

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ – FIOCRUZ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA EM FÁRMACOS – FARMANGUINHOS

Andressa Daniele Artico Silva

**Desenvolvimento de micro e nanocristais de praziquantel
racemato e do isômero L-praziquantel**

Rio de Janeiro

2020

Andressa Daniele Artico Silva

Desenvolvimento de micro e nanocristais de praziquantel racemato e do isômero L-praziquantel

Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-graduação Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, de Farmanguinhos da Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Helvécio Vinícius Antunes Rocha

2º Orientador: Profª. Drª. Livia Deris Prado

Rio de Janeiro

2020

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos/ Farmanguinhos / FIOCRUZ - RJ

S586d Silva, Andressa Daniele Artico

Desenvolvimento de micro e nanocristais de praziquantel racemato e do isômero L-praziquantel. / Andressa Daniele Artico Silva. – Rio de Janeiro, 2020.

xxv, 169 f. ; 30 cm.

Orientadores: Helvécio Vinícius Antunes Rocha e Livia Deris Prado.

Dissertação (mestrado) – Instituto de Tecnologia em Fármacos-Farmanguinhos, Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, 2020.

Bibliografia: f. 129-142

1. Praziquantel. 2. Micro e Nanocristais. 3. Moagem Via Úmida. 4. Perfil de Dissolução. 5. Palatabilidade. I. Título.

CDD 615.1

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese/dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Andressa Daniele Artico Silva

Desenvolvimento de micro e nanocristais de praziquantel racemato e do isômero L-praziquantel

Dissertação apresentada, como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, do Instituto de Tecnologia em Fármacos – Fundação Oswaldo Cruz

Aprovada em ____ de _____ de 2020.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Helvécio Vinícius Antunes Rocha
(Orientador – Presidente da Banca)
Instituto de Tecnologia em Fármacos – FIOCRUZ

Prof^a. Dr^a. Livia Deris Prado
(2^o Orientador)
Instituto de Tecnologia em Fármacos – FIOCRUZ

Prof^a. Dr^a. Karen Medeiros Gonçalves
Instituto de Tecnologia em Fármacos – FIOCRUZ

Prof^a. Dr^a. Kattya Gyselle de Holanda e Silva
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

Prof^a. Dr^a. Camila Areias de Oliveira
Instituto de Tecnologia em Fármacos – FIOCRUZ

Rio de Janeiro

2020

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores pela confiança na execução do projeto. Ao Helvécio, por todas as conversas e ensinamentos, e por respeitar o meu processo. À Livia, por se fazer presente (ainda que distante), por toda a atenção, pela paciência ao transmitir seus conhecimentos e pelos conselhos dados. Agradeço aos meus orientadores pelo empenho na orientação, mesmo com tantas mudanças de cenário. Que grande oportunidade a minha tê-los como referência durante essa experiência muito marcante e significativa não só em termos técnicos e profissionais, como também para meu desenvolvimento pessoal.

Agradeço à Farmanguinhos pela oportunidade e pelo apoio financeiro concedido. Agradeço também a todos os professores do Programa de Pós-graduação Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, pela enriquecedora troca e dedicação ao ministrar as disciplinas.

Aos membros da banca avaliadora desta dissertação pela disponibilidade e valiosa colaboração ao trabalho.

Obrigada Beatriz Patricio, pela orientação na condução dos experimentos e pela contribuição ao meu desenvolvimento científico, além das constantes e tão importantes palavras de motivação. Esse trabalho não teria sido o mesmo sem o seu inestimável apoio. Também à querida Michelle Sarcinelli, por todo o suporte e pela ajuda com o *spray dryer*, Mastersizer e com as análises térmicas. Agradeço também pela sua amizade e por (e talvez principalmente), me entender sem que eu nem mesmo precise falar.

Agradeço aos colegas Marcos Pequeno e Alan Dias pela ajuda com as técnicas de moagem. Ao Marcelo Chaves pelo fundamental apoio com as análises no HPLC. Às queridas Mariana Aauto e Thalita Martins pela ajuda com os ensaios de dissolução. Especialmente aos alunos Leonardo e Millena, por todo o auxílio prestado. Também à Flávia, Marina, Gabriel, Alexandrino e todos os membros da equipe do Laboratório de Micro e Nanotecnologia (LMN), pela agradável convivência.

Ao Laboratório Multiusuário de Difração de Raios X (LDRX) e ao Laboratório Multiusuário de Espectroscopia (LAME), da Universidade Federal Fluminense (UFF). À Dra. Antonieta Middea, do Centro de Tecnologia Mineral (CETEM), pela ajuda com as análises de microscopia. Ao Dr. Daniel Corrêa e ao MSc. Murilo Facure, do

Laboratório de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA) da Embrapa Instrumentação, pela parceria e ajuda na execução dos testes com a língua eletrônica.

Aos meus pais, Alessandra e Ivair, e à Fabiana, pelo constante incentivo durante minha busca por novos desafios, além de todo o apoio ao longo da execução desse projeto pessoal. Aos meus irmãos, Igor e Isabela, por trazerem tantas alegrias aos meus dias. À minha amada avó Jussara, por ter apoiado meus estudos e pelo grande exemplo de coragem, sabedoria e amor ao próximo que demonstrou durante a passagem por este plano. Esta conquista é também de vocês.

Aos meus grandes amigos Alice, Bianca, Diogo, Eduardo, Jéssica, Maria Emília, Sarah (e Zezinho), por compreenderem a minha ausência e torcerem pelo meu sucesso. Ao meu amigo Luiz, por compartilhar o processo comigo, por todas as caronas, ajuda na escrita, pelos copos e pelos shows (e desde já, pelos que ainda virão).

Ao Vitor, por toda a compreensão, incentivo e suporte, por ser meu parceiro de sempre e por trazer cor à minha vida.

nada tão comum
que não possa chamá-lo
meu

nada tão meu
que não possa dizê-lo
nosso

nada tão mole
que não possa dizê-lo
osso

nada tão duro
que não possa dizer
posso

(PAULO LEMINSKI)

RESUMO

SILVA, Andressa Daniele Artico. Desenvolvimento de micro e nanocristais de praziquantel racemato e do isômero L-praziquantel. 2020. 194f. Dissertação Mestrado Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2020.

O praziquantel é o fármaco de primeira escolha para o tratamento e controle da esquistossomose, no entanto, seu uso envolve alguns desafios uma vez que sua baixa solubilidade aquosa é um dos fatores limitantes em sua absorção oral. Além disso, o sabor amargo do fármaco dificulta a adesão de crianças ao tratamento, sendo a questão da palatabilidade relevante quando se trata de formulações pediátricas. Nesse sentido, a abordagem de redução do tamanho de partícula pode promover um incremento na solubilidade e dissolução do fármaco, impactando diretamente em sua biodisponibilidade. Além disso, existe indicação na literatura de que a utilização do isômero L-PZQ puro resultaria em vantagens como: metade da dose atual, menos reações adversas e melhora na palatabilidade. Assim, o objetivo do presente trabalho foi a moagem por via úmida para incremento no perfil de dissolução do praziquantel racemato e do isômero L-PZQ. Dessa maneira, suspensões de rac-PZQ foram preparadas em moinho coloidal, para a obtenção de microcristais e em moinho de pérolas, para a obtenção de nanocristais. As suspensões foram caracterizadas por técnicas de retroespalhamento de luz (Turbiscan[®]), para verificação da estabilidade física; LD e DLS para determinação da distribuição e tamanho de partícula. As suspensões foram secas por *spray dryer*. A caracterização das amostras secas foi feita por técnicas de espectroscopia de IV, para identificação da estrutura química; DRX para verificação da cristalinidade; DSC e TGA para avaliação das propriedades térmicas; MEV a fim de observar a morfologia das partículas formadas e LD para determinação do tamanho de partícula dos pós. Também foi realizado ensaio de dissolução por dispersão, no qual os perfis de dissolução foram comparados estatisticamente. As amostras mais promissoras (estabilizadas utilizando LSS e Poloxâmero 407) apresentaram d50 de 6,84 μm e diâmetro médio de 346,2 nm, respectivamente. Após a secagem, os valores de d50 obtidos foram próximos (11,77 μm e 8,76 μm , respectivamente) e apesar disso, a estrutura cristalina da matéria-prima foi mantida mesmo após o processamento. Foi observado um considerável incremento no perfil de dissolução das amostras, tanto em relação à mistura física dos componentes quanto ao fármaco puro, e a porcentagem dissolvida foi próxima a 100% no início do tempo avaliado, sendo a eficiência de dissolução maior para os nanocristais. Por fim, o processamento foi otimizado e então, os parâmetros aplicados ao L-PZQ. As amostras finais foram avaliadas em relação à palatabilidade utilizando língua eletrônica, sendo que o método se mostrou efetivo para discriminação entre as diferentes amostras testadas.

Palavras-chave: Praziquantel. Micro e nanocristais. Moagem via úmida. Perfil de dissolução. Palatabilidade.

ABSTRACT

Praziquantel remains the drug of choice for the worldwide treatment and control of schistosomiasis, however, its formulation is challenging considering its low aqueous solubility, which is one of the limiting steps for its oral absorption. Furthermore, consideration should be given to palatability, once the bitter taste of the drug can compromise children adherence. In this context, particle size reduction approach can increase solubility and dissolution rate of the drug, enhancing then its bioavailability. In addition, the use of the pure L-PZQ isomer would offer advantages such as: half the current dose, less adverse reactions and improved palatability. Thus, the aim of the present work was to prepare micro (MCs) and nanocrystals (NCs) applying wet milling methods, to increase the dissolution profile of racemate praziquantel and the L-PZQ enantiomer. In this way, rac-PZQ suspensions were prepared in a colloid mill for obtaining MCs, and in a pearl mill for obtaining NCs. The suspensions were characterized by techniques such: Turbiscan® backscattering, to assess the physical stability; LD and DLS for determination of particle size and distribution. Then, the suspensions were spray dried. The characterization of dry powders was carried out by different techniques such as IR spectroscopy, to identify the chemical structure; XRPD to determine crystallinity; DSC and TGA for evaluation of thermal properties; SEM in order to observe the morphology of obtained particles and LD to determine the particle size of samples. A dispersion dissolution test was also conducted and the dissolution profiles were statistically compared. The most promising samples (LSS and Poloxamer 407 as stabilizers) had a d50 value of 6.84 μm and an average diameter of 346.2 nm, respectively. After drying, the d50 values obtained were similar (11.77 μm and 8.76 μm , respectively) and despite this, the original crystalline structure of the raw material was not affected after the processing techniques applied. The dissolution profiles of samples were significantly improved in comparison to both the physical mixture of the components or to the pure drug, and the dissolved drug percentage was close to 100% at the beginning of the evaluated time, with the dissolution efficiency being higher for the NCs. Finally, the process was optimized and then, the parameters applied to the L-PZQ. The final samples had palatability evaluated by using an electronic tongue, and the results exhibited good discrimination between the different samples tested.

Key-words: Praziquantel. Micro and nanocrystals. Wet milling. Dissolution profile. Palatability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural do PZQ, D-PZQ e L-PZQ	4
Figura 2. Esquema ilustrando as estratégias para enfrentar a baixa solubilidade de fármacos.....	11
Figura 3. Formação e estabilização de nanopartículas cristalinas.	19
Figura 4. Esquema do processo de moagem com pérolas.	22
Figura 5. Crescimento no tamanho de cristais por coalescimento de Ostwald.	25
Figura 6. Esquema do processo para obtenção de micro e nanocristais e caracterização dos mesmos.....	34
Figura 7. Formação de espuma durante moagem coloidal. Amostra antes do processo (a) e espuma remanescente após a retirada da amostra (b).....	47
Figura 8. Redução da espuma durante moagem com pérolas.....	48
Figura 9. Formação de espuma após moagem coloidal e adesão de parte do pó ao recipiente (amostra MC6 com L-PZQ).....	48
Figura 10. Moagem com pérolas da amostra MP6 com L-PZQ.	49
Figura 11. Distribuição de frequência do tamanho de partícula (μm) da amostra MC1 antes e depois da moagem.	50
Figura 12. Distribuição de frequência do tamanho de partícula (μm) da amostra MP1 ao longo do processo.	51
Figura 13. Distribuição de frequência do tamanho de partícula (μm) da amostra MC2 antes e depois da moagem.	52
Figura 14. Distribuição de frequência do tamanho de partícula (μm) da amostra MP2 ao longo do processo.	53
Figura 15. Distribuição de frequência do tamanho de partícula (μm) da amostra MC3 antes e depois da moagem.	54
Figura 16. Distribuição de frequência do tamanho de partícula (μm) da amostra MP3 ao longo do processo.	55
Figura 17. Representação do tempo ótimo de processamento das amostras MP1, MP2 e MP3.....	56
Figura 18. Comparação entre os dados retroespalhamento $\Delta\text{BS}(\%)$ das amostras MC1, MC2 e MC3. O eixo das abcissas é composto pela altura da cubeta de amostra (mm).....	63

Figura 19. Comparação entre os dados de retroespalhamento $\Delta BS(\%)$ das amostras MP1, MP2 e MP3. O eixo das abcissas é composto pela altura da cubeta de amostra (mm).....	64
Figura 20. Comparação entre os dados retroespalhamento $\Delta BS(\%)$ das amostras otimizadas MC4 e MC5. O eixo das abcissas é composto pela altura da cubeta de amostra (mm).....	65
Figura 21. Comparação entre os dados de retroespalhamento $\Delta BS(\%)$ das amostras otimizadas MP4 e MP5. O eixo das abcissas é composto pela altura da cubeta de amostra (mm).....	66
Figura 22. Comparação entre os dados de retroespalhamento $\Delta BS(\%)$ das amostras MC6 e MP6. O eixo das abcissas é composto pela altura da cubeta de amostra (mm).	67
Figura 23. Comparação entre TSI global das amostras MC1, MC2 e MC3 ao longo de 2 horas de análise.	68
Figura 24. Comparação entre TSI global das amostras MP1, MP2 e MP3 ao longo de 17 horas de análise.	69
Figura 25. Comparação entre TSI global das amostras otimizadas MC4 e MC5 ao longo de 2 horas de análise.	69
Figura 26. Comparação entre TSI global das amostras otimizadas MP4 e MP5 ao longo de 17 horas de análise.	70
Figura 27. TSI global da amostra otimizada MC6 ao longo de 2 horas de análise. ..	71
Figura 28. TSI global da amostra MP6 ao longo de 17 horas de análise.	71
Figura 29. Padrões de difração das amostras em comparação com padrão de difração da matéria-prima e padrão calculado rac-PZQ.....	72
Figura 30. Padrões de difração das amostras otimizadas em comparação com padrão de difração da matéria-prima e padrão calculado rac-PZQ.	73
Figura 31. Padrões de difração das amostras com L-PZQ em comparação com padrão de difração da matéria-prima e padrão calculado.	74
Figura 32. Curvas TGA/DTG do rac-PZQ e das amostras MC1, MC2 e MC3.	76
Figura 33. Curvas TGA/DTG do rac-PZQ e das amostras MP1, MP2 e MP3.	77
Figura 34. Curvas TGA/DTG do rac-PZQ e das amostras MC4 e MC5.	78
Figura 35. Curvas TGA/DTG do rac-PZQ e das amostras MP4 e MP5.	79
Figura 36. Curvas TGA/DTG do L-PZQ e das amostras MC6 e MP6.	80

Figura 37. Curvas DSC do rac-PZQ e das amostras MC1, MC2 e MC3.....	83
Figura 38. Curvas DSC do rac-PZQ e das amostras MP1, MP2 e MP3.	83
Figura 39. Curvas DSC do rac-PZQ e das amostras MC4 e MC5.	85
Figura 40. Curvas DSC do rac-PZQ e das amostras MP4 e MP5.....	85
Figura 41. Curvas DSC do L-PZQ e das amostras MC6 e MP6.....	87
Figura 42. Comparação entre os espectros de absorção das amostras iniciais e matéria-prima PZQ.....	88
Figura 43. Comparação entre os espectros de absorção das amostras otimizadas e matéria-prima PZQ.....	89
Figura 44. Comparação entre os espectros de absorção das amostras com L-PZQ e da matéria-prima.	91
Figura 45. Representação gráfica dos diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada e índice de polidispersão (span) do rac-PZQ.....	92
Figura 46. Representação gráfica dos diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada das amostras em pó MC1, MC2 e MC3 e os respectivos índices de polidispersão (span).....	93
Figura 47. Representação gráfica dos diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada das amostras em pó MP1, MP2 e MP3 e os respectivos índices de polidispersão (span).....	94
Figura 48. Representação gráfica dos diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada das amostras em pó otimizadas MC4 e MC5 e os respectivos índices de polidispersão (span).....	95
Figura 49. Representação gráfica dos diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada das amostras em pó otimizadas MP4 e MP5 e os respectivos índices de polidispersão (span).....	96
Figura 50. Micrografias da matéria-prima do PZQ com magnitude de aproximação de 1000 (esquerda) e 2000 (direita) vezes.....	97
Figura 51. Micrografias das amostras MC1, MC2, MC3, MP1, MP2 e MP3 com magnitude de aproximação de 5000 vezes.....	99
Figura 52. Micrografias das amostras MC4, MC5, MP4 e MP5 com magnitude de aproximação de 5000 vezes.....	100
Figura 53. Micrografias da matéria-prima do L-PZQ com magnitude de aproximação de 1000 (esquerda) e 2000 (direita) vezes.....	101

Figura 54. Micrografias das amostras MC6 e MP6 com magnitude de aproximação de 5000 vezes.	102
Figura 55. Comparação dos perfis de dissolução das amostras iniciais em pó MC1, MC2 e MC3 com o da matéria-prima PZQ.	105
Figura 56. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó MP1, MP2 e MP3 com o da matéria-prima PZQ.	107
Figura 57. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó inicial vs. otimizada: MC1 e MC4.	109
Figura 58. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó inicial vs. otimizada: MC2 e MC5.	109
Figura 59. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó inicial vs. otimizada: MP1 e MP4.	111
Figura 60. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó inicial vs. otimizada: MP2 e MP5.	111
Figura 61. Comparação dos perfis de dissolução das amostras finais em pó MC4, MC5 e MC3 com o da matéria-prima PZQ, após a otimização.	114
Figura 62. Comparação dos perfis de dissolução das amostras finais em pó MP4, MP5 e MP3 com o da matéria-prima PZQ, após a otimização.	116
Figura 63. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó MC5, MP5 e MF2, de mesma composição.	118
Figura 64. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó MC6, MP6 e MF4, de mesma composição, com o da matéria-prima L-PZQ.	120
Figura 65. Gráfico PCA das soluções de rac-PZQ e L-PZQ, além do tampão como referência, para as respostas de resistência coletadas em 100 Hz.	124
Figura 66. Gráfico PCA das soluções de MC5, MP5, MC6 e MP6, além do tampão como referência, para as respostas de resistência coletadas em 100 Hz.	125
Figura 67. Padrões de difração dos estabilizantes utilizados nas formulações.	149
Figura 68. Curvas TGA/DTG dos excipientes LSS, PVP K30, POL 407 e Soluplus.	149
Figura 69. Curvas DSC dos excipientes LSS, PVP K30, POL 407 e Soluplus.	150
Figura 70. Micrografias dos estabilizantes utilizados nas formulações.	151
Figura 71. Padrões de difração dos estabilizantes utilizados nas formulações.	152

Figura 72. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó MC4, MP4 e MF1, de mesma composição.	167
Figura 73. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó MC3, MP3 e MF3, de mesma composição.	168

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Relação das formulações testadas.....	33
Tabela 2. Formulação testada com L-PZQ.	36
Tabela 3. Solubilidade do rac-PZQ em água e na presença de diferentes estabilizantes a 25 °C.	44
Tabela 4. Solubilidade do L-PZQ em água e na presença de diferentes estabilizantes a 25 °C.	44
Tabela 5. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas da amostra MC1 e respectivo índice de polidispersão (span).....	50
Tabela 6. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas da amostra MP1 e respectivo índice de polidispersão (span).	51
Tabela 7. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas da amostra MC2 e respectivo índice de polidispersão (span).....	52
Tabela 8. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas da amostra MP2 e respectivo índice de polidispersão (span).	53
Tabela 9. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas da amostra MC3 e respectivo índice de polidispersão (span).....	54
Tabela 10. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas da amostra MP3 e respectivos índices de polidispersão (span).	55
Tabela 11. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas da amostra MC4 e respectivo índice de polidispersão (span).....	57
Tabela 12. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas da amostra MP4 e respectivo índice de polidispersão (span).	57
Tabela 13. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas da amostra MC5 e respectivo índice de polidispersão (span).....	57
Tabela 14. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas da amostra MP5 e respectivo índice de polidispersão (span).	58
Tabela 15. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas da amostra MC6 e respectivo índice de polidispersão (span).....	58
Tabela 16. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas da amostra MP6 e respectivo índice de polidispersão (span).	59
Tabela 17. Relação entre diâmetro médio, PDI e potencial zeta das amostras MP1, MP2 e MP3.....	60

Tabela 18. Relação entre diâmetro médio, PDI e potencial zeta das amostras MP4 e MP5.....	60
Tabela 19. Relação entre diâmetro médio, PDI e potencial zeta da amostra MP6. ..	60
Tabela 20. Dados da análise termogravimétrica para as amostras iniciais MC1, MC2 e MC3 e MP1, MP2 e MP3.....	77
Tabela 21. Dados da análise termogravimétrica para as amostras iniciais MC4, MC5, MP4 e MP5.....	79
Tabela 22. Dados da análise termogravimétrica para as amostras iniciais MC1, MC2 e MC3 e MP1, MP2 e MP3.....	81
Tabela 23. Dados da análise de DSC para rac-PZQ e amostras MC1, MC2, MC3, MP1, MP2 e MP3.....	84
Tabela 24. Dados da análise de DSC para rac-PZQ e amostras MC4, MC5, MP4 e MP5.....	86
Tabela 25. Dados da análise de DSC para L-PZQ e amostras MC6 e MP6.	87
Tabela 26. Comparação dos números de onda (cm^{-1}) do espectro de infravermelho do PZQ matéria-prima e das amostras iniciais.....	89
Tabela 27. Comparação dos números de onda (cm^{-1}) do espectro de infravermelho do PZQ matéria-prima e das amostras otimizadas.	90
Tabela 28. Comparação dos números de onda (cm^{-1}) do espectro de infravermelho do L-PZQ matéria-prima e das amostras MC6 e MP6.	91
Tabela 29. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas e índices de polidispersão (span) do rac-PZQ.....	92
Tabela 30. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas das amostras em pó MC1, MC2 e MC3 e os respectivos índices de polidispersão (span).	93
Tabela 31. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas das amostras em pó MP1, MP2 e MP3 e os respectivos índices de polidispersão (span).	94
Tabela 32. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas das amostras em pó otimizadas MC4 e MC5 e os respectivos índices de polidispersão (span).	95

Tabela 33. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas das amostras em pó otimizadas MP4 e MP5 e os respectivos índices de polidispersão (span).	96
Tabela 34. Solubilidade do rac-PZQ em diferentes meios a 37 °C.	103
Tabela 35. Solubilidade do L-PZQ em diferentes meios à 37 °C.	103
Tabela 36. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras MC1, MC2 e MC3 com a matéria-prima PZQ.	105
Tabela 37. Comparação pelo fator f2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras MC1, MC2 e MC3.	106
Tabela 38. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras em pó MP1, MP2 e MP3 com a matéria-prima PZQ.	107
Tabela 39. Comparação pelo fator f2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras MP1, MP2 e MP3.	108
Tabela 40. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras em pó MC1 vs. MC4 e MC2 vs. MC5.	110
Tabela 41. Comparação pelo fator f2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras MC1 vs. MC4 e MC2 vs. MC5.	110
Tabela 42. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras em pó MP1 vs. MP4 e MP2 vs. MP5.	112
Tabela 43. Comparação pelo fator f2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras MP1 vs. MP4 e MP2 vs. MP5.	112
Tabela 44. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras finais MC4, MC5 e MC3 com a matéria-prima PZQ.	114
Tabela 45. Comparação pelo fator f2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras finais MC4, MC5 e MC3.	115
Tabela 46. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras finais MP4, MP5 e MP3, com a matéria-prima PZQ.	116
Tabela 47. Comparação pelo fator f2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras finais MP4, MP5 e MP3.	117
Tabela 48. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras em pó MC5, MP5 e MF2, de mesma composição.	118
Tabela 49. Comparação pelo fator f2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras MC5 e MP5.	119

Tabela 50. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras MC6, MP6 e MF4, com a matéria-prima L-PZQ.....	120
Tabela 51. Comparação pelo fator f2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras finais MC6, MP6 e MF4	121
Tabela 52. Concentração do rac-PZQ em água e em diferentes meios a 25 °C até a estabilização.....	145
Tabela 53. Concentração do L-PZQ em água e em diferentes meios a 25 °C até a estabilização.....	145
Tabela 54. ANOVA de fator único para a solubilidade do rac-PZQ na presença de diferentes estabilizantes.	145
Tabela 55. Teste de Tukey aplicado aos valores da solubilidade do rac-PZQ na presença de diferentes estabilizantes.	146
Tabela 56. ANOVA de fator único para a solubilidade do L-PZQ na presença de diferentes estabilizantes.	146
Tabela 57. Teste de Tukey aplicado aos valores da solubilidade do L-PZQ na presença de diferentes estabilizantes.	146
Tabela 58. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas e índices de polidispersão (span) para as amostras em suspensão ao longo do tempo da moagem.	147
Tabela 59. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas e índices de polidispersão (span) para as amostras em suspensão no tempo final da moagem.	148
Tabela 60. Diâmetros de corte para diferentes frações mássicas acumuladas e índices de polidispersão (span) para as amostras em pó (secas após moagem).	148
Tabela 61. Dados da análise termogravimétrica para dos excipientes LSS, PVP K30, POL 407 e Soluplus.	150
Tabela 62. Dados da análise de DSC para excipientes LSS, PVP K30, POL 407 e Soluplus.....	151
Tabela 63. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MC1, MC2 e MC3.	153
Tabela 64. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MC1, MC2 e MC3.	153

Tabela 65. ANOVA de fator único para a % dissolvida em 60 minutos das amostras MC1, MC2 e MC3.....	154
Tabela 66. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida em 60 minutos das amostras MC1, MC2 e MC3.....	154
Tabela 67. ANOVA de fator único para a eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras MC1, MC2 e MC3.....	154
Tabela 68. Teste de Tukey aplicado aos valores de eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras MC1, MC2 e MC3.....	154
Tabela 69. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MP1, MP2 e MP3.	155
Tabela 70. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MP1, MP2 e MP3.....	155
Tabela 71. ANOVA de fator único para a % dissolvida em 60 minutos das amostras MP1, MP2 e MP3.	156
Tabela 72. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida em 60 minutos das amostras MP1, MP2 e MP3.....	156
Tabela 73. ANOVA de fator único para a eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras MP1, MP2 e MP3.....	156
Tabela 74. Teste de Tukey aplicado aos valores de eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras MP1, MP2 e MP3.	156
Tabela 75. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MC1 e MC4.	157
Tabela 76. Teste de Sidak aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MC1 e MC4.....	157
Tabela 77. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MC2 e MC5.	157
Tabela 78. Teste de Sidak aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MC2 e MC5.....	158
Tabela 79. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MP1 e MP4.	158
Tabela 80. Teste de Sidak aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MP1 e MP4.....	158
Tabela 81. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MP2 e MP5.	159
Tabela 82. Teste de Sidak aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MP2 e MP5.....	159

Tabela 83. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras finais MC4, MC5 e MC3.....	159
Tabela 84. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida das amostras finais MC4, MC5 e MC3.....	160
Tabela 85. ANOVA de fator único para a % dissolvida em 60 minutos das amostras finais MC4, MC5 e MC3.	160
Tabela 86. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida em 60 minutos das amostras finais MC4, MC5 e MC3.....	161
Tabela 87. ANOVA de fator único para a eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras finais MC4, MC5 e MC3.....	161
Tabela 88. Teste de Tukey aplicado aos valores de eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras finais MC4, MC5 e MC3.	161
Tabela 89. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras finais MP4, MP5 e MP3.....	161
Tabela 90. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida das amostras finais MP4, MP5 e MP3.	162
Tabela 91. ANOVA de fator único para a % dissolvida em 60 minutos das amostras finais MP4, MP5 e MP3.....	162
Tabela 92. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida em 60 minutos das amostras finais MP4, MP5 e MP3.	163
Tabela 93. ANOVA de fator único para a eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras finais MP4, MP5 e MP3.	163
Tabela 94. Teste de Tukey aplicado aos valores de eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras finais MP4, MP5 e MP3.	163
Tabela 95. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MC5 e MP5.	163
Tabela 96. Teste de Sidak aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MC5 e MP5.....	164
Tabela 97. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MC6, MP6 e MF4.	164
Tabela 98. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MC6, MP6 e MF4.....	164
Tabela 99. ANOVA de fator único para a % dissolvida em 60 minutos das amostras MC6, MP6 e MF4.	165

Tabela 100. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida em 60 minutos das amostras finais MC6, MP6 e MF4.	165
Tabela 101. ANOVA de fator único para a eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras finais MC6, MP6 e MF4.	166
Tabela 102. Teste de Tukey aplicado aos valores de eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras finais MC6, MP6 e MF4.	166
Tabela 103. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MC4 e MP4.	167
Tabela 104. Teste de Sidak aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MC4 e MP4.	167
Tabela 105. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras em pó MC4, MP4 e MF1, de mesma composição.	168
Tabela 106. Comparação pelo fator f2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras MC4 e MP4.	168
Tabela 107. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MC3 e MP3.	169
Tabela 108. Teste de Sidak aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MC3 e MP3.	169
Tabela 109. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras em pó MC3, MP3 e MF3, de mesma composição.	169
Tabela 110. Comparação pelo fator f2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras MC3 e MP3.	169

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AFM	Microscópio de força atômica
DSC	Calorimetria diferencial exploratória
DLS	Espalhamento dinâmico de luz
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
FDA	Food and Drug Administration
HCl	Ácido clorídrico
HPMC E3	Hidroxipropilmetil celulose E3
IFA	Ingrediente farmacêutico ativo
LD	Difração de <i>laser</i>
LSS	Lauril sulfato de sódio
L-PZQ	L-praziquantel
MC	Microcristais
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MET	Microscópio eletrônico de transmissão
NC	Nanocristais
ODT	Comprimidos orodispersíveis
OMS	Organização Mundial da Saúde
PES	Poli(éter-sulfona)
POL188	Poloxâmero 188
POL407	Poloxâmero 407
PVP K30	Poli(vinil pirrolidona) K30
PZQ	Praziquantel
rac-PZQ	Praziquantel racemato
SANS	Espalhamento de nêutrons em baixos ângulos
SAXS	Espalhamento de raios X a baixo ângulo
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SUS	Sistema Único de Saúde
TGA	Análise termogravimétrica
TSI	Índice de estabilidade Turbiscan

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1	RELEVÂNCIA DO PRAZICUANTEL	3
2.1.1	Propriedades físico-químicas e farmacocinéticas.....	3
2.1.2	Formas farmacêuticas no mercado	5
2.1.3	Formulações pediátricas.....	6
2.2	FÁRMACOS POUCO SOLÚVEIS EM ÁGUA	9
2.2.1	Alternativas tecnológicas para incremento da solubilidade de fármacos	10
2.3	NANOTECNOLOGIA FARMACÊUTICA.....	15
2.3.1	Nanopartículas cristalinas.....	16
2.3.2	Propriedades dos nanocristais.....	17
2.3.3	Técnicas de preparo de nanocristais	18
2.4	MOAGEM VIA ÚMIDA	20
2.4.1	Estabilização físico-química de nanossuspensões	23
2.4.2	Secagem das nanossuspensões	26
3	JUSTIFICATIVA	29
4	OBJETIVOS	31
4.1	OBJETIVO GERAL.....	31
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
5	METODOLOGIA	32
5.1	MATERIAL.....	32
5.2	MÉTODOS.....	32
5.2.1	Seleção dos agentes estabilizantes.....	32
5.2.2	Preparo das amostras.....	33
5.2.3	Caracterização das suspensões.....	36
5.2.4	Caracterização dos pós	37
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
6.1	SELEÇÃO DOS AGENTES ESTABILIZANTES	43
6.2	PREPARO DAS AMOSTRAS	46
6.3	CARACTERIZAÇÃO DAS SUSPENSÕES.....	49

6.4	CARACTERIZAÇÃO DOS PÓS	72
6.4.1	Difração de raios X de pó	72
6.4.2	Análise térmica	75
6.4.3	Espectroscopia no Infravermelho (IV).....	87
6.4.4	Determinação de distribuição de tamanho de partícula por difração de <i>laser</i>	92
6.4.5	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	97
6.4.6	Solubilidade	103
6.4.7	Dissolução	104
6.4.8	Avaliação da palatabilidade	122
7	CONCLUSÃO.....	126
8	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	128
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	129
	APÊNDICE A – CURVA DE CALIBRAÇÃO DO PZQ EM HPLC.....	143
	APÊNDICE B – CURVA DE CALIBRAÇÃO DO L-PZQ EM HPLC	144
	APÊNDICE C – SOLUBILIDADE: RESULTADOS E COMPARAÇÃO	145
	APÊNDICE D – COMPILADO TAMANHO DE PARTÍCULA.....	147
	APÊNDICE E – CARACTERIZAÇÃO DOS EXCIPIENTES	149
	APÊNDICE F – DISSOLUÇÃO: COMPARAÇÃO ESTATÍSTICA.....	153
	APÊNDICE G – COMPARAÇÃO DA DISSOLUÇÃO ENTRE AMOSTRAS DE MESMA COMPOSIÇÃO	167

1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose é um dos principais problemas de saúde pública nos países em desenvolvimento, especialmente nos localizados em regiões tropicais e subtropicais (BARAKAT; MORSHEDY, 2011). A doença é causadora de um alto nível de sofrimento ao redor do mundo, particularmente para os que vivem em comunidades rurais ou com pouco acesso às condições sanitárias adequadas (NAVARATNAM *et al.*, 2012). Apesar disso, existe baixo investimento em prevenção, tratamentos e pesquisas, sendo conhecida por essa razão como uma “doença tropical negligenciada” (WOELFLE *et al.*, 2011).

Desde 1984, a principal maneira para o controle da morbidade é a administração de praziquantel (PZQ). A partir de 2006, programas de quimioterapia preventiva iniciaram a ampla distribuição do medicamento para comunidades de risco, assim como para as crianças com idade pré-escolar (OLLIARO; DELGADO-ROMERO; KEISER, 2014). Tal medida foi encorajada pela redução dos preços de PZQ no mercado, além de sua eficácia e segurança relatadas (BARAKAT; MORSHEDY, 2011; NAVARATNAM *et al.*, 2012).

Atualmente a forma farmacêutica existente no mercado brasileiro é a de comprimidos, registrados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) nas dosagens de 500 e 600 mg, sendo a posologia feita de acordo com a massa corpórea do paciente. Embora a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomende que seja administrada dose única de 40 mg/Kg para o tratamento da esquistossomose, diferentes doses de PZQ são adotadas de acordo com programas nacionais de controle, sendo doses de 60 mg/Kg requeridas principalmente quando há chances de reincidência da doença (OLLIARO *et al.*, 2011).

O PZQ é classificado como um fármaco de classe II de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), sendo sua baixa solubilidade aquosa, além do metabolismo de primeira passagem no fígado, limitantes na biodisponibilidade (AMIDON *et al.*, 1995; LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2004). Tais fatores, somados à alta dose terapêutica indicada (ANDREWS *et al.*, 1983), aumentam os desafios relacionados à fabricação de uma formulação farmacêutica (COSTA *et al.*, 2016), e, dessa maneira, os comprimidos comercialmente disponíveis são grandes, fato que torna complexa a sua deglutição por crianças.

Crianças são particularmente vulneráveis à esquistossomose e, quando infectadas em idade escolar, além de complicações na saúde e nutrição, têm frequentemente seu desenvolvimento cognitivo comprometido (WHO, 2002). Uma vez que é uma doença comum em crianças em idade pré-escolar, a administração de doses medicamentosas adequadas mostra-se muito complexa em razão da grande variabilidade corpórea entre as crianças. Assim, a necessidade de quebra dos comprimidos danifica o revestimento dos mesmos (quando presente) e acarreta na evidência do sabor amargo da formulação, além de possível problema de inexatidão de dose (VERRUE *et al.*, 2011).

A característica de sabor desagradável do fármaco é associada ao seu isômero biologicamente inativo, o D-PZQ (WOELFLE *et al.*, 2011), e implica na baixa aceitabilidade dos pacientes pediátricos e possível comprometimento do sucesso terapêutico. Assim, vem sendo evidenciada a importância da palatabilidade de formulações orais no que diz respeito à adesão aos regimes terapêuticos pediátricos (MATSUI, 2007; ZAJICEK *et al.*, 2013) e, como resposta, cresce o interesse no desenvolvimento de formulações capazes de atender às especificidades de tal grupo de pacientes.

