



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102020009893-4 A2



(22) Data do Depósito: 18/05/2020

(43) Data da Publicação Nacional: 23/11/2021

(54) Título: SISTEMA MULTICOMPONENTE CONTENDO PRAZIQUANTEL PARA TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE

(51) Int. Cl.: A61K 47/50.

(52) CPC: A61K 47/50.

(71) Depositante(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO; UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO.

(72) Inventor(es): PEDRO JOSÉ ROLIM NETO; ROSALI MARIA FERREIRA DA SILVA; LARISSA ARAÚJO ROLIM; LIDIANY DA PAIXÃO SIQUEIRA; DANILO AUGUSTO FERREIRA FONTES; ILKA DO NASCIMENTO GOMES BARBOSA; TAYSA RENATA RIBEIRO TIMÓTEO; CAMILA GOMES DE MELO; MARIA CLARA CAVALCANTE ERHARDT; LUCAS JOSÉ DE ALENCAR DANDA.

(57) Resumo: SISTEMA MULTICOMPONENTE CONTENDO PRAZIQUANTEL PARA TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE. A patente de invenção refere-se aos sistemas multicomponentes contendo praziquantel, hidróxido duplo lamelar de cálcio e alumínio (HDL-CaAl) e polivinilpirrolidona, nas proporções molares 1:2:2 e 2:1:1. As técnicas de caracterizações utilizadas demonstraram interação do praziquantel com o HDL-CaAl e polivinilpirrolidona, ocasionando alteração na cristalinidade, diminuição da energia de entalpia, diminuição na área superficial e proporcionando aumento da solubilidade e da dissolução in vitro do praziquantel, em relação ao insumo farmacêutico ativo sem associação.

SISTEMA MULTICOMPONENTE CONTENDO PRAZIQUANTEL PARA TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE

1. A presente invenção refere-se à obtenção de sistemas multicomponentes contendo praziquantel para o tratamento da esquistossomose.
2. O principal componente do sistema é o insumo farmacêutico ativo praziquantel (PZQ) [((RS)-2-(ciclohexilcarbonil)- 1,2,3,6,7,11b-hexa-hidro-4H-pirazin-[2,1a]-isoquinolin-4-ona)]. Além do PZQ, o sistema contém hidróxido duplo lamelar de cálcio e alumínio (HDL-CaAl) e o polímero polivinilpirrolidona K-30 (PVP K-30).
3. O praziquantel é um fármaco que possui pouca solubilidade aquosa e permeabilidade elevada, contribuindo para a sua baixa e variável biodisponibilidade oral. Com isso, é necessária a administração de uma dose relativamente maior.
4. Como alternativa para um aumento da solubilidade do PZQ, utilizam-se carreadores hidrofílicos, tais como polímeros e hidróxidos duplos lamelares. O auxílio desses excipientes possibilita o aumento de dissolução do fármaco, sendo possível a diminuição da sua concentração necessária para o alcance da dose terapêutica efetiva.
5. O HDL-CaAl foi obtido através de uma adaptação do método proposto por Shafiei e colaboradores (2013).
6. O HDL-CaAl tem se mostrado bastante relevante para promover um sistema de liberação, e assim proporcionar redução na frequência e dosagem da administração. Há uma diminuição de efeitos colaterais e aumento da adesão do tratamento. Além disso, pode ser sintetizados em laboratório por rotas simples e de baixo custo, o que se torna uma alternativa mais vantajosa para aumento da biodisponibilidade de fármacos.
7. Trabalhos mostram sistemas multicomponentes como uma das ferramentas da tecnologia farmacêutica para incremento de solubilidade, e também como técnica alternativa aos sistemas binários (VIEIRA, 2011; SOUSA et al., 2016; FERRAZ, 2017).
8. O sistema multicomponente foi preparado em duas razões equimolares, sendo elas 1:2:2 e 2:1:1 (PZQ:HDL-CaAl:PVP). Para a obtenção dos sistemas multicomponentes foi utilizando o método por coevaporação, onde o praziquantel foi solubilizado em 5-8

mL de etanol em forma de silicone durante 1 minuto, seguida da adição do HDL-CaAl e homogeneização por mais 1 minuto. A mistura foi colocada em mesa agitadora por 30 minutos a uma rotação de 60 rpm. Passado os 30 minutos, o PVP K-30 foi solubilizado em 1-3 mL etanol absoluto e adicionado junto ao PZQ e o HDL-CaAl na forma de silicone ainda em agitação, deixando sob agitação por 10-30 minutos. O material foi colocado em estufa de circulação a 60-80°C, para evaporação total do etanol, por aproximadamente 10-20 minutos. Posteriormente à secagem do material, foi realizada a trituração e uniformização de partícula em tamis com abertura de 250 µm.

