



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

TAYSA RENATA RIBEIRO TIMÓTEO

**ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO PRAZIQUANTEL
(PZQ) E DO SISTEMA PZQ EM HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES.**

RECIFE

2018

TAYSA RENATA RIBEIRO TIMÓTEO

**ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO PRAZIQUANTEL
(PZQ) E DO SISTEMA PZQ EM HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Produção e Controle de Medicamentos.

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

Co-orientador: Prof. Dr. Danilo Augusto Ferreira Fontes

RECIFE

2018

T585e	Timóteo, Taysa Renata Ribeiro. Estudo de pré-formulação e caracterização do praziquantel (PZQ) e do sistema PZQ em hidróxidos duplos lamelares / Taysa Renata Ribeiro Timóteo. – Recife: o autor, 2018. 132 f.; il.; 30 cm. Orientador: Pedro José Rolim Neto. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Inclui referências, anexos, figuras e tabelas. 1. Esquistossomose. 2. Solubilidade. 3. Compostos inorgânicos. 4. Doença negligenciada. I. Rolim Neto, Pedro José. (orientador). II. Título.
615.1 CDD (23.ed.)	UFPE (CCS 2018 - 137)

TAYSA RENATA RIBEIRO TIMÓTEO

**ESTUDO DE PRÉ-FORMULAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FORMA
FARMACÊUTICA LÍQUIDA PEDIÁTRICA COM PRAZQUANTEL (PZQ)
UTILIZANDO O SISTEMA DE HIDRÓXIDO DUPLO LAMELAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de
Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em
Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 22/02/2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto (Orientador e Presidente da Banca)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr^a. Rosali Maria Ferreira da Silva (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Marcelo Montenegro Rabello (Examinador Externo)
Universidade Federal do Vale do São Francisco

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e Nossa Senhora por se fazerem tão presentes em minha vida, por toda força a mim concedida nos momentos mais difíceis, por me protegerem e por não permitirem que minha fé se abale.

A minha mãe, Lourdes, minha luz, que durante toda a minha vida fez o que podia e o que não podia para proporcionar minha educação. Serei eternamente grata por toda dedicação, por todas as orações, por todas as palavras de conforto e por cada ensinamento, principalmente o de nunca desistir e de que tudo dará certo.

A minha sobrinha/afilhada, Maria Cecília (Marie), por ter transmitido desde o seu primeiro dia de nascida tanto amor e paz para a minha vida. Agradeço a Deus por você existir e por todos os nossos momentos juntas.

Aos meus familiares, em especial ao meu pai, Paulo, minha irmã, Lais e minha avó, Nilza pelo apoio diário, incentivo e por torcerem e vibrarem com cada conquista alcançada, obrigada por tudo.

Ao meu noivo, Müller, pela disponibilidade e ajuda nos momentos em que mais precisei. Obrigada pelo incentivo, por torcer e ficar feliz por todas as conquistas alcançadas.

Ao meu orientador, Pedro Rolim, que mesmo sem me conhecer, estendeu sua mão e me deu a oportunidade de fazer parte dessa família que eu tanto amo. Seu caráter e sua simplicidade são espelhos para mim. Obrigada por todo o suporte para o desenvolvimento deste trabalho, por cada ensinamento para a minha vida pessoal e por me insentivar em cada momento de fraqueza. O seu exemplo de pessoa e profissional é um dos motivos que me fazem querer continuar. Obrigada por tudo.

A Camila Gomes (minha Camilly), por todo apoio e parceria. Não existia diferença entre mestranda e graduanda, formamos um time, daqueles que ficam até o terceiro turno (noite) no laboratório, lutando para que bons resultados surgissem e entre curvas e outros testes surgiu uma bela irmandade, da qual quero preservar para o resto da minha vida. Obrigada por ter vestido a camisa desse time que formamos.

A Danilo Fontes, meu co-orientador, por todo apoio, disponibilização para ajudar a enriquecer cada vez mais este trabalho e pela amizade. Obrigada por tudo.

A Danda, por toda ajuda, conhecimento compartilhado e amizade. Sempre que precisávamos ele estava à nossa disposição. Obrigada por tudo.

A Paulo Dantas (soberano do fogo), por todo os conselhos e por todo o conhecimento compartilhado das análises térmicas.

A família LTM, por todos os conhecimentos compartilhados e brincadeiras. Tenho orgulho em fazer parte dessa família. Juntos somos mais fortes!

A todos os integrantes do grupo HDL, Danilo, Cindy, Camila, Laysa, Lidiany e Matheus. Obrigada por todas as discussões, experimentos e conhecimentos compartilhados.

Aos membros da banca examinadora, por aceitarem o convite de participar deste momento especial.

Ao Centro de Tecnologias Estratégicas para o Nordeste (CETENE), pelo suporte na realização de análises.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro na forma de bolsa de estudo, me proporcionando dedicação exclusiva ao projeto.

Ao PPGCF/UFPE e seu corpo docente, pela contribuição na minha formação.

“A persistência é o menor caminho do êxito”

(Charles Chaplin)

RESUMO

A esquistossomose é considerada a segunda doença parasitária de maior impacto socioeconômico, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS). O praziquantel (PZQ), considerado o fármaco de escolha para o tratamento desta doença, apresenta algumas limitações devido as suas características físico-químicas de baixa solubilidade no trato gastrointestinal. Os hidróxidos duplos lamelares (HDL) apresentam-se como sistemas promissores no carregamento de substâncias biologicamente ativas, dentre elas, as com dificuldade de solubilidade em meio aquoso. O presente trabalho teve como objetivo a síntese e caracterização de HDL de cálcio e alumínio (CaAl-HDL), assim como sua aplicação junto ao PZQ visando à obtenção de incremento de solubilidade do fármaco. Os sistemas e misturas físicas (MF) foram inicialmente formados em diferentes proporções molares HDL:PZQ (1:1, 2:1, 4:1), pela técnica de co-solubilização e homogeneização utilizando almofariz e pistilo, respectivamente. Os materiais obtidos foram caracterizados pelas técnicas de difração de raios-X (DRX), termogravimetria (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia no infravermelho (FTIR), análise elementar, tamanho de partícula, área superficial e cinética de degradação, sendo realizado, também, ensaio de liberação *in vitro*. Foi possível observar através da análise de DRX que o sistema HDL-PZQ, contendo 10,87% (sistema 4) do fármaco, tornou o fármaco um material com características amorfas, apresentando diminuição dos planos cristalinos deste e também do seu ponto de fusão na DSC. Pôde-se observar através do estudo de cinética de degradação, que o HDL promoveu aumento da estabilidade térmica ao PZQ, mostrando uma boa qualidade para o desenvolvimento da formulação. Para os parâmetros cinéticos obtidos na condição não isotérmica, os valores da energia de ativação (E_a) do sistema 4 apresentaram-se superiores quando comparados com o PZQ isolado. Nos testes de dissolução sob condição *sink*, os sistemas 2 e 4 e as misturas físicas (MF) apresentaram destaque no incremento de solubilidade, apresentando rápida liberação quando comparados ao PZQ isolado. E sob condição *non-sink*, o perfil de dissolução revelou a capacidade que o carreador apresenta de manter o fármaco em solução supersaturada, retardando seus eventos de nucleação e recristalização, corroborando possivelmente na sua biodisponibilidade. Dessa forma, obtiveram-se sistemas e MF estáveis e adequados, capazes de superar as limitações de solubilidade do PZQ.

Palavras-chave: Esquistossomose. Solubilidade. Compostos inorgânicos. Doença Negligenciada.

ABSTRACT

Schistosomiasis is considered the second parasitic disease with the greatest socioeconomic impact, according to the World Health Organization (WHO). Praziquantel (PZQ), considered the drug of choice for the treatment of this disease, presents some limitations for its physico-chemical characteristics of low solubility in the gastrointestinal tract. The layered double hydroxides (LDH) present themselves as promising systems for the transport of biologically active substances, among them, those with difficult solubility in aqueous media. The present work aimed the synthesis and characterization of calcium and aluminum HDL (CaAl-HDL), as well as its application with the PZQ aiming to obtaining an increase in the solubility of the drug. The systems and physical mixtures (MF) were initially formed in different HDL: PZQ molar ratios (1:1, 2:1, 4:1), by the co-solubilization and homogenization technique using mortar and pestle, respectively. The obtained materials were characterized by X-ray diffraction (XRD), thermogravimetry (TG), differential scanning calorimetry (DSC), infrared spectroscopy (FTIR), elemental analysis, particle size, surface area and degradation kinetics, and an *in vitro* release assay was also performed. It was possible to observe through the XRD analysis that the HDL-PZQ system, containing 10.87% (system 4) of the drug, made the drug a material with amorphous characteristics, showing decrease of the crystalline planes of this and also of its melting point in the DSC. It was possible to observe through the degradation kinetics study that HDL promoted an increase in the thermal stability of PZQ, showing a good quality for the development of the formulation. For the kinetic parameters obtained in the non-isothermal condition, the activation energy values (E_a) of system 4 were higher when compared to the isolated PZQ. In the dissolution tests under sink condition, the systems 2 and 4 and the physical mixtures (MF) presented prominence in the increase of solubility with a rapid release when compared to the isolated PZQ. And under a non-sink condition, the dissolution profile revealed the carrier's ability to maintain the drug in supersaturated solution, delaying its nucleation and recrystallization events, possibly corroborating in its bioavailability.

In this way, stable and suitable systems and MF were obtained, capable of overcoming the solubility limitations of PZQ.

Key words: Schistosomiasis. Inorganic Chemicals. Solubility. Neglected Diseases.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Porcentagem da população que vive em pobreza extrema, com menos de US \$ 70 por mês.....	27
Figura 2 - Distribuição dos países em que as diferentes espécies esquistossomose humana são transmitidas.....	30
Figura 3 - Distribuição global da esquistossomose mostrando as populações mais acometidas na África. Países altamente endêmicos (vermelho escuro) são propostos para ser o foco de futuros esforços de controle integrado.....	31
Figura 4 - Evolução temporal do total de casos de esquistossomose e casos de forma hepatoesplênica (HE) registrados no período de 16 anos no Hospital das Clínicas de Pernambuco-Brasil, 1999-2014.....	34
Figura 5 - Morfologia dos ovos de <i>S. mansoni</i> em seus respectivos estágios (A); caramujo do gênero <i>Biomphalaria glabrata</i> (B); Miracídio (C); Cercaria (D).....	39
Figura 6 - Ciclo de vida da esquistossomose humana.....	41
Figura 7 - Estrutura química do praziquantel.	46
Figura 8 - Representação da estrutura do HDL.....	54
Figura 9 - Representação esquemática da estrutura BBC/HDL.....	58
Figura 10 - Solubilidade aparente do MgAl-Cl—HDL/FLUR, Mistura Física (MgAl-Cl-HDL-FLUR e FLUR).....	60
Figura 11 - Perfil de dissolução do EFZ isolado e seus sistemas HDL:EFZ e MF.....	60
Figura 12 - Solubilidade aparente de Fb a partir de Efb, em comparação com Fb e da mistura física (Fb + C) a pH 1,2, 4,5 e 6,8.....	61
Figura 13 - Esquematização da síntese de por co-precipitação, lavagem e secagem do HDL.....	64
Figura 14 - Método de obtenção por solvente dos sistemas HDL:PZQ.....	65
Figura 15 – Espectro de infravermelho do CaAl-HDL.....	76
Figura 16 – Espectro de infravermelho do Praziquantel.....	77
Figura 17 – Espectro de infravermelho dos sistemas e misturas físicas.....	78
Figura 18 – Difractogramas dos CaAl-HDL e do praziquantel.....	79
Figura 19 – Difractogramas comparativos dos HDL-CaAl, praziquantel e sistemas HDL PZQ.....	80

Figura 20 – Difrátogramas comparativos dos HDL-CaAl, praziquantel e Misturas Físicas HDL-PZQ.....	81
Figura 21 – Curvas TG do CaAl-HDL e PZQ isolados.....	82
Figura 22 – Curvas TG do CaAl-HDL, PZQ e seus sistemas.....	83
Figura 23 – Curvas TG do CaAl-HDL, PZQ e suas misturas físicas.....	84
Figura 24 – Curvas DSC do PZQ, HDL e sistemas HDL-PZQ.....	85
Figura 25 – Curvas DSC do PZQ, HDL e misturas físicas HDL-PZQ.....	86
Figura 26 – Gráfico de tamanho de partícula por granulometria a laser do HDL, PZQ, sistemas e MF.....	88
Figura 27 – Espectro derivatizado de PZQ em concentrações crescentes de 50–720 µg/mL (n = 3). A linha tracejada indica o comprimento de onda (λ) de 279 nm onde os valores de d^2A foram retirados para regressão e construção da curva de calibração de PZQ.....	91
Figura 28 – Gráfico de dispersão dos dados da regressão de concentração de PZQ e d^2A	91
Figura 29 – Gráfico de dispersão dos resíduos da regressão linear entre as concentrações de PZQ e d^2A . Os pontos indicam os resíduos deixados pela regressão.....	92
Figura 30 – Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao ensaio 1.....	94
Figura 31 – Gráfico dos resíduos da linearidade através do cálculo de regressão linear referente ao ensaio 1.....	95
Figura 32 – Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao ensaio 2 (com HCl 0,1M).....	95
Figura 33 – Gráfico dos resíduos da linearidade através do cálculo de regressão linear referente ao ensaio 2.....	96
Figura 34 – Paralelismo entre as retas das curvas no efeito matriz.....	96
Figura 35 – Comparação das absorbâncias do PZQ em concentrações distintas de HDL...	98
Figura 36 – Perfis de dissolução do PZQ, seus sistemas e misturas físicas com os HDL...	101
Figura 37 – Perfis de dissolução <i>non-sink</i> do PZQ e seus sistemas com os HDL. A linha tracejada representa a solubilidade de equilíbrio do praziquantel.....	103
Figura 38 – Curvas TG do praziquantel obtido em cinco razões de aquecimento sob atmosfera de nitrogênio no método não isotérmico.....	105

Figura 39 – Curvas TG do sistema 4 obtidas em cinco razões de aquecimento sob atmosfera de nitrogênio no método não isotérmico.....	106
Figura 40 – (a) Gráfico de FWO; (b) gráfico evidenciando a E_a em relação a fração de conversão (α) do PZQ isolado.....	107
Figura 41 – (a) Gráfico de FWO; (b) gráfico evidenciando a E_a em relação a fração de conversão (α) do sistema 4.....	108

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Quadro epidemiológico da esquistossomose por região. Dados do Programa de Controle da Esquistossomose (PCE), no período entre 2011 a 2016.....	32
Tabela 2 – Principais laboratórios que produzem medicamento contendo praziquantel e suas dosagens.....	47
Tabela 3 – Reagentes utilizados nas sínteses de HDL, obtenção dos complexos e doseamento dos Sistemas e MF.....	63
Tabela 4 – Tamanho de partículas dos sistemas e MF.....	87
Tabela 5 – Tamanho de partículas referente a 80% do total de partículas analisadas.....	89
Tabela 6 – Área superficial referente ao HDL, PZQ, sistemas e MF.....	90
Tabela 7 – Dados utilizados para regressão e cálculo de precisão e exatidão dos pontos no intervalo de 50–720 µg/mL. Os cálculos de concentração foram realizados utilizando a equação do primeiro grau obtida da regressão linear por mínimos quadrados ordinários.....	93
Tabela 8 – Repetibilidade do método.....	97
Tabela 9 – Robustez através da variação intencional de pH com HCl 0,1M.....	97
Tabela 10 – Doseamento de PZQ por espectrofotometria.....	99
Tabela 11 – Doseamento de PZQ por análise elementar.....	100
Tabela 12 – Valores de AUC e ED obtidos a partir do perfil de dissolução do PZQ, sistemas e MF.....	102
Tabela 13 – Relação entre os valores de coeficiente de correlação linear e os valores de energia de ativação para cada fração de conversão do PZQ e sistema 4.....	109

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Desenvolvimento de HDL através de combinações de cátions divalentes com cátions trivalentes.....	55
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABS	Absorbância
ALC	América Latina e Caribe
AUC	Área Sob a Curva
BBC	Cloreto de Berberina
CaAl-HDL	Hidróxidos duplos lamelares de Cálcio Alumínio
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CM	Concentração Média
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico
DNDI	Iniciativa de Drogas para Doenças Negligenciadas
DP	Desvio Padrão
DPR	Desvio Padrão Relativo
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTNs	Doenças Tropicais Negligenciadas
ED	Eficiência de Dissolução
Fb	Fenbufeno
FD	Friedman
FINEP	Financeadora de Estudos e Pesquisas
FLUR	Flubirprofeno
FTIR	Infravermelho com Transformada de Fourier
FWO	Flynn, Wall, Ozawa
HCl	Ácido Clorídrico
HDL	Hidroxidos Duplos Lamelares
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
IV	Infravermelho
KAS	Kissinger-Akahira-Sunose
MCT	Ministério da Ciência e Tecnologia
MESP	Ministério Egípcio da Saúde e da População

MgAl-Cl-HDL	Hidroxidos Duplos Lamelares de Cloreto de Magnésio-Alumínio
MTX	Metotrexato
NaOH	Hidróxido de Sódio
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCE	Programa de Controle da Esquistossomose
PECE	Programa Especial de Prioridade para o Controle de Esquistossomose
pH	Potencial Hidrogeniônico
PZQ	Praziquantel
P&D	Pesquisa e Desenvolvimento
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
rpm	Rotação por minuto
SI	<i>Sink Index</i>
SIM	Sistema de Informação da Mortalidade
TDR	Pesquisa e Treinamento em Desastres Tópicos
TG	Termogravimetria
USP	<i>United States Pharmacopeia</i>
UV/VIS	Ultravioleta visível
Zn-Al-HDL	Hidroxidos Duplos Lamelares de Zinco-Alumínio

LISTA DE SÍMBOLOS

Ca	Cálcio
mg	Miligramas
kg	Quilogramas
cm	Centímetros
M^{2+}	Cátion divalente
M^{3+}	Cátion trivalente
OH	Hidroxila
Ni	Níquel
Am	Ânion de compensação
X	Razão molar
Å	Ângstron
%	Porcentagem
M	Molar
µg	Microgramas
mL	Mililitros
min	Minutos
µm	Micrômetros
θ	Teta
J	Joule
ΔH	Variação de entalpia
°C	Graus Celsius
Cu	Cobre
h	Horas

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
2. OBJETIVOS	24
2.1 Objetivo Geral	24
2.2 Objetivo Específicos	24
3. REFERENCIAL TEÓRICO	26
3.1 DOENÇAS NEGLIGENCIADAS	26
3.2 ESQUISTOSSOMOSE	29
3.2.1 Contexto histórico	29
3.2.2 Ciclo parasitário e fisiopatologia	38
3.2.3 Principais formas de tratamento da esquistossomose	42
3.3 PRAZIQUANTEL	44
3.4 ESTUDOS E PERSPECTIVAS DE NOVAS FORMAS DE TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE	49
3.5 INDÚSTRIA FARMACÊUTICA X DOENÇAS NEGLIGENCIADAS	50
3.6 HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES	52
3.7 PROMOTORES DE SOLUBILIDADE	58
4. MATERIAL E MÉTODOS	63
4.1 MATERIAL	63
4.2 MÉTODOS	63
4.2.1 Síntese CaAL-HDL	63
4.2.2 Obtenção dos sistemas CaAL-HDL e praziquantel (PZQ)	64
4.2.3 Caracterização do praziquantel, HDL, sistemas e MF	65
4.2.3.1 Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	65
4.2.3.2 Difractometria de raios-x (DRX)	65
4.2.3.3 Termogravimetria (TG)	66
4.2.3.4 Calorimetria exploratória diferencial	66
4.2.3.5 Análise de tamanho de partícula	66
4.2.3.6 Análise da área superficial	67
4.2.4 Estudo de liberação in vitro dos sistemas e misturas físicas de PZQ-HDL	67
4.2.4.1 Curva de calibração do praziquantel	67
4.2.4.2 Solubilidade de equilíbrio do PZQ	67
4.2.4.3 Revalidação do método analítico para quantificação do PZQ por espectrofotometria no UV-VIS	68
4.2.4.3.1 Equipamentos	68
4.2.4.3.2 Revalidação do método analítico	68
4.2.4.3.2.1 Linearidade	68
4.2.4.3.2.2 Efeito Matriz	69
4.2.4.3.2.3 Robustez	69
4.2.4.3.2.4 Precisão	70
4.2.4.3.2.4.1 Repetibilidade	70
4.2.4.4 DOSEAMENTO DO PZQ NOS SISTEMAS E MISTURAS FÍSICAS	70
4.2.4.5 Análise Elementar	71
4.2.4.6 Ensaios de dissolução	71
4.2.5 Estudos de estabilidade térmica do PZQ e do sistema 4(HDL:PZQ) por análise térmica	72
4.2.5.1 Cinética de degradação	72

4.2.5.1.1 Modelos matemáticos isoconvencionais empregados no estudo cinético de decomposição térmica.....	72
4.2.5.1.2 Método de Flynn, Wall, Ozawa (FWO).....	72
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
5.1 Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	76
5.2 Difractometria de raios-x (DRX).....	79
5.3 Termogravimetria (TG).....	81
5.4 Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	85
5.5 Tamanho de partículas.....	87
5.6 Área superficial.....	89
5.7 Estudo de liberação in vitro dos sistemas e misturas físicas de PZQ-HDL.....	90
5.7.1 Curva de calibração do praziquantel.....	90
5.7.2 Revalidação do método analítico.....	94
5.7.2.1 Linearidade.....	94
5.7.2.2 Efeito matriz.....	96
5.7.2.3 Precisão.....	97
5.7.2.3.1 Repetibilidade.....	97
5.7.2.4 Robustez.....	97
5.7.3 Doseamento do PZQ nos sistemas e misturas físicas.....	98
5.7.4 Análise elementar.....	100
5.7.5 Ensaios de dissolução.....	101
5.8 Cinética de degradação térmica.....	105
6. CONCLUSÃO	112
7. PERSPECTIVAS	114
REFERÊNCIAS	116

ANEXO A- ARTIGO (SHISTOSOMIASIS: DRUG USED AND TREATMENT STRATEGIES) ACEITO NA REVISTA ACTA TROPICA (QUALIS: B1).....	127
ANEXO B- APRESENTAÇÃO DE TRABALHO (APLICAÇÃO DOS HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES NO CARREAMENTO DE FÁRMACOS).....	128
ANEXO C- APRESENTAÇÃO DE TRABALHO (IMPORTÂNCIA DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS PARA A SOLUBILIDADE DE FÁRMACOS ORGANICOS – OCASO DO PRAZIQUANTEL)	129
ANEXO D- APRESENTAÇÃO DE TRABALHO (INOVAÇÕES TECNOLÓGICAS NO USO DO PRAZIQUANTEL PARA TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE).....	130
ANEXO E- APRESENTAÇÃO DE TRABALHO (ESQUISTOSSOMOSE: UM PANORAMA SOBRE A DOENÇA, OPÇÕES TERAPÊUTICAS E O CENÁRIO INDUSTRIAL.....)	131
ANEXO F- APRESENTAÇÃO DE TRABALHO (CHARACTERIZATION OF COMPLEX COMPOSED OF CAAL LAYERED DOUBLE HYDROXIDE AND ANTHELMINTIC DRUG PRAZIQUANTEL).....	132

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

As Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN) apresentam uma forte associação entre as situações de desenvolvimento de um país e as condições de saúde de sua população. No Brasil, o índice de doenças parasitárias é altamente elevado, acometendo principalmente as áreas economicamente vulneráveis do país como é o caso da região Nordeste. Dentre as helmintíases predominantes neste cenário, a esquistossomose, considerada uma doença devastadora, ocupa a segunda posição de maior impacto do ponto de vista socioeconômico, perdendo apenas para a malária (BORREGO-SÁNCHEZ et al., 2016; COHEN et al., 2016; ELMORSHEDY et al., 2016; KONG et al., 2017).

O praziquantel (PZQ) é considerado o fármaco de primeira escolha para o tratamento da esquistossomose, pois apresenta atividade farmacológica contra todas as espécies de *shistossomas*, além de apresentar também atividade contra outros trematódeos e algumas espécies de cestódeos. Porém, apesar dos benefícios, o PZQ apresenta algumas limitações. De acordo com a classificação biofarmacêutica, este fármaco é pertencente à classe II, apresentando baixa solubilidade e alta permeabilidade, devido a este fato, a sua absorção torna-se comprometida, gerando a necessidade de doses relativamente elevadas (BORREGO-SÁNCHEZ et al., 2016; CUGOVCAN et al., 2017).

Os hidróxidos duplos lamelares (HDL), também conhecidos como argilas aniônicas ou compostos do tipo hidrotalcita (POLESE et al., 2017), são excipientes inteligentes, inorgânicos, organizados em estruturas lamelares capazes de incorporar em seu interior desde compostos aniônicos a adsorver materiais não iônicos ou carregados positivamente nas suas regiões interlamelares (FONTES, 2016).

Os HDL vêm apresentando relevância nas áreas farmacológicas devido às suas diversas qualidades, dentre elas a capacidade de ser considerado, uma estratégia tecnológica para a elaboração de formas farmacêuticas, onde o fármaco quando intercalado no HDL pode ser submetido a um processo de liberação sustentada ou obter um incremento de solubilidade, assim como apresentam também propriedades na área cosmética e como insumo farmacêutico ativo, indicando efetividade como antiácido. No caso de fármacos de baixa solubilidade, geralmente está relacionado às alterações que ocorrem na estrutura geométrica da substância ao ser complexada com os HDL (AGUILERA, 2016; FONTE, 2016).

Diante da importância que a esquistossomose apresenta dentro do âmbito da saúde pública e da dificuldade de obtenção de novas formas farmacêuticas capazes de proporcionar um tratamento adequado para pacientes pediátricos infectado com esta helmintíase, o objetivo

deste trabalho foi obter sistemas binários com os HDL e o PZQ, visando alcançar o incremento de solubilidade deste fármaco, de modo que, posteriormente, o desenvolvimento de formas farmacêuticas contendo esses sistemas possam propiciar doses adequadas, de acordo com a necessidade de cada paciente.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar a pré-formulação e caracterização de sistemas para obtenção da forma farmacêutica líquida pediátrica com o fármaco praziquantel, utilizando o sistema Hidróxido Duplo Lamelar, para o tratamento da esquistossomose.

2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar HDL a partir dos íons metálicos Ca^{2+} e Al^{3+} ;
- Realizar a caracterização físico-química do PZQ e do HDL;
- Produzir sistemas e misturas físicas de PZQ e HDL;
- Caracterizar físico-quimicamente os sistemas e misturas físicas PZQ-HDL obtidos;
- Revalidar o método de doseamento do PZQ por espectrofotometria UV-Visível.
- Avaliar o perfil de liberação *in vitro*.
- Realizar estudo de cinética de degradação do PZQ e do sistema que apresentar o melhor desempenho no estudo de dissolução *in vitro*;

REFERENCIAL TEÓRICO

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 DOENÇAS NEGLIGENCIADAS

As doenças negligenciadas, conhecidas também como doenças tropicais negligenciadas (DNTs), são definidas como um grupo de doenças que estão associadas principalmente, mas não exclusivamente, às partes mais pobres do mundo. São caracterizadas por um alto índice de morbidade e responsáveis pela mortalidade de milhões de pessoas por ano em todo o mundo (COHEN et al., 2016; MARCHAL et al., 2011).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), atualmente, podem ser encontradas 17 DTNs dentre elas, dengue, úlcera de buruli, raiva, treponematoses endêmicas, hanseníase, doença de Chagas, leishmaniose, cisticercose, dracunculíase, equinococose, filariose linfática, oncocercose, esquistossomose e helmintíases transmitidas pelo solo. Elas estão presentes em 149 países, acometendo cerca de 41,1 bilhões de pessoas. Além das 17 DTNs parasitárias crônicas, três grandes doenças como a malária, tuberculose e HIV/AIDS, também são classificadas como DTNs, justificadas pelas suas prevalências e restrições aos medicamentos, principalmente nos países africanos, compreendendo um total de 20 DTNs (AERST et al., 2017; COHEN et al., 2016; COHEN; STURGEON; COHEN, 2014; HOTEZ; FUJIWARA, 2014).

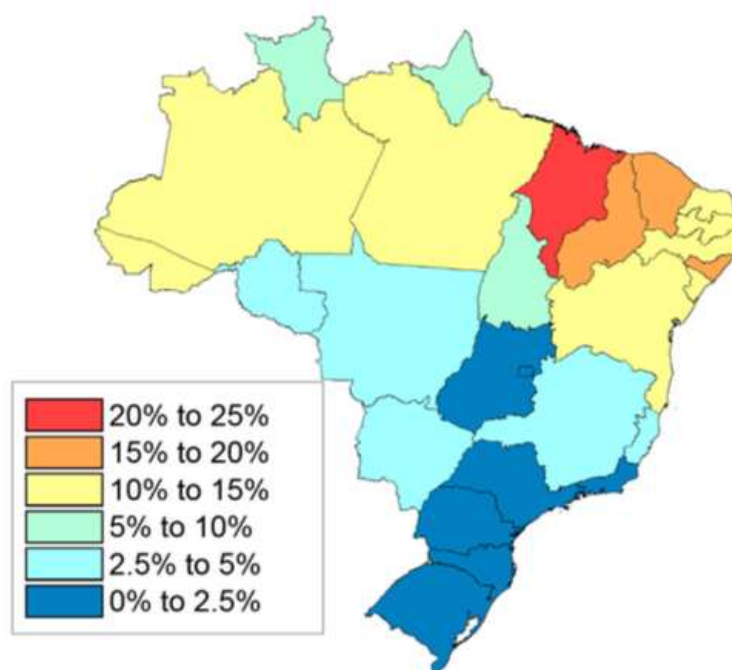
As DTNs causam graves limitações às sociedades atingidas, dispondo de um panorama de enfermidade, incapacidade e sofrimento, resultando em graves consequências sociais, psicológicas e econômicas como, por exemplo: cegueira, ocasionada pela oncocercose e manifestações severas da esquistossomose (AERST et al., 2017; DIAS et al., 2013). No caso de crianças infectadas pela esquistossomose ou pela ancilostomíase, são gerados quadros como desnutrição, supressão do crescimento e déficits cognitivos. Em gestantes, essas infecções podem causar parto prematuro e aumento de morbidade e mortalidade materna (SIQUEIRA et al., 2017).

Em 2013, a população brasileira ultrapassou 200 milhões de pessoas, representando aproximadamente 34% da população da região da América Latina e do Caribe (ALC) e 20% do total de pessoas que vivem no Hemisfério Ocidental (HOTEZ; FUJIWARA, 2014). Na região ALC, existem aproximadamente 48 milhões de pessoas que vivem abaixo da linha da pobreza, com menos de US \$ 1,25 por dia, enquanto 99 milhões de pessoas vivem com menos de US \$ 2 por dia. Dentre os países da ALC, sete apresentam índice de desenvolvimento humano (IDH) inferior a 100 e exibem níveis de pobreza equivalentes a muitos países da

África ou do Sudeste Asiático. Quatro destes sete países empobrecidos são países da América central (Guatemala, Nicarágua, Honduras e El Salvador) (HOTEZ; WOC-COLBURN; BOTTAZZI, 2014).

Existe uma ligação bem descrita entre a pobreza extrema e as DTNs. No Brasil, a pobreza não apresenta distribuição uniforme, um grande percentual encontra-se concentrada no Nordeste do país (incluindo os estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe), a região norte do estado de Minas Gerais e no noroeste do estado do Amazonas, conforme demonstra a figura 1 (HOTEZ; FUJIWARA, 2014).

Figura 1 - Porcentagem da população que vive em pobreza extrema, com menos de US\$ 70 por mês.



Fonte: HOTEZ; FUJIWARA, 2014.

As áreas mais empobrecidas, como nos subúrbios das grandes cidades e em áreas rurais, onde a maioria dos habitantes vive com menos de US \$ 2 por dia e acesso insuficiente à infraestrutura, tornam-se particularmente mais afetadas pelas DTNs. As doenças diarreicas são causadoras de 1,26 milhões de mortes por ano, dentre as quais 58% podem ser atribuídos à situação de água inadequada e condições precárias de saneamento e higiene (KULINKINA et al., 2017). No território brasileiro, estão presentes 13 das 17 DTNs, destacando os maiores números de casos de esquistossomose, leishmaniose, infecções por helmintos transmitidos

pelo solo, dengue, filariose e doença de chagas (MARTINS-MELO et al., 2016; WERNECK; HASSELMANN; GOUVEA, 2011). Mais de 200 milhões de pessoas estão infectadas com uma das três espécies de *Schistosoma* em todo o mundo, incluindo cerca de 40 milhões de mulheres em idade reprodutiva (OLVEDA et al., 2016).

Um sistema de monitoramento, através de uma vigilância específica, deve abranger no seu programa a descoberta, investigação e interrupção da transmissão contínua, incluindo também a prevenção da infecção. A vigilância deve ser rigorosa nas áreas de risco e grupos populacionais afetados, bem como em seres humanos e animais que careçam de medidas de intervenção e controle quando necessário. Por exemplo, o monitoramento rigoroso do *Schistosoma* no Japão não foi interrompido mesmo após a doença em seres humanos ter sido declarada eliminada no país em 1996 (BERGQUIST et al., 2015, SIQUEIRA et al., 2017).

O desenvolvimento acelerado de inovações tecnológicas pela indústria farmacêutica resultou em fluxo contínuo de novos produtos no mercado. Onde, na maioria das vezes, as empresas que apostavam em pesquisa e desenvolvimento (P&D), apresentavam estreita cooperação com outras instituições, em geral públicas ou sem fins lucrativos (SANTOS et al., 2012).

No Brasil, a área de doenças negligenciadas tem sido uma prioridade do governo brasileiro, que instituiu no programa de pesquisa e desenvolvimento em doenças negligenciadas, com foco em sete doenças: dengue, doenças de Chagas, leishmaniose, hanseníase, malária, esquistossomose e tuberculose. Os incentivos governamentais para P&D em doenças negligenciadas estão tendendo ao crescimento, onde boa parte vem do Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT), por meio de suas duas principais agências de fomento: o CNPq e a FINEP. Em 2008, foram investidos mais de R\$ 25 milhões em projetos de P&D para as doenças negligenciadas, havendo destaque para o Brasil como o sexto país que mais investe nesses seguimentos (PONTES, 2009; SANTOS et al., 2012; SIQUEIRA et al., 2017).

De acordo com estudos realizados pelo Instituto George para a saúde internacional com apoio da Fundação Bill e Melinda Gates, na área de doenças negligenciadas, apenas 5% dos recursos globais utilizados para pesquisa e desenvolvimento (P&D), são provenientes de instituições privadas. Quase todo o investimento gerado nessa área é proveniente de instituições filantrópicas (54%) e públicas (41%), onde, na maioria das vezes não conseguem dar seguimento aos investimentos ao longo dos anos (PONTES, 2009). Esse fato reflete a busca sobre os registros de novos fármacos, onde no período de 1975 a 2004, dos 1.535 novos fármacos registrados, apenas 1% foram destinados às DTNs. Tais dados evidenciam que o investimento em P&D de fármacos para essas doenças é escasso (SANTOS et al., 2012).

Com a finalidade de intervir nessa situação, a Iniciativa de Drogas para Doenças Negligenciadas (DNDi) pesquisa e desenvolve novos tratamentos para as DTNs, juntamente com o Instituto Pasteur, na França, a Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), no Brasil, o Ministério da Saúde da Malásia e os institutos de pesquisa clínica da Índia e do Quênia como parceiros fundadores (PONTES, 2009; SANTOS et al., 2012).

Importantes alianças têm sido realizadas entre a OMS e as indústrias farmacêuticas visando reduzir o impacto das DTNs. Algumas empresas como, por exemplo, a Sanofi, realiza doações de quantidades ilimitadas de medicamentos para o tratamento da tripanossomíase africana e a Merck KGaA contribui para o controle da esquistossomose com a doação de 200 milhões de comprimidos de praziquantel por ano (até 2017). Apesar de essas parcerias disponibilizarem doações de medicamentos, atualmente, as opções terapêuticas disponíveis para o tratamento das DTNs são muito limitadas, insuficientes e apresentam diversos problemas, como baixa eficácia, elevada toxicidade e a emergência de cepas resistentes (DIAS et al., 2013).