Espera-se com este trabalho que micro e nanocristais de PZQ, pela redução no tamanho de partícula do fármaco, promovam um incremento em seu perfil de dissolução (KHADKA *et al.*, 2014) e que a reprodução do processo utilizando o isômero L-PZQ isolado seja capaz de melhorar a palatabilidade do medicamento. Dessa maneira, além da possível redução da dose necessária para efeito terapêutico, será também garantida uma forma farmacêutica mais adequada para uso pediátrico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 RELEVÂNCIA DO PRAZIQUANTEL

O PZQ é amplamente eficaz contra platelmintos, incluindo trematódeos e cestódeos, apresentando efeitos cisticidas. Este fármaco é um anti-helmíntico de amplo espectro e tem sido utilizado para o tratamento da clonorquíase, opistorquíase e esquistossomose. O PZQ é adotado para o tratamento da esquistossomose em humanos independente da espécie de *Schistosoma* causadora da patologia, sendo esta uma doença que afeta cerca de 200 milhões de pessoas em todo o mundo (DAMETTO *et al.*, 2017).

O uso clínico do PZQ confirma de maneira consistente seu amplo espectro de atividade, excelente perfil de segurança e alta eficácia terapêutica (UTZINGER; KEISER, 2004). Além disso, em decorrência da expiração de sua patente em vários países entre o final da década de 80 e o início da década de 90 (WHO, 1998) e consequente surgimento de genéricos, assim como aumento da competição comercial, o PZQ passou a apresentar baixo custo (WHO, 2002). Por estas razões, o PZQ tornou-se o medicamento de primeira escolha para o tratamento e controle da morbidade da esquistossomose e atualmente se encontra na Lista Modelo de Medicamentos Essenciais divulgada pela OMS, tanto no modelo para adultos quanto em sua versão para crianças (WHO, 2017a, 2017b).

2.1.1 Propriedades físico-químicas e farmacocinéticas

O PZQ, 2-ciclohexilcarbonil[1–3,6,7,11b]hexa-hidro-4H-pirazino[2,1-a]isoquinolin-4-ona, é um composto sintético e heterocíclico e sua fórmula estrutural está representada na Figura 1. O PZQ é normalmente obtido como uma mistura racêmica, ou seja, que contém iguais proporções dos enantiômeros R- (-) -PZQ (levógiro, L-PZQ) e S - (+) - PZQ (dextrógiro, D-PZQ) (ZHANG *et al.*, 2017). É um pó branco cristalino com um sabor amargo. O composto é estável sob condições normais de armazenamento, praticamente insolúvel em água, mas facilmente solúvel em alguns solventes orgânicos, como etanol e diclorometano. Apresenta faixa de fusão de 136 a 142 °C (ANVISA, 2010; DOENHOFF; CIOLI; UTZINGER, 2008).

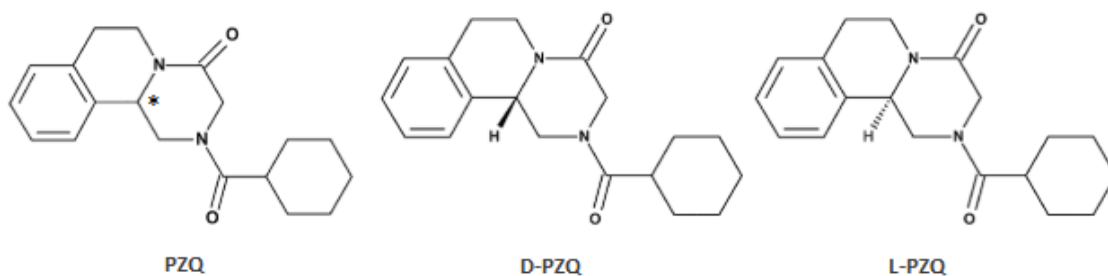


Figura 1. Fórmula estrutural do PZQ, D-PZQ e L-PZQ
 Fonte: adaptado de WANG *et al.* (2014).

O medicamento adentrou o mercado sendo disponibilizado comercialmente na forma de um racemato, embora estudos *in vitro* e *in vivo* conduzidos desde a descoberta da molécula tenham demonstrado maior atividade anti-helmíntica associada ao isômero L-PZQ (ANDREWS *et al.*, 1983). Estudos adicionais confirmaram o L-PZQ como sendo o biologicamente ativo, além de menor toxicidade relacionada ao mesmo (LIU *et al.*, 1986; SHU-HUA; CATTO, 1989; YUE-HAN *et al.*, 1993). Em contrapartida, o D-PZQ foi ligado aos efeitos colaterais do medicamento, bem como ao seu característico sabor amargo (MEIER; BLASCHKE, 2001; MEYER *et al.*, 2009). Dessa forma, a síntese do enantiômero ativo puro esteve no plano de negócios da OMS no período de 2008 a 2013 e uma rota sintética para o L-PZQ foi identificada, progredindo com sucesso para registro e produção por uma empresa farmacêutica parceira (WHO, 2007, 2013).

De acordo com o SCB o PZQ é classificado como um fármaco de classe II, isto é, apresenta baixa solubilidade aquosa e alta permeabilidade através das membranas do trato gastrointestinal (LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2004; OLLIARO; DELGADO-ROMERO; KEISER, 2014). A baixa solubilidade em água (0,4 mg/mL) é o fator limitante na biodisponibilidade deste fármaco (DAMETTO *et al.*, 2017; MERCK & Co., 2001).

O PZQ é absorvido rapidamente após a administração oral, com pico plasmático alcançado dentro das primeiras horas seguintes à administração (LEOPOLD *et al.*, 1978). Castro e colaboradores (2010) demonstraram que em adultos saudáveis a administração de PZQ concomitantemente com alimentação rica em proteínas ou carboidratos é capaz de incrementar a biodisponibilidade do fármaco. Apesar de sua absorção ser quase completa, este fármaco sofre intenso metabolismo de primeira passagem no fígado, que além de ser dose-dependente, pode tornar sua

farmacocinética suscetível à variações (OLLIARO; DELGADO-ROMERO; KEISER, 2014; STEINER *et al.*, 1976). A eliminação ocorre essencialmente pela urina (LEOPOLD *et al.*, 1978).

2.1.2 Formas farmacêuticas no mercado

Atualmente, conforme listagem presente na página eletrônica da ANVISA, estão com registro ativo e autorizados para comercialização no mercado brasileiro os comprimidos nas dosagens de 500 e 600 mg, fabricados pela Merck S/A (Cisticid[®] 500 mg) e por Farmanguinhos – Fundação Oswaldo Cruz (praziquantel 600 mg) (ANVISA, 2019). No mercado internacional, é principalmente disponibilizado na forma de comprimidos revestidos de 600 mg e 22 mm de comprimento (TRASTULLO *et al.*, 2015). Não existe nenhuma formulação específica para uso pediátrico distribuída pelo Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil e nem indicada pela OMS no mundo (WHO, 2017).

A dose por comprimido é alta, tornando-o difícil de ser engolido por crianças. Além disso, como a posologia é feita de acordo com a massa corpórea do paciente, muitas vezes este acaba sendo dividido ou até mesmo triturado para facilitar a administração. Dessa forma, a película de revestimento é danificada (quando presente) e o efeito de mascaramento de sabor é comprometido, evidenciando o sabor amargo do fármaco e provocando ânsias e até mesmo vômitos (MACHADO *et al.*, 2018; TRASTULLO *et al.*, 2015; WOELFLE *et al.*, 2011).

A administração pediátrica do PZQ é adaptada a partir da formulação adulta. É sabido que nos casos em que fármacos não estão disponíveis em formulações adequadas para crianças, precaução deve ser tomada quando se mostram necessárias modificações na forma farmacêutica ou na concentração do medicamento padrão, uma vez que além de problemas de dosagem e estabilidade, estas podem gerar dificuldades em relação à palatabilidade (DE MEDEIROS; GARRUTI, 2018). Nesse sentido, recorrer à combinação com alimentos como uma medida para mascarar o sabor desagradável de um medicamento pode influenciar na biodisponibilidade e exatidão das dosagens, com possível efeito negativo na eficácia e segurança do tratamento (ERNEST *et al.*, 2007). Por essas razões, iniciativas internacionais surgiram para apoio ao desenvolvimento de uma formulação de PZQ

que apresente forma farmacêutica mais conveniente aos pacientes pediátricos (WHO, 2013).

2.1.3 Formulações pediátricas

De acordo com a OMS, um medicamento ideal para crianças é aquele que está disponível em uma forma farmacêutica oral flexível, ou seja, que pode facilmente ser ingerida inteira, dissolvida em líquido ou misturada à comida, de maneira que a dose possa ser ajustada de acordo com as condições fisiológicas, necessidades clínicas, capacidades ou preferências relativas à faixa etária na qual a criança se encontra (ORUBU; TULEU, 2017; WHO, 2011). Ainda, este deve ser de fácil fabricação, com utilização de quantidades mínimas de excipientes não tóxicos, para obtenção de uma formulação estável, comercialmente viável, de baixo custo e com sabor agradável (ORUBU; TULEU, 2017).

O acesso a formulações pediátricas adequadas, palatáveis e seguras pode ter um efeito substancial na melhoria da saúde e diminuição da morbidade infantil (WHO, 2011). A adesão terapêutica em crianças é influenciada principalmente pelo sabor da preparação, sendo que geralmente rejeitam medicamentos não palatáveis. Nesses casos, o uso de edulcorantes e flavorizantes é frequentemente a primeira abordagem investigada e apesar das vantagens associadas, é normalmente baseada em tentativa e erro e não se mostra como o meio mais eficaz para mascaramento de sabores, principalmente quando envolve insumos farmacêuticos ativos (IFAs) com sabor altamente aversivo ou residual intenso (WALSH *et al.*, 2014).

No caso do PZQ, em resposta à necessidade clínica identificada, foi criado em 2012 o Consórcio Praziquantel Pediátrico, uma iniciativa internacional público-privada sem fins lucrativos e formada atualmente por sete membros: Merck (Alemanha), Lygature (Países Baixos), Astellas Pharma Inc. (Japão), Swiss TPH (Suíça), Farmanguinhos (Brasil), Simcyp (Reino Unido) e SCI (Reino Unido). Os parceiros têm contribuído para o programa através de financiamento, *expertise* ou disponibilização de recursos, com uma missão em comum: desenvolver, registrar e fornecer acesso a uma formulação pediátrica de PZQ para o tratamento da esquistossomose em crianças em idade pré-escolar (3–6 meses até 6 anos).

O consórcio estabeleceu como produto alvo uma formulação com mascaramento de sabor na forma de comprimido de desintegração rápida, para

administração oral na forma intacta ou dispersão prévia em água. Os comprimidos propostos e desenvolvidos são orodispersíveis (ODT), contêm edulcorantes em sua composição e apresentam dosagem de 150 mg da mistura racêmica de praziquantel (rac-PZQ) ou dosagem equivalente do L-praziquantel (L-PZQ) isolado (REINHARD-RUPP; KLOHE, 2017).

Os resultados divulgados da fase I dos estudos clínicos demonstraram que para a administração de doses equivalentes, a biodisponibilidade do L-PZQ contido no ODT rac-PZQ foi comparável ao medicamento de referência, enquanto que a biodisponibilidade relativa do ODT L-PZQ foi cerca de 40% do comprimido comercial. Apesar disso, menos efeitos adversos foram relatados durante o tratamento com o último. No entanto, a alta variabilidade e a baixa linearidade dos parâmetros farmacocinéticos indicaram a necessidade de um estudo dedicado para determinação da formulação e dose pediátrica mais adequadas. Além disso, o resultado do painel para estudo de palatabilidade utilizando escala análoga visual (VAS, do inglês, *Visual Analog Scale*), favoreceu a administração do ODT L-PZQ disperso em água ao invés da desintegração diretamente na boca e sua palatabilidade foi significativamente melhorada em relação ao comprimido comercial (BAGCHUS *et al.*, 2019). A fase II dos estudos foi finalizada e assim foi estabelecida a dose recomendada para administração pediátrica do ODT L-PZQ (NCT02806232). Para a fase III, voluntários estão sendo recrutados e a previsão é de que o estudo seja concluído ainda em 2020 (NCT03845140).

2.1.3.1 Avaliação da palatabilidade de medicamentos

A palatabilidade é um dos fatores determinantes quando se trata da aceitação de um medicamento pelo paciente. É definida como a apreciação global de um medicamento por propriedades organolépticas tais como cheiro, sabor, sabor residual e textura, além de possivelmente, visão e som (WALSH *et al.*, 2014). Um medicamento palatável é aquele em que os atributos sensoriais aversivos foram minimizados, mascarados ou eliminados de sua formulação (ZAJICEK *et al.*, 2013).

A percepção sensorial de um medicamento de administração oral pode influenciar na adesão dos pacientes e, conseqüentemente, no sucesso da terapia proposta, apresentando particular importância no caso de formulações pediátricas (HARAGUCHI *et al.*, 2016). Uma vez que a maioria dos fármacos apresenta sabor

amargo, o desenvolvimento de preparações farmacêuticas orais com sabor agradável é um desafio e o estabelecimento de métodos confiáveis para a avaliação de palatabilidade se mostra necessário (MOHAMED-AHMED *et al.*, 2016).

O painel humano é o método mais comum para avaliação da palatabilidade e aceitabilidade de formulações farmacêuticas ao final do desenvolvimento, porém sua realização envolve questões éticas e toxicológicas que são ainda mais rigorosas quando o estudo inclui grupos de pacientes especiais, como é o caso de crianças (PEIN *et al.*, 2014). Uma alternativa à participação de indivíduos em análises sensoriais envolve ensaios comportamentais com animais como cachorros, gatos, ratos ou até mesmo peixes ou moscas drosófilas (MÜNSTER *et al.*, 2017). Porém, por também se tratar de um método *in vivo*, as complicações éticas não são completamente eliminadas.

Por essa razão, diversos métodos *in vitro* foram desenvolvidos e podem fornecer informações relevantes para predição da palatabilidade de medicamentos. Dentre os métodos indiretos baseados principalmente em ensaios de quantificação, estão incluídos os testes de liberação ou dissolução do fármaco em questão. Tais testes simulam a dissolução bucal das formas de dosagem e a possível liberação de um sabor desagradável pelo IFA dissolvido, sendo a concentração do mesmo analisada e comparada com o limiar conhecido de detecção humana (ANAND *et al.*, 2007; MOHAMED-AHMED *et al.*, 2016). Já a aplicação de sensores eletrônicos determina o sabor de maneira similar à biológica, baseando-se também nos limiares da percepção dos sabores por humanos, porém, mimetizando o processo de detecção do paladar (MOHAMED-AHMED *et al.*, 2016; MÜNSTER *et al.*, 2017).

Os sistemas eletrônicos, ou língua eletrônica (do inglês, *Electronic Tongue – e-Tongue*), empregam sensores eletroquímicos (baseados em potenciometria, voltametria, amperometria ou outros) acoplados a metodologias quimiométricas para realizar análises qualitativas e quantitativas das propriedades organolépticas e químicas de substâncias e produtos (ANAND *et al.*, 2007; MÜNSTER *et al.*, 2017). O termo língua eletrônica é uma referência à semelhança com o sistema gustativo de mamíferos, devido à similaridade nos estágios de detecção, transdução e reconhecimento de padrões, que é baseado na seletividade global (CORREA *et al.*, 2014).

O conceito de seletividade global envolvido fundamenta-se no reconhecimento dos padrões de resposta que caracterizam grupos de compostos químicos, ou seja, embora não haja discriminação entre estruturas, as informações coletadas são agrupadas de acordo com a qualidade e intensidade de sabor e assim os efeitos sinérgicos ou de supressão entre as substâncias fornecem uma “impressão digital” única para cada amostra (ANAND *et al.*, 2007; CORREA *et al.*, 2014). Dessa maneira, as espécies químicas são classificadas de acordo com os cinco sabores básicos: salgado, amargo, doce, azedo e umami, sendo este último uma combinação dos anteriores (CORREA *et al.*, 2014).

As línguas eletrônicas comercialmente disponíveis são fornecidas pela Insent (Atsugi-Shi, Japão) e AlphaMOS (Toulouse, França). Tais instrumentos têm demonstrado sua capacidade de prever com precisão a intensidade do amargor de diversos tipos de medicamentos anteriormente comprovado pelos sentidos humanos (HARAGUCHI *et al.*, 2016). No Brasil, tal tecnologia foi desenvolvida pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, em parceria com a Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (USP).

A implementação deste sensor representa um avanço nas rotinas de controle de qualidade para a indústria alimentícia, vinícolas e estações de tratamento de água (VALLE, 2017). Embora não haja registros sobre a utilização da língua eletrônica brasileira na indústria farmacêutica, uma vez que não é um equipamento comercializado, há relato na literatura sobre sua aplicabilidade na avaliação da palatabilidade de formulações farmacêuticas em desenvolvimento (HOFFMEISTER *et al.*, 2017). Vale ressaltar que a utilização de tal ferramenta na avaliação de produtos farmacêuticos é relativamente recente, sendo ensaios com humanos ainda importantes para fins de validação e correlação com os resultados obtidos *in vitro* (ANAND *et al.*, 2008), assim como apresentado em alguns estudos encontrados na literatura aplicando sensores comerciais (LORENZ *et al.*, 2009; SADRIEH *et al.*, 2005).

2.2 FÁRMACOS POUCO SOLÚVEIS EM ÁGUA

O avanço tecnológico possibilitou o desenvolvimento de diversas estratégias para investigação e seleção de novas substâncias bioativas. Os métodos de triagem

biológica automatizada em alta escala (HTS, do inglês *high-throughput screening*) e de triagem virtual (VS, do inglês *virtual screening*), levaram a descoberta de grande quantidade de fármacos que, apesar do potencial farmacodinâmico, apresentam propriedades farmacocinéticas que devem ser otimizadas a fim de garantir o efeito terapêutico esperado (GUIDO; ANDRICOPULO; OLIVA, 2010). Atualmente, cerca de 40% dos fármacos comercializados e até 75% dos compostos candidatos a fármacos que se encontram em desenvolvimento são definidos como pouco solúveis em água (WILLIAMS *et al.*, 2013).

A baixa solubilidade em água é um fator limitante no processo de absorção sistêmica de um princípio ativo em determinadas formas de dosagem, uma vez que torna lenta a dissolução do fármaco nos fluidos do trato gastrointestinal. Assim, a extensão da absorção pelas membranas celulares e disponibilização na corrente sanguínea podem ser afetadas e, como consequência, menor concentração efetivamente atingirá o sítio de ação. Dessa maneira, a solubilidade deve ser incrementada pois influencia diretamente na biodisponibilidade do fármaco (JUNGHANNS; MÜLLER, 2008; PRADO; ROCHA, 2015).

2.2.1 Alternativas tecnológicas para incremento da solubilidade de fármacos

Diferentes estratégias vêm sendo desenvolvidas para abordar a questão da baixa solubilidade de fármacos em fase aquosa e uma visão geral de tais tecnologias foi apresentada em publicações recentes (DOUROUMIS *et al.*, 2013; WILLIAMS *et al.*, 2013). São encontradas referências de técnicas como a formação de sais, cocristsais, dispersões sólidas amorfas, polimorfos metaestáveis e redução do tamanho de partícula (BLAGDEN *et al.*, 2007; CHAUD *et al.*, 2013; KHADKA *et al.*, 2014; MÜLLER; PETERS, 1998). Além disso, há registro do uso de cossolventes, surfactantes, ajustes de pH, complexação com ciclodextrinas, formulações de emulsões e lipossomas, sistemas autoemulsificantes, dentre outras (DOUROUMIS & FAHR, 2013; KAWABATA *et al.*, 2011). A Figura 2 ilustra as principais estratégias adotadas para mitigar tal questão.

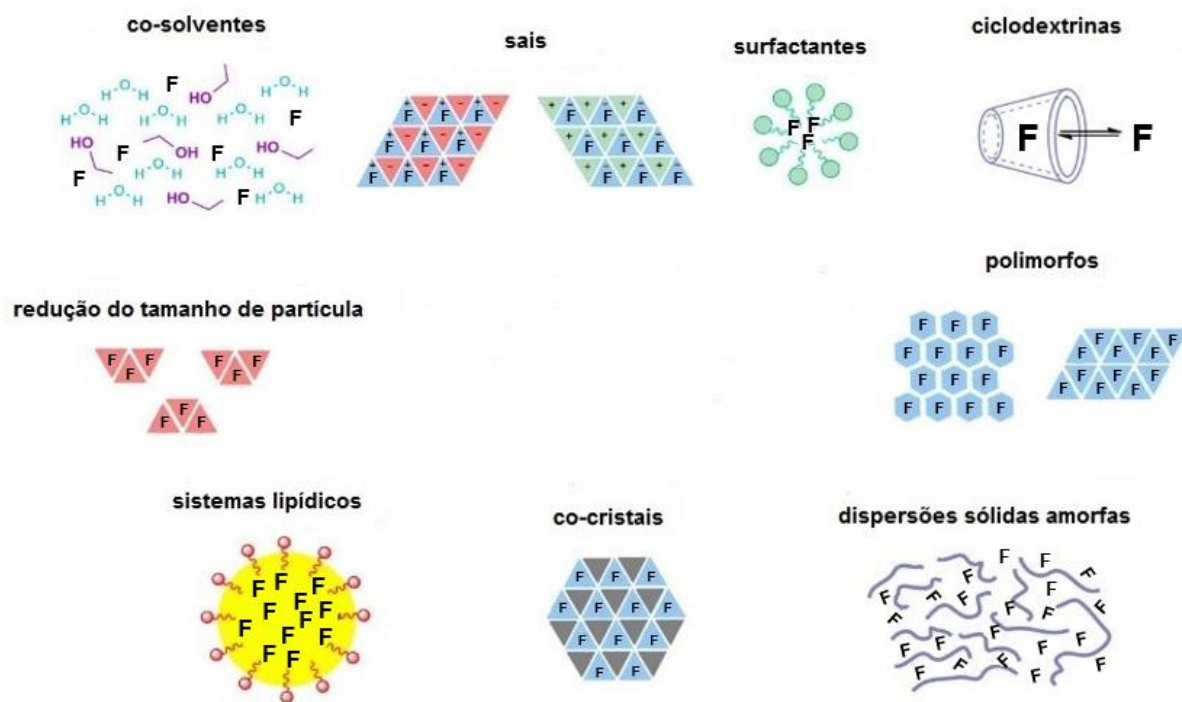


Figura 2. Esquema ilustrando as estratégias para enfrentar a baixa solubilidade de fármacos.
 Fonte: adaptado de Williams e colaboradores (2013).

Dependendo das propriedades moleculares e físico-químicas da substância ativa, bem como a dose clínica indicada, alternativas diferentes podem ser adotadas (KAWABATA *et al.*, 2011). Entretanto, a toxicidade relacionada e os efeitos colaterais indesejáveis devem ser considerados quando excipientes são usados em técnicas convencionais e em grandes quantidades para aumentar a solubilidade do fármaco (MERISKO-LIVERSIDGE; LIVERSIDGE; COOPER, 2003).

Nesse contexto, a redução do tamanho de partículas para escala nanométrica é uma abordagem promissora para incrementar a solubilidade de saturação, a taxa de dissolução e biodisponibilidade oral de fármacos hidrofóbicos, ou pertencentes às classes II e IV do SCB. Os micro e nanocristais mostram-se tanto na literatura quanto no mercado como uma excelente alternativa para este tipo de situação (CHEN *et al.*, 2017; HOFFMEISTER *et al.*, 2017).

Em relação ao PZQ, alguns trabalhos presentes na literatura foram realizados com o objetivo de incremento em sua dissolução/biodisponibilidade utilizando abordagens diversas, como por exemplo: nano e microcristais (YANG *et al.*, 2019) cocrystal e ciclodextrinas (CUGOVČAN *et al.*, 2017), homogeneização a alta pressão (GONZALEZ; RAMÍREZ RIGO; GONZALEZ VIDAL, 2018), dispersões sólidas (DAMETTO *et al.*, 2017), granulação por fusão e liofilização (PASSERINI *et al.*, 2006)

e nanopartículas poliméricas (DA FONSECA *et al.*, 2014). O Quadro 1 resume tais trabalhos.

No geral, os trabalhos encontrados na literatura propuseram e testaram métodos de preparo em pequena escala e com baixa carga de PZQ. Em alguns casos, apesar da porcentagem do fármaco dissolvida ser próxima de 100%, a composição exata e o preparo do meio de dissolução não foram descritos. Além disso, a maioria não considera a condição *sink* para a condução dos testes de dissolução e apenas dois avaliam a eficiência de dissolução. Alguns estudos conduziram testes de estabilidade e avaliaram as formulações *in vivo*. O único trabalho que cita preocupação com a questão da palatabilidade não apresenta os resultados obtidos com tal estudo.

AUTORES	YANG <i>et al.</i> , 2018	CUGOVČAN <i>et al.</i> , 2017	GONZALEZ; RAMÍREZ RIGO; GONZALEZ VIDAL, 2018	DAMETTO <i>et al.</i> , 2017	PASSERINI <i>et al.</i> , 2006	DA FONSECA <i>et al.</i> , 2014
Abordagem	Nano e microcristais	Cocristais e complexo amorfo com ciclodextrinas	Dispersões sólidas	Dispersões sólidas	Grânulos e micropartículas	Nanopartículas poliméricas
Técnica	Moagem via úmida e micronização	Moagem	Homogeneização à alta pressão (HPH)	Método de fusão	Granulação por fusão e <i>spray congealing</i>	Polimerização em miniemulsão <i>in situ</i>
Método de preparo	Moagem via úmida do PZQ com estabilizantes em moinho planetário com bolas de 0,5 mm, a 35 Hz por 160 min. Moinho de jato a ar, com pressão de ar de 0,5 MPa.	Moagem do PZQ com aditivos em moinho de bolas vibracional de alta energia, 25 Hz por 30 min.	Pré-homogeneização: 22000 rpm, 10 minutos. HPH: 60 ciclos, 950 bar.	Aquecer os compostos até as respectivas temperaturas de fusão e misturá-los sob constante agitação até solidificação.	Granuladora do tipo <i>high shear</i> : 120 rpm por 10 min, seguido de 500 rpm por 5 min (50 °C). <i>Spray congealing</i> com atomizador ultrassônico: atomização da suspensão de PZQ em Gelucire 50/13 fundido, a 70 °C, 25 kHz e 250 W.	Mistura de fase orgânica e fase aquosa no homogeneizador de alta pressão, seguida de polimerização em reator.
Concentração de PZQ	5% (m/v)	1:1, 150 mg de PZQ	1% (m/v)	3:1; 1:1 e 1:3 (PZQ:carreador)	10% m/m	Não informado.
Excipientes	Soluplus® e POL 407. Manitol e sorbitol como crioprotetores.	Ácido cítrico, ácido maléico, ácido salicílico, ácido tartárico e hidroxipropil-β-ciclodextrina e metil-β-ciclodextrina.	POL 188 e maltodextrina ou PVP	Gelucire 50/13 e manitol	PEG 4000, POL 188, α-lactose e Gelucire 50/13	Poli(metacrilato de metila) (PMMA), óleo mineral, Eudragit® E100, agente reticulante dimetacrilato de etilenoglicol (EgDMA), LSS e bicarbonato de sódio.
Concentração de excipientes	1,25% (m/m) e 0,25% (m/m). 3% (m/v) e 3% (m/v).	1:1 ou 1:1:1	Máxima total de 1% (m/v)	3:1; 1:1 e 1:3 (PZQ:carreador)	5, 10, 20 e 30% m/m	Não informado.
Secagem	Liofilização	NA	Estufa a 40 °C (para estudo do estado sólido)	NA	NA	Liofilização
Meio de avaliação	Água (HCl 0,1 LSS 0,2% não foi discriminativo).	Meio gástrico simulado pH 1,2 e meio intestinal simulado pH 6,8.	HCl 0,1 N	0.1 mol/L HCl (120 min) e 0.2 mol/L tampão fosfato pH 6.8 (240 min)	0,02% Tween 20 em água	Meio gástrico simulado, pH 1,2 e meio entérico simulado, pH 6,8.
% Dissolvida	NC: 99,14% e MC: 13,06%, em 60min.	PZQ: 20% em 60 min. Algumas amostras: > 90% em 10 min	PZQ: 1% (60 min) Amostras em suspensão: 66% e 87%	75% em 175 min (1:1 PZQ/Gelucire)	PZQ: 15% (60 min) Grânulos: 20% e 40% (60 min) Micropartículas: 60% (60 min)	Aprox. 100% no início do total de 180 min avaliados.

Eficiência de dissolução (%)	-	PZQ: ~ 15%, 60 min Algumas amostras: > 90%, 60 min	63,88 ± 7,60 e 78,99 ± 2,87	-	-	-
Caracterização físico-química	Distribuição de tamanho de partícula (DLS e LD), TGA, DSC, DRX, MET, FTIR, e perfil de dissolução <i>in vitro</i> .	DSC, DRX, IR, solubilidade, dissolução <i>in vitro</i> .	Distribuição de tamanho de partícula (LD e DLS), DSC, DRX, MEV, teor de fármaco e perfil de dissolução <i>in vitro</i> .	TGA, DSC, DRX, MEV, IR, e perfil de dissolução <i>in vitro</i> .	DSC, microscópio com estágio a quente, tamisação, DRX de pó, FTIR, teor e perfil de dissolução <i>in vitro</i> .	Distribuição de tamanho de partícula (LD), DSC, MEV, IR, teor residual de monômero, eficiência de encapsulamento e perfil de liberação/dissolução (maioria dos dados não mostrados).
Tamanho partícula	364,4 ± 4,6 nm. d10: 1,0; d50: 3,7 e d90: 14,1 µm.	-	d50: 891,0 ± 66,2 nm; 830,3 ± 131,4	-	200–500 µm e 150-250 µm	60 a 105 nm
Tamanho partícula após redispersão	NCs: 377,8 ± 18,2 nm	-	-	-	-	-
Observação	Nanocristais atingem % Dissolvida máxima em 10 minutos. Potencial zeta: -11,3 mV Estabilidade física por 20 dias. Biodisponibilidade em cachorros Beagle.	Estudo estabilidade acelerada. Permeabilidade e compatibilidade <i>in vitro</i> .	-	-	-	Análise sensorial. Atividade <i>in vitro</i> e biológica em camundongos e estudo de toxicidade.

Quadro 1. Compilação dos estudos encontrados na literatura para incremento da dissolução do PZQ.

Em relação à investigação de micro e nanocristais, Yang e colaboradores (2018) apresentaram a formulação, caracterização e estudo farmacocinético de micro (MC) e nanocristais (NC) de PZQ, preparados por moagem a seco e úmida, seguida de liofilização. A suspensão de PZQ foi testada com carga de 5% (m/v), em meio estabilizante contendo 1,25% (m/v) de Soluplus® e 0,25% (m/v) de Poloxâmero 407. Os tamanhos médios obtidos para os NCs e MCs foram de 364,4 nm e 3,7 µm, respectivamente. As taxas de dissolução dos NCs foram maiores do que as obtidas pelos MCs e pela formulação comercial, especialmente quando água foi utilizada como meio discriminativo. Em estudo *in vivo* com cachorros da raça Beagle, a biodisponibilidade oral dos NCs apresentou um aumento de 1,68 e 1,83 vez em relação aos MCs e a formulação comercial, respectivamente. É importante observar também que as técnicas de formação das nanopartículas empregadas no estudo publicado, apesar de bem-sucedidas, limitaram-se a pequenas escalas. O trabalho desenvolvido também não demonstrou preocupação com o sabor.

2.3 NANOTECNOLOGIA FARMACÊUTICA

A nanotecnologia foi adotada no desenvolvimento de produtos causando grande impacto em diferentes áreas como a eletrônica, óptica, produtos de consumo e materiais (WANG *et al.*, 2012). A necessidade de diminuir o tamanho de partícula para a escala nanométrica (abaixo de 1000 nm) tem também emprego comum para produtos de uso médico, da indústria de alimentos ou ainda do setor farmacêutico (JUNGHANNS & MÜLLER, 2008). Tal tecnologia é um dos fatores-chave para a terapia medicamentosa moderna, mostrando-se promissoras as aplicações em novos sistemas de liberação e vetorização de fármacos (FAROKHZAD; LANGER, 2009).

A nanonização de fármacos surgiu como um avanço da micronização, pois apesar da redução de tamanho de partícula para a escala micrométrica ser capaz de incrementar a velocidade de dissolução, a melhoria não é suficiente para superar problemas de biodisponibilidade de fármacos muito pouco solúveis em água, como alguns enquadrados na classe II e IV do SCB (JUNGHANNS; MÜLLER, 2008). Assim, a obtenção de partículas em dimensões nanométricas além de aumentar a velocidade de dissolução do fármaco aumenta, simultaneamente, a sua solubilidade de saturação (WILLIAMS *et al.*, 2013), e conseqüentemente, sua biodisponibilidade.

Além disso, muitos sistemas nanoestruturados têm sido explorados no sentido de melhoria do desempenho terapêutico, não só através do aumento da solubilidade/dissolução, como também pela modulação da biodistribuição, prevenção da degradação, incremento da permeabilidade ou transporte dos fármacos, entre outros. A tecnologia em nanoescala pode ser amplamente dividida em nanocarreadores lipídicos, poliméricos ou inorgânicos, e nanopartículas ou nanossuspensões de fármacos, dentre outros (DATE *et al.*, 2010).

Os nanocarreadores lipídicos incluem lipossomas, microemulsões, nanoemulsões, nanopartículas lipídicas sólidas e carreadores lipídicos nanoestruturados. Já os nanocarreadores poliméricos abrangem micelas poliméricas, nanoesferas e nanocápsulas, dendrímeros e nanoconjugados polímero-fármaco. Ainda, nanocarreadores inorgânicos incluem nanoestruturas contendo diversos metais inorgânicos, enquanto que fármacos na forma de nanopartículas cristalinas podem ser formulados como nanossuspensões ou nanocristais (DATE *et al.*, 2010; PATRA *et al.*, 2018).

2.3.1 Nanopartículas cristalinas

Atualmente, há uma discussão controversa a respeito da definição de nanopartículas, não existindo conceito consolidado sobre a terminologia. De acordo com o Food and Drug Administration (FDA), nanossistemas contêm ao menos uma dimensão entre 1 e 100 nm e podem exibir diferentes propriedades químicas, físicas ou efeitos biológicos em comparação com materiais de mesma composição química, mas de maior escala. Apesar de tal definição, não exclui ainda a possibilidade de propriedades semelhantes em produtos finais serem atribuíveis às dimensões fora do intervalo determinado (FDA, 2014).

Nas ciências farmacêuticas, as nanopartículas com caráter cristalino são também denominadas nanocristais de fármacos. Nanocristais possuem um núcleo de fármaco sólido, cristalino, em escala de tamanho nanométrico, além de uma camada externa estabilizante (MERISKO-LIVERSIDGE; LIVERSIDGE; COOPER, 2003). Os nanocristais farmacêuticos são geralmente preparados como suspensões, ou nanossuspensões, formadas pela dispersão de nanocristais de fármacos puro em meios líquidos, que precisam ser estabilizadas por agentes estabilizantes de carga

e/ou estéricos. Os meios de dispersão podem ser água, soluções aquosas ou meios não aquosos, como polietilenoglicol líquido ou óleos (JUNGHANNS; MÜLLER, 2008).

Os nanocristais de fármacos foram desenvolvidos no início dos anos 90, de acordo com as datas dos primeiros pedidos de patentes depositados pela Nanosystems (Élan) (LIVERSIDGE *et al.*, 1992), RTP Canadá (SkyePharma Canada) (KHAN; PACE, 2002) e DDS Drug Delivery Services GmbH (incorporada pela SkyePharma) (MULLER *et al.*, 1999). Em 2000 foi lançado pela Wyeth Pharmaceuticals o primeiro produto comercial, Rapamune®.

Após quase vinte anos de desenvolvimento de nanocristais, a maioria dos produtos comerciais são de uso oral, porém, também são encontrados medicamentos para administração parenteral, pulmonar e ocular (CHEN *et al.*, 2017). É esperado que ainda mais produtos produzidos com essa tecnologia cheguem ao mercado, uma vez que as patentes não estão mais em vigência ou estão próximas de expirarem (CHEN *et al.*, 2017; MÜLLER; KECK, 2012; SHEGOKAR; MÜLLER, 2010).

2.3.2 Propriedades dos nanocristais

Os nanocristais são capazes de conferir incremento na biodisponibilidade dos fármacos em razão de suas propriedades características, sendo elas principalmente o aumento da solubilidade de saturação e da velocidade de dissolução, além do aumento da adesividade a superfícies ou membranas celulares (JUNGHANNS; MÜLLER, 2008; MÜLLER; GOHLA; KECK, 2011). Essas são vantagens relevantes que tornam o uso de nanocristais promissor para inúmeras aplicações (JUNGHANNS; MÜLLER, 2008).

A solubilidade de saturação é uma constante que além de ser função do composto, do meio de dissolução e da temperatura, pode também depender do tamanho de partículas quando estas se encontram na escala nanométrica (JUNGHANNS; MÜLLER, 2008). De acordo com a Equação 1 de Ostwald–Freundlich, quanto menor o tamanho de partícula, maior a solubilidade de saturação:

$$\log(C_s/C_\alpha) = 2\sigma V/2.303RTpr \quad (1)$$

onde C_s é a solubilidade de saturação, C_α é a solubilidade do sólido que consiste em partículas grandes, σ é a tensão interfacial da substância, V é o volume molar do

material particulado, R é a constante do gás, T é a temperatura absoluta, ρ é a densidade do sólido e r é o raio.