9. Para o estudo da solubilidade, o praziquantel e os sistemas multicomponentes contendo PZQ:HDL-CaAL:PVP foram pesados e misturados em 8-12 mL de água purificada, de forma que a concentração final de PZQ ficasse igual a 2 mg/mL. Houve agitação constante em banho-maria por 24 horas à temperatura ambiente. Após este período, as amostras foram filtradas utilizando papel-filtro, seguido da filtração utilizando filtro millipore® 0,45µm. A concentração de PZQ dissolvido foi submetida à varredura por espectrometria UV/VIS. Como referência, utilizou-se o comprimento de onda (λ) de 263 nm, calculando os valores de segunda derivada das absorbâncias (d^2A).

10. Para o estudo do perfil de dissolução *in vitro*, utilizando condição sink, pesou-se uma quantidade de sistema multicomponente equivalente a 100 mg de praziquantel. O ensaio foi realizado utilizando como meio de dissolução 900 mL de tampão HCl pH 1.2, aparato 2 (pá), rotação de 50-150 rpm e temperatura de $37 \pm 0,5$ °C. Alíquotas de 5 mL foram coletadas nos tempos entre 10 e 1440 minutos, com reposição de meio. As alíquotas foram centrifugadas a 2500-3000 rpm durante 5-15 minutos. Em seguida, a quantificação do sobrenadante foi realizada em espectrofotômetro UV/VIS, utilizando como comprimento de onda (λ) 263 nm.

11. As difrações de raios-X das amostras do PZQ, HDL, PVP e do sistema multicomponente PZQ:HDL-CaAL:PVP foram obtidas utilizando difratômetro equipado com ânodo de cobre. O preparo das amostras foi feito em 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°/s.

12. Foi realizada espectroscopia na região de infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF) do PZQ, HDL, PVP e do sistema multicomponente PZQ:HDL-CaAL:PVP. As amostras foram transferidas diretamente para o compartimento do dispositivo de reflectância total atenuada (ATR) com cristal de selênio. Os espectros de IV-TF foram obtidos por meio de 16 varreduras, em comprimento de onda de 4000 a 400 cm^{-1} e resolução de 4 cm^{-1} .

13. As curvas de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) foram obtidas 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 250 $^{\circ}\text{C}$. As amostras de PZQ, HDL, PVP e do sistema multicomponente PZQ:HDL-CaAL:PVP foram acondicionadas em porta-amostra de alumínio hermeticamente fechada com cerca de 2-3 mg. As determinações foram realizadas em triplicata. As determinações foram realizadas em triplicata. Índio e zinco foram utilizados para calibrar a escala de temperatura e a resposta de entalpia.

14. As curvas de Termogravimetria (TG) foram realizadas por meio de termobalança, modelo TGA Q60, com atmosfera de nitrogênio de 100 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, sendo a massa da amostra de 5-6 mg para o PZQ, HDL, PVP e sistema multicomponente PZQ:HDL-CaAL:PVP, acondicionados em cadinho de platina e analisados na faixa de temperatura de 30 a 600 $^{\circ}\text{C}$ com razão de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, com prévia calibração da termobalança.

15. A área de superfície específica e o tamanho de poro foram calculados com base no Método Brunauer-Emmett-Teller (BET). O PZQ, HDL, PVP K-30 e o sistema multicomponente PZQ:HDL-CaAL:PVP foram pesados, aproximadamente 200 mg, pulverizados e submetidos a uma estação de vácuo. Foi utilizado o equipamento ASAP2420 Micromeritics®.

16. O sistema multicomponente demonstrou ser estável, com aumento na solubilidade em 81% e bom desempenho na dissolução. Isso pode ser justificada pela eficiência de adsorção do fármaco nas lamelas do HDL-CaAL e o PVP K-30.

17. Houve uma melhora visível na solubilidade do PZQ em água, onde passou de 0,22 mg/mL para 0,40 mg/mL na proporção molar de 1:2:2 (PZQ:HDL-CaAL:PVP), onde

há o dobro de HDL e PVP, quando comparado a quantidade de PZQ. Na proporção molar 2:1:1 (PZQ:HDL-CaAL:PVP), que tem o dobro de fármaco e a menor proporção de excipientes, apresentou solubilidade de 0,34 mg/mL.

