua vez, as análises de DSC permitem avaliar a interação entre os copolímeros produzidos e o fármaco, assim como avaliar se o fármaco foi realmente incorporado nas micropartículas. Como observado na Figura 6.13, os materiais poliméricos exibiram em seus termogramas um pequeno pico próximo a 140 °C, sendo característico do praziquantel, conforme apresentado nos capítulos anteriores. A presença dessa transição endotérmica nos leva a crer que há cristais de PZQ na superfície das micropartículas, o que pode resultar na menor qualidade do mascaramento do sabor. Contudo, esse resultado pode ser contornado com ciclos mais intensos de lavagem durante a etapa de filtração das partículas, como executado por FONSECA *et al.* (2013b).



(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

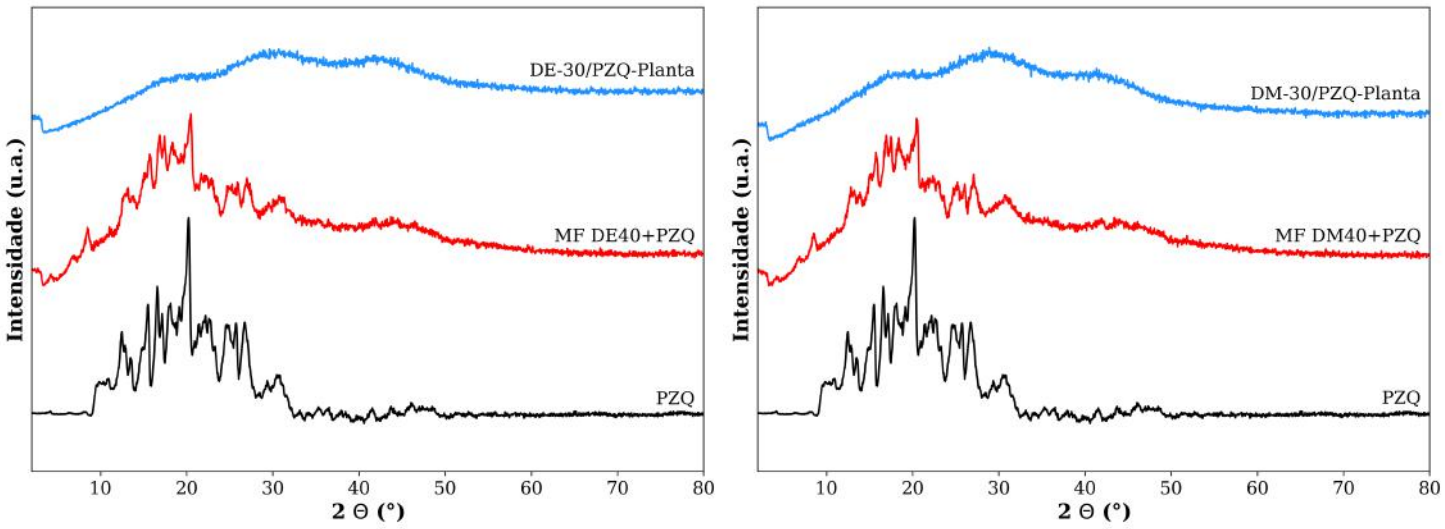
Figura 6.13: Curvas de DSC dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto na Fase IV do trabalho.

6.4 Difratometria de raios X (DRX) (R. 12L)

As análises de DRX foram conduzidas com o intuito de confirmar a presença dos cristais de PZQ na superfície das micropartículas produzidas em escala piloto, como relatado na seção anterior.

Conforme indicado na Figura 6.14, é nítida a ausência de picos cristalinos agudos nos difratogramas das amostras poliméricas, estando clara a diferença em relação às misturas físicas. Desse modo, ao que tudo indica, as análises de difração de raios X não detectaram a presença dos cristais do praziquantel, indicando que o fármaco está presente em sua forma amorfa nas micropartículas.

Mais uma vez, ressalta-se que é bem relatado na literatura que fármacos no estado amorfo apresentam maior solubilidade em meios aquosos, resultando em melhores perfis de liberação *in vivo* (GRAESER *et al.*, 2010; KALEPU e NEKKANTI, 2015). Dessa maneira, os resultados obtidos parecem promissores para a continuidade e andamento da pesquisa.



(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

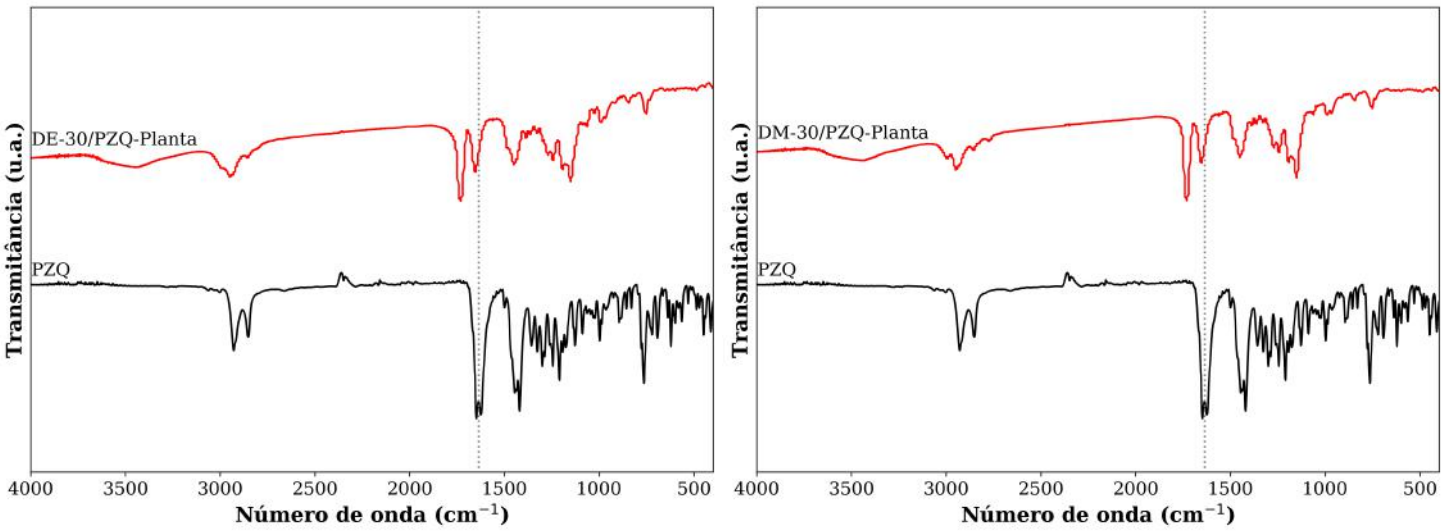
Figura 6.14: Difratogramas de DRX dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto na Fase IV do trabalho.

6.5 Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) (R. 12L)

As análises de FTIR foram realizadas com o intuito de investigar os grupos funcionais presentes nas estruturas dos copolímeros, estando os espectros ilustrados na Figura 6.15. Para fins de comparação, o espectro do PZQ também está apresentado em conjunto com os dados dos copolímeros.

Em teoria, os copolímeros sintetizados devem apresentar em sua estrutura três grupos funcionais que podem caracterizar sua formação bem sucedida: ligações características do éster, -C=O e -C-O, e a ligação presente apenas na estrutura dos comonômeros (-C-N). De acordo com PAVIA *et al.* (2001), essas ligações apresentam bandas características próximas a 1.720 cm^{-1}, entre 1.320 e 1.210 cm^{-1} e entre 1.350 e 1.000 cm^{-1}, respectivamente.

Conforme indicado na Figura 6.15, os espectros apresentam tais bandas bem definidas. Contudo, como as bandas das ligações C-O e -C-N estão presentes na mesma região, pode resultar na sobreposição das mesmas, dificultando a confirmação da formação efetiva dos copolímeros.



(a) Copolímeros com DEAEMA (b) Copolímeros com DMAEMA

Figura 6.15: Espectros de FTIR dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto na Fase IV do trabalho.

Além disso, os espectros ainda indicam a presença da banda característica do PZQ, em 1.640 cm^{-1}, revelando a presença do fármaco nas camadas superficiais das partículas. Novamente, os espectros também apontam uma banda larga em 3.500 cm^{-1}, referente à ligação -OH, sugerindo a presença de umidade nas amostras produzidas. Todavia, de modo geral, pode-se afirmar que houve a formação eficiente dos copolímeros via polimerização em suspensão.

6.6 Ângulo de contato (R. 12L)

De modo a analisar a hidrofilicidade dos materiais poliméricos produzidos, as análises de ângulo de contato foram conduzidas em meio ácido (HCl 0,1 M), estando os resultados dispostos na Tabela 6.9 juntamente com o ângulo de contato do PMMA puro (produzido no minirreator). De modo geral, admite-se que em meios ácidos, os grupos amino terciários presentes nas estruturas dos comonômeros sejam protonados, resultando na maior hidrofilicidade do polímero ao final. Dessa maneira, acredita-se que essa análise pode ser uma boa alternativa para confirmar a presença do DEAEMA ou DMAEMA na estrutura dos copolímeros sintetizados.

Os resultados obtidos mostram a redução significativa do ângulo de contato dos

copolímeros produzidos, confirmando o expressivo aumento da hidrofilicidade dos materiais poliméricos (ROSEN e KUNJAPPU, 2012). Desse modo, assim como as análises previamente presentes neste capítulo, os resultados sugerem também a efetiva formação dos copolímeros hidrofílicos.

Tabela 6.9: Ângulos de contato, em meio ácido, do PMMA e dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto na Fase IV do trabalho.

Reação	**Ângulo de Contato (°)**
PMMA*	72,37
DE-30/PZQ-Planta	44,92
DM-30/PZQ-Planta	56,68

*PMMA produzido em escala de bancada (minirreator).

6.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) (R. 12L)

As micrografias obtidas via análises de MEV das micropartículas produzidas em escala piloto estão expostas na Figura 6.16, permitindo a caracterização morfológica dos materiais sintetizados. Como observado, as imagens confirmam a formação de partículas esféricas com distribuições de tamanhos relativamente homogêneas, indicando que a presença dos comonômeros e o processo de escalonamento não afetaram negativamente a formação das micropartículas.

Contudo, a superfície levemente irregular das partículas se deve, muito provavelmente, à maior interação dos comonômeros com a fase aquosa, que, por isso, tendem a se posicionar na superfície das micropartículas. Além disso, as micrografias não indicam a presença dos cristais de praziquantel na superfície das partículas, confirmando os resultados obtidos por DRX.

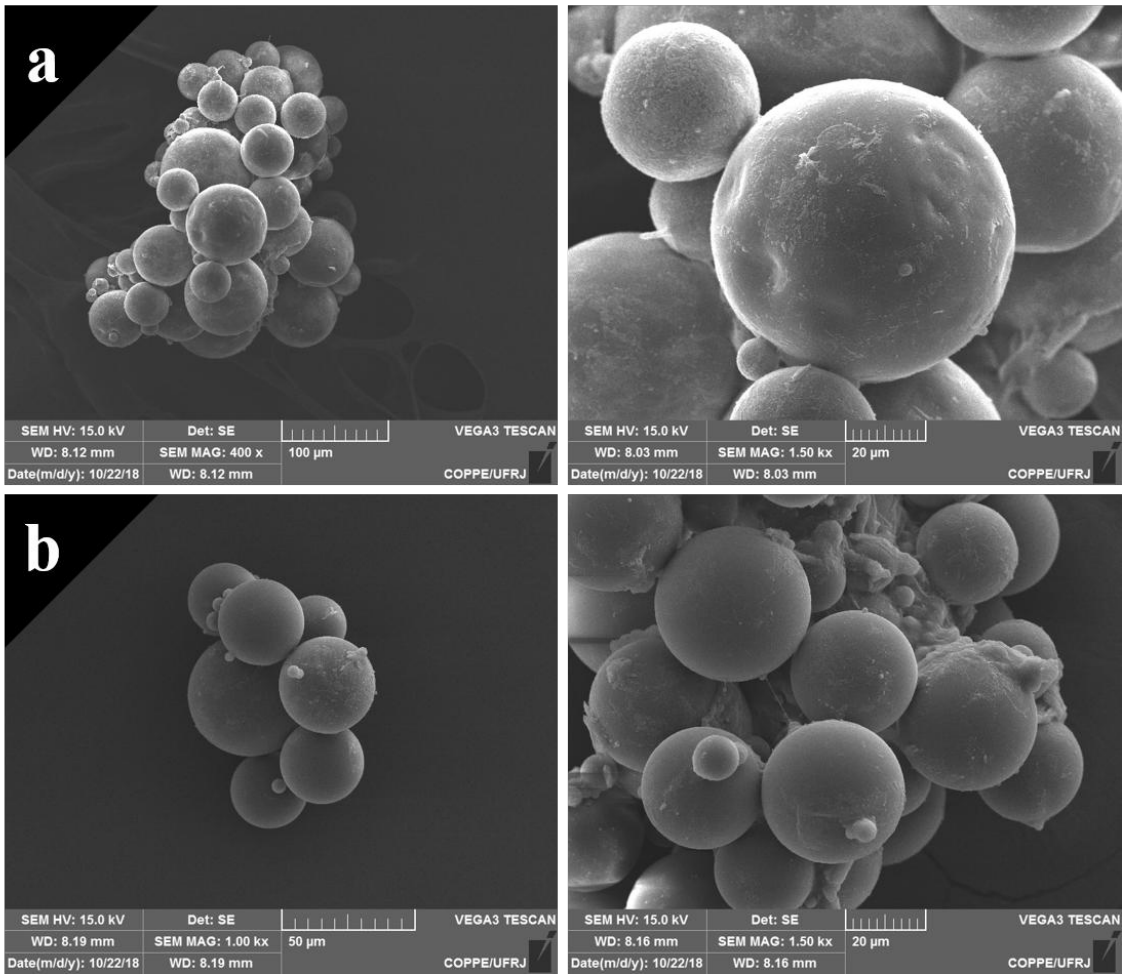


Figura 6.16: Micrografias das micropartículas dos copolímeros produzidos na presença de PZQ em escala piloto: (a) DE-30/PZQ-Planta e (b) DM-30/PZQ-Planta.

6.8 Ensaios de dissolução (R. 12L)

Por fim, as micropartículas produzidas foram caracterizadas também quanto aos perfis de liberação em dois meios de dissolução (pH 1,2 e pH 6,8) e com duas faixas de diâmetros (d $<$ 75 μm e d $>$ 212 μm), de modo a confirmar a formação de partículas sensíveis ao pH e avaliar a influência do diâmetro de partícula no mecanismo de liberação do fármaco.

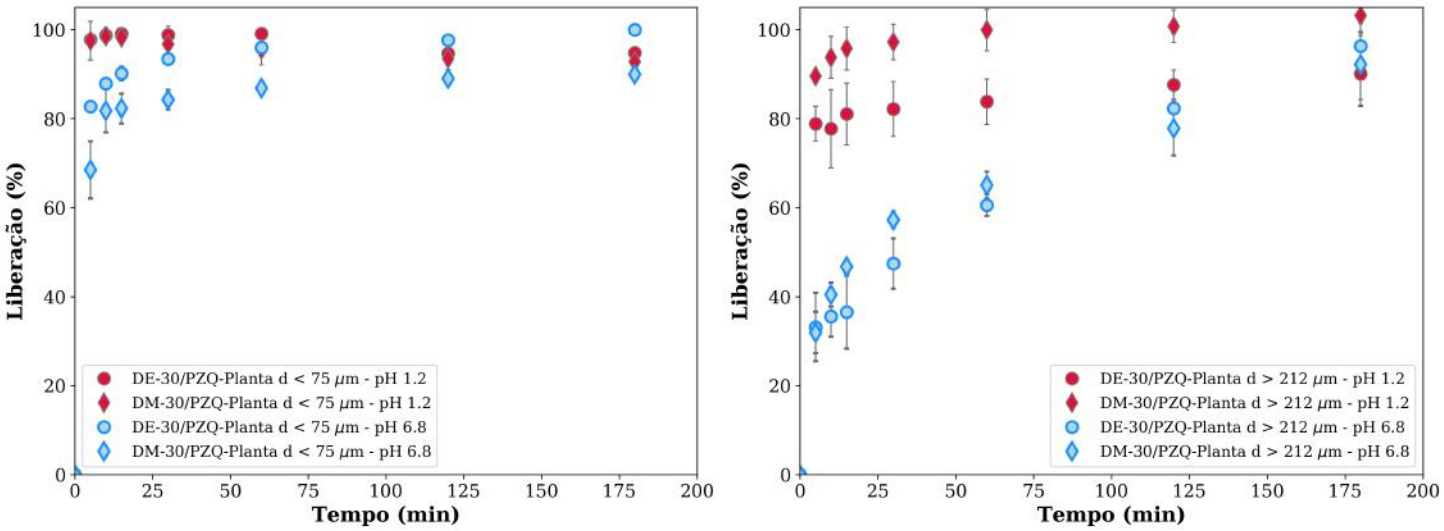
A Figura 6.17 exibe os perfis de liberação dos copolímeros produzidos com 30 % de comonômero produzidos em escala piloto, e mostra que mais uma vez não ocorreu a redução da eficiência de liberação ao longo do tempo, confirmando a importância do uso do dissolutor nos ensaios de dissolução *in vitro*.

De maneira geral, os resultados evidenciam a influência significativa do pH nas cinéticas de dissolução do praziquantel, confirmando a efetiva formação de copolímeros inteligentes. Essa influência é ainda mais explícita nos ensaios realizados com as partículas de tamanhos maiores. Contudo, os resultados apontam que ambos os copolímeros (tanto com d $<$ 75 μm quanto com d $>$ 212 μm) atingiram 100 % de liberação do fármaco, representando resultados promissores para os materiais poliméricos produzidos. Novamente, esses copolímeros produzidos com 30 % dos comonômeros apresentam alta hidrofilicidade, o que é representado pelas altas eficiências de liberação do PZQ mesmo nos meios com pH 6,8.

A influência do pH na cinética de dissolução ocorre pela protonação dos grupamentos amino terciários em meios ácidos, que pela repulsão eletrostática resulta no inchamento das partículas e, por consequência, promove a maior liberação do fármaco. Tal comportamento não é observado em meios básicos, indicando como a liberação de ativos pode ser controlada por estímulos externos.

Além disso, a Figura 6.17 ainda ressalta que a liberação do PZQ também está sendo governada pelo processo de difusão através das micropartículas, visto que o diâmetro das partículas influencia fortemente os perfis de liberação. Esse comportamento ocorre pela diferença na resistência difusional, como consequência dos diferentes tamanhos de partículas, por sua vez, controlando a liberação do fármaco (ARIFIN *et al.*, 2006).

Por fim, os resultados de eficiência de dissolução (Tabela 6.10) confirmam a influência do pH e dos tamanhos de partícula sobre a liberação do PZQ, apresentando resultados similares aos respectivos copolímeros produzidos no reator de 1 litro, indicando a reprodutibilidade dos resultados.



(a) d $<$ 75 μm (b) d $>$ 212 μm

Figura 6.17: Perfis de liberação do PZQ através das micropartículas produzidas em escala piloto dos copolímeros DE-30/PZQ-Planta e DM-30/PZQ-Planta, em pH 1,2 e 6,8, para duas faixas de diâmetro: d $<$ 75 μm (esquerda) e d $>$ 212 μm (direita).

Tabela 6.10: Eficiências de dissolução (ED) de PZQ dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) produzidos em escala piloto, nos meios com pH 1,2 e 6,8.

Reação	Diâmetro	pH	Eficiência de Dissolução (%)
DE-30/PZQ-Planta	d $<$ 75 μm	1,2	95,45 ± 1,11
DE-30/PZQ-Planta		6,8	84,64 ± 0,45
DE-30/PZQ-Planta	d $>$ 212 μm	1,2	84,32 ± 4,27
DE-30/PZQ-Planta		6,8	68,50 ± 3,05
DM-30/PZQ-Planta	d $<$ 75 μm	1,2	93,54 ± 2,14
DM-30/PZQ-Planta		6,8	85,52 ± 1,05
DM-30/PZQ-Planta	d $>$ 212 μm	1,2	98,33 ± 1,86
DM-30/PZQ-Planta		6,8	69,33 ± 3,93

6.9 Considerações preliminares (R. 12L)

Em suma, os resultados apresentados nesta quarta parte do trabalho corroboram os dados obtidos anteriormente, em que o processo de escalonamento (seja para o reator de 1 litro seja para o reator de 12 litros) não afetou significativamente a

formação das micropartículas. De fato, as análises de MEV exibiram partículas com tamanhos micrométricos com formas bem definidas e superfícies levemente irregulares.