Em relação à velocidade de dissolução, quando esta é um fator limitante no processo de absorção de um fármaco pelo organismo, técnicas de cominuição possibilitam um incremento em seu valor. Segundo modificação do modelo de dissolução descrito inicialmente por Noyes-Whitney e proposto por Nernst-Brunner e Levich (DRESSMAN *et al.*, 1998), conforme a Equação 2, a velocidade de dissolução aumenta devido ao aumento expressivo na área superficial das partículas quando estas passam de micrômetros para nanômetros (PATRAVALE, DATE & KULKARNI, 2004), além de também ser proporcional à solubilidade de saturação:

$$dX/dt = (D \times A)/h \times (C_s - X/V) \quad (2)$$

onde dX/dt é a velocidade de dissolução, D é o coeficiente de difusão, A é a área da superfície da partícula, h é a distância difusional, C_s é a solubilidade de saturação do fármaco, X é a concentração no líquido circundante e V é o volume do meio de dissolução.

Além disso, o aumento da adesividade dos nanocristais está relacionado ao aumento em sua área de contato, também como consequência da redução do tamanho de partícula (MÜLLER; GOHLA; KECK, 2011). Por essas razões, a flexibilidade oferecida pela modificação de tamanho de partícula e propriedades de superfície garantem a versatilidade dos nanocristais, permitindo com que sejam incorporados em diversas formas de dosagem e administrados por diferentes vias (PATRAVALE; DATE; KULKARNI, 2004).

2.3.3 Técnicas de preparo de nanocristais

Existem duas abordagens básicas para produção de nanocristais: *top-down* ou *bottom-up*. Nos métodos *top-down*, partículas grandes são fragmentadas em partículas menores, como por exemplo na técnica de moagem úmida ou homogeneização de alta pressão (HPH, do inglês *high pressure homogenization*). Em contrapartida, os métodos *bottom-up* dependem de um processo de formação de

partículas nanométricas partindo de moléculas de fármaco dissolvidas, como o que por exemplo ocorre na técnica de precipitação (KECK; MÜLLER, 2006).

Em ambos os casos, é formada uma nova área de superfície (ΔA), que aumenta a energia livre (ΔG), conforme definido pela Equação 3:

$$\Delta G = \gamma_{s/l} \times \Delta A \quad (3)$$

onde $\gamma_{s/l}$ é a tensão interfacial.

O sistema prefere reduzir este aumento na área superficial dissolvendo núcleos cristalinos incipientes, no caso de precipitação, ou aglomerando pequenas partículas, independentemente de seu mecanismo de formação. Esta tendência pode ser evitada pelo formulador através da adição de agentes funcionalizantes de superfície que, reduzindo a tensão interfacial, permitem interações atrativas água-surfactante e assim reduzem a energia livre do sistema. Dessa maneira, a superfície do cristal é estabilizada e mostra uma tendência reduzida à aglomeração (RABINOW, 2004). Esse princípio é ilustrado na Figura 3.

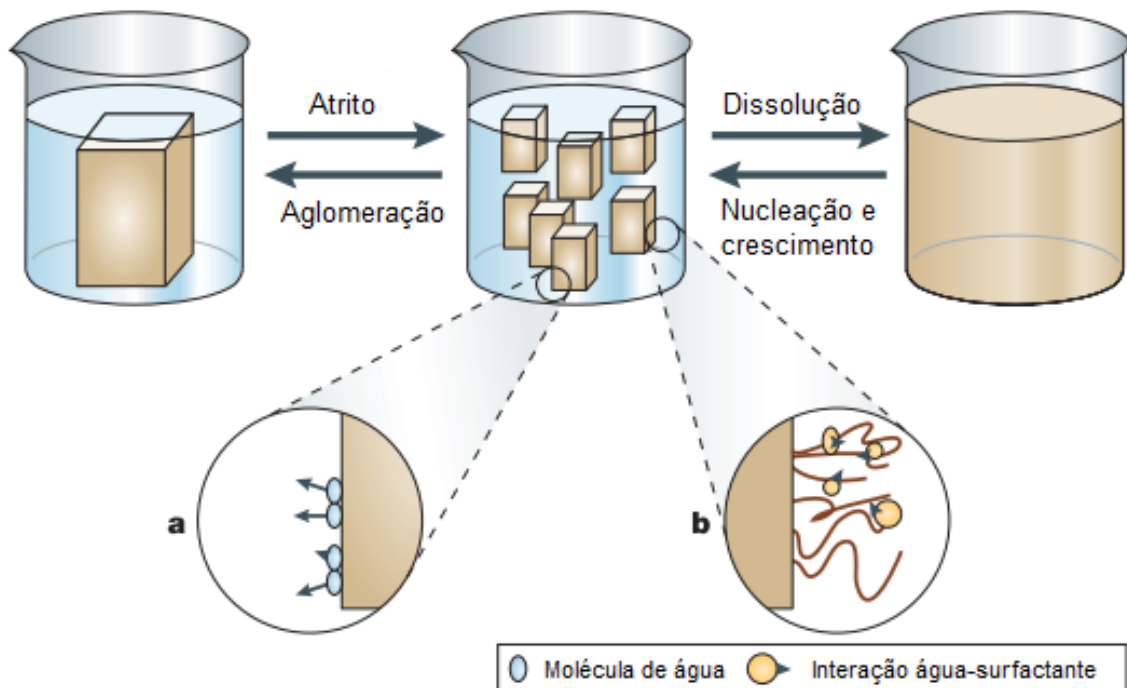


Figura 3. Formação e estabilização de nanopartículas cristalinas.
Fonte: adaptado de RABINOW (2004).

Dos 16 produtos com nanocristais atualmente disponíveis no mercado, a maioria é de administração por via oral e preparada pela abordagem *top-down*, sendo a técnica de moagem por via úmida amplamente utilizada. O primeiro produto a incorporar tal tecnologia foi o Rapamune®, um agente imunossupressor disponibilizado no mercado em 2000 pela Wyeth Pharmaceuticals. Outros exemplos de medicamentos aprovados são Emend (Merck, EUA), Tricor (Abbott, EUA) e Invega Sustenna (Janssen, EUA) (LI; MATTEI, 2019; MERISKO-LIVERSIDGE; LIVERSIDGE, 2011).

Apesar das desvantagens comumente associadas à abordagem *bottom-up*, como a necessidade de remoção de solvente e a dificuldade de controle do processo (JUNGHANNS; MÜLLER, 2008), o aprimoramento técnico e sua aplicação em escala industrial são notados pela presença no mercado de 2 produtos preparados pela técnica de coprecipitação (LI; MATTEI, 2019). Ainda, dos 5 produtos em atual desenvolvimento, 1 é produzido pela mesma abordagem (LI; MATTEI, 2019). Em estudo de revisão Liu e colaboradores (2015) apresentam uma visão geral das técnicas *top-down* disponíveis para o preparo de nanocristais. Os métodos industrialmente relevantes consideram esse tipo de abordagem em razão de sua boa reprodutibilidade e fácil escalonamento. Sendo assim, dentre as possíveis técnicas de preparo de nanocristais, a moagem foi a escolhida no presente trabalho.

2.4 MOAGEM VIA ÚMIDA

A moagem é uma operação unitária na qual energia mecânica é aplicada para quebrar fisicamente partículas grosseiras visando a obtenção de partículas mais finas, sendo portanto considerada uma abordagem *top-down* para produção de nanopartículas (LOH; SAMANTA; SIA HENG, 2015). Durante o processo de moagem, os cristais de fármaco quebram-se em partículas menores e, assim, novas superfícies são continuamente geradas. Portanto, o intervalo de tempo entre a geração de uma nova superfície e a adsorção do estabilizante na mesma influencia a estabilidade das nanossuspensões e a eficiência da moagem úmida (WANG *et al.*, 2013). Ainda durante a operação, a redução do tamanho das partículas atinge um limite prático, que, uma vez ultrapassado, resulta em dificuldade progressiva na fragmentação das mesmas (HICKEY; GANDERTON, 2010). Assim, quando a moagem é prolongada, a taxa de aglomeração pode superar a fragmentação das partículas e reduzir

significativamente a eficiência do processo. Além disso, quando tal limiar crítico é atingido, a transferência continuada de energia mecânica do moinho para o fármaco pode levar ainda ao desordenamento da estrutura do cristal (BOLDYREV, 2004; LOH; SAMANTA; SIA HENG, 2015).

A clássica tecnologia NanoCrystals[®], desenvolvida por Liversidge e colaboradores (1992), utiliza moinho de esferas ou moinho de pérolas para cominuição das partículas. Os elementos de moagem, o meio de dispersão (geralmente água), os estabilizantes e o fármaco são carregados na câmara de moagem. O moinho pode ser operado em batelada ou com recirculação e as forças de cisalhamento do impacto, geradas pelo movimento dos elementos de moagem, levam à redução do tamanho das partículas (PATRAVALE; DATE; KULKARNI, 2004). O tempo de moagem depende de muitos fatores (como o teor de surfactante, dureza do fármaco, viscosidade, temperatura, energia de entrada e tamanho do elemento de moagem) e pode durar de 30 minutos a horas ou vários dias variando de acordo com as especificidades de cada formulação (MERISKO-LIVERSIDGE; LIVERSIDGE; COOPER, 2003).

O processo é mostrado em uma representação esquemática na Figura 4.

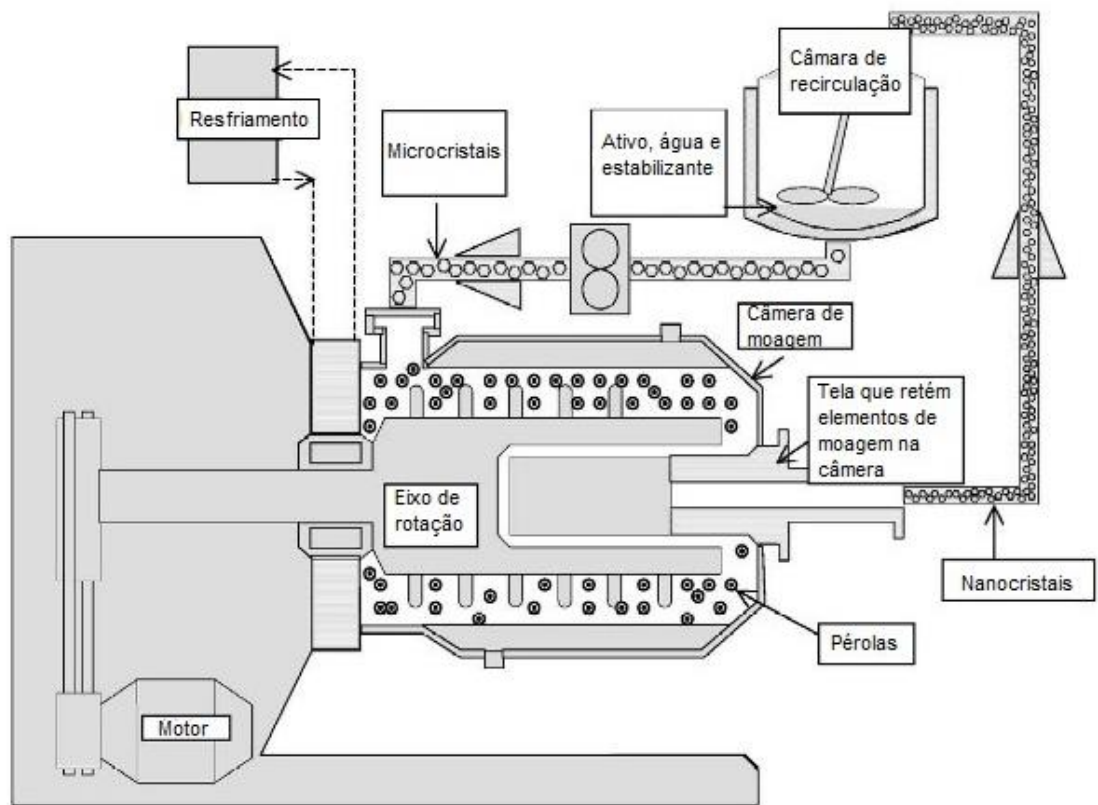


Figura 4. Esquema do processo de moagem com pérolas.
 Fonte: adaptado de MERISKO-LIVERSIDGE *et al.* (2003).

As pérolas ou esferas podem apresentar tamanhos diversos e são usadas como elementos de moagem, consistindo de cerâmica (dióxido de zircônio estabilizado com cério ou ítrio), aço inoxidável, vidro ou esferas revestidas com resina de poliestireno altamente reticulado. A erosão do material de moagem durante o processo é um problema comum desta tecnologia; assim, o revestimento das esferas de moagem foi desenvolvido na tentativa de reduzir a quantidade de impurezas geradas (BRUNO *et al.*, 1992). Outro problema é a aderência do produto à superfície interna do moinho, ocorrendo principalmente entre a superfície das pérolas de moagem e a superfície do próprio moinho (JUNGHANNS; MÜLLER, 2008).

Um dos grandes desafios no preparo de nanosuspensões por moagem com pérolas é o fato de as formulações tenderem à formação de uma espuma estável no recipiente de amostra, que consiste em bolhas de ar muito pequenas. Uma possível explicação é de que as partículas hidrofóbicas em escala nanométrica sejam capazes de estabilizar a espuma formada durante o processo. Uma medida para a redução de tal efeito é a expulsão de todo o ar antes da introdução da amostra no sistema (BITTERLICH *et al.*, 2014). Outra questão são as altas temperaturas envolvidas no

processo de moagem e decorrentes do mecanismo de quebra das partículas. Para controlar essa situação, camisas de refrigeração devem ser utilizadas para dissipação do calor e uma vez que limitam a elevação da temperatura dentro da câmara de moagem, permitem que o sistema seja utilizado até mesmo de maneira contínua (LOH; SAMANTA; SIA HENG, 2015).

Em um processo de moagem, alcançar o tamanho e forma desejados para as partículas exige otimização de um grande número de variáveis relacionadas ao processo e ao material utilizado. Em termos de processamento, é necessário o ajuste das condições de moagem, como a duração, taxa de alimentação e outros parâmetros operacionais. Ocasionalmente, uma combinação de técnicas de moagem pode ser necessária para alcançar os resultados desejados. Quando diferentes técnicas são utilizadas em série, ainda mais variáveis relacionadas ao processo precisam ser ajustadas e refinadas, permitindo assim que as vantagens exclusivas de cada técnica sejam combinadas sinergicamente para obtenção do resultado desejado. Os excipientes adequados devem ser selecionados para minimizar a aglomeração e melhorar a molhabilidade, estabilidade e resultante solubilidade das partículas do fármaco submetido à tal processo (LOH; SAMANTA; SIA HENG, 2015).

2.4.1 Estabilização físico-química de nanossuspensões

Os nanocristais de fármaco são formados a partir de um núcleo sólido rodeado por uma camada estabilizadora formada por surfactantes e/ou polímeros anfifílicos (TUOMELA; HIRVONEN; PELTONEN, 2016). O uso de estabilizantes é essencial para prevenção da aglomeração e agregação, assim como do crescimento de cristais (ou coalescimento de Ostwald) (WANG *et al.*, 2013). Os agentes tensoativos iônicos ajudam na repulsão eletrostática e os agentes tensoativos ou polímeros não iônicos conferem um efeito estérico, impedindo aproximação entre as partículas (RABINOW, 2004).

A estabilização eletrostática é obtida quando polímeros carregados ou surfactantes iônicos são adsorvidos nas superfícies das partículas do fármaco e diminuem sua carga aparente. Já a estabilização estérica é alcançada quando polímeros de cadeia longa são adsorvidos nas superfícies das partículas do fármaco, formando uma barreira física que impede a aproximação entre as mesmas. As propriedades do polímero como o comprimento da cadeia, massa molar,

hidrofobicidade e forma, além da concentração, irão influenciar a eficiência da adsorção. Ainda, o método de adição do polímero (adições periódicas ou adição ao início do processo de moagem) também é capaz de afetar suas propriedades de estabilização (LOH; SAMANTA; SIA HENG, 2015).

O processo de nanonização resulta na criação de novas interfaces e variação positiva da energia livre de Gibbs, dessa maneira, as nanossuspensões são sistemas considerados termodinamicamente instáveis. A aglomeração, que pode ser definida como a união de partículas por forças de ligação fracas (como as de Van der Waals) (OBERDÖRSTER, 2010), é uma propriedade inerente das nanossuspensões como uma resposta da tendência do sistema nanoestruturado em reduzir a energia livre de Gibbs, afim de reestabelecer o equilíbrio termodinâmico (WANG *et al.*, 2013). Cineticamente, o processo de aglomeração depende de energia de ativação, que por sua vez pode ser influenciada pela adição de estabilizantes ao sistema. Os estabilizantes, por aumentarem a energia de ativação necessária, fornecem uma barreira à ocorrência de tal mecanismo (GONZÁLES-CABALLERO; LÓPEZ-DURÁN, 2000). Ainda, agregação entre as partículas, através de ligações químicas fortes (OBERDÖRSTER, 2010), pode ocorrer durante o processo de preparo das nanossuspensões ou durante a estabilidade de prateleira do produto (WANG *et al.*, 2013).

Além disso, outro fenômeno ligado à instabilidade do sistema é o coalescimento de Ostwald, que surge como resultado da diferença da solubilidade de saturação entre partículas de diferentes tamanhos (GREENWOOD, 1956; SINHA; MÜLLER; MÖSCHWITZER, 2013). Como explicado anteriormente, as partículas em escala nanométrica apresentam maior solubilidade de saturação e caso ocorra sua solubilização no meio (MERISKO-LIVERSIDGE; LIVERSIDGE, 2011), um gradiente de concentração de fármaco é criado. Assim, ocorre a difusão das moléculas livres à partir da área de maior concentração para a região em torno das partículas grandes. Como consequência, o ambiente supersaturado formado ao redor das partículas grandes facilita a cristalização do fármaco nas mesmas (WU; ZHANG; WATANABE, 2011). Tal fenômeno é ilustrado esquematicamente na Figura 5.

Em outras palavras, o coalescimento de Ostwald é essencialmente um processo no qual as partículas grandes crescem às custas das partículas menores, o

que leva a uma mudança na distribuição de tamanho das partículas em suspensão (DOUROUMIS *et al.*, 2013).

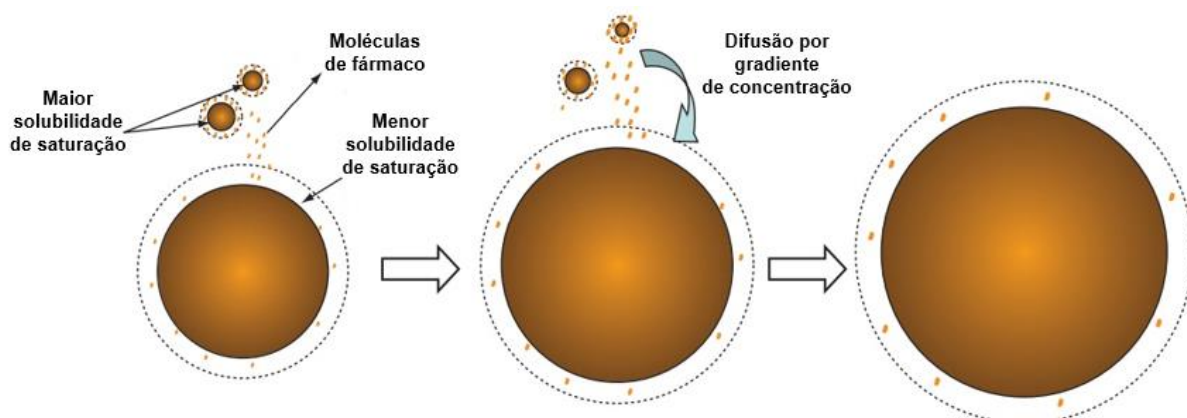


Figura 5. Crescimento no tamanho de cristais por coalescência de Ostwald.
Fonte: adaptado de Wu e colaboradores (2011).

Geralmente, a aglomeração e coalescência de Ostwald são os primeiros fenômenos desencadeados pela instabilidade e são responsáveis pela ampliação da faixa de tamanho das partículas que formam o sistema (WANG *et al.*, 2013). No entanto, a ocorrência de sedimentação é a extrema representação da instabilidade do sistema de dispersão coloidal. A transição do tamanho ocorre gradualmente, podendo partir de dispersões das moléculas em solução, que passam por dispersões coloidais até formarem dispersões grosseiras. Entretanto, quando a força da gravidade exercida na partícula de fármaco for maior do que a força de flutuação criada pelo sistema de dispersão, a sedimentação é inevitável. Tal mecanismo é irreversível e uma vez que ocorra a formação de “caking”, a nanossuspensão não pode ser redispersa (FLORENCE; ATTWOOD, 2006; RABINOW, 2004), sendo evidenciada assim a importância da consideração desse fenômeno durante a formulação (WANG *et al.*, 2013).

Dessa maneira, estabilizantes são essenciais para prevenir a agregação das nanossuspensões, porém, fármacos diferentes requerem diferentes estabilizantes e, assim, não é possível a definição de um único sistema estabilizante aplicável para todos os fármacos e processos. Além disso, não existe nenhum guia sistemático para seleção e otimização de agentes estabilizantes e, assim, a identificação de estabilizantes adequados para uma dada formulação é frequentemente difícil e normalmente segue uma abordagem de tentativa e erro. O tipo e a quantidade de

estabilizante também exercem efeito significativo na estabilidade física e comportamento *in vivo* das nanossuspensões (TEERANACHAIDEEKUL *et al.*, 2008). Quanto menor o tamanho das partículas, mais importante é uma estabilização eficiente, não só para a formação de nanocristais, como também para a estabilidade da formulação durante o armazenamento (TUOMELA; HIRVONEN; PELTONEN, 2016).

2.4.2 Secagem das nanossuspensões

O processamento de nanossuspensões após o preparo torna-se essencial quando o fármaco é altamente suscetível a clivagem hidrolítica ou degradação química. Esta etapa também pode ser necessária quando o melhor estabilizante possível ainda não for capaz de garantir a estabilização da nanossuspensão por um período de tempo suficiente, como também em casos de restrições em relação a aceitação dos pacientes por determinada via de administração (PATRAVALE; DATE; KULKARNI, 2004).

A nanossuspensão aquosa pode ser usada como fluido de granulação na produção de comprimidos, ou como fluido umectante para a massa em peletização. A secagem para obtenção de pó a partir das amostras aquosas pode ser realizada por pulverização ou liofilização (SHEGOKAR; MÜLLER, 2010).

As operações de secagem convencionais da indústria farmacêutica, como leito fluidizado ou *spray drying*, apresentam vantagens e são aplicáveis a nanossuspensões. Se a moagem for realizada com suspensões altamente concentradas que apresentarem alta viscosidade, pode ser necessário diluí-las antes da secagem de forma a maximizar o rendimento (DOUROUMIS *et al.*, 2013).

Embora processos de secagem como *spray drying* e liofilização sejam abordagens comuns, muitas vezes fornecem energia suficiente para que ocorra a conversão do fármaco da forma cristalina para a amorfa. Além disso, nanossuspensões que não foram permanentemente estabilizadas através do uso de estabilizantes apropriados podem agregar quando submetidas à processos de secagem. Assim, ainda que a secagem para obtenção de pó seja desejável em termos de estabilidade, possíveis transformações durante o processamento da formulação devem ser monitoradas através de métodos apropriados (WANG *et al.*, 2013).

Considerando estes aspectos, os nanocristais podem ser facilmente incluídos em formas farmacêuticas sólidas através da aplicação de processos de solidificação. Para isso, a seleção racional das operações unitárias deve ser feita considerando as propriedades do fármaco e os aspectos econômicos. Além disso, o efeito de tal processamento no tamanho de partícula e no teor de umidade final do fármaco seco devem ser avaliados (PATRAVALE; DATE; KULKARNI, 2004). Por fim, após a nanossuspensão ser submetida a um processo de secagem, o pó resultante pode ser formulado para administração pulmonar, esterelizado para reconstituição como injetável ou ainda transformado em outras formas de dosagem, tais como cápsulas, *pellets* e comprimidos de administração oral (WANG *et al.*, 2013).

2.4.2.1 Caracterização de micro e nanopartículas cristalinas

As micro e nanopartículas cristalinas se diferenciam pelo tamanho, porém ambas apresentam um caráter cristalino, ou seja, apresentam suas moléculas em um empacotamento ordenado e periódico. Assim, a caracterização estrutural e a consideração da possibilidade do preparo de diferentes formas cristalinas tornam-se importantes.

A possibilidade de um fármaco cristalizar-se em diferentes estruturas pode impactar três parâmetros de essenciais durante o desenvolvimento de produtos na indústria farmacêutica: biodisponibilidade, estabilidade e processabilidade (PRADO; ROCHA, 2015). Dessa maneira, é reforçada a necessidade de aplicação de técnicas adequadas para identificação da forma cristalina e suas propriedades. É importante salientar que um único método de análise não é suficiente para promover toda a informação necessária e usualmente, métodos são utilizados de maneira complementar (LI; MATTEI, 2019).

Os métodos de caracterização convencionais para sólidos incluem difração de raios X de pó para identificação da estrutura/forma sólida, métodos térmicos para avaliação de transições de fase por aquecimento ou resfriamento, espectroscopia para informações sobre ligações e o ambiente ao redor da molécula e microscopia para avaliação visual e estimativa de tamanho das partícula (LI; MATTEI, 2019).

Além disso, quando se trabalha com nanopartículas cristalinas, o tamanho de partícula e a distribuição do tamanho são parâmetros essenciais e geralmente avaliados pela técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS, do inglês *Dynamic*

Light Scattering). Para partículas maiores do que 5 μm , a técnica de difração de *laser* (LD, do inglês *Laser Diffraction*) pode ser utilizada (WU; ZHANG; WATANABE, 2011). É importante reforçar que a medida do tamanho de partícula é uma distribuição estatística dos diferentes tamanhos presentes na amostra e as informações obtidas por DLS e LD não são idênticas, uma vez que no primeiro método a distribuição é relacionada à intensidade de luz espalhada por cada partícula, e a segunda baseada na contribuição do volume de cada partícula (MALVERN INSTRUMENTS LIMITED, 2015).

Embora as técnicas DLS e LD forneçam as medidas de tamanho de partículas e distribuição de tamanho de partículas, não têm a capacidade de avaliar a morfologia das mesmas. Como técnicas diretas de formação de imagens, o microscópio eletrônico de varredura (MEV), o microscópio eletrônico de transmissão (MET) e o microscópio de força atômica (AFM, do inglês *Atomic Force Microscope*) são amplamente utilizados para avaliação da morfologia de partículas (WU; ZHANG; WATANABE, 2011).

Além disso, no caso da avaliação de nanopartículas cristalinas enquanto suspensões, algumas técnicas podem ser aplicadas para obtenção de informações indicativas da estabilidade física das formulações. A carga da superfície da partícula, que resulta da diferença de potencial elétrico entre a superfície mais externa e a mais interna da partícula dispersa, pode ser avaliada por microeletroforese Doppler a *laser* (LI; MATTEI, 2019). Pelo cálculo da mobilidade eletroforética das partículas suspensas no meio, é fornecida a medida do potencial zeta (mV) (WU; ZHANG; WATANABE, 2011). Ainda, apesar de inspeção visual ser capaz de avaliar fenômenos como sedimentação e cremagem, abordagens modernas incluem avaliação por retroespalhamento de luz (DU *et al.*, 2015).

Outras técnicas menos difundidas, como espalhamento de nêutrons em baixos ângulos (SANS, do inglês *Small Angle Neutron Scattering*) e espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS, do inglês *Small Angle X-Ray Scattering*), podem oferecer informações relevantes (DOUROUMIS *et al.*, 2013) para caracterização de nanopartículas cristalinas, como a estrutura interna e interações entre os diferentes componentes que formam o sistema (ALFORD; KOZLOVSKAYA; KHARLAMPIEVA, 2017). Além disso, tais análises podem ser conduzidas tanto em meio aquoso, quanto em meio biorrelevante (DOUROUMIS *et al.*, 2013).

3 JUSTIFICATIVA

Atualmente, o produto registrado e distribuído de PZQ é um racemato que contém proporções iguais do enantiômero biologicamente ativo, o L-praziquantel, e de seu distômero inativo, o D-praziquantel (OLLIARO; DELGADO-ROMERO; KEISER, 2014). Todavia, embora o modo de ação do fármaco não seja completamente compreendido, o mecanismo que envolve o dano tegumentar e a contração paralisante da musculatura dos parasitas é relacionado somente à ação do L-PZQ (ROSZKOWSKI; MAURIN; CZARNOCKI, 2006).

Ademais, conforme disposto em literatura, a administração de tal enantiômero puro resultou em menos efeitos colaterais quando comparado ao racemato, sendo o enantiômero inativo associado aos tais efeitos adversos e também ao gosto extremamente amargo das formulações (WOELFLE *et al.*, 2011).

Como foi demonstrado, a questão da palatabilidade é relevante quando se trata da adesão pediátrica a regimes terapêuticos e, apesar de o PZQ ser de suma importância clínica no tratamento da esquistossomose, não existe nenhum medicamento específico para tal grupo de pacientes. Neste caso, o tratamento é feito por uma adaptação a partir da formulação para adultos e, considerando que os comprimidos são grandes e difíceis de serem engolidos por crianças, muitas vezes acabam sendo quebrados e triturados para facilitar a administração, fato que evidencia ainda mais o sabor amargo do fármaco, além de possivelmente comprometer a exatidão da dose (WOELFLE *et al.*, 2011).

Mediante esta problemática, existem esforços internacionais com o objetivo de desenvolver, registrar e fornecer acesso a uma formulação pediátrica de PZQ para o tratamento da esquistossomose em crianças em idade pré-escolar, que apresente comprovada eficácia, segurança e propriedades de sabor aceitáveis (HUSSAARTS *et al.*, 2017).

Nesse sentido, a escolha do eutômero (L-PZQ) como princípio ativo, ao invés do racemato, pode apresentar algumas vantagens: metade da dose atual, menor tamanho do comprimido, sabor menos amargo e redução de reações adversas (ZHANG *et al.*, 2017). Sua biodisponibilidade, entretanto, continuará sendo um problema, já que é baixa (o praziquantel está enquadrado na classe II do sistema de classificação biofarmacêutica) (OLLIARO; DELGADO-ROMERO; KEISER, 2014). Conforme apresentado, diversos trabalhos têm sido conduzidos na tentativa de

incremento da biodisponibilidade do fármaco, porém, na maioria das vezes as técnicas empregadas não possibilitam o escalonamento para a produção industrial. Para tanto, pode-se lançar mão de uma abordagem tecnológica que mitigue tais dificuldades e permita o desenvolvimento de um produto final com biodisponibilidade mais adequada em uma forma farmacêutica mais conveniente aos pacientes pediátricos. Neste contexto, os micro e nanocristais mostram-se tanto na literatura quanto no mercado como uma excelente alternativa para este tipo de situação (HOFFMEISTER *et al.*, 2017; KHADKA *et al.*, 2014).

Do ponto de vista farmacotécnico, embora a técnica de moagem úmida para obtenção de nanocristais tenha sido idealizada como um simples processo para redução de tamanho, conhecimento multidisciplinar é requerido para domínio completo da técnica e inclui o entendimento do mecanismo de moagem, da cinética de ruptura de nanocristais, da estabilidade física cristalina, do processamento da formulação e dos fatores *in vivo* que afetam a entrega do fármaco (MÜLLER; KECK, 2012).

Dessa maneira, o rac-PZQ foi utilizado na primeira etapa do projeto para domínio da técnica. Posteriormente, os parâmetros selecionados foram aplicados à formulação com L-PZQ, de forma que as amostras finais foram comparadas em relação aos atributos esperados para a então seleção da formulação com melhor desempenho. Não obstante, o estudo de uma forma de preparo de nanocristais de PZQ pela abordagem *top-down* e o conhecimento adquirido de tal tecnologia pode futuramente ser transferido e aplicado para a produção de nanocristais de outros fármacos de interesse ou presentes no portfólio de Farmanguinhos.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Preparar micro e nanocristais de praziquantel visando incremento na dissolução do fármaco e obtenção de apresentação farmacêutica mais adequada a pacientes pediátricos.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Verificar a solubilidade aquosa do rac-PZQ na presença de diferentes estabilizantes, para a seleção dos mesmos para o processamento.
- b) Avaliar como as alterações nos parâmetros dos processos de moagem e como a secagem impactam no preparo e nas propriedades dos micro e nanocristais.
- c) Caracterizar as suspensões e os micro e nanocristais obtidos quanto a seus parâmetros físico-químicos pelas técnicas (quando cabíveis) de microscopia eletrônica de varredura, análise termogravimétrica, calorimetria exploratória diferencial, difração de raios X de pó, distribuição de tamanho de partícula, dissolução, solubilidade de saturação e estabilidade física da dispersão.
- d) Avaliar as formulações de praziquantel por um método de dissolução discriminativo.
- e) Otimizar o processo de moagem para obtenção dos nanocristais e de acordo com os melhores resultados de dissolução, aplicar os parâmetros de processo para formulação com o L-PZQ.
- f) Realizar estudo de palatabilidade usando língua eletrônica.

5 METODOLOGIA

5.1 MATERIAL

- Ácido clorídrico concentrado, Merck.
- Água destilada, deionizada e purificada em sistema Milli-Q®, Merck.
- Hidroxipropilmetil celulose (HPMC E3), Shin Etsu.
- Lauril sulfato de sódio (LSS), VETEC.
- L-praziquantel (L-PZQ), Merck.
- Poli(vinil pirrolidona) K30 (PVP K30), Xiao Fine Chemicals.
- Polissorbato 80 (Tween™ 80), Croda.
- Poloxâmero 188 (POL188), Merck.
- Poloxâmero 407 (POL407), Merck.
- Praziquantel racemato (rac-PZQ).
- Soluplus®, BASF.

5.2 MÉTODOS

5.2.1 Seleção dos agentes estabilizantes

Uma quantidade em excesso de rac-PZQ foi misturada com solução 0,2% (m/v) de cada um dos excipientes (HPMC E3, LSS, PVP K30, Tween™ 80, POL188, POL407, Soluplus®). As amostras permaneceram em agitador orbital com incubadora (IKA, KS 4000 IC control), na velocidade de 250 rpm e temperatura de 25 °C, até estabilização dos sistemas. Posteriormente, alíquotas foram coletadas e filtradas com filtro de seringa de corpo em acrílico modificado com diâmetro de 33 mm, composto por membrana de poli(éter-sulfona) (PES) com poro de 0,22 µm.

A leitura da absorbância das alíquotas filtradas foi realizada em 263 nm no espectrofotômetro UV/Vis (Shimadzu UV-1800). Para avaliação do Tween™ 80 e do Soluplus®, a leitura foi realizada em cromatógrafo a líquido de alta eficiência HPLC (Waters ACQUITY Arc), conforme método descrito no item 5.2.4.7. Curvas de calibração analítica previamente construídas e avaliadas quanto à linearidade e ajuste de modelo, foram utilizadas para determinar a concentração de saturação do fármaco

na presença dos diferentes estabilizantes. Os experimentos foram feitos em triplicata. O procedimento descrito foi aplicado também ao L-PZQ.

5.2.2 Preparo das amostras

Para as diferentes formulações avaliadas, as quantidades de insumos utilizadas estão descritas na Tabela 1. A definição das proporções utilizadas foi baseada em experimentos prévios da equipe do laboratório. Além disso, conforme revisão elaborada por Li e colaboradores (2016), para a moagem de nanossuspensões considerando a carga de 10% de fármaco, usualmente são utilizados estabilizantes em proporção entre 0,1% e 2,5% (m/V) (MONTEIRO; AFOLABI; BILGILI, 2013; SIEVENS-FIGUEROA *et al.*, 2012).

Tabela 1. Relação das formulações testadas.

Amostra	rac-PZQ (% m/V)	Estabilizantes			
		LSS (% m/m)	PVP K30 (% m/m)	POL 407 (% m/m)	Soluplus® (% m/m)
MC1	10	2	5		
MP1	10	2	5		
MC2	10	2		5	
MP2	10	2		5	
MC3	10	2			5
MP3	10	2			5

As amostras preparadas seguem o fluxograma apresentado na Figura 6, indicando que uma vez realizada a moagem coloidal (amostras MC), parte da suspensão segue para a moagem com perólas (amostras MP). As duas suspensões resultantes foram levadas para secagem. Tanto as suspensões quanto o pó obtido foram caracterizados por diferentes técnicas e foi realizado o ensaio de dissolução por dispersão, tendo este caráter discriminatório entre as amostras.