3.2 ESQUISTOSSOMOSE

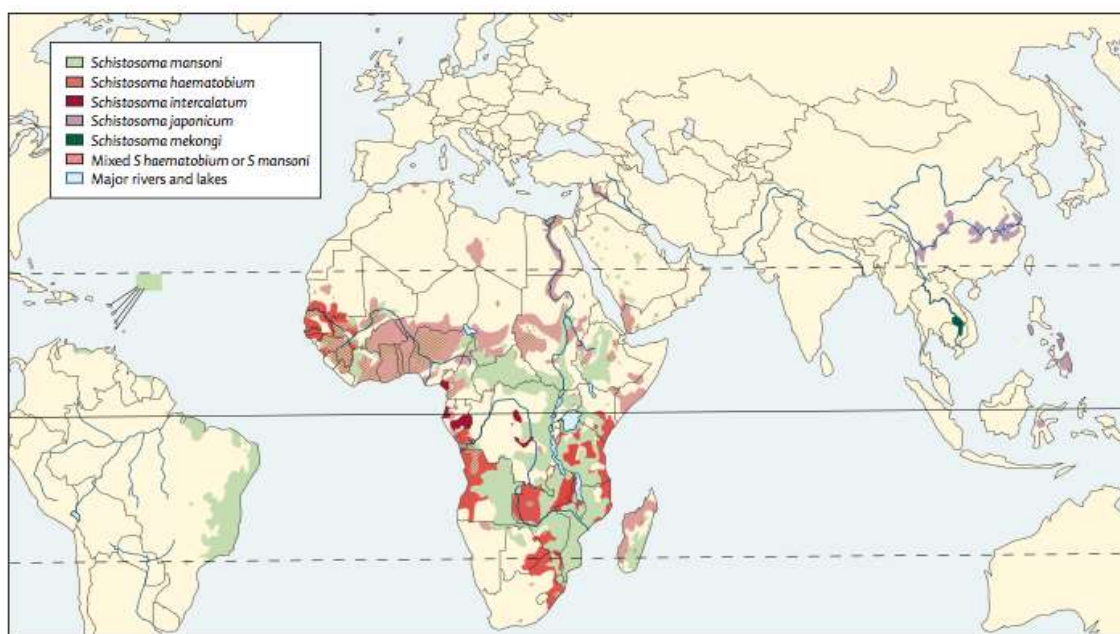
3.2.1 Contexto histórico

A esquistossomose é uma doença parasitária tropical, conhecida também como barriga d'água, ocasionada pelo trematódeo *Schistosoma*, sendo o *S. mansoni*, o responsável pela parasitose no Brasil. As formas adultas do parasita habitam os vasos mesentéricos do hospedeiro e as formas intermediárias se desenvolvem em caramujos do gênero *Biomphalaria*. No início da infecção, a doença apresenta-se assintomática, podendo evoluir para quadros clínicos extremamente graves e levar o paciente ao óbito (SANTOS et al., 2012).

Essa doença ocupa a segunda posição entre as principais DTN, perdendo apenas para a malária. Os humanos podem ser acometidos por seis espécies de *Schistosoma* (*S. japonicum*, *S. Mansoni*, *S. haematobium*, *S. Intercalatum*, *S. Mekongi* e *S. Malayensis*), e estas geram patologias diferentes de acordo com a localização em que se alojam no corpo humano. Porém, a esquistossomose é causada principalmente por três dessas espécies. São elas: *Schistosoma mansoni* e *Schistosoma japonicum*, que residem no sistema porta das artérias do fígado e mesentéricos e o *Schistosoma haematobium*, que habita nos vasos da bexiga e / ou do trato genital (BORREGO-SÁNCHEZ et al., 2016; COLLEY et al., 2014; ELMORSHEDY et al.,

2016; GRYSEELS, 2012; HINZ et al., 2017; LEE et al., 2014; MARTINS-MELO et al., 2014; RIBEIRO DA SILVA et al., 2017; TOMIOTTO-PELLISSIER et al., 2017). A figura 2 mostra a distribuição global de países em que os diferentes tipos de esquistossomose são transmitidos.

Figura 2 - Distribuição dos países em que as diferentes espécies de esquistossomose humana são transmitidas.



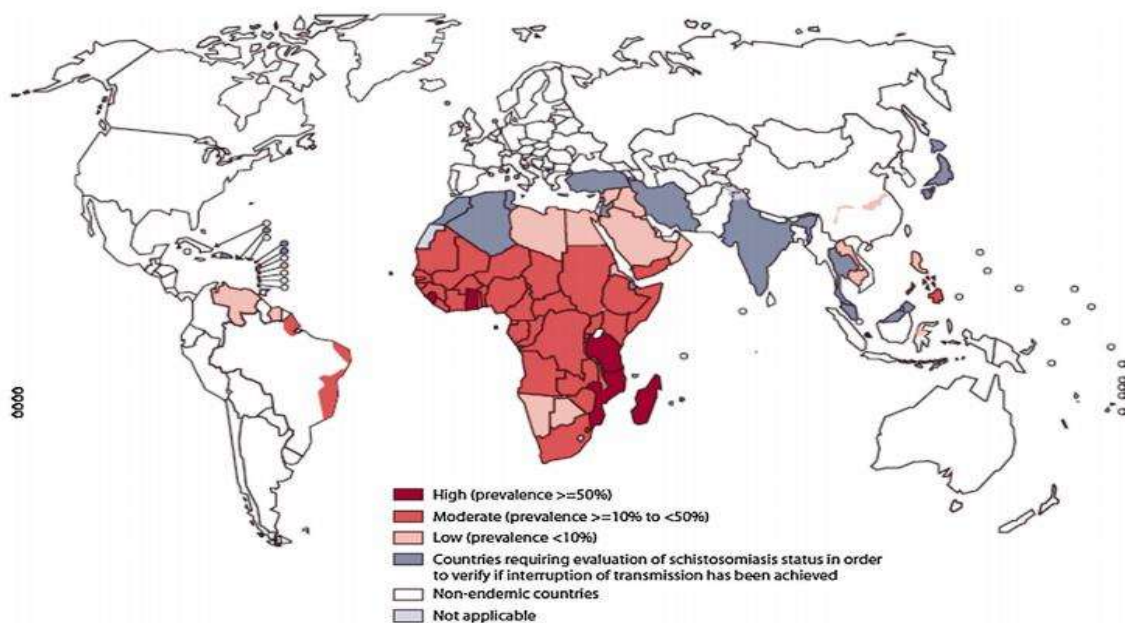
Fonte: COLLEY et al., 2014.

Essa parasitose obteve origem nas bacias de dois importantes rios: o Nilo e o Yangtse. Já foram descobertos também, nas vísceras de múmias egípcias, ovos do gênero *Schistosoma*, agente etiológico da esquistossomose. Por meio do tráfico de escravos, essa helmintose espalhou-se pelo continente africano, onde foi trazida para as Américas. Porém, dentre as espécies de *Schistosomas*, apenas o *S. mansoni* aqui permaneceu, provavelmente devido ao encontro de bons hospedeiros intermediários e condições ambientais favoráveis e semelhantes ao da sua região de origem (SIQUEIRA et al., 2017).

A esquistossomose é considerada mundialmente uma doença tropical devastadora, responsável pelas principais causas de morbidade e mortalidade na África, América do Sul, Caribe, Oriente Médio e Ásia. Atualmente, mais de 78 países são acometidos por essa doença, onde aproximadamente 250 milhões de pessoas estão infectadas em todo o mundo e cerca de 800 milhões de pessoas estão expostas à doença. Estima-se que causa aproximadamente

280.000 mortes por ano, podendo gerar danos graves ao hospedeiro. A figura 3 mostra os países endêmicos, onde na África a prevalência é superior a 50% (EDITORIAL, 2017; KONG et al., 2017; MARI et al., 2017; MARTINS-MELO et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2012; TOMIOTTO-PELLISSIER et al., 2017).

Figura 3 - Distribuição global da esquistossomose mostrando as populações mais acometidas na África. Países altamente endêmicos (vermelho escuro) são propostos para ser o foco de futuros esforços de controle integrado.



Fonte: EDITORIAL, 2017.

No Brasil, a esquistossomose surgiu em meados do século XVI, disseminando-se a partir da década de 1920, com o início das migrações internas, sendo considerado como uma das principais áreas de distribuição da doença em todo o mundo, não apenas devido à vasta área endêmica e ao alto índice de pacientes com formas graves da doença, como também devido à propagação desta doença para outras áreas do país, até então não infectadas. A transmissão da esquistossomose no Brasil é atuante em 16 estados, apresentando áreas de concentração principalmente na região nordeste e em Minas Gerais (SANTOS et al., 2016; SIQUEIRA et al., 2017). Os estados do Rio de Janeiro e São Paulo também possuem grande prevalência, porém em menor escala (VITORINO et al., 2012).

Em 2008, a OMS estimou que 7,1 milhões de pessoas foram infectadas por *S. mansoni* nas Américas, sendo 95% prevalente no Brasil (FAVRE et al., 2015). De acordo com estimativas recentes, aproximadamente seis milhões de pessoas no Brasil encontram-se

infectadas com esquistossomose e cerca de 25-30 milhões estão expostas a contaminação (BARBOSA et al., 2016).

Em meados da década de 1970, houve a implementação de um Programa Especial de Prioridade para Controle de Esquistossomose (PECE) pelo Ministério da Saúde, baseado principalmente na quimioterapia em massa. Com o passar do tempo, o programa foi reformulado para atender às mudanças no cenário epidemiológico, bem como nas políticas de saúde pública, tornando-se conhecido como Programa de Controle de Esquistossomose (PCE) (FAVRE et al., 2015).

No Brasil, o PCE, baseia suas ações de controle da doença através do diagnóstico e tratamento das pessoas infectadas, realizando exames de fezes em locais endêmicos e com tratamento subsequente ditado pela porcentagem de indivíduos positivos para infecção na área pesquisada (MARTINS-MELO et al., 2014). Segundo os dados do PCE, durante o período de 2008 a 2012 foram realizados 7,1 milhões de exames parasitológicos de fezes em 1.060 municípios endêmicos, onde foi identificado 5,4% de resultados positivos para *S. mansoni* (SANTOS et al., 2016). Na Tabela 1, de acordo com a base de dados DATASUS, pode-se observar o quadro epidemiológico da esquistossomose por regiões do Brasil, no período de 2011 a 2016 (SIQUEIRA et al., 2017).

Tabela 1 - Quadro epidemiológico da esquistossomose por região. Dados do Programa de Controle da Esquistossomose (PCE), no período entre 2011 a 2016.

REGIÃO	POPULAÇÃO AVALIADA	REALIZAÇÃO DE EXAMES	EXAMES POSITIVOS	PESSOAS TRATADAS
NORTE	27.332	17.779	448	448
NORDESTE	1.081.458	804.138	43.246	36.438
SUDESTE	600.757	445.218	16.248	15.348
SUL	155	112	4	4
TOTAL	1.709.702	1.267.247	59.946	52.238

Fonte: Adaptado de SIQUEIRA et al., 2017.

A prevalência da esquistossomose está intimamente associada às condições sociais e econômicas, por ser considerada uma endemia rural e doença de pobreza (MARTINS-MELO et al., 2014). Apesar de a esquistossomose expandir-se para áreas urbanas e litorâneas,

durante muitos anos, essa doença tem sido foco de pesquisa principalmente nas áreas rurais, gerando conteúdo e o alcance de dados mais restritos e concentrados (KONG et al., 2017).

Já é previsto saber que a esquistossomose apresenta prevalência especialmente em comunidades que não tem acesso à água potável e saneamento básico. Esses locais obrigam os habitantes a recorrerem a fontes de águas inseguras para as suas necessidades primárias. No entanto, áreas que apresentam boas condições de moradia, não podem evitar completamente o contato humano com a água doce ambiental, nem a presença de saneamento adequado garante 100% de proteção dos habitantes. Trabalhadores agrícolas, domésticas, ocupacionais e recreativos, podem facilitar o contato com água potencialmente infestada e representar fator de riscos mesmo em locais onde o abastecimento de água e o saneamento são apropriados (MARI et al., 2017).

O índice de esquistossomose urbana vem aumentando consideravelmente em todo o mundo. Devido à migração de moradores de ambientes rurais endêmicos, geralmente trabalhadores rurais desempregados, para ambientes urbanos, a esquistossomose urbana tem se tornado um problema de saúde pública cada vez mais relevante. Na periferia de pontos turísticos privilegiados, é encontrado um alto índice de população migrante à espera de oportunidades de trabalho e aglomerados populacionais sem infraestrutura de saneamento básico e ambiental e consequentemente precária assistência à saúde, favorecendo a contaminação e iniciando novos ciclos de transmissão da doença. Estudos indicam que as áreas urbanas da África e da América do Sul, tornaram-se focos da transmissão de esquistossomose (BARBOSA et al., 2013; BARBOSA et al., 2016; KONG et al., 2017).

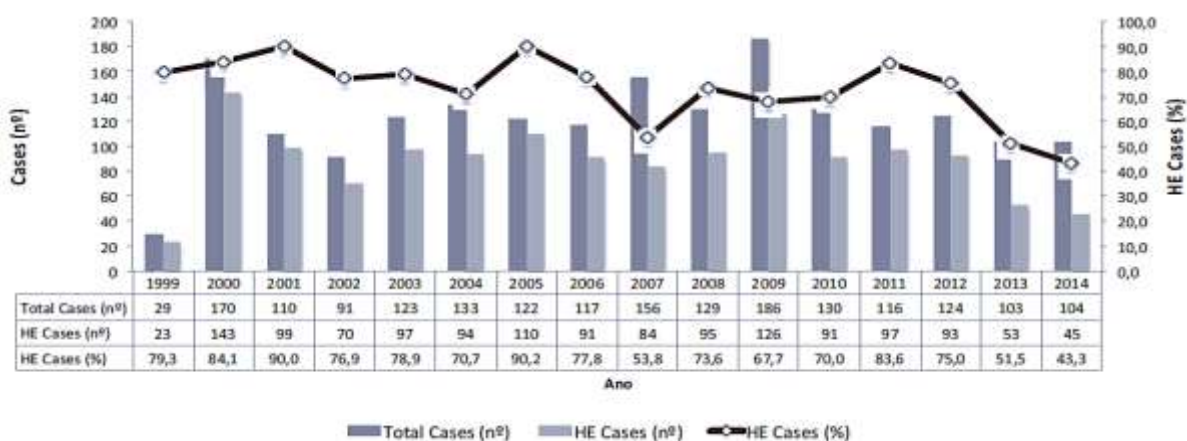
A esquistossomose pode ser dividida em duas fases: aguda ou crônica. Na fase aguda, o paciente apresenta manifestações clínicas precoces quando expostos a águas contaminadas com as cercárias, onde tem início o momento da infecção, podendo durar até 120 dias após a contaminação. O paciente pode apresentar alguns sintomas como febre, dor de cabeça, calafrios, falta de apetite, diarreia, dor muscular e imunopatologia mais exacerbada. A fase crônica tem início a partir de 120 dias após a infecção, possuindo três formas de apresentação: intestinal, hepatointestinal (ambas mais brandas) e a hepatoesplênica (mais grave), podendo ser compensada ou descompensada (COUTO, 2014).

Estudos científicos relatam informações referentes à prevalência da esquistossomose na fase aguda e na fase crônica. Em diversas localidades pernambucanas, a falta de saneamento básico e condições precárias no ambiente, permitiu que a doença se tornasse endêmica. Nos últimos 30 anos, devido aos tratamentos sucessivos em áreas endêmicas, houve redução na forma clínica hepatoesplênica, considerada como estágio grave da doença e

diminuição da mortalidade ocasionada por sangramento gastrointestinal alto. Todavia, apesar dessas informações, dados da literatura relatam que o estado de Pernambuco apresenta percentuais significativos de mortes, hospitalizações e ocorrência da forma clínica grave (BARBOSA, et al. 2016). Estudos realizados por Martins-Melo e colaboradores (2014), relatam os índices de mortalidade da esquistossomose no Brasil, durante o período entre 2000 a 2011, onde demonstraram que o estado de Pernambuco apresentou a maior proporção de óbitos no país.

Estudos realizados por Barbosa e colaboradores (2016) através de uma análise temporal da evolução dos óbitos, internações hospitalares e formas graves da esquistossomose mansoni, por meio de um levantamento secundário, dos sistemas de informação de saúde e dos registros do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, durante o período de 1999 a 2014, identificou que no período de 1999 a 2013 foram registrados 2578 óbitos devido à esquistossomose e 473 internações foram registradas durante o período entre 2008 e 2014. Entre 1999 e 2014 foram identificados 1943 casos de esquistossomose tratados no Hospital das Clínicas de Pernambuco, onde 1411 indivíduos apresentaram a forma clínica grave (hepatoesplênica), representando 72,6% do total de casos. A figura 4 mostra as frequências dos casos e as porcentagens desta forma grave durante o período de estudo, onde a curva temporal para a evolução da forma hepatoesplênica permaneceu estável ao longo dos anos, com declínio a partir de 2012.

Figura 4 - Evolução temporal do total de casos de esquistossomose e casos da forma hepatoesplênica (HE) registrados no período de 16 anos no Hospital das Clínicas de Pernambuco-Brasil, 1999-2014.



Fonte: BARBOSA et al., 2016.

Quando comparado com outras regiões do Brasil, o estado de Pernambuco apresenta um elevado índice de gravidade de esquistossomose. Este fato é evidenciado pela superioridade de óbitos que foram registrados nos Sistema de Informação da Mortalidade (SIM) no ano de 2011. Este quantitativo equivale a três vezes mais que o registrado nos estados da Bahia, Alagoas e Minas Gerais. Quando comparado com a Bahia, o estado de Pernambuco exibiu o dobro de mortes registradas no SIM, mesmo levando em consideração a maior área endêmica e a desproporção no número de casos de esquistossomose registrados no mesmo período para os dois estados (BARBOSA et al., 2016).

Geralmente, moradores de áreas endêmicas, infectados com *S. mansoni*, não apresentam sintomas clínicos graves da doença. A sintomatologia clínica relaciona-se ao estágio de desenvolvimento do parasito no hospedeiro e pode variar de acordo com a carga parasitária e a intensidade da resposta imunológica do indivíduo (COUTO, 2014).

A infecção com parasita ocorre através da exposição do ser humano em águas contaminadas na região endêmica. Apenas um breve contato já é o suficiente para permitir a contaminação transcutânea das cercárias. Devido a esse fator, conhecer e compreender a doença, o ciclo de vida, o movimento do parasita entre os hospedeiros intermediários e definitivos e as mudanças ambientais é de grande importância para que possa atingir o controle e eliminação da esquistossomose humana (COLLEY et al., 2014). Em 2011, um estudo realizado em Zimbábue, país da África, relatou que 32% das crianças conheciam as causas da esquistossomose e 22% conheciam as ações preventivas (FRIGERIO et al., 2016).

Algumas intervenções de longo prazo podem ajudar a prevenir a transmissão. São elas: tratamento efetivo das pessoas, eliminação de caracóis (hospedeiros intermediários) e prevenção do contato humano com água que tenha a presença de caracóis infectados, saneamento e mudanças comportamentais na higiene pessoal. Já a intervenção de curto prazo utiliza a administração de medicamentos em massa. Para a esquistossomose, a utilização do praziquantel visa crianças e adultos em risco de infecção, incluindo mulheres grávidas e lactantes (COLLEY et al., 2014; HODGES et al., 2012).

A educação sobre saúde também é um componente indispensável na tentativa de controle das doenças negligenciadas. Pois a má compreensão da doença acarreta em uma menor adesão do paciente ao tratamento gratuito e à exposição ao risco, como por exemplo, exposição à água endêmica. Se o paciente sabe que está infectado e entende os riscos que a doença pode lhe causar, ele torna-se mais propenso a cumprir o tratamento adequadamente (EDITORIAL, 2017).

Na China, 5 das 12 províncias erradicaram a esquistossomose, utilizando como estratégia a combinação de modificações ambientais e moluscicidas. Esta estratégia associada com a educação, o tratamento e as medidas de prevenção da saúde, a melhoria do saneamento e do sistema de abastecimento de água objetivando modificações ambientais, alcançou um melhor efeito do controle da transmissão (KONG et al., 2017).

O Ministério Egípcio da Saúde e da população (MESP), por exemplo, implementou um programa de controle em larga escala, desde o início dos anos 80, onde foi apoiado por agências internacionais. Na primeira fase, foram obtidos resultados excelentes, no entanto, após a cessação das medidas de controle, os índices de infecção aumentaram drasticamente, aparecendo também novos focos de infecção. No final da década de 90, o MESP estabeleceu estratégias de controle mais rigorosas na administração de medicamento, porém a transmissão permaneceu inabalável, pois o controle do caramujo estava abandonado e o PZQ não afetava estágios imaturos do parasita. Embora intervenções para o combate ao caramujo afetem a transmissão da doença, torna-se problemático devido ao alto custo dos moluscicidas e seu amplo espectro atingindo a fauna (ELMORSHEDY et al., 2016).

A resolução 54.19 foi aprovada pela Assembleia Mundial da Saúde em 2001, visando possibilitar medidas preventivas, assegurar tratamento e mobilizar recursos para o controle de helmintos transmitidos pelo solo e da esquistossomose. Esta resolução despertou o interesse de patrocinadores e governos em ajudar regiões endêmicas, objetivando controlar a esquistossomose e outras DTN, estabelecendo planos de ação.

Exemplos de utilização dessas estratégias incluem a Uganda e Tanzânia em 2003, onde a estratégia principal para a administração de anti-helmínticos foi através do sistema escolar, uma abordagem que proporciona resultados educacionais nas áreas de tratamento, bem como redução de morbidade de uma forma economicamente eficiente (EDITORIAL, 2017; MOLYNEUX; SAVIOLI; ENGELS, 2017; MUTAPI et al., 2016; ONKANGA et al., 2016).

Em 2012, a Assembleia Mundial da Saúde empregou a resolução 65.21, com o objetivo de promover um maior investimento no controle da esquistossomose. O apoio aos programas de eliminação inicial em países endêmicos (As Américas, Ásia e África) e a necessidade de enfatizar a importância do tratamento regular de no mínimo 75% das crianças em idade escolar que se encontrava em áreas de riscos, foram as principais estratégias devido ao fato que o tratamento desta parasitose apresenta limitações referentes à pequena quantidade de agentes quimioterápicos disponíveis que exibem eficácia, segurança e tolerabilidade

(FAVRE et al., 2015; MOLYNEUX; SAVIOLI; ENGELS, 2017; MUTAPI et al., 2016; TOMIOTTO-PELLISSIER et al., 2017).

A infecção é diagnosticada através de indícios de infestação parasitológica realizada através de testes sorológicos ou métodos moleculares utilizando amostras como fezes, urina, sangue ou outros fluidos corporais e espécies de tecido. Porém, estes métodos de ensaios apresentam algumas limitações na avaliação da gravidade da morbidade (GAZZINELLI et al., 2016; KABORE et al., 2017; OLVEDA et al., 2016).

Para a realização de estudo de campo, a OMS recomenda o método Kato-Katz para o diagnóstico de esquistossomose, pois é caracterizado como uma técnica simples e de baixo custo. Este método apresenta limitações, apesar de apresentar uma especificidade de 100%, sua sensibilidade varia com a prevalência e intensidade da infecção, recomenda-se a análise de várias amostras, geralmente três (FAVERO et al., 2017; SCHUWARZ et al., 2014). Outro método de diagnóstico parasitário utilizado é o por imagem, como ultrassonografia, tomografia computadorizada e ressonância magnética, que são consideradas cruciais não só para diagnosticar a doença, mas também avaliar a gravidade e as complicações em órgãos alvos (GAZZINELLI et al., 2016; KABORE et al., 2017; OLVEDA et al., 2016).

O município de Araçoiaba-PE, que apresenta IDH de 0,637 e sua principal atividade econômica é a agropecuária, foi escolhido por Favre e colaboradores (2015), para a realização de um estudo, devido ao município ser representativo de área endêmica da esquistossomose no Brasil. Das 3.092 crianças com idade entre 6 e 15 anos, que participaram do estudo, 1.527 faziam parte de intervenções no esquema escolar e 1.565 no esquema comunitário. No entanto, 358 (23,4%) e 268 (17,1%) das crianças alocadas perderam o diagnóstico, respectivamente. Das crianças examinadas, 188 (16,2%) no esquema escolar foram positivas para *S. mansoni*, enquanto 461 (35,2%) no esquema comunitário foram positivas, ambos foram alocados ao tratamento. Em geral, a taxa de cura para *S. mansoni* foi satisfatória, porém o índice de reinfecção foi preocupante (acima de 20% no total), portanto, é de grande importância a realização de ações direcionadas a este grupo, bem como medidas preventivas e educativas.

As crianças representam um grupo de alto risco de infecção de esquistossomose, uma vez que estão sujeitas à reinfecção rápida e intensa, assim como, a serem menos sensíveis à terapia com o praziquantel. Outro grupo bastante vulnerável a doença são as mulheres em idade fértil. Estima-se que cerca de 40 milhões sofrem atualmente de esquistossomose, entretanto, pouco se sabe sobre as morbidades específicas infligidas em gestantes e seus filhos (MOMBO-NGOMA et al., 2017).

Conforme estudos vão se concretizando e à medida que emergem novas evidências, a OMS vem aumentando a percepção de que o controle da esquistossomose na pediatria apresenta alguns desafios. Estes incluem necessidades, como por exemplo, de um melhor diagnóstico e implantação das formulações disponíveis de PZQ. Qualquer atraso no acesso imediato ao tratamento, essas infecções podem causar danos prejudiciais à saúde das crianças durante os seus principais estágios de desenvolvimento. Apesar da necessidade de tratamentos de bebês e crianças em idades pré-escolares, a promoção do acesso ao tratamento com PZQ para qualquer caso infectado, independentemente da idade, torna-se cada vez mais indispensável (STOTHARD et al., 2013).

Em 2014, 49,2 milhões de crianças em idade escolar foram atendidas, o equivalente a 34,6% da cobertura global para essa faixa etária. Apesar destes progressos relevantes, a expansão continua a ser lenta nos países que apresentam alto índice de carga da doença. Para que os objetivos da eliminação da esquistossomose sejam cumpridos, os países endêmicos devem determinar áreas de intervenção de alta prioridade, ter acesso à droga doada disponível, disponibilizar mensagens de educação sanitária, enfatizando a importância da utilização de água potável e saneamento básico, visando à redução da transmissão e reconhecer a importância de crianças em idade pré-escolar e sua necessidade de tratamento (GAZZINELLI et al., 2016; KULINKINA et al., 2017; MOLYNEUX; SAVIOLI; ENGELS, 2017).

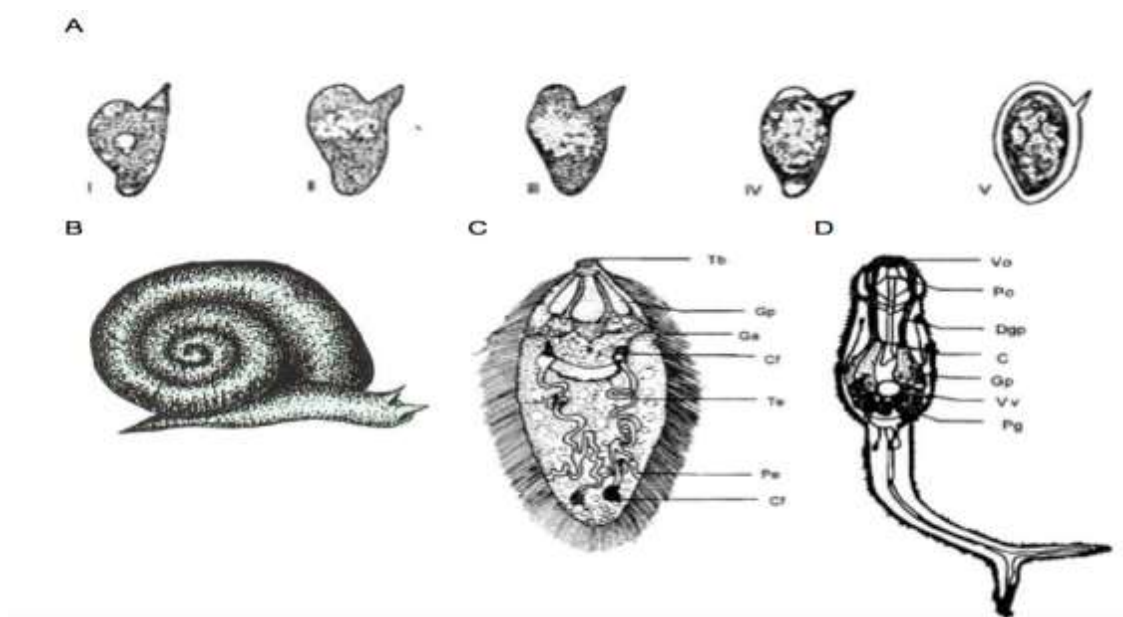
3.2.2 Ciclo parasitário e fisiopatologia

Os vermes que ocasionam a esquistossomose pertencem a dois filos: O Nematoda (nematóides ou lombrigas) e Platyhelminthes (platelmintos). Os Schistosomas apresentam aproximadamente 10 mm e são classificados como dióicos, pois possuem distintamente órgãos sexuais masculinos e femininos. Seu ciclo de vida é bastante complexo, envolvendo hospedeiros intermediários e definitivos. Esta doença acarreta em torno de 300 mil mortes por ano, principalmente na África Subsaariana (LEE et al., 2014; SIQUEIRA et al., 2017).

Como característico de todos os trematóides, o ciclo de vida do esquistossoma é composto por hospedeiros intermediários (caracóis) e definitivos (mamíferos). O ciclo de vida inicia-se através da contaminação de águas por excrementos (fezes ou urina contendo ovos de esquistossomose) de um humano infectado (CLERINX; GOMPEL, 2011; COLLEY et al., 2014; LEE et al., 2014; WENDT; COLLINS 2016). A epidemiologia da esquistossomose e consequentemente a intensidade da infecção varia consideravelmente entre regiões e

localidades (CLERINX; GOMPEL, 2011). A figura 5 ilustra a morfologia dos ovos de *S. mansoni*, o hospedeiro intermediário, a morfologia dos ovos quando eclodem e viram miracídios e a morfologia do estágio larval de vida livre (cercária).

Figura 5 - Morfologia dos ovos de *S. mansoni* em seus respectivos estágios (A); caramujo *Biomphalaria glabrata* (B); Miracídio (C); Cercária (D).



Fonte: SANTOS, 2014.

Quando em contato com a água, os ovos que foram excretados por humanos infectados eclodem, liberando as larvas ciliadas de vida livre, conhecidas como miracídios. Estes nadam durante algumas horas até encontrar os hospedeiros intermediários e quando são localizados, os miracídios os invadem. No caracol, ocorre o ciclo assexuado e apenas algumas espécies de caracóis podem transmitir a esquistossomose. São elas: gênero *Biomphalaria* (*S. mansoni*), *Bulinus* (*S. haematobium*) ou *Oncomelania* (*S. japonicum*) (SANTOS, 2011; SIQUEIRA, et al., 2017; TOMIOTTO-PELLISSIER et al., 2017).

Uma vez que o miracídio invade o caracol, ele sofre uma transformação, tornando-se outro estágio larval, conhecido como esporocisto mãe. Cada esporocisto mãe dá origem a centenas de larvas, denominadas esporocistos filhos. Esses esporocistos filhos deixam o esporocisto mãe e deslocam-se para regiões distais do caramujo. Este estágio larval, pode se submeter à decisão de produzir novas gerações de esporocistos filhos ou produzir outro

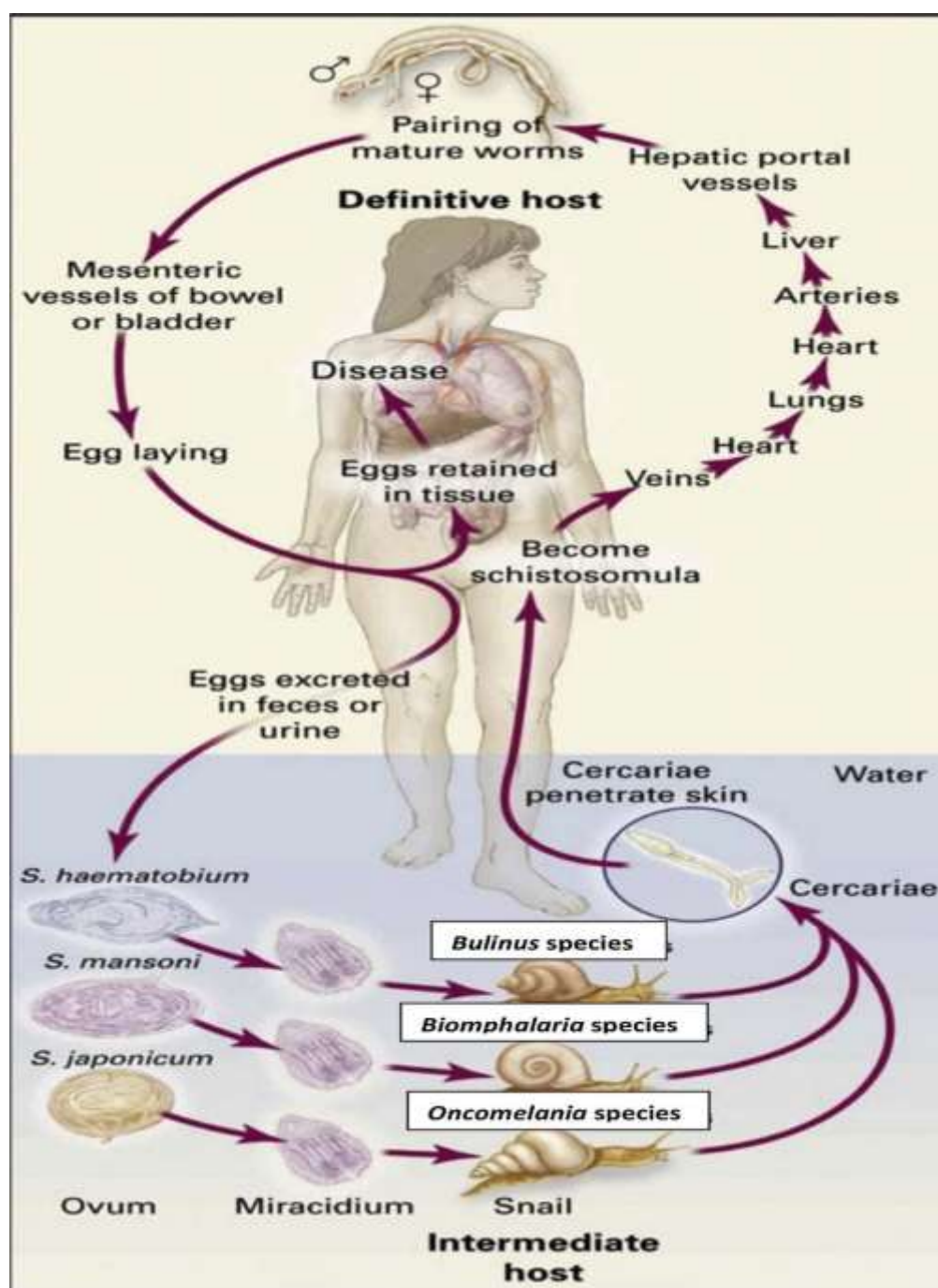
estágio de vida livre, denominados de cercárias. (WENDT e COLLINS, 2016; SIQUEIRA, 2017; COLLEY et al., 2014; BORREGO-SÁNCHEZ et al., 2016; RIDI et al., 2016). As cercárias começam a se multiplicar durante um período de 4 a 6 semanas após a infecção no caramujo (SANTOS, 2014).

Quando os esporocistos filhos optam pelo estágio de vida livre, as cercárias por ventura irão sair do hospedeiro intermediário na água, onde encontram e penetram na pele do hospedeiro definitivo: o homem (TOMIOTTO-PELLISSIER et al., 2017; WENDT; COLLINS 2016). Quando se encontram fora do caramujo, as cercárias podem sobreviver até 72 horas antes de encontrar o hospedeiro definitivo (SANTOS, 2014). Um breve contato é suficiente para contaminação, aproximadamente de um a cinco minutos pode ser suficiente para permitir a penetração transcutânea das cercárias (JAURÉGUIBERRY; PARIS; CAUMES, 2010), posteriormente a penetração, a dermatite cercariana aparece dentro de 24 horas (MERRIFIELD et al., 2016). Após a penetração, as cercárias perdem a cauda e se transformam em esquistossômulos (MORAES et al., 2012).

Uma vez no seu hospedeiro definitivo, esses parasitas invadem a circulação, migram para o coração e pulmões e começam a se desenvolver como parasitas do sexo masculino ou feminino (SANTOS, 2014). Os vermes do sexo masculino e feminino se encontram dentro da circulação do hospedeiro e através de reprodução sexuada, fixam-se fisicamente um ao outro e a fêmea começa a produzir centenas de ovos. Quando estes ovos permeiam para o intestino ou a bexiga e são liberados do hospedeiro, inicia-se outro ciclo de vida (MARI et al., 2017; TOMIOTTO-PELLISSIER et al., 2017; WENDT; COLLINS, 2016).

Quando os ovos que são destinados a sair do corpo através de fezes ou urina, penetram nos tecidos do intestino humano ou da bexiga, a patogênese da esquistossomose humana inicia-se. Estes ovos que se encontram presos nos tecidos, induzem inflamação, granulomas e fibrose, gerando diversos impactos clínicos, como por exemplo, fibrose hepática, hepatoesplenomegalia, hematúria, fibrose e obstrução da bexiga e doença renal crônica. A esquistossomose causada pelo *S. haematobium*, pode causar também inflamação vaginal ou cervical, aumentando o risco de aquisição de HIV/AIDS (MERRIFIELD et al., 2016). Os esquistossomas podem viver por diversos anos e até mesmo por décadas em hospedeiros humanos, ocasionando doença crônica e debilitante (MORAES et al., 2012). A figura 6 mostra o ciclo de vida da esquistossomose humana.

Figura 6 - Ciclo de vida da esquistossomose humana.



Fonte: SIQUEIRA et al., 2017.

No Brasil, o caracol da espécie *Biomphalaria glabrata* pode ser encontrado em diversas localidades da região Nordeste. Na região sudeste, acomete parte de Minas Gerais, o leste do Rio São Francisco e o norte do Espírito Santo. Também podem ser encontrados

alguns focos desse molusco no Maranhão, Pará, Goiás, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul (COSTA, 2012).