De todo modo, os resultados de potencial zeta são de extrema importância para o trabalho, pois confirmaram a formação de micropartículas inteligentes, o que também foi ratificado pelos ensaios de dissolução. Conforme visto, os ensaios mostraram que os copolímeros sintetizados apresentaram ótimos resultados de liberação do fármaco, tendo obtido mais uma vez liberações próximas a 100 %.

Cabe ressaltar que os resultados obtidos mostraram que o tamanho das partículas exerce um papel importante na eficiência de liberação do PZQ, indicando que o processo de liberação do fármaco está sendo governado pelo processo de difusão, assim como pela sensibilidade ao pH.

Por fim, os resultados obtidos nesse estudo do escalonamento são essenciais para o projeto, pois evidenciaram a estabilidade do processo de produção das micropartículas dos copolímeros inteligentes, sendo fundamental para posterior produção em larga escala.

Capítulo 7

Resultados e Discussão - Avaliação Farmacocinética

O presente capítulo aborda o estudo preliminar dos testes de liberação *in vivo* das micropartículas inteligentes, de modo a confirmar se os resultados obtidos via dissolução *in vitro* eram representativos do desempenho final das partículas, apresentando novamente a melhor eficiência de liberação de PZQ. Os resultados dos ensaios *in vivo* das micropartículas inteligentes estão apresentados em comparação com as micropartículas e nanopartículas de PMMA e do PZQ puro, proporcionando uma melhor comparação dos desemepnhos entre os sistemas poliméricos com diferentes tamanhos.

Esse estudo foi realizado com colaboração do Laboratório de Farmacologia (Farmácia/UFF), que conduziu os ensaios *in vivo*, e do Laboratório de Farmacocinética (FIOCRUZ-RJ), que executou a etapa analítica, utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (HPLC-MS).

7.1 Introdução

Nos capítulos anteriores, o desempenho dos materiais poliméricos produzidos tem sido avaliado por meio dos ensaios de dissolução *in vitro*. Esses estudos de dissolução

são importantes para o desenvolvimento de novas formulações, sendo uma alternativa mais barata para uma análise preliminar do comportamento das formulações em diferentes meios. De fato, acredita-se que esses estudos podem fornecer informações fundamentais que podem ser correlacionadas com o desempenho *in vivo* das formulações (DRESSMAN *et al.*, 1998; RODRIGUES *et al.*, 2008).

Além disso, é importante que os ensaios *in vitro* sejam realizados de modo a minimizar testes desnecessários conduzidos em animais e pessoas. Em suma, os ensaios de dissolução *in vitro* podem auxiliar no embasamento para a escolha dos melhores materiais que irão dar prosseguimento ao desenvolvimento das formulações farmacêuticas (KLEIN, 2010).

Para a continuidade do desenvolvimento de novas formulações, a avaliação da farmacocinética em animais é uma etapa essencial no estágio pré-clínico, sendo possível obter informações sobre a farmacodinâmica. De maneira geral, a farmacocinética está relacionada com os processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção do fármaco. Por sua vez, a farmacodinâmica diz respeito ao sítio de ação e mecanismo de ação do fármaco (BARROS, 2013).

Em suma, a farmacocinética pode ser definida como a avaliação da concentração do fármaco, assim como de seus metabólitos, em diferentes regiões do organismo após a administração de uma dose. De modo geral, a farmacocinética é dependente de diversas propriedades físico-químicas e bioquímicas do fármaco, tais como: solubilidade, dissolução no meio, pH (para fármacos ionizáveis), coeficiente de partição, concentração, via de administração, dentre outras (BARDAL *et al.*, 2011; KENAKIN, 2009). Entender a influência dessas propriedades sobre a farmacocinética é fundamental para entender como melhorar o desempenho final das formulações farmacêuticas (DI e KERNS, 2016).

A partir do perfil farmacocinético dos fármacos, é possível obter alguns parâmetros quantitativos que tornam-se úteis para a avaliação do desempenho do ensaio (FEDERICO *et al.*, 2017). Os parâmetros farmacocinéticos de maior relevância são:

- C_{max}: concentração máxima observada do fármaco;
- $t_{1/2\beta}$: tempo de meia vida para a eliminação de 50 % do fármaco;
- AUC (*Area Under the Curve*): área sob a curva de concentração plasmática do fármaco durante todo o tempo de ensaio, que representa a quantidade real de fármaco no sangue;
- T_{max}: instante em que o sistema atinge a C_{max};
- K_e: taxa de eliminação;
- Cl (*clearance*): representa a capacidade do organismo em eliminar o fármaco;
- Vd (volume de distribuição ou volume aparente de distribuição): representa o volume necessário (em litros) para que a concentração de fármaco no organismo seja igual a concentração plasmática.

Ressalta-se que as informações sobre as propriedades do praziquantel estão apresentadas no Capítulo 2, e serão resumidamente relatadas a seguir. No que diz respeito à farmacocinética do praziquantel, a literatura reporta que esse fármaco é rapidamente absorvido no trato gastrointestinal, sendo possível mensurá-lo após 15 minutos da administração e atingindo a concentração máxima entre 1 e 2 horas após a administração (CIOLI e PICA-MATTOCCIA, 2003). No entanto, essa concentração máxima plasmática apresenta uma larga faixa de variação entre os paciente, podendo ser entre 200 a 2.000 ng/mL (CIOLI e PICA-MATTOCCIA, 2003).

Quanto ao seu metabolismo, o praziquantel apresenta um pronunciado metabolismo de primeira passagem pelo fígado, resultando no rápido desaparecimento na circulação sanguínea. Sua eliminação ocorre majoritariamente pela urina e fezes, alcançando 80 % em 4 dias (BYGOTT e CHIODINI, 2009; OLLIARO *et al.*, 2014).

Pelo sistema de classificação biofarmacêutica (SCB), o PZQ é definido como um fármaco de classe II, caracterizado pela baixa solubilidade em água e alta

absorção no trato gastrointestinal. A alta hidrofobicidade acaba por resultar na baixa disponibilidade do fármaco e na maior dificuldade da síntese de novas formulações farmacêuticas. Nesse contexto, os sistemas de encapsulamento são alternativas promissoras para contornar tais problemas, resultando na melhora da biodisponibilidade do PZQ. De fato, MAINCENT *et al.* (1986) mostraram que, ao encapsular a vincamina em nanopartículas de poli(hexilcianoacrilato), a biodisponibilidae do fármaco aumentou de 25 % para 40 %.

Diante do exposto até o momento, o PZQ mostra-se como um excelente fármaco modelo para a aplicação em sistemas de encapsulamento e posterior liberação modificada. No presente trabalho, o praziquantel foi encapsulado em micropartículas poliméricas de PMMA e copolímeros, que apresentaram resultados promissores nos ensaios *in vitro*, como mostrado nos capítulos anteriores. E, por isso, optou-se por selecionar as micropartículas com as melhores eficiências de liberação para dar prosseguimento ao trabalho, avaliando agora o desempenho das mesmas nos ensaios *in vivo*.

7.2 Metodologia experimental

7.2.1 Materiais

Os reagentes utilizados nos ensaios *in vivo* conduzidos no presente trabalho estão listados a seguir. Todos os reagentes e solventes foram usados como recebidos, sem realizar qualquer purificação adicional.

- Acetonitrila com grau HPLC, fornecido pela J.T.Baker (New Jersey, EUA);
- Ácido fórmico com pureza mínima de 96 %, fornecido pela Spectrum (New Jersey, EUA);
- Cremophor EL com pureza mínima de 98 %, fornecido pela Sigma-Aldrich (Missouri, EUA);

- Diazepam com pureza mínima de 99 %, fornecido pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - INCQS (Rio de Janeiro, Brasil) (Lote: 1055), usado como padrão interno nas análises de HPLC-MS;
- Metanol com grau HPLC, fornecido pela J.T.Baker (New Jersey, EUA);
- Éter metil-terc-butílico (TBME) com grau HPLC, fornecido pela J.T.Baker (New Jersey, EUA);
- Praziquantel (PZQ) (mistura racêmica equimolar), fornecido por Farmanguinhos (Rio de Janeiro, Brasil) (Lote 062018), usado nas reações de polimerização;
- Praziquantel (PZQ) com pureza mínima de 99 %, fornecido pela *United States Pharmacopeia* (Rockville, EUA) (Lote: HOJ029), usado como padrão nas análises de HPLC-MS.

7.2.2 Ensaios *in vivo*

(i) Animais:

Os ensaios de liberação *in vivo* foram conduzidos em ratos fêmeas adultas da linhagem *Witsar*, com idades entre 12 e 17 semanas, pesando entre 200 e 300 g. Esses animais foram oriundos do Núcleo de Animais de Laboratório (NAL) da Universidade Federal Fluminense (UFF), sendo mantidos no biotério da Faculdade de Farmácia, sob ambiente controlado. Antes e após os ensaios, os animais ficaram em jejum de ração por 2 horas e de água por 1 hora.

Vale ressaltar que esses ensaios foram aprovados pelo Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA-UFF) (Apêndice D), e estão de acordo com os protocolos de experimentação animal da UFF.

(ii) Dose, Administração e Coleta:

Para os ensaios, os animais foram divididos em cinco grupos:

(a) grupo controle, contendo 5 animais, que receberam apenas o veículo sem PZQ (solução aquosa 2 % de Cremophor EL);

(b) grupo praziquantel livre (PZQ-L), contendo 9 animais, que receberam o PZQ disperso no veículo aquoso, na dose de 60 mgPZQ/kg;

(c) grupo praziquantel encapsulado em nanopartículas de PMMA (NanoPMMA-PZQ), contendo 6 animais, que receberam a dose correspondente a 60 mgPZQ/kg;

(d) grupo praziquantel encapsulado em micropartículas de PMMA (MicroPMMA-PZQ), contendo 6 animais, que receberam a dose correspondente a 60 mgPZQ/kg;

(e) grupo praziquantel encapsulado em micropartículas inteligentes (MicroInteligente-PZQ) dos copolímeros com DMAEMA com 30 % do comonômero com d $<$ 75 μm, contendo 6 animais, que receberam a dose correspondente a 60 mgPZQ/kg;

Para os três grupos de ensaio, a administração do fármaco foi realizada por via oral, com o auxílio da gavagem. Durante o ensaio, em tempos pré-determinados, eram coletados aproximadamente 150 μL de sangue através da veia caudal, com o auxílio da seringa descartável contendo 5 μL de heparina sódica 5.000 U.I./mL, que atua como anticoagulante. Após a coleta, as amostras eram centrifugadas a 4.000 rpm por 10 minutos, obtendo-se ao final o plasma, que era armazenado a -20 °C até a realização da análise no HPLC-MS.

(iii) Método analítico:

O método analítico aplicado nos ensaios *in vivo* foi desenvolvido pelos grupos da Farmácia-UFF e da FIOCRUZ-RJ, tendo sido reportado por MALHADO *et al.* (2016).

Como descrito anteriormente, o terceiro grupo para os ensaios *in vivo* é caracterizado pelo grupos de sistemas poliméricos que contêm o PZQ encapsulado.

Nesse quesito, como mencionado nos capítulos anteriores, o tamanho das partículas pareceu influenciar significativamente o processo de liberação do PZQ. Por isso, nesta etapa do trabalho optou-se por avaliar também a influência deste parâmetro.

Desse modo, os sistemas avaliados nos ensaios *in vivo* foram: micropartículas de PMMA (referentes ao Capítulo 4), micropartículas inteligentes (referentes ao Capítulo 6), nanopartículas de PMMA na forma de látex e nanopartículas de PMMA secas. Essas nanopartículas foram anteriormente sintetizadas por FONSECA (2012), sendo que o grupo das nanopartículas secas já foram avaliadas por MALHADO *et al.* (2016). No entanto, como relatado por FONSECA (2012), o processo de secagem promove a aglomeração das nanopartículas, e por isso, optou-se por analisar também as nanopartículas mantidas no látex.

Em relação às micropartículas inteligentes, como mostrado nos capítulos anteriores, os copolímeros com DMAEMA, por sua maior hidrofilicidade, apresentaram melhores eficiências de dissolução e por isso foram selecionados para esta etapa de trabalho. De forma mais específica, os ensaios foram conduzidos com as micropartículas dos copolímeros produzidos com 30 % do comonômero, produzidas em escala piloto (reator 12 litros). Foram utilizadas como referência as micropartículas com diâmetros menores que 75 μm.

7.3 Resultados preliminares

Por meio das análises de cromatografia líquida acoplada com a técnica de espectrometria de massas (HPLC-MS), foi possível caracterizar os ensaios *in vivo* realizados para as diferentes partículas de PMMA. Ressalta-se que, diante da alta hidrofobicidade do PZQ, é consideravelmente fácil de ocorrer a contaminação dos aparatos utilizados ao longo dos ensaios, sendo necessário um controle extremamente apurado para evitar a contaminação.

De modo geral, os resultados obtidos mostram que o PZQ encapsulado é liberado dos diferentes sistemas poliméricos e é absorvido no trato gastrointestinal após a administração oral. Os perfis de concentração plasmática do PZQ nos diferentes

grupos avaliados estão apresentados na Figura 7.1 e seus respectivos parâmetros farmacocinéticos estão listados na Tabela 7.1.

Os resultados apresentados na Figura 7.1 mostram que, após 5 minutos da administração oral, já foi possível detectar a presença de PZQ nas amostras, mesmo quando estava encapsulado, e continuou sendo observado com 10 horas de ensaio. Além disso, é possível observar uma nítida diferença entre os diferentes sistemas de encapsulamento avaliados.

Como observado, o PZQ na sua forma livre atingiu sua concentração máxima ($\approx$ 540 μg/L) após 19 minutos da administração oral, atingindo concentrações plasmáticas superiores às nanopartículas (secas ou látex) e às micropartículas de PMMA. Desse modo, os resultados parecem indicar que o processo de liberação do fármaco através desses sistemas foi, de alguma forma, prejudicado, estando provavelmente dependente do processo de difusão através da matriz polimérica. Contudo, é importante observar que tanto as nanopartículas quanto as micropartículas de PMMA não apresentaram efeito de liberação retardado, atingindo suas concentrações máximas em tempos (t_{max}) estatisticamente similares aos do PZQ livre (Tabela 7.1).

Além disso, é importante observar que os resultados confirmaram que o processo de secagem das nanopartículas influenciou diretamente o desempenho das mesmas nos ensaios *in vivo* conduzidos em ratos, em que as nanopartículas na forma de látex alcançaram concentrações plasmáticas superiores às nanopartículas secas em estufa de recirculação. Essa discrepância entre as nanopartículas ocorreu provavelmente por causa da aglomeração das partículas após a secagem, resultando numa maior resistência ao processo de difusão através da matriz polimérica.

O efeito do tamanho das partículas se torna mais evidente quando são avaliados os resultados das micropartículas de PMMA (MicroPMMA-PZQ), que apresentaram desempenhos inferiores aos das nanopartículas (seja na forma seca ou na forma látex). Esse comportamento se deve principalmente ao maior diâmetro em comparação com às nanopartículas, resultando portanto na maior resistência

difusional para o fármaco. Nesse contexto, os resultados parecem indicar que o tamanho das partículas é um parâmetro de extrema importância que deve ser levado em conta no que diz respeito ao processo de liberação no trato gastrointestinal (DELIE e BLANCO-PRÍETO, 2005).

De fato, DURRER *et al.* (1994) mostraram que o tamanho de nanopartículas de poliestireno parecia influenciar significativamente o processo de absorção na mucosa intestinal de ratos, em que as nanopartículas de 230 nm atingiram o equilíbrio com 10 minutos de ensaio, enquanto as nanopartículas de 670 nm apenas atingiram esse ponto após 30 minutos. DESAI *et al.* (1997) confirmaram a importância do tamanho ao demonstrarem que as partículas com diâmetros menores (0,1 μm) apresentaram maior eficiência de absorção do que as partículas maiores (10 μm).

Por outro lado, a Figura 7.1 mostra que as micropartículas inteligentes à base de copolímeros de P(MMA-co-DMAEMA) alcançaram concentrações plasmáticas significativamente superiores às do PZQ livre e às dos outros sistemas de encapsulamento, atingindo concentrações 33 vezes maiores que as das micropartículas de PMMA, confirmando o potencial promissor do uso desses materiais poliméricos. De modo geral, esses resultados mostram que o processo de liberação é governado majoritariamente por dois fatores: o tamanho dos partículas e a composição da matriz polimérica, como também reportado por DELIE e BLANCO-PRÍETO (2005). Os resultados apontam que a presença do comonômero catiônico influenciou positivamente o desempenho das micropartículas inteligentes.

Além disso, é importante entender que as micropartículas inteligentes apresentaram resultados superiores aos do PZQ livre, muito provavelmente pelo fato de que o fármaco estar na sua forma cristalina. É bem conhecido que fármacos cristalinos, apesar de serem mais estáveis física e quimicamente, apresentam dificuldades muito maiores para a solubilização, reduzindo sua disponibilidade no organismo (TAMBOSI *et al.*, 2018).

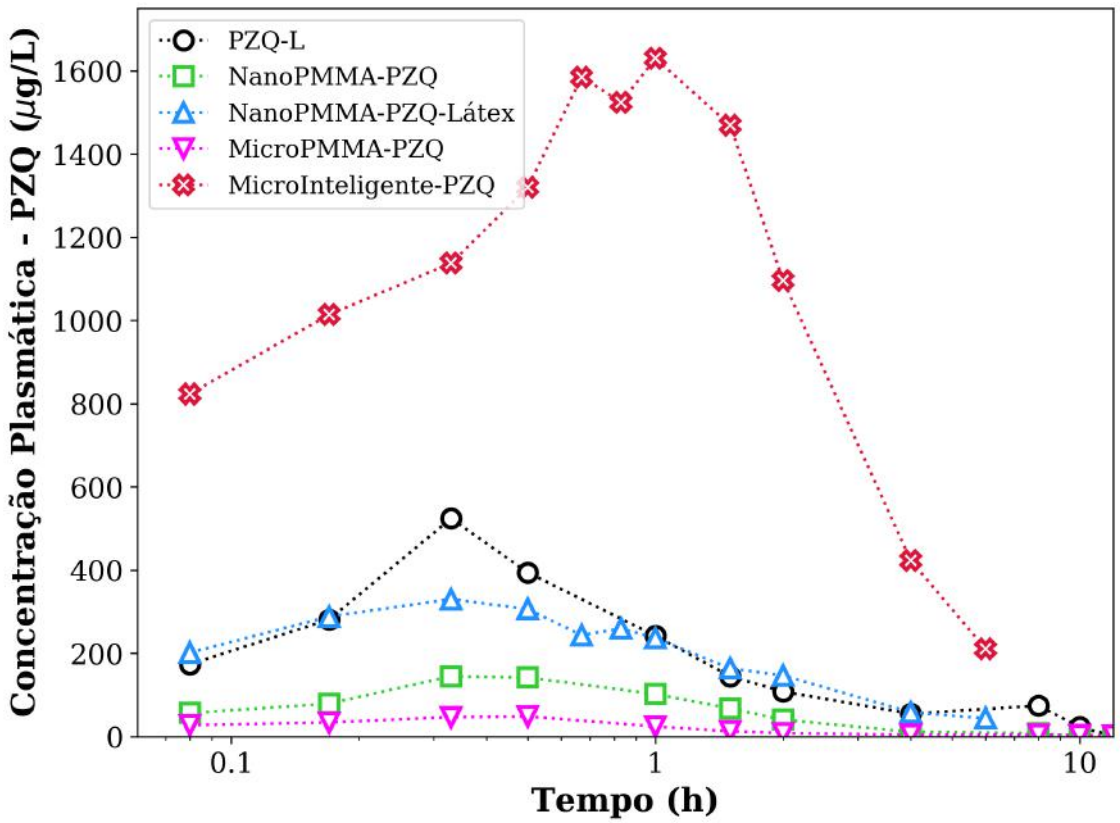


Figura 7.1: Curvas de concentração plasmática de PZQ após a administração oral dos seguintes grupos: PZQ livre, PZQ encapsulado em micropartículas de PMMA (MP-PMMA), em micropartículas inteligentes (MPI-PZQ), em nanopartículas de PMMA secas (NP-PMMA) e em nanopartículas de PMMA na forma de látex (NP-PMMA-Látex).