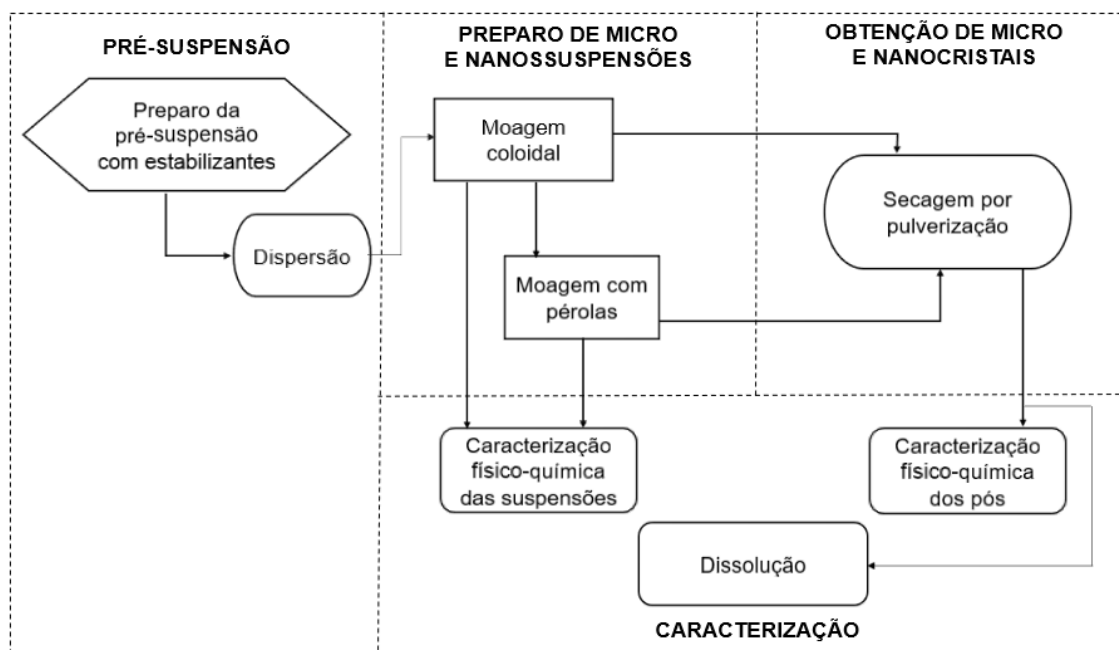


Figura 6. Esquema do processo para obtenção de micro e nanocristais e caracterização dos mesmos.

5.2.2.1 Preparo da pré-suspensão

Foram preparadas suspensões com volume de 600 mL. Inicialmente, 1/3 do volume de água foi colocado em recipiente adequado e mantido sob leve agitação utilizando agitador magnético (IKA C-MAG HS 7). Foram adicionados 2% (m/m) do estabilizante de carga selecionado. Após completa solubilização, foram adicionados 5% (m/m) do estabilizante estérico. Por fim, 10% (m/v) de rac-PZQ foi adicionado aos poucos. Em seguida, o restante de água foi adicionado e a suspensão seguiu para etapa de dispersão com dispersor digital (IKA Ultraturrax T 25) a 11.000 rpm, por 3 minutos.

5.2.2.2 Moagem da suspensão

A suspensão preparada conforme item 5.2.2.1 foi então encaminhada para o moinho coloidal (IKA Magic PLANT) para o preparo de microcristais, com velocidade da haste de agitação em 100 rpm, distância radial entre rotor e estator de 0,159 mm e velocidade do rotor em 20.000 rpm, permanecendo por 25 minutos. Após a retirada da amostra, parte da suspensão foi encaminhada ao moinho de pérolas (Netzsch DeltaVita 300), permanecendo por um total de 180 minutos, para obtenção de

nanocristais. No moinho de pérolas, a velocidade da bomba peristáltica foi mantida em 50 rpm, e a velocidade do rotor foi configurada para 1.000 rpm por 10 minutos e decorrido esse tempo, foi aumentada e permaneceu em 2.000 rpm, por 170 minutos. A duração dos processos de moagem foi definida com base em experimentos prévios conduzidos avaliando o efeito da velocidade e do tempo de moagem no tamanho de partícula da suspensão. Para os dois processos de moagem, refrigeração por recirculação (Julabo 300F e Julabo Chiller FL4003) foi utilizada para manter a temperatura do sistema próxima à ambiente.

5.2.2.3 Otimização da moagem da suspensão de rac-PZQ

Os grupos de amostra 1 e 2, com composição de estabilizantes descrita no Quadro 2, tiveram suas amostras iniciais reavaliadas na tentativa de otimização do processo de obtenção dos cristais. Para tanto, o preparo de microcristais foi realizado conforme o item 5.2.2.2 Já para a obtenção de nanocristais, após os 10 minutos iniciais a velocidade do rotor foi também aumentada, porém, o tempo de permanência da amostra no moinho de pérolas foi reduzido de 170 para 50 minutos. Os lotes otimizados estão relacionados no Quadro 2.

Quadro 2. Relação das formulações testadas após otimização.

Grupo	Estabilizantes	Amostras iniciais	Amostras otimização
1	LSS	MC1	MC4
	PVP K30	MP1	MP4
2	LSS	MC2	MC5
	POL 407	MP2	MP5
3	LSS	MC3	-
	Soluplus®	MP3	-

5.2.2.4 Moagem da suspensão de L-PZQ

Após a avaliação dos resultados das amostras otimizadas, a que apresentou maior incremento de dissolução teve a composição e os parâmetros de processo

aplicados para uma suspensão preparada com L-PZQ, conforme Tabela 2. O L-PZQ utilizado foi gentilmente doado pela empresa Merck KGaA (Darmstadt, Alemanha).

Tabela 2. Formulação testada com L-PZQ.

Amostra	L-PZQ (% m/V)	Estabilizantes	
		LSS (% m/m)	POL 407 (% m/m)
MC6	10	2	5
MP6	10	2	5

5.2.2.5 Secagem em *spray-dryer*

As suspensões preparadas pelo uso do moinho coloidal e moinho de pérolas foram secadas por *spray drying* (Mini *Spray Dryer* Buchi B-290). A temperatura de alimentação do ar utilizada foi de 120 °C e velocidade de aspiração de ar foi 100% da escala do equipamento. A estabilização do sistema foi feita pelo bombeamento de água destilada na velocidade de 30% da escala do equipamento. Então, a suspensão foi introduzida e durante todo o processo essa foi mantida em agitação utilizando agitador magnético. A temperatura de saída foi de aproximadamente 80 °C.

5.2.3 Caracterização das suspensões

5.2.3.1 Determinação de distribuição de tamanho de partícula e potencial zeta

5.2.3.1.1 Difração de *laser*

A avaliação do tamanho de partícula foi realizada por difração de *laser* utilizando o analisador de tamanho de partículas (Malvern Instrument, MasterSizer 3000), empregando a teoria de Mie (VAN DE HULST, 1981). Baseado no método descrito por FONSECA (2012), o meio dispersante utilizado para as amostras foi água, com adição de LSS na concentração de 0,03% (m/v) para estabilização. Ao volume de meio preparado foi adicionada massa de PZQ até saturação do mesmo. Após agitação em placa por 24 horas, o meio foi filtrado através de papel de filtro. Após a leitura de fundo (meio sem a amostra) do equipamento, a amostra foi adicionada ao meio de dispersão até obter uma obscuração (perda de transmissão de luz) de

aproximadamente 5%, sob agitação contínua para dispersão das partículas. Foram monitorados os valores de d10, d50 e d90, além do valor de polidispersão (índice span).

5.2.3.1.2 Espalhamento dinâmico de luz

Algumas amostras foram também avaliadas pelo método de espalhamento dinâmico de luz, uma vez que este é normalmente recomendado para medições de partículas de tamanho submicrométrico. Utilizando o aparelho Zetasizer Nano ZS90 (Malvern), foram determinados o tamanho médio de partícula e o valor de polidispersão (PDI). As amostras foram diluídas até uma concentração de aproximadamente 0,5%. O meio dispersante foi água deionizada e a análise foi realizada à temperatura ambiente. Para as mesmas amostras, a estabilidade foi verificada pelo potencial zeta (mV) medido utilizando o mesmo equipamento.

5.2.3.2 Avaliação da estabilidade física por retroespalhamento de luz

Os fenômenos de desestabilização foram avaliados utilizando o analisador de estabilidade de sistemas dispersos (Formulation, Turbiscan LAB), pelo método de espalhamento múltiplo de luz. A análise foi efetivada a 25 °C, iniciada após o preparo das amostras. As varreduras foram realizadas a cada 1 minuto ao longo de todo tempo de análise, que foi de 2 h para as amostras preparadas no moinho coloidal e de 17 h para as preparadas no moinho de pérolas. Foi monitorada a diferença nos valores detectados de retroespalhamento de luz (%BS) através da amostra, além do índice de estabilidade Turbiscan (TSI).

5.2.4 Caracterização dos pós

5.2.4.1 Difração de raios X de pó

Utilizando o difratômetro de raios X (Bruker, D8 Advance), foram realizadas medidas com radiação $\text{CoK}\alpha$ ($\lambda = 1,78897 \text{ \AA}$), corrente de tubo e voltagem de 40 mA e 40 kV, respectivamente. Foram explorados os ângulos de 3° até 60° em 2θ com passo de $0,02^\circ$ e o tempo por passo de 0,1 s. As estruturas do rac-PZQ e do L-PZQ foram resolvidas por Espinosa-Lara e colaboradores (2013) e Cedillo-cruz e

colaboradores (2014), respectivamente, depositadas no *Cambridge Structural Database (CSD)* (ALLEN, 2002; ALLEN *et al.*, 1979) e acessadas pela página eletrônica do *Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC)*. Assim, a partir dos arquivos de informação cristalográfica (CIF, do inglês *Crystallographic Information Files*), padrões de difração de raios X de pó foram calculados para o rac-PZQ e L-PZQ, gerados utilizando o programa Mercury 4.0 (MACRAE *et al.*, 2006). Para facilitar a comparação entre os padrões obtidos experimentalmente e os padrões simulados, foi realizada a conversão matemática dos valores experimentais, e assim, os gráficos apresentados possuem o eixo das abcissas 2θ relacionado à radiação de cobre ($\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$).

5.2.4.2 Análise térmica

5.2.4.2.1 Análise termogravimétrica (TGA)

Utilizando analisador termogravimétrico (TA Instruments, TGA 5500), as amostras foram submetidas a uma faixa de temperatura de 30 a 600 °C com razão de aquecimento de 20 °C/min. Nitrogênio foi utilizado como gás de arraste na vazão de 50 mL/min (MAINARDES; GREMIÃO; EVANGELISTA, 2006).

5.2.4.2.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Aproximadamente 5 mg de cada amostra foram pesados em cadinhos de alumínio (hermeticamente vedados) e aquecidos a 10 °C/min, até 200 °C, em atmosfera de nitrogênio fluindo a 50 mL/min, utilizando um calorímetro exploratório diferencial (TA Instruments, DSC250).

5.2.4.3 Espectroscopia no Infravermelho (IV)

Em um espectrômetro (Thermo Scientific, Nicolet iS50 FTIR) equipado com *software* OMNIC 7.0, foram depositadas pequenas quantidades de amostra, em contato direto com o cristal do acessório de reflectância atenuada (ATR). Os espectros foram registrados de 4000 a 650 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} e 32 scans.

5.2.4.4 Determinação de distribuição de tamanho de partícula por difração de *laser*

A avaliação do tamanho de partícula foi realizada por difração de *laser*, utilizando analisador de tamanho de partículas (Malvern Instrument, MasterSizer 3000), empregando a teoria de Mie (VAN DE HULST, 1981). O meio dispersante saturado foi preparado conforme item 5.2.3.1.1. Para o preparo da amostra, o pó foi adicionado a um béquer contendo 2 mL do meio previamente preparado e a mistura foi deixada em placa de agitação (agitador magnético IKA, C-MAG HS 7) por alguns minutos até completa dispersão. Após a leitura de fundo (meio sem a amostra) do equipamento, a amostra preparada foi adicionada ao meio de dispersão até obscuração de aproximadamente 10%, sob agitação contínua para dispersão das partículas. Foram monitorados os valores de d10, d50 e d90, além do valor de polidispersão (índice span). A análise foi realizada em triplicata.

5.2.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Imagens foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura (Hitachi, TM3030Plus) com um feixe de elétrons de 20 kV. Pequenas quantidades de amostra foram aderidas a uma fita adesiva dupla face apoiada sobre um suporte. As amostras foram então metalizadas com uma fina camada de prata, à temperatura ambiente, em atmosfera de argônio e alto vácuo para serem avaliadas (Metalizador Bal-Tec, Sputter coater SCD 005).

5.2.4.6 Solubilidade do rac-PZQ e L-PZQ

Suspensões foram preparadas com o IFA em 25 mL de água, tampão fosfato pH 6,8, tampão acetato pH 4,5, ácido clorídrico (HCl) 0,1 N e HCl 0,1 N com LSS 0,1 % (m/v). Os meios foram preparados conforme descrito na Farmacopeia Americana (USP, 2016). As amostras foram mantidas sob agitação em temperatura controlada de 37 °C, pelo método *shake flask*, durante o tempo necessário para estabilização dos sistemas (agitador orbital com incubadora IKA, KS 4000 IC control). Posteriormente, alíquotas foram filtradas com filtro de seringa de corpo em acrílico modificado com diâmetro de 33 mm, composto por membrana de poli(éter-sulfona) (PES) com poro de 0,22 µm e avaliadas por espectrofotometria na região do ultravioleta (espectrofotômetro UV Shimadzu, UV-1800) no comprimento de onda de 263 nm. As

concentrações de saturação foram obtidas a partir de curvas de calibração analíticas previamente construídas e avaliadas quanto à linearidade e ajuste de modelo.

5.2.4.7 Dissolução

Para os ensaios de dissolução por dispersão, foi determinada a utilização de 900 mL de meio HCl 0,1 N (previamente degaseificado). O ensaio foi conduzido a 37 °C e utilizando o aparato pá (dissolutor Distek, Evolution 6100). Alíquotas de 5 mL foram coletadas nos tempos de 5, 10, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 minutos, não havendo reposição do meio de dissolução. A massa adicionada à cuba na dissolução por dispersão foi equivalente a 75 mg de PZQ, sob velocidade de agitação de 50 rpm. Os testes foram conduzidos em triplicata.

O ensaio de dissolução por dispersão teve os resultados dos perfis comparados entre si por análise de variância (ANOVA) de dois fatores com aplicação de Teste de Tukey ou Sidak como teste *post hoc*, ou, quando aplicável, por Teste t não-pareado, utilizando o programa GraphPad Prism 8 para Windows (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

Ainda, foi realizada a comparação dos perfis de dissolução pela determinação do fator de semelhança (f_2) (BRASIL, 2010; FDA, 1997; MOORE; FLANNER, 1996). Quando as duas amostras comparadas apresentam a média de porcentagem dissolvida maior do que 85%, é recomendado considerar os resultados do perfil até o ponto de coleta seguinte ao em questão (FDA, 1997). Assim, para padronização os 3 primeiros pontos de coleta foram considerados para os cálculos, que foram realizados com os dados brutos das triplicatas e utilizando o software Microsoft Excel® 2019 e o suplemento DDSolver (ZHANG *et al.*, 2010).

Além disso, os valores de porcentagem dissolvida em 60 minutos, assim como a eficiência de dissolução (KHAN, 1975) calculada em 90 minutos, tiveram seus valores comparados por análise de variância (ANOVA) de um fator, seguido de Teste de Tukey ou Sidak como teste *post hoc*, utilizando o programa GraphPad Prism 8 para Windows (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

A quantificação de PZQ foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC Waters, ACQUITY Arc), baseado no método descrito na Farmacopeia Americana (USP, 2018), a partir de curva de calibração analítica previamente construída e avaliada quanto à linearidade e ajuste de modelo, apresentada no

APÊNDICE A. A curva de calibração analítica para o L-PZQ encontra-se no APÊNDICE B. As alíquotas da dissolução foram filtradas com filtro seringa de corpo em polipropileno com diâmetro de 25 mm, composto por membrana de Nylon com poro de 0,22 µm. As amostras para injeção foram preparadas com 1 mL das alíquotas previamente filtradas, adicionadas em balão volumétrico de 5 mL, avolumado com fase móvel. As condições cromatográficas utilizadas foram:

- coluna Phenomenex Luna 5µm C18(2) 100 Å 150 x 2 mm;
- fase móvel acetonitrila: água (60:40);
- detector PDA em 210 nm;
- fluxo de 0,8 mL/min;
- volume de injeção 10 µL;
- temperatura ambiente.

5.2.4.8 Avaliação da palatabilidade

A avaliação da palatabilidade *in vitro* do rac-PZQ, L-PZQ e das amostras foi realizada utilizando língua eletrônica. Os eletrodos interdigitados de ouro (IDEs) utilizados foram fabricados por fotolitografia convencional no Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano-CNPEM), sendo compostos por 50 pares de dígitos com comprimento de 4 mm, além de largura e distância entre dígitos de 10 µm. A modificação dos eletrodos foi realizada no Laboratório Nacional de Nanotecnologia para o Agronegócio (LNNA) da Embrapa Instrumentação, uma divisão da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), de acordo com experiência prévia do grupo parceiro (FACURE *et al.*, 2017). Para tanto, foi empregada a técnica de *drop casting* (KALANTAR-ZADEH; FRY, 2008) utilizando soluções aquosas de dissulfeto de molibdênio (MoS₂) ou óxido de grafeno (OG), em concentração de 0,25 mg/mL, puras ou misturadas em diferentes proporções para a então deposição sobre os IDEs, sendo estes em seguida levados à estufa para evaporação do solvente. Assim, cinco eletrodos diferentes foram preparados nas seguintes proporções: MoS₂, OG, MoS₂-OG (3:1), MoS₂-OG (1:1) e MoS₂-OG (1:3).

Antes de iniciar as análises com a língua eletrônica, as amostras foram preparadas por diluição em tampão fosfato pH 6,8 para concentração de 5,0 nmol L⁻¹. As medidas de espectroscopia de impedância foram realizadas utilizando um analisador de impedância (Solartron 1260 A), aplicando-se um potencial constante de

50 mV, sendo a frequência varrida de 1 Hz a 1 MHz. Foram medidas a capacitância e resistividade elétricas das amostras utilizando o arranjo de eletrodos modificados com analisador de impedância. As medidas foram realizadas em quaduplicata em cada sensor em contato com o tampão ou com as amostras. Os resultados experimentais foram tratados e analisados por análise de componentes principais (PCA – do inglês *Principal Component Analysis*), utilizando o programa Origin (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 SELEÇÃO DOS AGENTES ESTABILIZANTES

Conforme anteriormente dito, é necessário o uso de estabilizantes no preparo de uma nanossuspensão, de modo a evitar que as forças atrativas da superfície das partículas promovam aglomeração ou agregação. Com o intuito de obter uma maior estabilização das suspensões, foi utilizada a estratégia de combinação entre estabilizantes de carga e estérico (WANG *et al.*, 2013). Uma vez que o PZQ apresenta baixa solubilidade em água, um primeiro requisito para um sistema de estabilização adequado é o de que forneça molhabilidade para as superfícies hidrofóbicas das partículas do fármaco (LI *et al.*, 2016).

Para a seleção dos melhores agentes candidatos a uma estabilização adequada, um estudo foi realizado para avaliação da capacidade dos diferentes tipos de estabilizantes em incrementar a solubilidade aparente do fármaco, quando na presença de cada um deles em concentração mínima (0,2% m/v) a ser posteriormente aplicada para processamento da amostra. Dentre os estabilizantes com registro na literatura de combinação com PZQ, foram utilizados nessa triagem inicial os disponíveis no laboratório. Como estabilizante de carga foi aplicado o LSS e como estérico, foram avaliados o Tween™ 80, HPMC, POL 188, POL 407, PVP K30 e Soluplus®. Os resultados de concentração obtidos após a estabilização, a 25 °C, encontram-se na Tabela 3. Os resultados das leituras em diferentes tempos podem ser consultados no APÊNDICE C.

Tabela 3. Solubilidade do rac-PZQ em água e na presença de diferentes estabilizantes a 25 °C.

Estabilizante (0,2% (m/v))	C (µg/mL) (média ± DP (DPR%))
-	198,04 ± 2,25 (1,14)
LSS	414,65 ± 0,94 (0,23)
HPMC	192,04 ± 1,90 (0,99)
POL 188	206,59 ± 0,48 (0,23)
POL 407	212,27 ± 1,25 (0,59)
PVP K30	218,09 ± 6,62 (3,03)
Tween™ 80	249,47 ± 2,80 (1,12)
Soluplus®	351,41 ± 40,13 (11,42)

De acordo com os resultados obtidos e a disponibilidade de material no laboratório, foram selecionados como estabilizantes estéricos o POL 407, PVP K30, e Soluplus®. O valor de concentração de saturação do PZQ em Tween™ 80 não apresentou diferença significativa em relação ao PVP K30, POL 407 e POL 188. As tabelas das comparações estatísticas encontram-se no APÊNDICE C.

Por uma questão de disponibilidade de matéria-prima, a primeira parte do estudo foi conduzida utilizando o rac-PZQ. Assim, apenas os estabilizantes selecionados foram aplicados, posteriormente, ao teste de solubilidade aquosa do L-PZQ, sendo os resultados de concentração obtidos após 48 h, a 25 °C, apresentados na Tabela 4. Os resultados das leituras em diferentes tempos podem ser consultados no APÊNDICE C.

Tabela 4. Solubilidade do L-PZQ em água e na presença de diferentes estabilizantes a 25 °C.

Estabilizante (0,2% (m/v))	C (µg/mL) (média ± DP (DPR%))
-	272,81 ± 4,24 (1,55)
LSS	783,39 ± 3,05 (0,39)
POL 407	310,99 ± 2,57 (0,83)
PVP K30	300,94 ± 6,07 (2,02)
Soluplus®	367,66 ± 13,93 (3,79)

Conforme descrito na literatura (EL-ARINI; GIRON; LEUENBERGER, 1998) e confirmado pelos resultados experimentais, a solubilidade aquosa do L-PZQ é maior

do que a do rac-PZQ. Em razão disso, sua concentração de saturação nos diferentes estabilizantes selecionados também apresentou valores mais altos.

O LSS foi aplicado como estabilizante de carga pois, além de ser amplamente empregado como tensoativo no segmento farmacêutico, há registro na literatura de sua aplicação em formulações com nanocristais (TUOMELA; HIRVONEN; PELTONEN, 2016). O LSS é descrito como uma mistura de alquilsulfatos de sódio, sendo esta composta principalmente por laurilsulfato de sódio. É um surfactante aniônico normalmente utilizado em formulações sólidas orais na concentração de 1-2% (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009).

O PVP K30, ou povidona, é um polímero sintético que consiste essencialmente de cadeias lineares de poli(vinil pirrolidona), com massa molar relatada por K (valor de Fikentscher). Tem sido amplamente utilizado como excipiente em comprimidos orais, normalmente na concentração de 0,5-5%, sendo considerado não tóxico por não ser absorvido pelo trato gastrointestinal (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009).

Os poloxâmeros são copolímeros em bloco de poli(oxietileno-b-oxipropileno-b-oxietileno), usados em formulações farmacêuticas como emulsificantes ou agentes solubilizantes. Todos os poloxâmeros são similares em sua composição, diferindo apenas nas quantidades relativas dos monômeros adicionados durante a fabricação. São normalmente utilizados na concentração de 5-10% em comprimidos, sendo considerados não tóxicos por não serem metabolizados pelo organismo. Os excipientes LSS, PVP K30 e POL 407 estão incluídos no banco de dados de ingredientes inativos do FDA (IID, do inglês, *Inactive Ingredients Database*) e são reconhecidos como seguros (GRAS, do inglês *Generally Recognized as Safe*) (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009).

O Soluplus® é um copolímero composto por poli((vinil caprolactama)-g-(acetato de vinila)-g-(etileno glicol)). Tem sido muito utilizado por suas excelentes propriedades de solubilização, especialmente aplicado para IFAs pouco solúveis em água. Soluplus® ainda não está presente em nenhuma farmacopeia, porém, baseado em recentes aprovações na Europa de medicamentos que o contêm em suas composições, foi iniciada a submissão de sua monografia na Farmacopéia Europeia (BASF, 2018).

Embora não haja nenhum guia específico compilando dados sobre os excipientes aceitáveis para aplicação em formulações pediátricas, existe uma

iniciativa europeia (EuPFI, do inglês *European Paediatric Formulation Initiative*) que tem trabalhado continuamente no desenvolvimento e aprimoramento do banco de dados STEP (do inglês, *Safety and Toxicity of Excipients for Paediatrics*) (SALUNKE *et al.*, 2013), uma ferramenta de busca de livre acesso que disponibiliza informações (de fontes diversas) sobre farmacologia, toxicologia e dados de segurança de alguns excipientes farmacêuticos para uso pediátrico. Apesar de ainda não haver uma definição de limite de ingestão aceitável para crianças em relação aos estabilizantes aqui investigados, com exceção ao Soluplus[®], tais excipientes têm sido utilizados em formulações pediátricas orais aprovadas e comercializadas (STRICKLEY, 2019; STRICKLEY *et al.*, 2007).

6.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras MC1, MC2 e MC3 foram preparadas contendo diferentes tipos de estabilizantes estéricos (Tabela 1). As pré-suspensões foram homogeneizadas utilizando agitação de alto cisalhamento e após serem levadas ao moinho coloidal, houve a formação de muita espuma, o que pode estar relacionado à quantidade de LSS utilizada e também à injeção de ar na suspensão durante o próprio processo de moagem com recirculação. Na tentativa de evitar maior formação de espuma, vácuo foi conectado ao sistema. Ainda assim, a Figura 7 ilustra a espuma remanescente no recipiente após a retirada da amostra, o que foi comum para todas as formulações testadas. De qualquer maneira, a espuma foi novamente adicionada à suspensão e mantida sob agitação em placa magnética para redução de seu volume.

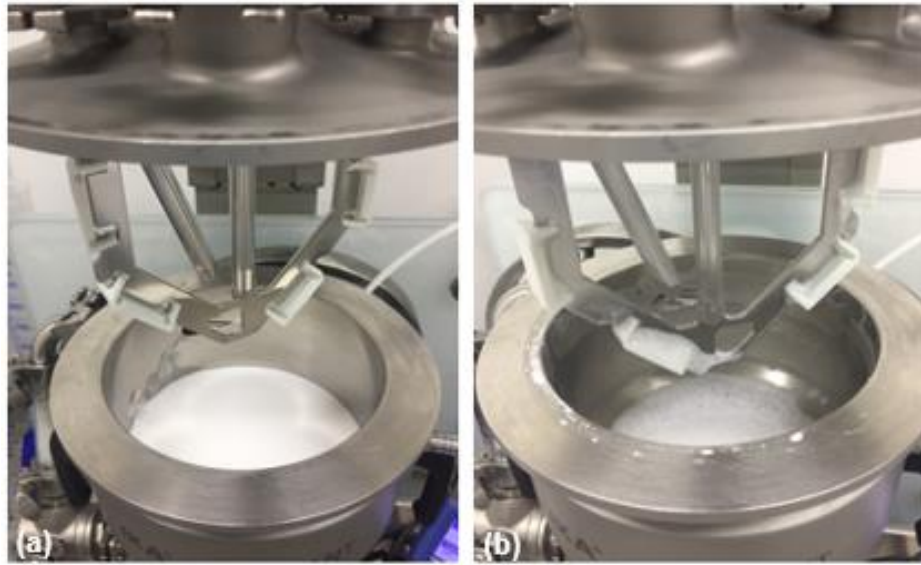


Figura 7. Formação de espuma durante moagem coloidal. Amostra antes do processo (a) e espuma remanescente após a retirada da amostra (b).

Em seguida, parte das suspensões preparadas prosseguiu para secagem e parte foi levada ao moinho de pérolas para a obtenção das amostras MP1, MP2 e MP3. As amostras foram introduzidas com a câmara de moagem do moinho de pérolas em posição vertical, de forma que o ar fosse expulso do sistema pela saída superior, evitando maior formação de espuma. Após o preenchimento da câmara, esta retornou à posição horizontal e iniciou-se o processo de moagem. Notou-se a diminuição de espuma ao longo do processo de moagem, o que foi comum para todas as amostras, conforme ilustrado na Figura 8. As amostras foram então secas em *spray-dryer*.



Figura 8. Redução da espuma durante moagem com pérolas.

Após avaliação inicial dos resultados, o processo de obtenção dos nanocristais foi otimizado, resultando na formulação das amostras MC4 e MP4, e MC5 e MP5. De acordo com o incremento na dissolução, a melhor formulação foi escolhida e os tipos de estabilizantes e processamento foram aplicados ao L-PZQ. A amostra MC6 foi então preparada e após ser levada ao moinho coloidal, além da já esperada formação de espuma, notou-se que parte do pó ficou aderido ao recipiente de moagem, conforme Figura 9.



Figura 9. Formação de espuma após moagem coloidal e adesão de parte do pó ao recipiente (amostra MC6 com L-PZQ).

Após agitação em placa magnética para redução do volume de espuma, parte da suspensão preparada prosseguiu para secagem e parte foi levada ao moinho de pérolas para a obtenção da amostra MP6. Notou-se pouca formação de espuma no processo de moagem com pérolas, conforme ilustrado na Figura 10. A amostra foi então seca em *spray-dryer*.



Figura 10. Moagem com pérolas da amostra MP6 com L-PZQ.

Tanto as suspensões quanto os pós obtidos foram caracterizados por diferentes técnicas e os resultados dos testes iniciais, amostras de otimização e as com L-PZQ estão apresentados a seguir.

6.3 CARACTERIZAÇÃO DAS SUSPENSÕES

6.3.1. Determinação de distribuição de tamanho de partícula e potencial zeta

6.3.1.1. Difração de *laser*

A caracterização da distribuição de tamanhos de partícula foi realizada e, de maneira geral, é desejável que as nanopartículas obtidas apresentem distribuição unimodal e baixo índice de polidispersão, o que nem sempre é possível de ser alcançado (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003).

Para a amostra MC1, conforme apresentado na Figura 11 e na Tabela 5, o processamento em moinho coloidal possibilitou a obtenção de microcristais. Além disso, foi satisfatório no sentido de obtenção de partículas com d90 (no qual 90% das

partículas estão abaixo do valor descrito) de no máximo 25 μm , o que torna possível seu posterior processamento com as pérolas disponíveis no laboratório, de 500 μm . A amostra deve apresentar tamanho de partícula d90 no mínimo 20 vezes menor do que as pérolas, de forma que o processamento seja conduzido de maneira adequada e entupimento na tela do moinho de pérolas seja evitado.

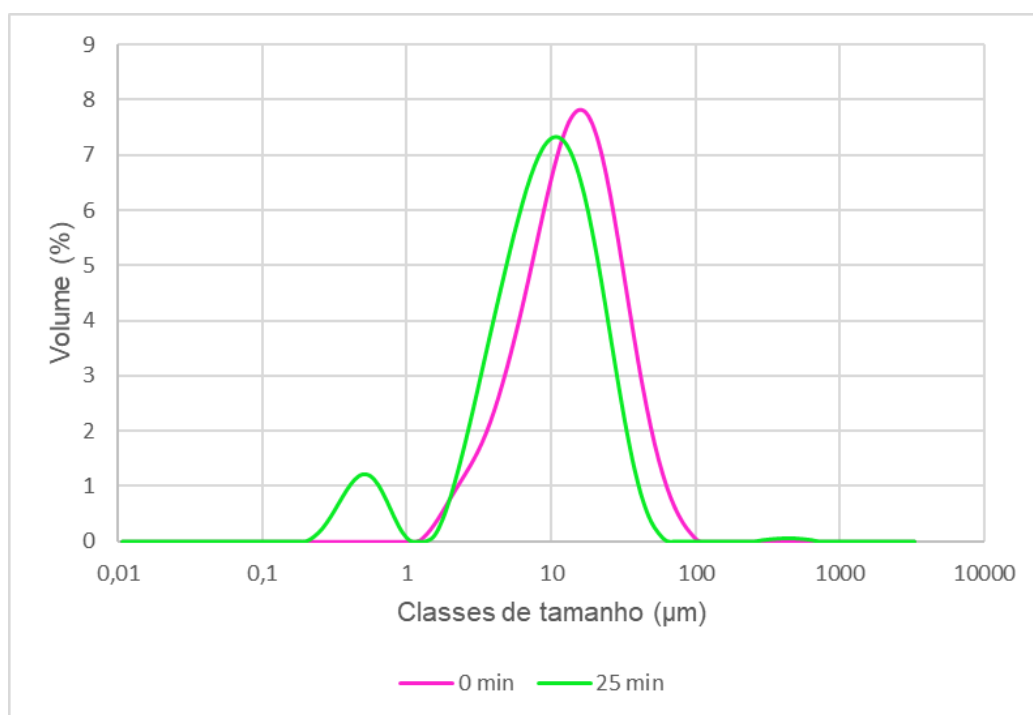


Figura 11. Distribuição de frequência do tamanho de partícula (μm) da amostra MC1 antes e depois da moagem.

Tabela 5. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada da amostra MC1 e respectivo índice de polidispersão (span).

Tempo (min)	Tamanho de partícula (μm)			Span
	d10	d50	d90	
0	4,55	14,10	35,50	2,20
25	2,61	9,17	23,70	2,30

O posterior processamento dessa amostra para obtenção de nanocristais (MP1) foi conduzido durante 180 minutos em moinho de pérolas. Conforme apresentado na Figura 12, em 10 minutos de processamento, a amostra apresentava distribuição unimodal, que se dividiu em duas populações com o aumento do tempo de processamento, com conseqüente distribuição bimodal. Conforme apresentado na Tabela 6, os valores de d10 e d50 diminuíram ao longo do processo, no entanto, foi

observado que o d90 diminui até certo ponto, e depois volta a aumentar. Tal efeito, provavelmente associado à aglomeração entre as partículas, é previsto na literatura como uma possibilidade durante o processo de moagem (HICKEY; GANDERTON, 2010). O span aumentou durante todo o processo, indicando alta variação de tamanho entre as partículas encontradas na amostra. De acordo com os resultados apresentados, o tempo ótimo para a obtenção dos nanocristais com o menor tamanho de partícula seria de 60 minutos. Tabelas compilando os resultados de diâmetro de corte para todas as amostras podem ser consultadas no APÊNDICE D.

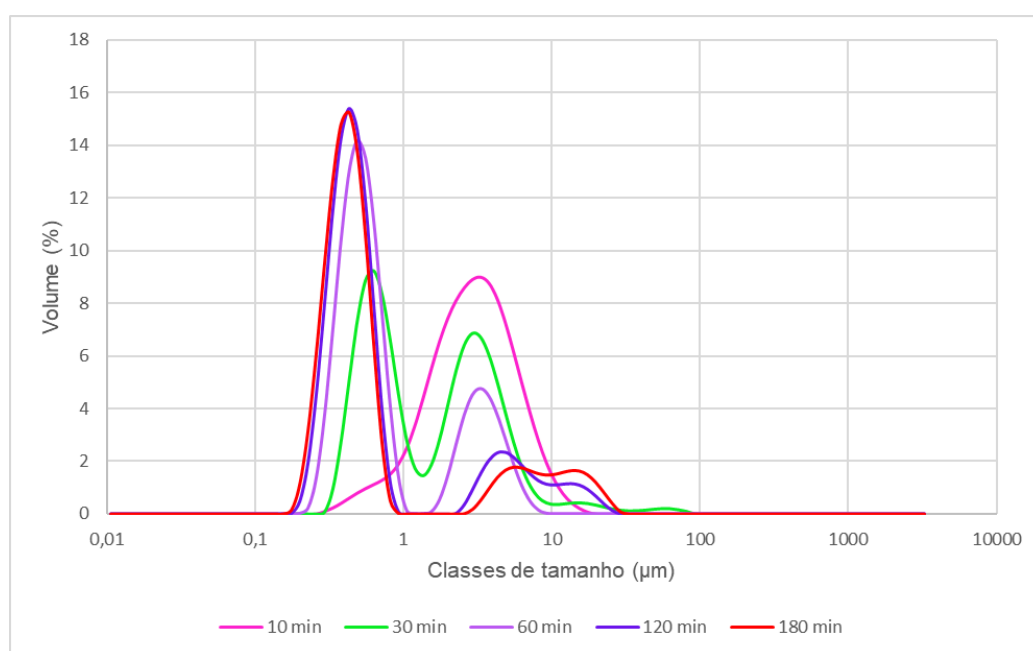


Figura 12. Distribuição de frequência do tamanho de partícula (μm) da amostra MP1 ao longo do processo.

Tabela 6. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada da amostra MP1 e respectivo índice de polidispersão (span).

Tempo (min)	Tamanho de partícula (μm)			Span
	d10	d50	d90	
10	1,15	2,94	6,60	1,86
30	0,49	1,47	5,00	3,06
60	0,36	0,58	3,82	6,03
120	0,30	0,48	6,11	12,21
180	0,28	0,45	8,59	18,48

Para a amostra MC2, conforme apresentado na Figura 13 e Tabela 7, o processamento em moinho coloidal possibilitou a obtenção de microcristais. Além disso, partículas com d90 menor do que 25 μm foram obtidas.