3.2.3 Principais formas de tratamento da esquistossomose

A prevenção da esquistossomose é bastante problemática uma vez que não existe vacina para essa doença, embora a sua pesquisa já esteja em andamento (BORREGO-SANCHEZ et al., 2016; CIOLI et al., 2014). A terapia medicamentosa para a esquistossomose é limitada, relacionado à sua complexidade de encontrar agentes quimioterápicos que apresentem alta eficácia, segurança e tolerabilidade (COSTA, 2012).

Antigamente, em meados de 1918, os primeiros tratamentos para a esquistossomose envolviam os compostos trivalentes de antimônio, o tartarato de potássio, porém, durante os períodos de tratamento foram observados diversos efeitos colaterais como náuseas, vômitos, diarreia, anorexia, distúrbios cardíacos, hepáticos e problemas de pele (RIBEIRO DA SILVA et al., 2017). Em seguida começou a ser utilizado o dimercaptosuccinato de sódio e o di-(pirocatecol-2,4-dissulfonato) de sódio e antimônio, conhecido como estibofeno (COSTA, 2012).

Outros tratamentos também foram utilizados na clínica médica, como por exemplo, antimônio gliconato de sódio (Triostib®), antimônio de sódio tiomalato (Anthiomaline®), e gluconato de antimônio de sódio (Triostan®), sempre administrados por via parentérica. Apesar dos sais de antimônio atuarem de forma generalizada para as três espécies de *Schistosoma*, eles deixaram de ser utilizados devido ao fato de acarretarem diversos efeitos colaterais, como trombocitopenia e outras displasias sanguíneas (SIQUEIRA et al., 2017).

Outros fármacos também foram utilizados, como o cloridrato de 1-N-b-dietil-amino-etil-amino-4-metil-9-tioxantona, a lucantona e o seu principal metabólito, 1-N-b-dietil-amino-etil-amino-4-(hidroximetil-9-tioxantona), hicantona, apresentam eficácia apenas contra o *S. mansoni* e o *S. haematobium*, e também o fármaco 1-(5-nitro-2-tiazoli)imidazolidina-2-ona, o niridazol, apresentando eficácia apenas contra o *S. haematobium* e o *S. japonicum*. Atualmente esses fármacos não são mais utilizados na farmacoterapia contra a esquistossomose porque apresentam diversas reações adversas como lesões hepáticas, convulsões, psicoses, alucinações visuais e auditivas e outros efeitos indesejáveis relacionados ao sistema nervoso central (COSTA, 2012).

No Brasil, exclusivamente dois fármacos são utilizados: a oxamniquina (OXA) e o praziquantel (PZQ) (SANTOS, 2011). Apesar das opções disponíveis para a farmacoterapia dessa doença, o PZQ é estudado experimentalmente em animais desde 1975 (COSTA, 2012),

sendo considerado o fármaco de escolha e recomendado pela OMS por abranger todas as espécies de Schistossomas (MALHADO et al., 2016). Além deste fato, o PZQ também apresenta atividade farmacológica muito superior em relação à oxamniquina, que apresenta atividade farmacológica apenas contra *S. mansoni*, principalmente contra machos adultos (RIBEIRO DA SILVA et al., 2017), além de apresentar efeitos colaterais no SNC, efeitos mutagênicos e carcinogênicos (SANTOS, 2011).

A estratégia principal para tentar controlar a esquistossomose é prevenir a morbidade através de tratamentos regulares com o PZQ, o qual é considerado a droga recomendada para essa patologia. Uma pesquisa realizada em 1972 pelas indústrias Merck® e Bayer A.G, selecionou o PZQ por exibir baixa toxicidade, maior eficácia e tolerabilidade frente a outros compostos análogos testados (COSTA, 2012). Além disso, a indústria farmacêutica detentora da proteção patentária do medicamento contendo OXA tomou a decisão de limitar a produção deste medicamento, tornando o PZQ a única alternativa disponível para o tratamento para esta parasitose (SANTOS, 2011). O Brasil foi o primeiro país que realizou ensaios clínicos com o fármaco OXA e o medicamento contendo esse IFA foi denominado comercialmente como Mansil®, referente a uma combinação de palavras entre mansoni e Brasil (ALBONICO et al., 2015).

Infelizmente a quimioterapia para o tratamento da esquistossomose não é capaz de evitar a reinfecção, fazendo-se necessária a utilização de tratamentos repetidos nos indivíduos que vivem em áreas endêmicas. A vacinação seria certamente a melhor opção preventiva, pois superaria este problema, diminuindo o fardo da doença, limitando a transmissão e tornando menos intensa a morbidade da esquistossomose (MERRIFIELD et al., 2016). O desenvolvimento de uma vacina representa uma parcela considerável nos registros de pesquisas referentes à esquistossomose (CIOLI et al., 2014). Um programa de promoção de vacinas parasitária desenvolvido no início dos anos 90 através da UNICEF / PNUD / Banco Mundial / OMS para Pesquisa e Treinamento em Desastres Tópicos (TDR) resultou em uma lista de seis vacinas candidatas contra a esquistossomose (SANTINI- OLIVEIRA et al., 2016).

Apesar de o PZQ ser considerado o fármaco de escolha, há uma preocupação relevante quanto ao desenvolvimento de resistência (BORREGO-SANCHEZ et al., 2016; CARVALHO et al., 2015; CIOLI et al., 2014; RIBEIRO DA SILVA et al., 2017), evidenciando a necessidade de busca por novos agentes esquistomicidas, onde essa pesquisa é realizada principalmente buscando atividade antiparasitária de compostos naturais e através do desenvolvimento de sínteses de compostos com atividade anti-helmíntica (SIQUEIRA et

al.,2017). A primeira evidência de resistência ao PZQ foi registrada em 1994, através de estudos experimentais realizados por Fallon e Doenhoff (RIBEIRO DA SILVA et al., 2017).

No desenvolvimento de novos agentes terapêuticos o alvo principal é o tegumento do *Schistosoma*, visto que possui função importante para a sobrevivência do parasita e gera uma barreira contra a defesa imunológica do hospedeiro. Um estudo relatou que um composto extraído da *Glycyrrhiza inflata* (Fabaceae) apresentou boa atividade farmacológica e ação contra os vermes adultos de *S. mansoni*, provocando danos no tegumento do verme e promovendo a inibição da postura de ovos (CARVALHO et al., 2015).

Estudos realizados por Campelo e colaboradores (2017), avaliaram a combinação de fármacos como a Epiisopiloturina (EPI), piplartina (PPT) e praziquantel (PZQ). A associação *in vitro* e a atividade destas combinações (PZQ-PPT, PZQ-EPI e EPI-PPT) contra o *S. mansoni* foram avaliadas. As combinações dos fármacos *in vitro* apresentaram atividade anti-helmíntica contra vermes adultos de *S. mansoni* e que a associação de EPI-PPT diminuiu a citotoxicidade, quando analisada com compostos isolados em diversas linhas de células de mamífero. Testes evidenciaram também que PPT-PZQ acarretaram em grandes mudanças na morfologia, como por exemplo, tubérculos mal visíveis e encurtamento do tegumento. Esses resultados indicam que as associações desses fármacos são promissoras para o tratamento da esquistossomose.

Atualmente, as opções terapêuticas acessíveis para o tratamento contra os helmintos nem sempre são eficazes nos diversos estágios de evolução do ciclo de vida dos parasitas e apresentam diversos problemas de limitações, baixa eficácia, elevada toxicidade e surgimento de resistências. Diversos parasitas que acometem os seres humanos possuem uma expectativa de vida longa e também alta taxa de reprodução. Infelizmente, a obtenção do controle proliferativo desse tipo de parasitose só será estável quando for mantido por longo prazo (DIAS et al., 2013).

3.3 PRAZIQUANTEL

O praziquantel (PZQ), denominado quimicamente como (RS)-2-(ciclo-hexilcarbonil)-1,2,3,6,7,11b-hexa-hidro-4H-pirazin-[2,1-a]-isoquinolina-4-ona (SUN; BU, 2012), é considerado a primeira escolha de fármaco no tratamento de todas as espécies de esquistossomose. A Bayer A.G. e a E. Merck descobriram em 1972, que o grupo pirazinoisoquinolona mostrou ser um efetivo anti-helmíntico e tornou-se o primeiro a atender os requisitos da OMS. Esta droga apresenta eficácia contra as três principais espécies de *Schistossomas* (*S. mansoni*, *S. haematobium* e *S. japonicum*), porém, exibe algumas

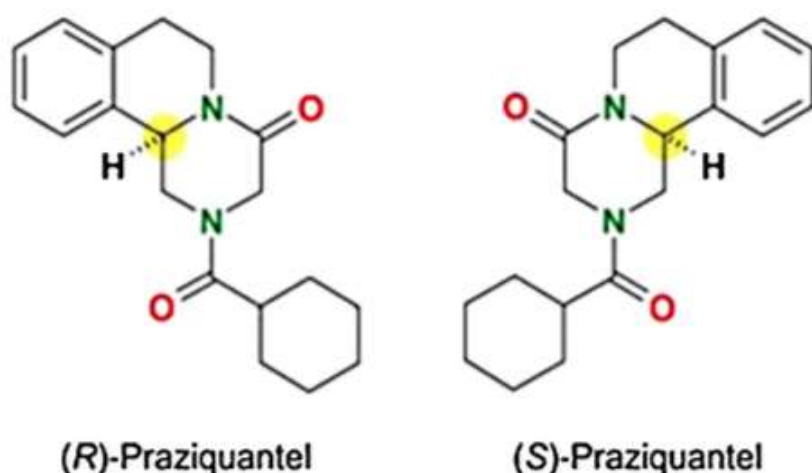
limitações, pois apresenta maior eficácia contra a forma adulta do esquistossômulo do que para a forma imatura (BORREGO-SÁNCHEZ et al., 2016; DUAN et al., 2012; RIBEIRO DA SILVA et al., 2017; SANTOS, 2011; ZHENG et al., 2014).

O PZQ é um medicamento de baixo custo e amplo espectro, utilizado na medicina humana e na medicina veterinária. Por apresentar eficácia, segurança e características de custo-efetividade, está incluso na lista de medicamentos essenciais da OMS e apresenta uma necessidade global estimada em 424 milhões de comprimidos por ano (BORREGO-SÁNCHEZ et al., 2016; GUTIÉRREZ et al., 2017; MARIK; PODLIPNA; VANEK, 2017; RIBEIRO DA SILVA et al., 2017).

Anteriormente à inserção na terapêutica medicamentosa humana, o PZQ havia sido comercializado como um cestoide para cães, sob o nome de Droncit®. Quando o PZQ foi designado para a terapia humana, o seu custo representava uma grande barreira para a sua distribuição em massa. Porém, em 1983, a empresa coreana Shin Poong viabilizou um novo processo de fabricação, provocando uma significativa redução no preço. Atualmente, por tratamento, o custo médio do PZQ é de aproximadamente US \$ 0,20 (CIOLI et al., 2014). Devido ao fato de ser um fármaco de amplo espectro, além de sua atividade esquistomicida, o PZQ também apresenta atividade farmacológica contra espécies de cestódeos, principalmente frente à *Taenia solium*, *T. saginata*, *Hymenolepis nana*, *H. diminuta* e *Diphyllobotrium pacificum* (BYGOTTI; CHIODINI, 2009; RIBEIRO DA SILVA et al., 2017; SANTOS, 2011).

Atualmente, o fármaco é comercializado na sua forma racêmica, ou seja, apresenta misturas iguais (1:1) de dois enantiômeros de uma molécula quiral. O enantiômero (R) é o eutômero, apresentando atividade anti-helmíntica, enquanto o enantiômero (S) é inefetivo, porém, associado a efeitos colaterais e o principal responsável pelo sabor extremamente amargo do fármaco. Devido a essas características, faz-se necessário a realização de estudos espectroscópicos e outras propriedades físico-químicas, visando melhorar suas aplicações (CIOLI et al., 2014; CUGOVCAN et al., 2017). Atualmente, o praziquantel está disponível nas dosagens de 150, 500 e 600 mg, onde a posologia é realizada de acordo com o peso corporal do paciente (RIBEIRO DA SILVA et al., 2017). Os nomes das apresentações farmacêuticas disponíveis no comércio são Cestox® e Cisticid® (SIQUEIRA et al., 2017). A figura 7 apresenta a estrutura química dos dois enantiômeros encontrados na mistura racêmica.

Figura 7 - Estrutura química do praziquantel.



Fonte: SIQUEIRA et al., 2017.

Por apresentar solubilidade aquosa limitada de $0,4 \text{ mg.mL}^{-1}$ (LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2004), de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica, o PZQ é classificado como um fármaco de classe II, ou seja, apresenta baixa solubilidade e alta permeabilidade, de modo que a taxa de dissolução é o fator limitante de sua absorção. Apesar de ser hidrofóbico, é absorvido através do trato gastrointestinal e para que isto ocorra, fazem-se necessárias doses orais altas, para que possa superar o extenso metabolismo de primeira passagem no fígado e consequentemente, alcançar concentrações adequadas nos tecidos alvo (BORREGO-SÁNCHEZ et al., 2016; CUGOVCAN et al., 2017; RIBEIRO DA SILVA et al., 2017).

Para a solubilidade do PZQ, o metabolismo hepático e intestinal são fatores limitantes. O PZQ passa por um efeito de primeira passagem no fígado, após a absorção, de forma que a biodisponibilidade pode ser aumentada se o medicamento for ingerido com alimentos e/ou com inibidores do citocromo P450. Quando administrado com uma dieta lipídica ou de carboidratos, pode aumentar os níveis plasmáticos de duas a cinco vezes. O estado clínico do paciente também pode influenciar na biodisponibilidade do PZQ, por exemplo, pacientes com doença hepatoesplênica (considerada como nível alto da esquistossomose), apresentam metabolismo mais lento (RIBEIRO DA SILVA et al., 2017).

A realização de exames que mensuram a excreção de ovos do parasita após quatro semanas a partir do início do tratamento com praziquantel (40 mg/ kg), resume de forma bastante ampla uma taxa de cura de 60-90% sem apresentação de ovos nas fezes e 80-95% de redução média no número de ovos excretados em pacientes não curados. Apesar de ser visto

como um resultado muito satisfatório, 100% de cura é raramente alcançada e esses resultados podem ser estimados de forma excessiva devido à insensibilidade dos métodos diagnósticos (CIOLI et al., 2014).

O esquema terapêutico com o PZQ para o tratamento da esquistossomose é feito através da ingestão de cápsulas ou comprimidos, inteiros ou fracionados, dependendo da massa corporal do indivíduo. As formulações mais comuns disponíveis no mercado contêm 150 ou 600 mg do insumo ativo na forma farmacêutica, como mostra a tabela 2.

Tabela 2 – Principais laboratórios que produzem medicamentos contendo praziquantel e suas dosagens.

INDÚSTRIA	NOME COMERCIAL	DOSAGEM
MERCK®	Cestox®	150 mg
	Cisticid®	600 mg
FARMANGUINHOS	-	600 mg

Fonte: Adaptado de Siqueira et al., 2017.

São recomendadas as doses de 50 mg/kg, por via oral quando a administração do medicamento é destinada a adultos, podendo ser em dose única ou em duas ingestas, com intervalo de 12 horas. Para crianças com idade de até 15 anos a dosagem é um pouco maior, sendo então recomendadas 60 mg/kg em um dia, divididas em duas vezes (VITORINO et al., 2012).

A OMS (2006) preconiza a administração do PZQ apenas para crianças com estatura maior que 94 cm e com idade superior a 4 anos. A realização desse tratamento apresenta-se como um procedimento bastante complexo, devido aos ajustes das doses, por causa da diferença de peso entre adultos e as crianças, onde na maioria das vezes a posologia correta não é atendida. Outro fator que também dificulta o tratamento é a sua forma farmacêutica (comprimido), ocasionando geralmente a não adesão ao tratamento, devido ao sabor extremamente amargo do fármaco e gerando risco de asfixia ao ingerí-los. Contudo, a hidrofobicidade da droga torna o desenvolvimento de novas formas farmacêuticas contendo o PZQ desafiante (MALHADO et al., 2016).

Estudos como de Coulibaly e colaboradores em 2012, mostram que doses em torno de 40 mg/kg podem ser eficazes para o tratamento da esquistossomose, o que diminuiria a quantidade de fármaco dentro das formas farmacêuticas e consequentemente, o risco de acidentes relacionados com a ingestão destas. Porém, essa dose proposta ainda pode vir a propiciar formas farmacêuticas volumosas, com riscos inerentes à sua administração.

Lamentavelmente, a maioria dos indivíduos tornam-se rapidamente re-infectados após o tratamento (SCHWARZ et al., 2014). Uma das expressivas circunstâncias de não obter a cura, pode estar relacionado ao hospedeiro definitivo abrigar parasitas imaturos no período em que está ocorrendo o tratamento. Fato este que, provavelmente, ocorre em áreas de transmissão intensa da infecção. Uma das opções para solucionar a problemática relacionada ao estágio imaturo do parasita seria a administração de uma segunda dose de PZQ duas semanas após o início do tratamento, dessa forma, atingindo os parasitas que evoluíram para o estágio de maturidade. No Senegal, por exemplo, foi obtida uma taxa extraordinariamente baixa de 18% de cura, fato este que pode estar associado à presença de parasitas imaturos (CIOLI et al., 2014).

Apesar de um longo período de tempo e milhões de pessoas já terem feito utilização do PZQ, seu mecanismo de ação ainda não foi propriamente desvendado (BORREGO-SÁNCHEZ et al., 2016; BYGOTTI; CHIODINI, 2009; ZHENG et al., 2014). Estudos sugerem que os primeiros efeitos exercidos pelo fármaco causam contrações no parasita, acarretando em sua morte devido a três fatores: influxo de cálcio no parasita (considerado o evento chave), contração muscular e alterações superficiais. Alguns autores remetem a ação do PZQ à inibição da bomba de Na^+/K^+ dos esquistossomas, envolvendo principalmente o Ca^{2+} . Ou seja, o resultado é o aumento da permeabilidade da membrana do helminto a cátions mono e bivalentes, com maior relevância ao cálcio, gerando a intensificação da atividade muscular, seguida da contração e paralisia espástica (CIOLI et al., 2014; SIQUEIRA et al., 2017).

Em decorrência disso, os helmintos distanciam-se dos tecidos do hospedeiro definitivo. Este fato ocasiona no *S. mansoni* a despolarização da membrana tegumentar, reduzindo a atividade de ATPase, o nível de ATP e a captura da glicose. Devido à indução do PZQ, algumas mudanças ocorrem nas estruturas dos tegumentos. São elas: despolarização de rede microtrabecular, vacuolização e erosão da superfície. Estes efeitos promovem o comprometimento da função do músculo e a estrutura tegumentar ocasionando o óbito do parasita. Outro fator também é a capacidade de promover em baixas concentrações, a inibição da produção de ovos pelas parasitas fêmeas (SANTOS, 2011).

Estudos indicam que a avaliação da toxicidade do PZQ em animais é baixa, tanto em experimentos de longo e curto prazo. Nos seres humanos, a terapia encontra-se tolerada, porém, a maioria dos estudos descrevem efeitos adversos. Os sintomas incluem dor abdominal, náuseas, diarreia, anorexia e com relação ao sistema nervoso central, foram relatadas sonolência, tonturas e dor de cabeça (BYGOTTI; CHIODINI, 2009; RIBEIRO DA SILVA et al., 2017).

Algumas reações secundárias como erupção cutânea, urticária, febre e fadigas também são relatadas, porém com uma periodicidade menor. Acredita-se que a gravidade e a frequência dos efeitos colaterais estão profundamente relacionadas ao nível da intensidade da infecção. Estudo realizado evidenciou que de 422 pacientes tratados com PZQ em foco epidêmico, 352 apresentaram cólicas, vômitos, urticária e inchaços. Devido à gravidade dos efeitos adversos terem sido superior em pacientes que apresentavam maior carga de infecção, sugere-se que os efeitos podem estar totalmente relacionados à ação do medicamento no parasita, provocando reações alérgicas no paciente. (RIBEIRO DA SILVA et al., 2017).

3.4 ESTUDOS E PERSPECTIVAS DE NOVAS FORMAS DE TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE

A procura por novas drogas que apresentem maior seletividade contra a esquistossomose é objetivo de diversos grupos de pesquisas. Derivados heterocíclicos pentagonais imidazolodionônicos vêm passando por processos de sintetização e avaliação frente a várias alternativas de atividades biológicas, como o 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-nitro-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (LPSG/FZ4), que exibe relevante atividade esquistossomicida em estudos in vitro. A estrutura química desse fármaco foi desenvolvida com base no niridazol, fármaco este que já pertenceu à quimioterapia da esquistossomose (COSTA, 2012).

Estudos avaliando medicamentos como os antirreumáticos que apresentam habilidade de inibição da enzima tiorredoxina glutathione redutase (TGR), com base na ideia de que a TGR também é uma enzima primordial para a sobrevivência do *S. mansoni*, tornando um alvo chave do fármaco para o tratamento da esquistossomose. Complexos de ouro também já foram designados como potenciais inibidores da TGR da esquistossomose. A auranofina foi identificada como o mais potente inibidor da TGR, demonstrando uma relevante redução da carga parasitária em camundongos infectados (COSTA, 2012).

Estudos realizados por Sayed e colaboradores (2008) identificaram que os oxadiazol

2-óxidos apresentam-se como potenciais quimioterápicos esquistomicidas. Essas moléculas também se apresentam como inibidores da enzima TGR. Além disso, demonstrou capacidade de doar NO através da ação da enzima. Portanto, a combinação dessas ações é correlacionada à mortalidade do parasita.

Apesar da sua atividade antimalárica conhecida, a artemisinina foi identificada como um composto que possui atividade esquistossomicida. Dois derivados da artemisinina, o artemether e artesunato foram desenvolvidos por pesquisadores da China e foram identificados como fármacos promissores contra o *Schistosoma japonicum*. Testes laboratoriais evidenciaram que as artemisininas detêm maior atividade farmacológica contra as formas jovens do parasita, sendo confirmado através de ensaios clínicos randomizados (ELMORSHEDY et al., 2016; MADBOULY et al., 2015).

De forma geral, os compostos originados da artemisinina apresentam capacidade de eficácia farmacológica contra a forma imatura do que contra os esquistossomas adultos, característica essa, oposta à ação farmacológica do PZQ. Contudo, a combinação desses dois fármacos poderia resultar em uma utilização ideal. Resultados de testes clínicos mostram que o artesunato quando associado ao PZQ, torna-se mais eficaz do que o PZQ isolado. Porém, uma desvantagem ao utilizar o fármaco artemisinina contra a esquistossomose está relacionada ao fato de que esta pode contribuir para o desenvolvimento de plasmódios resistentes à droga em áreas de co-endemia de malária (CIOLI et al, 2014; ELMORSHEDY et al., 2016).

Apesar dos esforços gerados por grupos de pesquisas e indústrias farmacêuticas, até o presente momento, nenhuma vacina foi desenvolvida contra as doenças parasitárias, dessa forma o tratamento medicamentoso continua sendo o método mais competente. Porém, é perceptível que o índice de desenvolvimento de novos fármacos é muito baixo quando comparado aos demais seguimentos. Desse modo, a pesquisa e o desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos capazes de melhorar a eficácia, especificidade, tolerância e o índice terapêutico dos medicamentos antiparasitários já utilizados na clínica médica é uma estratégia relevante (SANTOS, 2011).

3.5 INDÚSTRIA FARMACÊUTICA X DOENÇAS NEGLIGENCIADAS

A indústria farmacêutica apresenta em seu histórico um ritmo acelerado no desenvolvimento de inovações tecnológicas e em inserir os novos produtos no mercado. A maioria das empresas que geram inovações apresentam alto valor de investimento em pesquisa e desenvolvimento (P&D), porém algumas mantendo estreita colaboração com

outras instituições, geralmente públicas ou sem fins lucrativos (SANTOS et al., 2012; SIQUEIRA et al., 2017).

A pesquisa e desenvolvimento de medicamentos é um setor de grande importância para a indústria farmacêutica, porém, os recursos destinados a doenças negligenciadas são relativamente baixos e há razões para que a indústria se prive em investir no desenvolvimento desses tipos de terapias. O problema é, sobretudo, grave, principalmente porque as indústrias farmacêuticas são impulsionadas pelo lucro e o retorno financeiro, no qual um retorno considerável seria dificilmente alcançado no caso de doenças negligenciadas (TILP et al., 2013; WERNECK; HASSELMANN; GOUVEA, 2011).

Atualmente, as indústrias farmacêuticas enfrentam grandes desafios para proporcionar um novo fármaco bem sucedido na prática clínica, ou seja, o novo medicamento deve ser mais eficaz do que os já disponíveis. Além de todo o desafio clínico, as indústrias farmacêuticas visam à proteção por patente e que o medicamento tenha capacidade de possibilitar um retorno financeiro suficiente para sustentar a pesquisa e o desenvolvimento em curso. Um alto índice de novos fármacos não consegue atender a esses requisitos (TILP et al., 2013).

Apesar do acelerado ritmo para o desenvolvimento de inovações tecnológicas, o número de medicamentos destinados ao tratamento de DTN é irrelevante, ficando evidenciado que o investimento em P&D voltado para essas doenças é inapropriado. Dos 1.535 novos fármacos registrados no período entre 1975 e 2004, apenas 1% foi designado às doenças tropicais. Este fato pode ser evidenciado, por exemplo, pelo reduzido investimento para a malária, cerca de 80 vezes menor que o para HIV/AIDS. Com o intuito de intervir nessa situação, a Iniciativa de Drogas para Doenças Negligenciadas (DNDI) que pesquisa e desenvolve novos tratamentos para DTN, no qual possui parcerias como o Instituto Pasteur, na França, a FIOCRUZ, no Brasil, o Ministério da Saúde da Malásia e os institutos de pesquisa clínicas na Índia e no Quênia (SANTOS et al., 2012). Além de parcerias com o governo, ultimamente as indústrias farmacêuticas estão firmando parcerias com grandes centros universitários, visando à promoção de doenças negligenciadas (COHEN et al., 2014).

Estudo realizado pela DNDI, juntamente com a organização de médicos sem fronteiras a respeito da evolução da pesquisa e do desenvolvimento na área de doenças negligenciadas detectou que durante o período de 2000 a 2011, 756 novos fármacos foram aprovados e que um baixo percentual de apenas 3,8% foram indicados para as doenças negligenciadas. Dentre estes, apenas quatro eram novas entidades químicas, sendo três com indicação para o tratamento da malária (DIAS et al., 2013).

Nos últimos anos, indústrias farmacêuticas e governos em conjunto com a OMS se comprometeram a realizar doações em grande escala de fármacos anti-helmínticos, dentre eles: ivermectina, praziquantel, albendazol e mebendazol (SIQUEIRA et al., 2017). Um sistema de monitoramento por parte das indústrias farmacêuticas também é uma das estratégias, tendo como objetivo detectar qualquer variação na eficácia do medicamento anti-helmíntico. No ano de 2013, mais de 1,3 milhões de comprimidos de anti-helmínticos tratou 718 milhões de pessoas em risco (ALBONICO et al., 2015).

Diversas ações internacionais já foram realizadas objetivando a redução do impacto global das DTN como a aliança entre a OMS e a GlaxoSmithKline (GKS), disponibilizando 400 milhões de comprimidos por ano de albendazol para o tratamento de crianças infectadas com vermes intestinais. Outra parceria de grande relevância é com a indústria Sanofi, que realiza doação de quantidades ilimitadas de eflornitina, melarsoprol e pentamidina, para o tratamento da tripanossomíase africana. A Bayer, por exemplo, até 2017, promoveu doação de 5 milhões de comprimidos destinados ao tratamento das tripanossomíases americana e africana. A Johnson & Johnson está expandindo sua doação de 50 milhões de comprimidos para 200 milhões por ano de mebendazol. A Novartis colabora através de doações de rifampicina, dapsona e clofazimina, para o tratamento da hanseníase. A Pfizer, contribuiu com doações de azitromicina para o tratamento de tracoma e a Merk KGaA, até o ano de 2017, contribuiu com doação de 200 milhões de comprimidos de praziquantel (DIAS et al., 2013).

3.6 HIDRÓXIDOS DUPLOS LAMELARES

Os hidróxidos duplos lamelares (HDL) são materiais inorgânicos organizados bidimensionalmente em estruturas lamelares, conhecidos também como argilas aniônicas ou compostos do tipo hidrotalcita (POLESE et al., 2017; TIAN et al., 2015). Esses materiais apresentam-se promissores, devido à sua capacidade multifuncional (FERENCZ et al., 2015; MENG et al., 2017; SIPOS; PÁLINKÓ, 2016), abrangendo uma grande variedade de aplicações nas ciências dos materiais, ciências químicas e farmacêuticas como catalisadores, agentes adsorventes, moduladores de liberação de substâncias biologicamente ativas, cosméticos, aplicações ambientais (remoção de poluentes), indústria de refinação de petróleo, nanocompósitos bioativos, dentre outros. Suas formas de obtenção podem ser através de síntese em laboratórios por rotas simples e de baixo custo, obtendo o isolamento do material com alta pureza ou encontrados na natureza (CAO, LI & LI, 2016; FERENCZ et al., 2016; FONTES, 2016; NEJATI et al., 2015; SURESH; KUMAR; PUGAZHENTHI, 2016; QU et

al., 2016; ZHAN, et al., 2016).

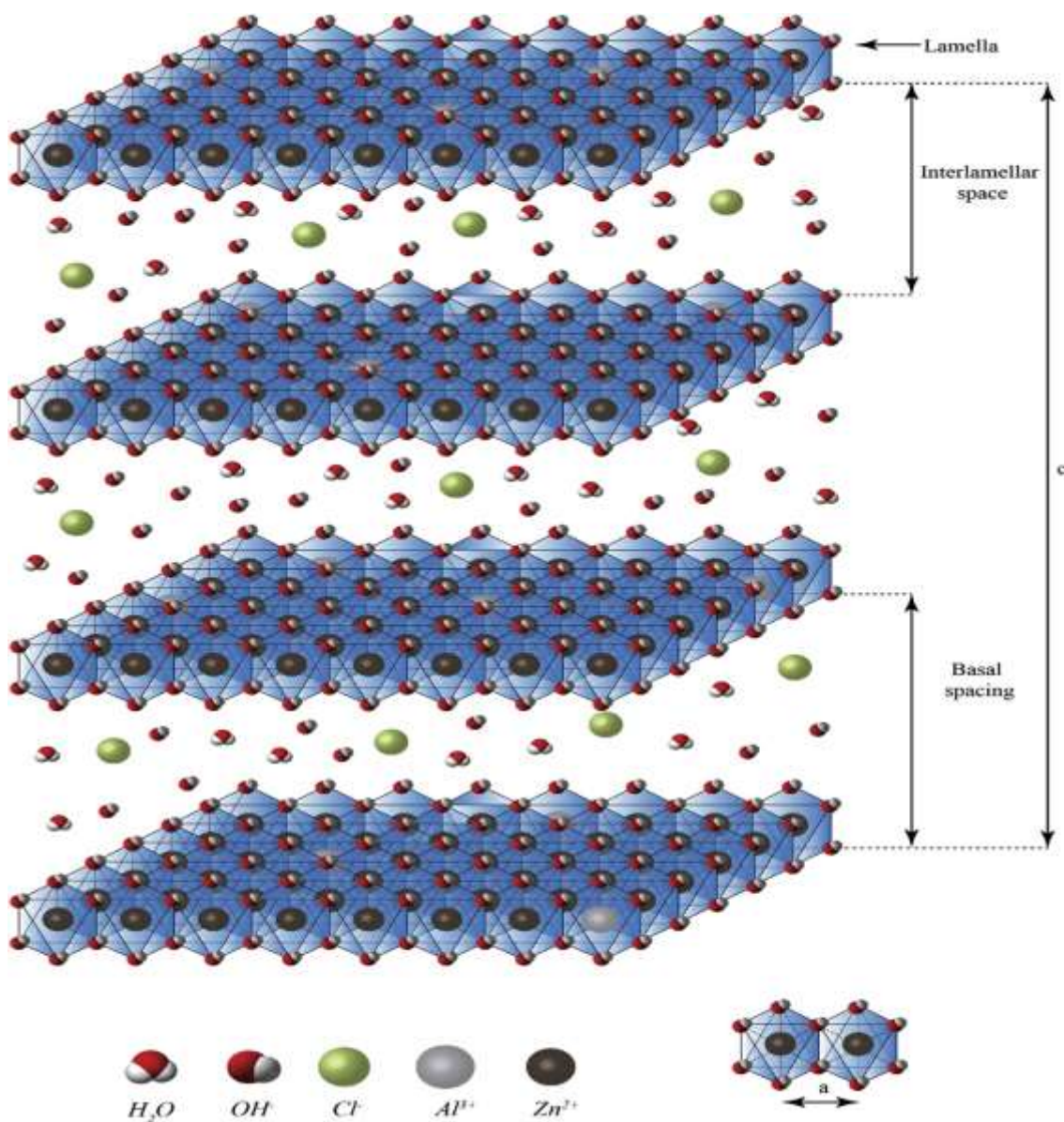
Em 1842, Hochstetter descobriu a estrutura natural do material, porém só em 1942 o HDL foi sintetizado pela primeira vez por Feitknech (POLESE et al., 2017; QU et al., 2016). As estruturas dos HDL evidenciam uma fórmula geral $[M^{+2}_{1-x}M^{+3}_x(OH)_2]^{x+}(A^{m-})_{x/m}.nH_2O$, onde M^{+2} e M^{+3} significam cátions metálicos di e trivalentes, respectivamente, capazes de ocuparem sítios octaédricos, A^{m-} representa o ânion de compensação e x representa a razão molar. Os cátions trivalentes apresentam a capacidade de substituir isomorficamente um cátion divalente da estrutura do hidróxido, gerando cargas residuais positivas que são compensadas através da intercalação de ânions hidratados (AGUILERA, 2016; CAO, LI & LI, 2016; DJEBBI et al., 2016; FERENCZ et al., 2015; FERENCZ et al., 2016; FONTES, 2016; MENG et al., 2017; POLESE et al., 2017; QU et al., 2016; ; ROCHA et al., 2018; SURESH, KUMAR; PUGAZHENTHI, 2016; TYAGI et al., 2017).

A troca iônica é um dos métodos mais relevantes de interação entre moléculas orgânicas e os HDL, na qual os íons interlamelares do HDL são trocados por moléculas providas do ambiente. Esse fenômeno é denominado intercalação, podendo ser utilizado para diversas finalidades químicas, farmacêuticas, dentre outras. Outro tipo influente de interações dos HDL com substâncias orgânicas é através de ligações de hidrogênio, ocasionada devido às hidroxilas presentes nas superfícies das lamelas (AGUILERA, 2016).

Na formação do HDL, os diferentes octaedros partilham seus lados formando uma camada infinita e plana e, no domínio interlamelar, encontram-se água e espécies aniônicas (BENDINELLI et al., 2016; CAO; LI; LI, 2016; FERENCZ et al., 2015; SURESH; KUMAR; PUGAZHENTHI, 2016; VARGAS et al., 2016). Cada octaedro é formado por um cátion metálico no seu centro e seus vértices formados por hidroxilas, formando as lamelas carregadas positivamente (FERENCZ et al., 2015; ZHAN et al., 2016), como mostrado na figura 8.

As lamelas são empilhadas uma sobre as outras e através de ligações de hidrogênio são mantidas unidas. Para as lamelas conseguirem permanecer estabilizadas, elas necessitam da presença de ânions de compensação interlamelares para que possa obter a eletroneutralidade. Dessa forma, além das ligações de hidrogênio, ocorrem principalmente atrações eletrostáticas entre as lamelas e os ânions de compensação interlamelares (FONTES, 2016; POLESE et al., 2017; TIAN et al., 2015).

Figura 8 - Representação da estrutura do HDL.



Fonte: POLESE et al., 2017.

Os HDL apresentam estrutura aberta e grande área superficial, na qual determinam sua alta capacidade de sorção. Além das características estruturais, o HDL apresenta diversas propriedades essenciais, como biocompatibilidade, baixo potencial de toxicidade e alergenidade, estabilidade química e um sistema de solubilidade dependente do pH da solução na qual seja submetido (BI; ZHANG; DOU, 2014; DJEBBI et al., 2016; GAO et al., 2014; TIAN et al., 2015).

Uma das principais vantagens dos HDL para suas aplicações está relacionada à sua composição flexível, ou seja, a capacidade de alternância dos ânions aumenta a possibilidade de modificações das particularidades físicas e químicas dos HDL (CAO; LI; LI, 2016; MENG

et al., 2017; POLESE et al., 2017; QU et al., 2016; ROCHA et al., 2018; TYAGI et al., 2017). Além das variações dos ânions interlamelares, as camadas referentes aos íons metálicos di e trivalentes podem ser alteradas, gerando também modificações das características estruturais do HDL (FONTES, 2016).