Como apresentado na Tabela 7.1, as concentrações máximas atingida pelas micropartículas inteligentes foram expressivamente superiores às dos outros sistemas de encapsulamento, porém apresentando t_{max} levemente superiores, confirmando o prolongamento do tempo de absorção do PZQ. Comportamentos similares foram obtidos para os parâmetros referentes ao AUC, indicando que a quantidade de PZQ disponível no sistema foi muito superior para as micropartículas inteligentes.

No que diz respeito à taxa de eliminação (Ke), os resultados mostram que as micropartículas inteligentes exibiram taxas de eliminação maiores que as dos demais sistemas, em que 42,59 % do PZQ foi eliminado do organismo por hora. Além disso, os resultados obtidos apontaram que as nanopartículas poliméricas (na forma seca ou na forma látex) apresentam taxas de eliminação e tempos de meia vida muito similares entre si.

Tabela 7.1: Parâmetros farmacocinéticos do PZQ administrado na forma livre (PZQ-L), encapsulado em micropartículas (MP-PZQ e MPI-PZQ) e encapsulado em nanopartículas (NP-PZQ e NP-PZQ-Látex).

Grupo	$\mathbf{C}_{max}$ **(μg/L)**	$\mathbf{t}_{max}$ **(h)**	$\mathbf{AUC}_{0-t}$ **(μg.h/L)**	$\mathbf{AUC}_{0-\infty}$ **(μg.h/L)**	$\mathbf{K}_e$ **(1/h)**	$\mathbf{t}_{1/2}$ **(h)**
PZQ-L	524,23	0,33	1004,17	1010,66	0,2481	2,7937
NanoPMMA-PZQ	145,00	0,33	299,45	303,63	0,3852	1,7993
NanoPMMA-PZQ-Látex	330,34	0,33	685,55	803,45	0,3714	1,8661
MicroPMMA-PZQ	48,40	0,50	75,86	83,42	0,2129	3,2564
MicroInteligente-PZQ	1629,47	1,00	4782,82	5277,04	0,4259	1,6273

Parâmetros farmacocinéticos: C_{max}: concentração plasmática máxima, t_{max}: tempo referente a C_{max}, AUC_{0-t}: área sob a curva até o último tempo do ensaio, $AUC_{0-\infty}$: área sob a curva até o infinito, K_e: taxa de eliminação, e $t_{1/2}$: tempo de meia vida de eliminação.

Os resultados obtidos mostram que o encapsulamento do PZQ em partículas sensíveis ao pH pode promover muitas vantagens competitivas para a formulação de medicamentos para o tratamento de esquistossomose, permitindo inclusive minimizar o problema do tamanho e permitir o uso de micropartículas para a condução dos ensaios.

7.4 Considerações preliminares

O presente capítulo teve como objetivo principal avaliar o desempenho das micropartículas inteligentes, foco da tese, nos ensaios *in vivo* conduzidos em ratos. Além disso, optou-se também por avaliar a influência do tamanho das partículas no desempenho final dos ensaios.

De modo geral, os resultados obtidos mostraram que a composição das partículas influenciou significativamente o processo de liberação e posterior absorção do PZQ, em comparação aos sistemas avaliados. Enquanto as micropartículas inteligentes atingiram concentrações plasmáticas próximas a 1.600 μg/L, as micropartículas compostas unicamente de PMMA alcançaram apenas 48,4 μg/L na sua concentração

plasmática máxima e o PZQ puro resultou em concentração plasmática máxima de 480 μg/L. Além disso, os resultados confirmaram que o tamanho de partícula é uma variável importante a ser considerada para a obtenção do sistema polimérico que gere o melhor resultado de liberação.

Cabe ressaltar que esse estudo apresentado aqui neste capítulo está em estágio preliminar, e que diversos fatores devem ser revistos e melhorados. No entanto, acreditamos que o mesmo não deve ser subestimado diante dos resultados obtidos, que confirmam o enorme potencial das micropartículas inteligentes sintetizadas nesta tese.

Capítulo 8

Considerações Finais

8.1 Considerações finais

A esquistossomose é umas das doenças que mais afetam as populações de áreas sem saneamento básico, sendo no entanto ainda considerada uma das doenças negligenciadas. Os comprimidos de praziquantel, fármaco de escolha para o tratamento, apresentam algumas desvantagens em relação ao uso, tal como o forte sabor amargo, que resulta na baixa eficiência para o tratamento em crianças. Diante desse cenário, cresce o interesse pelo desenvolvimento de sistemas de liberação que venham a reduzir os efeitos adversos, aumentando a eficiência do tratamento.

A técnica de polimerização em suspensão foi a escolhida para produzir partículas de faixa micrométrica, sendo considerada uma técnica simples para a síntese e que não faz uso de solventes orgânicos (ao contrário de diversas outras técnicas utilizadas). Além disso, esta técnica permite o encapsulamento de altos teores de princípios ativos ao longo da reação de polimerização.

Como mostrado, a polimerização em suspensão foi eficiente em produzir micropartículas, tanto de PMMA puro quanto na presença dos aditivos (solvente e agente reticulante), esféricas e homogêneas, obtendo sistemas de altas massas molares médias e com elevada eficiência de encapsulamento para o PZQ. Contudo, os perfis de liberação mostraram que as partículas obtidas apresentam expressiva

resistência difusional, dificultando a liberação do fármaco. Mesmo para diâmetros abaixo de 75 μm, a resistência ainda foi significativa e, por isso, os perfis mantiveram-se similares para diferentes tamanhos. Dessa forma, ficou clara a necessidade de aprimorar o sistema proposto, de modo a melhorar a liberação do PZQ.

Assim sendo, propôs-se o desenvolvimento de sistemas de liberação inteligentes baseados em polímeros catiônicos, que são sensíveis ao pH ácido, utilizando novamente a técnica de polimerização em suspensão. É importante enfatizar que, na revisão bibliográfica realizada, não foram encontrados trabalhos que tenham utilizado esta técnica de polimerização para a produção de micropartículas inteligentes de modo geral, e, em específico, baseados em tais copolímeros. De fato, a busca bibliográfica nos mostra que, na literatura, é possível encontrar diversos trabalhos focados na síntese de nanopartículas inteligentes, tendo as micropartículas menor atenção.

Os resultados obtidos mostraram que as micropartículas à base dos copolímeros P(MMA-co-DEAEMA) e P(MMA-co-DMAEMA) foram eficientemente formadas, como confirmado pelas análises de H-RMN e FTIR, que mostraram uma diferença expressiva da transmitância dos copolímeros em comparação ao PMMA puro. Além disso, as análises de potencial zeta ratificaram a formação de partículas com sensibilidade ao pH, indicando que a polimerização em suspensão pode ser eficientemente utilizada para a síntese de micropartículas inteligentes.

Além do mais, os resultados mostraram que a incorporação do PZQ se manteve alta mesmo na presença dos comonômeros catiônicos. Por sua vez, os ensaios de dissolução foram significativamente influenciados pelo teor dos comonômeros e pelos tamanhos das partículas, resultando em altas eficiências de dissolução. Contudo, esses resultados salientaram a necessidade de aprimorar o aparato utilizado nos ensaios de dissolução, favorecendo o estudo do escalonamento.

Os resultados do escalonamento do processo, para reatores de 1 litro e de 12 litros, corroboram a eficiência da técnica em produzir partículas com tamanhos

micrométricos, com altas eficiências de encapsulamento e respostas sensíveis ao pH. Mais uma vez, os copolímeros catiônicos apresentaram excelentes resultados de liberação do praziquantel, tendo alcançado liberações próximas a 100 %.

Em suma, os resultados dos ensaios de liberação *in vitro* (realizados no aparato menor ou no dissolutor) corroboraram a sensibilidade ao pH, em que os materiais apresentaram cinéticas de liberação diferentes em cada pH. Ademais, o tamanho das partículas mostrou-se uma variável fundamental para a cinética de liberação, o que pode ser justificado pela menor resistência difusional apresentada pelas partículas de menores diâmetros.

Por fim, pôde-se observar que os copolímeros P(MMA-co-DMAEMA) exibiram melhores desempenhos nos ensaios de liberação *in vitro*, por conta da maior hidrofilicidade do comonômero DMAEMA em relação ao DEAEMA, sendo por isso selecionados para a etapa dos ensaios *in vivo* em camundongos.

Em particular, os ensaios *in vivo* foram de grande valia para a melhor compreensão da influência do tamanho sobre o desempenho dos sistemas de liberação. Como apresentado anteriormente, micro e nanopartículas poliméricas exibiram desempenhos muito diferentes na liberação do praziquantel. Contudo, os resultados confirmam, que no caso das nanopartículas poliméricas de PMMA, o processo de secagem resulta num efeito deletério no desempenho final das nanopartículas. Por outro lado, os perfis de concentração plasmática das micropartículas inteligentes à base de P(MMA-co-DMAEMA) obtiveram os melhores resultados entre os sistemas avaliados, confirmando o potencial desses materiais poliméricos.

8.2 Melhor solução proposta

A partir do estudo realizado nesta tese, conclui-se que o sistema polimérico formado pelas micropartículas de P(MMA-co-DMAEMA) produzidas com 30 % do comonômero é a opção recomendada para a continuação desta pesquisa. Os resultados obtidos por estas micropartículas exibiram altas eficiências de

encapsulamento assim como altas taxas de liberação. De fato, os ensaios mostraram que essas micropartículas promoveram cinéticas de liberação sensíveis ao pH, tornando possível coordenar de modo eficiente a liberação do PZQ no organismo. De maneira mais específica, os resultados apontaram que o tamanho das partículas é uma variável importante para a otimização da formulação. Por fim, acredita-se que, entre as micropartículas poliméricas estudadas e avaliadas, as micropartículas de P(MMA-co-DMAEMA) produzidas com 30 % do comonômero e com diâmetros de partícula menores que 75 μm sejam as melhores opções para a formulação farmacêutica a ser aplicada no tratamento da esquistossomose.

8.3 Sugestões para trabalhos futuros

Apesar dos resultados promissores obtidos na tese, diferentes etapas do trabalho podem ser aperfeiçoadas, de modo a complementar o avanço científico alcançado. Desse modo, algumas sugestões para a continuação da pesquisa são apresentadas abaixo:

- Avaliar outras técnicas para a obtenção das massas molares dos copolímeros produzidos diante das dificuldades de solubilização das amostras dos copolímeros durante a realização das análises de GPC;
- Caracterizar as micropartículas sintetizas por microscopia acoplada a Raman, de modo a identificar a distribuição do PZQ na partícula;
- Realizar os ensaios *in vivo* em camundongos para as micropartículas poliméricas inteligentes com diâmetros maiores que 212 μm, com o intuito de avaliar a influência do tamanho também no desempenho final dos sistemas;
- Realizar ensaios na língua eletrônica, de modo a avaliar se as micropartículas poliméricas inteligentes foram eficientes em mascarar o sabor amargo característico do praziquantel;

- Avaliar a presença de monômeros residuais nas micropartículas poliméricas de modo a complementar as caracterizações realizadas, avaliando a toxicidade dos materiais finais;

- Realizar ensaios *in vivo* em camundongos infectados avaliando o desempenho das partículas inteligentes diretamente nos vermes *Schistosoma*, com o intuito de confirmar a atividade esquistomicida do PZQ mesmo após o processo de encapsulamento nas micropartículas inteligentes;

- Desenvolver um modelo matemático que seja capaz de representar as reações de copolimerização dos copolímeros estudados sendo feita a estimação dos parâmetros cinéticos, uma vez que tais estudos não foram encontrados na literatura e são de grande importância para o entendimento das cinéticas de reação.

Referências Bibliográficas

ACOSTA-TORRES, L. S., BARCELO-SANTANA, F. H., ALVAREZ-GAYOSSO, C. A., et al., 2008, "Synthesis and Characterization of Poly(methyl methacrylate) Polymerized by Microwave Energy or Conventional Water Bath", *Journal ofApplied Polymer Science*, v. 109, pp. 3953–3960.

AGRAWAL, A. G., KUMAR, A., GIDE, P. S., 2015, "Self emulsifying drug delivery system for enhanced solubility and dissolution of glipizide", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 126, pp. 553–560.

AL-KASSAS, R., GILLIGAN, C., LI WAN PO, A., 1993, "Processing factors affecting particle size and in vitro drug release of sustained-release ibuprofen microspheres", *International Journal of Pharmaceutics*, v. 94, n. 1-3, pp. 59–67. doi: 10.1016/0378-5173(93)90009-5.

ALMEIDA, H., AMARAL, M. H., LOBÃO, P., 2012, "Temperature and pH stimuli-responsive polymers and their applications in controlled and selfregulated drug delivery", *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, v. 2, n. 6, pp. 01–10.

AMIDON, G. L., LENNERNAS, H., SHAH, V. P., et al., 1995, "A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability." *Pharmaceutical Research*, v. 12, n. 3, pp. 413–420.

AMMAR, H. O., EL-RIDY, M. S., GHORAB, M., et al., 1994, "Evaluation of the antischistosomal effect of praziquantel in a liposomal delivery system in mice", *International Journal of Pharmaceutics*, v. 103, pp. 237–241.

ANDREWS, P., 1985, "Praziquantel: mechanisms of anti-schistosomal activity", *Pharmacology and Therapeutics*, v. 29, n. 1, pp. 129–156.

ANVISA, 2017, *RDC No. 166, de 25 de Julho de 2017, sobre a validação de métodos analíticos e outras providências.* Relatório técnico, Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

ANVISA, 2010, *Farmacopéia Brasileira*, v. 2. 5 ed. Brasília, Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

ARAUJO, N., DE MATTOS, A. C. A., COELHO, P. M. Z., et al., 2008, "Association of oxamniquine praziquantel and clonazepam in experimental Schistosomiasis mansoni", *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 103, n. 8, pp. 781–785.

ARIFIN, D. Y., LEE, L. Y., WANG, C. H., 2006, "Mathematical modeling and simulation of drug release from microspheres: Implications to drug delivery systems", *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 58, n. 12-13, pp. 1274–1325.

ARSHADY, R., 1990, "Albumin Microspheres and Microcapsules: Manufacturing Techniques Methodology", *Journal of Controlled Release*, v. 14, pp. 111–131.

BAGHEL, S., CATHCART, H., O'REILLY, N. J., 2016, "Polymeric Amorphous Solid Dispersions: A Review of Amorphization, Crystallization, Stabilization, Solid-State Characterization, and Aqueous Solubilization of Biopharmaceutical Classification System Class II Drugs", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 105, n. 9, pp. 2527–2544. doi: 10.1016/j.xphs.2015.10.008.

BARDAL, S. K., WAECHTER, J. E., MARTIN, D. S., 2011, "Pharmacokinetics". In: Stan K. Bardal, J. E. W., Martin, D. S. (Eds.), *Applied Pharmacology*, 1 ed., Elsevier Inc., cap. 2, pp. 17–34, Missouri. ISBN: 978-1-4377-0310-8. doi: 10.1016/B978-1-4377-0310-8.00002-6.

BARROS, H. M., 2013, "Noções de Farmacologia". In: dos Santos, L., Torriani, M. S., Barros, E. (Eds.), *Medicamentos na Prática da Farmácia Clínica*, 1 ed., Artmed, cap. 1, p. 1120, Porto Alegre.

BARSOUM, R. S., ESMAT, G., EL-BAZ, T., 2013, "Human Schistosomiasis: Clinical Perspective: Review", *Journal of Advanced Research*, v. 4, n. 5, pp. 433–444.

BASHIR, S., TEO, Y. Y., RAMESH, S., et al., 2016, "Synthesis, characterization, properties of N-succinyl chitosan-g-poly (methacrylic acid) hydrogels and in vitro release of theophylline", *Polymer (United Kingdom)*, v. 92, pp. 36–49.

BAWA, P., PILLAY, V., CHOONARA, Y. E., et al., 2009, "Stimuli-responsive polymers and their applications in drug delivery", *Biomedical Materials*, v. 4, n. 2, pp. 022001.

BAZZO, G. C., TAMBOSI, G., BRÜSKE, E. C., et al., 2013, "Avaliação do aumento da solubilidade aquosa do praziquantel incorporado em microesferas de poli(3-hidroxibutirato) e Eudragit® E", *Acta Scientiarum - Health Sciences*, v. 35, n. 1, pp. 91–96.

BECKET, G., SCHEP, L. J., TAN, M. Y., 1999, "Improvement of the *in vitro* dissolution of praziquantel by complexation with α-, β- and γ-cyclodextrins", *International Journal of Pharmaceutics*, v. 179, n. 1, pp. 65–71.

BETTENCOURT, A., ALMEIDA, A. J., 2012, "Poly(methyl methacrylate) particulate carriers in drug delivery", *Journal of Microencapsulation*, v. 29, n. 4, pp. 353–367.

BONAMICI, D., 2009, *Sistema de Classificação Biofarmacêutica e Bioisenções*. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos.

BOVEY, F. A., MIRAU, P. A., 1996, *NMR of Polymers*. 1 ed. San Diego, Academic Press.

BRANDUP, J., IMMERGUT, E., GRULKE, E., 1999, *Polymer Handbook*. 4 ed. New York, John Wiley and Sons.

BRASIL, M. D. S., 2014, *Vigilância da Esquistossomose Mansoni: diretrizes técnicas*. Brasília, Editora MS.

BROOKS, B., 2010, "Suspension polymerization processes", *Chemical Engineering and Technology*, v. 33, n. 11, pp. 1737–1744.

BRUSCHI, M. L., 2015, "Drug delivery systems". In: *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems*, 1 ed., Elsevier Ltd, cap. 6, Cambridge. ISBN: 978-0-08-100092-2.

BYGOTT, J. M., CHIODINI, P. L., 2009, "Praziquantel: Neglected drug? Ineffective treatment? Or therapeutic choice in cystic hydatid disease?" *Acta Tropica*, v. 111, n. 2, pp. 95–101.

CABANE, E., ZHANG, X., LANGOWSKA, K., et al., 2012, "Stimuli-Responsive Polymers and Their Applications in Nanomedicine", *Biointerphases*, v. 7, n. 9, pp. 1–27.

CAMAIL, M., ESSAOUDI, H., MARGAILLAN, A., et al., 1995, "Copolymérisation radicalaire de méthacrylates de 2-aminoéthyle avec le méthacrylate de méthyle", *European Polymer Journal*, v. 31, n. 11, pp. 1119–1125. doi: 10.1016/0014-3057(95)00065-8.

CAMPBELL, W. C., REW, R. S., 1986, *Chemotherapy of Parasitic Diseases*, v. 1. 1 ed. New York, Plenum Press.

CAMPOS, E., BRANQUINHO, J., CARREIRA, A. S., et al., 2013, "Designing polymeric microparticles for biomedical and industrial applications", *European Polymer Journal*, v. 49, pp. 2005–2021.

CANEVAROLO, S. V., 2006, *Ciência dos Polímeros*. 2 ed. São Paulo, Artliber.

CARREIRA, A., TEIXEIRA, R., BEIRÃO, A., et al., 2017, "Preparation of acrylic based microcapsules using different reaction conditions for thermo-regulating textiles production", *European Polymer Journal*, v. 93, pp. 33–43. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2017.05.027.

CARVALHO, I. T., ESTEVINHO, B. N., SANTOS, L., 2016, "Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal health care products - A Review", *International Journal of Cosmetic Science*, v. 38, pp. 109–119.

CHAI, J. Y., 2013, "Praziquantel treatment in trematode and cestode infections: An update", *Infection and Chemotherapy*, v. 45, n. 1, pp. 32–43.

CHASSOT, J. M., FERREIRA, L. M., GOMES, F. P., et al., 2016, "Pullulan as a stabilizer agent of polymeric nanocapsules for drug delivery", *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 52, n. 4, pp. 735–740. doi: 10.1590/s1984-82502016000400018.

CHEN, Y., LIU, W., ZENG, G., et al., 2017, "Microporous PDMAEMA-based stimuli-responsive hydrogel and its application in drug release", *Journal of Applied Polymer Science*, v. 134, n. 38, pp. 45326. doi: 10.1002/app.45326.