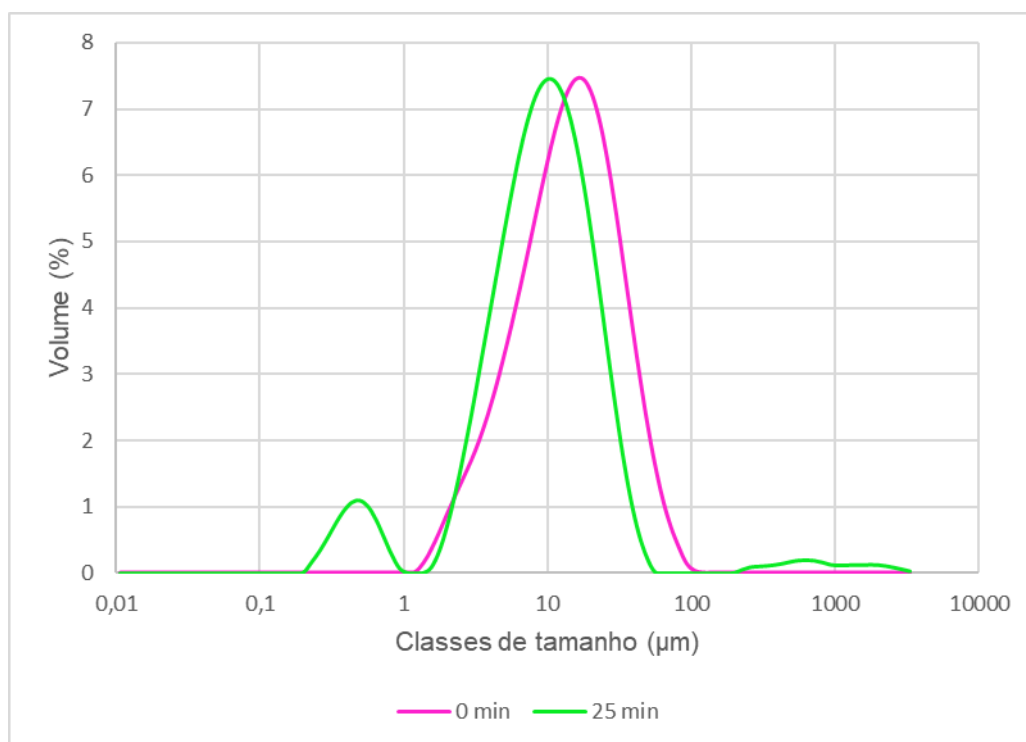


Figura 13. Distribuição de frequência do tamanho de partícula (μm) da amostra MC2 antes e depois da moagem.

Tabela 7. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada da amostra MC2 e respectivo índice de polidispersão (span).

Tempo (min)	Tamanho de partícula (μm)			Span
	d10	d50	d90	
0	4,30	14,20	36,70	2,29
25	2,79	9,25	24,50	2,35

O posterior processamento dessa amostra para obtenção de nanocristais (MP2) foi conduzido durante 180 minutos em moinho de pérolas. Conforme apresentado na Figura 14, em 10 minutos de processamento, a amostra apresentava distribuição unimodal, o que, com o aumento do tempo de processamento, apresentou-se como distribuição bimodal. Ao final do processo, a distribuição chegou a se distribuir em três populações. Conforme apresentado na Tabela 8, os valores de d10 e d50 diminuíram ao longo do processo, no entanto, foi observado que

aumentaram no último ponto. Em relação ao d90, diminui até um limite, e depois volta a aumentar de maneira bastante significativa. O span aumentou durante o processo, porém diminuiu no último ponto, sugerindo que neste a maior parte das partículas apresentava um tamanho grande, provavelmente em razão da aglomeração entre elas. De acordo com os resultados apresentados, o tempo ótimo para a obtenção dos nanocristais com o menor tamanho de partícula seria de 60 minutos.

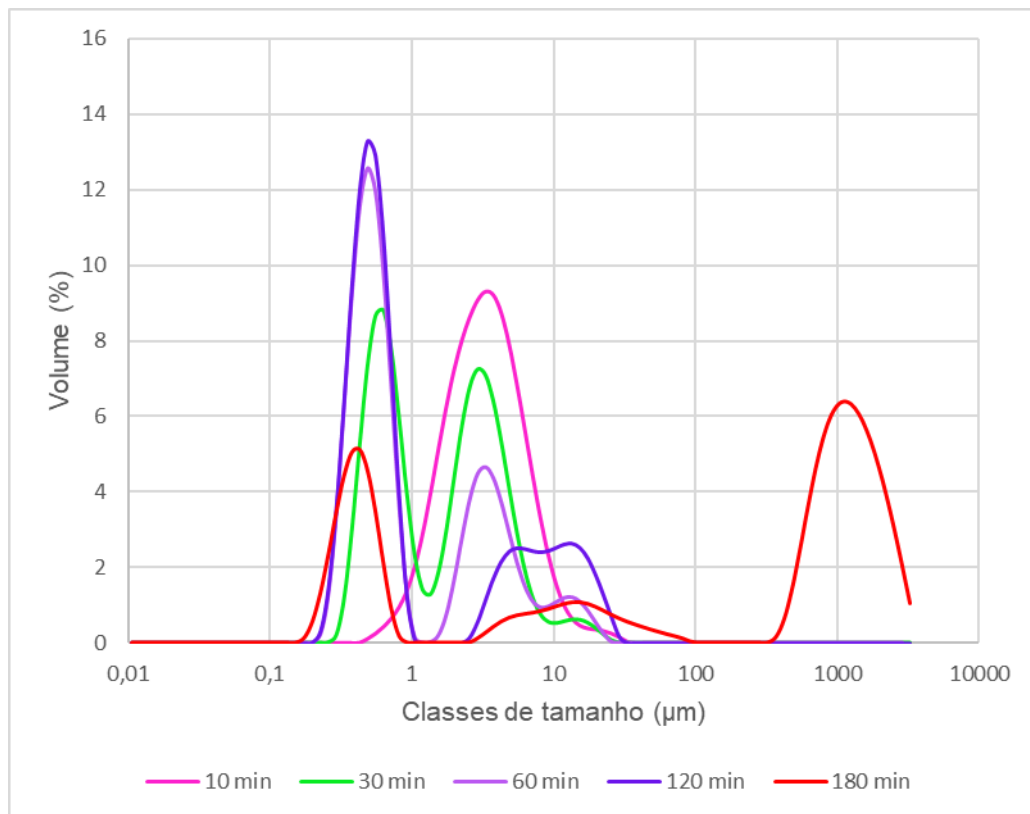


Figura 14. Distribuição de frequência do tamanho de partícula (µm) da amostra MP2 ao longo do processo.

Tabela 8. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada da amostra MP2 e respectivo índice de polidispersão (span).

Tempo (min)	Tamanho de partícula (µm)			Span
	d10	d50	d90	
10	1,43	3,25	7,35	1,82
30	0,48	1,73	5,01	2,62
60	0,36	0,62	5,42	8,15
120	0,32	0,53	10,90	20,10
180	0,36	686,00	1990,00	2,90

Para a amostra MC3, conforme apresentado na Figura 15 e Tabela 9, o processamento em moinho coloidal possibilitou a obtenção de microcristais com d90 menor do que 25 μm , apesar do span ter aumentado.

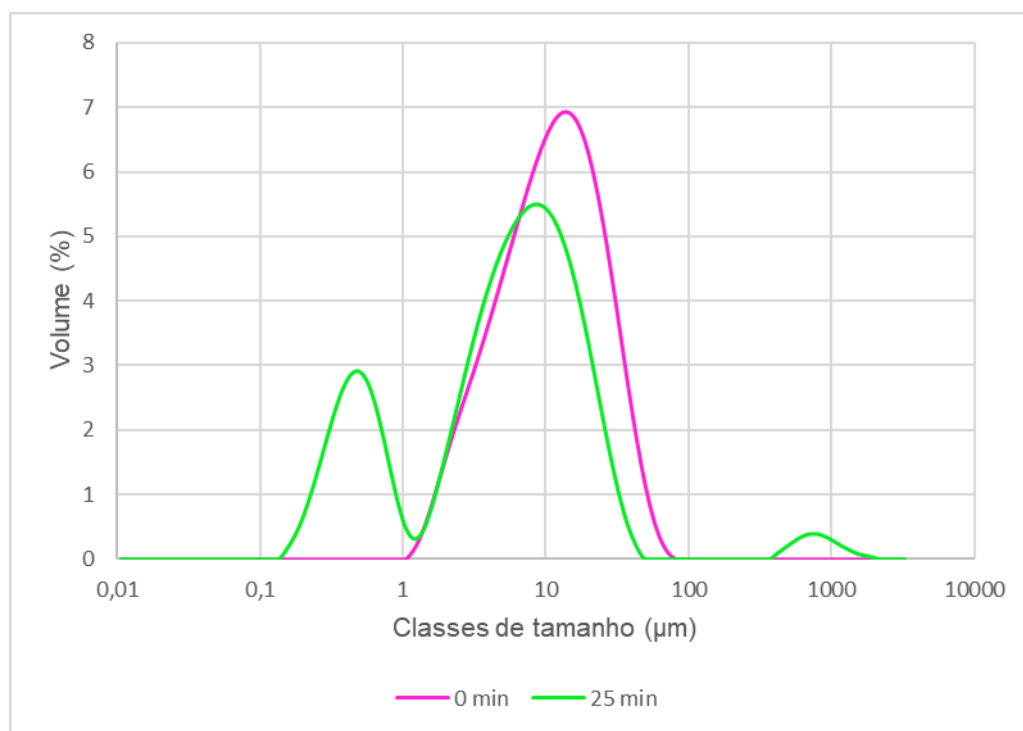


Figura 15. Distribuição de frequência do tamanho de partícula (μm) da amostra MC3 antes e depois da moagem.

Tabela 9. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada da amostra MC3 e respectivo índice de polidispersão (span).

Tempo (min)	Tamanho de partícula (μm)			Span
	d10	d50	d90	
0	3,24	11,10	29,90	2,40
25	0,43	5,87	20,30	3,38

O posterior processamento dessa amostra para obtenção de nanocristais (MP3) foi conduzido durante 180 minutos em moinho de pérolas. Conforme apresentado na Figura 16, em 10 minutos de processamento, a amostra apresentava distribuição unimodal (embora alongada e com um “ombro” dos diâmetros mais baixos), que se dividiu em duas populações com o aumento do tempo de processamento, com conseqüente distribuição bimodal. Conforme apresentado na Tabela 10, os valores de d10, d50 e d90 diminuiriam ao longo do processo. O span aumentou durante todo o processo, porém, diminuiu no último ponto, indicando

pequena variação de tamanho entre as partículas encontradas na amostra ao final do processo. Nesse caso, o tempo de 180 minutos foi necessário para a obtenção dos menores tamanhos de partícula e baixo span.

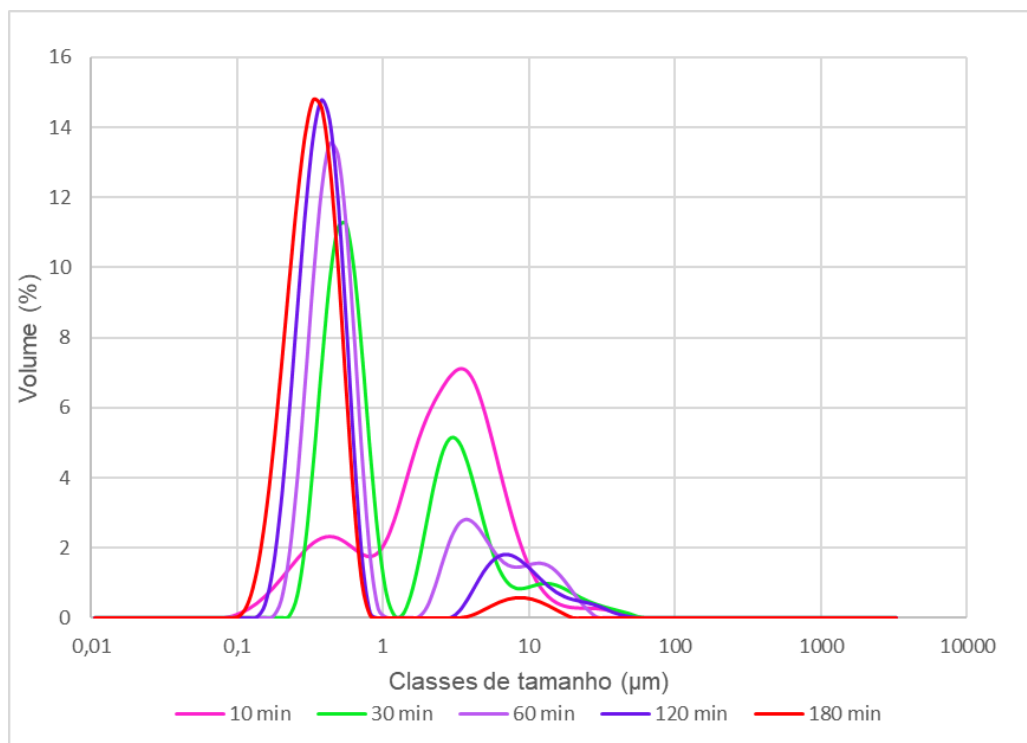


Figura 16. Distribuição de frequência do tamanho de partícula (μm) da amostra MP3 ao longo do processo.

Tabela 10. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada da amostra MP3 e respectivos índices de polidispersão (span).

Tempo (min)	Tamanho de partícula (μm)			Span
	d10	d50	d90	
10 min	0,38	2,55	6,96	2,57
30 min	0,39	0,71	5,74	7,49
60 min	0,31	0,51	7,18	13,38
120 min	0,25	0,41	6,81	16,20
180 min	0,20	0,34	0,56	1,07

Considerando os resultados apresentados para o tempo final de processamento das amostras, no geral, é possível observar pequena variação entre os valores de distribuição de tamanho de partícula obtidos para as amostras preparadas no moinho coloidal, sendo que, dentre elas, a MC3 apresentou valores um pouco menores. Entre as amostras processadas no moinho de pérolas, ao final dos

180 minutos a MP3 apresentou os menores tamanhos de partícula com o menor índice de polidispersão.

De maneira mais detalhada, o esquema apresentado na Figura 17 relaciona os valores d10, d50 e d90 em diferentes tempos ao longo do processamento das amostras no moinho de pérolas e ressalta os tempos ótimos que resultaram na obtenção dos menores tamanhos de partícula para cada amostra, conforme anteriormente dito. Assim, de acordo com o tempo ótimo observado, novos lotes foram processados na etapa de otimização. Uma vez que o processamento no moinho coloidal é um pré-requisito para que a suspensão esteja com um tamanho adequado para entrada no moinho de pérolas, novos grupos de amostras foram gerados: grupo 1 (amostras com mesma composição dos lotes iniciais MC1 e MP1) e grupo 2 (amostras com mesma composição dos lotes iniciais MC2 e MP2).

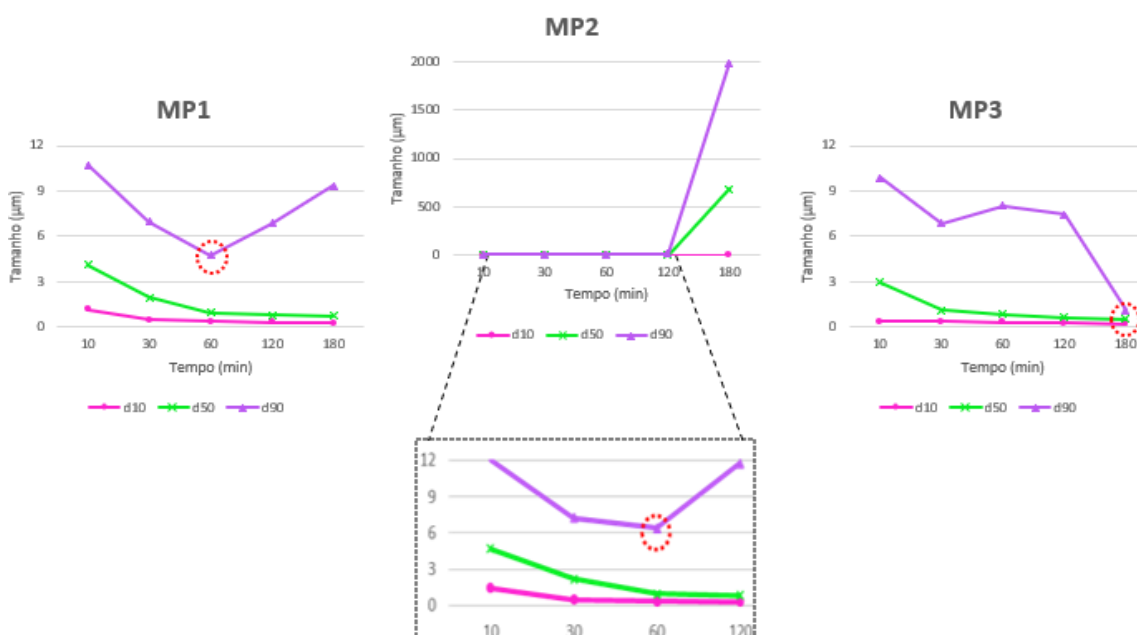


Figura 17. Representação do tempo ótimo de processamento das amostras MP1, MP2 e MP3.

Para otimização do grupo 1 (amostras com os estabilizantes LSS e PVP K30), primeiramente a amostra MC4 passou por processamento em moinho coloidal, o que possibilitou a obtenção de microcristais, conforme apresentado na Tabela 11. Além disso, partículas com d90 menor do que 25 µm foram obtidas.

Tabela 11. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada da amostra MC4 e respectivo índice de polidispersão (span).

Tempo (min)	Tamanho de partícula (µm)			Span
	d10	d50	d90	
0	4,01	13,50	37,80	2,51
25	0,79	7,54	21,50	2,74

Em seguida, o processamento dessa amostra para obtenção de nanocristais (MP4) foi conduzido durante 60 minutos em moinho de pérolas. Conforme apresentado na Tabela 12, os valores de d10 e d50 diminuíram ao longo do processo. Em relação ao d90, apresentou um certo aumento no último ponto, sendo que o span aumentou durante todo o processo. Os resultados de tamanho de partícula foram próximos ao esperado em comparação aos lotes iniciais e considerando o mesmo tempo de processo, o que demonstra relativa reprodutibilidade do método aplicado.

Tabela 12. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada da amostra MP4 e respectivo índice de polidispersão (span).

Tempo (min)	Tamanho de partícula (µm)			Span
	d10	d50	d90	
10 min	1,12	2,88	6,83	1,98
30 min	0,47	1,17	4,35	3,32
60 min	0,39	0,66	5,55	7,87

Para otimização do grupo 2 (amostras com os estabilizantes LSS e POL 407), a amostra MC5 foi processada em moinho coloidal, o que possibilitou a obtenção de microcristais. Conforme apresentado na Tabela 13, partículas com d90 menor do que 25 µm foram obtidas.

Tabela 13. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada da amostra MC5 e respectivo índice de polidispersão (span).

Tempo (min)	Tamanho de partícula (µm)			Span
	d10	d50	d90	
0	3,69	13,30	35,70	2,41
25	0,54	6,84	17,30	2,45

O posterior processamento dessa amostra para obtenção de nanocristais (MP5) foi conduzido durante 60 minutos em moinho de pérolas. Conforme apresentado na Tabela 14, os valores de d10, d50 e d90 diminuíram ao longo do processo. Ainda que o span tenha aumentado durante o processo, os resultados

obtidos foram próximos ao esperado em comparação ao mesmo tempo de processamento no primeiro experimento conduzido.

Tabela 14. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada da amostra MP5 e respectivo índice de polidispersão (span).

Tempo (min)	Tamanho de partícula (µm)			Span
	d10	d50	d90	
10 min	0,81	2,36	4,35	1,50
30 min	0,34	0,76	3,26	3,84
60 min	0,24	0,44	3,13	6,53

Após a otimização, considerando as amostras processadas no moinho coloidal MC4, MC5 e MC3, os resultados mostram pequena variação entre os valores de distribuição de tamanho de partícula obtidos, sendo que, dentre elas, a MC5 apresentou valores de d90 e span um pouco menores. Entre as amostras MP4, MP5 e MP3, considerando os valores relativos ao tempo final de processamento de cada uma delas no moinho de pérolas, a MP3 apresentou os menores tamanhos de partícula com o menor índice de polidispersão.

Por fim, a composição e os parâmetros do grupo de amostras 2 foram aplicados para o processamento das amostras com L-PZQ. Assim, a amostra MC6 foi processada em moinho coloidal, o que possibilitou a obtenção de microcristais, conforme apresentado na Tabela 15.

Tabela 15. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada da amostra MC6 e respectivo índice de polidispersão (span).

Tempo (min)	Tamanho de partícula (µm)			Span
	d10	d50	d90	
0	8,94	21,00	46,40	1,79
25	6,47	16,00	33,90	1,71

A amostra prosseguiu para obtenção de nanocristais (MP6) e foi processada durante 60 minutos em moinho de pérolas. Conforme apresentado na Tabela 16, os valores de d10, d50 e d90 diminuíram, porém, o span aumentou muito ao longo do processo. A distribuição de tamanho de partícula foi maior para MC6 e MP6 em comparação às amostras MC5 e MP5.

Tabela 16. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada da amostra MP6 e respectivo índice de polidispersão (span).

Tempo (min)	Tamanho de partícula (µm)			Span
	d10	d50	d90	
10 min	1,76	4,05	20,70	4,69
30 min	0,49	1,51	17,00	10,92
60 min	0,42	0,76	10,90	13,89

Considerando a presença de partículas em escala nanométrica, as amostras foram também avaliadas por técnica complementar, conforme apresentado no item seguinte.

6.3.1.2. Espalhamento dinâmico de luz

Existe uma ampla variedade de técnicas utilizadas para caracterização de material particulado. As técnicas de difração de *laser* e espalhamento dinâmico de luz compartilham a possível aplicação para medidas em uma faixa comum de distribuição de tamanho de partículas. No entanto, a última alcança uma região mais baixa, determinando tamanhos tão pequenos quanto 0,03 nm (MALVERN, 2015). Ao comparar os dados de tamanho de partícula para a mesma amostra, medidos por técnicas que utilizam princípios diferentes, é importante notar que os tipos de distribuição medidos e reportados podem gerar resultados de tamanho de partícula muito diferentes (MALVERN, 2015).

As amostras processadas no moinho de pérolas foram também avaliadas por espalhamento dinâmico de luz para determinação do diâmetro médio e comparação com os resultados de d50 (ou diâmetro da mediana) previamente obtidos. Para uma distribuição assimétrica, não é esperado que os valores sejam coincidentes (MALVERN, 2015).

Conforme a Tabela 17, nota-se que a amostra MP3 foi a que apresentou menor diâmetro médio e PDI, sendo que os dados corroboram com os resultados obtidos pela técnica de difração de *laser*.

Tabela 17. Relação entre diâmetro médio, PDI e potencial zeta das amostras MP1, MP2 e MP3.

Amostra	Diâmetro médio (nm)	PDI	Potencial zeta (mV)
MP1	608,4	0,529	-43,7
MP2	474,9	0,239	*
MP3	368,1	0,231	-32,4

*Não foi possível obter um valor confiável em razão de um problema técnico com a cubeta utilizada durante a condução da medida.

Após a otimização, as amostras foram também avaliadas por tal método, conforme Tabela 18. É possível notar que para um mesmo grupo, as amostras otimizadas apresentaram menor diâmetro médio em comparação às respectivas amostras iniciais. Além disso, a amostra MP5 apresentou menor diâmetro médio do que a MP4, sendo que tal fato é condizente com o resultado obtido pela técnica de difração de *laser*.

Tabela 18. Relação entre diâmetro médio, PDI e potencial zeta das amostras MP4 e MP5.

Amostra	Diâmetro médio (nm)	PDI	Zeta Potential (mV)
MP4	461,4	0,228	-37,4
MP5	346,2	0,261	-30,4

Por fim, a amostra com L-PZQ foi também avaliada, conforme Tabela 19. O valor do diâmetro médio é condizente com o resultado da leitura da amostra por difração de *laser*.

Tabela 19. Relação entre diâmetro médio, PDI e potencial zeta da amostra MP6.

Amostra	Diâmetro médio	PDI	Zeta Potential (mV)
MP6	720,2*	0,160	-33,9

*Análise realizada após 24h de preparo em razão de um problema técnico durante a condução da medida.

Além disso, a medida de potencial zeta foi realizada utilizando o mesmo equipamento. O potencial zeta é um parâmetro muito utilizado para predição da estabilidade física de nanossuspensões (WU; ZHANG; WATANABE, 2011), sendo que um valor de no mínimo ± 30 mV é indicativo de um bom nível de estabilização eletrostática. Quando estabilização estérica é também considerada, um valor de ± 20

mV já se mostra suficiente (JACOBS; MÜLLER, 2002). De acordo com os valores de potencial zeta observados na Tabela 17, Tabela 18 e Tabela 19, todas as amostras apresentaram um bom nível de estabilização.

6.3.2. Avaliação da estabilidade física por retroespalhamento de luz

Para uma caracterização da estabilidade física das suspensões foi realizado um teste de sedimentação de longa duração (tempo real) utilizando o Turbiscan. As amostras processadas em moinho coloidal foram testadas por 2 horas e as amostras do moinho de pérolas, por 17 horas. Tais períodos foram avaliados para entendimento da velocidade de desestabilização do sistema e tal informação se mostra relevante para a definição do intervalo de tempo possível entre o preparo das suspensões e a secagem das mesmas.

Uma vez que as partículas possuam tamanho maior do que o comprimento de onda emitido pelo equipamento (880 nm), o crescimento no tamanho de partícula é representado por uma redução na variação no retroespalhamento ($\Delta BS < 0$) ao longo da altura da cubeta, como pode ser visto na Figura 18 para as amostras MC1, MC2 e MC3. Além disso, a ocorrência de fenômenos de migração de partículas pode ser sugerida por variações específicas nos perfis de ΔBS . Neste caso, a sedimentação provocou um aumento da concentração de partículas ao fundo da cubeta e assim o ΔBS se mostrou positivo, como pode ser observado na região esquerda do gráfico (FORMULACTION, 2009a).

No entanto, o contrário acontece quando as partículas apresentam tamanhos menores que tal comprimento de onda (880 nm), sendo que, nesse caso, um aumento de tamanho é acompanhado por acréscimo no ΔBS ao longo da altura da cubeta, como observado na Figura 19 para as amostras MP1, MP2 e MP3. Tal comportamento também indica que as partículas dessas amostras apresentam tamanho menor do que 600 nm (FORMULACTION, 2009b). Além disso, nessas condições, com a diminuição da concentração de partículas no topo da cubeta, ou clarificação, o ΔBS se mostra negativo, como pode ser observado na região à direita do gráfico (FORMULACTION, 2009a).

De modo geral, a análise dos gráficos de ΔBS na Figura 18 e na Figura 19 mostra que todas as suspensões apresentam algum nível de desestabilização, fato que, como esperado, é menos pronunciado nas formulações MP1, MP2 e MP3, ainda

que tenham sido desafiadas por um período maior de tempo. Isso porque como o tamanho de partícula nessas amostras é menor, o movimento browniano é mais acentuado e capaz de evitar em certo nível a ocorrência de sedimentação (NUTAN; REDDY, 2010). Ainda nesse sentido, a formulação MP3 mostrou-se mais estável e apresentou menor crescimento das partículas suspensas.

Após a otimização, as amostras foram também caracterizadas por tal técnica. As amostras MC4 e MC5, conforme mostra a Figura 20, apresentaram padrão de desestabilização comparável às amostras iniciais MC1 e MC2, respectivamente. Isso era esperado já que possuem a mesma composição e foram submetidas ao mesmo processamento. Já a Figura 21 apresenta os gráficos de ΔBS para as amostras MP4 e MP5, que quando comparados aos gráficos das respectivas amostras iniciais MP1 e MP2, mostram uma menor variação no retroespalhamento (ΔBS). Isso indica um maior nível de estabilização para as amostras otimizadas em suspensão, condizente com a obtenção de menores valores de d_{90} e span para tais amostras.

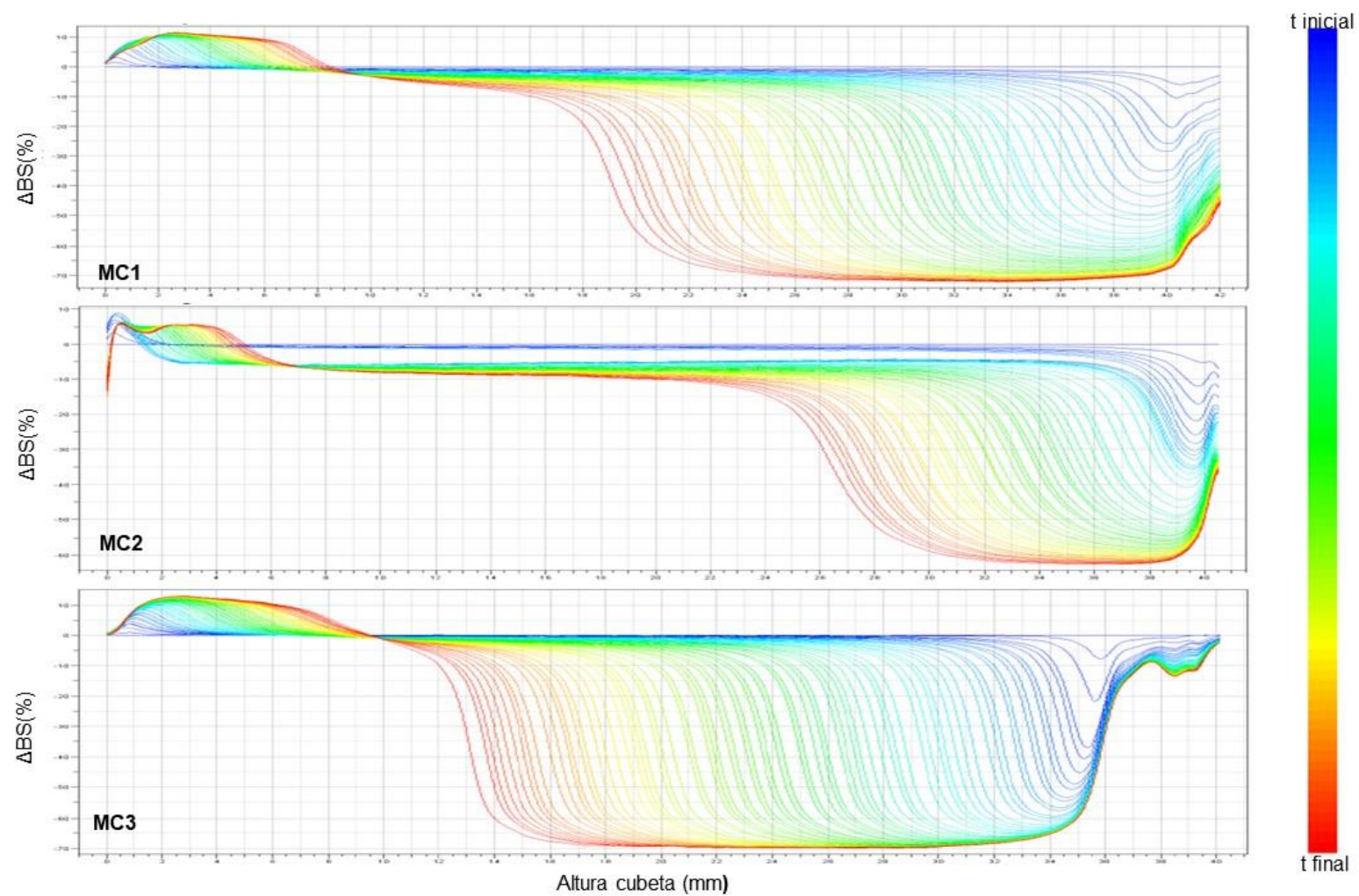


Figura 18. Comparação entre os dados retroespalhamento $\Delta BS(\%)$ das amostras MC1, MC2 e MC3. O eixo das abcissas é composto pela altura da cubeta de amostra (mm).

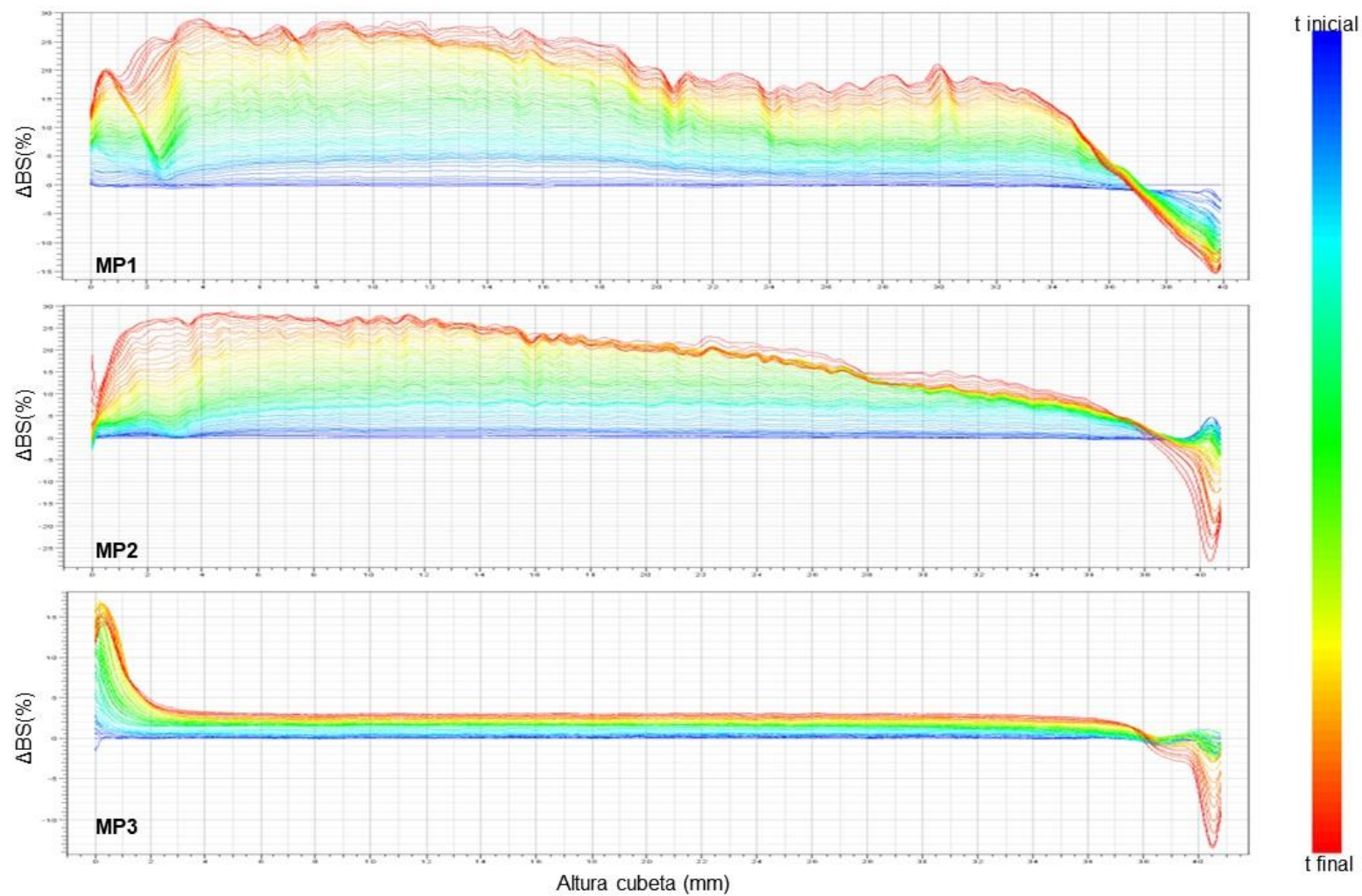


Figura 19. Comparação entre os dados de retroespalhamento $\Delta BS(\%)$ das amostras MP1, MP2 e MP3. O eixo das abcissas é composto pela altura da cubeta de amostra (mm).

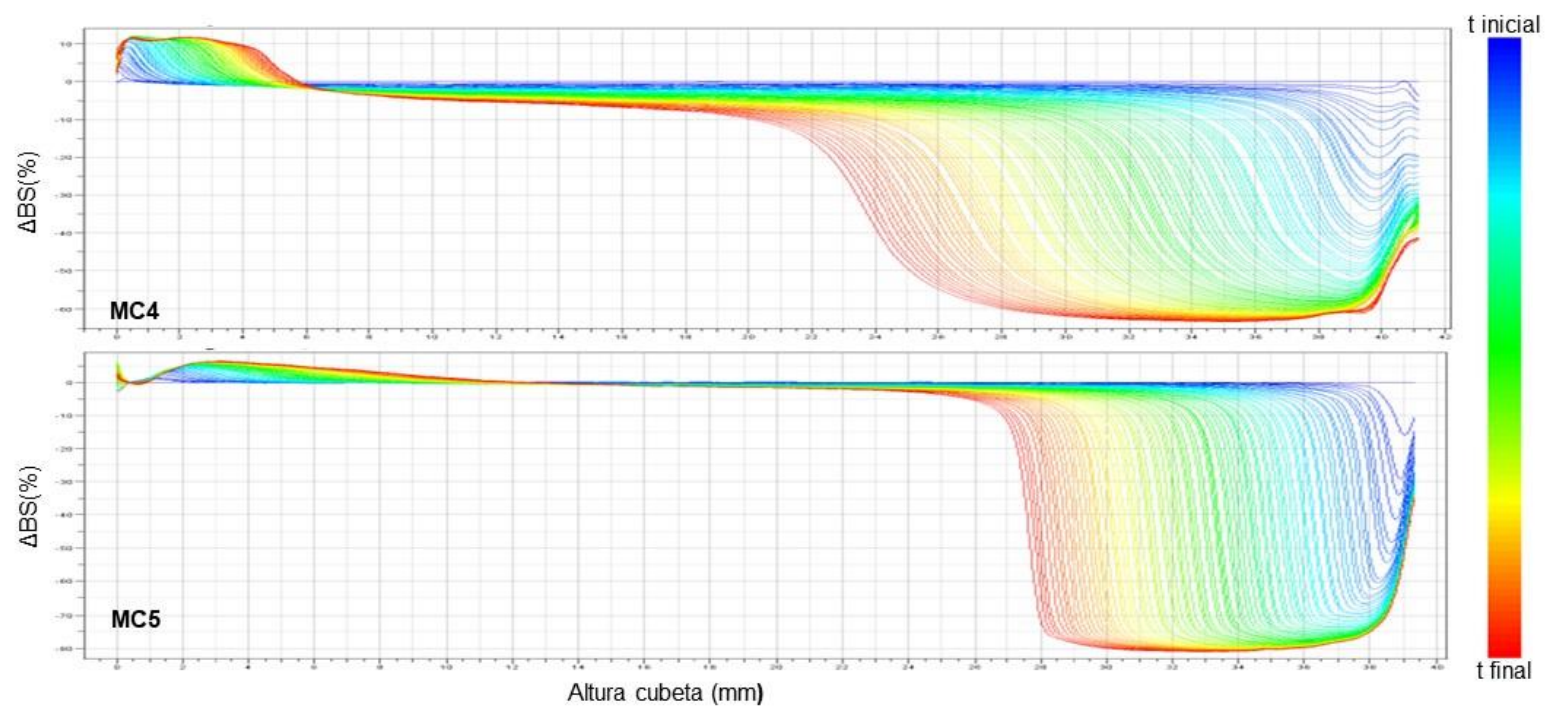


Figura 20. Comparação entre os dados retroespalhamento $\Delta BS(\%)$ das amostras otimizadas MC4 e MC5. O eixo das abcissas é composto pela altura da cubeta de amostra (mm).