Os cátions metálicos utilizados nas sínteses de HDL devem apresentar coordenação octaédrica e raio iônico na faixa de 0,50 – 0,74 Å, para que a estrutura possa se formar semelhante à hidrotalcita natural, a brucita. Existe uma ampla variedade de cátions que podem ser empregados, porém é de grande importância associar os cátions com valores de raios iônicos próximos. Os cátions divalentes mais utilizados são Mg, Cu, Ca, Co, Zn e os trivalentes são Al, Fe, Cr, enquanto os ânions mais utilizados são CO_3^{2-} , NO_3^- , Cl^- (FERENCZ et al., 2015; FONTES, 2016). O quadro 1 apresenta diversas combinações de cátions relatadas em patentes e na literatura que podem formar HDL.

Quadro 1 – Desenvolvimento de HDL através de combinações de cátions divalentes com cátions trivalentes.

M3+	M2+								
		Mg	Ni	Zn	Cu	Co	Mn	Fe	Ca
	Al								
	Fe								
	Cr								
	Co								
	Mn								
	Ni								
	Sc								
	Ga								

Fonte: Adaptado de Liu et al., 2006; SUN et al., 2008.

No procedimento de preparação do HDL, um fator de grande relevância é a capacidade de estabilização da estrutura lamelar pelo ânion interlamelar. Quanto maior a capacidade de estabilização, maior é a facilidade de formar o HDL. Não existem limitações para a intercalação das inúmeras espécies de natureza aniônica que podem ser utilizadas para compensar as cargas positivas geradas pela substituição dos cátions das lamelas. Como exemplo dessas espécies aniônicas têm-se os haletos (F^- , Cl^- , Br^- , I^-), os oxo-ânions (CO_3^{2-} , NO_3^- , SO_4^{2-} , Cr_4^{2-}), ânions complexos ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, $[\text{NiCl}_4]^{2-}$), polioxo-metalatos ($\text{V}_{10}\text{O}_{28}^{6-}$, $\text{Mo}_7\text{O}_{24}^{6-}$), ânions orgânicos (carboxilatos, oxálico, succinico, porfirinas) etc. As reações de intercalação são, usualmente, reversíveis e são também transformações pseudomórficas, uma

vez que a integridade da estrutura cristalina “hospedeira” é mantida (AGUILERA, 2016).

Diversas metodologias são utilizadas para o desenvolvimento sintético dos HDL (QU et al., 2016), como por exemplo: método de Co-precipitação e método de hidrólise de ureia. No método de co-precipitação, que é o mais comum (MANRÍQUEZ et al., 2015; MENG et al., 2017; TIAN et al., 2015; TYAGI et al., 2017; VARGA et al., 2016), as soluções aquosas de cátions metálicos di e trivalentes são utilizadas como precursores, onde são misturadas com uma base, geralmente hidróxido de sódio (NaOH), para garantir o pH necessário e promover a precipitação dos íons metálicos como HDL. O método de hidrólise de ureia tem como base o mesmo princípio, onde a ureia fornece o valor de pH necessário, porém, a hidrólise da ureia é controlada pela temperatura (FERENCZ et al., 2015; FERENCZ et al., 2016).

Outros métodos alternativos também são citados na literatura, entre eles: reconstrução do óxido gerado pela calcinação de HDL, como por exemplo, o HDL-CO₃ a uma temperatura moderada, seguido de intercalação por qualquer ânion, aproveitando o efeito de “memória” (CAO; LI; LI, 2016; MENG et al., 2017), método de troca iônica, métodos hidrotérmicos, métodos envolvendo procedimento de dissolução e re-coprecipitação (TYAGI et al., 2017).

No processo de intercalação de ânions inorgânicos e orgânicos, diversos procedimentos podem ser utilizados, porém o método de co-precipitação apresenta-se como o mais favorável. Ao pôr em prática essa técnica, os contra-íons dos íons metálicos di e trivalentes são intercalados entre as camadas. Outra circunstância que também pode ocorrer é a intercalação entre as camadas de HDL de íons que estejam presentes na solução básica, onde a precipitação acontece. O grau da força de interação entre as camadas e os ânions pode variar dependendo do ânion (FERENCZ et al., 2016).

Uma série de íons é apresentada de acordo com ordem crescente referente à força de interação: CO₃²⁻ >> SO₄²⁻ >> OH⁻ > F⁻ > Cl⁻ > Br⁻ > NO₃⁻ > ClO₄⁻. Devido a interação do ânion carbonato ser tão forte entre as camadas, torna-se quase impossível substituí-lo. Em decorrência deste fato, é de grande importância que durante o processo de intercalação, a síntese apresente um sistema inerte, tornando crucial a exclusão de CO₂³⁻. Desse modo, a intercalação com Cl⁻ e NO₃⁻, por exemplo, apresenta-se mais adequada devido à característica desses ânions de apresentarem capacidades relativamente mais fáceis de serem substituídos (FERENCZ et al., 2016). Quando o objetivo é atingir a síntese de HDL isenta de CO₂³⁻, a utilização de N₂ como uma medida adicional, proporciona a atmosfera do ambiente da síntese um grau inerte (QU et al., 2016).

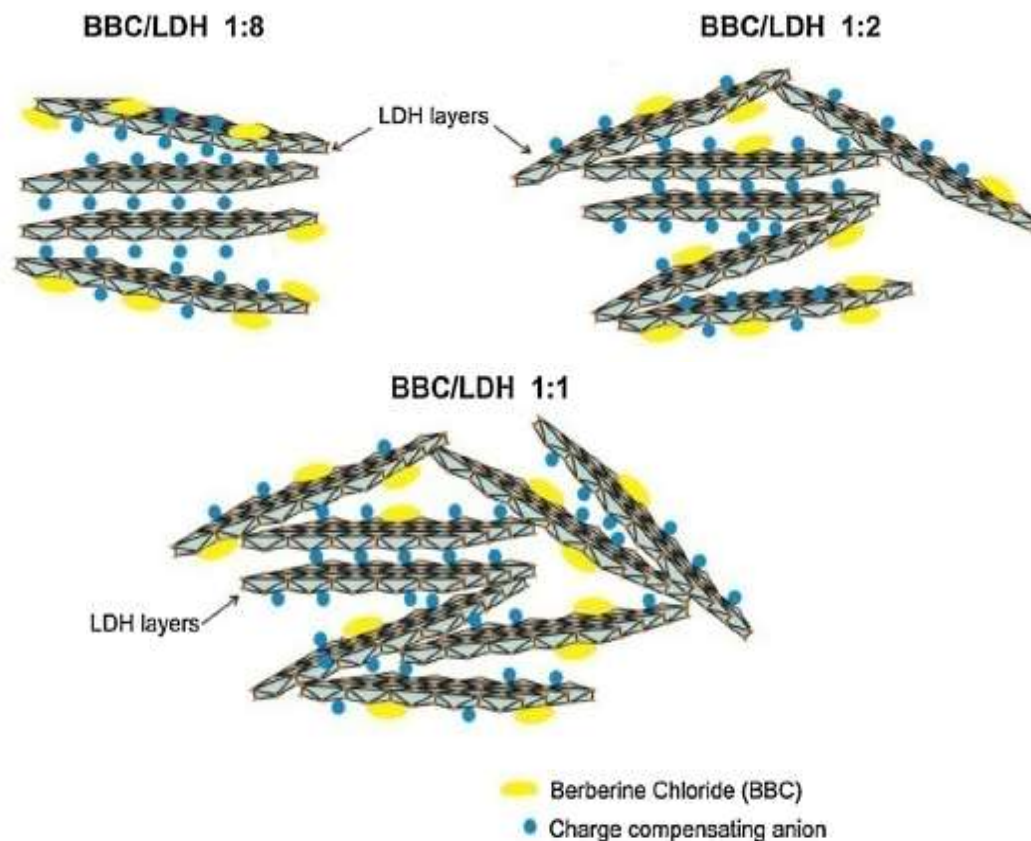
As diversas propriedades dos HDL podem ser combinadas com as propriedades dos compostos de interesse para intercalação, gerando um híbrido no qual a estabilidade química,

térmica, fotoquímica entre outras são relevantes quando em comparação com os compostos livres. O composto quando intercalado no HDL pode ser submetido a um processo de liberação sustentada ou obter um incremento de solubilidade, quando se tratar de substâncias hidrofóbicas (AGUILERA, 2016). No caso de incremento de solubilidade, por exemplo, o HDL proporciona o aumento da solubilidade sem modificar a estrutura química e atividade farmacológica do fármaco (RIVES; DEL ARCO; MARTÍN, 2014). Essas propriedades tornam o HDL promissor, visto que diversas substâncias como fármacos, reguladores de crescimento vegetal, porfirinas para uso em terapia fotodinâmica, aminoácidos, vitaminas, herbicidas e até mesmo a molécula de DNA em procedimentos de terapia gênica podem se beneficiar (CUNHA; FERREIRA; CONSTANTINO, 2010).

Os HDL vêm mostrando uma considerável relevância nas áreas medicinais, farmacológica e de tecnologia farmacêutica, devido a sua capacidade de melhorar a biodisponibilidade e também por serem capazes de atuar como estabilizadores de medicamentos e até mesmo como Drug Delivery System (DDS), na entrega de moléculas de fármacos, disponibilizando formulações e tratamentos apropriado aos pacientes. Além de excipientes farmacêuticos inteligentes, os HDL também são encontrados como medicamentos, como é o caso do medicamento Talcid®, que é uma hidrotalcita $MgAl-CO_2$ -HDL, patenteado pela empresa Bayer AG, comportando-se como insumo farmacêutico ativo (IFA) (FONTES, 2016; SIPOS; PÁLINKÓ, 2016) e do medicamento Almax® que apresentam efetividade como antiácido (ROJAS et al., 2015).

Estudo realizado por Djebbi et al., (2016) utilizando o fármaco Cloreto de Berberina (BBC) e o $ZnAl$ -HDL, pelo do método de co-precipitação, identificou, através das caracterizações realizadas, que não houve o processo de intercalação dos sistemas, apenas a adsorção do fármaco na superfície do HDL. No sistema que apresenta uma maior quantidade do fármaco (1:1), a estrutura do HDL apresentou-se mais desordenada, como mostrado na figura 9 e devido a maior proporção do fármaco as interações apresentam-se mais fortes e consequentemente exibe uma liberação mais lenta do fármaco.

Figura 9 - Representação esquemática da estrutura BBC/HDL.



Fonte: Adaptado de Djebbi et al., 2016.

Estudos realizados por diversos grupos avaliaram a intercalação do metotrexato (medicamento utilizado em diversos tipos de câncer) em HDL e foi identificado que quando o fármaco MTX apresentava-se intercalado entre as lamelas do HDL, o mesmo lhe propiciava alto grau de proteção contra a deterioração e também aumentavam o efeito de supressão tumoral (TIAN et al., 2015).

3.7 PROMOTORES DE SOLUBILIDADE

A solubilidade é uma das propriedades físico-químicas mais relevantes para o fármaco e gera grandes desafios técnicos no desenvolvimento de formas farmacêuticas a serem administradas pela via oral (SUN; LEE, 2015), uma vez que 40% dos ativos são classificados como fracamente solúveis em água (KUTHATI et al., 2015).

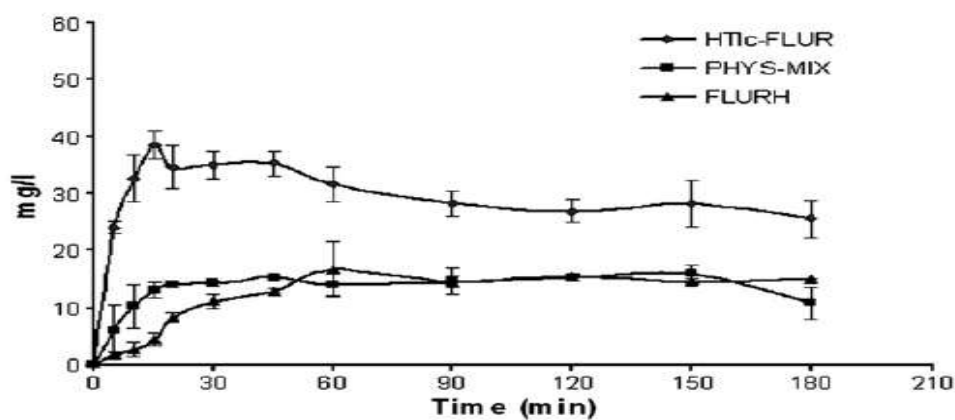
A tecnologia farmacêutica vem atribuindo melhorias significativas para essas características, fazendo uso, por exemplo, de adjuvantes inteligentes ou carreadores como

polímeros, ciclodextrinas, agentes emulsificantes, dentre outros. Formulações contendo algum componente ou mesmo uma combinação destes podem promover aumento da biodisponibilidade ao criarem soluções supersaturadas do fármaco no microambiente gastrointestinal, gerando um aumento do aporte de insumo farmacêutico ativo solúvel a ser absorvido, resultando no aumento da solubilidade cinética deste (LAVRA, 2016; SUN; LEE, 2015).

Uma vez existindo uma solução supersaturada de fármaco no lúmen intestinal, há uma tendência termodinâmica para que ocorra precipitação, devido à natureza instável em que o IFA se encontra. O carreador deve apresentar, portanto, capacidade físico-química para evitar que eventos de nucleação e posterior cristalização ocorram, o que impediria que a taxa de absorção fosse reduzida (SUN; JU; LEE, 2012). O desenvolvimento de um sistema que possibilite o aumento da solubilidade aquosa de fármacos insolúveis ou fracamente solúveis em meio aquoso, implementa um papel chave no melhoramento da absorção e consequentemente uma biodisponibilidade oral adequada (AGUILERA, 2016; JAGDALE et al., 2012).

Estudos realizados por Perioli e colaboradores (2011), observaram a solubilidade do fármaco anti-inflamatório flubirprofeno (FLUR) em meio gástrico (pH 1,2) quando intercalado em MgAl-Cl-HDL, como visto na figura 10. O FLUR é um IFA pertencente à classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica, ou seja, que possui baixa solubilidade e alta permeabilidade. Quando comparado com o FLUR isolado, o mesmo ao ser intercalado em MgAl-Cl-HDL, apresentou um aumento de solubilidade significativo. Após os 15 minutos iniciais do teste, a concentração do fármaco isolado foi de 4,46 mg/L, enquanto a concentração do fármaco intercalado com o HDL foi de 38,51 mg/L. Este incremento de solubilidade foi atribuído ao fato de que o FLUR se apresentou amorfo, quando intercalado ao HDL.

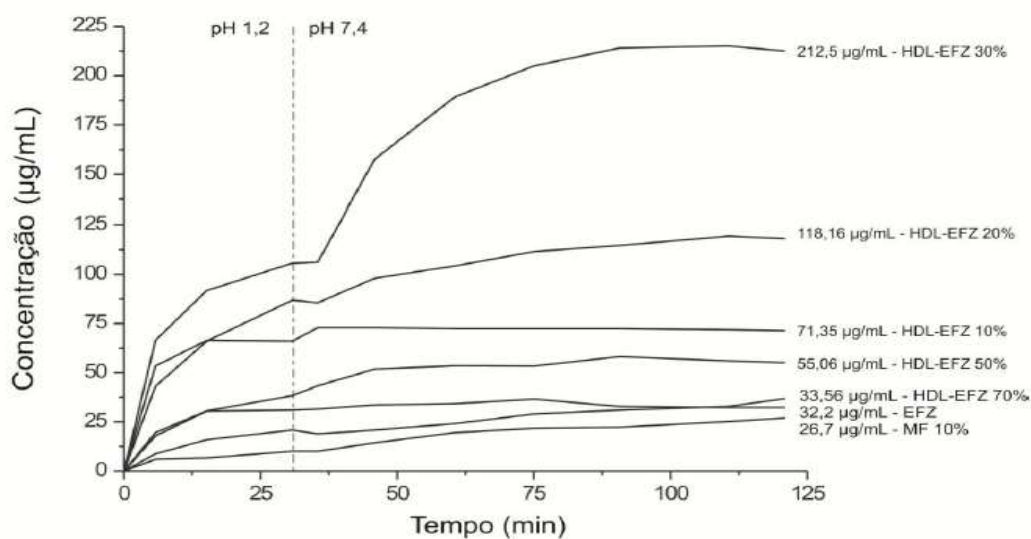
Figura 10 - Solubilidade aparente do MgAl-Cl—HDL/FLUR, Mistura Física (MgAl-Cl-HDL-FLUR e FLUR.



Fonte: Perioli et al., (2011).

Estudo realizado por Fontes (2016) mostrou que a solubilidade do antirretroviral efavirenz (EFZ), um fármaco de classe II de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (mesma categoria do PZQ), foi aumentada quando este produziu complexos com os HDL obtidos a partir dos cátions cálcio e alumínio. As análises físico-químicas realizadas identificaram que o EFZ se apresentou amorfo nos complexos combinados de HDL-EFZ 10, 20 e 30% (relação fármaco/excipiente), que é uma das características fundamentais para que uma substância apresente solubilização em meio aquoso (Figura 11).

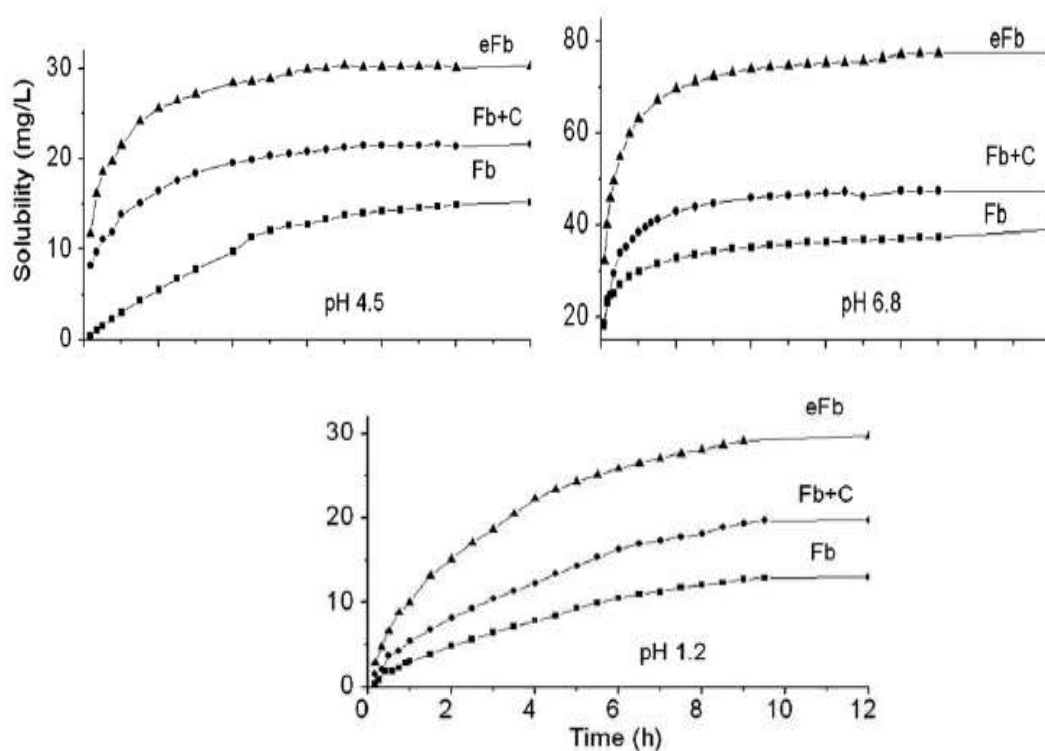
Figura 11 - Perfil de dissolução do EFZ isolado e seus sistemas HDL:EFZ e MF.



Fonte: Fontes (2016).

Estudos realizados por Del Arco e colaboradores (2010), avaliaram a solubilidade do fármaco fenbufeno (Fb) intercalado com MgAl-HDL, suas respectivas misturas físicas e o fármaco isolado em meios com valores de pH simulando os valores reais do trato gastrointestinal (1.2, 4.5 e 6.8). Os resultados obtidos demonstraram que o fármaco isolado apresentou solubilidade menor do que aqueles que continham o HDL e que independente do pH, o Fb quando intercalado com o HDL evidenciou maior solubilidade quando comparado com a mistura física, como mostra a figura 12.

Figura 12 - Solubilidade aparente de Fb a partir de eFB, em comparação com Fb e da mistura física (Fb + C) a pH 1,2, 4,5 e 6,8.



Fonte: Adaptado de Del Arco et al., 2010.

MATERIAL E MÉTODOS

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAL

O insumo farmacêutico ativo (PZQ) foi doado pela indústria brasileira Farmanguinhos[®], apresentando teor de 99,73% (BR-MAC Comercial[®], lote AT00N147001).

A tabela 3 apresenta os reagentes e solventes utilizados para a preparação da síntese de CaAl-HDL e sistemas fármaco-HDL, bem como suas respectivas fórmulas químicas, procedência e grau de pureza dos reagentes.

Tabela 3 - Reagentes utilizados nas sínteses de HDL, obtenção dos sistemas e doseamento dos sistemas e MF.

REAGENTES	FÓRMULA	PROCEDÊNCIA	PUREZA
Acetona	C ₃ H ₆ O	Química Moderna [®]	P.A
Ácido Clorídrico	HCl	Anidrol [®]	36,5% - 38%
Álcool etílico	C ₂ H ₆ O	Química Moderna [®]	P.A
Cloreto de potássio	KCl	Anidrol [®]	P.A
Nitrato de Cálcio Tetrahidratado	Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	Sigma-Aldrich [®]	≥99%
Nitrato de Alumínio Monohidratado	Al(NO ₃) ₃ · 9H ₂ O	Sigma-Aldrich [®]	99%
Hidróxido de Sódio	NaOH	Sigma-Aldrich [®]	≥98%

Fonte: Dados da pesquisa

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Síntese CaAl-HDL

Para a obtenção do CaAl-HDL (Figura 12), foi realizada uma adaptação do método

proposto por Shafiei e colaboradores (2013). O CaAl-HDL foi sintetizado a partir da adição de 500 mL de uma solução contendo nitrato de alumínio monohidratado a 0,050M, nitrato de cálcio Tetra hidratado 0,085M, sobre uma solução de hidróxido de sódio a 0,5M, através de co-precipitação, apresentando um valor de pH básico 10 e fluxo de gotejamento das soluções dos metais com razão de 1mL/min, sob agitação constante, à 25 °C e atmosfera de nitrogênio. Após o término do gotejamento dos sais, a suspensão foi mantida sob agitação por 14 horas, e posteriormente foi filtrada com auxílio de um tamis, com abertura de malha de 325 µm. O HDL retido no tamis foi ressuspendido em 350 mL de água ultra- purificada e homogeneizada para nova lavagem do material. Este processo de lavagem foi realizado duas vezes. A secagem foi realizada em estufa de circulação (Ethiktechnology®) a 60°C durante 3 horas, ou até o material não apresentar mais aspecto úmido. Após a secagem, o material foi pulverizado, com o auxílio de gral e pistilo. No processo de síntese e lavagem do HDL, foi utilizada água ultra-purificada (Milli-Q System®, MA, EUA) e ausente de gases, sonicada por 10 minutos (sonicador Limp Sonic®- LS-3D-2-X) para eliminação de CO₂.

Figura 13 – Esquemática da síntese de por co-precipitação, lavagem e secagem do HDL.



Fonte: Autoria Própria.

4.2.2 Obtenção dos sistemas CaAl-HDL e praziquantel PZQ.

A obtenção dos sistemas foi realizada pelo método descrito por Takahashi & Yamaguchi (1991). O fármaco foi completamente dissolvido em acetona e posteriormente adicionado o CaAl-HDL. A suspensão formada foi colocada em recipientes abertos e submetidas à agitação em mesa agitadora (MS 3 Digital) IKA® por 1 hora, para evaporação do solvente, a 60 rpm. Após a evaporação do solvente, o resíduo foi seco completamente em estufa de circulação (Ethiktechnology) à 60 °C, para evaporação total do solvente, conforme esquema da Figura 14.

Desta maneira, proporções molares de HDL e PZQ foram utilizadas (sistema 1 - 1:1, sistema 2 - 2:1, sistema 4 - 4:1), tomando por base os pesos moleculares de 316,4 e 312,4 g.mol⁻¹, respectivamente. Para comparação com os sistemas HDL:PZQ, foram obtidas as misturas físicas (MF) entre o HDL e o PZQ, por homogeneização do fármaco e carreador utilizando almofariz e pistilo, nas mesmas proporções utilizadas para a formação dos sistemas.

Figura 14 - Método de obtenção por solvente dos sistemas HDL:PZQ



Fonte: Autoria Própria (Imagens do Google Imagens).

4.2.3 Caracterização do praziquantel, HDL, sistemas e MF.

As técnicas para caracterização, descritas a seguir, foram utilizadas para avaliar as propriedades físico-químicas dos materiais obtidos a fim de corroborar a formação dos sistemas. Para fins comparativos, foi realizada também a caracterização do HDL, do PZQ e das Mistura Física (MF).

4.2.3.1 Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de absorção no infravermelho do PZQ, HDL, dos sistemas e MF, foram analisados utilizando espectrômetro de IV (PerkinElmer® - Spectrum 400), com dispositivo de reflectância total atenuada (ATR) com cristal de selênio. Os espectros de IV foram obtidos por meio de 16 varreduras, em comprimento de onda de 4000 a 400 cm⁻¹ e resolução de 4 cm⁻¹.

4.2.3.2 Difratometria de raios-x (DRX)

As análises difratométricas apresentam grande relevância nas Ciências Farmacêuticas, uma vez que são empregadas para caracterizar prováveis modificações no comportamento cristalino dos componentes de uma mistura quando comparado ao perfil cristalino dos componentes isolados.

As difrações de raios-x das amostras foram analisadas utilizando o equipamento Shimadzu® modelo XRD-700, com radiação $\text{CuK}\alpha$ (1,5418 Å), equipado com ânodo de cobre. O preparo das amostras foi feito utilizando suportes de vidro, de modo que uma fina camada do material pulverizado fosse disposto e analisado no intervalo de $0 < 2\theta < 50^\circ$, a uma velocidade de $0,01^\circ/\text{s}$. O cálculo do espaçamento basal do composto lamelar foi obtido através da lei de Bragg:

$$n \lambda = 2 d \sin \theta$$

Onde: n é a ordem de reflexão do pico ($n=1$), λ é o comprimento de onda da radiação de raios X, d é a distância basal em ângstroms e θ é o ângulo de Bragg.

4.2.3.3 Termogravimetria (TG)

As curvas de TG foram realizadas por meio de termobalança (Shimadzu® TA-60WS), com atmosfera de nitrogênio de $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, sendo a massa da amostra de $3 \pm 0,5 \text{ mg}$ para o PZQ, HDL, sistemas HDL:PZQ e as MF, acondicionados em cadinho de platina e analisados na faixa de temperatura de 30 a 600°C com razão de aquecimento de $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, e prévia calibração da termobalança utilizando um cadinho de platina vazio.

4.2.3.4 Calorimetria exploratória diferencial

As curvas de DSC foram obtidas utilizando calorímetro (Shimadzu® DSC-60 interligado ao software Shimadzu® TA-60WS), sob atmosfera de nitrogênio, com fluxo de $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ e razão de aquecimento de $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, na faixa de temperatura 30 a 450°C . As amostras foram acondicionadas em porta-amostra de alumina hermeticamente fechada com massa de cerca de $2 \pm 0,5 \text{ mg}$ para o PZQ, HDL, sistemas HDL:PZQ e as MF. As determinações foram realizadas em triplicata.

4.2.3.5 Análise de tamanho de partícula

Foi determinado o tamanho de partícula de CaAl-HDL, PZQ, sistemas e MF, através do equipamento Microtac® S3500. As amostras foram dispersas em água e agitadas no banho ultrassônico Unique®. Mod USC-1400^a, com potência ultrassônica 135 watts, durante 3 minutos, antes de serem analisadas em quintuplicata. Esse equipamento emprega um sistema de três lasers operando em conjunto com um arranjo de fotodetectores que varre ângulos de espalhamento unificado da luz (UST- *Unified Scatter Technique*). Desta forma, a técnica utilizada se baseia no espalhamento que a luz aplicada sofre ao entrar em contato com

matérias particuladas de diferentes tamanhos.

4.2.3.6 Análise da área superficial

A área de superfície específica foi calculada com base no método Brunauer-Emmett-Teller (BET). Foi utilizado o equipamento ASAP2420 Micromeritics®, munido de *software* próprio para determinar os resultados.

4.2.4 Estudo de liberação *in vitro* dos sistemas e misturas físicas de PZQ-HDL

4.2.4.1 Curva de calibração do praziquantel

Uma curva de calibração de PZQ foi preparada em triplicata no intervalo de 50, 120, 270, 420, 570 e 720 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e varreduras destas soluções padrão foram obtidas entre 190-1000 nm a uma velocidade de 100 nm.min. A segunda derivada das absorbâncias (d^2A) foi obtida em 279 nm e, em seguida, os dados foram estudados em um modelo linear por regressão de mínimos quadrados ordinários.

A qualidade do ajuste do modelo foi avaliada por inspeção visual do gráfico de dispersão dos dados e dos resíduos, além do coeficiente de determinação (R^2). O desvio padrão relativo [DPR (%)] e a exatidão média (%) de cada nível de calibração foram calculados para averiguar a precisão e exatidão da calibração, respectivamente.

4.2.4.2 Solubilidade de equilíbrio do PZQ

Uma das variáveis necessárias para determinar o *Sink Index* de um estudo de liberação *in vitro* sob condição *non-sink* é a solubilidade de equilíbrio do fármaco.

Os ensaios foram realizados em condições experimentais próximas às do trato gastrointestinal (tampão HCl com pH 1.2 e tampão fosfato com pH 6.8, ambos preparados conforme a USP). Foi utilizado um banho-maria (Ethiktechnology®) munido de aparato de agitação, com temperatura de $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (temperatura fisiológica do organismo vivo), onde soluções saturadas do fármaco, nos tampões citados, permaneceram por um período de 96 horas sob uma frequência de agitação (simulando o peristaltismo) de 100 rpm (adaptado de TORRE et al., 1999). Ao final do 5º dia, o sobrenadante das soluções foi centrifugado (3000 rpm, 10 minutos) e submetido à leitura em espectroscopia UV-Vis (Espectrofotômetro Shimadzu® UV 1240 PC). Foi utilizada uma curva de calibração do fármaco, nos mesmos

tampões utilizados no teste, nas concentrações de 50 a 720 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Todos os ensaios foram conduzidos em triplicata.

4.2.4.3 Revalidação do método analítico para quantificação do PZQ por espectrofotometria no UV-VIS

O método foi desenvolvido e validado por Mourão (2012) e a revalidação foi procedida de acordo com a RDC 166 de 24 de julho de 2017, onde foram contempladas as avaliações dos seguintes parâmetros: linearidade, efeito matriz, repetibilidade e robustez.

4.2.4.3.1 Equipamentos

Foram utilizados no processo de revalidação: Balança analítica (Bioprecisa[®]-FA2104N), Ultrassom (Limp Sonic[®]-LS-3D-2-X), Espectrofotômetro UV-Visível (Shimadzu[®] UV 1240 PC)

4.2.4.3.2 Revalidação do método analítico

O propósito da revalidação do método se dá devido a uma pequena alteração na preparação da amostra. O método desenvolvido por Mourão (2012) requer apenas diluição do PZQ em álcool etílico absoluto. Já o método desenvolvido para o sistema HDL-PZQ requer a adição de ácido clorídrico para evitar a turbidez deixada pelo HDL em suspensão, fazendo com que o mesmo se dissolva.

4.2.4.3.2.1 Linearidade

Com a finalidade de analisar a capacidade do método em demonstrar que as respostas analíticas obtidas são diretamente proporcionais à concentração do analito da amostra, foi realizada regressão linear de duas curvas, utilizando ajuste dos dados pelo método dos mínimos quadrados dos pontos médios.

Preparo das soluções mães:

Ensaio 1: Método de Mourão (2012).

Foi preparada uma solução-mãe com 500 mg de PZQ para balão volumétrico de 50 mL (concentração de 10 mg/mL de PZQ), solubilizado em etanol.

Ensaio 2: Método de Mourão (2012) com adição de ácido clorídrico (método ajustado).

Foi preparada uma solução-mãe com 500 mg de PZQ para balão volumétrico de 50 mL (concentração de 10mg/mL de PZQ), solubilizada em etanol, posteriormente adicionado 20 mL HCl 0,1M, completado o balão com etanol e sonificado por 10 minutos.

Os ensaios foram realizados em triplicatas obtidas em seis níveis de concentrações diferentes: 50, 120, 270, 420, 570 e 720 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

4.2.4.3.2.2 Efeito Matriz

Com a finalidade de averiguar possíveis interferências causadas pelas substâncias que compõem a matriz da amostra, foi realizada a curva da mesma forma que no método de linearidade, utilizando os mesmos níveis de concentração 50, 120, 270, 420, 570 e 720 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, em triplicata.

Ensaio 3: Método ajustado com adição de HDL (Efeito Matriz).

Foi preparada uma solução-mãe com 500 mg de PZQ para balão volumétrico de 50 mL (concentração de 10 mg/mL de PZQ), solubilizado em etanol, posteriormente adicionado 1,953g de HDL, seguido da adição de 20 mL de HCl 0,1M, completando o balão com etanol e sonificado por 10 min.

4.2.4.3.2.3 Robustez

A robustez é determinada através da capacidade que o método apresenta em se manter constante através de pequenas e deliberadas modificações intencionais das condições analíticas e que sejam capazes de fornecer indicações de segurança durante o uso normal. Na espectrofotometria, o parâmetro robustez pode ser averiguado pela variação de pH da solução, diferentes lotes ou fabricantes (BRASIL, 2017; SANTANA et al., 2007).

A robustez do método proposto foi verificada através da variação de pH devido a adição de HCl 0,1M, onde, no ensaio 1 foi preparada uma solução-mãe com 500 mg de PZQ para balão volumétrico de 50 mL (concentração de 10 mg.mL^{-1} de PZQ), solubilizado em

etanol, apresentando um valor de pH de 6,5 e no ensaio 2: foi realizado o mesmo método do ensaio 1, sonificado por 10 minutos e com adição de 20 mL HCl 0,1M, apresentando valor de pH de 1,7. As concentrações de PZQ utilizadas para as soluções-filhas foram: 50, 270 e 720 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, representando um ponto baixo, médio e alto da curva. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Os resultados da robustez foram expressos através da relação entre a concentração média, determinada experimentalmente e pela concentração teórica correspondente, dada pela equação 01:

$$\text{Recuperação} = \frac{\text{Concentração média experimental}}{\text{Concentração teórica}} \times 100 \quad (01)$$

4.2.4.3.2.4 Precisão

A precisão é um parâmetro que avalia a proximidade dos resultados obtidos através de ensaios com amostras preparadas de acordo com o método analítico a ser validado. O teste de precisão pode ser expresso através da avaliação dos critérios de repetibilidade, da precisão intermediária ou da reprodutibilidade (BRASIL, 2017).

4.2.4.3.2.4.1 Repetibilidade

A precisão do método foi avaliada através da repetibilidade, visando avaliar a concordância entre os resultados sob as mesmas condições de operação, mesmo analista e mesma instrumentação, em uma única corrida analítica. O método foi verificado a partir da preparação de uma solução-mãe com concentração de 10mg.mL^{-1} de PZQ em etanol e 20 mL de HCl 0,1M, onde seis réplicas da concentração correspondente à concentração de trabalho ($270 \mu\text{g.mL}^{-1}$) no intervalo linear foram preparadas individualmente. A repetibilidade foi alcançada através da análise do desvio-padrão relativo (DPR) entre as determinações quantitativas realizadas seguindo a equação 02:

$$\text{DPR} = \frac{DP}{CMD} \times 100 \quad (02)$$

Onde, DP corresponde ao desvio padrão e CMD a concentração média determinada.

4.2.4.4 DOSEAMENTO DO PZQ NOS SISTEMAS E MISTURAS FÍSICAS

Para quantificação do PZQ contido nos sistemas e MF obtidos, foram produzidas amostras de concentração teórica final de 1mg.mL^{-1} em solução de etanol com HCl a 0,1M.

A presença do ácido se faz necessária para que a turbidez gerada pela insolubilidade dos HDL em solvente orgânico (necessário para a solubilização do fármaco a ser quantificado) seja cessada e assim se torne possível à leitura das amostras no espectrofotômetro. Para cada proporção molar de sistema ou MF, uma concentração teórica de praziquantel distinta foi obtida, ficando da seguinte maneira: sistema 1 ($499,84 \mu\text{g.mL}^{-1}$), sistema 2 ($312,4 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e sistema 4 ($203,06 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Uma curva de calibração do fármaco foi utilizada no intervalo de 50 a $720 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para quantificação do mesmo, partindo de uma solução-mãe de 10 mg.mL^{-1} contendo etanol e HCl a 0,1 M (método revalidado), tendo as alíquotas seus volumes completados com etanol. Para a quantificação do PZQ nos sistemas e MF, foi empregada a espectrofotometria derivatizada de segunda ordem, uma alternativa menos dispendiosa em relação a métodos analíticos sensíveis como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (SUN & LEE, 2013; DONATO, 2010).

4.2.4.5 Análise Elementar

Como metodologia complementar/confirmatória ao doseamento por espectrofotometria de derivadas para determinação do percentual de fármaco nos sistemas e misturas físicas obtidos, a análise elementar (CHN) foi realizada em equipamento PerkinElmer[®] modelo 2400 (Perkin Elmer Japan Co. Ltda). As amostras foram dissolvidas na concentração de 1 mg.mL^{-1} em solução de ácido nítrico 1% (v/v).