18. Nos primeiros 30 minutos da dissolução *in vitro*, aproximadamente 90% do fármaco já estavam liberados, enquanto o PZQ isolado liberou apenas 50% no mesmo tempo. Em 60 minutos de dissolução, os sistemas multicomponentes alcançaram mais de 90% da concentração, chegando a 100% de liberação às 6 horas, mantendo-se constante até às 8 horas de experimento. A área sobre a curva (AUC) e a eficiência de dissolução (ED) na proporção molar de 1:2:2 (PZQ:HDL-CaAL:PVP) foi de 765,16 e 95,64%, respectivamente. Na proporção molar de 2:1:1 (PZQ:HDL-CaAL:PVP), de 768,84 e 96,10%. Esses resultados se mostram mais elevado quando comparado com o PZQ isolado, que foi de 550,58 e 68,82%. Com isso, é demonstrada uma excelente capacidade relacionada à modulação da liberação do fármaco e a obtenção de incremento de solubilidade.

19. O perfil de difração do PZQ evidencia o seu caráter cristalino, demonstrando numerosos picos de difração, o que não foi verificado com o difratograma do HDL e do PVP. Nos difratogramas dos multicomponentes apareceram picos semelhantes ao do HDL, indicativo de que há interações com o PZQ. O HDL foi capaz de gerar uma desorganização na estrutura cristalina do PZQ deixando o fármaco com aspecto amorfo, contribuindo para uma melhor taxa de dissolução. O multicomponente na proporção molar de 1:2:2 (PZQ:HDL-CaAL:PVP) possui um pico com menor intensidade característico do fármaco em 3,8°. Na proporção molar de 2:1:1 (PZQ:HDL-CaAL:PVP), ainda é possível observar características reflexivas do fármaco, contudo, com intensidade bem menor. Vale ressaltar que o multicomponente na proporção molar de 2:1:1 (PZQ:HDL:PVP) é composto pelo dobro de fármaco, o que poderia justificar a presença mais evidente de algumas reflexões típicas do PZQ. Os picos característicos do HDL nos sistemas multicomponentes tiveram uma redução da sua intensidade, sendo sugestiva a interação.

20. Na espectroscopia na região de infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF), a molécula do PZQ é caracterizada por apresentar grupos funcionais C-H na

estrutura cíclica, aparecendo no espectrofotômetro como bandas referentes às vibrações de deformação axial assimétrica e simétrica, respectivamente de forte e média intensidade. Observa-se uma banda de alta intensidade na região de 1643 cm^{-1} referente à presença dos grupos carbonilas ($\text{C}=\text{O}$). Bandas de intensidade média a fraca aparecem indicando a presença de deformação axial C-N entre 1352 e 1000 cm^{-1} , assim como a presença de deformação axial C=C do anel aromático.

21. O HDL-CaAl apresenta uma quatro bandas características. A primeira correspondente à deformação axial de O-H referente à presença de hidroxilas e água interlamelar. Em 1643 cm^{-1} , evidenciou-se uma banda com intensidade mais fraca característica da deformação angular de moléculas de água interlamelar. Outra banda, em 1350 cm^{-1} , referente à presença de ânions nitrato e bandas abaixo de 1050 cm^{-1} resultantes de deformações axiais entre metais e oxigênio.

22. O espectro do PVP K-30 aparece um estiramento da ligação N-H da amina secundária em 3500 cm^{-1} . Outra banda típica da molécula de PVP K-30 é o estiramento da ligação C=O referente ao grupo carboxila, com uma sobreposição de bandas desse grupamento com bandas de estiramento da ligação N-H forte intensidade. Aparecem também bandas características da presença de alcanos alifáticos, devido ao estiramento da ligação C-H.

23. Nos sistemas multicomponentes nas proporções molares 1:2:2 e 2:1:1 (PZQ:HDL-CaAL:PVP) foi possível verificar uma redução nas bandas relativas ao estiramento dos grupos carbonilas ($\text{C}=\text{O}$). Outro evento perceptível foi a sobreposição de bandas entre a região de 1352 a 1000 cm^{-1} , referente a deformação axial C-N. O desaparecimento dessas bandas pode estar associado a interações entre o anel isoquinolínico do PZQ com o HDL e o PVP, sugerindo uma interação do fármaco com os demais componentes.