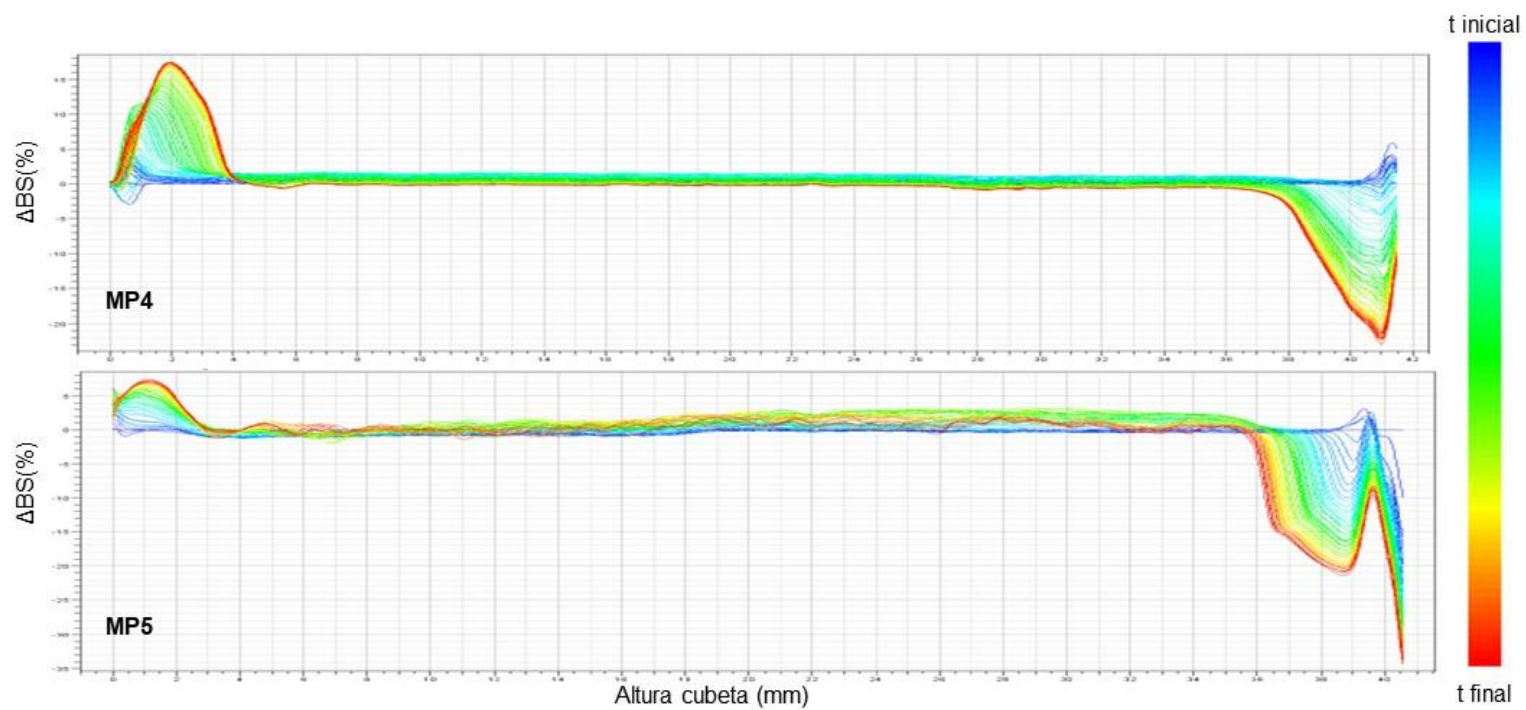


Figura 21. Comparação entre os dados de retroespalhamento $\Delta BS(\%)$ das amostras otimizadas MP4 e MP5. O eixo das abcissas é composto pela altura da cubeta de amostra (mm).

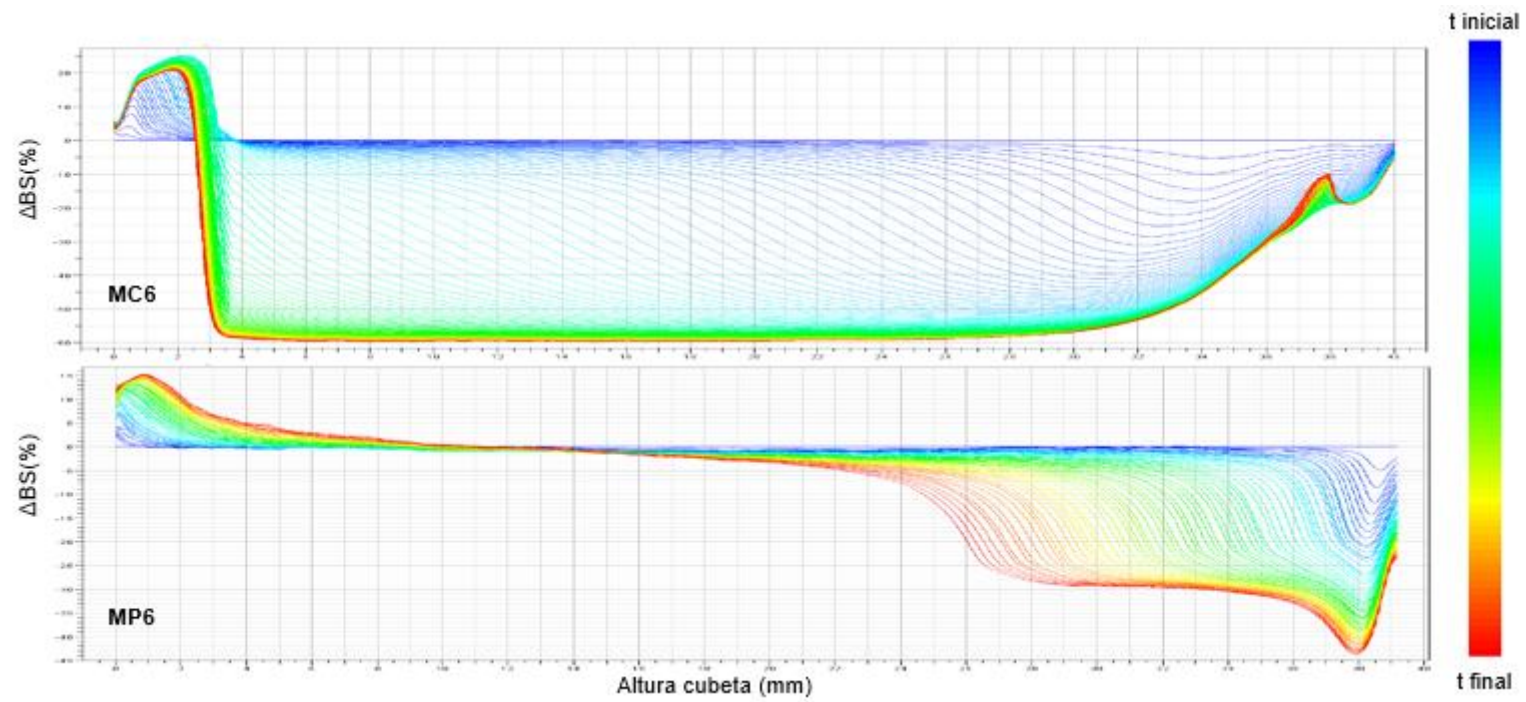


Figura 22. Comparação entre os dados de retroespalhamento $\Delta BS(\%)$ das amostras MC6 e MP6. O eixo das abcissas é composto pela altura da cubeta de amostra (mm).

As amostras finais com L-PZQ foram também caracterizadas por tal técnica, conforme mostra a Figura 22. A MC6 apresentou padrão de desestabilização diferente da amostra MC5, sendo este evidenciado logo no início do tempo avaliado e ao longo de toda a cubeta. Já para o gráfico de ΔBS da amostra MP6 é possível observar um padrão diferente das outras amostras MPs, que está relacionado ao tamanho maior de partícula obtido.

Outra informação relatada pelo ensaio é o índice de estabilidade Turbiscan (TSI), que leva em conta todos os fenômenos que podem estar ocorrendo em um determinado tempo na amostra. De forma geral, quanto maior o TSI, menor a estabilidade da amostra. De acordo com a Figura 23, percebe-se que as amostras do moinho coloidal apresentaram comportamento semelhante, sendo que a MC2 mostrou-se um pouco mais estável.

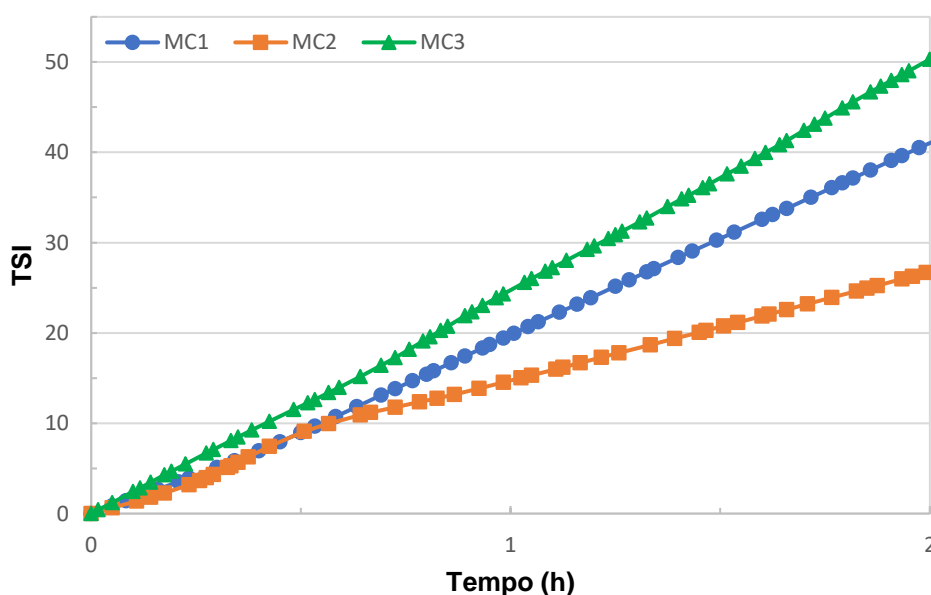


Figura 23. Comparação entre TSI global das amostras MC1, MC2 e MC3 ao longo de 2 horas de análise.

Em relação às amostras do moinho de pérolas, de acordo com a Figura 24, nota-se que na região inicial do gráfico a desestabilização é bem acelerada, porém, tende a diminuir a velocidade após as primeiras horas de análise. No geral, a amostra MP3 demonstrou menor tendência de ocorrência de fenômenos como sedimentação e crescimento de partículas.

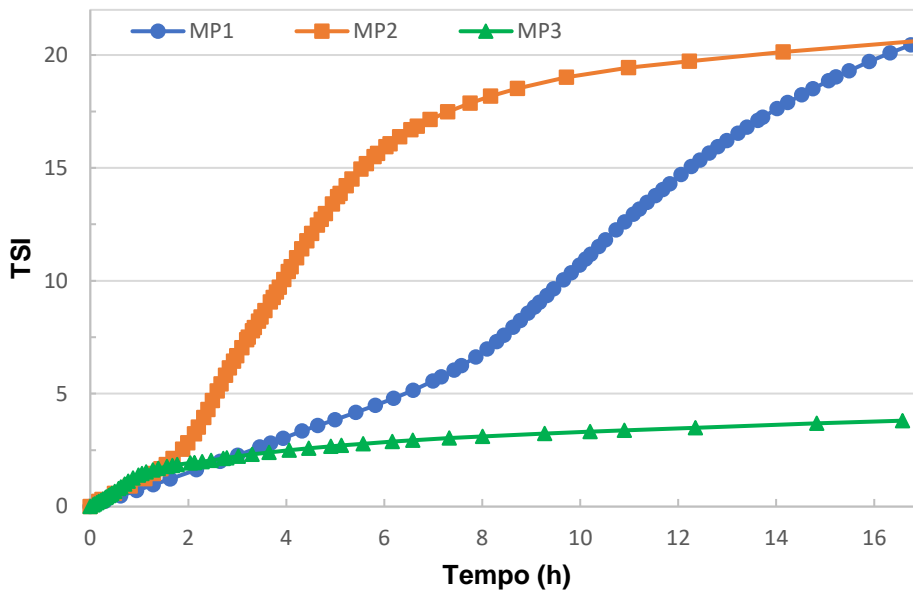


Figura 24. Comparação entre TSI global das amostras MP1, MP2 e MP3 ao longo de 17 horas de análise.

Em relação às amostras otimizadas, a Figura 25 mostra que MC4 e MC5 apresentaram comportamento semelhante, sendo que a MC5 mostrou-se um pouco mais estável, assim como ocorreu com MC1 e MC2, as respectivas amostras iniciais.

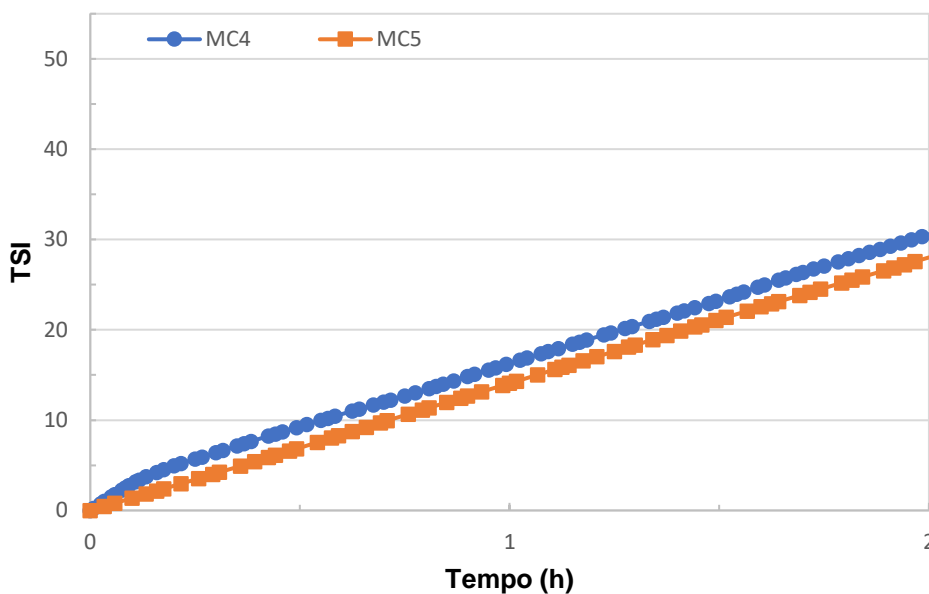


Figura 25. Comparação entre TSI global das amostras otimizadas MC4 e MC5 ao longo de 2 horas de análise.

Já na Figura 26 é possível notar que as amostras otimizadas MP4 e MP5 apresentaram um baixo nível de desestabilização, ao contrário das respectivas amostras iniciais MP1 e MP2. Tal comportamento pode ser associado aos menores valores de d90 e span obtidos para as amostras otimizadas enquanto suspensões.

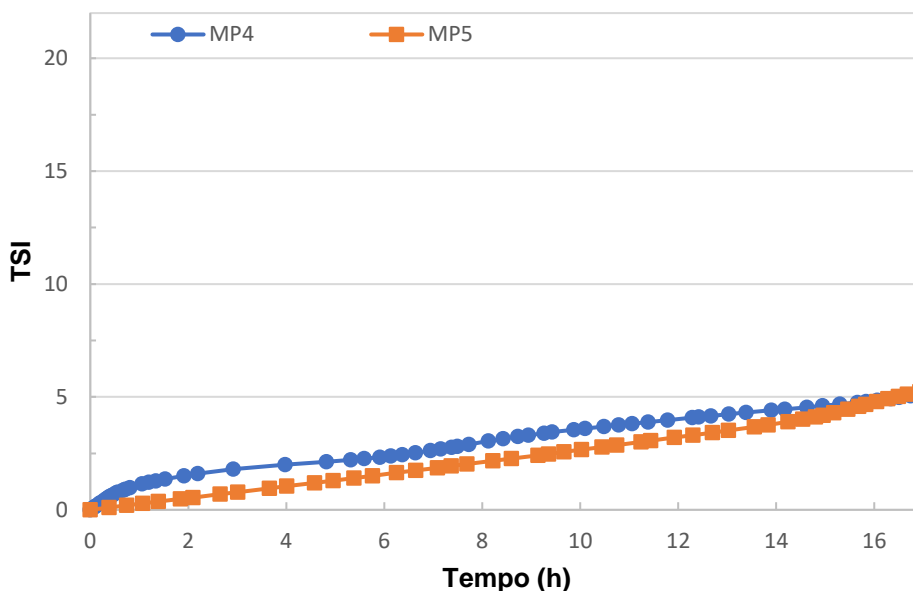


Figura 26. Comparação entre TSI global das amostras otimizadas MP4 e MP5 ao longo de 17 horas de análise.

No geral, as amostras MP4, MP5 e MP3, preparadas no moinho de pérolas, demonstraram menor tendência de ocorrência de fenômenos de desestabilização, provavelmente por apresentarem menores tamanhos de partícula.

Em relação às amostras com L-PZQ, de acordo com o Figura 27, nota-se que MC6 apresentou desestabilização evidentemente acelerada e bem diferente do observado para a amostra MC5.

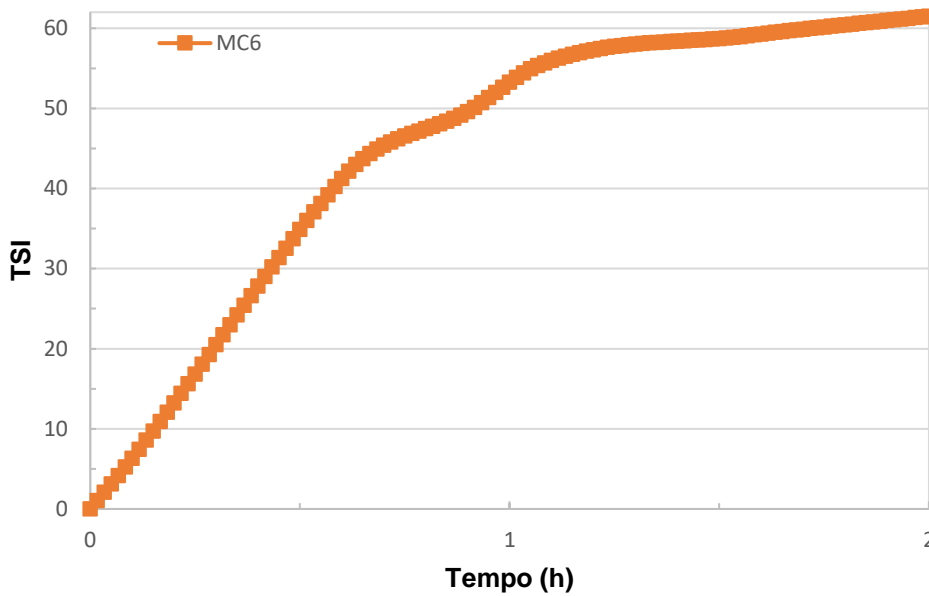


Figura 27. TSI global da amostra otimizada MC6 ao longo de 2 horas de análise.

Já a Figura 28 mostra o comportamento da amostra MP6, que, apesar de apresentar maior desestabilização do que as outras amostras MPs, apresentou menor velocidade e intensidade do que a observada para a amostra MC6.

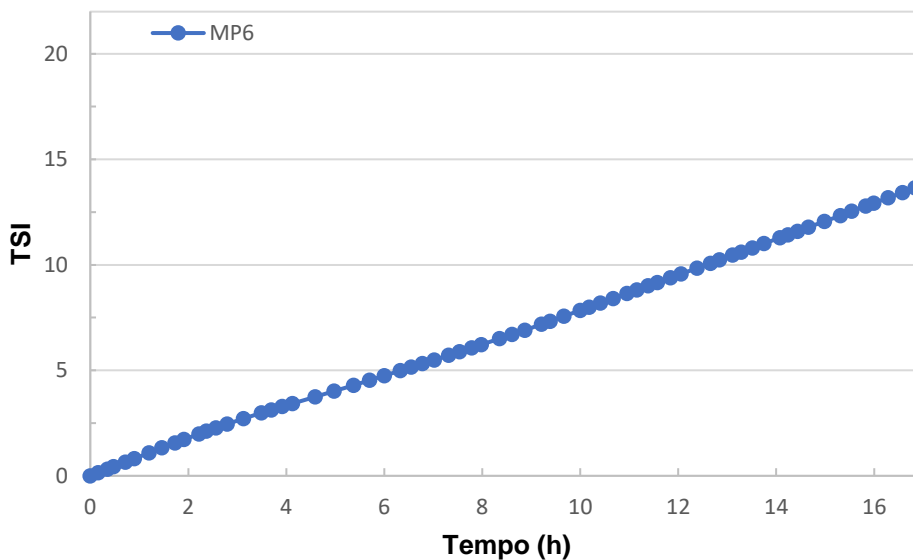


Figura 28. TSI global da amostra MP6 ao longo de 17 horas de análise.

6.4 CARACTERIZAÇÃO DOS PÓS

6.4.1 Difração de raios X de pó

Na Figura 29 é feita uma comparação dos padrões de difração de raios X das amostras e da matéria-prima com o padrão calculado para o rac-PZQ (ESPINOSA-LARA *et al.*, 2013). As intensidades dos picos referentes às amostras são semelhantes entre si e possuem os picos característicos do rac-PZQ. Para a análise comparativa, os padrões de difração obtidos a partir da matéria-prima e das amostras foram normalizados.

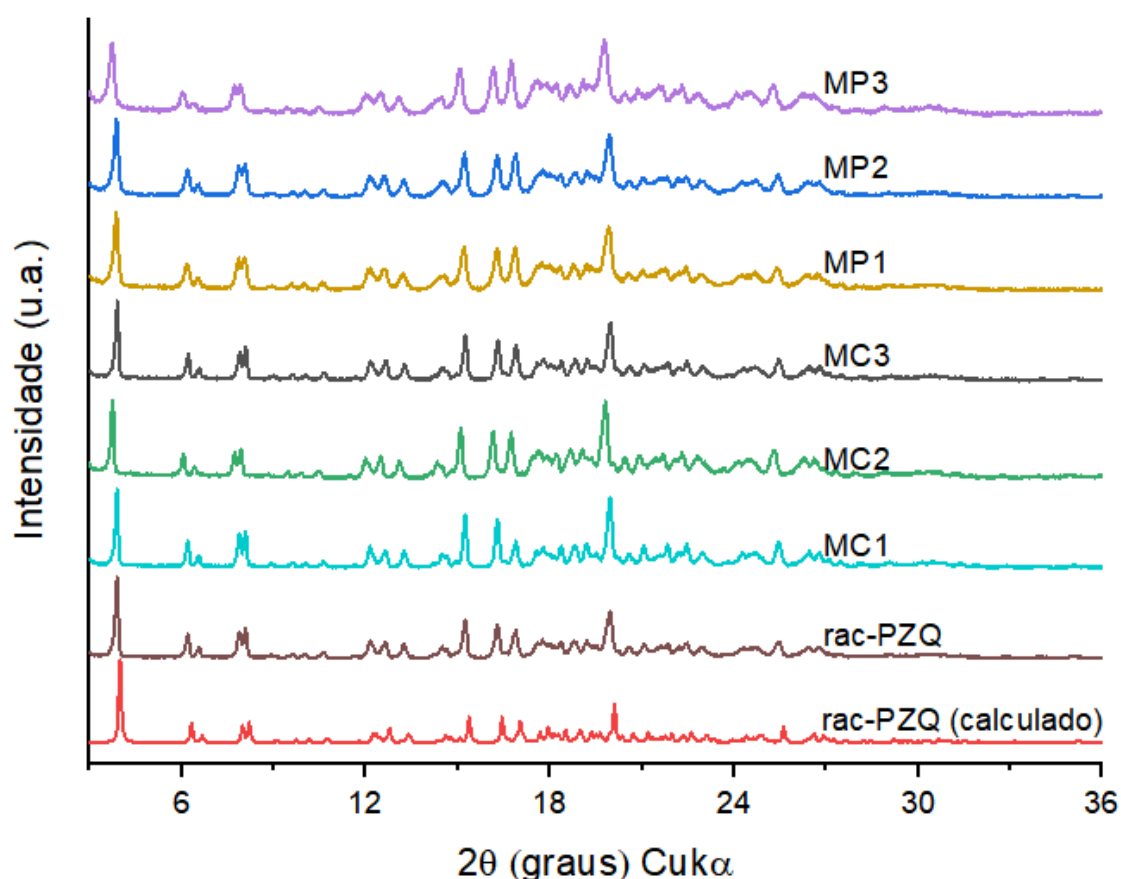


Figura 29. Padrões de difração das amostras em comparação com padrão de difração da matéria-prima e padrão calculado rac-PZQ.

Mesmo após o processamento, é mantida a presença de material no seu estado cristalino e na mesma forma, uma vez que são encontrados intensos picos de difração característicos e em iguais posições em comparação ao padrão calculado (ESPINOSA-LARA *et al.*, 2013). Para as amostras MP1, MP2 e MP3, observa-se um alargamento dos picos, o que sugere uma redução no tamanho do cristalito

(HENNART *et al.*, 2012), fato este que pode impactar significativamente a dissolução do fármaco (FANDARUFF *et al.*, 2015).

As amostras otimizadas foram também caracterizadas por tal técnica, como mostra a Figura 30. Os padrões de difração de raios X das amostras e da matéria-prima são semelhantes ao padrão calculado para o rac-PZQ (ESPINOSA-LARA *et al.*, 2013). Para as amostras MP4 e MP5, o alargamento dos picos também pode ser observado.

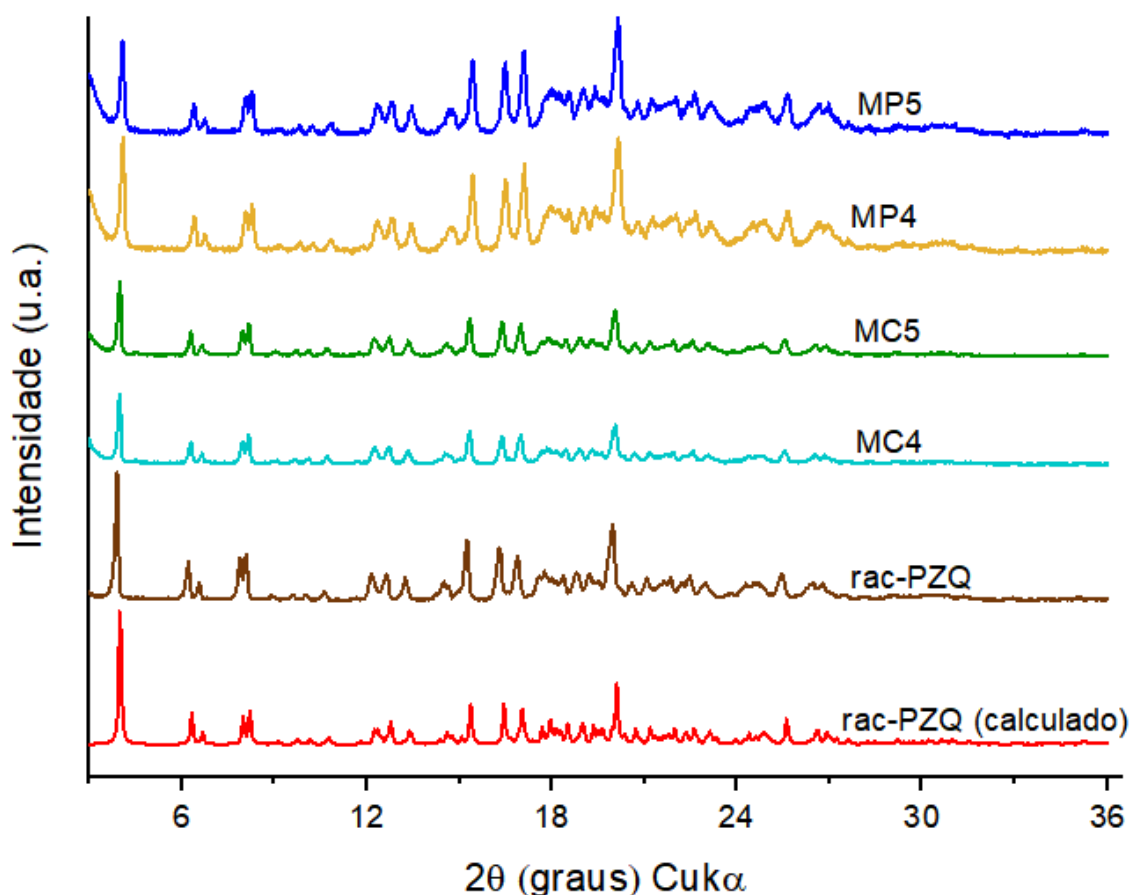


Figura 30. Padrões de difração das amostras otimizadas em comparação com padrão de difração da matéria-prima e padrão calculado rac-PZQ.

Por fim, na Figura 31 as amostras contendo L-PZQ têm seus padrões de difração de raios X comparados com o padrão calculado para o L-PZQ (CEDILLO-CRUZ *et al.*, 2014). As intensidades dos picos referentes às amostras são semelhantes entre si e possuem os picos característicos do L-PZQ. Após 13 ° 2θ, pode-se observar um sutil deslocamento dos picos em relação ao padrão calculado, o qual está relacionado com a diferença na temperatura de medida (UNGÁR, 2004),

que foi ambiente para as amostras e -143 °C para o monocristal. Os padrões de difração experimentais dos excipientes encontram-se no APÊNDICE E.

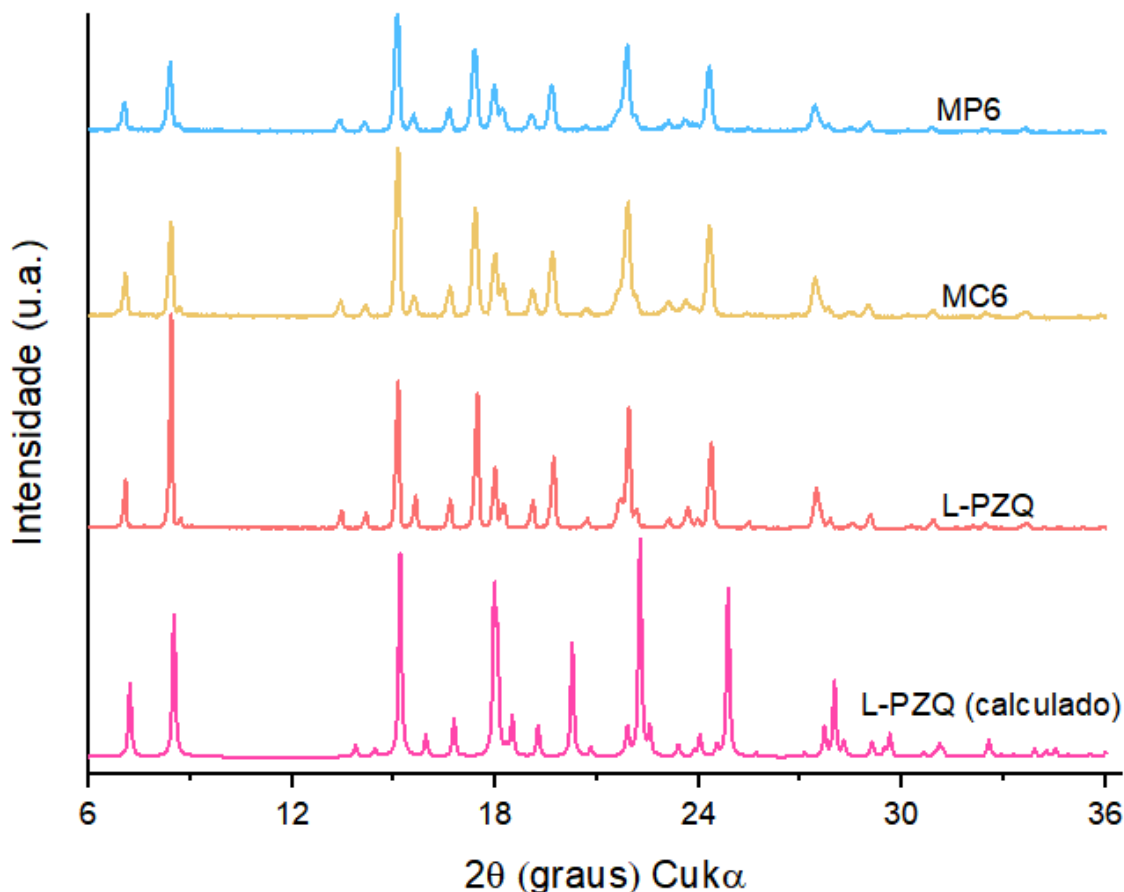


Figura 31. Padrões de difração das amostras com L-PZQ em comparação com padrão de difração da matéria-prima e padrão calculado.

De um modo geral, a manutenção da cristalinidade (após os processos de moagem e secagem) sugere que um possível incremento observado no perfil de dissolução das amostras em relação ao IFA não estaria relacionado à amorfização do material. Da mesma forma, outros trabalhos apresentaram sucesso na obtenção de estruturas cristalinas após o emprego de tais abordagens (KORADIA *et al.*, 2018; MEDAREVIĆ *et al.*, 2018). Por outro lado vale comentar que, apesar de não ter sido desejado no presente estudo, a utilização de tais técnicas também é reportada na literatura com o objetivo de obtenção de dispersões amorfas de fármacos (CARON *et al.*, 2011).

6.4.2 Análise térmica

6.4.2.1 Análise termogravimétrica (TGA)

As técnicas de análise térmica envolvem o monitoramento da variação de um dado parâmetro em uma amostra em função da temperatura ou do tempo de aquecimento programados para avaliação. As técnicas termoanalíticas mais usuais são a análise termogravimétrica (TGA), análise termogravimétrica derivada (DTG), análise térmica diferencial (DTA) e calorimetria diferencial exploratória (DSC) (DWECK, 2019). As técnicas termoanalíticas como TGA e DSC são frequentemente aplicadas na indústria farmacêutica por serem técnicas rápidas e precisas, utilizadas de maneira complementar durante o desenvolvimento de produtos e no controle de qualidade, tanto em estudos de estabilidade, eficácia e segurança, assim como no estudo de polimorfismo (DA SILVA *et al.*, 2019; PRADO; ROCHA, 2015).

A TGA mede e registra a perda ou o ganho de massa de uma amostra em função da temperatura a que está sendo submetida, para detecção de processos físico-químicos que ocorram em função de tal aquecimento durante a investigação conduzida (CRAIG; READING, 2006). Em muitos casos, a derivada da curva (DTG) pode ser usada para facilitar a identificação das diferentes temperaturas relacionadas aos estágios distintos de perda de massa (LI; MATTEI, 2019). Assim, a DTG mede a taxa de variação relativa de perda ou ganho de massa, com base nos dados coletados da análise e processados por um *software* (DWECK, 2019). Como exemplo de aplicação de tais técnicas, tem-se a determinação da estabilidade térmica de compostos, além de determinação de teor de voláteis em amostras sólidas (LI; MATTEI, 2019).

Conforme pode ser observado na Figura 32, o rac-PZQ apresenta um único estágio de decomposição térmica entre 250 e 350 °C. A Tabela 20 mostra uma perda de massa de 100,00%. Resultados similares foram encontrados para o rac-PZQ na literatura (MAINARDES; GREMIÃO; EVANGELISTA, 2006; TIMÓTEO *et al.*, 2019).