4.2.4.6 Ensaios de dissolução

Com o intuito de analisar a eficiência dos sistemas e misturas físicas em relação à liberação de praziquantel no meio, ensaios de dissolução em condição *sink* foram realizados. Empregou-se o equivalente a uma quantidade de fármaco igual a 100 mg, tampão HCl pH 1.2 (USP), dissolutor Varian[®] modelo VK 7010, aparato 2 de dissolução (pás), 150 rpm, temperatura de $37 \pm 0,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$, alíquotas de 2 mL para cada coleta (10, 20, 30, 60, 120, 180, 240, 360, 480, 1440 minutos) com reposição do meio de dissolução, centrifugação a 3000 rpm durante 10 minutos, varredura do sobrenadante em espectrofotômetro UV/VIS Shimadzu[®] modelo Mini1240 (velocidade baixa, comprimentos de onda entre 1000-190 nm). Uma curva de calibração do fármaco foi utilizada no intervalo de 50 a $720 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para quantificação do mesmo durante a dissolução, partindo de uma solução-mãe de 10 mg.mL^{-1} em etanol absoluto. Às soluções-filhas, foi adicionado tampão HCl pH 1.2 para preenchimento do volume final, após a adição das alíquotas referentes a cada ponto da curva.

A eficiência da dissolução (ED%) foi calculada no tempo correspondente a finalização da dissolução (8 h= 480 min) para o PZQ, sistemas 1, 2 e 4 e misturas físicas 1, 2 e 4. A ED% é a área sobre a curva no tempo t da curva de dissolução expressa como porcentagem da área do retângulo em y 100% no mesmo tempo t (KHAN, 1975; KHAN e RHODES 1972). O cálculo de área sob a curva (AUC) e ED% foi realizado com auxílio do software Origin[®] 8 da Origin Lab Solutions e Microsoft Excel[®] 2010.

Para avaliação da capacidade dos HDL de manter o PZQ solúvel em condições de supersaturação, fez-se uso da técnica de dissolução *non-sink*. Foi adotado um valor de *sink index* de 0,5 e fez-se uso da fórmula proposta por Sun e Lee (2012), utilizando os valores experimentais obtidos para a solubilidade de equilíbrio e volume de meio de 250 mL. Sendo assim, pôde-se determinar a concentração de fármaco a ser utilizada no experimento. Essa condição numérica de *Sink Index* (SI) significa que se trabalhou com volume de meio em torno de cinco vezes menos do que seria necessário para solubilizar todo o PZQ inserido no meio. As demais características experimentais foram similares às utilizadas na condição *sink*.

4.2.5 Estudo de estabilidade térmica do PZQ e do sistema 4 (HDL:PZQ) por análise térmica

4.2.5.1 Cinética de degradação

O estudo de cinética de degradação não isotérmico do PZQ e do sistema 4 foram obtidos a partir dos dados de TG conforme modelo proposto por Flynn-Wall-Ozawa (1966). Foram utilizadas razões de aquecimento de 2,5; 5; 10; 15 e 20 °C.min⁻¹, na faixa de temperatura entre 30-600 °C, em cadinho de platina com 5 ± 0,1 mg de amostras e atmosfera de nitrogênio (N₂) de 100 mL.min⁻¹.

4.2.5.1.1 Modelos matemáticos isoconvencionais empregados no estudo cinético de decomposição térmica

Através de dados obtidos por meio de curvas TG/DTG, é possível a realização do estudo da estrutura da decomposição térmica de um material, por meio da determinação da tríplice cinética das substâncias sólidas, denominada como a tríplice de Arrhenius. A percepção detalhada deste processo é relevante visto que, permite o cálculo dos parâmetros termodinâmicos, a estabilidade térmica pertinente ao prazo de validade e estimar quais as melhores condições de temperatura em processos de estocagem de produtos desenvolvidos.

Na termogravimetria, a curva gerada através da variação de massa em função do tempo e temperatura é denominada fração de conversão de massa (α) (KHAWAN; FLANAGAN, 2006), no qual esse grau de conversão em experimento não isotérmico pode ser determinado pela Equação 01:

$$\alpha = \frac{m_0 - m_t}{m_0 - m_f} \times 100 \quad (01)$$

Onde m_0 representa a massa inicial, m_t é a massa em um tempo ou temperatura de reação estabelecido e m_f representa a massa final do experimento. Em condições não isotérmicas, a equação geral que descreve a taxa de conversão de massa $\left(\frac{d\alpha}{dt}\right)$ em uma reação cinética de estado sólido é representada pela Equação 02 (BROWN, 2001):

$$\frac{d\alpha}{dt} = k \cdot f(\alpha) \quad (02)$$

No qual α representa a fração de conversão de massa, k representa a constante de proporcionalidade dada pela expressão empírica de Arrhenius e $f(\alpha)$ representa a função de conversão de massa que concede informações da forma no qual o processo de degradação ocorre (BROWN, 2001).

$$k = A \exp - \frac{E_a}{RT} \quad (03)$$

A equação 03 expressa o perfil cinético de degradação térmica, onde A é representado pelo número total de colisões entre as moléculas e E_a representa a energia de ativação capaz de romper um mol de ligações entre os átomos das moléculas. Os parâmetros R e T representam a constante dos gases ideais (8,31451 J/mol K) e a temperatura absoluta (Kelvin), respectivamente.

Dessa forma, as equações 01 e 02 podem ser reescritas sob a forma da Equação 04:

$$\frac{d\alpha}{dt} \beta = A \left(\exp - \frac{E_a}{RT} \right) f(\alpha) \quad (04)$$

Com base na equação de taxa básica foram desenvolvidos vários métodos direcionados ao estudo do perfil cinético de degradação térmica dos materiais com a finalidade de obtenção dos parâmetros adequados para descrever esse processo. A resolução da equação 04 pode ser realizada através de aproximações diferenciais ou integrais. Como

parâmetros cinéticos, destaca-se o método “Model Free Analysis”: como o de Friedman, de Kissinger-Akahura-Sunose e Flynn-Wall-Ozawa (COSTA, 2016; TITA et al., 2013).

4.2.5.1.2 Método Flynn, Wall, Ozawa (FWO)

O método FWO (FLYNN; WALL, 1996; OZAWA, 1965) foi proposto como um método independente com o uso da aproximação de Doyle:

$$p(x) = (-0,4567 \cdot x - 2,315) \quad (5)$$

Através da equação 04, a reorganização da equação pode ser realizada da seguinte forma:

$$\log \beta = \log \frac{AE_a}{Rg(a)} - 2,315 - 0,4567 \frac{E_a}{RT} \quad (6)$$

Dessa forma, quando $a =$ constante, é possível calcular a energia de ativação a partir do gráfico $\log \beta$ vs $1/T$ obtidos através dos termogramas relacionado a diferentes razões de aquecimento por meio da obtenção do coeficiente angular.

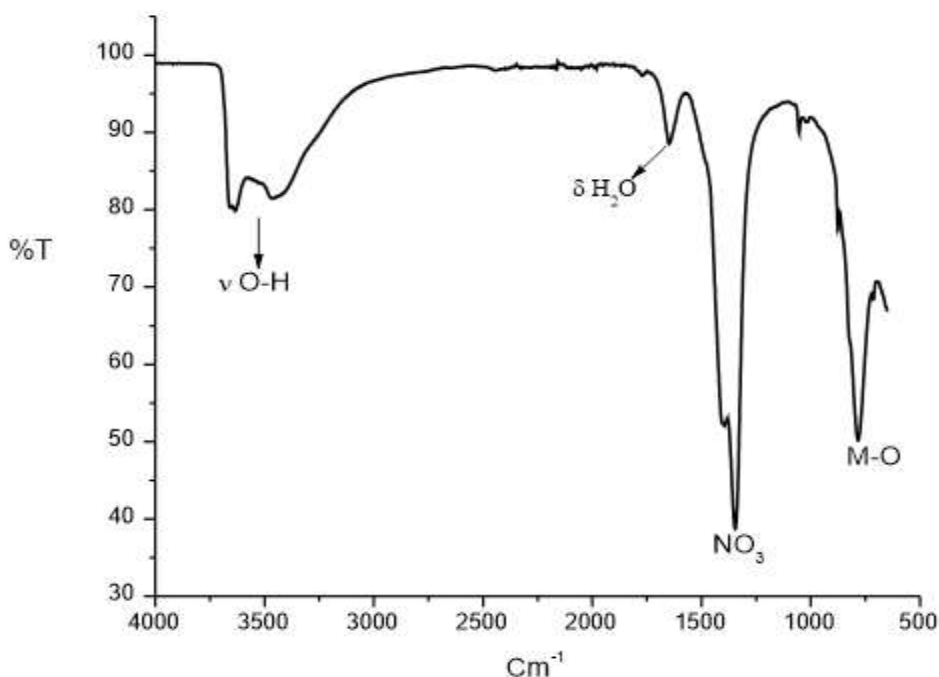
RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

O espectro de absorção no infravermelho do CaAl-HDL evidenciou bandas características do composto (figura 15), comprovando que os dados de sua identificação espectroscópica são similares aos já descritos na literatura para o carreador (SHAFIEI et al., 2013; FONTES, 2016). Em 3694 e 3082 cm^{-1} , verificou-se uma banda larga correspondente à deformação axial de O-H referente à presença de hidroxilas e água interlamelar. Em 1643 cm^{-1} evidenciou-se uma pequena banda, ou seja, com intensidade mais fraca, característica da deformação angular de moléculas de água interlamelar. Em 1350 cm^{-1} , evidenciou banda referente à presença de ânions nitrato. Em virtude de apresentar essa banda com alta intensidade e indício de um duplo pico, percebeu-se que há vibrações correspondente a íons carbonato, que normalmente encontram-se entre $1360\text{-}1370\text{ cm}^{-1}$, oriundo do ar atmosférico residual, durante o processo de síntese do CaAl-HDL. Bandas abaixo de 1050 cm^{-1} são resultantes de deformações axiais entre metais e oxigênio.

Figura 15 – Espectro de infravermelho do CaAl-HDL.

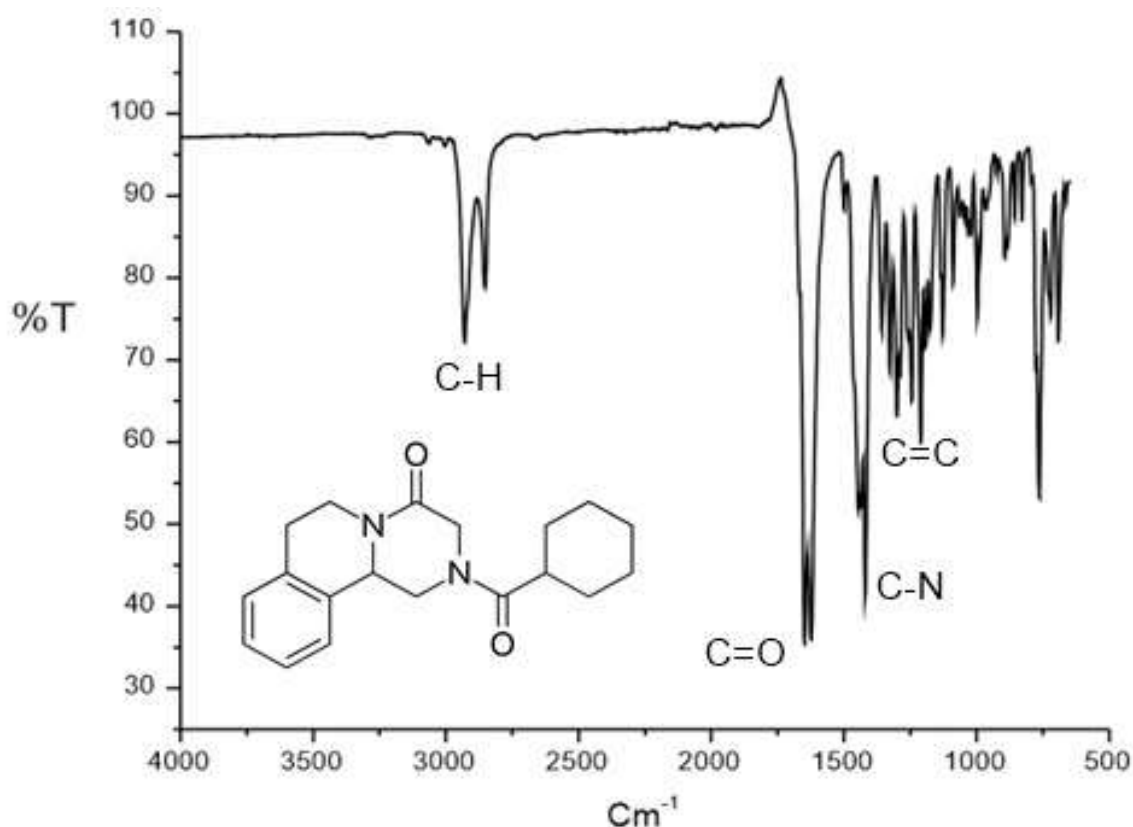


*ν= deformação axial; δ = deformação angular; M-O= Ligações organo-metálicas.

Fonte: autoria própria.

No espectro de absorção do PZQ (Figura 16), foram verificadas bandas em 2930 e 2853 cm^{-1} , indicando às vibrações C-H das deformações axiais assimétricas e simétricas (CH_2), respectivamente. Pôde-se observar uma banda de alta intensidade em 1643 cm^{-1} referente à presença dos grupos carbonilas ($\text{C}=\text{O}$) existentes na molécula do PZQ. Entre 1352 e 1000 cm^{-1} , foram observados bandas de intensidade média a fraca, indicando a presença de deformação axial C-N. O espectro também apresenta, em 764 cm^{-1} , características de deformação angular fora do plano de C-H, referente ao anel aromático, corroborando a presença de deformação axial C=C do anel aromático através das bandas 1446 e 1420 cm^{-1} , dados estes que se assemelham com os observados por Campos et al. (2013), Lima (2009), Mourão et al. (2012) e Perissutti et al. (2017).

Figura 16 – Espectro de infravermelho do Praziquantel.

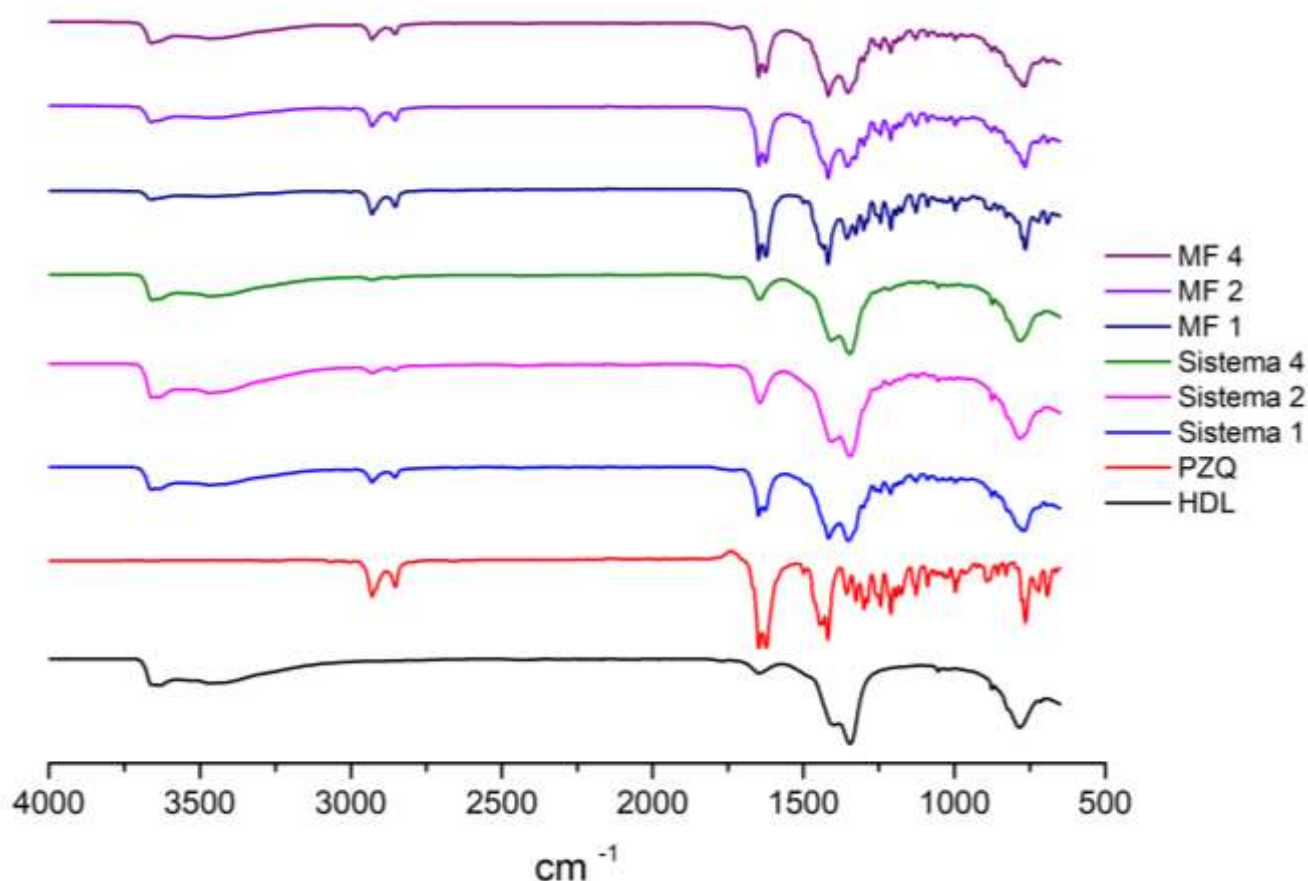


Fonte: autoria própria.

Os espectros dos sistemas HDL-PZQ (Figura 17) apresentaram alterações quando comparados aos seus precursores (PZQ e HDL isolados). Foram observadas diminuições de intensidade das bandas características, como pôde ser visto entre 2930 e 2854 cm^{-1} referentes às vibrações C-H do PZQ. Foi verificada uma redução significativa nas bandas relativas aos

estiramentos das carbonilas (C=O), onde à medida que a concentração do fármaco diminui, a intensidade dessa banda torna-se menos perceptível, apresentando maior semelhança ao espectro de HDL isolado. Foi verificado também sobreposição de bandas entre a região de 1352 a 1000 cm^{-1} aproximadamente, onde o desaparecimento dessas bandas do PZQ, que indicam deformação axial C-N, pode estar associado a interações entre o anel isoquinolínico do PZQ e os HDL, uma vez que, em estudos realizados por Mourão (2012), foi sugerido que o desaparecimento dessas bandas do PZQ, poderia ser indicativo da entrada do anel isoquinolínico na cavidade da β -CD nas preparações obtidas por malaxagem e liofilização. Para que a interação entre o carreador e o fármaco seja de fato afirmada de acordo com os resultados obtidos, estudos complementares como Ressonância Magnética Nuclear (RMN) devem ser realizados para que possa ter uma confirmação destas interações.

Figura 17 – Espectro de infravermelho dos sistemas e misturas físicas.



Fonte: autoria própria.

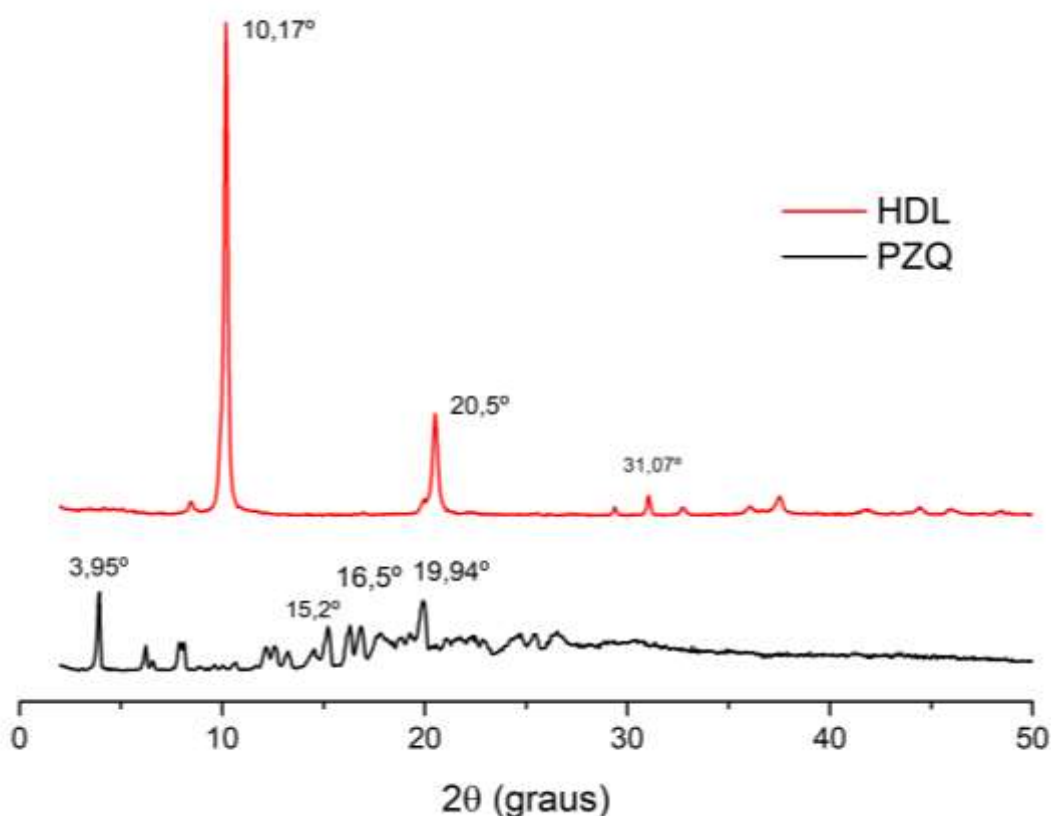
Os espectros das misturas físicas (figura 17) apresentaram sobreposição do conjunto de bandas dos precursores (HDL e PZQ). Algumas bandas características sofreram redução de intensidade, mas não tão significativas quanto o comportamento observado nos sistemas. Diante disso, pressupõe-se um melhor grau de interações entre o fármaco e os HDL quando estes são unidos por uma metodologia que exceda apenas interações físicas.

5.2 Difratometria de Raios-x (DRX)

A natureza cristalina do praziquantel pode ser verificada através dos planos característicos do fármaco, como ilustrado na figura 18. O trabalho de Cugovčan e colaboradores (2017) descrevem picos de intensidade bastante similares para o PZQ (4.01° , intensidades variadas entre 6.7 e 8.5° , 15.42° , 16.74° e 20.09°), revelando a autenticidade do insumo farmacêutico ativo adquirido.

O difratograma dos CaAl-HDL apresentou picos característicos do material (figura 18), típicos de estruturas lamelares, de acordo com o encontrado por Fontes (2016) e Gao et al. (2014).

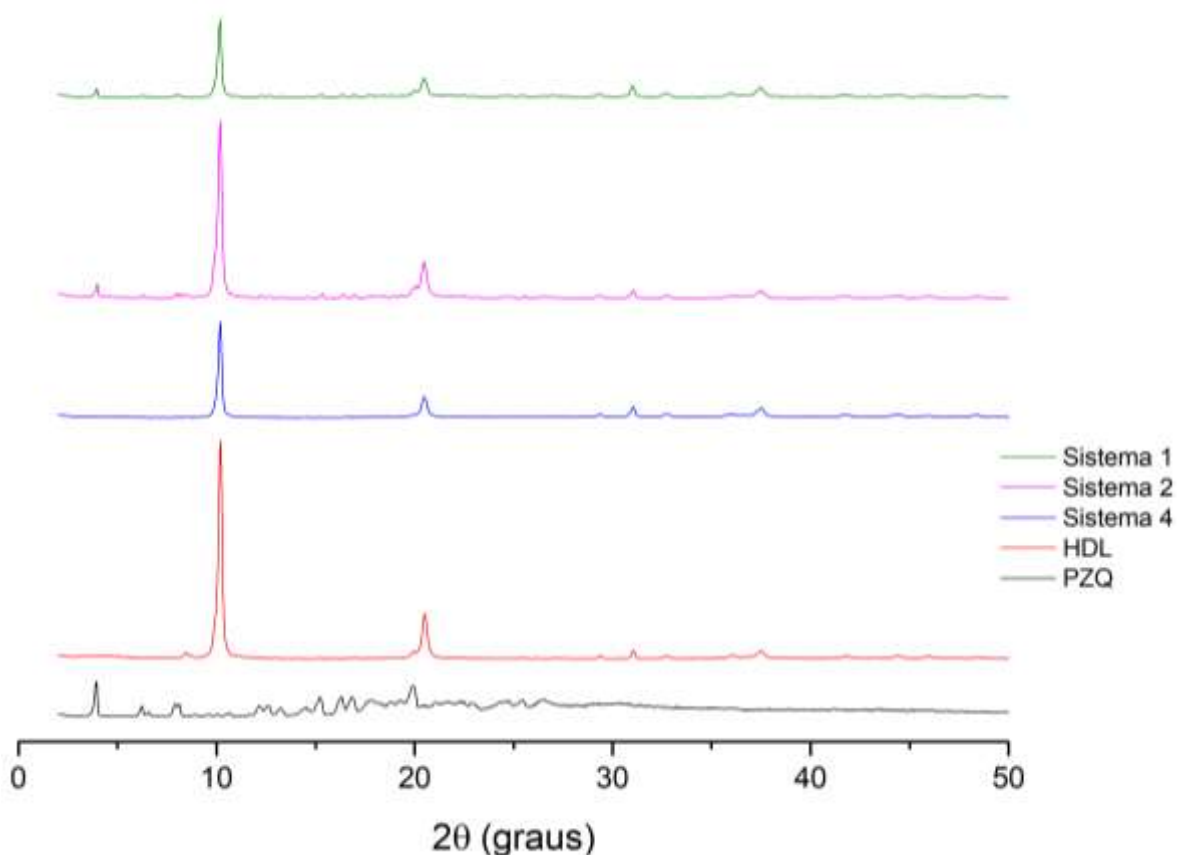
Figura 18 – Difratomogramas dos CaAl-HDL e do praziquantel.



Fonte: autoria própria.

Em relação aos sistemas (figura 19) obtidos através da técnica de co-solubilização, pôde-se observar, que nos sistemas 1 e 2, o comportamento de reflexão do PZQ ainda é evidente, enquanto que no sistema 4, enxergam-se picos semelhantes ao dos HDL. Isso é sugestivo de que as interações químicas entre o carreador e o fármaco foram suficientes para gerar uma desorganização na estrutura cristalina do PZQ quando se tem uma maior proporção do HDL, deixando o PZQ em estado amorfo, no sistema 4, o que vem a contribuir com a taxa de dissolução do IFA (COSTA, 2016).

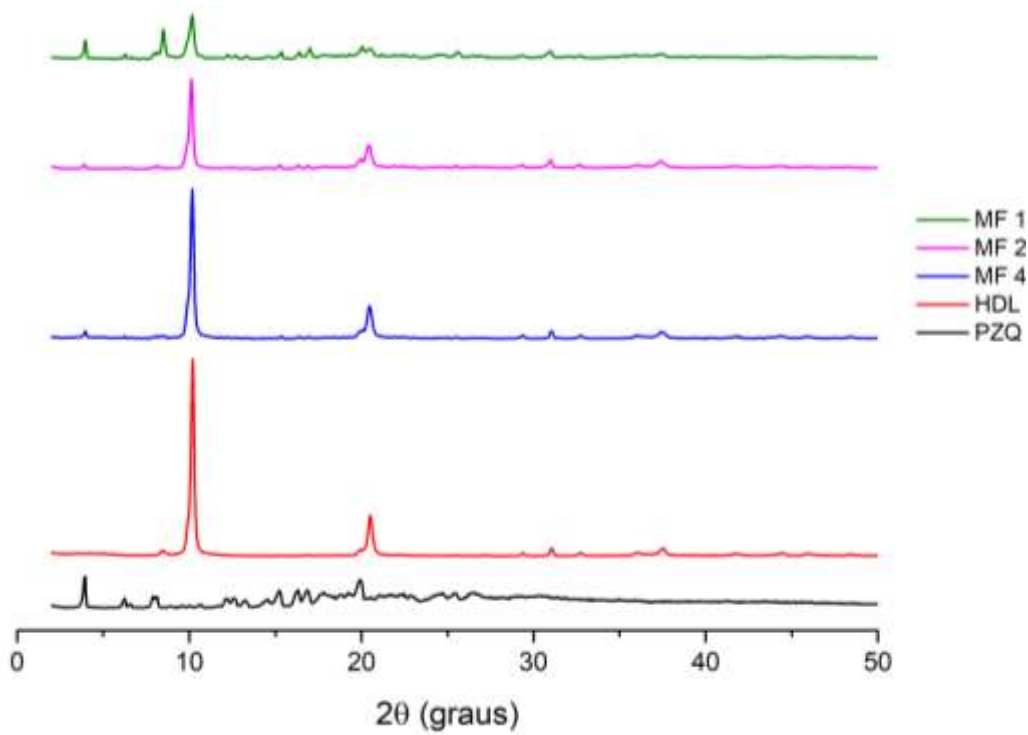
Figura 19 – Difratomogramas comparativos dos HDL-CaAl, praziquantel e sistemas HDL-PZQ.



Fonte: autoria própria.

Ao se observar o comportamento de reflectância das partículas das misturas físicas (figura 20), é possível notar que, em todas as proporções, ainda há presença de picos relativos ao praziquantel e aos HDL, evidenciando apenas uma sobreposição de bandas, sugerindo que não há alteração no estado cristalino do fármaco.

Figura 20 – Difrátogramas comparativos dos HDL-CaAl, praziquantel e misturas físicas HDL-PZQ.



Fonte: autoria própria.

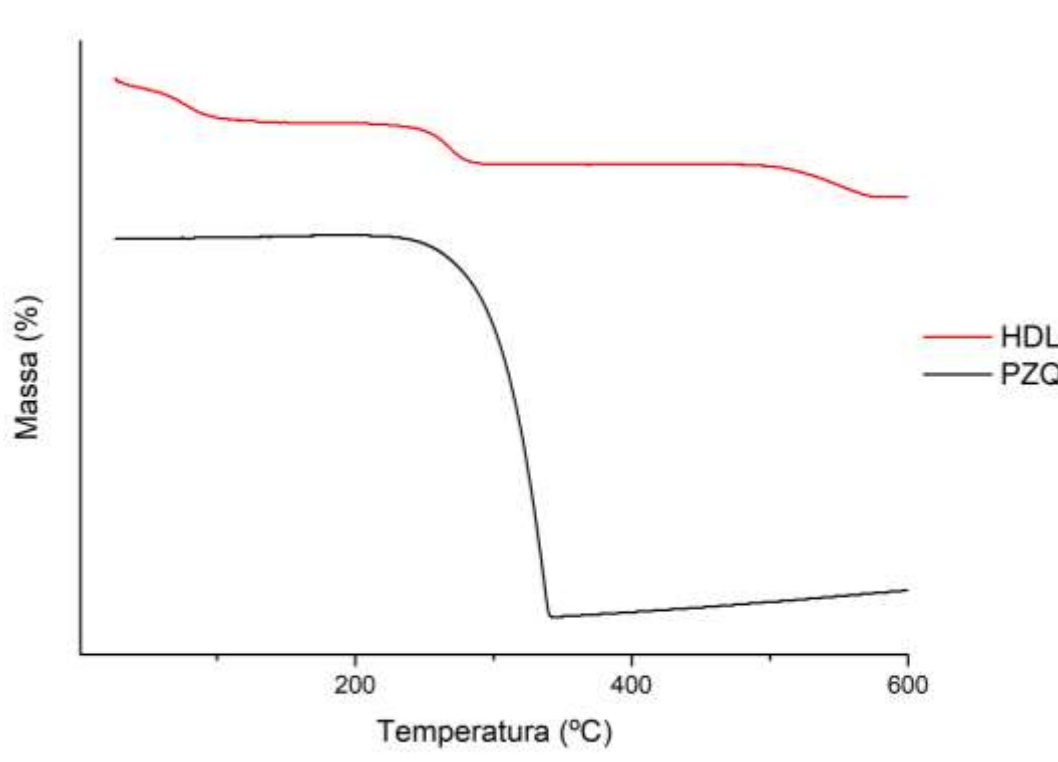
A aplicação da Lei de Bragg permitiu a constatação do espaçamento interlamelar dos HDL isolados e após a complexação com o PZQ. O tamanho de 8,7 Å correspondeu aos hidróxidos duplos lamelares isolados (VARGA et al., 2016) e medidas muito idênticas também foram encontradas nos sistemas 1, 2 e 4, o que significa dizer que não houve intercalação do fármaco dentro da estrutura do carreador, sugerindo portanto um fenômeno de adsorção na sua superfície.

5.3 Termogravimetria (TG)

A análise termogravimétrica do CaAl-HDL apresentou uma curva com três eventos referentes a decomposições/perdas de massa (figura 21). A primeira etapa de decomposição corresponde à perda de água interlamelar e perda de água que possivelmente apresentava-se adsorvida na superfície do material. O primeiro evento iniciou-se em temperatura ambiente até 132°C, equivalendo a uma perda de massa de 12,44% (0,377 mg). O segundo evento iniciou-se em 252 °C estendendo-se até 281,56 °C, apresentando perda de massa de 11,68%

(0,354 mg), relacionada à decomposição das hidroxilas presentes nas estruturas das lamelas e relacionada também à redução dos íons nitrato (ânion interlamelar do CaAl-HDL) em nitrito. O terceiro evento está relacionado à remoção extra de hidroxilas e à decomposição dos nitritos, havendo início em 517,03 °C até 567,89 °C, apresentando perda de massa de 9,01% (0,273 mg). Os resultados obtidos aproximam-se dos que foram descritos nas análises termogravimétricas realizados por Shafiei et al. (2013).

Figura 21 – Curvas TG do CaAl-HDL e PZQ isolados.

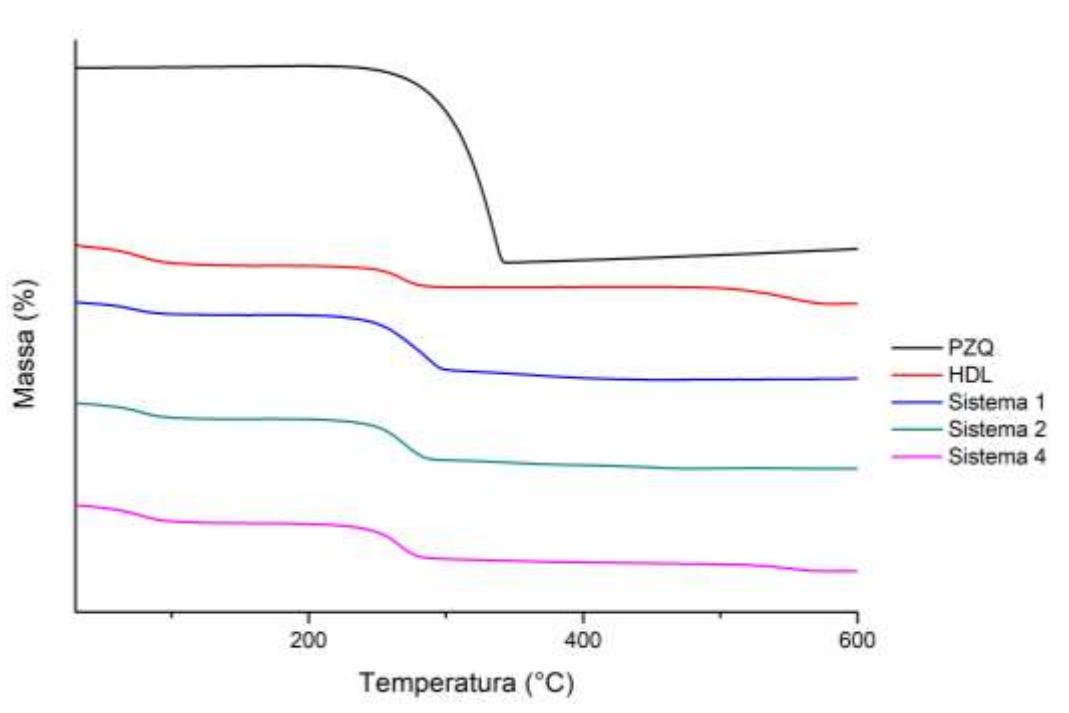


Fonte: autoria própria.

Observando a curva termogravimétrica do PZQ, pôde-se observar um único evento térmico, que se inicia em cerca de 307 °C e finaliza em 340 °C, apresentando um total de 96,8% de decomposição da amostra (Figura 21). Resultado similar foi obtido por Mourão (2012), onde também foi identificado apenas uma única etapa entre 280 e 330 °C.

A figura 22 apresenta o perfil termogravimétrico dos sistemas 1, 2 e 4:

Figura 22 – Curvas TG do CaAl-HDL, PZQ e seus sistemas.