CHENG, L., GUO, S., WU, W., 2009, "Characterization and *in vitro* release of praziquantel from poly(ε-caprolactone) implants", *International Journal of Pharmaceutics*, v. 377, pp. 112–119.

CHENG, L., LEI, L., GUO, S., 2010, "*In vitro* and *in vivo* evaluation of praziquantel loaded implants based on PEG/PCL blends", *International Journal of Pharmaceutics*, v. 387, pp. 129–138.

CHUAH, C., GOBERT, G. N., LATIF, B., et al., 2019, "Schistosomiasis in Malaysia: A review", *Acta Tropica*, v. 190, n. 1, pp. 137–143. ISSN: 0001706X. doi: 10.1016/j.actatropica.2018.11.012.

CIOFFI, M., HOFFMANN, A., JANSSEN, L., 2001, "Reducing the gel effect in free radical polymerization", *Chemical Engineering Science*, v. 56, pp. 911–915.

CIOLI, D., PICA-MATTOCCIA, L., 2003, "Praziquantel", *Parasitology research*, v. 90 Supp 1, pp. S3–S9.

CIOLI, D., PICA-MATTOCCIA, L., ARCHER, S., 1995, "Antischistosomal drugs: Past, present ... and future", *Pharmacology and Therapeutics*, v. 68, n. 1, pp. 35–85.

CIOLI, D., PICA-MATTOCCIA, L., BASSO, A., et al., 2014, "Schistosomiasis control: Praziquantel forever?" *Molecular and Biochemical Parasitology*, v. 195, n. 1, pp. 23–29.

COLLEY, D. G., BUSTINDUY, A. L., SECOR, W. E., et al., 2014, "Human schistosomiasis", *The Lancet*, v. 383, n. 9936, pp. 2253–2264.

COON, D. R., 2005, "Schistosomiasis: Overview of the history, biology, clinicopathology, and laboratory diagnosis", *Clinical Microbiology Newsletter*, v. 27, n. 21, pp. 163–169.

COTANDA, P., WRIGHT, D. B., TYLER, M., et al., 2013, "A comparative study of the stimuli-responsive properties of DMAEA and DMAEMA containing polymers", *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, v. 51, n. 16, pp. 3333–3338. doi: 10.1002/pola.26730.

DA SILVA, F. M., DE LACERDA, P. S. B., JONES JUNIOR, J., 2005, "Desenvolvimento sustentável química verde", *Quimica Nova*, v. 28, n. 1, pp. 103–110.

DA SILVA, J. R., MARA, J., VARGEM, D. D. S., et al., 2016, "Ensaio de Dissolução do Medicamento Metildopa Produzido pela Indústria Farmacêutica", *Uniciências*, v. 20, n. 1, pp. 50–57.

DARABI, A., JESSOP, P. G., CUNNINGHAM, M. F., 2016, "CO2 -responsive polymeric materials: synthesis, self-assembly, and functional applications", *Chemical Society Reviews*, v. 45, n. 15, pp. 4391–4436. doi: 10.1039/C5CS00873E.

DAY, T. A., BENNETT, J. L., PAX, R. A., 1992, "Praziquantel: The enigmatic antiparasitic", *Parasitology Today*, v. 8, n. 10, pp. 342–344.

DE JESUS, M. B., PINTO, L. D. M. A., FRACETO, L. F., et al., 2010, "Improvement of the oral praziquantel anthelmintic effect by cyclodextrin complexation", *Journal of drug targeting*, v. 18, n. 1, pp. 21–26.

DE LA TORRE, P., TORRADO, S., TORRADO, S., 1999, "Preparation, Dissolution and Characterization of Praziquantel Solid Dispersions", *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, v. 47, n. 11, pp. 1629–1633.

DECIT, 2010, *Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde*. Relatório técnico, Departamento de Ciência e Tecnologia do Ministério da Saúde.

DELIE, F., BLANCO-PRÍETO, M., 2005, "Polymeric Particulates to Improve Oral Bioavailability of Peptide Drugs", *Molecules*, v. 10, n. 1, pp. 65–80. doi: 10.3390/10010065.

DESAI, M. P., LABHASETWAR, V., WALTER, E., et al., 1997, "The Mechanism of Uptake of Biodegradable Microparticles in Caco-2 Cells Is Size Dependent", *Pharmaceutical Research*, v. 14, n. 11, pp. 1568–1573. doi: 10.1023/A:1012126301290.

DESHPANDE, A. A., RHODES, C. T., SHAH, N. H., et al., 1996, "Controlled-Release Drug Delivery Systems for Prolonged Gastric Residence: An Overview", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 22, n. 6, pp. 531–539. doi: 10.3109/03639049609108355.

DI, L., KERNS, E. H., 2016, "Pharmacokinetics". In: *Drug-Like Properties*, Elsevier, pp. 267–281. doi: 10.1016/B978-0-12-801076-1.00019-8.

DOENHOFF, M. J., CIOLI, D., UTZINGER, J., 2008, "Praziquantel: mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis", *Current Opinion in Infectious Diseases*, v. 21, n. 6, pp. 659–667.

DRESSMAN, J. B., AMIDON, G. L., REPPAS, C., et al., 1998, "Dissolution Testing as a Prognostic Tool for Oral Drug Absorption: Immediate

Release Dosage Forms", *Pharmaceutical Research*, v. 15, n. 1, pp. 11–22. doi: 10.1023/A:1011984216775.

DURRER, C., IRACHE, J. M., PUISIEUX, F., et al., 1994, "Mucoadhesion of Latexes. I. Analytical Methods and Kinetic Studies", *Pharmaceutical Research*, v. 11, n. 5, pp. 674–679. doi: 10.1023/A:1018968011169.

EL-ARINI, S. K., LEUENBERGER, H., 1998, "Dissolution properties of praziquantel-PVP systems", *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, v. 73, pp. 89–94.

FAHR, A., LIU, X., 2007, "Drug delivery strategies for poorly water-soluble drugs." *Expert opinion on drug delivery*, v. 4, n. 4, pp. 403–416.

FATTOUM, A., GMATI, F., BOHLI, N., et al., 2008, "Effects of the matrix molecular weight on conductivity and dielectric relaxation in plasticized polyaniline/polymethylmethacrylathe blends", *Journal of Physics D: Applied Physics*, v. 41, n. 9, pp. 095407.

FEDERICO, M. P., SAKATA, R. A. P., PINTO, P. F. C., et al., 2017, "Noções sobre parâmetros farmacocinéticos/farmacodinâmicos e sua utilização na prática médica", *Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica*, v. 15, n. 3, pp. 201–205.

FERREIRA, G. R., SEGURA, T., DE SOUZA, F. G., et al., 2012, "Synthesis of poly(vinyl acetate)-based magnetic polymer microparticles", *European Polymer Journal*, v. 48, n. 12, pp. 2050–2069. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2012.09.003.

FERRIOL, M., GENTILHOMME, A., COCHEZ, M., et al., 2003, "Thermal degradation of poly(methyl methacrylate) (PMMA): modelling of DTG and TG curves", *Polymer Degradation and Stability*, v. 79, n. 2, pp. 271–281. doi: 10.1016/S0141-3910(02)00291-4.

FEUSER, P. E., GASPAR, P. C., RICCI-JÚNIOR, E., et al., 2014, "Synthesis and characterization of poly(methyl methacrylate) PMMA and evaluation of cytotoxicity for biomedical application", *Macromolecular Symposia*, v. 343, pp. 65–69.

FIOCRUZ, 2018. "Farmanguinhos: essencial para o Brasil". Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/farmanguinhos-essencial-para-o-brasil>.

FONSECA, L. B., NELE, M., VOLPATO, N. M., et al., 2013b, "Production of PMMA Nanoparticles Loaded with Praziquantel Through *in situ* Miniemulsion Polymerization", *Macromolecular Reaction Engineering*, v. 7, n. 1, pp. 54–63.

FONSECA, L. B., 2012, *Desenvolvimento de nanopartículas poliméricas contendo Praziquantel para o tratamento da esquistossomose*. Tese de doutorado, PEQ/COPPE/UFRJ.

FONSECA, L. B., VIÇOSA, A. L., MATTOS, A. C. A., et al., 2013a, "Development of a brazilian nanoencapsulated drug for schistosomiasis treatment", *Vigilância Sanitária em Debate*, v. 1, n. 4, pp. 82–88.

FREZZA, T. F., GREMIÃO, M. P. D., ZANOTTI-MAGALHÃES, E. M., et al., 2013, "Liposomal-praziquantel: Efficacy against Schistosoma mansoni in a preclinical assay", *Acta Tropica*, v. 128, n. 1, pp. 70–75.

FREZZA, T. F., DE SOUZA, A. L., RIBEIRO PRADO, C. C., et al., 2015, "Effectiveness of hyperbaric oxygen for experimental treatment of schistosomiasis mansoni using praziquantel-free and encapsulated into liposomes: Assay in adult worms and oviposition", *Acta Tropica*, v. 150, pp. 182–189.

GENOME RESEARCH LIMITED, 2016. "What is schistosomiasis?" Disponível em: <`http://www.yourgenome.org/facts/what-is-schistosomiasis`>.

GÖPFERICH, A., 1996, "Mechanisms of Polymer Degradation and Stabilisation", *Biomaterials*, v. 17, n. 2, pp. 103–114.

GORINI, F., CHIAPPA, E., GARGANI, L., et al., 2014, "Potential effects of environmental chemical contamination in congenital heart disease", *Pediatric Cardiology*, v. 35, n. 4, pp. 559–568.

GRAESER, K. A., PATTERSON, J. E., ZEITLER, J. A., et al., 2010, "The Role of Configurational Entropy in Amorphous Systems", *Pharmaceutics*, v. 2, n. 2, pp. 224–244. doi: 10.3390/pharmaceutics2020224.

GRUND, S., BAUER, M., FISCHER, D., 2011, "Polymers in drug delivery-state of the art and future trends", *Advanced Engineering Materials*, v. 13, n. 3, pp. 61–87.

GUO, S., QIAO, Y., WANG, W., et al., 2010, "Poly(ϵ-caprolactone)-graft-poly(2-(N, N-dimethylamino) ethyl

methacrylate) nanoparticles: pH dependent thermo-sensitive multifunctional carriers for gene and drug delivery", *Journal of Materials Chemistry*, v. 20, n. 33, pp. 6935. doi: 10.1039/c0jm00506a.

GUPTA, P., VERMANI, K., GARG, S., 2002, "Hydrogels: from controlled release to pH responsive drug delivery", *Drug Discovery Today*, v. 7, n. 10, pp. 569–579.

HAGAN, P., APPLETON, C. C., COLES, G. C., et al., 2004, "Schistosomiasis control: Keep taking the tablets", *Trends in Parasitology*, v. 20, n. 2, pp. 92–97.

HOLLIDAY, W. M., BERDICK, M., BELL, S. A., et al., 1970. "Sustained Relief Analgesic Composition". .

HOLZAPFEL, V., MUSYANOVYCH, A., LANDFESTER, K., et al., 2005, "Preparation of fluorescent carboxyl and amino functionalized polystyrene particles by miniemulsion polymerization as markers for cells", *Macromolecular Chemistry and Physics*, v. 206, pp. 2440–2449.

HU, L., CHU, L.-Y., YANG, M., et al., 2007, "Preparation and characterization of novel cationic pH-responsive poly(-dimethylamino ethyl methacrylate) microgels", *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 311, n. 1, pp. 110–117. doi: 10.1016/j.jcis.2007.02.063.

HU, Y., WANG, J., ZHANG, H., et al., 2014, "Synthesis and characterization of monodispersed P(St-co-DMAEMA) nanoparticles as pH-sensitive drug delivery system", *Materials Science and Engineering C*, v. 45, pp. 1–7.

HUH, K. M., KANG, H. C., LEE, Y. J., et al., 2012, "pH-sensitive polymers for drug delivery", *Macromolecular Research*, v. 20, n. 3, pp. 224–233.

ISLAM, M. S., YEUM, J. H., DAS, A. K., 2012, "Synthesis of poly(vinyl acetate-methyl methacrylate) copolymer microspheres using suspension polymerization", *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 368, pp. 400–405.

JAHANZAD, F., SAJJADI, S., BROOKS, B. W., 2004, "On the evolution of particle size average and size distribution in suspension polymerization processes", *Macromolecular Symposia*, v. 206, pp. 255–262.

JAHANZAD, F., SAJJADI, S., BROOKS, B. W., 2005a, "Characteristic intervals in suspension polymerisation reactors: An experimental and modelling study", *Chemical Engineering Science*, v. 60, pp. 5574–5589.

JAHANZAD, F., SAJJADI, S., BROOKS, B. W., 2005b, "Comparative Study of Particle Size in Suspension Polymerization and Corresponding Monomer - Water Dispersion", *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v. 44, n. 11, pp. 4112–4119.

JAMEKHORSHID, A., SADRAMELI, S. M., FARID, M., 2014, "A review of microencapsulation methods of phase change materials (PCMs) as a thermal energy storage (TES) medium", *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 31, pp. 531–542.

JIA, J., WANG, C., CHEN, K., et al., 2017, "Drug release of yolk/shell microcapsule controlled by pH-responsive yolk swelling", *Chemical Engineering Journal*, v. 327, pp. 953–961. doi: 10.1016/j.cej.2017.06.170.

JIN, H., 2014, *Preparation of CO2 -Switchable Poly (Methyl Methacrylate) Latexes By Surfactant-Free Emulsion Polymerization*. Master of applied science, Queen's University.

JYOTHI, N. V. N., PRASANNA, P. M., SAKARKAR, S. N., et al., 2010, "Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency." *Journal of microencapsulation*, v. 27, n. 3, pp. 187–197.

KALEPU, S., NEKKANTI, V., 2015, "Insoluble drug delivery strategies: review of recent advances and business prospects", *Acta Pharmaceutica Sinica B*, v. 5, n. 5, pp. 442–453. doi: 10.1016/j.apsb.2015.07.003.

KASHIWAGI, T., INABA, A., BROWN, J. E., et al., 1986, "Effects of weak linkages on the thermal and oxidative degradation of poly(methyl methacrylates)", *Macromolecules*, v. 19, n. 8, pp. 2160–2168. doi: 10.1021/ma00162a010.

KASIM, N. A., WHITEHOUSE, M., RAMACHANDRAN, C., et al., 2004, "Molecular Properties of WHO Essential Drugs and Provisional Biopharmaceutical Classification", *Molecular Pharmaceutics*, v. 1, n. 1, pp. 85–96.

KATZ, N., ALMEIDA, K., 2003, "Esquistossomose, Xistosa, Barriga D'Água", *Ciência e Cultura*, v. 55, n. 1, pp. 38–41.

KAWAGUCHI, H., 2000, "Functional polymer microspheres", *Progress in Polymer Science*, v. 25, pp. 1171–1210.

KEISER, J., INGRAM, K., UTZINGER, J., 2011, "Antiparasitic drugs for paediatrics: systematic review, formulations, pharmacokinetics, safety,

efficacy and implications for control", *Parasitology*, v. 138, n. 12, pp. 1620–1632.

KENAKIN, T. P., 2009, "Pharmacokinetics". In: *A Pharmacology Primer*, Elsevier, pp. 179–214. doi: 10.1016/B978-0-12-374585-9.00009-8.

KHADKA, P., RO, J., KIM, H., et al., 2014, "Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability", *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 9, n. 6, pp. 304–316.

KHAKZAD, F., MAHDAVIAN, A. R., SALEHI-MOBARAKEH, H., et al., 2016, "Redispersible PMMA latex nanoparticles containing spiropyran with photo-, pH- and CO2- responsivity", *Polymer*, v. 101, n. 1, pp. 274–283. doi: 10.1016/j.polymer.2016.08.073.

KIM, S., KIM, J. H., JEON, O., et al., 2009, "Engineered polymers for advanced drug delivery", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 71, pp. 420–430.

KIPARISSIDES, C., 1996, "Polymerization reactor modeling: A review of recent developments and future directions", *Chemical Engineering Science*, v. 51, n. 10, pp. 1637–1659.

KLEIN, S., 2010, "The Use of Biorelevant Dissolution Media to Forecast the In Vivo Performance of a Drug", *The AAPS Journal*, v. 12, n. 3, pp. 397–406. doi: 10.1208/s12248-010-9203-3.

KOCBEK, P., BAUMGARTNER, S., KRISTL, J., 2006, "Preparation and evaluation of nanosuspensions for enhancing the dissolution of poorly soluble drugs", *International Journal of Pharmaceutics*, v. 312, pp. 179–186.

KOTOULAS, C., KIPARISSIDES, C., 2007, "Suspension Polymerization". In: Asua, J. M. (Ed.), *Polymer Reaction Engineering*, 1 ed., Blackwell Publishing, cap. 5, Oxford, UK.

KRAITZER, A., ZILBERMAN, M., 2012, "Controlled release of antiproliferative drugs from polymeric systems for stent applications and local cancer treatment", *Advanced Engineering Materials*, v. 14, n. 6, pp. 294–310.

KULKARNI, R. V., SA, B., 2009, "Polyacrylamide-grafted-alginate-based pH-sensitive hydrogel beads for delivery of ketoprofen to the intestine: in vitro and in vivo evaluation." *Journal of biomaterials science. Polymer edition*, v. 20, n. 2, pp. 235–51.

LAM, P. L., GAMBARI, R., 2014, "Advanced progress of microencapsulation technologies: *In vivo* and *in vitro* models for studying oral and transdermal drug deliveries", *Journal of Controlled Release*, v. 178, n. 1, pp. 25–45.

LEUNER, C., DRESSMAN, J., 2000, "Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 50, n. 1, pp. 47–60. doi: 10.1016/S0939-6411(00)00076-X.

LI, X.-Y., XIE, R., LUO, F., et al., 2019, "CO2-responsive poly(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate) hydrogels with fast responsive rate", *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 94 (jan), pp. 135–142. doi: 10.1016/j.jtice.2018.03.006.

LI, X.-X., CHEN, J., SHEN, J.-M., et al., 2018, "pH-Sensitive nanoparticles as smart carriers for selective intracellular drug delivery to tumor", *International Journal of Pharmaceutics*, v. 545, n. 1-2, pp. 274–285. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.05.012.

LINDENBERG, M., KOPP, S., DRESSMAN, J. B., 2004, "Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 58, n. 2, pp. 265–278.

LING, D., PARK, W., PARK, S.-J., et al., 2014, "Multifunctional Tumor pH-Sensitive Self-Assembled Nanoparticles for Bimodal Imaging and Treatment of Resistant Heterogeneous Tumors", *Journal of the American Chemical Society*, v. 136, n. 15, pp. 5647–5655. doi: 10.1021/ja4108287.

LIU, Y., WANG, X., WANG, J., et al., 2004, "Structural characterization and enantioseparation of the chiral compound praziquantel", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 93, n. 12, pp. 3039–3046.

LOFTSSON, T., BREWSTER, M. E., 1996, "Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 85, pp. 1017–1025.

LORCA, B. D. S. E. S., 2012, *Desenvolvimento de Formulação Fotoprotetora contendo Nanopartículas Poliméricas com Filtro Solar*. Tese de doutorado, PEQ/COPPE/UFRJ.

MACHADO, F., LIMA, E. L., PINTO, J. C., 2007, "Uma revisão sobre os processos de polimerização em suspensão", *Polímeros*, v. 17, n. 2, pp. 166–179.

MAHAPATRO, A., SINGH, D. K., 2011, "Biodegradable nanoparticles are excellent vehicle for site directed *in-vivo* delivery of drugs and vaccines." *Journal of nanobiotechnology*, v. 9, pp. 55–65.

MAINARDES, R. M., EVANGELISTA, R. C., 2005, "PLGA nanoparticles containing praziquantel: Effect of formulation variables on size distribution", *International Journal of Pharmaceutics*, v. 290, pp. 137–144.

MAINARDES, R. M., GREMIÃO, M. P. D., EVANGELISTA, R. C., 2006, "Thermoanalytical study of praziquantel-loaded PLGA nanoparticles", *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 42, n. 4, pp. 523–530.

MAINCENT, P., LE VERGE, R., SADO, P., et al., 1986, "Disposition Kinetics and Oral Bioavailability of Vincamine-Loaded Polyalkyl Cyanoacrylate Nanoparticles", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 75, n. 10, pp. 955–958. doi: 10.1002/jps.2600751009.