As Figura 32 e Figura 33 mostram as curvas TGA/DTG das amostras iniciais MC1, MC2 e MC3, além da MP1, MP2 e MP3. De acordo com a Tabela 20, pode-se notar que no primeiro estágio, a temperatura correspondente ao início da degradação (T_{onset}) variou entre 275,11 e 295,11 °C, valores relativamente próximos ao do rac-PZQ puro (298,93 °C). As temperaturas correspondentes às taxas máximas de

degradação apresentaram-se em uma faixa de valores mais estreita, com T_{max} (temperatura relativa à maior taxa de degradação, obtida através da curva da derivada) variando entre 319,83 e 334,00 °C, sendo tais valores relativamente próximos ao do rac-PZQ puro (335,95 °C). No entanto, observa-se que nesse evento tanto o início da degradação quanto a degradação máxima das amostras foram deslocados para temperaturas mais baixas em relação ao IFA rac-PZQ. Apesar disso, tal estágio apresentou valores de perda de massa entre 94,02 e 98,81% e, portanto, está relacionado com a degradação do rac-PZQ.

Algumas amostras apresentaram um segundo estágio de degradação, provavelmente relacionado ao estabilizante estérico, presente na formulação em maior proporção do que o de carga. Para a etapa 2, as amostras MC1-MP1 e MC2-MP2 apresentaram valores muito próximos entre si de T_{onset} e T_{max} , com perda de massa de aproximadamente 5%. Tais dados estão de acordo os dados da caracterização dos excipientes (APÊNDICE E), e provavelmente as amostras MC3-MP3 não apresentaram um segundo estágio de degradação pois um dos estágios do excipiente (Soluplus) coincide com a faixa de temperatura de degradação do rac-PZQ.

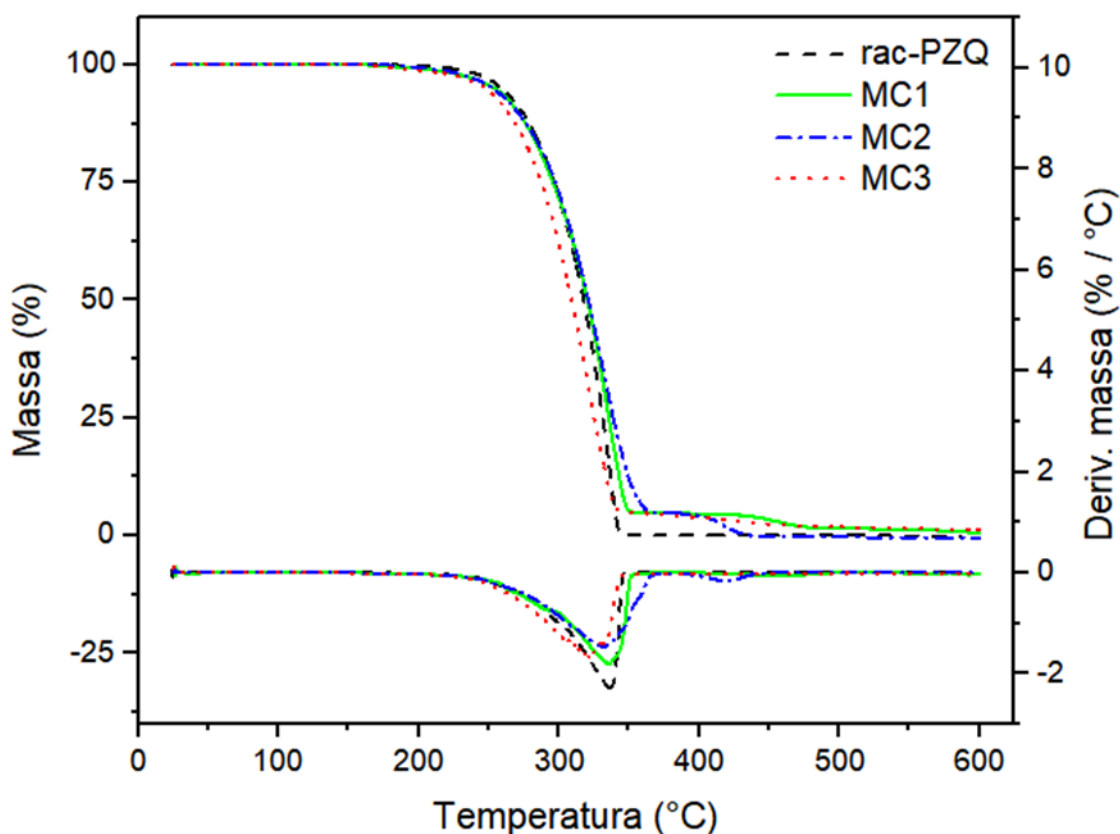


Figura 32. Curvas TGA/DTG do rac-PZQ e das amostras MC1, MC2 e MC3.

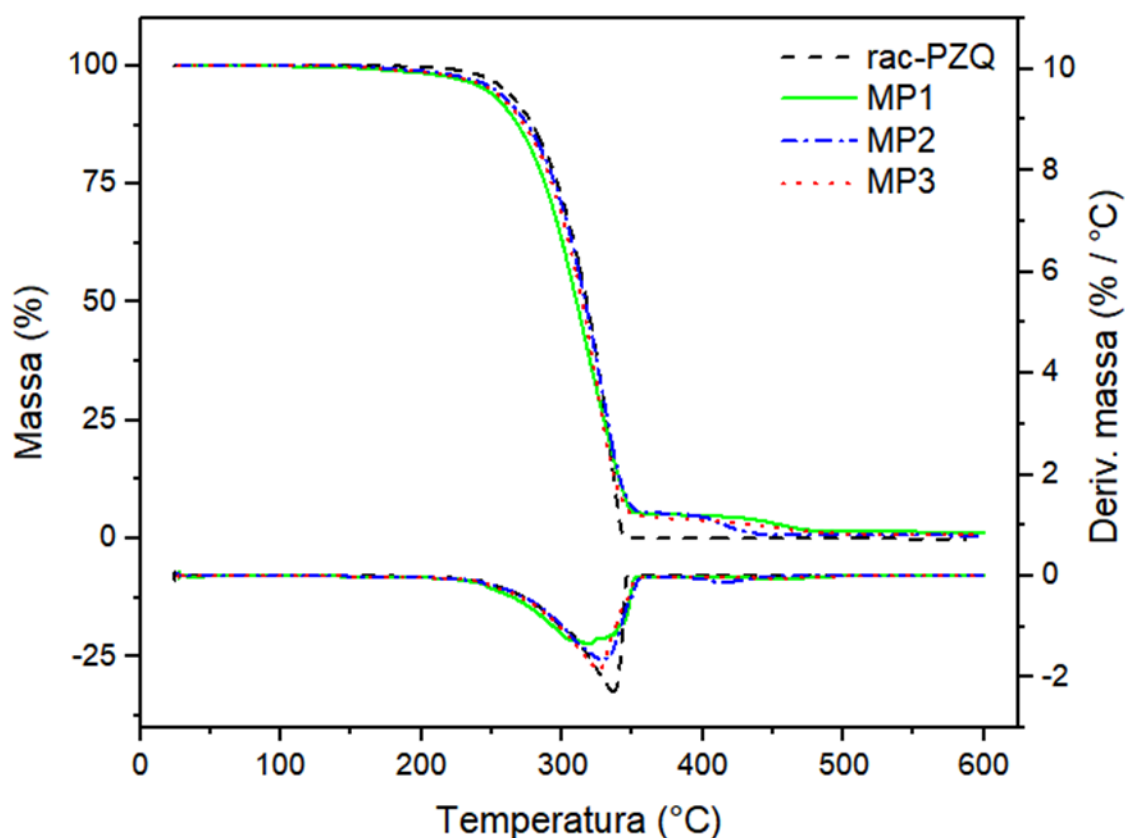


Figura 33. Curvas TGA/DTG do rac-PZQ e das amostras MP1, MP2 e MP3.

Tabela 20. Dados da análise termogravimétrica para as amostras iniciais MC1, MC2 e MC3 e MP1, MP2 e MP3.

Amostra	Massa (mg)	Etapa	T _{onset} (°C)	T _{máx} (°C)	Perda de massa (%)
PZQ	4,34	1	298,93	335,95	100,00
MC1	2,53	1	295,11	334,00	95,11
		2	433,59	453,24	4,22
MC2	4,01	1	288,63	331,64	94,88
		2	415,25	417,35	4,36
MC3	3,18	1	280,67	320,36	97,93
MP1	3,52	1	275,11	319,83	94,46
		2	439,23	453,44	3,85
MP2	5,02	1	288,07	325,97	94,02
		2	400,78	413,45	4,49
MP3	4,12	1	290,94	325,08	98,81

Após a otimização, as amostras também foram caracterizadas por tal técnica e as Figura 34 e Figura 35 mostram as curvas TGA/DTG das amostras otimizadas MC4, MC5, MP4 e MP5, além do rac-PZQ. De acordo com a Tabela 21, pode-se notar que o primeiro estágio de degradação das amostras MC4 e MC5 não apresentou grande variação em relação aos valores de T_{onset} , T_{max} e perda de massa em relação às respectivas amostras iniciais MC1 e MC2. Já as amostras MP4 e MP5 em relação às respectivas amostras iniciais MP1 e MP2, apresentaram maiores valores de T_{onset} e T_{max} . Para todas as amostras, tal estágio apresentou valores de perda de massa de aproximadamente 94% e, portanto, está relacionado com a degradação do rac-PZQ.

Além disso, as amostras apresentaram um segundo estágio de degradação, assim como as amostras iniciais MP1 e MP2, provavelmente relacionado ao estabilizante estérico. Para a etapa 2, as amostras MP4 e MP5 apresentaram valores próximos às amostras iniciais em relação ao T_{max} , com perda de massa de aproximadamente 5%.

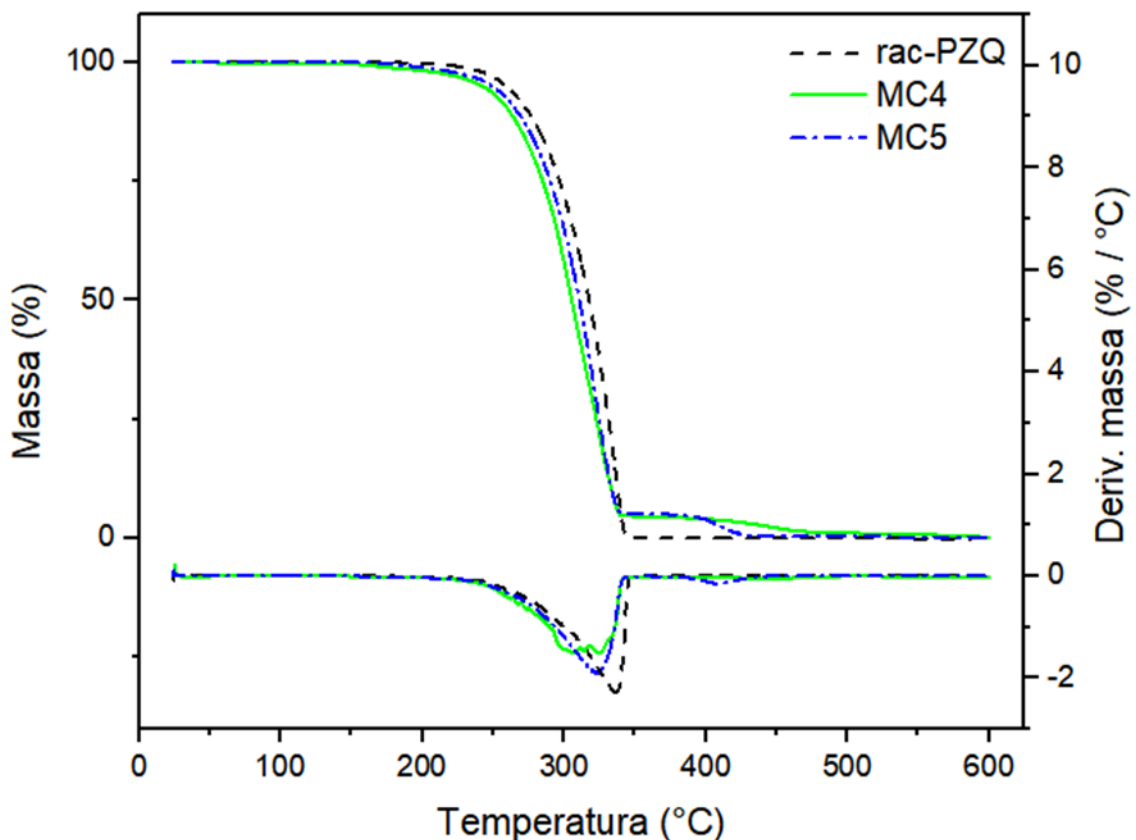


Figura 34. Curvas TGA/DTG do rac-PZQ e das amostras MC4 e MC5.

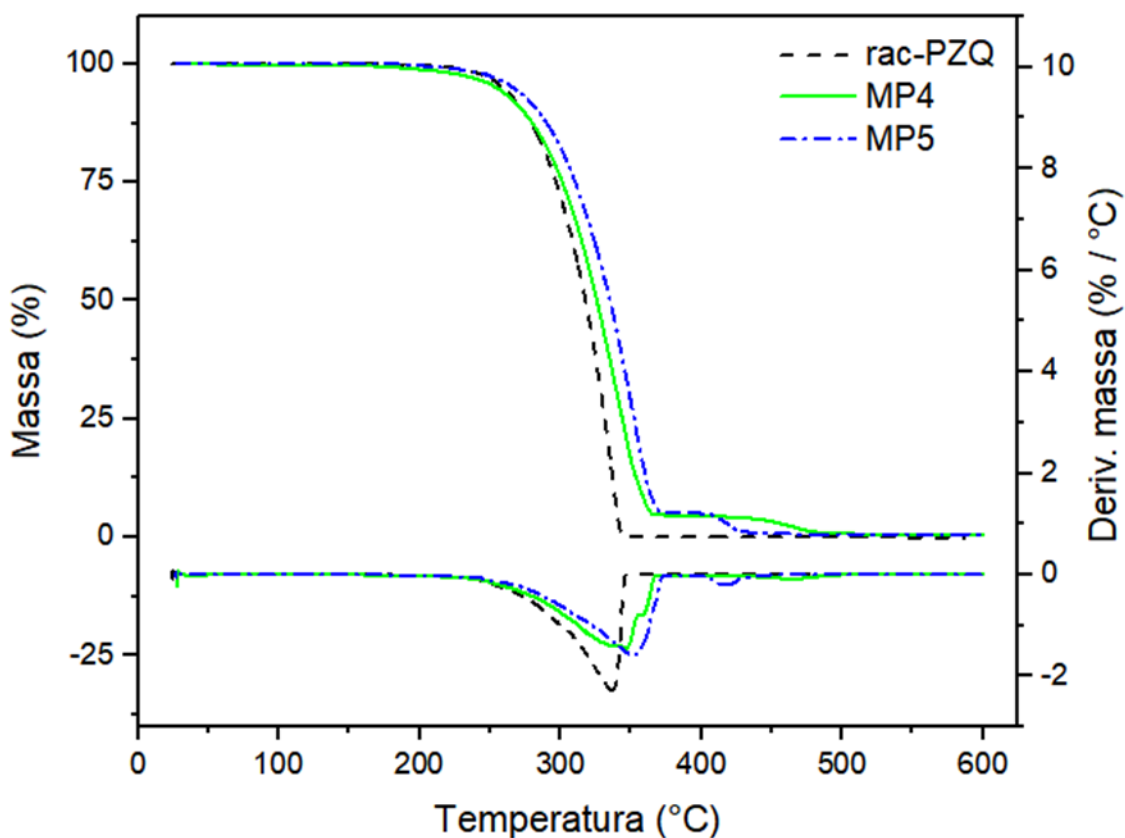


Figura 35. Curvas TGA/DTG do rac-PZQ e das amostras MP4 e MP5.

Tabela 21. Dados da análise termogravimétrica para as amostras iniciais MC4, MC5, MP4 e MP5.

Amostra	Massa (mg)	Etapa	T _{onset} (°C)	T _{máx} (°C)	Perda de massa (%)
PZQ	4,34	1	298,93	335,95	100,00
MC4	2,42	1	274,20	325,02	95,22
		2	415,55	444,10	3,51
MC5	3,92	1	286,69	322,40	94,67
		2	395,29	407,44	4,43
MP4	4,75	1	293,10	345,01	95,22
		2	447,47	463,62	4,02
MP5	7,79	1	306,11	350,68	94,07
		2	407,56	414,77	5,14

Conforme pode ser observado na Figura 36, o L-PZQ apresenta um único estágio de decomposição térmica entre 200 e 350 °C. A Tabela 22 mostra uma perda

de massa de 100,00%. As amostras MC6 e MP6 também foram caracterizadas por tal técnica e, de acordo com a Tabela 22, pode-se notar que o primeiro estágio de degradação apresentou valores próximos de T_{onset} e T_{max} . Os valores de perda de massa foram de aproximadamente 90% e, portanto, tal estágio está relacionado com a degradação do L-PZQ. Além disso, as amostras apresentaram um segundo estágio de degradação, provavelmente relacionado ao estabilizante estérico. Para a etapa 2, a amostra MP6 apresentou valores mais altos de T_{onset} e T_{max} , com perda de massa um pouco menor em relação ao MC6.

O L-PZQ não apresentou grande variação para os valores de T_{onset} , T_{max} e perda de massa em relação ao rac-PZQ. Além disso, é importante destacar que as amostras podem ser consideradas estáveis na temperatura de trabalho utilizada na secagem por *spray dryer*.

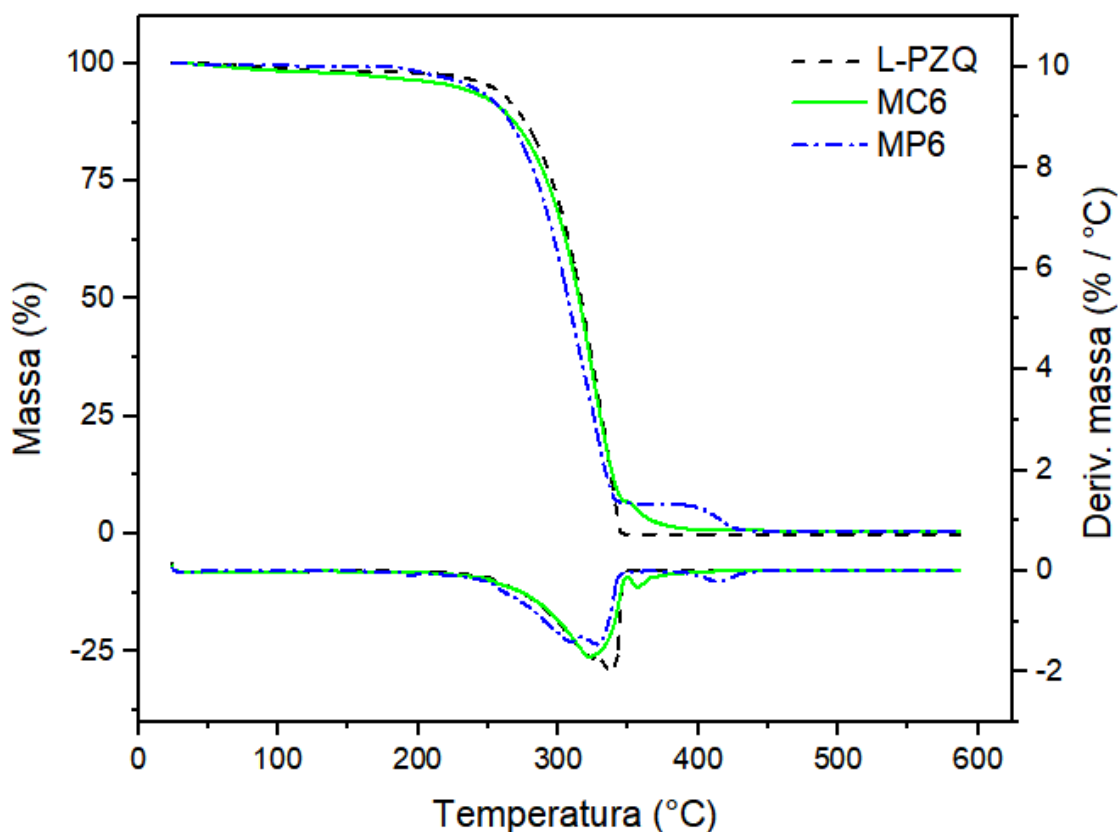


Figura 36. Curvas TGA/DTG do L-PZQ e das amostras MC6 e MP6.

Tabela 22. Dados da análise termogravimétrica para as amostras iniciais MC1, MC2 e MC3 e MP1, MP2 e MP3.

Amostra	Massa (mg)	Etapa	T_{onset} (°C)	T_{máx} (°C)	Perda de massa (%)
L-PZQ	3,25	1	295,60	337,11	100,00
MC6	3,44	1	289,49	320,81	88,94
		2	361,43	356,27	10,09
MP6	2,22	1	277,99	326,65	93,21
		2	400,45	416,42	5,74

6.4.2.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

De modo a complementar os dados obtidos pela técnica anterior, as amostras também foram analisadas por DSC. A técnica de DSC mede a energia liberada ou consumida por unidade de tempo (fluxo de calor) pela amostra, durante as transformações físico-químicas que ocorrem com a mesma no processo térmico a que está submetida, ou seja, em função de um programa de temperatura controlada. Usualmente, o efeito térmico do cadinho com amostra é comparado com o de referência (vazio) (CRAIG; READING, 2006).

As variações de entalpia associadas a eventos exotérmicos (liberação de energia) ou endotérmicos (consumo de energia), dão origem à formação de picos nas curvas DSC. Como exemplos de eventos exotérmicos pode-se citar: reações de cristalização, polimerização, oxidação, decomposição, dentre outras. Já eventos endotérmicos podem estar relacionados com fusão, perda de massa da amostra (desidratação, sublimação, volatilização ou decomposição) ou transição vítrea. Vale ressaltar que a transição vítrea, considerada como uma transição de segunda ordem, normalmente é evidenciada apenas por um deslocamento na linha base no sentido endotérmico (DWECK, 2019).

Na curva de DSC (Figura 37), o rac-PZQ apresentou apenas um pico endotérmico agudo a 141,92 °C, temperatura que corresponde ao ponto de fusão da mistura racêmica de PZQ. De acordo com Tabela 23, o pico endotérmico do PZQ apresenta a entalpia de fusão de 88,86 J/g. Tais valores são próximos aos obtidos por

outros autores e encontrados na literatura (GONZALEZ; RAMÍREZ RIGO; GONZALEZ VIDAL, 2018; LIU *et al.*, 2004; PASSERINI *et al.*, 2006).

Conforme pode ser observado nas Figura 37 e Figura 38, os picos de fusão do rac-PZQ nas amostras iniciais MC1, MC2, MC3, MP1, MP2 e MP3 apresentaram certo deslocamento em relação ao ponto de fusão do rac-PZQ puro. Particularmente para as amostras MPs, as posições dos picos deslocaram-se para valores mais baixos do que as respectivas MCs, fato que também foi relatado por Yang e colaboradores (2019). Tal observação possivelmente está relacionada com o fato de que a moagem pode promover, além da redução no tamanho de partícula, algum grau de desordem estrutural em uma pequena fração da amostra cristalina e, uma vez que menos energia é requerida para destruir as estruturas com imperfeições, uma diminuição na temperatura de transição e na área do pico são percebidas (VAN DOOREN; MÜLLER, 1982). Além disso, todas as amostras apresentaram uma redução na intensidade do pico relativo à fusão em relação ao rac-PZQ puro devido à presença de excipientes na formulação.

A Tabela 23 apresenta, para cada amostra, a temperatura dos picos e as respectivas entalpias. As amostras MC1 e MP1 apresentaram um segundo evento, exotérmico e próximo a 140 °C. Já as amostras MC2 e MP2, apresentaram um segundo evento endotérmico, próximo a 50 °C, que pode estar relacionado ao POL 407 presente na formulação, conforme resultados apresentados no APÊNDICE E.

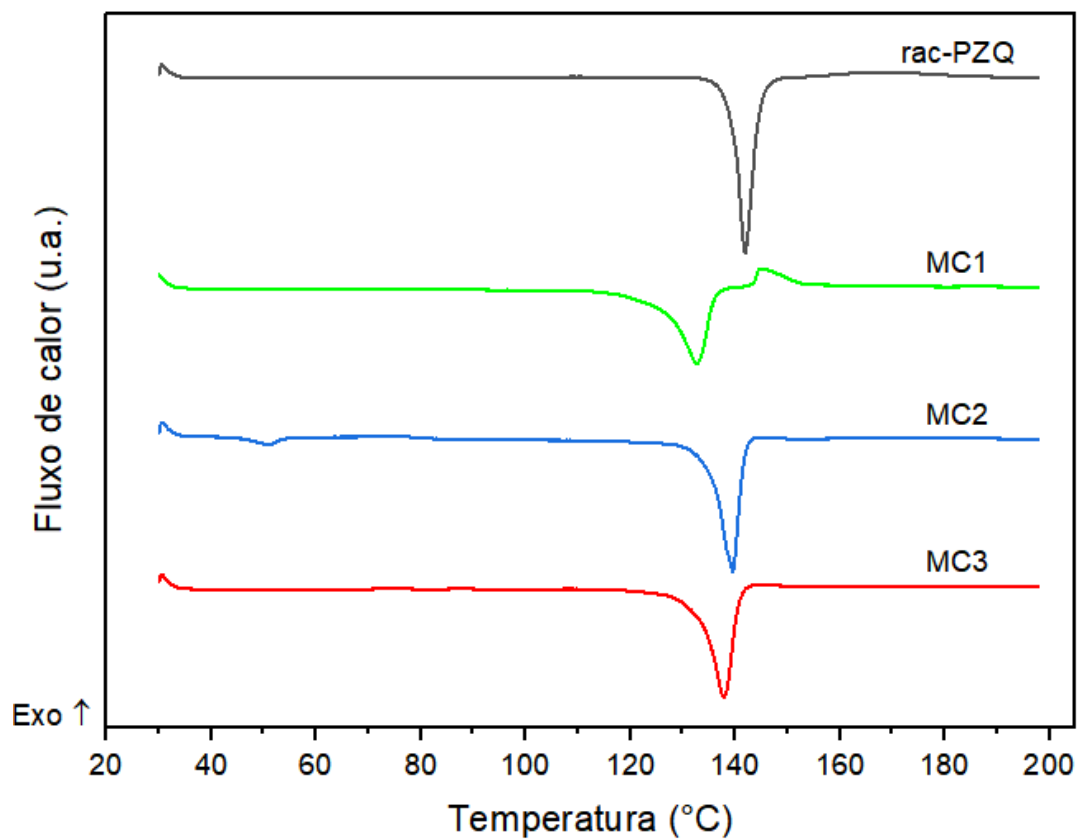


Figura 37. Curvas DSC do rac-PZQ e das amostras MC1, MC2 e MC3.

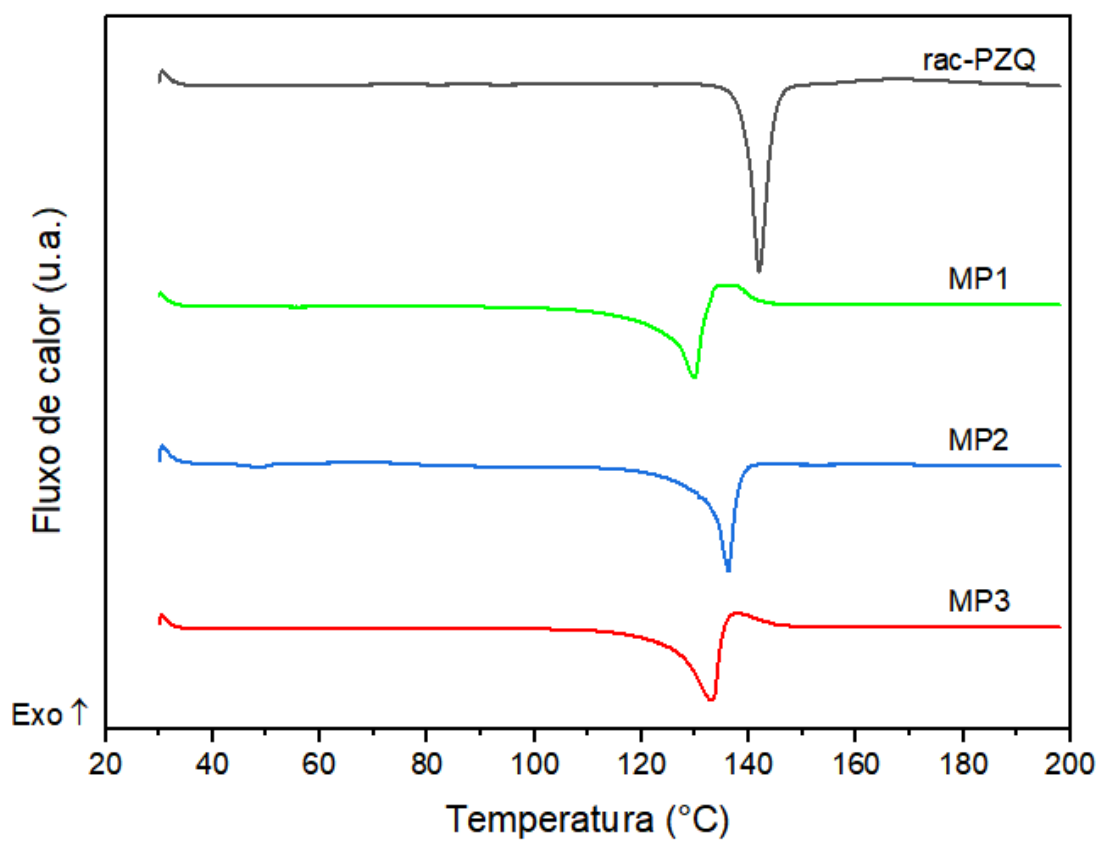


Figura 38. Curvas DSC do rac-PZQ e das amostras MP1, MP2 e MP3.

Tabela 23. Dados da análise de DSC para rac-PZQ e amostras MC1, MC2, MC3, MP1, MP2 e MP3.

Amostra	Evento	Temperatura (°C)	Entalpia (J/g)
PZQ	1	141,92	88,86
MC1	1	132,66	68,51
	2	145,20	12,48
MC2	1	51,04	3,70
	2	139,54	77,92
MC3	1	137,82	80,38
MP1	1	129,83	56,00
	2	135,24	15,94
MP2	1	48,76	2,29
	2	136,17	73,68
MP3	1	132,93	59,46

Após a otimização, as amostras foram também avaliadas aplicando tal técnica e os resultados estão expostos na Figura 39 e Figura 40, além da Tabela 24. De um modo geral, assim como percebido para as amostras iniciais, os pontos de fusão do rac-PZQ nas amostras otimizadas MC4, MC5, MP4 e MP5 apresentaram deslocamento em relação ao ponto de fusão do rac-PZQ puro. Mais uma vez, as amostras MPs mostraram posições dos picos deslocadas para valores mais baixos do que as respectivas MCs. Além disso, todas as amostras apresentaram uma redução na intensidade do pico relativo à fusão do rac-PZQ devido à presença de excipientes na formulação.

A Tabela 24 apresenta a temperatura de cada pico e a respectiva entalpia para cada amostra. As amostras MPs otimizadas apresentaram maior entalpia de fusão do rac-PZQ em comparação com as respectivas amostras iniciais. De acordo com o observado para as amostras iniciais, MC4 e MP4 também apresentaram um segundo evento, exotérmico e próximo a 150 °C. Já as amostras MC5 e MP5, apresentaram um segundo evento endotérmico, próximo a 50 °C, que pode estar relacionado ao POL 407, presente na formulação. Além disso, a amostra MP5 apresenta um terceiro evento, porém exotérmico, que apesar de poder ser atribuído ao excipiente POL 407, o qual não foi observado para as outras amostras que o continham.

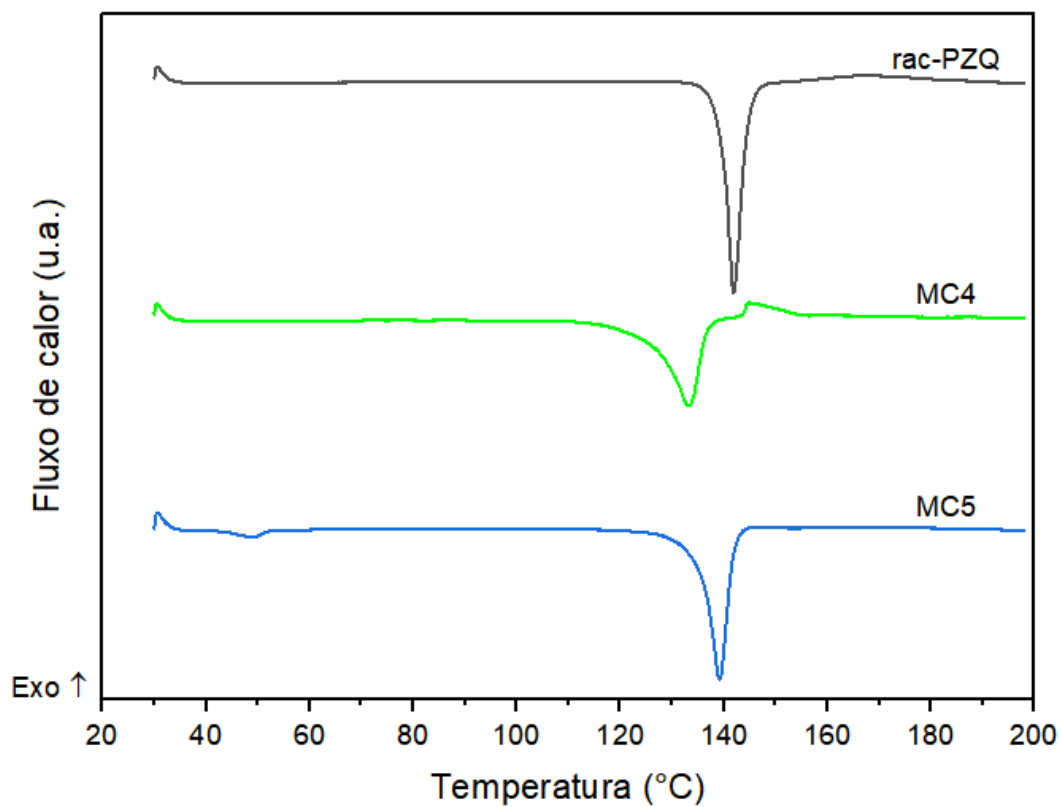


Figura 39. Curvas DSC do rac-PZQ e das amostras MC4 e MC5.

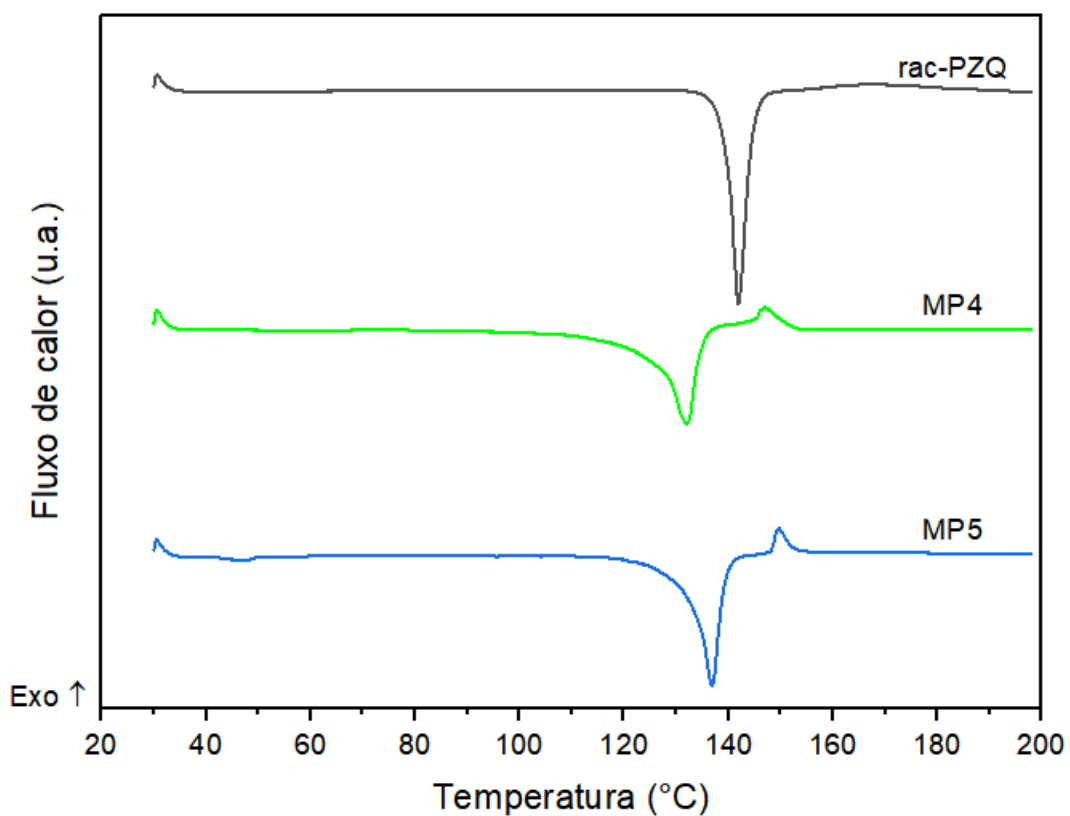


Figura 40. Curvas DSC do rac-PZQ e das amostras MP4 e MP5.