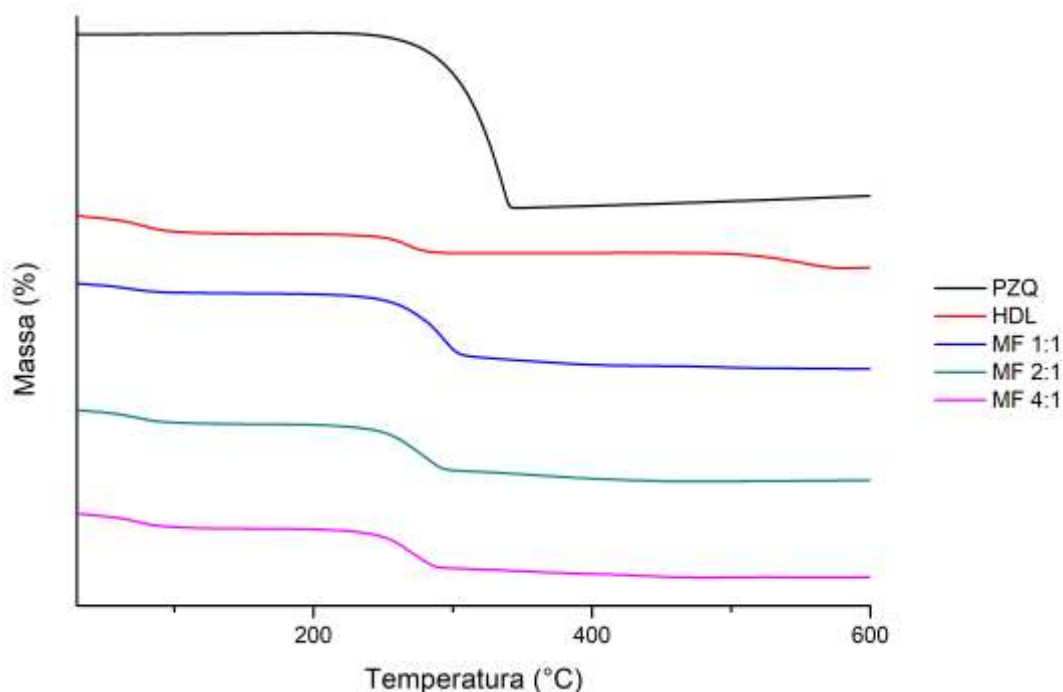


Fonte: autoria própria.

No sistema 1, identificou-se a presença de dois eventos, sendo o primeiro entre 47 °C a 86,5 °C, com perda de massa de 7,59% (0,230 mg) e o segundo evento ocorrendo entre 255,54 °C e 295,17 °C, com perda de massa de 30,43% (0,922 mg). No sistema 2, visualizou-se também a presença de dois eventos, onde o primeiro inicia-se em 51,3 °C até 92 °C, apresentando uma perda de massa de 8,88% (0,281 mg) e o segundo evento entre 250,1 °C e 283,42 °C, com perda de massa de 21,43% (0,678 mg). Porém, no sistema 4 foram identificado três eventos, onde o primeiro iniciou em 57,4 °C até 91,68 °C, apresentando perda de massa de 10,7% (0,322 mg), o segundo em 253,12 °C até 278,87 °C, com perda de massa de 19,16% (0,577 mg) e o terceiro evento ocorreu entre 543,36 °C até 563,54 °C, apresentando perda de massa de 3,55% (0,107 mg). Portanto, pôde-se observar que nas curvas dos sistemas 1 e 2, há um perfil semelhante à curva TG do HDL isolado, onde seus eventos estão relacionados à perda de água interlamelar, perda de água adsorvida nas superfícies, decomposição de hidroxilas e redução de nitrato em nitrito. Porém, no sistema 4, foi encontrado um terceiro evento e este pode estar relacionado à perda de hidroxilas e decomposição de nitritos, eventos semelhantes aos que foram vistos por Fontes (2016) e Shafiei et al. (2013) para os HDL.

A figura 23 apresenta o perfil termogravimétrico das MF 1, 2 e 4 e de antemão, pôde-se observar perfis semelhantes aos obtidos nos sistemas 1, 2 e 4.

Figura 23 – Curvas TG do CaAl-HDL, PZQ e suas misturas físicas.



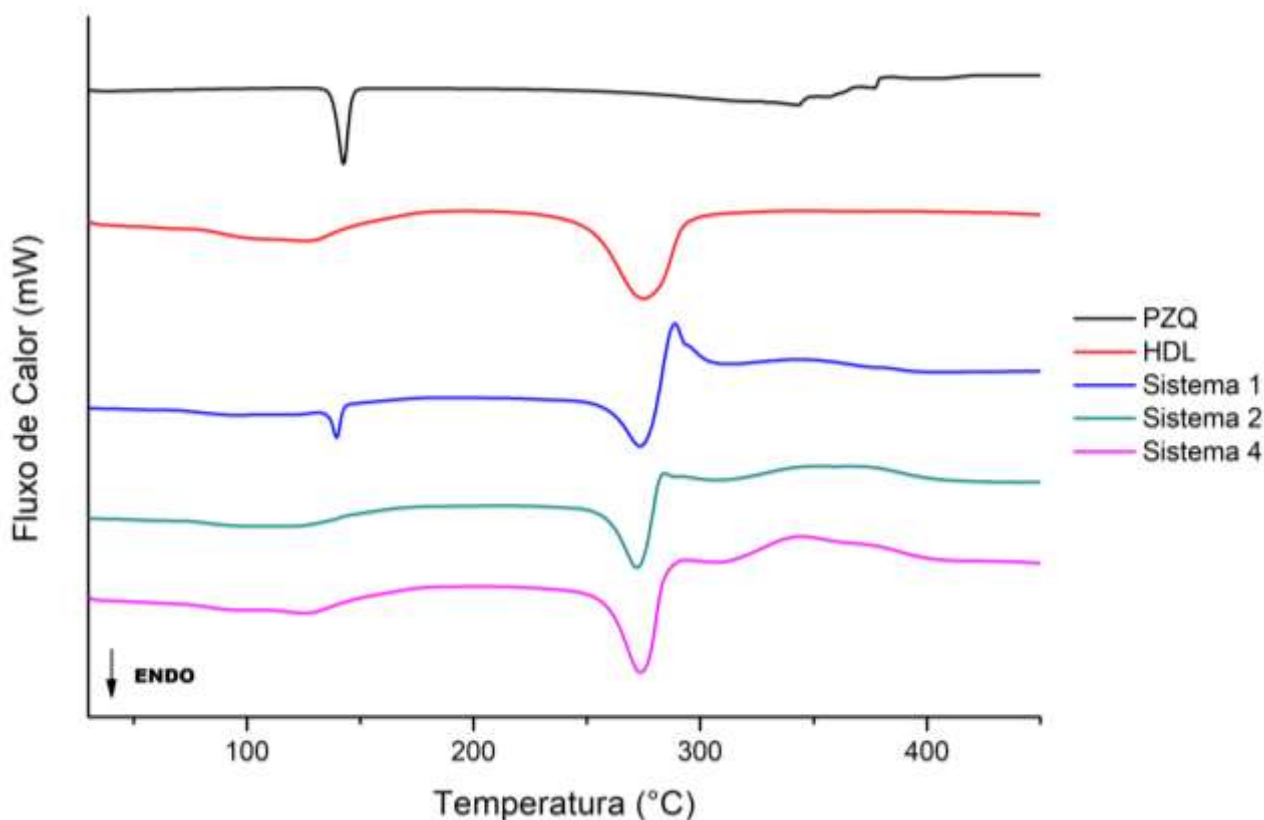
Fonte: autoria própria.

Na MF 1, foi identificada a presença de dois eventos, o primeiro entre 63,6 °C e 83,14 °C, apresentando perda de massa de 6,12% (0,185 mg), o segundo evento ocorreu entre 268 °C e 303,2 °C com perda de massa de 38,56% (1,165 mg). Na MF 2, também foi identificada a presença de dois eventos, onde o primeiro iniciou em 47,13 °C até 84,8 °C, com perda de massa de 8,82% (0,270 mg), o segundo evento iniciou em 261,3 °C até 292,94 °C, com perda de massa de 28,1% (0,859 mg). A MF 4, também apresentou dois eventos, sendo o primeiro iniciado em 50,38 °C a 86,15 °C, com perda de massa de 9,56% (0,291 mg) e o segundo evento entre 249,27 °C até 286,22 °C, com perda de massa de 24,14% (0,735 mg). A expectativa era que os comportamentos das MF apresentassem características distintas dos sistemas, visto que estes últimos apresentam uma probabilidade de maior interação entre o HDL e o PZQ e que as MF deveriam apresentar todos os eventos ocorridos nos TG semelhante ao dos precursores. Esse comportamento pode estar associado ao fato do calor empregado na técnica atuar como um catalisador de reações e poder ter provocado interação entre o HDL e PZQ durante a análise, acarretando em curvas semelhantes aos sistemas (ALBU, 2015).

5.4 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Os resultados do DSC referentes ao PZQ, CaAl-HDL e sistemas estão descritos na figura 24.

Figura 24 – Curvas DSC do PZQ, HDL e sistemas HDL-PZQ.



Fonte: autoria própria.

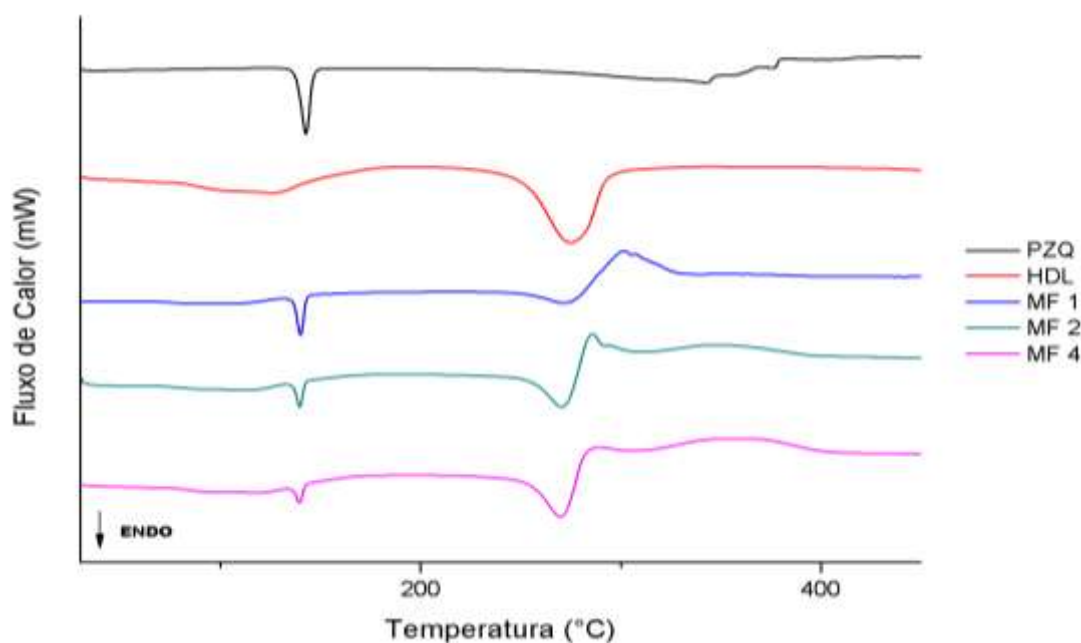
Um pico endotérmico pode ser observado em torno de 142°C evidenciando o comportamento térmico do PZQ, referente a seu ponto de fusão ($\Delta H=120,28$ J/g), corroborando com a literatura (PERISSUTI et al., 2017). O CaAl-HDL apresentou um evento também de natureza endotérmica entre 85 e 141 °C, aproximadamente, sendo característicos da dessorção de água adsorvida e interlamelar. Houve ainda um segundo evento endotérmico, com pico característico em 275 °C, referente à desidroxilação das lamelas do composto (CHAKRABORTY; MITRA; CHAKRABORTY, 2017).

A análise do comportamento térmico dos sistemas revela a ausência do pico de fusão do fármaco à medida em que aumenta a proporção do carreador em relação a ele. A alteração da cristalinidade do IFA é observada nos sistemas 2 e 4, onde o ponto de fusão do fármaco

não é mais visível, o que é sugestivo de uma amorfização da estrutura (TRASTULLO et al., 2015), principalmente para o sistema 4, onde a técnica de DRX corrobora ilustrando o desaparecimento dos planos cristalinos do fármaco. No caso do sistema 1, ainda nota-se a presença do pico de fusão do praziquantel, porém foi constatada uma diminuição da entalpia envolvida neste evento ($\Delta H = 38,62 \text{ J/g}$), o que resulta em uma menor quantidade de energia necessária à solubilização do fármaco (FERRAZ, 2017), revelando que devem ter ocorrido modificações na natureza cristalina do mesmo.

Nas misturas físicas, pôde-se observar que o evento endotérmico referente ao pico de fusão do PZQ esteve presente em todos os compostos ($T_{pico_{MF1}} = 139,97^\circ\text{C}$, $T_{pico_{MF2}} = 139,52^\circ\text{C}$ e $T_{pico_{MF4}} = 139,45^\circ\text{C}$), independentemente da proporção molar entre carreador e fármaco (figura 25).

Figura 25 – Curvas DSC do PZQ, HDL e misturas físicas HDL-PZQ.



Fonte: autoria própria.

Dessa forma, foi possível perceber a diferença entre as energias envolvidas na fusão do fármaco contido nos referidos materiais, observando um decréscimo à medida que aumenta a quantidade de HDL na mistura ($\Delta H_{MF1} = 52,46 \text{ J/g}$, $\Delta H_{MF2} = 31,65 \text{ J/g}$ e $\Delta H_{MF4} = 22,31 \text{ J/g}$). Os resultados obtidos com o DRX atestaram que, de fato, na mistura física 1, a estrutura cristalina do material apresenta-se muito similar à do PZQ, conforme observado nos planos de difração, mostrando a incapacidade que o processos de obtenção destes compostos (processo físico) tem de alterar a cristalinidade do fármaco.

5.5 Tamanho de Partículas

O tamanho de partículas é um dos pré-requisitos que complementam as análises de caracterização estrutural, no qual, são capazes de fornecer parâmetros de distribuição e homogeneidade do material (AGUILERA, 2016).

O comportamento do perfil de dissolução está associado à capacidade de molhabilidade e dispersibilidade das partículas do fármaco, onde os melhores desempenhos geralmente podem ser observados quando as partículas apresentam tamanhos pequenos (GOMES et al., 2015). Dessa forma, a redução do tamanho de partículas é uma estratégia de grande relevância para alcançar melhores resultados à medida em que favorece a solubilidade do fármaco (COSTA, 2016).

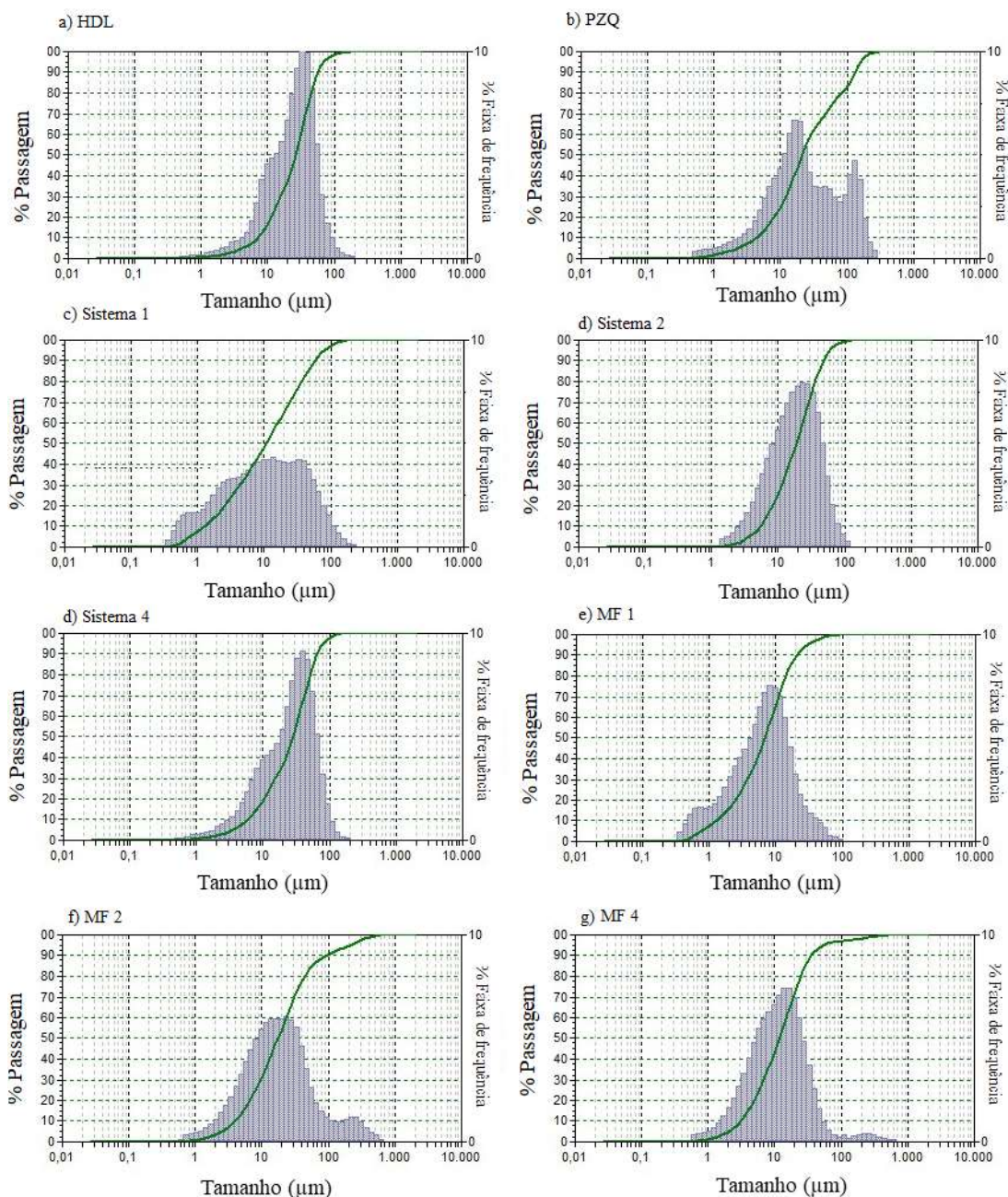
A tabela 04 e o gráfico de distribuição granulométrica do HDL, PZQ, sistemas e MF (figura 26) apresentam os tamanhos de partículas obtidos. O PZQ isolado apresentou tamanhos de partículas entre 4,37 a 160,5 μm e o CaAl-HDL apresentou tamanhos de partículas entre 7,22 a 68,61 μm . Quando comparado com o PZQ isolado, os sistemas e MF apresentaram tamanhos médios de partículas inferiores.

Tabela 04 – Tamanho de partículas dos sistemas e MF.

Amostra	Tamanho (μm)	Média do tamanho (μm)
HDL	7,22 a 68,61	28,04
PZQ	4,37 a 160,5	43,67
Sistema 1	1,27 a 79,62	18,64
Sistema 2	5,34 a 59,14	21,90
Sistema 4	5,94 a 79,54	30,86
MF 1	1,26 a 30,41	8,23
MF 2	3,94 a 209,6	25,35
MF 4	3,10 a 52,73	14,58

Fonte: Autoria própria.

Figura 26 – Gráfico de tamanho de partícula por granulometria a laser do HDL, PZQ, sistemas e MF.



Fonte: autoria própria

Para evidenciar a prevalência dos tamanhos das partículas do HDL, PZQ, sistemas e MF, devido ao fato de que, na tabela 04, foi identificado um tamanho de partícula até 209,6 μm para a MF 2, a tabela 05 apresenta tamanho de partículas referente a 80% das amostras, visto que, esta porcentagem representa uma parcela significativa quando em comparação com o todo. Pode-se

verificar que as partículas dos sistemas e MF apresentaram-se bem inferiores quando comparados ao PZQ que apresentou tamanhos de até 82,03 μm .

Tabela 05 – Tamanho de partículas referente a 80% do total de partículas analisadas.

Amostras	Tamanho (μm)
HDL	7,22 a 44,62
PZQ	4,37 a 82,03
Sistema 1	1,27 a 36,69
Sistema 2	5,34 a 36,21
Sistema 4	5,94 a 36,21
MF 1	1,26 a 14,04
MF 2	3,94 a 43,63
MF 4	3,10 a 24,45

Fonte: Autoria própria.

Experimentalmente, os resultados de tamanho de partículas corroboram com os resultados obtidos nos testes de dissolução, onde os melhores desempenhos foram atribuídos aos sistemas e MF, devido ao fato da redução do tamanho de partículas favorecer a melhor solubilidade do fármaco quando comparado ao PZQ isolado.

5.6 Área superficial

A área superficial dos HDL é considerada uma propriedade relevante, visto que, esta proporciona o conhecimento da capacidade adsorvente do material (AGUILERA, 2016). A área superficial obtida para o CaAl-HDL(sintetizado com o NO_3) foi de $9.0481 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$, valor relativamente maior ao encontrado por Zhang e colaboradores (2012), onde o valor obtido para área superficial do CaAl sintetizado com Cl^- foi de $6.26 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$, visto que o nitrato apresenta tamanho maior quando comparado com o cloreto. O aumento da área superficial é uma das estratégias voltadas para a melhoria do carregamento e liberação de grandes biomoléculas (Zhang et al., 2014).

Algumas condições como a concentração e a velocidade de adição dos sais no processo da síntese são capazes de influenciar as propriedades de área superficial dos HDL. Estes fatores quando não apresentam conformação, acarretam em modificações na formação e porosidade das partículas, ou seja, apresentando total influência sobre a área superficial (REIS, 2009).

Como visto na tabela 06, em geral, a área superficial dos sistemas e MF apresentaram-se inferiores ao valor obtido do HDL isolado, devido às interações deste com o fármaco. Porém, quando comparado ao PZQ, as áreas superficiais dos sistemas e MF obtiveram resultados superiores. Esses resultados corroboram com os obtidos no tamanho de partícula, visto que a redução do tamanho de partículas propicia o aumento da área superficial, possibilitando o aumento da absorção do fármaco (ALTON, 2005; COSTA, 2016). Estudo realizado por AGUILERA (2016) identificou que, quando existe o envolvimento de ânions orgânicos, a área superficial observada pode ser menor do que a área superficial real do HDL, devido ao processo de adsorção dos ânions na superfície do material.

Tabela 06 – Área superficial referente ao HDL, PZQ, sistemas e MF.

Amostra	BET (m²/g)
CaAl-HDL	9,0481
PZQ	3,6892
Sistema 1	9,2196
Sistema 2	5,7715
Sistema 4	5,7648
MF 1	7,0093
MF 2	8,3446
MF 4	5,7782

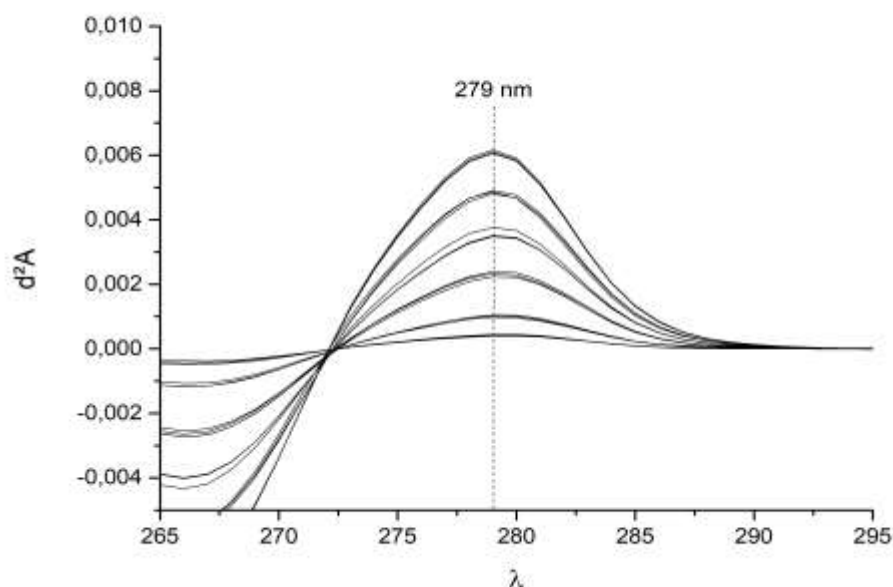
Fonte: Autoria própria.

5.7 Estudo de liberação in vitro dos sistemas e misturas físicas de PZQ-HDL

5.7.1 Curva de calibração do praziquantel

A segunda derivada das absorbâncias (d^2A) de PZQ foi obtida através do cálculo diferencial de segunda ordem, tomando como fonte os dados das varreduras de cada leitura das concentrações padrão de PZQ, com $n=3$, para cada concentração (Figura 27).

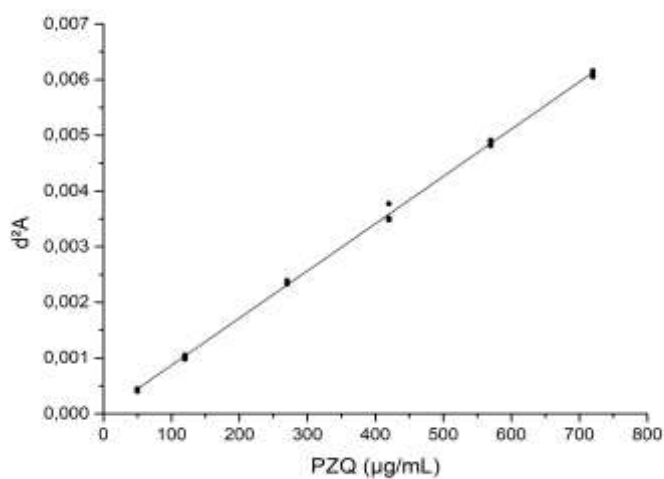
Figura 27 – Espectro derivativado de PZQ em concentrações crescentes de 50–720 $\mu\text{g/mL}$ ($n = 3$). A linha tracejada indica o comprimento de onda (λ) de 279 nm onde os valores de d^2A foram retirados para regressão e construção da curva de calibração de PZQ.



Fonte: autoria própria.

A Figura 28 representa o gráfico de dispersão dos dados, no qual observa-se que o modelo linear é apropriado para relacionar a concentração de PZQ (eixo x) e d^2A (eixo y), onde o R^2 foi igual a 0,99879.^o

Figura 28 – Gráfico de dispersão dos dados da regressão de concentração de PZQ e d^2A .



Fonte: autoria própria.

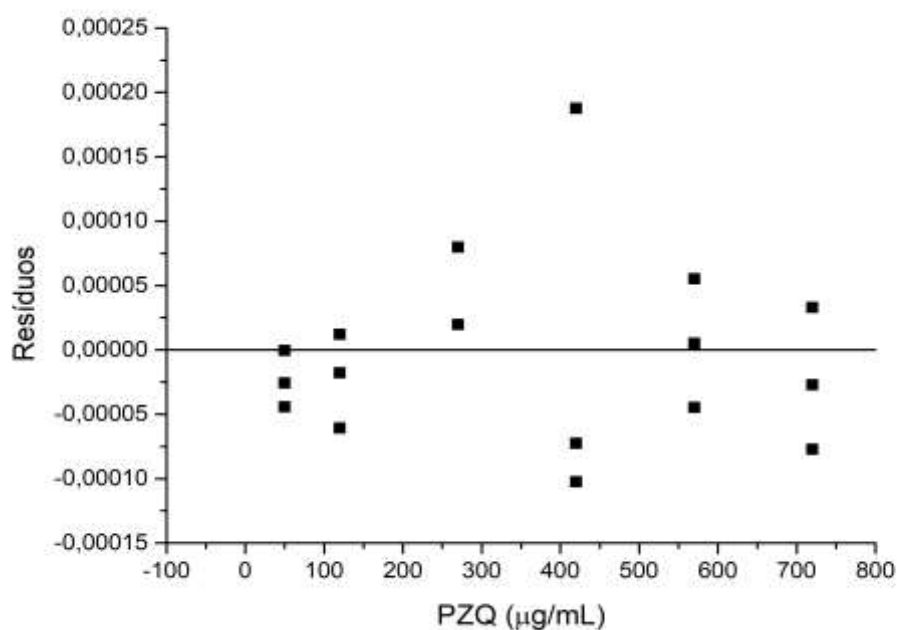
A regressão linear foi realizada por mínimos quadrados ordinários (sem pesos), o qual estimou uma relação entre a concentração de PZQ ($\mu\text{g/mL}$) e d^2A pela equação do primeiro grau (Equação 1):

$$y = 8,4819 \times 10^{-6}x - 2,00738 \times 10^{-5} \quad (1)$$

sendo y a resposta analítica (d^2A) e x a concentração de PZQ em $\mu\text{g/mL}$ dentro do intervalo 50-720 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Pode-se observar que os resíduos (Figura 29) demonstram dispersão aleatória, ausente de tendências ou autocorrelação, afirmando o caráter linear do modelo para o intervalo testado. Os resíduos deixados pela regressão (i.e., a diferença entre os valores preditos vs observados) estão próximos de zero, sendo a soma quadrática residual igual a $8,36 \times 10^{-8}$, considerado nulo no contexto.

Figura 29 – Gráfico de dispersão dos resíduos da regressão linear entre as concentrações de PZQ e d^2A . Os pontos indicam os resíduos deixados pela regressão.



Fonte: Autoria própria

A Tabela 7 apresenta os valores utilizados para a regressão e os resultados dos cálculos de DPR (%) e exatidão média dos níveis de calibração.

Todos os níveis apresentaram exatidão média entre 90–110%, demonstrando grau aceitável para o caráter dos experimentos de bancada. O desvio padrão relativo variou entre 0,9% (nível 720 µg/mL) e 5,49% (nível 50 µg/mL), sendo característico de quantificação de compostos orgânicos em espectrofotometria, onde esse comportamento de variação pode ser observado com frequência nos menores níveis. No caso do PZQ, o nível de 50 µg/mL encontra-se próximo do limite de quantificação do espectrofotômetro (Figura 29).

Tabela 7. Dados utilizados para regressão e cálculo de precisão e exatidão dos pontos no intervalo de 50–720 µg/mL. Os cálculos de concentração foram realizados utilizando a equação do primeiro grau obtida da regressão linear por mínimos quadrados ordinários.

Nível de calibração		Resposta analítica	Concentração calculada		Precisão		Exatidão média
µg/mL	n	d ² A	µg/mL	Média	Desvio padrão	DPR (%)	%
50	1	0,0004438	49,96	47,24	2,60	5,494606	94,49
	2	0,0004000	44,79				
	3	0,0004186	46,98				
120	1	0,0010200	117,89	117,39	4,31	3,674332	97,82
	2	0,0009772	112,84				
	3	0,0010500	121,43				
270	1	0,0023900	279,41	277,05	4,08	1,474132	102,61
	2	0,0023900	279,41				
	3	0,0023300	272,34				
420	1	0,0035100	411,46	420,49	18,80	4,471447	100,12
	2	0,0034800	407,92				
	3	0,0037700	442,11				
570	1	0,0048100	564,72	570,62	5,89	1,033074	100,11
	2	0,0049100	576,51				
	3	0,0048600	570,62				
720	1	0,0061000	716,81	717,20	6,49	0,905365	99,61
	2	0,0061600	723,89				
	3	0,0060500	710,92				

Fonte: dados da pesquisa.

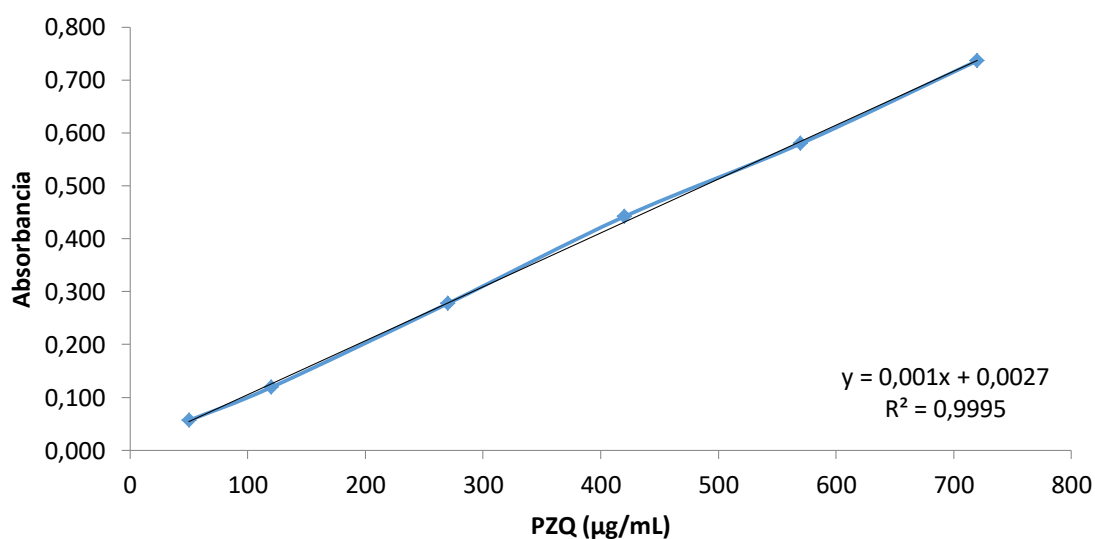
5.7.2 Revalidação de doseamento por espectrofotometria do praziquantel

5.7.2.1 Linearidade

As linearidades das curvas dos ensaios 1 e 2 foram comprovadas nas concentrações propostas por meio da análise de regressão linear através do método dos mínimos quadrados.

No ensaio 1, foi possível determinar o valor de coeficiente de correlação $r = 0,99975$ e o coeficiente de determinação $r^2 = 0,999501$, como mostra a figura 30. O valor de r^2 indica que 99,95% da variação total relacionado à média são explicadas pela regressão. A obtenção desses resultados confirma que há uma correlação linear entre a absorbância e a concentração das amostras, uma vez que os parâmetros encontram-se dentro dos limites preconizados pela ANVISA, superiores as 0,99.

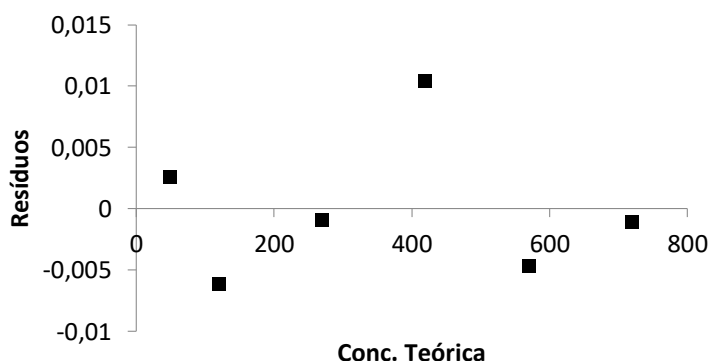
Figura 30 - Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao ensaio 1.



Fonte: Autoria Própria.

O cálculo dos resíduos da linearidade do ensaio 1 foi obtido por meio da regressão linear, onde demonstra os valores estimados e os dados observados. Os resíduos distribuíram-se em torno do zero, mostrando que a dispersão é aleatória e sem tendência, indicativo de um bom resultado, como mostrado na figura 31.

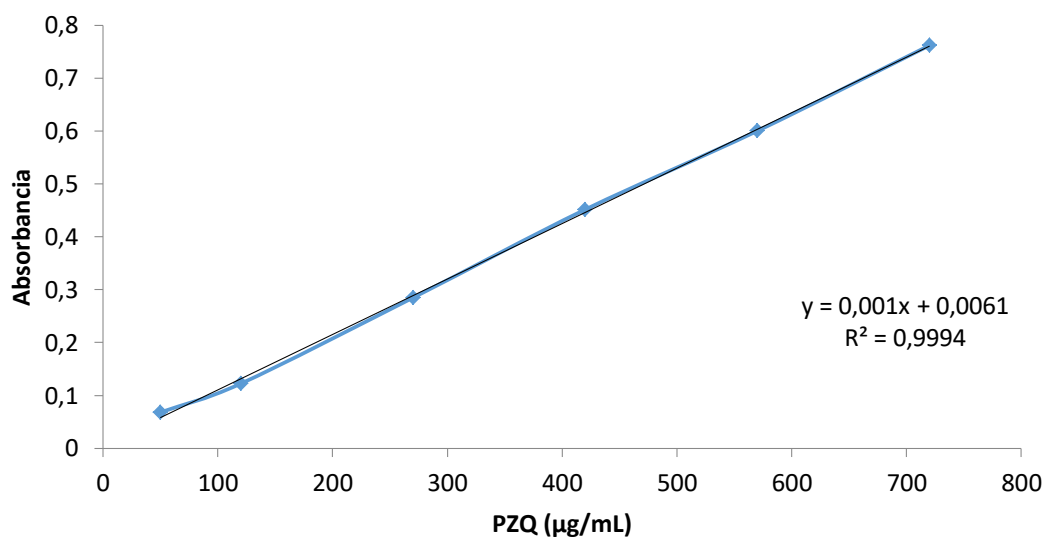
Figura 31- Gráfico dos resíduos da linearidade através do calculo de regressão linear referente ao ensaio 1:



Fonte: Autoria própria.

No ensaio 2, contendo HCl 0,1M, foi possível determinar o coeficiente de correlação $r = 0,99968$ e o coeficiente de determinação $r^2 = 0,99936$, confirmando que há uma correlação linear entre a absorbância e a concentração das amostras, como mostrado na figura 32.