MALHADO, M., PINTO, D. P., SILVA, A. C., et al., 2016, "Preclinical pharmacokinetic evaluation of praziquantel loaded in poly (methyl methacrylate) nanoparticle using a HPLC–MS/MS", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 117, pp. 405–412. doi: 10.1016/j.jpba.2015.09.023.

MANADAS, R., PINA, M. E., VEIGA, F., 2002, "A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada", *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 38, n. 4, pp. 375–399.

MANO, E. B., MENDES, L. C., 1999, *Introdução a Polímeros*. 2 ed. São Paulo, Editora Edgard Blücher. ISBN: 85-212-0247-4.

MANO, J. F., 2012, "Polímeros Inteligentes em Aplicações Biomédicas", *Química*, v. 126, pp. 27–31.

MARAGOS, S., ARCHONTAKI, H., MACHERAS, P., et al., 2009, "Effect of cyclodextrin complexation on the aqueous solubility and solubility/dose ratio of praziquantel." *AAPS PharmSciTech*, v. 10, n. 4, pp. 1444–1451.

MARK, H. F., 2002, *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, v. 3. 3 ed ed. Hoboken, NJ, USA, John Wiley & Sons, Inc. ISBN: 9780471440260.

doi: 10.1002/0471440264. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/0471440264>.

MARTINS, I. M., BARREIRO, M. F., COELHO, M., et al., 2014, "Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications", *Chemical Engineering Journal*, v. 245, pp. 191–200.

MATHEW, C. M., KESAVAN, K., RAJENDRAN, S., 2015, "Structural and Electrochemical Analysis of PMMA Based Gel Electrolyte Membranes", *International Journal of Electrochemistry*, v. 2015, n. 12, pp. 1–7.

MEISTER, I., INGRAM-SIEBER, K., COWAN, N., et al., 2014, "Activity of Praziquantel Enantiomers and Main Metabolites against Schistosoma mansoni", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 58, n. 9, pp. 5466–5472.

MENDES, A. N., HUBBER, I., SIQUEIRA, M., et al., 2012, "Preparation and cytotoxicity of poly(methyl methacrylate) nanoparticles for drug encapsulation", *Macromolecular Symposia*, v. 319, n. 1, pp. 34–40.

MENG, F., ZHONG, Y., CHENG, R., et al., 2014, "pH-sensitive polymeric nanoparticles for tumor-targeting doxorubicin delivery: concept and recent advances", *Nanomedicine*, v. 9, n. 3, pp. 487–499. doi: 10.2217/nnm.13.212.

MEYER, T., SEKLJIC, H., FUCHS, S., et al., 2009, "Taste, a new incentive to switch to (R)-praziquantel in schistosomiasis treatment", *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 3, n. 1, pp. 1–5.

MIN, K., SILBERSTEIN, M., ALURU, N. R., 2014, "Crosslinking PMMA: Molecular dynamics investigation of the shear response", *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*, v. 52, n. 6, pp. 444–449.

MIRAGLIA, S. J., 1989, "Reactivity ratios for the system DEAEMA/MMA", *Journal of Applied Polymer Science*, v. 38, n. 12, pp. 2303–2307.

MOHAMED, A., ABD-MOTAGALY, A., AHMED, O., et al., 2017, "Investigation of Drug–Polymer Compatibility Using Chemometric-Assisted UV-Spectrophotometry", *Pharmaceutics*, v. 9, n. 4. doi: 10.3390/pharmaceutics9010007.

MORAES, C. M., DE LIMA, R., ROSA, A. H., et al., 2009, "Encapsulation of Local Anesthetic Bupivacaine in Biodegradable Poly(DL-lactide- co -glycolide)

Nanospheres: Factorial Design, Characterization and Cytotoxicity Studies", *Macromolecular Symposia*, v. 281, n. 1, pp. 106–112. doi: 10.1002/masy.200950714.

MOREIRA, T. S., DE OLIVEIRA, M. A. M., DA ROCHA E LIMA, L. M. T., et al., 2014, "Synthesis of Nanoparticles Loaded with Tamoxifen by *in Situ* Miniemulsion RAFT Polymerization", *Macromolecular Symposia*, v. 344, pp. 101–107.

MOURÃO, S. C., COSTA, P. I., SALGADO, H. R. N., et al., 2005, "Improvement of antischistosomal activity of praziquantel by incorporation into phosphatidylcholine-containing liposomes", *International Journal of Pharmaceutics*, v. 295, n. 1-2, pp. 157–162.

MOUSTAFA, A. B., SOBH, R. A., RABIE, A. M., et al., 2013, "Synthesis and *in vitro* release of guest drugs-loaded copolymer nanospheres MMA/HEMA via differential microemulsion polymerization", *Journal of Applied Polymer Science*, v. 129, n. 2 (jul), pp. 853–865.

MUÑOZ-BONILLA, A., FERNÁNDEZ-GARCÍA, M., HADDLETON, D. M., 2007, "Synthesis and aqueous solution properties of stimuli-responsive triblock copolymers", *Soft Matter*, v. 3, n. 6, pp. 725–731. doi: 10.1039/B616426A.

NAIR, L. S., LAURENCIN, C. T., 2006, "Polymers as Biomaterials for Tissue Engineering and Controlled Drug Delivery". In: Lee, K., Kaplan, D. (Eds.), *Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology*, Springer, cap. 2, p. 252, New York.

NAKAMURA, Y., YAMAGO, S., 2015, "Termination Mechanism in the Radical Polymerization of Methyl Methacrylate and Styrene Determined by the Reaction of Structurally Well-Defined Polymer End Radicals", *Macromolecules*, v. 48, n. 18, pp. 6450–6456. doi: 10.1021/acs.macromol.5b01532.

NAKAMURA, Y., OGIHARA, T., HATANO, S., et al., 2017, "Control of the Termination Mechanism in Radical Polymerization by Viscosity: Selective Disproportionation in Viscous Media", *Chemistry - A European Journal*, v. 23, n. 6, pp. 1299–1305. doi: 10.1002/chem.201604659.

NATARAJAN, J. V., NUGRAHA, C., NG, X. W., et al., 2014, "Sustained-release from nanocarriers: a review", *Journal of Controlled Release*, v. 193, pp. 122–138. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.05.029.

NGWULUKA, N., 2010, "Application of *In Situ* Polymerization for Design and Development of Oral Drug Delivery Systems", *AAPS PharmSciTech*, v. 11, n. 4, pp. 1603–1611.

NOORY, C., TRAN, N., OUDERKIRK, L., et al., 2002, "Steps for development of a dissolution test for sparingly water-soluble drug products", *American Pharmaceutical Review*, v. 5, n. 4, pp. 16–20.

NOVAES, M. R. C. G., SOUZA, J. P., ARAÚJO, H. C., 1999, "Síntese do anti-helmíntico Praziquantel, a partir da glicina", *Química Nova*, v. 22, n. 1, pp. 5–10.

ODIAN, G., 2004, *Principles of Polymerization*. 4 ed. New York, John Wiley & Sons. ISBN: 9780470754368.

OKABE, K., KIMURA, H., OKABE, J., et al., 2003, "Intraocular tissue distribution of betamethasone after intrascleral administration using a non-biodegradable sustained drug delivery device", *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, v. 44, n. 6, pp. 2702–2707.

OLIVEIRA, M. A. M., MELO, P. A., NELE, M., et al., 2011, "*In-situ* incorporation of amoxicillin in PVA/PVAc-co-PMMA particles during suspension polymerizations", *Macromolecular Symposia*, v. 299-300, n. 1, pp. 34–40.

OLIVEIRA, M. A. M., MELO, P. A., NELE, M., et al., 2012a, "Suspension Copolymerization of Vinyl Acetate and Methyl Methacrylate in the Presence of Amoxicillin", *Macromolecular Reaction Engineering*, v. 6, n. 6-7, pp. 280–292.

OLIVEIRA, M. A. M., MELO, P. A., NELE, M., et al., 2012b, "*In situ* incorporation of doxorubicin in copolymer particles during suspension polymerization", *Macromolecular Symposia*, v. 319, n. 1, pp. 23–33.

OLIVEIRA, M. A. M., NELE, M., PINTO, J. C., 2013, "Polimerização RAFT em Miniemulsão", *Polímeros*, v. 23, n. 6, pp. 1–14.

OLLIARO, P., DELGADO-ROMERO, P., KEISER, J., 2014, "The little we know about the pharmacokinetics and pharmacodynamics of praziquantel (racemate and R-enantiomer)", *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 69, n. 4, pp. 863–870. doi: 10.1093/jac/dkt491.

OMIDIAN, H., PARK, K., 2008, "Swelling agents and devices in oral drug delivery", *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 18, n. 2, pp. 83–93.

OMS, 2019. "Schistosomiasis". Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/en/>.

OSAKUNOR, D. N. M., WOOLHOUSE, M. E. J., MUTAPI, F., 2018, "Paediatric schistosomiasis: What we know and what we need to know", *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 12, n. 2, pp. 1–16. doi: 10.1371/journal.pntd.0006144.

PAIVA, T. F., 2015, *Análise de Processos de Nanoencapsulamento de Filtros Solares*. Dissertação de mestrado, PEQ/COPPE/UFRJ.

PAN, C., LIU, Y., ZHOU, M., et al., 2018, "Theranostic pH-sensitive nanoparticles for highly efficient targeted delivery of doxorubicin for breast tumor treatment", *International Journal of Nanomedicine*, v. 13, n. 1, pp. 1119–1137. doi: 10.2147/IJN.S147464.

PANG, X., SUN, H., SHEN, Q., 2004, "Copolymerizations of 2-(dimethylamino)ethyl methacrylate with (methyl)acrylates initiated by a neutral Pd(II)-based complex", *Polymer*, v. 45, n. 12, pp. 4029–4035. doi: 10.1016/j.polymer.2004.03.064.

PARK, S. H., CHOI, H. K., 2006, "The effects of surfactants on the dissolution profiles of poorly water-soluble acidic drugs", *International Journal of Pharmaceutics*, v. 321, n. 1-2, pp. 35–41.

PASSERINI, N., ALBERTINI, B., PERISSUTTI, B., et al., 2006, "Evaluation of melt granulation and ultrasonic spray congealing as techniques to enhance the dissolution of praziquantel", *International Journal of Pharmaceutics*, v. 318, pp. 92–102.

PAVIA, D. L., LAMPMAN, G. M., KRIZ, G. S., et al., 2001, *Introduction to Spectroscopy*. 3 ed. USA, Brooks/Cole Cengale Learning.

PAX, R., BENNETT, J. L., FETTERER, R., 1978, "A Benzodiazepine Derivative and Praziquantel: Effects on Musculature of Schistosoma mansoni and Schistosoma japonicum", *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, v. 304, pp. 309–315.

PEZZINI, B. R., SILVA, M. A. S., FERRAZ, H. G., 2007, "Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados", *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 43, n. 4. doi: 10.1590/S1516-93322007000400002.

PICHOT, C., 2004, "Surface-functionalized latexes for biotechnological applications", *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, v. 9, pp. 213–221.

PIKABEA, A., VILLAR-ÁLVAREZ, E., FORCADA, J., et al., 2018, "pH-controlled doxorubicin delivery from PDEAEMA-based nanogels", *Journal of Molecular Liquids*, v. 266, pp. 321–329. doi: 10.1016/j.molliq.2018.06.068.

PILLAI, O., PANCHAGNULA, R., 2001, "Polymers in drug delivery", *Current Opinion in Chemical Biology*, v. 5, n. 4, pp. 447–451.

PINTO, M. C. C., SANTOS, J. G. F., MACHADO, F., et al., 2013, "Suspension Polymerization Processes". In: *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, John Wiley & Sons, Inc., United Kingdom.

PINTO, M. C. C., 2017, *Desenvolvimento de Suportes Enzimáticos por Polimerização Simultânea em Suspensão e Emulsão.* Tese de doutorado, PEQ/COPPE/UFRJ.

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

POURJAVADI, A., KOHESTANIAN, M., SHIRZAD, M., 2019, "Synthesis and characterization of magnetic hybrid nanomaterials via RAFT polymerization: A pH sensitive drug delivery system", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 174, pp. 153–160.

PRIYA JAMES, H., JOHN, R., ALEX, A., 2014, "Smart polymers for the controlled delivery of drugs – a concise overview", *Acta Pharmaceutica Sinica B*, v. 4, n. 2, pp. 120–127.

PUBCHEM, 2019. "PubChem". Disponível em: <`https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/`>.

QI, P., BU, Y., XU, J., et al., 2016, "pH-responsive release of paclitaxel from hydrazone-containing biodegradable micelles", *Colloid and Polymer Science*, (nov), pp. 1–12. doi: 10.1007/s00396-016-3968-6.

QIU, Y., PARK, K., 2001, "Environment-sensitive hydrogels for drug delivery", *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 53, pp. 321–339.

RADZEVICIUS, P., STEPONAVICIUTE, M., KRIVOROTOVA, T., et al., 2017, "Double thermoresponsive pentablock copolymers: synthesis by one-pot RAFT polymerization and self-assembly in aqueous solutions", *Polymer Chemistry*, v. 8, n. 46, pp. 7217–7228. doi: 10.1039/C7PY01546A.

RATEMI, E., 2018, "pH-responsive polymers for drug delivery applications". In: Makhlouf, A. S. H., Abu-Thabit, N. Y. (Eds.), *Stimuli Responsive Polymeric Nanocarriers for Drug Delivery Applications, Volume 1*, 1 ed., Elsevier, cap. 5, pp. 121–141, United Kingdom. ISBN: 9780081019979. doi: 10.1016/B978-0-08-101997-9.00005-9.

RODRIGUES, D. C. Q., 2017, *Encapsulamento de Agentes Inibidores Corrosão para Liberação Gradual em Poços de Petróleo.* Dissertation, PEQ/COPPE/UFRJ.

RODRIGUES, L. N. C., WATANABE, S. P., FERRAZ, H. G., 2008, "Perfil de dissolução in vitro de comprimidos de primaquina disponíveis para tratamento de malária no Brasil", *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 41, n. 1, pp. 41–45. doi: 10.1590/S0037-86822008000100008.

ROKNI, M. B., 2012, *Schistosomiasis*. London, InTech. ISBN: 978-953-307-852-6. doi: 10.5772/1309. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/schistosomiasis>.

ROOINTAN, A., FARZANFAR, J., MOHAMMADI-SAMANI, S., et al., 2018, "Smart pH responsive drug delivery system based on poly(HEMA-co-DMAEMA) nanohydrogel", *International Journal of Pharmaceutics*, v. 552, n. 1-2, pp. 301–311. doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.10.001.

ROSEN, M. J., KUNJAPPU, J. T., 2012, *Surfactants and interfacial phenomena*. 4 ed. Hoboken, New Jersey, John Wiley & Sons, Inc.

ROY, S. G., BAURI, K., PAL, S., et al., 2012, "Synthesis, characterization and thermal degradation of dual temperature- and pH-sensitive RAFT-made copolymers of N,N-(dimethylamino)ethyl methacrylate and methyl methacrylate", *Polymer International*, v. 62, n. 3, pp. 463–473.

RUSEN, E., MĂRCULESCU, B., BUTAC, L., et al., 2008, "Acrylic cements for dental prosthetics", *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, v. 10, n. 12, pp. 3436–3441.

SACKETT, C. K., NARASIMHAN, B., 2011, "Mathematical modeling of polymer erosion: Consequences for drug delivery", *International Journal of Pharmaceutics*, v. 418, n. 1.

SAHIL, K., AKANKSHA, M., PREMJEET, S., et al., 2011, "Microsphere : a Review", *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, v. 1, n. 4, pp. 1184–1198.

SAIRAM, M., RAMESH BABU, V., KRISHNA RAO, K. S. V., et al., 2007, "Poly(methylmethacrylate)-poly(vinyl pyrrolidone) microspheres as drug delivery systems: Indomethacin/cefadroxil loading and *in vitro* release study", *Journal of Applied Polymer Science*, v. 104, pp. 1860–1865.

SCHAFFAZICK, S. R., GUTERRES, S. S., FREITAS, L. D. L., et al., 2003, "Caracterização e Estabilidade Físico-Química de Sistemas Poliméricos Nanoparticulados para Administração de Fármacos", *Química Nova*, v. 26, n. 5, pp. 726–737.

SCHMALJOHANN, D., 2006, "Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery", *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 58, n. 15, pp. 1655–1670.

SCHOLTE, R. G. C., GOSONIU, L., MALONE, J. B., et al., 2014, "Predictive risk mapping of schistosomiasis in brazil using bayesian geostatistical models", *Acta Tropica*, v. 132, n. 1, pp. 57–63.

SECOR, W. E., COLLEY, D. G., 2006, *World Class Parasites: Vol. X, Schistosomiasis*, v. 12. Boston, Springer. ISBN: 038723277X.

SERRA, C. H. D. R., STORPIRTIS, S., 2007, "Comparação de perfis de dissolução da cefalexina através de estudos de cinética e eficiência de dissolução (ED%)", *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 43, n. 1, pp. 79–88. doi: 10.1590/S1516-93322007000100010.

SHAH, V. P., NOORY, A., NOORY, C., et al., 1995, "In vitro dissolution of sparingly water-soluble drug dosage forms", *International Journal of Pharmaceutics*, v. 125, n. 1, pp. 99–106.

SHARIFI-SANJANI, N., MAHDAVIAN, A. R., BATAILLE, P., 2000, "Emulsion polymerization of styrene and DEAEMA with a core-shell structure", *Journal of Applied Polymer Science*, v. 78, n. 11, pp. 1977–1985. doi: 10.1002/1097-4628(20001209)78:11<1977::AID-APP180>3.0.CO;2-6.

SHIM, J.-W., KIM, J.-W., HAN, S.-H., et al., 2002, "Zinc oxide/polymethylmethacrylate composite microspheres by in situ

suspension polymerization and their morphological study", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 207, n. 1-3, pp. 105–111. doi: 10.1016/S0927-7757(02)00044-4.

SHIRIN-ABADI, A. R., JESSOP, P. G., CUNNINGHAM, M. F., 2017, "In Situ Use of Aqueous RAFT Prepared Poly(2-(diethylamino)ethyl methacrylate) as a Stabilizer for Preparation of CO2 Switchable Latexes", *Macromolecular Reaction Engineering*, v. 11, n. 1, pp. 1600035. doi: 10.1002/mren.201600035.

SIEGEL, R. A., RATHBONE, M. J., 2012, "Overview of Controlled Release Mechanisms". In: Siepmann, J., Siegel, R. A., Rathbone, M. J. (Eds.), *Fundamentals and applications of controlled release drug delivery.*, 1 ed., Springer, cap. 2, pp. 19–43, New York.

SILVA, C., RIBEIRO, A., FERREIRA, D., et al., 2003, "Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação", *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 39, n. 1, pp. 1–20.

SILVERSTEIN, R. M., WEBSTER, F. X., KIEMLE, D. J., 2006, *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*. 7 ed. New York, LTC.

SINGH, M., HEMANT, K., RAM, M., et al., 2010, "Microencapsulation: A promising techniques for controlled drug delivery", *Research in Pharmaceutical Science*, v. 5, n. 2, pp. 65–77.

SIVAKUMAR, M., RAO, K. P., 2002, "*In vitro* release of ibuprofen and gentamicin from PMMA functional microspheres." *Journal of biomaterials science. Polymer edition*, v. 13, n. 2, pp. 111–126.

SOLJIC, I., JUKIC, A., JANOVIC, Z., 2009, "Free radical copolymerization of N , N -dimethylaminoethyl methacrylate with styrene and methyl methacrylate: monomer reactivity ratios and glass transition temperatures", *Polymer International*, v. 58, n. 9, pp. 1014–1022. doi: 10.1002/pi.2626.

SONG, Z., WANG, K., GAO, C., et al., 2016, "A New Thermo-, pH-, and CO2 -Responsive Homopolymer of Poly[N -[2-(diethylamino)ethyl]acrylamide]: Is the Diethylamino Group Underestimated?" *Macromolecules*, v. 49, n. 1, pp. 162–171. doi: 10.1021/acs.macromol.5b02458.