24. Pela Calorimetria Exploratória Diferencial, a presença do HDL e do PVP sugere uma alteração da cristalinidade dos sistemas multicomponentes na proporção molar 1:2:2 (PZQ:HDL-CaAL:PVP) e 2:1:1 (PZQ:HDL-CaAL:PVP), corroborando com o desaparecimento do plano cristalino do praziquantel no perfil de difração. Observa-se também uma diminuição da energia de entalpia, sendo a do multicomponente na proporção molar 1:2:2 de $10,95\text{ J/g}$ e na proporção molar 2:1:1 de $55,32\text{ J/g}$, quando se

compara com o praziquantel isolado que é de 124,82 J/g. Uma menor energia de entalpia implica em uma menor quantidade de energia necessária para a solubilização do praziquantel.

25. A análise termogravimétrica demonstrou uma diminuição da perda de massa dos sistemas multicomponentes na proporção molar 1:2:2 (PZQ:HDL-CaAL:PVP) (20,43%) e 2:1:1 na proporção molar (PZQ:HDL-CaAL:PVP) (51,98%), quando comparado com o fármaco isolado (98,18%), sugerindo uma adsorção do fármaco com o HDL e PVP.

26. A área superficial dos sistemas multicomponentes apresentaram-se muito inferiores ao valor obtido do HDL-CaAl que foi de 6,9141 m²/g, sendo o na proporção molar 1:2:2 (PZQ:HDL-CaAL:PVP) 2,9123 m²/g e na proporção molar 2:1:1 (PZQ:HDL-CaAL:PVP) 2,8710 m²/g. Essa diminuição na área superficial sugere uma adsorção entre o fármaco e o HDL.

27. As técnicas de caracterização demonstraram a existência de interação entre o praziquantel com o HDL e PVP K-30, confirmando modificações na cristalinidade do fármaco. Como resultado uma melhora da solubilidade, assim como uma maior porcentagem de liberação do praziquantel, tornando um sistema promissor para a administração de fármacos.

REIVINDICAÇÕES

- 1. SISTEMA MULTICOMPONENTE CONTENDO PRAZIQUANTEL PARA TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE**, caracterizado por conter praziquantel, hidróxido duplo lamelar de cálcio e alumínio e polivinilpirrolidona, nas proporções nas proporções molares 1:2:2 e 2:1:1 (PZQ:HDL-CaAL:PVP).
- 2. SISTEMA MULTICOMPONENTE CONTENDO PRAZIQUANTEL PARA TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por aumentar a solubilidade e apresentar uma maior taxa de dissolução *in vitro* do praziquantel.
- 3. SISTEMA MULTICOMPONENTE CONTENDO PRAZIQUANTEL PARA TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE**, de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizado por promover uma modulação da liberação do praziquantel.
- 4. SISTEMA MULTICOMPONENTE CONTENDO PRAZIQUANTEL PARA TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE**, de acordo com as reivindicações 1, 2 e 3, caracterizado por aumentar a biodisponibilidade, proporcionando uma redução na frequência e dosagem da administração, diminuindo efeitos colaterais e aumentando a adesão e eficácia ao tratamento.
- 5. SISTEMA MULTICOMPONENTE CONTENDO PRAZIQUANTEL PARA TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE**, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizado por apresentar uma menor energia de entalpia.
- 6. SISTEMA MULTICOMPONENTE CONTENDO PRAZIQUANTEL PARA TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE**, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4 e 5, caracterizado por proporcionar uma adsorção do praziquantel com o HDL e o polivinilpirrolidona.

RESUMO**SISTEMA MULTICOMPONENTE CONTENDO PRAZIQUANTEL PARA TRATAMENTO DA ESQUISTOSSOMOSE**

A patente de invenção refere-se aos sistemas multicomponentes contendo praziquantel, hidróxido duplo lamelar de cálcio e alumínio (HDL-CaAl) e polivinilpirrolidona, nas proporções molares 1:2:2 e 2:1:1. As técnicas de caracterizações utilizadas demonstraram interação do praziquantel com o HDL-CaAl e polivinilpirrolidona, ocasionando alteração na cristalinidade, diminuição da energia de entalpia, diminuição na área superficial e proporcionando aumento da solubilidade e da dissolução *in vitro* do praziquantel, em relação ao insumo farmacêutico ativo sem associação.