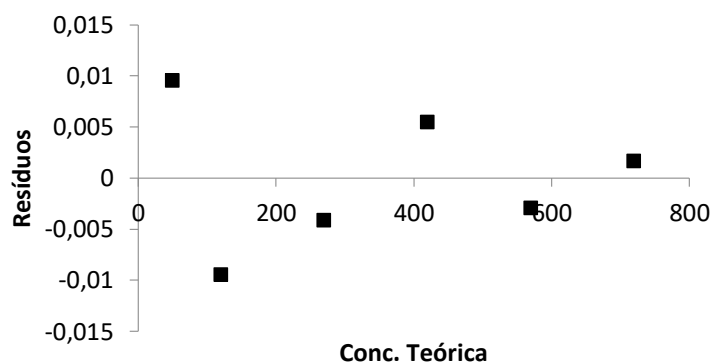
Figura 32 – Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade referente ao ensaio 2 (com HCl 0,1M).



Fonte: Autoria própria.

O calculo de resíduos da linearidade do ensaio 2 também apresentou resultados satisfatórios, visto que, os resíduos foram distribuídos em torno do zero, representando uma dispersão aleatória e sem tendência, como mostrado na figura 33.

Figura 33 - Gráfico dos resíduos da linearidade através do cálculo de regressão linear referente ao ensaio 2:

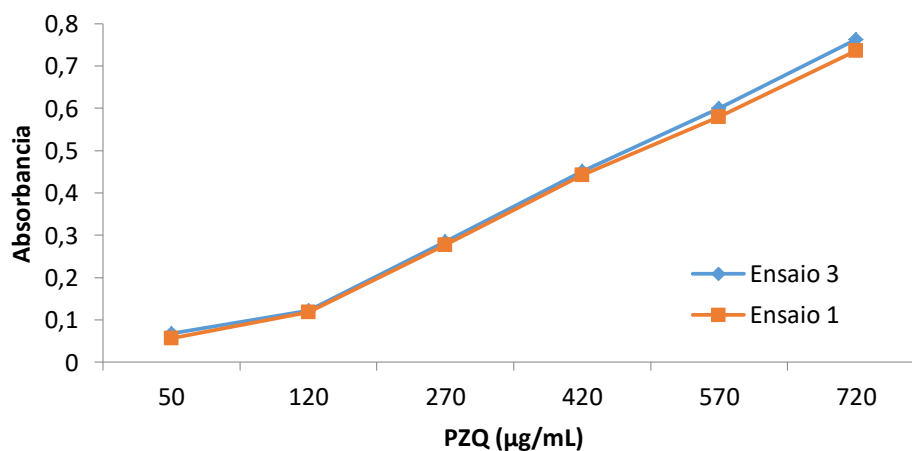


Fonte: Autoria própria.

5.7.2.2 Efeito matriz

Através do resultado das inclinações do ensaio 1 e do ensaio 3 (com HCl 0,1M e HDL) pôde-se obter o resultado do efeito matriz, onde foi obtido um valor próximo de 1 (1,026077), resultado este considerado satisfatório em relação ao paralelismo das retas das duas curvas, indicando ausência de interferência dos constituintes da matriz. Ou seja, satisfeita as premissas e confirmada a linearidade do analito em matriz. Na figura 34, pode-se observar o paralelismo entre as retas das duas curvas.

Figura 34 – Paralelismo entre as retas das curvas no efeito matriz.



Fonte: Autoria própria.

5.7.2.3 Precisão

5.7.2.3.1 Repetibilidade

A repetibilidade foi realizada apenas com o método contendo HCl, em sextuplicata e os resultados encontram-se expostos na tabela 08.

Tabela 08 – Resultados da repetibilidade do método.

Repetibilidade									
Amostras	1	2	3	4	5	6	Média	DP	DPR (%)
ABS	0,270	0,290	0,273	0,289	0,270	0,285	0,2795	0,009524	3,40739

Fonte: Autoria própria.

De acordo com os resultados expostos na Tabela 08, pôde-se concluir que o método apresenta uma boa repetibilidade visto que produz um resultado com baixo valor de DPR.

5.7.2.4 Robustez

A robustez foi dada através da análise em diferentes concentrações do fármaco (concentração baixa, média e alta da curva) sem e com adição de HCl. Os resultados da robustez foram expressos pela equação 01 e podem ser verificados na tabela 09.

Tabela 09 – Resultado da robustez através da variação intencional de pH com HCl 0,1M.

Robustez				
Método	[] Teórica de PZQ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	[] Calculada de PZQ (Média)	DPR (Média)	% de Recuperação
Ensaio 2	50	57,567	0,907	115,1333333
Ensaio 2	270	288,567	0,784	106,8765432
Ensaio 2	720	776,900	0,664	107,9027778
Ensaio 1	50	53,633	8,005	107,2666667
Ensaio 1	270	274,633	2,533	101,7160494
Ensaio 1	720	733,633	1,291	101,8935185

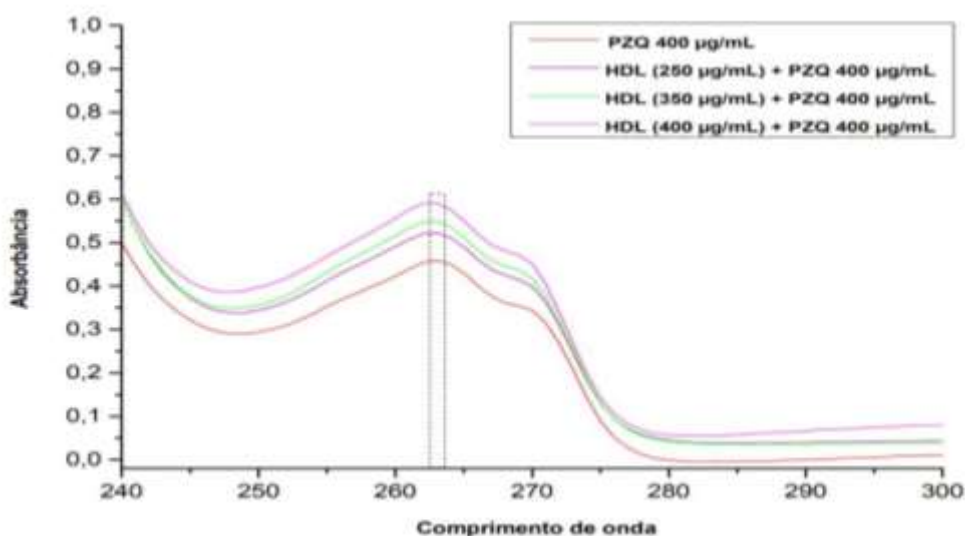
Fonte: Autoria própria.

De acordo com o artigo 61 da RDC 166/17 da ANVISA, os resultados da robustez devem apresentar capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas. O método objetiva o doseamento de sistemas contendo HDL-PZQ. Como visto nos DPR das amostras contendo HCl, todas possuem baixa variabilidade intrínseca. Foi possível observar um pequeno aumento no percentual de recuperação do analito nas amostras de concentração mais baixa ($50 \mu\text{g.mL}^{-1}$), pois estas tornam-se mais susceptíveis a variações devido a sensibilidade do método, já que a concentração de trabalho fica em torno de $270 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Dessa maneira, o método encontra-se com uma % de recuperação mais próximo de 100% nas amostras mais concentradas. Estes valores não inviabilizam a revalidação do método, visto que a RDC 166 não determina valores para os resultados, mas sim uma justificativa para os mesmos. Vale ressaltar que o método mostrou-se linear, preciso, como demonstrado anteriormente.

5.7.3 Doseamento do PZQ nos sistemas e misturas físicas

Uma vez solúvel no meio, os HDL promovem uma interferência na absorção de luz do PZQ, acarretando em resultados de concentrações não fidedignos do fármaco. Na figura 35, pode-se observar que, para uma mesma concentração de PZQ em soluções contendo etanol e HCl 0,1 M, com concentrações distintas de HDL, a absorbância do praziquantel aumenta conforme o aumento da concentração do carreador no meio.

Figura 35 – Comparação das absorbâncias do PZQ em concentrações distintas de HDL.



Fonte: autoria própria.

Para a correção deste problema no tratamento dos dados das dissoluções, fez-se uso da espectrofotometria de derivadas, uma alternativa menos dispendiosa em relação a métodos analíticos sensíveis como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), que também é capaz de separar diferentes compostos contidos em uma mesma amostra, que absorvem luz na mesma região do espectro ou que gerem uma dispersão da luz de modo a prejudicar a leitura de outro (SUN & LEE, 2013; DONATO et al., 2010).

Com base nos dados de concentrações obtidos através da curva analítica proposta, pôde-se dosear o percentual de PZQ que, de fato, estava contido nos sistemas e misturas físicas. Tomando por base as concentrações teóricas do IFA, a partir do que foi inserido no ato da obtenção dos sistemas e misturas físicas, os resultados obtidos podem ser observados na tabela 10:

Tabela 10 – Doseamento de PZQ por espectrofotometria.

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO TEÓRICA ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	CONCENTRAÇÃO CALCULADA ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	% DE PZQ EM RELAÇÃO A [] TEÓRICA	% DE PZQ NOS SISTEMAS
SISTEMA 1	499,84	303,03	64,05	31,99
SISTEMA 2	312,4	178,79	56,42	17,63
SISTEMA 4	203,06	121,21	53,53	10,87
MF 1	499,84	484,87	102,85	51,37
MF 2	312,4	293,94	100,49	31,39
MF4	203,06	193,94	97,06	19,71

Fonte: dados da pesquisa.

O doseamento revelou que a metodologia utilizada para a obtenção dos sistemas por co-solubilização não se mostrou a mais adequada, sendo reflexo disso, as concentrações finais de PZQ foram reduzidas em relação ao que foi inserido no ato da produção. Isso certamente está atrelado ao movimento de agitação que o material foi submetido para homogeneização e evaporação parcial do solvente, onde foi observado um acúmulo de massa nas paredes do recipiente em que os sistemas estavam contidos.

As nomenclaturas 1, 2 e 4 dos sistemas e misturas físicas foram denominadas baseando-se na proporção molar entre HDL e fármaco, de modo que houvesse 1, 2 e 4 partes de carreador para 1 de PZQ. Em outras palavras, resultaria em uma relação de aproximadamente 50%, 30% e 20% de fármaco-HDL, o que não foi constatado no doseamento, como ilustrado na última coluna da tabela 10.

5.7.4 Análise elementar

A estrutura química do praziquantel apresenta 19 carbonos no total, e estes somam uma massa molar de 228 g.mol^{-1} . Levando em consideração que a massa molar do fármaco totaliza $312,4 \text{ g.mol}^{-1}$, o percentual de carbonos na molécula corresponde a 73%. Diante da composição química dos sistemas e misturas físicas, somente pela quantidade de carbono encontrada na análise elementar, pode-se determinar o teor de fármaco incorporado, pois somente ele detém esse elemento.

A tabela 11 mostra o percentual de carbono obtido experimentalmente, bem como o teor de PZQ calculado para cada amostra:

Tabela 11 – Doseamento de PZQ por análise elementar.

AMOSTRA	% CARBONO	% PZQ
SISTEMA 1	25,8	35,34
SISTEMA 2	14,49	19,85
SISTEMA 4	10,48	14,35
MF 1	38,09	52,18
MF 2	22,39	30,67
MF 4	16,82	23,04

Fonte: dados da pesquisa.

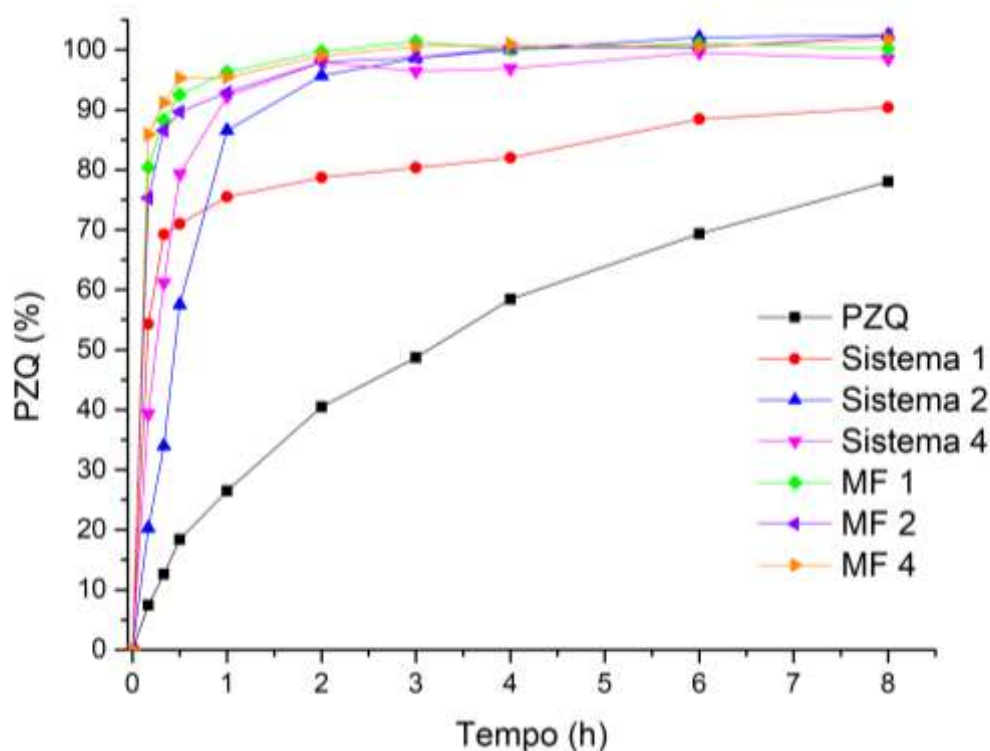
Levando em consideração os dados obtidos no doseamento por espectrofotometria derivatizada, os resultados dos dois experimentos mostraram-se bastante similares. O percentual levemente superior de fármaco encontrado na análise elementar pode estar atrelado a pequenas contaminações do material pelo CO_2 atmosférico no momento do preparo da amostra. Desta forma, é possível inferir que esta técnica foi comprobatória para determinar a

confiabilidade do método analítico de doseamento por espectrofotometria, que teve seus resultados utilizados para a correção das massas de fármaco utilizadas na dissolução.

5.7.5 Ensaios de dissolução

Os perfis de dissolução do PZQ, sistemas e MF HDL:PZQ sob condição *sink* estão dispostos na figura 36:

Figura 36 – Perfis de dissolução do praziquantel, seus sistemas e misturas físicas com os HDL.



Fonte: autoria própria.

Experimentalmente pôde-se observar que nos primeiros minutos da dissolução, tanto os sistemas quanto as MF foram capazes de propiciar concentrações de PZQ de até 90% liberado. Esta rápida liberação está atrelada ao fato dos HDL apresentarem boa solubilidade em meios ácidos, favorecendo a liberação imediata da forma mais solúvel (amorfa) do PZQ. Em relação aos sistemas, os melhores desempenhos foram atribuídos aos de número 2 e 4, onde as proporções do carreador pareceram ser mais eficazes para a taxa de dissolução do PZQ. Pode-se observar um incremento da taxa de dissolução bastante relevantes para todos os sistemas e misturas físicas propostas, sendo chamada a atenção para estas últimas, onde de

acordo com dados obtidos através das técnicas de DRX e espectroscopia de infravermelho, alterações do ponto de vista cristalino da molécula do fármaco (amorfização), não foram evidenciadas, o que possivelmente impactaria em sua dissolução. O calor e o cisalhamento durante o experimento da dissolução podem ter propiciado mais interações entre fármaco e o carreador, além daquelas geradas na maceração para obtenção do material.

Os resultados dos perfis de dissolução podem ser confirmados através da análise da área sobre a curva (AUC) e da eficiência de dissolução (ED%), onde no final da dissolução pôde-se verificar que tanto os sistemas quanto as MF apresentaram valores mais altos de eficiência quando em comparação com o PZQ isolado. Os resultados obtidos de acordo com a tabela 12 confirmam a eficácia dos sistemas e MF desenvolvidos no tocante a modulação da liberação do fármaco e a obtenção de incremento de solubilidade do mesmo.

Tabela 12 – Valores de AUC e ED obtidos a partir do perfil de dissolução do PZQ, sistemas e MF.

AMOSTRA	AUC [PZQ (%) x h]	ED (%)
PZQ	422,79	52,85
SISTEMA 1	650,15	81,27
SISTEMA 2	744,17	93,02
SISTEMA 4	749,62	93,70
MF 1	784,72	98,09
MF 2	776,98	97,12
MF4	784,64	98,08

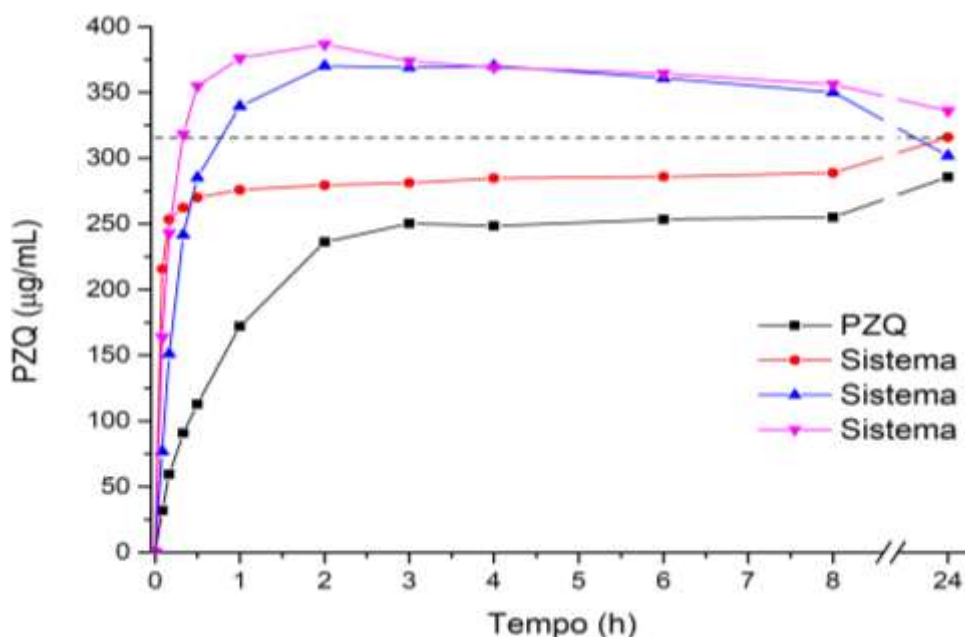
Fonte: autoria própria.

Trabalhos envolvendo dispersões sólidas como o de Dametto e colaboradores (2017) mostraram que a associação entre PZQ e polímeros é uma alternativa viável quando se almeja o incremento da solubilidade cinética do fármaco. Sistemas contendo PZQ e Gelucire[®] (associação entre ésteres e glicerídeos) mostraram que até a primeira hora de dissolução foi possível alcançar 55% da concentração máxima proposta *versus* 20% do PZQ isolado. As dispersões desenvolvidas por Lima (2009) utilizando polivinilpirrolidona (PVP K-30) e PZQ trazem resultados superiores, ilustrando 85% de fármaco dissolvido no mesmo tempo anteriormente citado. Todavia, para obtenção do material, foi empregada a técnica de fluido supercrítico, o que viria a gerar um custo-produtividade a ser analisado com mais critério. Em

relação a complexos de inclusão, o trabalho de Cugovčan (2017) mostra que as ciclodextrinas (metil- β -ciclodextrina e hidroxipropil- β -ciclodextrina) produzem resultados bastante significativos, com os quais os resultados do presente trabalho se assemelham com mais equivalência: em 10 minutos de dissolução, os complexos de inclusão conseguem atingir mais de 90% da concentração máxima proposta, mantendo-se constante pelo resto do experimento.

As dissoluções realizadas sob condições *non-sink* levaram em consideração a solubilidade de equilíbrio encontrada para o PZQ experimentalmente ($315,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$). A figura 37 ilustra o perfil de dissolução dos sistemas de HDL e PZQ:

Figura 37 – Perfis de dissolução *non-sink* do PZQ e seus sistemas com os HDL. A linha tracejada representa a solubilidade de equilíbrio do praziquantel.



Fonte: autoria própria.

Como pôde ser observado, o PZQ isolado não consegue solubilizar-se de modo a atingir a sua própria concentração de equilíbrio. Isso está atrelado ao fato da quantidade de meio de dissolução ser insuficiente para gerar uma solução saturada a partir do fármaco em seu estado cristalino. Além disso, é evidenciado que a sua taxa de dissolução é mais lenta em relação aos sistemas. Um comportamento similar ocorreu com o sistema 1, no qual a proporção do carreador não foi suficiente para gerar alterações na estrutura do fármaco e tornar o sistema capaz atingir concentrações superiores a sua oncentração de equilíbrio (C_s). Já em relação à rápida liberação do PZQ no meio, o sistema 1 mostrou-se eficiente, como já

comentado na dissolução sob condição *sink*. Para os sistemas 2 e 4, as proporções de HDL exerceram forte influência sobre o PZQ, onde além da rápida liberação do fármaco no meio, houve a formação de soluções supersaturadas e, desse modo, o fármaco conseguiu manter-se em solução durante várias horas. Tal resultado pode impactar diretamente na biodisponibilidade do praziquantel no sistema gastrointestinal, que uma vez estando em solução e por mais tempo, o mesmo está apto a ser absorvido em maior taxa (SUN; LEE 2015a), podendo vir a possibilitar uma menor administração de doses de fármaco ao paciente. Sun & Lee (2015) explicam que a capacidade de um carreador solúvel no meio de dissolução de manter essa supersaturação, ou seja, de poder inibir/retardar a nucleação e posterior recristalização do fármaco, pode estar atrelada à sua propriedade de atuar como surfactante após estar solubilizado.

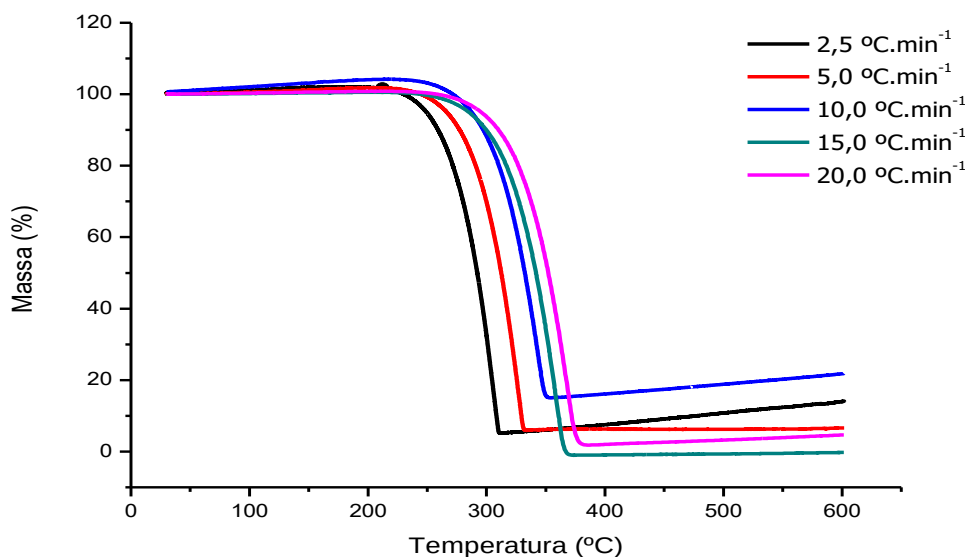
Em estudo realizado por Münster et al. (2017), foram realizados testes de dissolução sob condição *non-sink*, em pH 1,2, comparando o perfil do PZQ com dispersões sólidas binárias do IFA contendo diversos tipos de polímeros: Eudragit[®] (E PO, RL, L100, S100) e Kollidon[®] SR (PVP). Pôde-se observar que o PZQ isolado apresentou o mesmo perfil do que foi observado no presente trabalho e dentre os polímeros, o Eudragit[®] E PO apresentou liberação imediata do fármaco, promovendo supersaturação no decorrer dos primeiros minutos da dissolução e tendo o processo de recristalização do PZQ ocorrendo a partir de 60 minutos, onde a concentração do fármaco no meio foi reduzida. Outro polímero que chamou a atenção e principalmente utilizado na tecnologia farmacêutica, foi o PVP que apenas consegue atingir aproximadamente metade da concentração que o Eudragit[®] E PO promove de supersaturação do fármaco e que logo decai também aos 60 minutos.

5.8 Cinética de degradação térmica

A cinética de degradação térmica vem sendo um método bastante utilizado para a determinação de parâmetros cinéticos, como por exemplo, ordem de reação, energia de ativação (E_a) e fator de frequência (A), possibilitando a caracterização e determinação de estabilidade térmica de fármacos e formulações farmacêuticas (COSTA, 2016). O método de Flynn, Wall e Ozawa está entre os mais descritos na literatura, contribuindo para os estudos de novos materiais. Este procedimento pode ser realizado através da termogravimetria como também pela calorimetria exploratória diferencial (CLEMENTE et al., 2014).

Na figura 38, são mostradas as curvas TG do PZQ isolado obtidas através das diferentes razões de aquecimento. Pode-se observar através do gráfico que as reações ocorreram em uma única etapa e o início de cada evento térmico aumentou à medida que foi utilizado razão de aquecimento mais alta, o mesmo acontece com o final do evento térmico.

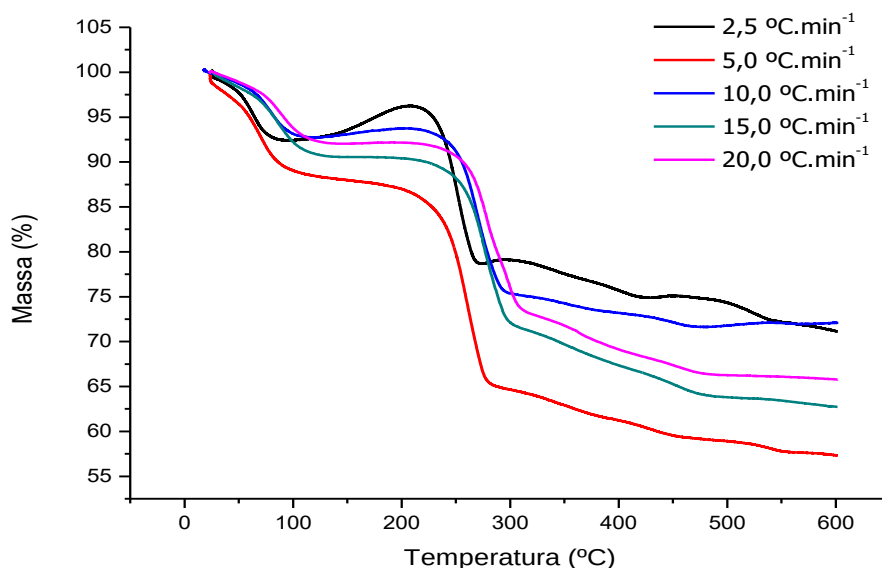
Figura 38 – Curvas TG do praziquantel obtido em cinco razões de aquecimento sob atmosfera de nitrogênio no método não isotérmico.



Fonte: Autoria própria.

Na figura 39, pode-se observar as curvas TG do sistema 4 obtidas a partir das diferentes razões de aquecimento.

Figura 39 – Curvas TG do sistema 4 obtidas em cinco razões de aquecimento sob atmosfera de nitrogênio no método não isotérmico.

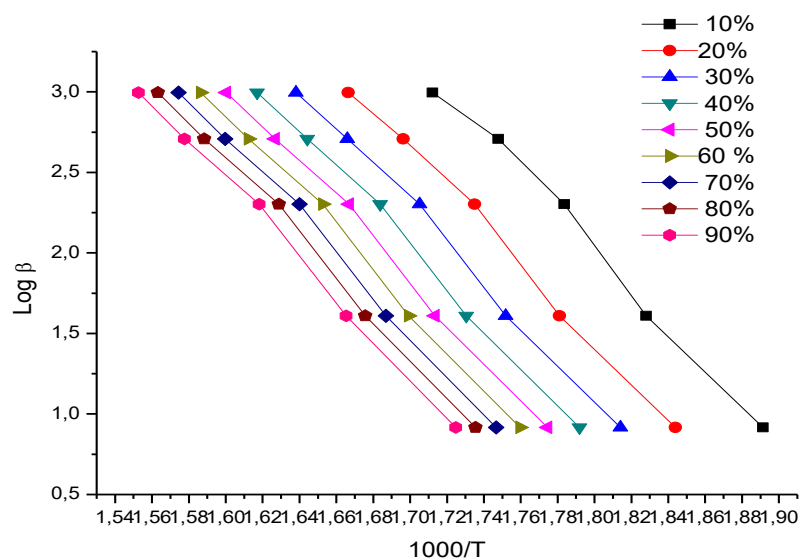


Fonte: Autoria própria.

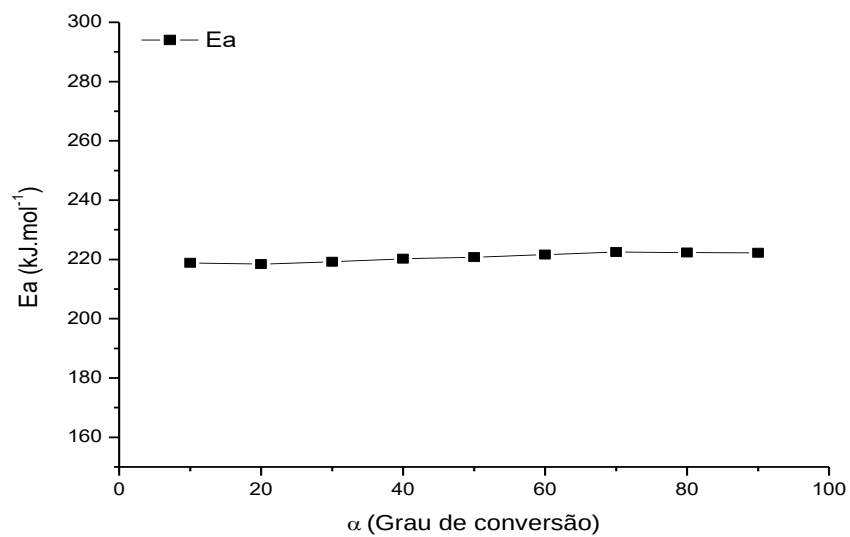
O método foi realizado através das curvas TG (Figuras 38 e 39). Para determinação da cinética de degradação não isotérmica a obtenção destas curvas proporcionou a correlação de $\log \beta \times 1.K^{-1}$. Posterior ao tratamento dos dados foram obtidos os gráficos do tipo *Conversão de massa / α vs Temperatura /K*. Em seguida foram calculados os valores do grau de conversão (α) em função da razão de aquecimento (β), para os níveis conversionais entre 10 a 90%. Com base nesses dados a determinação dos parâmetros cinéticos foi realizada aplicando o método de Flynn-Wal-Ozawa. As figuras 40 e 41 apresentam os gráficos referente ao método de FWO e da energia de ativação (E_a) em relação à fração de conversão (α) do PZQ isolado e do sistema 4.

Figura 40 – (a) Gráfico de FWO; (b) gráfico evidenciando a E_a em relação a fração de conversão (α) do PZQ isolado.

(a)



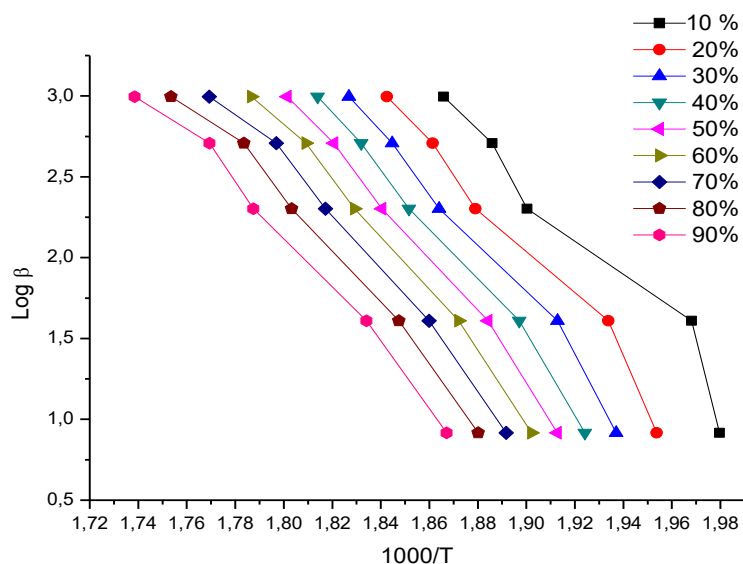
(b)



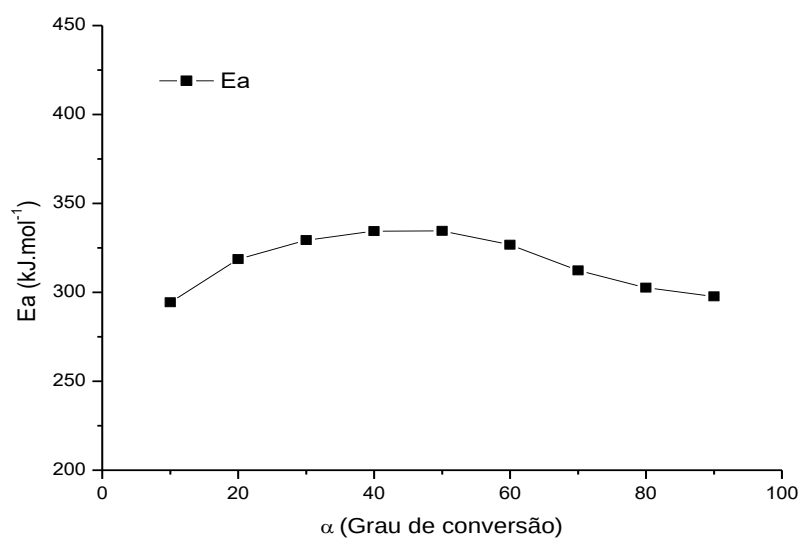
Fonte: Autoria própria.

Figura 41 – (a) Gráfico de FWO; (b) gráfico evidenciando a E_a em relação a fração de conversão (α) do sistema 4.

(a)



(b)



Fonte: Autoria própria.

De acordo com os parâmetros analisados, a E_a é o que apresenta maior relevância visto que apresenta capacidade de avaliar a estabilidade de compostos farmacêuticos. O estabelecimento deste parâmetro acarreta em um perfil comparativo referente à estabilidade

entre fármacos e suas respectivas associações, onde quanto maior E_a atingida, maior será a estabilidade térmica dos compostos (COSTA, 2016).

Com base no método realizado de Flynn-Wal-Ozawa, tanto para o PZQ isolado quanto para o sistema 4, as retas obtidas através do ajuste linear apresentaram um espaçamento irregular entre as curvas para as frações de 10 a 40% e 10 a 30%, respectivamente. O paralelismo das retas pode ser observados a partir de 50% para o PZQ isolado e 40% para o sistema 4 (figuras 40a e 41a), apresentando um comportamento cinético semelhante, no qual provavelmente o mecanismo de reação para essas faixas de conversão é equivalente, ou que há uma unificação dos mecanismos de reações múltiplas (ORNAGHI et al., 2013).

As figuras 40b e 41b apresentam a relação entre a E_a e a fração de conversão (α) para as amostras de PZQ e sistema 4, atingindo o maior valor, em aproximadamente 222 kJ/Mol em 70 % (apesar de apresentar um comportamento praticamente linear) e 334 kJ/Mol em 40 e 50%, respectivamente. A tabela 13 apresenta a relação entre os valores de coeficiente de correlação linear e os valores de energia de ativação. De acordo com o método de FWO, a fração que melhor descreve o processo é aquela que apresenta o coeficiente de correlação linear (R^2) mais próximo da unidade.

Tabela 13 – Relação entre os valores de coeficiente de correlação linear e os valores de energia de ativação para cada fração de conversão do PZQ e sistema 4.

Fração (%)	PZQ		Sistema 4	
	Energia de ativação (E_a)	Coeficiente de correlação linear	Energia de ativação (E_a)	Coeficiente de correlação linear
10	218,80	0,989	294,29	0,931
20	218,45	0,993	318,67	0,969
30	219,20	0,995	329,36	0,983
40	220,23	0,995	334,41	0,990
50	220,78	0,995	334,58	0,992
60	221,66	0,995	326,69	0,991
70	222,44	0,995	312,27	0,986
80	222,31	0,995	302,58	0,983
90	222,26	0,995	297,64	0,983

Fonte: Autoria Própria.

Apesar das vantagens que um fármaco no estado amorfo apresenta, como por exemplo, um perfil de dissolução mais rápido quando em comparação com a sua estrutura cristalina, algumas desvantagens também podem ocorrer como estruturas química e fisicamente menos estáveis, pelo fato de que pode favorecer a recristalização do produto no decorrer do período de vida útil de sua utilização (ALVES et al.,2012).

Através da técnica de DRX foi possível identificar que o sistema 4 apresentou características de estado amorfo, fato este que corroborou para uma boa taxa de dissolução do IFA. Apesar da literatura relatar algumas desvantagens para fármacos amorfos como a diminuição da sua estabilidade, este estudo de cinética de degradação apresentou resultados promissores, visto que, de acordo com a figura 40b e 41b pode-se observar um aumento da E_a para o sistema 4 quando comparado com o PZQ isolado. Este resultado preconiza uma ausência de incompatibilidade entre o HDL e o fármaco, assim como também sugere um aumento na estabilidade térmica.

CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

- A síntese do CaAl-HDL foi obtida com êxito, onde a sua propriedade estrutural apresentou-se adequada e similar a trabalhos previamente descritos na literatura. A área superficial obtida proporcionou uma alta capacidade de adsorção do fármaco ao CaAl-HDL, este fato demonstra sua aplicabilidade como carreador de fármacos.
- As obtenções dos sistemas e das misturas físicas através de diferentes proporções molares foram corroboradas mediante as técnicas de caracterização aplicadas, evidenciando a formação dos sistemas, particularmente quando em comparação com os seus precursores isolados.
- O estudo de cinética de degradação térmica do sistema 4 apresentou resultados promissores, uma vez que, fármacos em seu estado amorfo apresentam diminuição de sua estabilidade. Portanto, um aumento na energia de ativação do sistema 4 foi observado quando comparado com o PZQ isolado. Desta maneira, o resultado evidencia a ausência de incompatibilidade entre o HDL e o PZQ, assim como reflete no aumento de estabilidade térmica.
- O método de quantificação do PZQ, revalidado de acordo com a RDC 166 de 2017 da ANVISA demonstrou-se linear, preciso e robusto para os parâmetros avaliados. Além disso, comprovado também pelo efeito matriz. A metodologia se mostrou adequada para substituir o método já validado, pois não houve diferenças significativas entre os resultados obtidos quando com a adição do ácido.
- Nos ensaios de dissolução *in vitro*, sob condições *sink* e *non-sink*, os hidróxidos duplos lamelares mostraram-se bastante promissores, promovendo aos sistemas e MF o incremento de solubilidade quando comparado ao PZQ isolado. Esta peculiaridade apresenta grande potencial para a aplicação em medicamentos, inclusive para o desenvolvimento de formas farmacêuticas, com o intuito de otimizar a terapial atual, através de possível diminuição de dosagem e consequente redução de efeitos adversos, imprescindível para a adesão do tratamento ao paciente pediátrico.

PERSPECTIVAS

7. PERSPECTIVAS

- Realizar estudo de Ressonância Magnética Nuclear dos sistemas, para melhor elucidar as interações ocorridas entre as moléculas.
- Desenvolver formulação líquida pediátrica a partir do melhor sistema de liberação.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- AERTS, C. et al. Are public-private partnerships the solution to tackle neglected tropical diseases? A systematic review of the literature. **Health Policy**, v. 121, p. 745-754, 2017.
- AGUILERA, C. S. B. Desenvolvimento de sistema de liberação prolongada do antirretroviral zidovudina a partir de hidróxido duplo lamelar. 2016. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, 2016.
- AKAHIRA, T.; SUNOSE, T. Method of determining activation deterioration constant of electrical insulating materials. **Sci Technol**, v. 22, p. 22–7, 1971.
- ALBONICO, M. et al. Monitoring the efficacy of drugs for neglected tropical diseases controlled by preventive chemotherapy. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 3, p. 229-236, 2015.
- ALBU, P. et al. Thermal behaviour and drug-excipient interaction studies for quinidine. **Revue Roumaine de Chimie**. v. 60, p. 587-593, 2015.
- ALVES, L. D. S. et al. Avanços, propriedades e aplicações de dispersões sólidas no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas. *Revista de ciências farmacêutica básica e aplicada*, v. 33, n. 1, p. 17-25, 2012.
- Aulton ME (ed). Delineamento de Formas Farmacêuticas. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p.677.
- BARBOSA, C. S. et al. Casos autóctones de esquistossomose mansônica em crianças de Recife, PE. **Revista de Saúde Pública**, v. 47, p. 684-90, 2013.
- BARBOSA, C. S. et la. Morbidity of mansonii schistosomiasis in Pernambuco-Brazil: Analysis on the temporal evolution of deaths, hospital admissions and severe clinical forms (1999–2014). **Acta Tropica**, v. 164, p. 10-16, 2016.
- BENDINELLI, E. V. et al. Effects of lamellar reconstruction routes in the release of molybdate encapsulated in MgeAl layered double hydroxides. **Materials Chemistry and Physics**, v. 173, p. 26-32, 2016.
- BERGQUIST, R. et al. Surveillance and response: tools and approaches for the elimination stage of neglected tropical diseases. **Acta Tropica**, v. 141, p. 229–234, 2015.
- BI, X.; ZHANG, H.; DOU, L. Layered Double Hydroxide-Based Nanocarriers for Drug Delivery. **Pharmaceutics**, v. 6, p. 298-332, 2014.
- BORREGO-SÁNCHEZ, A. et al. Molecular and crystal structure of praziquantel. Spectroscopic properties and crystal polymorphism. **International Journal for Parasitology**, v. 46, p. 343-350, 2016.

BRASIL, **Resolução RDC nº 166, de 24 de julho de 2017**. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, 2017.

BROWN, M. E. **Introduction to The Thermal Analysis**. Techniques and Applications. Kluwer academic Publishers, Second Edition, 2001.

BYGOTT, J. M.; CHIODINI, P.L. Praziquantel: Neglected drug? Ineffective treatment? Or therapeutic choice in cystic hydatid disease? **Acta Tropica**, v. 111, p. 95-101, 2009.

CAMPELO, Y.D.M. et al. Synergistic effects of in vitro combinations of pipartine, epiisopiloturine and praziquantel against *Schistosoma mansoni*. **Elsevier Masson France**, v. 88, n.1, p.488-499, 2017.

CAMPO, F. S. **Desenvolvimento de hidrogéis dedextrano contendo praziquantel**. 2009. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara – SP, 2009.

CAO, Y.; LI, G.; LI, X. Graphene/layered double hydroxide nanocomposite: Properties, synthesis, and applications. **Chemical Engineering Journal**, v. 292, p.207-223, 2016.

CARVALHO, L. S. A. et al., Schistosomicidal activity and docking of *Schistosoma mansoni* ATPDase 1 with licoflavone B isolated from *Glycyrrhiza inflata* (Fabaceae). **Experimental Parasitology**, v. 159, p.207-214, 2015.

CHAKRABORTY, M.; MITRA, M.; CHAKRABORTY, J. One-pot synthesis of CaAl-layered double hydroxide-methotrexate nanohybrid for anticancer application. **Bulletin of Materials Science**. v. 40, n. 6, p.1203-1211, 2017.

CIOLI, D. et al. Schistosomiasis control: praziquantel forever? **Molecular & Biochemical Parasitology**, v.195, p. 23-29, 2014.

CLEMENTE, M. et al. Desenvolvimento de tecnologia de pré-polímeros na síntese de poliuretanos empregados em combustíveis sólidos. **Química Nova**, v. 37, n. 6, p. 982-988, 2014.

CLERINX, J.; GOMPEL, A. V. Schistosomiasis in travellers and migrants. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 9, p. 6-24, 2011.

COHEN, J. P.; STURGEON, G.; COHEN, A. Measuring Progress in Neglected Disease Drug Development. **Clinical Therapeutics**, v.36, n.7, p. 1037-1042, 2014.

COHEN, J. P. et al. Progress Report on Neglected Tropical Disease Drug Donation Programs. **Clinical Therapeutics**, v. 38, p. 1193-1204, 2016.

COLLEY, D. G. et al. Human schistosomiasis. **The Lancet**, v. 383, p. 2253-2264, 2014.

COSTA, S.P.M. **Estudo de pré-formulação de um novo agente esquistossomicida 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-nitro-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (LPSF/FZ4)**. 2012. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.

COSTA, S. P. M. **Obtenção de sistemas poliméricos microparticulados para o aumento da velocidade de dissolução do efavirenz na terapia anti-HIV**. 2016. 152 p. Tese (Doutorado em Inovação Terapêutica) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

COULIBALY, J. T. et al. Efficacy and Safety of Praziquantel in Preschool-Aged Children in an Area Co-Endemic for *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. v. 6 , p.1917, 2012.

COUTO, F. F. B. Estudo da resistência do *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 ao praziquantel. 2014. 98 f. Tese (Doutorado em ciências da saúde do Centro de Pesquisa René Rachou). Belo Horizonte, 2014.

CUGOVCAN, M. et al. Biopharmaceutical characterization of praziquantel cocrystals and cyclodextrin complexes prepared by grinding. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.137, p. 42-53, 2017.

CUNHA, V. R. R.; FERREIRA, A. M. C.; CONSTATINO, V. R. L. Hidróxidos duplos lamelares: nanopartículas inorgânicas para armazenamento e liberação de espécies de interesse biológico e terapêutico. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 159-171, 2010.

DAMETTO, P. R. et al. Development and physicochemical characterization of solid dispersions containing praziquantel for the treatment of schistosomiasis. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v. 127, p. 1693-1706, 2017.

DEL ARCO, M. et al. Solubility and release of fenbufen intercalated in Mg, Al and Mg, Al, Fe layered double hydroxides (LDH): The effect of Eudragits S 100 covering. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 183, p. 3002-3009, 2010.

DIAS, L.C. et al. Doenças Tropicais Negligenciadas: Uma Nova Era de Desafios e Oportunidades. **Química Nova**, v.36, n.10, p.1552-1556, 2013.^[1]_{SEP}

DJEBBI, M. A. et al. Delivery system for berberine chloride based on the nanocarrier ZnAl-layered double hydroxide: Physicochemical characterization, release behavior and evaluation of anti-bacterial potential. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 515, p. 422-430, 2016.

DONATO, E.M. et al. Espectrofotometria derivada: uma contribuição prática para o desenvolvimento de métodos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.31, p. 120-130, 2010.

DUAN, W. W. et al. Praziquantel derivatives exhibit activity against both juvenile and adult *Schistosoma japonicum*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, p. 1587-1590, 2012.

EDITORIAL. A new global strategy for the elimination of schistosomiasis. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 54, p. 130–137, 2017.

ELMORSHEDY, H. et al. Prophylactic effect of artemether on human schistosomiasis mansoni among Egyptian children: A randomized controlled trial. **Acta Tropica**, v.158, p.52-58, 2016.

FAVERO, V. et al. Optimization of the Helmintex method for schistosomiasis diagnosis. **Experimental Parasitology**, v. 177, p. 28-34, 2017.

FAVRE, T. C. et al. School-based and community-based actions for scaling-up diagnosis and treatment of schistosomiasis toward its elimination in an endemic area of Brazil. **Acta Tropica**, v. 149, p. 155-162, 2015.

FERENCZ, Z. et al. Optimisation of the synthesis parameters of mechanochemically prepared CaAl-layered double hydroxide. **Applied Clay Science**, v. 112-113, p. 94-99, 2015.

FERENCZ, Z.S. et al. Mechanochemical synthesis and intercalation of Ca(II) Fe(III) - layered double hydroxides. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 233, p. 236-243, 2016.

FERRAZ, L. R. M. **Desenvolvimento e avaliação da liberação in vitro de drug delivery system pH-dependente à base de benznidazol e ZIF-8 visando a obtenção de uma terapia alternativa para a doença de chagas**. 2017. 176 p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 2017.

FLYNN, J. H.; WALL, L. A. A quick direct method for determination of activation energy from thermogravimetric data. **J Polym Sci B**, v. 4, p. 323–8, 1996.

FONTES, D. A. F. Síntese e aplicação de hidróxidos duplos lamelares: adjuvantes funcionais para incremento de solubilidade e sistemas de liberação de fármacos. 2016. 145 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Pernambuco, 2016.

FRIEDMAN, H. L. New methods for evaluating kinetic parameters from thermal analysis data. **J Polym Sci**, v. 6C, p. 183–7, 1965.

FRIGERIO, S. et al. Knowledge, Attitudes, and Practices Related to Schistosomiasis Among Children in Northern Senegal. **Annals of Global Health**, v. 82, p. 840-847, 2016.

GAO, X. et al. In vitro controlled release of vitamin C from Ca/Al layered double hydroxide drug delivery system. **Materials Science and Engineering**, v. 39, p. 56-60, 2014.

GAZZINELLI, M.F. et al. Improving the understanding of schistosomiasis among adolescents in endemic areas in Brazil: A comparison of educational methods. **Patient Education and Counseling**, v. 99, n.1, p. 1657-1662, 2016.

GRYSEELS, B. Schistosomiasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, p. 383-397, 2012.

GOMES, T. A. et al. Estratégias utilizadas para o incremento da solubilidade do fármaco antiretroviral classe II: Efavirenz. **Revista de ciências farmacêuticas básica e aplicada**, v. 36, n. 2, p. 239-249, 2015.

GUTIÉRREZ, M. L. et al. Pharmacokinetics of a novel spot-on formulation of praziquantel for dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 239, p.46-49, 2017.

HINZ, R. et al. Serological approaches for the diagnosis of schistosomiasis e A review. **Molecular and Cellular Probes**, v.31, p.2-21, 2017.

HODGES, M. H. et al. High level of *Schistosoma mansoni* infection in pre-school children in Sierra Leone highlights the need in targeting this age group for praziquantel treatment. **Acta Tropica**, v. 124, p. 120-125, 2012.

HOTEZ, P. J.; FUJIWARA, R. T. Brazil's neglected tropical diseases: an overview and a report card. **Microbes and Infection**, v.16, p. 601-606, 2014.

HOTEZ, P. J.; WOC-COLBURN, L.; BOTTAZZI, M. E. Neglected tropical diseases in Central America and Panama: Review of their prevalence, populations at risk and impact on regional development. **International Journal for Parasitology**, v. 44, p. 597-603, 2014.

JAGDALE, S. C. et al. Solubility enhancement, physicochemical characterization and formulation of fast-dissolving tablet of nifedipine-betacyclodextrin complexes. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, n.1, p.131-145, 2012.

JAURÉGUIBERRU, S.; PARIS, L.; CAUMES, E. Acute schistosomiasis, a diagnostic and therapeutic challenge. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 16, p. 225-231, 2010.

KABORE, A. et al. Initiating NTD programs targeting schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis in two provinces of the Democratic Republic of the Congo: Establishment of baseline prevalence for mass drug administration. **Acta Tropica**, v. 166, n.1, p. 177-185, 2017.

KHAWAM, A.; FLANAGAN, D. R. Solid-State Kinetic Models: Basics and Mathematical Fundamentals. **J. Phys. Chem. B**, v. 110, p. 17315-17328, 2006.

KISSINGER, H. E. Reaction kinetics in differential thermal analysis. **Anal Chem**, v. 29, n. 6, p. 1702-6, 1957.

KONG, S. et al. Establishment of first engineering specifications for environmental modification to eliminate schistosomiasis epidemic foci in urban áreas. **Acta Tropica**, v. 172, p. 132-138, 2017.

KULINKINA, A.V. et al. Indicators of improved water access in the context of schistosomiasis transmission in rural Eastern Region, Ghana. **Science of the Total Environment**, v. 579, p. 1745-1755, 2017.

KUTHATI, Y.; KANKALA, R.K.; LEE, C. Layered double hydroxide nanoparticles for biomedical applications: Current status and recent prospects. **Applied Clay Science**, v. 112-113, p. 100-116, 2015.

LAVRA, Z. M. M. **Incremento da solubilidade e da cinética de dissolução do fármaco efavirenz através da obtenção de misturas binárias amorfas com matrizes poliméricas**. 2016. 255 p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 2016.

LEE, E. F. et al. Apoptosis in schistosomes: toward novel targets for the treatment of schistosomiasis. **Trends in Parasitology**, v. 30, p. 75-84, 2014.

LIMA, A. C. **Preparação de Dispersões Sólidas de Praziquantel com Polivinilpirrolidona pelo Processo do Fluido Supercrítico**. 2009. 124p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara – SP, 2009.

LINDENBERG, M., KOPP, S.; DRESSMAN, J.B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of essential medicines according to the biopharmaceutics classification system. **European Journal of Pharmaceutical Biopharmaceutics Sciences**. v. 58, p.265–278, 2004.

LIU, Z. et al. Synthesis, Anion Exchange, and Delamination of Co–Al Layered Double Hydroxide: Assembly of the Exfoliated Nanosheet/Polyanion Composite Films and Magneto-Optical Studies. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, p. 4872-4880, 2006.

MADBOULY, N.A. et al. Effect of artemether on cytokine profile and egg induced pathology in murine schistosomiasis mansoni. **Journal of Advanced Research**, v. 6, n.1, p. 851-857, 2015.

MALHADO, M. et al. Preclinical pharmacokinetic evaluation of praziquantel loaded in poly (methyl methacrylate) nanoparticle using a HPLC–MS/MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 117, p. 405-412, 2016.

MANRÍQUEZ, M. E. et al. Synthesis of transition metal doped lamellar double hydroxides as base catalysts for acetone aldol condensation. **Applied Clay Science**, v. 118, p. 188-194, 2015.

MARCHAL, B. et al. Neglected tropical disease (NTD) control in health systems: The interface between programmes and general health services. **Acta Tropica**, v. 120S, p. S177-185, 2011.

MARI, L. et al. Heterogeneity in schistosomiasis transmission dynamics. **Journal of Theoretical Biology**, v. 432, p. 87–99, 2017.

MARTINS-MELO, F. R. et al. Trends in schistosomiasis-related mortality in Brazil, 2000–2011. **International Journal for Parasitology**, v.44, p. 1055–1062, 2014.

MARTINS-MELO, F. R. et al. Trends and spatial patterns of mortality related to neglected tropical diseases in Brazil. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 1, p. 56-65, 2016.

MARSIK, P.; PODLIPNA, R.; VANEK, T. Study of praziquantel phytoremediation and transformation and its removal in constructed wetland. **Journal of Hazardous Materials**, v.323, p. 394-399, 2017.

MENG, Z. et al. Novel synthesis of layered double hydroxides (LDHs) from zinc hydroxide. **Applied Surface Science**, v. 396, p. 799-803, 2017.

MERRIFIELD, M. et al. Advancing a vaccine to prevent human schistosomiasis. **Vaccine**, v. 34, p., 2988-2991, 2016.

MOLYNEUX, D.H.; SAVIOLI, L.; ENGELS, D. Neglected tropical diseases: progress towards addressing the chronic pandemic. **The Lancet**, v. 389, n.21, p. 312-325.

MOMBO-NGOMA, G. et al. Urogenital schistosomiasis during pregnancy is associated with low birth weight delivery: analysis of a prospective cohort of pregnant women and their offspring in Gabon. **International Journal for Parasitology**, v. 47, n.1, p.69-74, 2017.

MORAES, J. et al. Schistosoma mansoni: In vitro schistosomicidal activity and tegumental alterations induced by pipartine on schistosomula. **Experimental Parasitology**, v. 132, p. 222-227, 2012.

MOURÃO, L. C. S. **Obtenção e caracterização de complexos de inclusão binários e ternários com praziquantel**. 2012. 137 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal – RN, 2012.

MÜNSTER, M. et al. Multiparticulate system combining taste masking and immediate release properties for the aversive compound praziquantel. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 109, p.446-454, 2017.

MUTAPI, F. et al. Human schistosomiasis in the post mass drug administration era. **The Lancet**, v. 14, n.1, p. 1-7, 2016.

NEJATI, K. et al. Preparation and characterization of cetirizine intercalated layered double hydroxide and chitosan nanocomposites. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 53, p. 168-175, 2015.

ONKANGA, I.O. et al. Impact of two rounds of praziquantel mass drug administration on Schistosoma mansoni infection prevalence and intensity: a comparison between community wide treatment and school based treatment in western Kenya. **International Journal for Parasitology**, v. 46, n.1, p. 439-445, 2016.

OLIVEIRA, R.N. et al. Schistosoma mansoni: In vitro schistosomicidal activity of essential oil of Baccharis trimera (less) DC. **Experimental Parasitology**, v.132, p. 135-143, 2012.

OLVEDA, D.U. et al. Diagnosing schistosomiasis-induced liver morbidity: implications for global control. **International Journal of Infectious Diseases**, v.1, p. 1- 7, 2016.

OZAWA, T. A new method of analyzing thermogravimetric data. **Bull Chem Soc Jpn**, v. 38, p. 1881-6, 1965.

PERIOLI, L. et al. Effects of hydrotalcite-like nanostructured compounds on biopharmaceutical properties and release of BCS class II drugs: The case of flurbiprofen. **Applied Clay Science**, v. 51, p. 407-413, 2011.

PERISSUTI, B. et al. An explorative analysis of process and formulation variables affecting comilling in a vibrational mill: The case of praziquantel. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 533, p. 402-412, 2017.

POLESE, D. et al. A phenomenological investigation on Chlorine intercalated Layered Double Hydroxides used as room temperature gas sensors. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 692, p. 915-922, 2017.

PONTES, F. Doenças negligenciadas ainda matam 1 milhão por ano no mundo. **Revista Inovação em Pauta**, v. 6, p. 69-73, 2009.

REIS, M.J. **Síntese e caracterização de hidróxidos duplos amelaes preparados na presença de polímeros orgânicos ou com macromoléculas intercaladas**. 2009. 111 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

RIBEIRO DA SILVA, V. B. et al. Medicinal chemistry of antischistosomal drugs: Praziquantel and oxamniquine. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.25, p. 3259-3277, 2017.

RIVES, V.; DEL ARCO, M.; MARTÍN, C. Intercalation of drugs in layered double hydroxides and their controlled release: A review. **Applied Clay Science**, v. 88-89, p. 239-269, 2014.

ROCHA, D. P. et al. A flow injection procedure using Layered Double Hydroxide for on line pre-concentration of fluoride. **Talanta**, v. 178, p. 102-108, 2018.

ROJAS, R. et al. Structural and physicochemical aspects of drug release from layered double hydroxides and layered hydroxide salts. **Applied Clay Science**, v. 109-110, p. 119-126, 2015.

SANTANA, A. K. M. et al. Otimização e validação do método analítico volumétrico para quantificação do carbonato de cálcio. **Revista de Ciências farmacêuticas básica e aplicada**, v. 28, n. 2, p 177-183, 2007.

SANTINI OLIVEIRA, M. et al. - Schistosomiasis vaccine candidate Sm14/GLA-SE: Phase 1 safety and immunogenicity clinical trial in healthy, male adults. **Vaccine**, v. 34, p. 586-594, 2016.

SANTOS, F. L. A. et al. Pesquisa, desenvolvimento e inovação para o controle das doenças negligenciadas. **Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada**, v.33, p. 37-47, 2012.

SANTOS, F. K. **Desenvolvimento e caracterização de carreadores lipídicos nanoestruturados contendo praziquantel**. 2011. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2011.

SANTOS, F. K. **Avaliação de sistemas lipídicos nanoestruturados utilizados como estratégia para melhorar as propriedades biofarmacêuticas do praziquantel no tratamento da esquistossomose**. 2014. 136 f. Tese (Doutorado em Ciências farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2014.

SANTOS, A. D. et al. Spatial analysis for the identification of risk areas for schistosomiasis mansoni in the State of Sergipe, Brazil, 2005-2014. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.49, p. 608-615, 2016.

SAYED, A. A. et al. Identification of Oxadiazoles as new drug leads for the control of schistosomiasis. **Nat. Med**, v. 14, n. 4, p. 407-412, 2008.

SCHWARZ, N. G. et al. Schistosoma mansoni in school children in a Madagascan highland school assessed by PCR and sedimentation microscopy and Bayesian estimation of sensitivities na specificities. **Acta Tropica**, v. 134, p. 89-94, 2014.

SHAFIEI, S. S. et al. Synthesis and characterisation of nanocrystalline Ca–Al layered double

hydroxide $\{[\text{Ca}_2\text{Al}(\text{OH})_6]\text{NO}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}\}$: in vitro study. **Advances in Applied Ceramics**, v. 112, n. 1, p. 59-65, 2013.

SIPOS, P.; PÁLINKÓ, I. As-prepared and intercalated layered double hydroxides of the hydrocalumite type as efficient catalysts in various reactions. **Catalysis Today**, 2016.

SIQUEIRA, L. P. et al. Schistosomiasis: Drugs used and treatment strategies. **Acta Tropica**, v. 176, p. 179-187, 2017.

STOTHARD, R. et al. Schistosomiasis in African infants and preschool children: let them now be treated. **Trends in Parasitology**, v. 29, p. 197-205, 2013.

SUN, D. D.; JU, T. R.; LEE, P. I. Enhanced kinetic solubility profiles of indomethacin amorphous solid dispersions in poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 81, p. 149-158, 2012B.

SUN, Y.; BU, S. J. Simple, cheap and effective high-performance liquid chromatographic method for determination of praziquantel in bovine muscle. **Journal of Chromatography B**, v. 899, p. 160-162, 2012.

SUN, D. D.; LEE, P. I. Evaluation of Supersaturation of Amorphous Pharmaceuticals: The Effect of Rate of Supersaturation Generation. **Molecular Pharmaceutics**, v. 10, p. 4330-4346, 2013.

SUN, D. D.; LEE, P. I. Probing the mechanisms of drug release from amorphous solid dispersions in medium-soluble and medium-insoluble carriers. **Journal of Controlled Release**, v. 211, p. 85-93, 2015.

SUN, D. D.; LEE, P. I. Haste Makes Waste: The Interplay Between Dissolution and Precipitation of Supersaturating Formulations. **The AAPS Journal**, v. 17, n. 6, p. 1317-1326, 2015.

SUN, Y. et al. Fabrication and infrared emissivity study of hybrid materials based on immobilization of collagen on to exfoliated LDH. **Mater. Lett**, v. 62, p. 2943-2946, 2008.

SURESH, K.; KUMAR, R. V.; PUGAZHENTHI, G. Processing and characterization of polystyrene nanocomposites based on CoeAl layered double hydroxide. **Journal of Science: Advanced Materials and Devices**, v. 1, p. 351-361, 2016.

TAKAHASHI, T.; YAMAGUCHI, M. Host-Guest Interaction swelling clay minerals and poorly water-soluble drugs. 1: Complex formation between a swelling clay mineral and griseofulvin. **Journal of Inclusion Phenomena and Molecular recognition in Chemistry**, v. 10, p. 283-297, 1991.

TIAN, D.Y. et al. Synthesis of methotrexate intercalated layered double hydroxides by different methods: Biodegradation process and bioassay explore. **Applied Clay Science**, v. 118, p. 87-98, 2015.

TILP, C. et al. Prerequisites for the pharmaceutical industry to develop and commercialise helminths and helminth-derived product therapy. **Int. J. Parasitol**, v. 43, p. 319-325, 2013.

TITA, B.; JURCA, T.; TITA, D. Thermal stability of pentoxifylline: active substance and tablets. Part 1. Kinetic study of the active substance under non-isothermal conditions. **J Therm Anal Calorim**, v. 113, n. 1, p. 291–299, 2013.

TOMIOTTO-PELLISSIER, F. et al. Nanotechnology as a potential therapeutic alternative for schistosomiasis. **Acta Tropica**, v. 174, p. 64-71, 2017.

TRASTULLO, R. et al. Development of flexibe and dispersible oral formulations containing praziquantel for potencial schistosomiasis treatment of pre-school age children. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 495, p. 536-550, 2015.

TYAGI, S. B. et al. Synthesis and Characterization of Layered Double Hydroxides Containing Optically Active Transition Metal Ion. **Solid State Sciences**, v. 63, p. 93-102, 2017.

QU, J. et al. Mechanochemical approaches to synthesize layered double hydroxides: a review. **Applied Clay Science**, v. 119, p. 185-192, 2016.

VARGA, G. et al. Mn(II)–amino acid complexes intercalated in CaAl-layered double hydroxide – Well-characterized, highly efficient, recyclable oxidation catalysts. **Journal of Catalysis**, v. 335, p. 125-134, 2016.

VITORINO, R. R. et al. Schistosomiasis mansoni: diagnosis, treatment, epidemiology, prophylaxis and control. **Revista Brasileira de Clínica Médica**, v. 10, p. 39-45, 2012.

WENDT, G. R.; COLLINS, J. J. Schistosomiasis as a disease of stem cells. **Current Opinion in Genetics & Development**, v. 40, p. 95-102, 2016.

WERNECK, G.L; HASSELMANN, M.A.; GOUVEA, T.G. Panorama dos Estudos e Doenças Negligenciadas no Brasil. **Ciência e Saúde Coletiva**, v.16, n.1, p.39-62, 2011.

ZHAN, T. et al. Ultrathin layered double hydroxide nanosheets prepared from a waterin-ionic liquid surfactant-free microemulsion for phosphate removal from aquatic systems. **Chemical Engineering Journal**, v. 302, p.459-465, 2016.

ZHANG, K. et al. Q. Potential for Layered Double Hydroxides-Based, Innovative Drug Delivery Systems. **Int J Mol Sci**, v.15, n.5, p.7409–7428, 2014.

ZHENG, Y. et al. Development of chiral praziquantel analogues as potential drug candidates with activity to juvenile *Schistosoma japonicum*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 24, p. 4223-4226, 2014.

ANEXOS

ANEXOS

ANEXO A – Artigo (Shistosomiasis: drug used and treatment strategies) aceito na revista *Acta Tropica* (Qualis: B1).

Acta Tropica 176 (2017) 179–187



Contents lists available at ScienceDirect

Acta Tropica

journal homepage: www.elsevier.com/locate/actatropica



Schistosomiasis: Drugs used and treatment strategies 

Lidiany da Paixão Siqueira^a, Danilo Augusto Ferreira Fontes^a, Cindy Siqueira Britto Aguilera^a,
Taysa Renata Ribeiro Timóteo^a, Matheus Alves Ângelos^a, Laysa Creusa Paes Barreto Barros Silva^a,
Camila Gomes de Melo^a, Larissa Araújo Rolim^b, Rosali Maria Ferreira da Silva^a,
Pedro José Rolim Neto^{a,*}

^a Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, Universidade Federal de Pernambuco, Avenida Professor Amor de Sá, CEP 50740-521, Recife, Pernambuco, Brazil
^b Central de Análise de Risco, Medicamentos e Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, Avenida José de Sá Marçalo, CEP 36304-917, Viçosa, Pernambuco, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Neglected tropical diseases
Schistosomiasis
Treatment

ABSTRACT

Neglected tropical diseases (NTDs) affect millions of people in different geographic regions, especially the poorest and most vulnerable. Currently NTDs are prevalent in 149 countries, seventeen of these neglected tropical parasitic diseases are classified as endemic. One of the most important of these diseases is schistosomiasis, also known as bilharzia, a disease caused by the genus *Schistosoma*. It presents several species, such as *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma japonicum* and *Schistosoma mansoni*, the latter being responsible for parasitosis in Brazil. Contamination occurs through exposure to contaminated water in the endemic region. This parasitosis is characterized by being initially asymptomatic, but it is able to evolve into more severe clinical forms, potentially causing death. Globally, more than 200 million people are infected with one of these *Schistosoma* species, including an estimated 40 million women of reproductive age. In Brazil, about 12 million children require preventive chemotherapy with anthelmintic. However, according to the World Health Organization (WHO), only about 15% of the at-risk children receive regular treatment. The lack of investment by the pharmaceutical industry for the development and/or improvement of new pharmaceutical forms, mainly aimed at the pediatric public, is a great challenge. Currently, the main forms of treatment used for schistosomiasis are praziquantel (PZQ) and oxfeniquine (OXA). PZQ is the drug of choice because it presents as a high-spectrum anthelmintic, used in the treatment of all known species of schistosomiasis and some species of cestodes and trematodes. OXA, however, is not active against the three *Schistosoma* species. This work presents a literature review regarding schistosomiasis. It addresses points such as available treatments, the role of the pharmaceutical industry against neglected diseases, and perspectives for treatment.

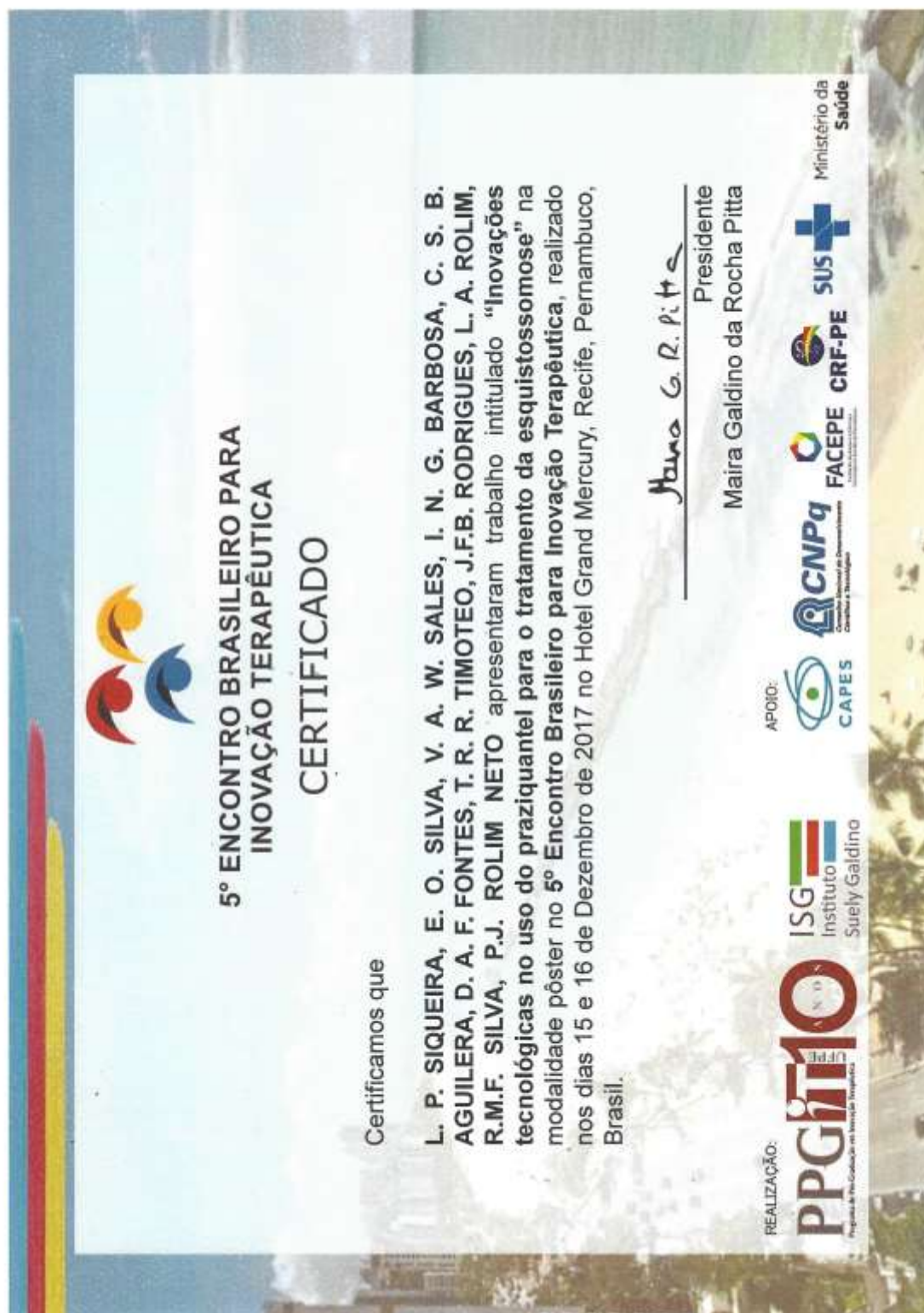
ANEXO B – Apresentação de trabalho (Aplicação dos hidróxidos duplos lamelares no carregamento de fármacos).



ANEXO C – Apresentação de trabalho (Importância das características físico-químicas para a solubilidade de fármacos orgânicos – O caso do Praziquantel).



ANEXO D – Apresentação de trabalho (Inovações tecnológicas no uso do praziquantel para o tratamento da esquistossomose).



ANEXO E – Apresentação de trabalho (Esquistossomose: um panorama sobre a doença, opções terapêuticas e o cenário industrial).

CERTIFICADO	
CENTRO UNIVERSITÁRIO ESTÁCIO DO RECIFE PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E EXTENSÃO O centro Universitário Estácio do Recife confere certificado ao autor TAYSA RENATA RIBEIRO TIMOTEO pela apresentação do trabalho na Jornada de Iniciação Científica-JONIC, com a apresentação do Resumo intitulado "ESQUISTOSSOMOSE: UM PANORAMA SOBRE A DOENÇA, OPÇÕES TERAPÊUTICAS E O CENÁRIO INDUSTRIAL" Na modalidade oral. A Jornada foi realizada nos dias dia 07 e 08 de novembro de 2017. Recife, 07 de Novembro de 2017.  Prof. Dra. Vanila Lima de Sant'Anna Pró-reitora de Pesquisa e Extensão Centro Universitário Estácio do Recife Vanila Lima de Sant'Anna Pró-Reitora de Pesquisa e Extensão Centro Universitário Estácio do Recife	

ANEXO F – Apresentação de trabalho (Characterization of complex composed of CaAl layered double hydroxide and anthelmintic drug praziquantel).



Pharmaceutical sciences in an emerging economy: challenges for a sustainable world

We certify that the **Abstract** entitled

"CHARACTERIZATION OF COMPLEX COMPOSED OF CAAL LAYERED DOUBLE HYDROXIDE AND ANTHELMINTIC DRUG PRAZICQUANTEL",

authored by " ANGELOS, M. A. 1 SIQUEIRA, L. P. 1 MELO, C. G. 1 TIMOTEO, T. R. R. 1 FONTES, D. A. F. 1 AGUILERA, C. S. B. 1 SILVA, L. C. P. B. 1 ROLIM, L. A. 2 SILVA, R. M. F. 1 ROLIM-NETO, P. J. 1 ",

was presented in the Poster Presentation
at the **11th International Congress of Pharmaceutical Sciences,**
held on November 15-18, 2017.

Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil, November 18th, 2017.


 Priscylla Dagliely Marcato Gaspari
 Scientific Committee


ABCF





 Maria Vitória Lopes Badra Bentley
 DEAN - FCFRP - USP