SOUZA, A. L. R. D., ANDREANI, T., DE OLIVEIRA, R. N., et al., 2014, "*In vitro* evaluation of permeation, toxicity and effect of praziquantel-loaded

solid lipid nanoparticles against Schistosoma mansoni as a strategy to improve efficacy of the schistosomiasis treatment", *International Journal of Pharmaceutics*, v. 463, n. 1, pp. 31–37.

SOUZA, F. P. C., VITORINO, R. R., COSTA, A. D. P., et al., 2011, "Esquistossomose mansônica: aspectos gerais, imunologia, patogênese e história natural", *Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica*, v. 9, n. 4, pp. 300–307.

SPERNARTH, L., MAGDASSI, S., 2007, "Preparation of ethyl cellulose nanoparticles from nano-emulsion obtained by inversion at constant temperature", *Micro & Nano Letters*, v. 2, n. 4, pp. 90–95.

SUAVE, J., DALL'AGNOL, E., PEZZIN, A., et al., 2006, "Microencapsulação : Inovação em diferentes áreas", *Revista Saúde e Ambiente - Health and Environment Journal*, v. 7, n. 2, pp. 12–20.

SUCEN, 2006. "Esquistossomose". Disponível em: <`http://www.saude.sp.gov.br/sucen-superintendencia-de-controle-de-endemias/programas/esquistossomose/`>.

SUN, D. D., LEE, P. I., 2014, "Crosslinked hydrogels—a promising class of insoluble solid molecular dispersion carriers for enhancing the delivery of poorly soluble drugs", *Acta Pharmaceutica Sinica B*, v. 4, n. 1, pp. 26–36. doi: 10.1016/j.apsb.2013.12.002.

SUN, D. D., JU, T.-C. R., LEE, P. I., 2012, "Enhanced kinetic solubility profiles of indomethacin amorphous solid dispersions in poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 81, n. 1, pp. 149–158. doi: 10.1016/j.ejpb.2011.12.016.

SUN, M., WU, C., FU, Q., et al., 2016, "Solvent-shift strategy to identify suitable polymers to inhibit humidity-induced solid-state crystallization of lacidipine amorphous solid dispersions", *International Journal of Pharmaceutics*, v. 503, n. 1-2, pp. 238–246. doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.01.062.

TAMBOSI, G., COELHO, P. F., LUCIANO, S., et al., 2018, "Challenges to improve the biopharmaceutical properties of poorly water-soluble drugs and the application of the solid dispersion technology", *Matéria (Rio de Janeiro)*, v. 23, n. 4. doi: 10.1590/s1517-707620180004.0558.

THAVANESAN, T., HERBERT, C., PLAMPER, F. A., 2014, "Insight in the Phase Separation Peculiarities of Poly(dialkylaminoethyl methacrylate)s", *Langmuir*, v. 30, n. 19, pp. 5609–5619. doi: 10.1021/la5007583.

TRASTULLO, R., DOLCI, L. S., PASSERINI, N., et al., 2015, "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, pp. 536–550.

UHRICH, K. E., CANNIZZARO, S. M., LANGER, R. S., et al., 1999, "Polymeric systems for controlled drug release." *Chemical reviews*, v. 99, n. May, pp. 3181–98.

VARDE, N. K., PACK, D. W., 2004, "Microspheres for controlled release drug delivery", *Expert Opinion on Biological Therapy*, v. 4, n. 1, pp. 35–51.

VIEIRA, L. M., 2014, *Encapsulamento in situ de Praziquantel na Polimerização em Suspensão do Metacrilato de Metila para a Produção de Sistemas de Liberação Controlada.* Dissertação, UFRJ.

VILLANOVA, J. C. O., ORÉFICE, R. L., CUNHA, A. S., 2010, "Aplicações Farmacêuticas de Polímeros", *Polímeros*, v. 20, n. 1, pp. 51–64.

VIVALDO-LIMA, E., WOOD, P. E., HAMIELEC, A. E., et al., 1997, "An Updated Review on Suspension Polymerization", *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v. 36, pp. 939–965.

WANG, D., TAN, J., KANG, H., et al., 2011, "Synthesis, self-assembly and drug release behaviors of pH-responsive copolymers ethyl cellulose-graft-PDEAEMA through ATRP", *Carbohydrate Polymers*, v. 84, n. 1, pp. 195–202.

WANG, H., FANG, Z.-Z., ZHENG, Y., et al., 2014, "Metabolic profiling of praziquantel enantiomers", *Biochemical Pharmacology*, v. 90, n. 2, pp. 166–178.

WATSON, M., 2009, "Praziquantel", *Journal of Exotic Pet Medicine*, v. 18, n. 3, pp. 229–231.

WAY, D. V., 2017, *Uso de Click Chemistry para a Bioconjugação de Polímeros Visando ao Tratamento do Câncer.* Tese de doutorado, PEQ/COPPE/UFRJ.

WHO, 2002, *Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis*. Relatório técnico, World Health Organization, Geneva. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42588/WHO{_}TRS{_}912.pdf?sequence=1>.

XIE, S., PAN, B., WANG, M., et al., 2010, "Formulation and characterization of praziquantel-loaded hydrogenated castor oil solid lipid nanoparticles", *Nanomedicine*, v. 5, pp. 693–701.

YANG, C., XIAO, J., XIAO, W., et al., 2017, "Fabrication of PDEAEMA-based pH-responsive mixed micelles for application in controlled doxorubicin release", *RSC Advances*, v. 7, n. 44, pp. 27564–27573. doi: 10.1039/C7RA04358A.

YANG, R., ZHANG, T., YU, J., et al., 2018, "In vitro/vivo assessment of praziquantel nanocrystals: Formulation, characterization, and pharmacokinetics in beagle dogs", *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 000, pp. 1–8. doi: 10.1016/j.ajps.2018.06.001.

YILDIRIM, T., RINKENAUER, A. C., WEBER, C., et al., 2015, "RAFT made methacrylate copolymers for reversible pH-responsive nanoparticles", *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, v. 53, n. 23, pp. 2711–2721.

YOU, J.-O., AUGUSTE, D. T., 2008, "Feedback-regulated paclitaxel delivery based on poly(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate-co-2-hydroxyethyl methacrylate) nanoparticles", *Biomaterials*, v. 29, n. 12, pp. 1950–1957. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.12.041.

YU, Z.-Q., LI, B.-G., LI, B.-F., et al., 1999, "Preparation and characterization of MMA-BA-DMAEMA terpolymer latex", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 153, n. 1-3, pp. 31–38. doi: 10.1016/S0927-7757(98)00423-3.

YUAN, J., PENG, J., LI, J., et al., 2015, "Synthesis of poly(dimethylaminoethyl methacrylate) with high cloud point by RAFT polymerization under γ-irradiation", *Radiation Physics and Chemistry*, v. 108, n. 1, pp. 95–101. doi: 10.1016/j.radphyschem.2014.11.010.

YUKSEL, N., BAYKARA, M., SHIRINZADE, H., et al., 2011, "Investigation of triacetin effect on indomethacin release from poly(methyl methacrylate) microspheres: Evaluation of interactions using FT-IR and NMR

spectroscopies", *International Journal of Pharmaceutics*, v. 404, pp. 102–109.

ZHANG, Y., CHEN, J., ZHANG, G., et al., 2012, "Sustained release of ibuprofen from polymeric micelles with a high loading capacity of ibuprofen in media simulating gastrointestinal tract fluids", *Reactive and Functional Polymers*, v. 72, n. 6, pp. 359–364. doi: 10.1016/j.reactfunctpolym.2012.03.010.

ZHENG, J. Y., TAN, M. J., THONIYOT, P., et al., 2015, "Unusual thermogelling behaviour of poly[2-(dimethylamino)ethyl methacrylate] (PDMAEMA)-based polymers polymerized in bulk", *RSC Advances*, v. 5, n. 76, pp. 62314–62318. doi: 10.1039/C5RA12816A.

ZHOU, Z., GUO, F., WANG, N., et al., 2018, "Dual pH-sensitive supramolecular micelles from star-shaped PDMAEMA based on β-cyclodextrin for drug release", *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 116, pp. 911–919. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.05.092.

Apêndices

Apêndice A

Espectros de absorção do PZQ na região UV

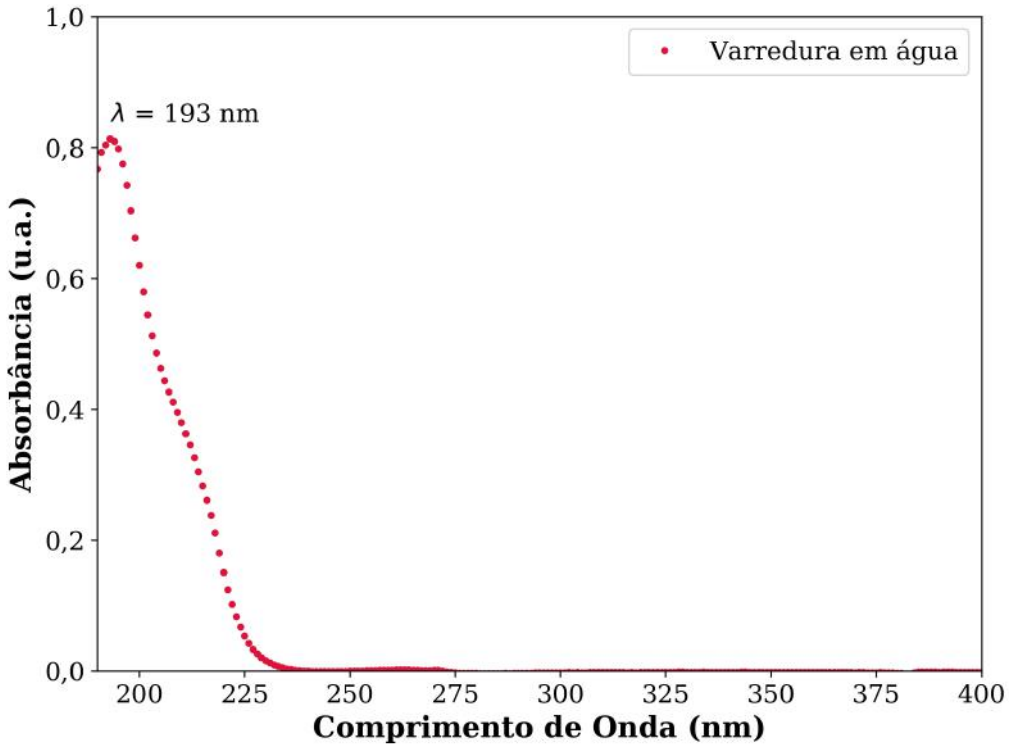


Figura A.1: Espectro de absorção UV do fármaco PZQ em água.

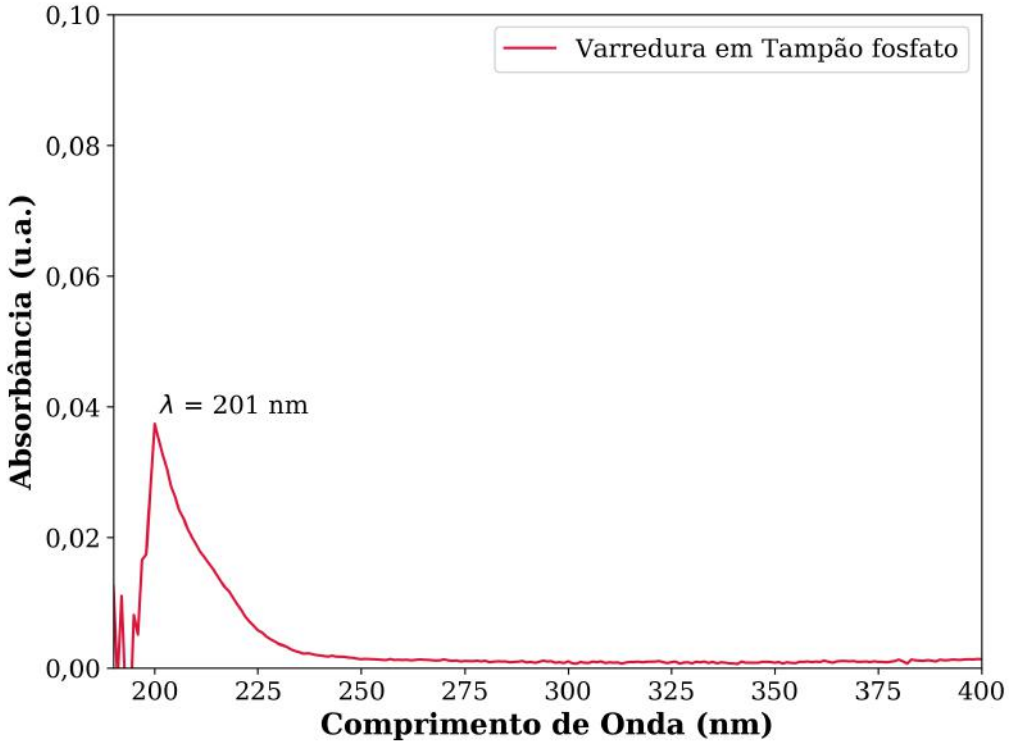


Figura A.2: Espectro de absorção UV do fármaco PZQ em tampão fosfato com lauril sulfato de sódio (2 % (m/m)).

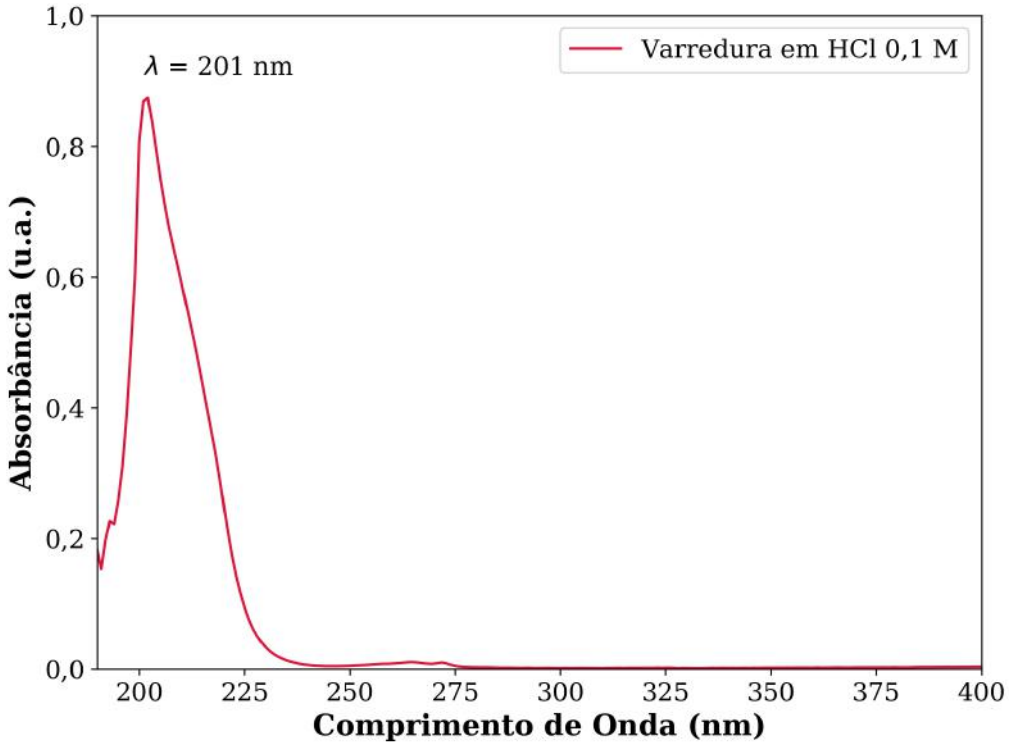


Figura A.3: Espectro de absorção UV do fármaco PZQ em HCl 0,1M com lauril sulfato de sódio (2 % (m/m)).

Apêndice B

Espectros de H-RMN

B.1 Espectros de H-RMN de PMMA

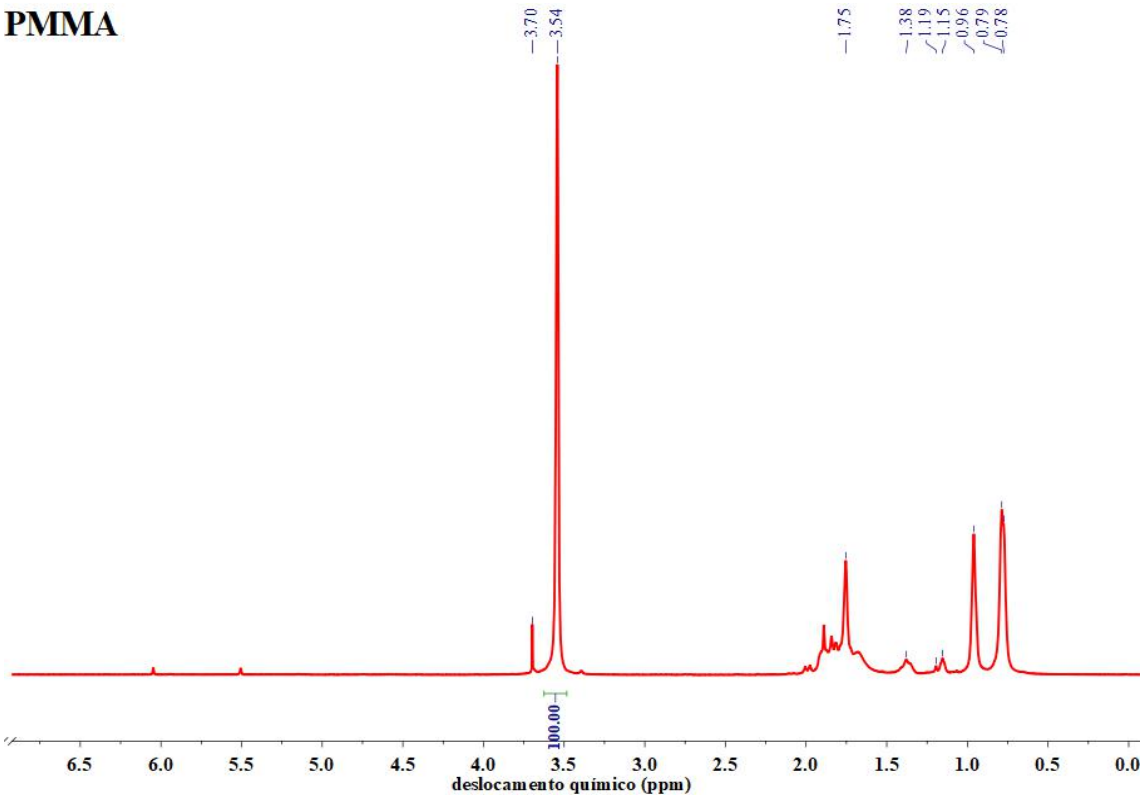


Figura B.1: Espectro de H-RMN das micropartículas de PMMA.

B.2 Espectros de H-RMN de copolímeros P(MMA-co-DEAEMA)

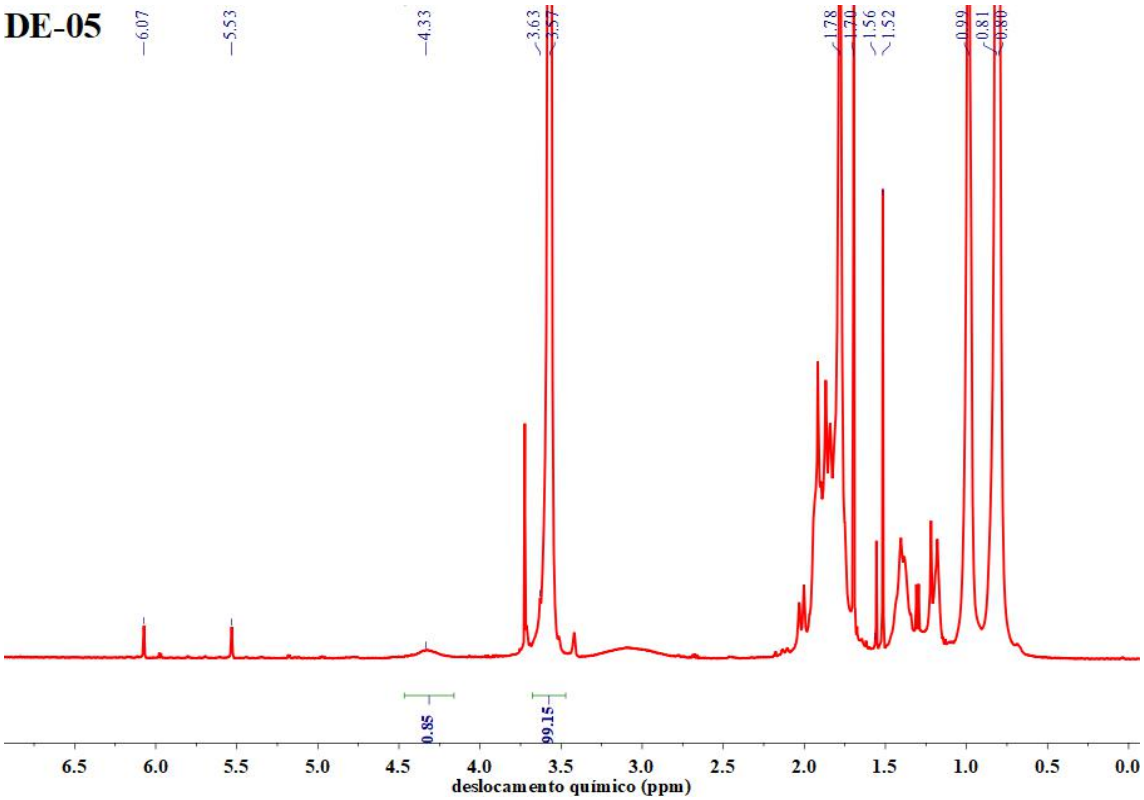


Figura B.2: Espectro de H-RMN das micropartículas DE-05.

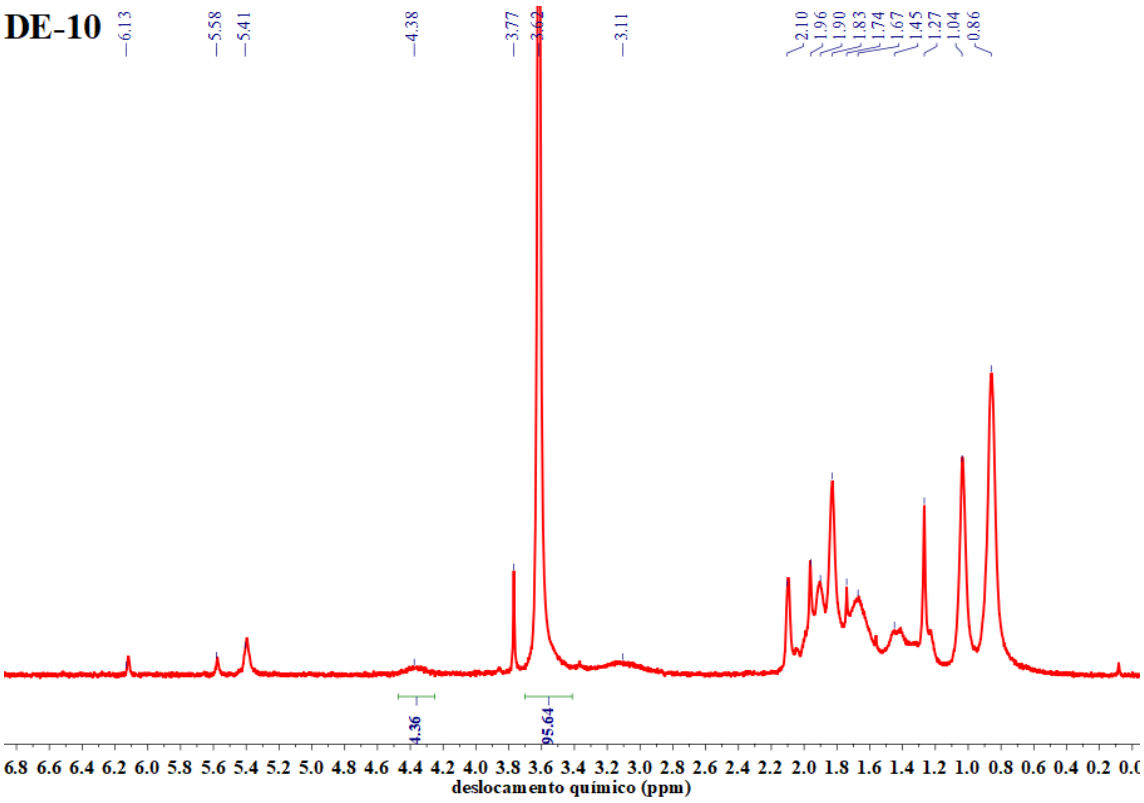


Figura B.3: Espectro de H-RMN das micropartículas DE-10.

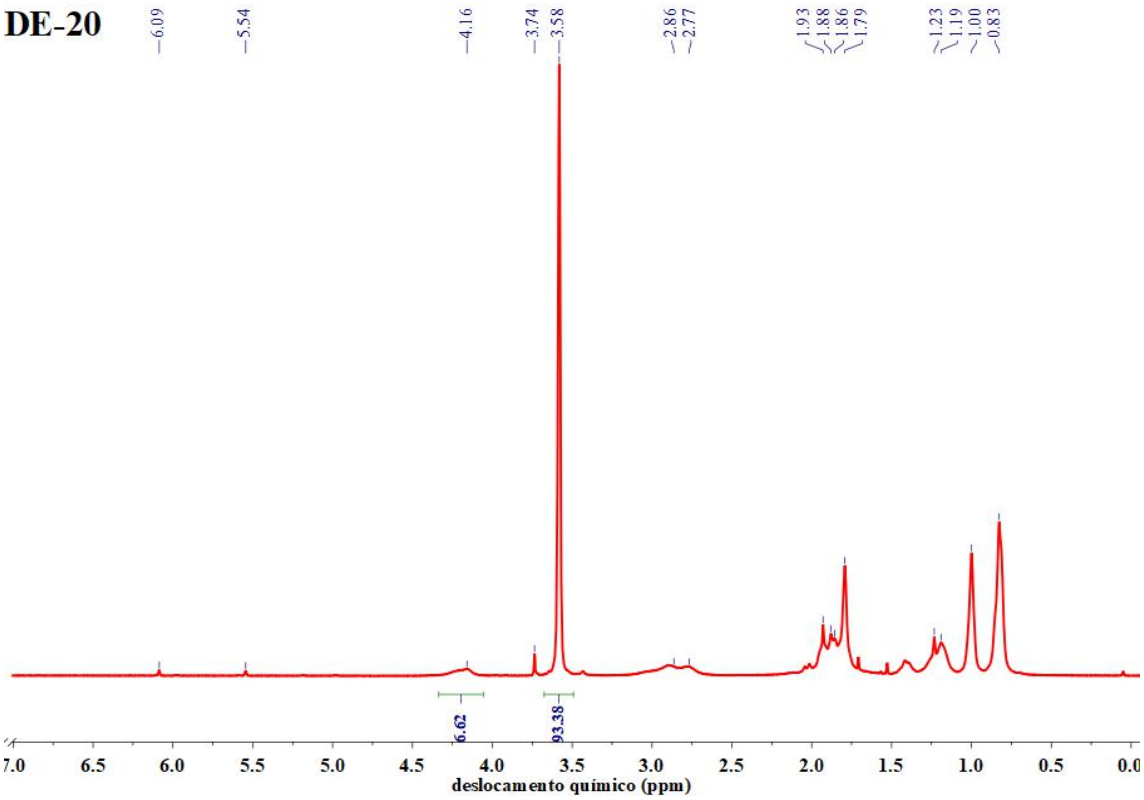


Figura B.4: Espectro de H-RMN das micropartículas DE-20.

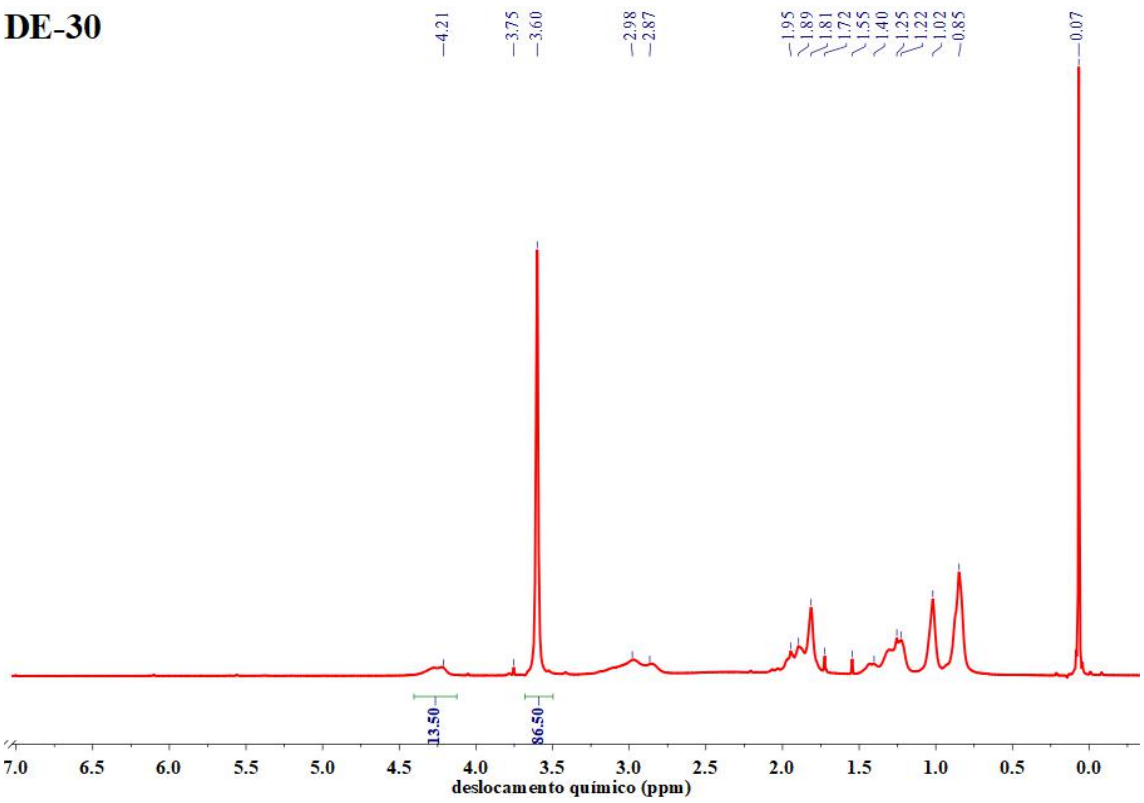


Figura B.5: Espectro de H-RMN das micropartículas DE-30.

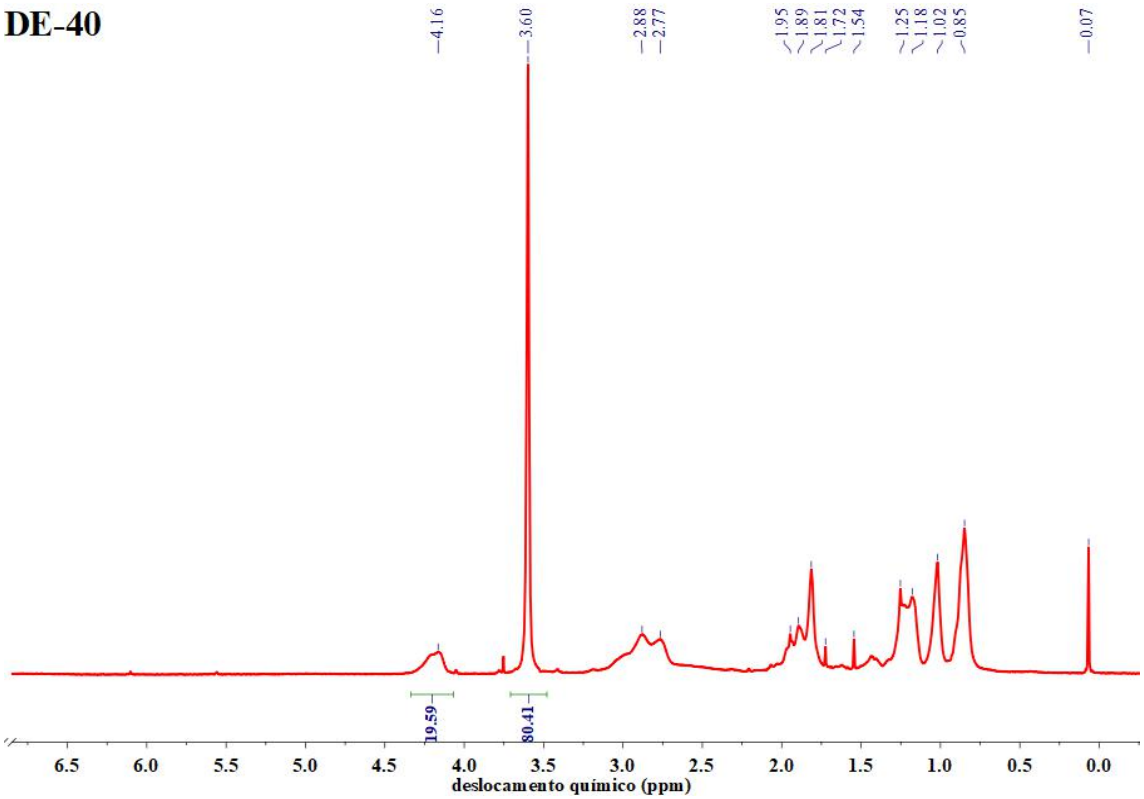


Figura B.6: Espectro de H-RMN das micropartículas DE-40.

B.3 Espectros de H-RMN de copolímeros P(MMA-co-DMAEMA)

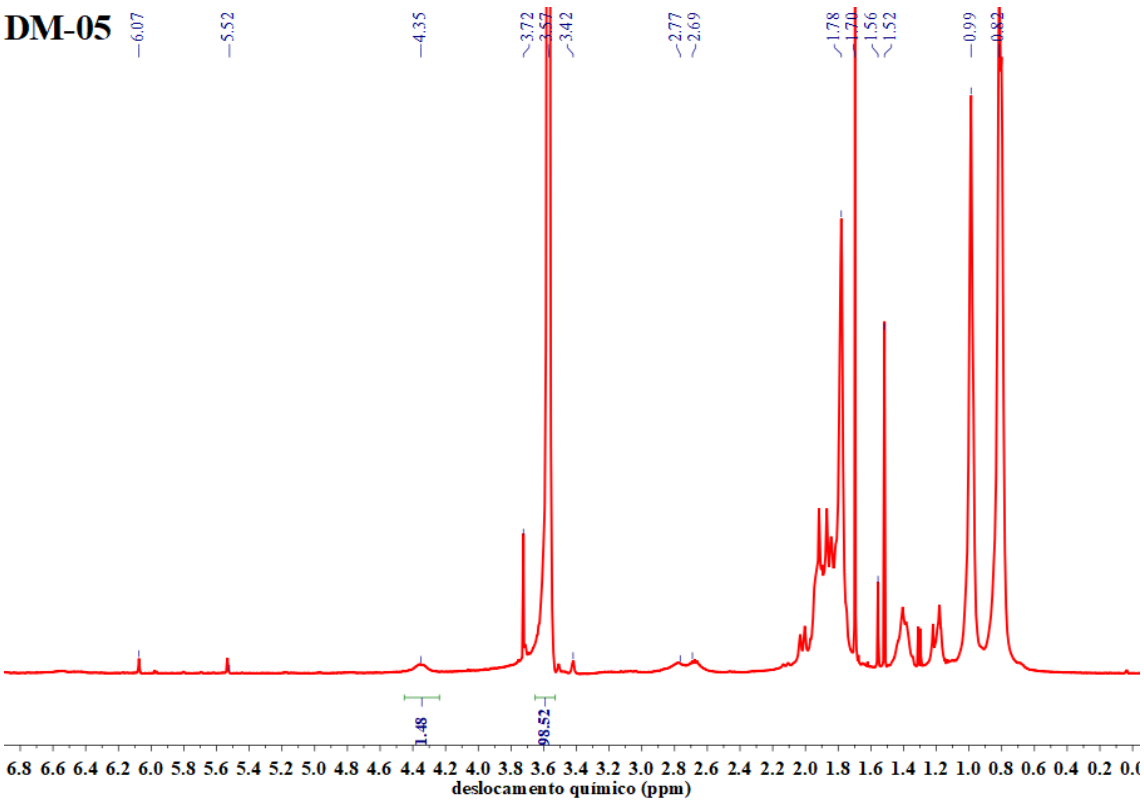


Figura B.7: Espectro de H-RMN das micropartículas DM-05.

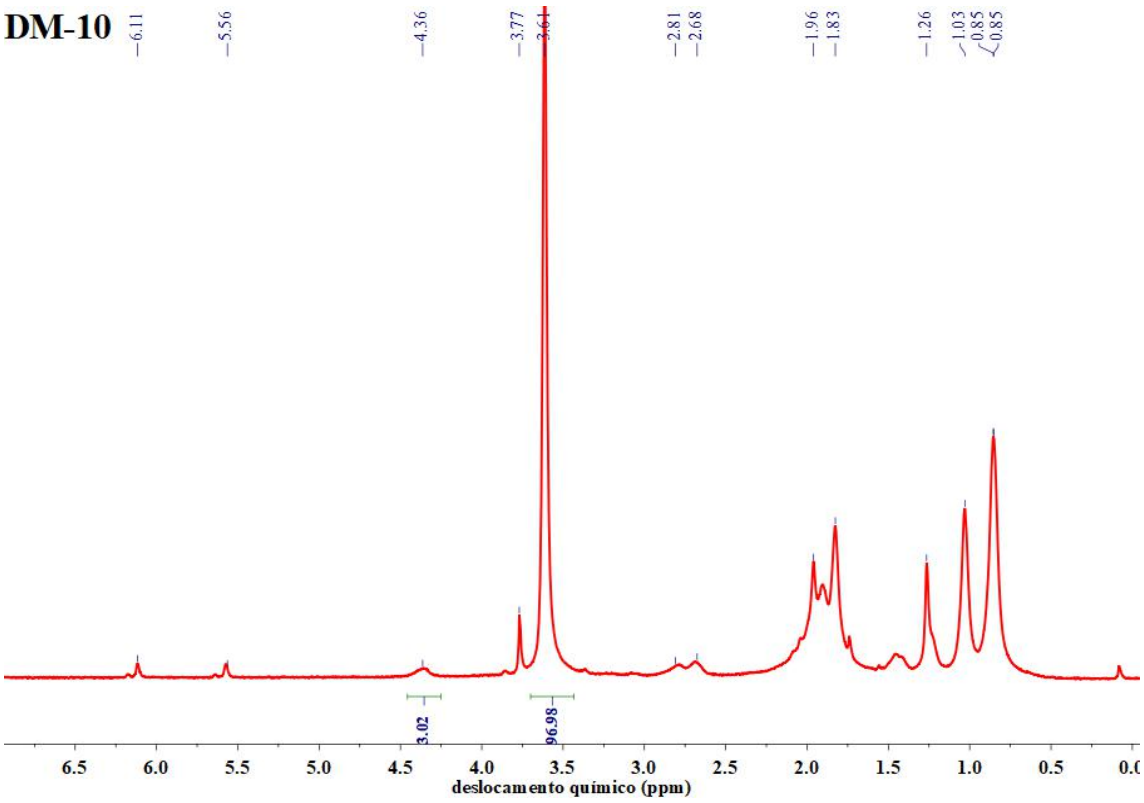


Figura B.8: Espectro de H-RMN das micropartículas DM-10.

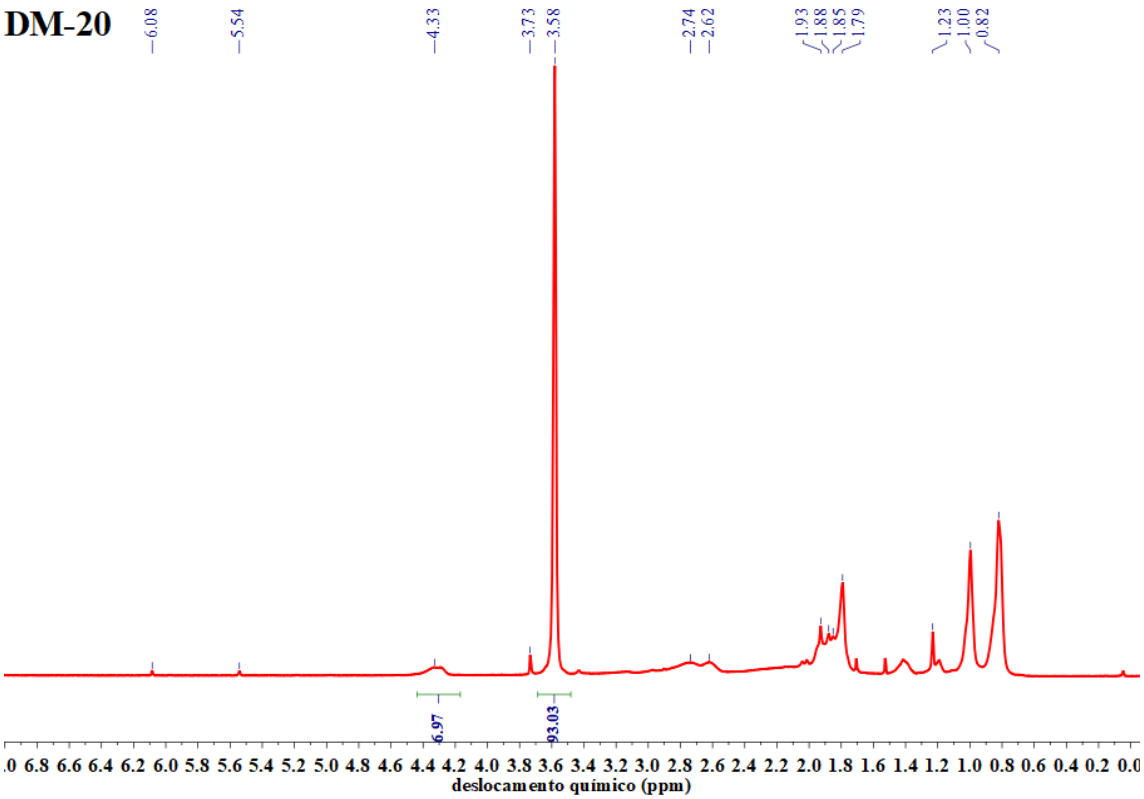


Figura B.9: Espectro de H-RMN das micropartículas DM-20.

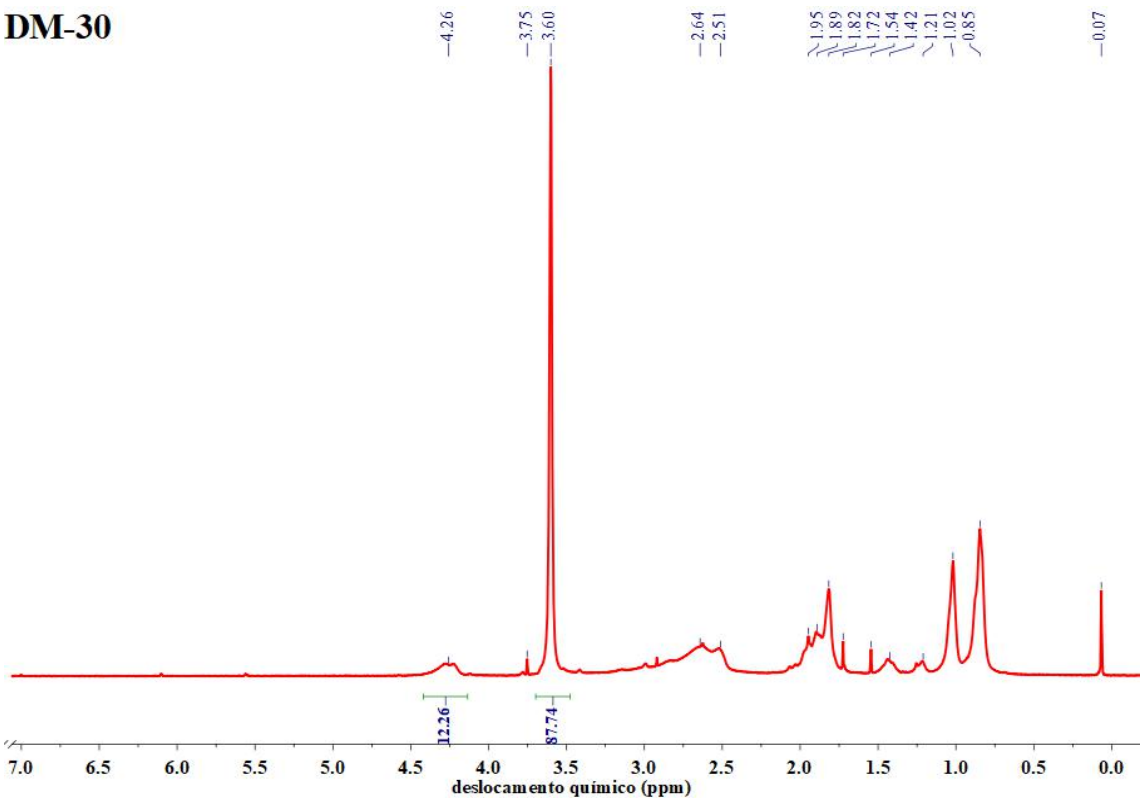


Figura B.10: Espectro de H-RMN das micropartículas DM-30.

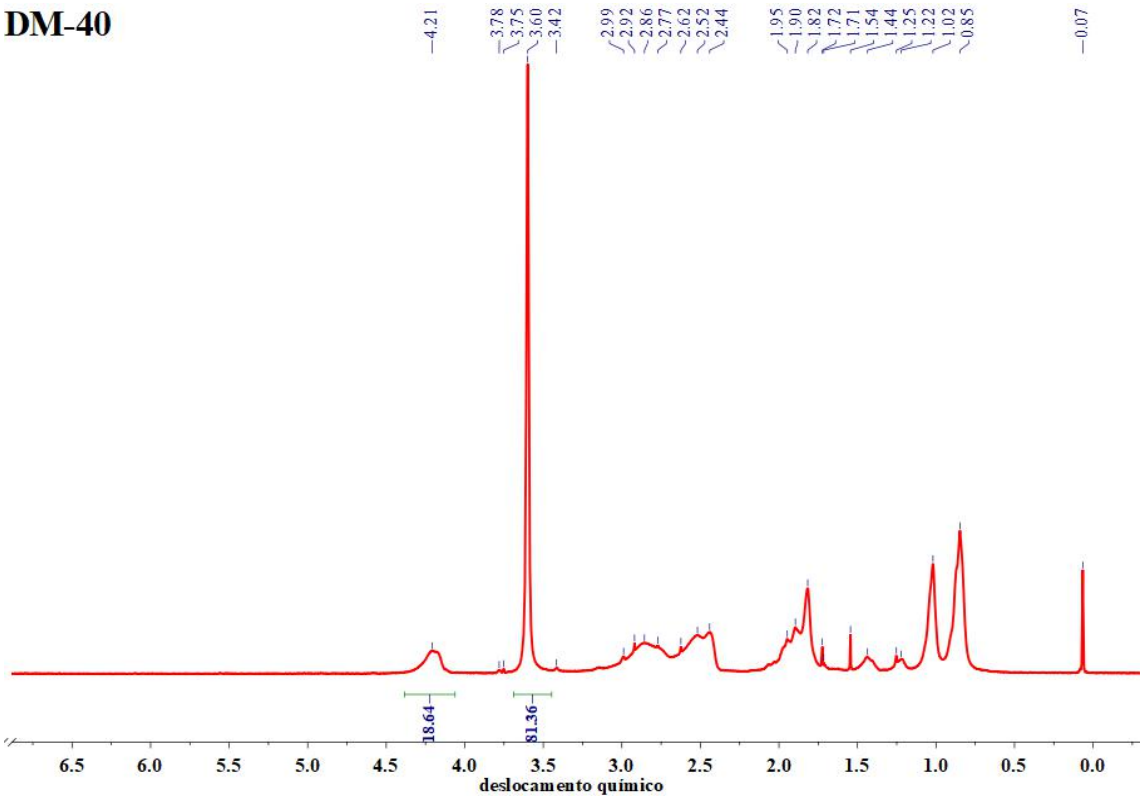


Figura B.11: Espectro de H-RMN das micropartículas DM-40.

Apêndice C

Validação do método de quantificação do PZQ por HPLC

Os ensaios de dissolução *in vitro* do PZQ realizados nesta tese foram quantificados via análises de HPLC, estando o método analítico reportada na Farmacopeia Brasileira. A validação do método foi feita de acordo com a resolução RDC n° 166 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2017), conforme apresentado abaixo.

No método proposto, o tempo de retenção do PZQ foi de 5,080 minutos, e não foi detectadA diferença entre os tempos de retenção do fármaco livre e nas amostras dos ensaios de dissolução. Além disso, não foram observadas quaisquer interferências dos polímeros neste tempo de retenção, confirmando a especificidade e seletividade do método.

C.1 Linearidade

Para a avaliação da linearidade, foram construídas 3 curvas de calibração a partir de três soluções-mãe de concentração 0,5 g/L, que após diversas diluições resultaram em soluções com as seguintes concentrações: 0,205, 0,155, 0,105, 0,055 e 0,005 g/L. Como apresentado na Figura C.1, o método utilizado mostrou alta linearidade para a

faixa de concentrações avaliada, tendo apresentado coeficiente de correlação superior a 0,99 (R^2 = 0,9942). Além disso, a análise indicou que os parâmetros da regressão eram significativos.

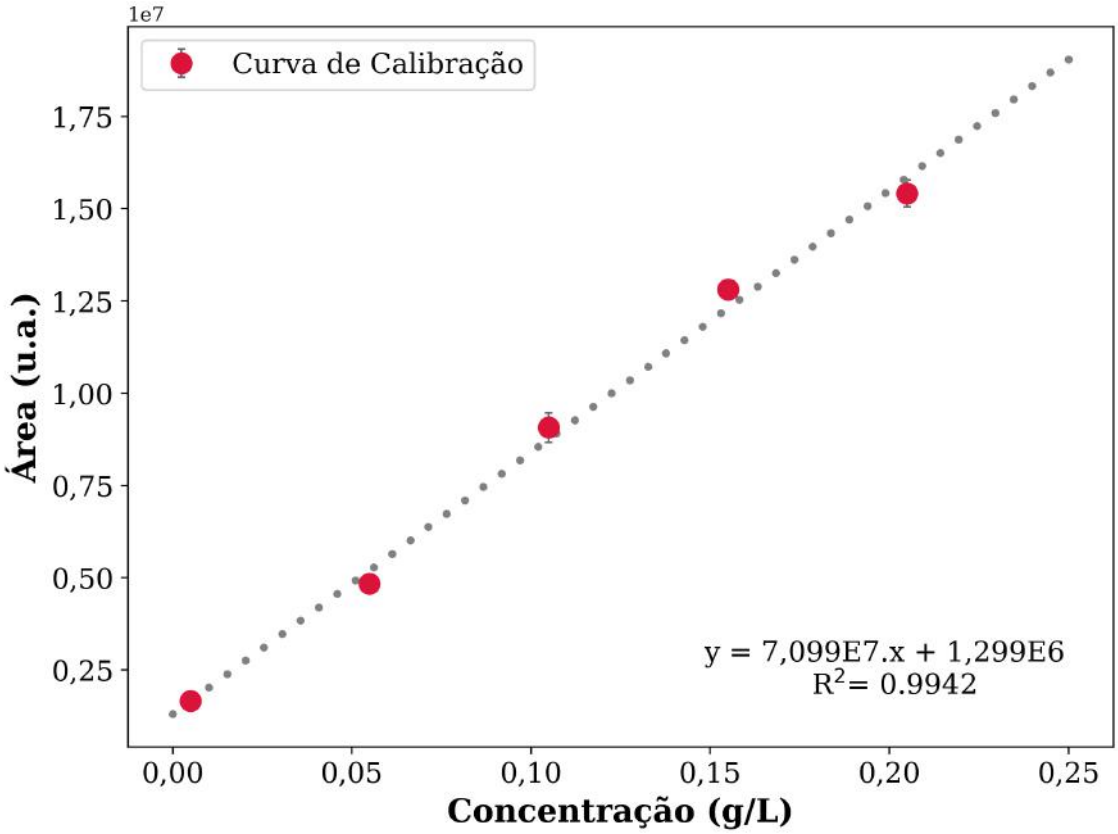


Figura C.1: Curva de calibração para a verificação da linearidade do método cromatográfico.

C.2 Precisão

A análise de precisão tem como objetivo avaliar a proximidade entre os resultados obtidos e as concentrações teóricas esperadas para uma série de amostras. De acordo com a RDC n° 166, a precisão pode ser avaliada em 3 níveis de concentração da curva de calibração (mais diluída, ponto médio da curva, mais concentrada), fazendo três réplicas em cada nível.

A norma dita que a precisão deve ser expressa em termos do desvio padrão relativo (DPR) e não são admitidos valores acima de 5 %. Conforme apresentado na Tabela C.1, para as três concentrações avaliadas, a precisão do método se manteve

abaixo de 5 %, garantindo que o método utilizado apresenta precisão adequada para o uso nesta tese.

Tabela C.1: Desvios padrão relativos para a avaliação da precisão do método de quantificação do PZQ por HPLC.

Concentração Padrão (g/L)	**Concentração Medida (g/L)**	**Média ± DP (g/L)**	**DPR (%)**
0,005	0,004967 0,004980 0,005008 0,005033 0,005036 0,004964	0,004998 ± 0,000032	0,6413
0,105	0,1135 0,1068 0,1077 0,1059 0,1122 0,1110	0,1095 ± 0,0031	2,8560
0,205	0,2031 0,1908 0,2029 0,1982 0,1972 0,2022	0,1991 ± 0,0048	2,3917

DP: Desvio padrão.
DPR: Desvio padrão relativo (DPR = [DP/Concentração média medida]*100)

C.3 Exatidão

A análise de exatidão se refere ao grau de recuperação da concentração de fármaco quando presente em conjunto com a matriz polimérica. Mais uma vez, a norma reporta que a exatidão também deve ser verificada em 3 níveis de concentração da curva de calibração (mais diluída, ponto médio da curva, mais

concentrada), com três réplicas em cada nível. Ao final, o resultado é obtido correlacionando a concentração média do fármaco com a correlação teórica esperada, de modo que a porcentagem de recuperação deve estar entre 80 e 120 %. Como apontado na Tabela C.2, os resultados nos três níveis da curva apresentam valores aceitáveis de exatidão, comprovando a validado do método e favorecendo seu uso na quantificação das amostras dos ensaios de dissolução.

Tabela C.2: Resultados de exatidão do método de quantificação do PZQ por HPLC.

Concentração Padrão (g/L)	**Concentração Medida (g/L)**	**Recuperação (g/L)**	**Média ± DP**
0,005	0,004717	94,34	94,9589 ± 0,6410
	0,004730	94,61	
	0,004758	95,16	
	0,004783	95,65	
	0,004786	95,71	
	0,004714	94,28	
0,105	0,1085	103,32	98,9045 ± 3,3789
	0,1028	97,89	
	0,1017	96,84	
	0,1009	96,12	
	0,1082	103,06	
	0,1010	96,20	
0,205	0,2011	98,10	96,0428 ± 2,8360
	0,1858	90,63	
	0,1999	97,49	
	0,1972	96,21	
	0,1962	95,68	
	0,2012	98,15	

DP: Desvio padrão.

C.4 Limites de detecção e quantificação

O limite de detecção (LD) diz respeito à menor concentração do fármaco que pode ser detectada pelo método proposto, mas não necessariamente quantificada, sendo a menor concentração com que o pico de eluição do fármaco pode ser detectado. Por outro lado, o limite de quantificação (LQ) é a menor concentração do fármaco que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis. De acordo com as equações abaixo, foi possível obter tais limites para o método utilizado.

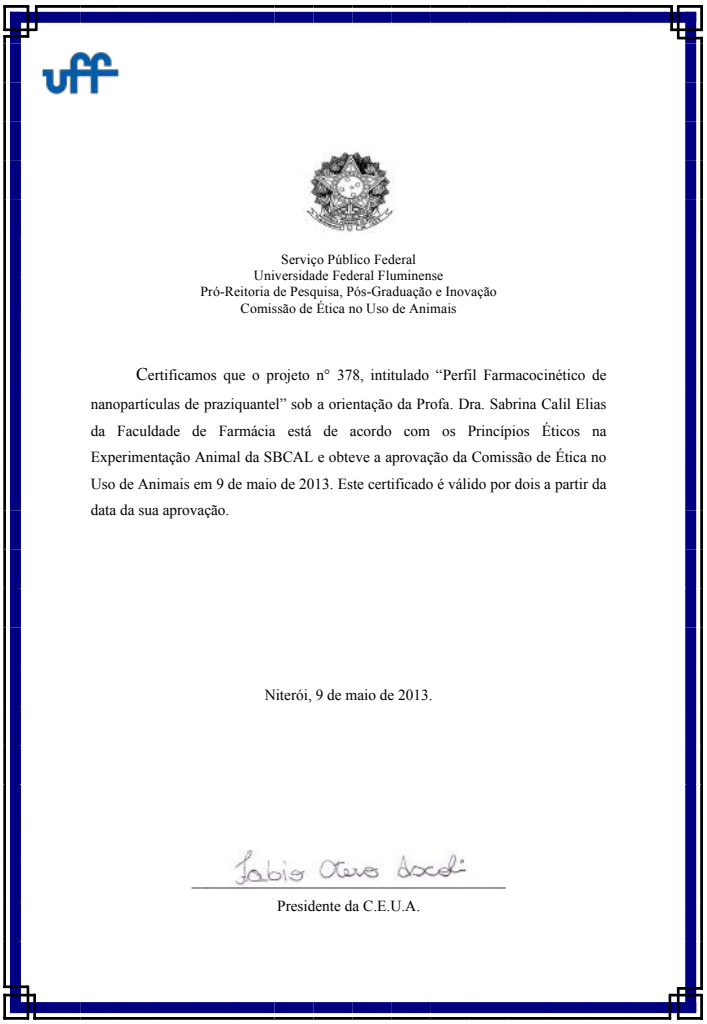
$$LD = \frac{3,3.DP}{\beta} = 0,0037 g/L \tag{C.1}$$

$$LQ = \frac{10.DP}{\beta} = 0,0113 g/L \tag{C.2}$$

em que, DP é o desvio padrão do coeficiente linear de, no mínimo, três curvas de calibração; e β é o coeficiente angular da curva de calibração.

Apêndice D

Comitê de Ética de Uso de Animais



Serviço Público Federal
Universidade Federal Fluminense
Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
Comissão de Ética no Uso de Animais

Certificamos que o projeto nº 378, intitulado "Perfil Farmacocinético de nanopartículas de praziquantel" sob a orientação da Profa. Dra. Sabrina Calil Elias da Faculdade de Farmácia está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal da SBCAL e obteve a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais em 9 de maio de 2013. Este certificado é válido por dois a partir da data da sua aprovação.

Niterói, 9 de maio de 2013.

Presidente da C.E.U.A.

Figura D.1: Parecer técnico da Comissão de Ética no Uso de Animais aprovando os ensaios *in vivo*.

Apêndice E

Produção Acadêmica

- **Artigos em revistas:**

1. In-Situ Incorporation of Praziquantel in Polymer Microparticles through Suspension Polymerization for Treatment of Schistosomiasis.
   Publicado na *Macromolecular Reaction Engineering.*
   DOI: 10.1002/mren.201800064

2. Development of Smart Polymer Microparticles through Suspension Polymerization for Schistosomiasis Treatment.
   Em estágio de correção com os orientadores.

3. Preparation of Polymer Microparticles Through Non-aqueous Suspension Polycondensations: Part III - Degradation of PBS Microparticles in Different Aqueous Environments.
   Publicado na *Journal of Polymers and the Environment.*
   DOI: 10.1007/s10924-018-1329-x

4. Miniemulsion Operation Condition Effects on the Immobilization of Bovine Serum Albumin (BSA) onto Poly(methyl methacrylate) (PMMA) Nanoparticles.
   Aceito na *Polímeros Ciência e Tecnologia.*

- **Capítulo de livro:**

  PMMA-based Biomedical Applications: Manufacture and Uses.

  Livro: Advances in Medicine and Biology. Vol: 141

  Editora *Nova Medicine & Health*. ISBN: 978-1-53615-637-9

- **Patente:**

  Processo para produção de partículas poliméricas à base de polímeros naturais por suspensão inversa, partículas poliméricas produzidas por esse processo e usos das referidas partículas.

  Em processo de depósito.