Tabela 24. Dados da análise de DSC para rac-PZQ e amostras MC4, MC5, MP4 e MP5.

Amostra	Evento	Temperatura (°C)	Entalpia (J/g)
PZQ	1	141,92	88,86
MC4	1	133,15	70,43
	2	144,68	8,83
MC5	1	49,03	3,75
	2	139,18	83,95
MP4	1	131,92	78,17
	2	146,89	12,86
MP5	1	47,23	1,96
	2	136,86	82,13
	3	149,68	5,09

Para o L-PZQ, a curva de DSC (Figura 41) apresentou um pico endotérmico agudo em 103,44 °C, com entalpia de fusão de 89,87 J/g, conforme Tabela 25. Tais valores correspondem ao evento de fusão do L-PZQ, conforme demonstrado por Liu e colaboradores (2004), sendo que o valor da entalpia aqui obtido se mostrou mais alto do que o descrito na literatura, o que provavelmente está relacionado com diferenças entre o tamanho de partícula dos IFAs avaliados (VAN DOOREN; MÜLLER, 1982).

Por fim, as amostras processadas com o L-PZQ foram também avaliadas e os resultados estão expostos na Figura 41 e Tabela 25. O ponto de fusão do L-PZQ nas amostras MC6 e MP6 apresentou certo deslocamento em relação ao ponto de fusão do L-PZQ puro, sendo que para a amostra MP6, o pico deslocou-se para um valor ainda mais baixo do que para a MC6. Em razão da presença de excipientes na formulação, as amostras apresentaram uma redução na intensidade do pico relativo à fusão do L-PZQ. Além disso, as amostras em questão mostraram um segundo evento endotérmico, próximo de 150 °C, que pode ser atribuído a presença do POL 407 na formulação.

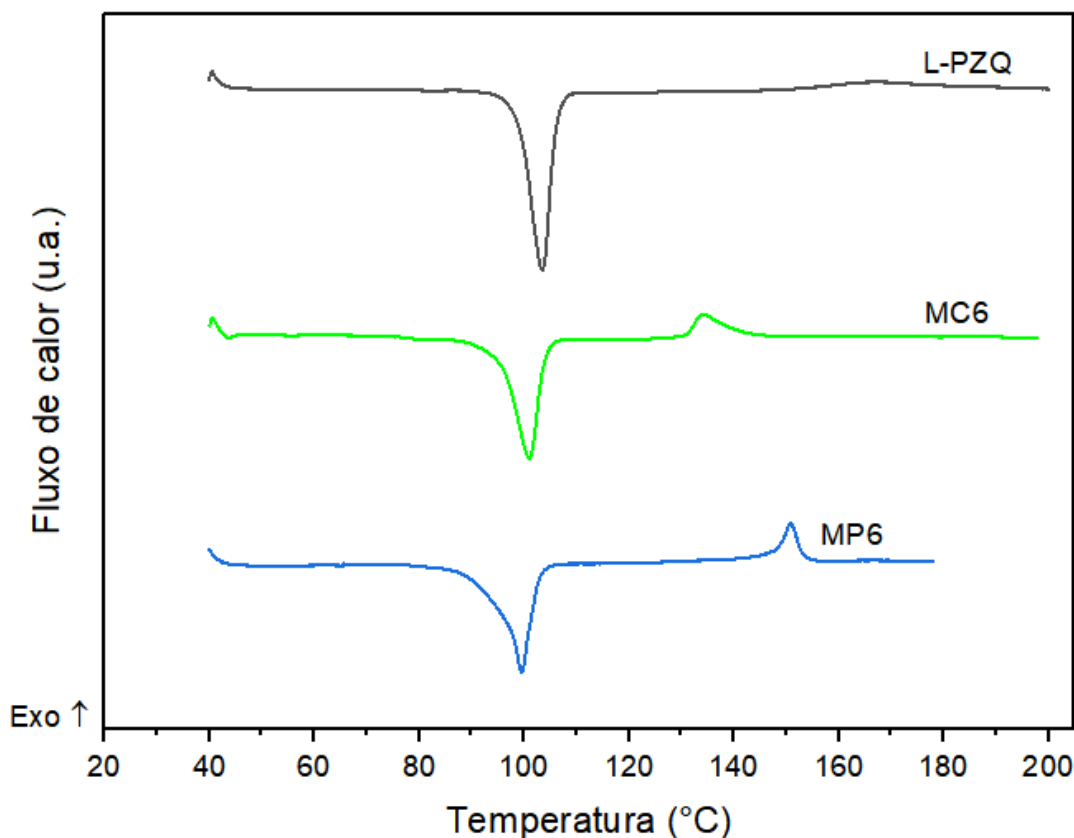


Figura 41. Curvas DSC do L-PZQ e das amostras MC6 e MP6.

Tabela 25. Dados da análise de DSC para L-PZQ e amostras MC6 e MP6.

Amostra	Evento	Temperatura (°C)	Entalpia (J/g)
L-PZQ	1	103,44	89,87
MC6	1	101,30	71,07
	2	134,15	14,20
MP6	1	99,53	75,27
	2	150,84	16,01

6.4.3 Espectroscopia no Infravermelho (IV)

Para a identificação da presença de PZQ nas amostras foram feitas análises de espectroscopia de infravermelho (IV). Conforme mostrado na Figura 42, o espectro de absorção da amostra do rac-PZQ apresenta as principais bandas características de acordo com os grupamentos funcionais da molécula.

Em 2929 e 2852 cm^{-1} ocorrem bandas referentes às vibrações de deformação axial de C-H e C-H₂. Em 1647 e 1623 cm^{-1} , as bandas são referentes às amidas presentes em sua estrutura molecular (PASSERINI *et al.*, 2006).

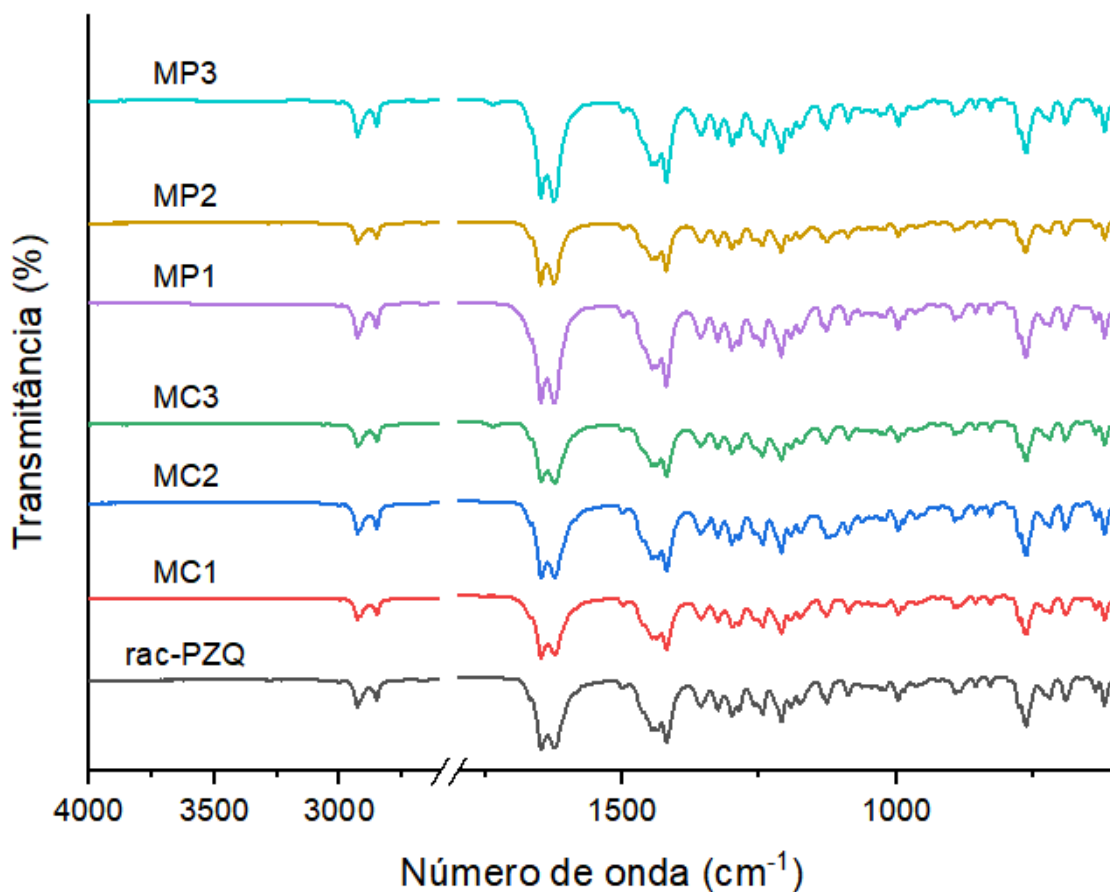


Figura 42. Comparação entre os espectros de absorção das amostras iniciais e matéria-prima PZQ.

Percebe-se que cada um dos espectros das amostras tem presença das bandas características que são usadas na identificação do rac-PZQ, confirmando a presença deste. Além disso, de acordo com os dados apresentados na Tabela 26, a falta de deslocamentos das bandas sugere a não ocorrência de interação entre o rac-PZQ e os estabilizantes (PASSERINI *et al.*, 2006). Os espectros de IV dos excipientes encontram-se no APÊNDICE E.

Tabela 26. Comparação dos números de onda (cm^{-1}) do espectro de infravermelho do PZQ matéria-prima e das amostras iniciais.

Grupamento	rac-PZQ	MC1	MC2	MC3	MP1	MP2	MP3
-CH, -CH ₂	2929	2928	2929	2928	2929	2929	2929
	2852	2851	2852	2852	2853	2853	2853
-C=O	1647	1648	1647	1647	1648	1649	1648
	1623	1624	1622	1623	1625	1625	1625

As amostras otimizadas foram também analisadas por tal técnica e os espectros estão apresentados na Figura 43. Os espectros de absorção das amostras e do rac-PZQ apresentam as principais bandas características dos grupamentos funcionais da molécula e além disso, a Tabela 27 demonstra a ausência de deslocamentos de tais bandas das amostras em relação às do IFA rac-PZQ puro.

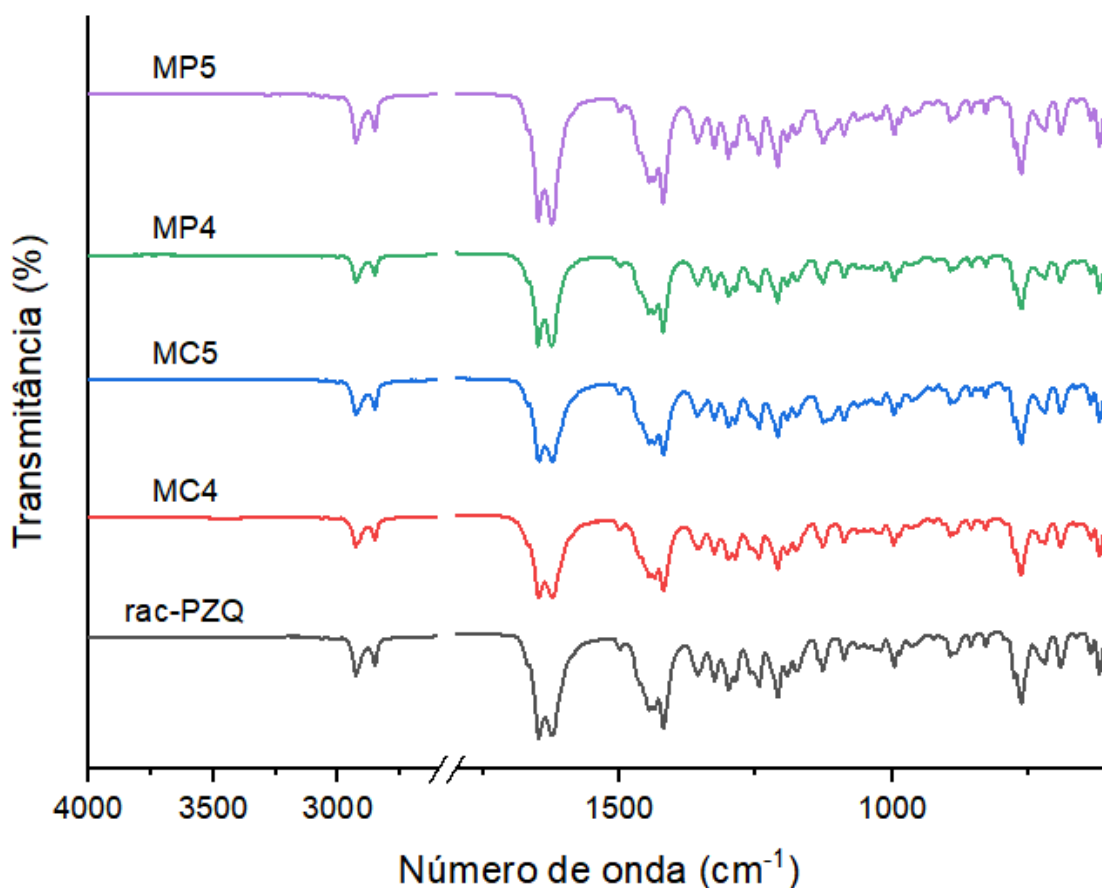


Figura 43. Comparação entre os espectros de absorção das amostras otimizadas e matéria-prima PZQ.

Tabela 27. Comparação dos números de onda (cm^{-1}) do espectro de infravermelho do PZQ matéria-prima e das amostras otimizadas.

Grupamento	rac-PZQ	MC4	MC5	MP4	MP5
-CH, -CH ₂	2929	2928	2929	2928	2928
	2852	2852	2851	2852	2853
-C=O	1647	1647	1647	1648	1648
	1623	1622	1622	1624	1624

Por fim, conforme mostrado na Figura 44, o espectro de absorção da amostra do L-PZQ apresentou as principais bandas características de acordo com os grupamentos funcionais da molécula. Além das bandas referentes às vibrações de deformação axial de C-H e C-H₂ e às amidas presentes em sua estrutura molecular, o L-PZQ apresenta uma diferença significativa em relação ao rac-PZQ na região entre 3300–3700 cm^{-1} , além de claras diferenças na região “*fingerprint*”, ou abaixo de 1500 cm^{-1} (LIU *et al.*, 2004), atribuíveis ao diferente empacotamento das moléculas nas estruturas cristalinas. A banda que aparece em torno de 3400 cm^{-1} é relativa ao estiramento de O-H, podendo ser atribuída à presença de moléculas de água (CHAUD *et al.*, 2013).

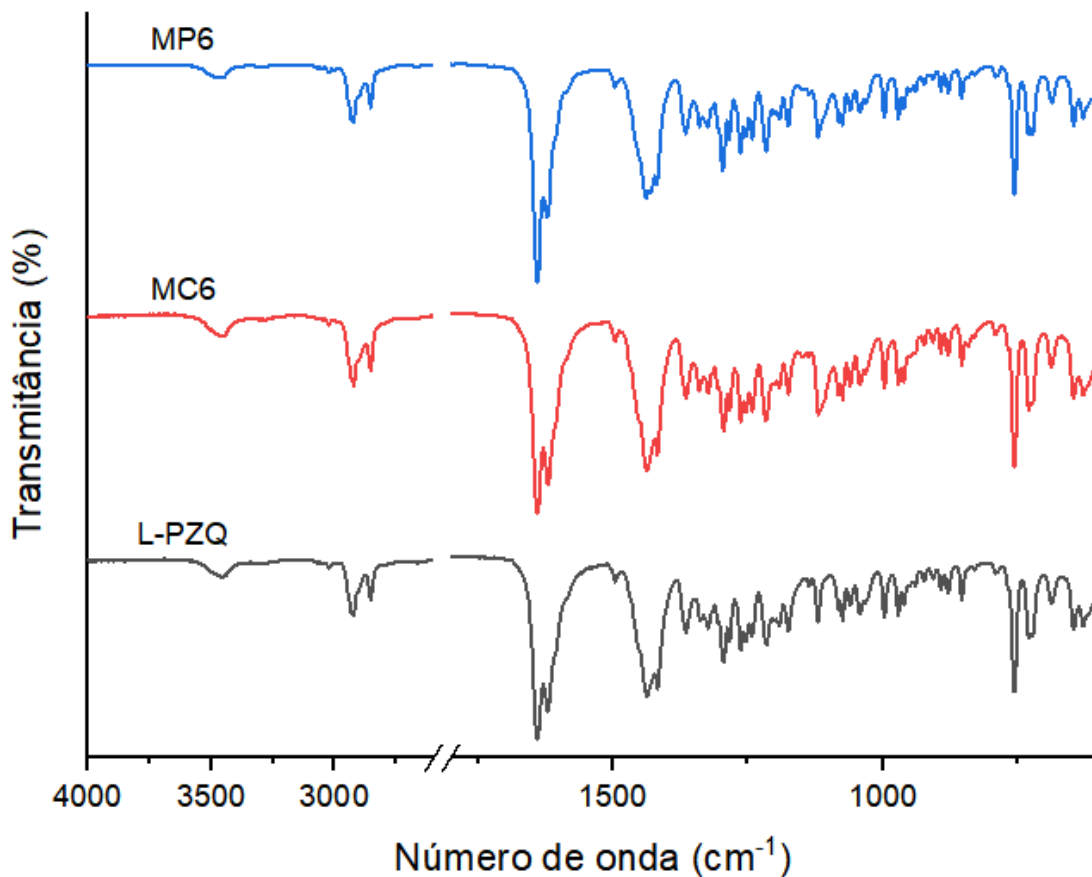


Figura 44. Comparação entre os espectros de absorção das amostras com L-PZQ e da matéria-prima.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 28, mais uma vez a falta de deslocamentos das bandas sugere a não ocorrência de interação entre o L-PZQ e os estabilizantes.

Tabela 28. Comparação dos números de onda (cm⁻¹) do espectro de infravermelho do L-PZQ matéria-prima e das amostras MC6 e MP6.

Grupamento	L-PZQ	MC6	MP6
-OH	3455	3457	3461
-CH, -CH ₂	2923	2922	2922
	2854	2854	2853
-C=O	1640	1640	1640
	1621	1620	1622

6.4.4 Determinação de distribuição de tamanho de partícula por difração de *laser*

A caracterização da distribuição de tamanhos de partícula foi também realizada para os pós depois da redispersão em meio aquoso saturado. A Tabela 29 e Figura 45 apresentam os valores obtidos para o rac-PZQ e o alto valor de d90 indica a presença de aglomerados na matéria-prima, que não se dispersaram mesmo em contato com o meio saturado contendo surfactante, durante o tempo avaliado.

Tabela 29. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada e índices de polidispersão (span) do rac-PZQ.

Amostra	Tamanho de partícula (μm)			Span
	d10 (média \pm DP)	d50 (média \pm DP)	d90 (média \pm DP)	
rac-PZQ	4,19 \pm 0,76	18,57 \pm 2,99	1903,33 \pm 202,32	105,17 \pm 25,70

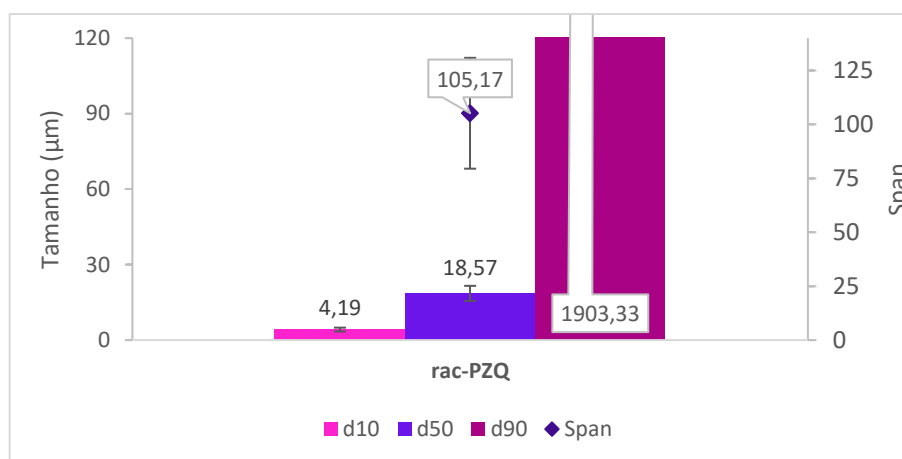


Figura 45. Representação gráfica dos diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada e índice de polidispersão (span) do rac-PZQ.

As amostras MCs processadas também foram avaliadas em relação ao tamanho de partícula após a secagem, conforme mostram a Tabela 30 e a Figura 46. Representação gráfica dos diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada das amostras em pó MC1, MC2 e MC3 e os respectivos índices de polidispersão (span). Figura 46. Em comparação às amostras MCs enquanto suspensões (que foram analisadas ao final da moagem coloidal), os tamanhos obtidos para os respectivos pós não apresentaram grande variação nos valores de d10, d50, d90 e span. No entanto, uma exceção foi o valor de d90 da amostra MC1 que se mostrou inclusive menor do que para a amostra em suspensão,

possivelmente por uma falta de cuidado durante a amostragem do pó, que não foi representativa e forneceu uma medida tendenciosa (MALVERN, 1997). Além disso, apesar de o d10 da amostra MC3 não se apresentar mais na faixa nanométrica, continua menor quando em comparação ao mesmo diâmetro de corte das amostras MC1 e MC2.

Tabela 30. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada das amostras em pó MC1, MC2 e MC3 e os respectivos índices de polidispersão (span).

Amostra	Tamanho de partícula (μm)			Span (média \pm DP)
	d10 (média \pm DP)	d50 (média \pm DP)	d90 (média \pm DP)	
MC1	4,55 \pm 0,27	8,23 \pm 0,64	16,17 \pm 1,42	1,41 \pm 0,04
MC2	3,45 \pm 0,31	9,39 \pm 0,82	30,80 \pm 6,01	2,89 \pm 0,48
MC3	1,82 \pm 0,08	5,76 \pm 0,19	20,57 \pm 2,12	3,26 \pm 0,32

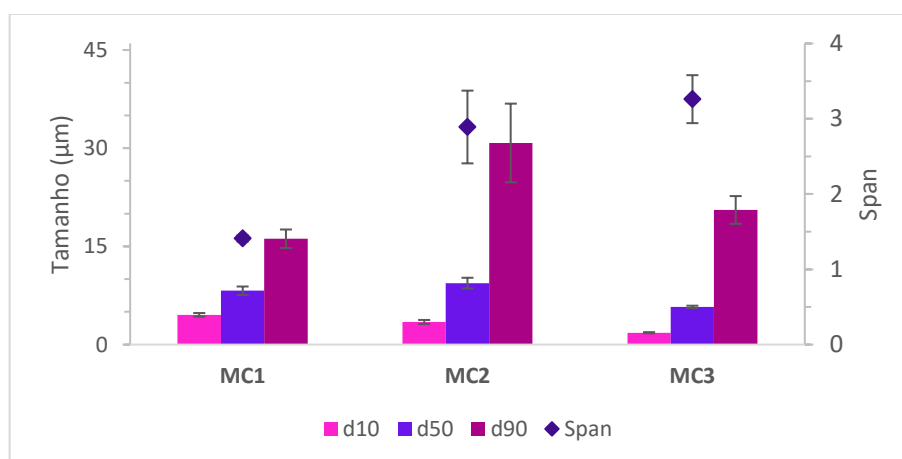


Figura 46. Representação gráfica dos diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada das amostras em pó MC1, MC2 e MC3 e os respectivos índices de polidispersão (span).

De maneira equivalente, as amostras MPs processadas também foram avaliadas após a secagem, conforme mostram a Tabela 31 e a Figura 47. Em comparação às amostras MPs enquanto suspensões ao final da moagem no moinho de pérolas, os valores obtidos para os respectivos pós apresentaram grande variação para d10, d50, d90 e span, sendo que nenhum dos que estavam na faixa nanométrica se mantiveram na mesma. Para a amostra MP2, os menores valores de d50 e d90 encontrados para o pó sugerem um possível erro na leitura da suspensão, possivelmente causado pela presença de bolhas na amostra. No geral, as amostras MP1, MP2 e MP3 secas apresentam valores de diâmetros de corte parecidos entre si,

o que indica uma limitação do processo de secagem no tamanho de partícula do pó obtido.

Tabela 31. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada das amostras em pó MP1, MP2 e MP3 e os respectivos índices de polidispersão (span).

Amostra	Tamanho de partícula (μm)			Span
	d10 (média \pm DP)	d50 (média \pm DP)	d90 (média \pm DP)	
MP1	3,46 \pm 0,29	7,77 \pm 0,54	16,07 \pm 0,74	1,62 \pm 0,06
MP2	3,14 \pm 0,17	7,93 \pm 0,22	17,23 \pm 0,86	1,78 \pm 0,15
MP3	2,71 \pm 0,22	6,96 \pm 0,32	17,83 \pm 0,42	2,18 \pm 0,17

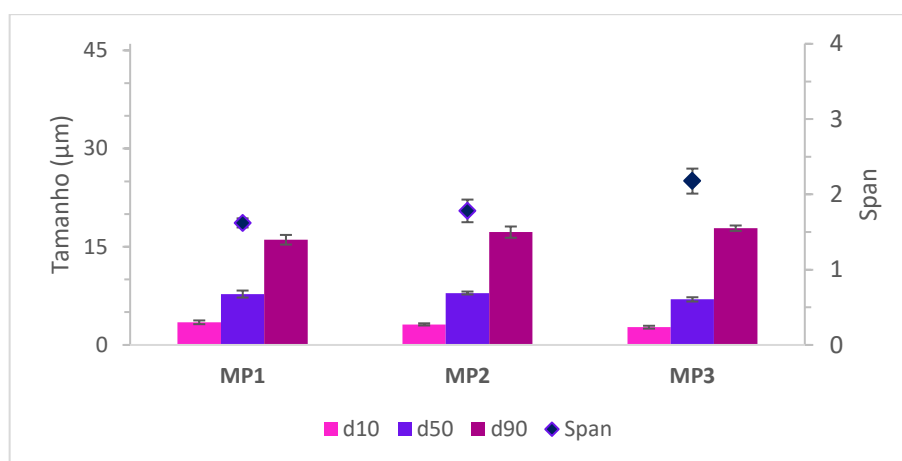


Figura 47. Representação gráfica dos diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada das amostras em pó MP1, MP2 e MP3 e os respectivos índices de polidispersão (span).

As amostras MCs otimizadas também foram avaliadas, conforme mostram a Tabela 32 e a Figura 48. Em comparação às amostras MCs enquanto suspensões, os respectivos pós apresentaram certa variação, mostrando maiores valores de d10, d50, d90 e span. Apesar disso, tal resultado está coerente com o tamanho medido nas suspensões, uma vez que são próximos os valores entre MC4 e MC5, sendo que a última apresentou valor de d90 um pouco menor tanto em suspensão quanto no pó depois de seco. Além disso, em comparação com as respectivas amostras iniciais (MC1 e MC2) em pó, as otimizadas MC4 e MC5 em pó apresentaram pouca variação nos valores de d10, d50, d90 e span, fato que era esperado uma vez que possuem a mesma composição entre si e foram submetidas ao mesmo processamento.

Tabela 32. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada das amostras em pó otimizadas MC4 e MC5 e os respectivos índices de polidispersão (span).

Amostra	Tamanho de partícula (μm)			
	d10 (média \pm DP)	d50 (média \pm DP)	d90 (média \pm DP)	Span (média \pm DP)
MC4	3,85 \pm 0,29	10,51 \pm 0,64	42,17 \pm 3,58	3,64 \pm 0,24
MC5	4,98 \pm 0,28	11,77 \pm 0,15	32,00 \pm 6,02	2,30 \pm 0,54

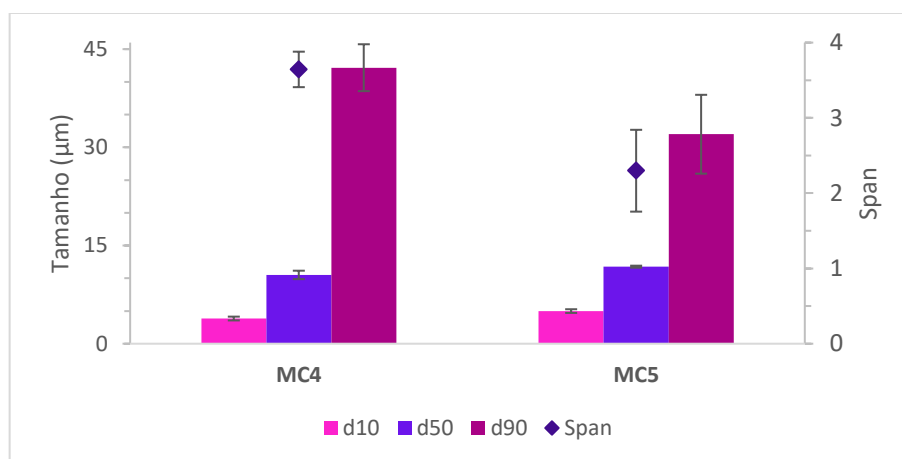


Figura 48. Representação gráfica dos diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada das amostras em pó otimizadas MC4 e MC5 e os respectivos índices de polidispersão (span).

Da mesma forma, as amostras MPs otimizadas foram avaliadas após a secagem, conforme mostram a Tabela 33 e a Figura 49. Em comparação às amostras MPs enquanto suspensões, pode-se notar expressiva variação nos valores obtidos para os respectivos pós, sendo que os valores de d10 e d50 não se mantiveram na faixa nanométrica. Apesar disso, os resultados de tamanhos estão próximos entre MP4 e MP5, tanto na suspensão quanto no pó seco. Além disso, em comparação às respectivas amostras iniciais (MP1 e MP2) em pó, as otimizadas MP4 e MP5 em pó apresentaram pouca variação nos valores de d10 e d50. No entanto, o d90 e span apresentaram valores um pouco mais altos apesar de as amostras otimizadas terem sido processadas até um tempo ótimo para obtenção de menores tamanhos de partícula.

Tabela 33. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada das amostras em pó otimizadas MP4 e MP5 e os respectivos índices de polidispersão (span).

Amostra	Tamanho de partícula (μm)			Span
	d10 (média \pm DP)	d50 (média \pm DP)	d90 (média \pm DP)	
MP4	2,57 \pm 0,05	6,83 \pm 0,17	23,83 \pm 3,23	3,11 \pm 0,40
MP5	2,99 \pm 0,18	8,76 \pm 0,23	24,20 \pm 0,75	2,42 \pm 0,10

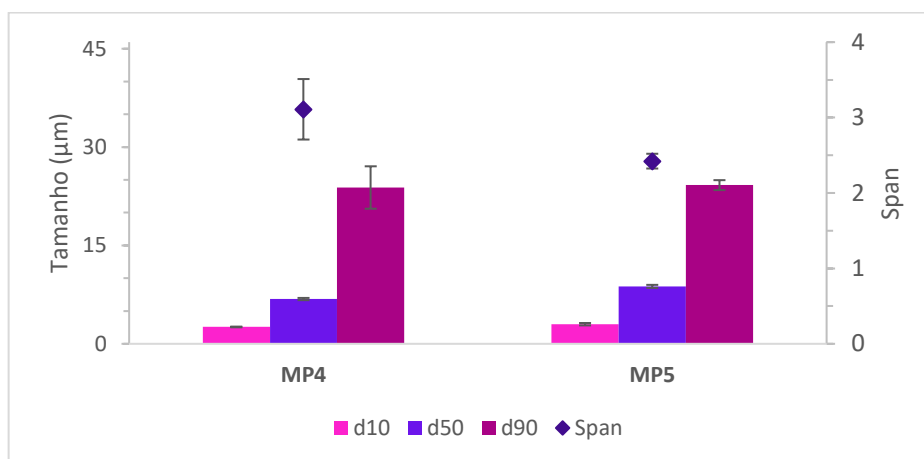


Figura 49. Representação gráfica dos diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada das amostras em pó otimizadas MP4 e MP5 e os respectivos índices de polidispersão (span).

De uma maneira geral, os tamanhos de partícula das amostras MCs depois de secas são próximos entre si, com diâmetros de corte d50 em torno de 9 μm . Assim também, as amostras MPs depois de secas apresentaram tamanhos semelhantes e com valores de d50 em torno de 7 μm , o que reforça a limitação do processo de secagem na obtenção de tamanhos de partícula de pó na escala nanométrica.

Vale comentar que, apesar de diferentes parâmetros do processo de secagem (como concentração da suspensão de alimentação, tipo de atomizador, diâmetro inicial de gotícula, temperatura de processo e fluxo de gás) influenciarem diretamente no tamanho de partícula formado (VEHRING, 2008), existe uma limitação do próprio equipamento utilizado, que forma partículas de no mínimo 2 μm (BUTCHI, 2019). Dessa maneira, apesar de uma avaliação mais detalhada permitir a determinação de quais parâmetros de um dado processo possuem maior influência no tamanho de partícula formado, é importante ressaltar que nesse caso, embora o tamanho de saída do pó tenha sido maior do que o da suspensão inicial, o desempenho *in vitro* de ambos

os grupos de amostras apresentou melhora significativa em relação à avaliação do IFA puro.

6.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As imagens do PZQ matéria-prima obtidas pelo ensaio de MEV estão apresentadas na Figura 50.

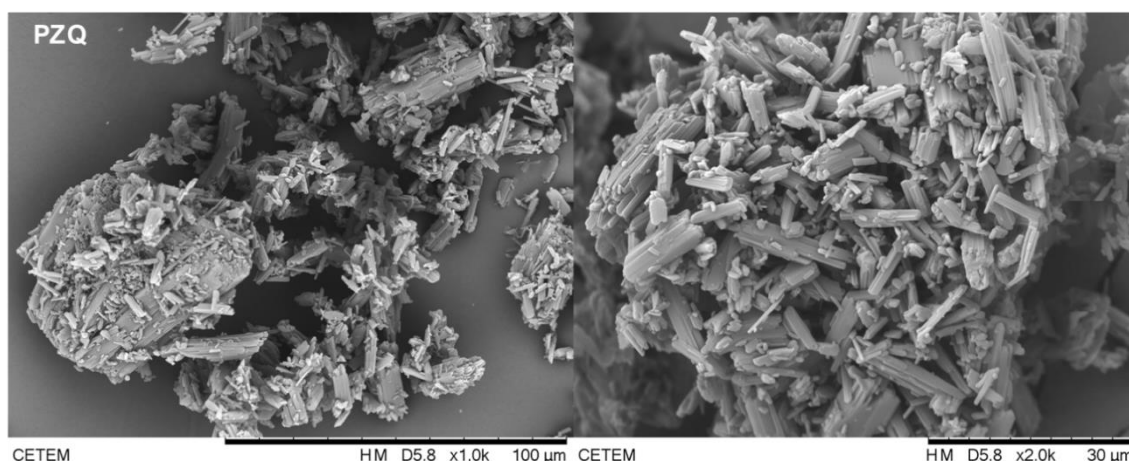


Figura 50. Micrografias da matéria-prima do PZQ com magnitude de aproximação de 1000 (esquerda) e 2000 (direita) vezes.

Os sistemas preparados por moagem coloidal e de pérolas estão apresentados na Figura 51. Para as primeiras, as partículas mostram-se como aglomerados de formato irregular. Além disso, pode ser notada uma tendência de formato mais arredondado para a amostra MC2.

Para os sistemas preparados por moagem de pérolas, pode-se observar que as partículas apresentam formato esférico com a presença de rugosidades na superfície, que são evidenciadas na amostra MP1; a amostra MP3 apresenta partículas de diâmetros um pouco menores, fato que corrobora com os dados adquiridos na análise de tamanho de partícula de pó. No entanto, a heterogeneidade do tamanho é fator comum para as três amostras. As imagens de MEV dos excipientes encontram-se no APÊNDICE E.

Após a otimização, as amostras foram também caracterizadas por tal técnica, conforme ilustrado na Figura 52. Para as amostras MC4 e MC5 preparadas no moinho coloidal, as partículas mostram-se como aglomerados de formato irregular semelhantes às amostras iniciais MC1 e MC2.

Já para as amostras MP4 e MP5 preparadas por moagem de pérolas, pode-se observar que as partículas apresentam formato esférico com a presença de rugosidades na superfície, que são evidenciadas na amostra MP4 assim como foi notado na amostra inicial MP1. Em relação às amostras iniciais, a MP4 e MP5 apresentam algumas partículas de diâmetros menores, porém a heterogeneidade ainda se mostra presente, fato este condizente com os dados adquiridos na análise de tamanho de partícula de pó.

Shah e colaboradores (2016) prepararam micro e nanocristais de griseofulvina por moagem via úmida com secagem em *spray-dryer* e os NCs apresentaram formato mais esférico em comparação aos MCs, de maneira semelhante com os dados aqui mostrados, embora o princípio da técnica aplicada para obtenção dos MCs tenha sido diferente. Além disso, Toziopoulou e colaboradores (2017) avaliaram a solidificação de NCs de aprepitanto obtidos por moagem, pelas técnicas de liofilização e *spray-dryer*, sendo que a última se mostrou mais vantajosa pela formação de aglomerados micrométricos contendo NCs, que em razão do formato esférico favorecem a processabilidade da amostra secada por tal via.

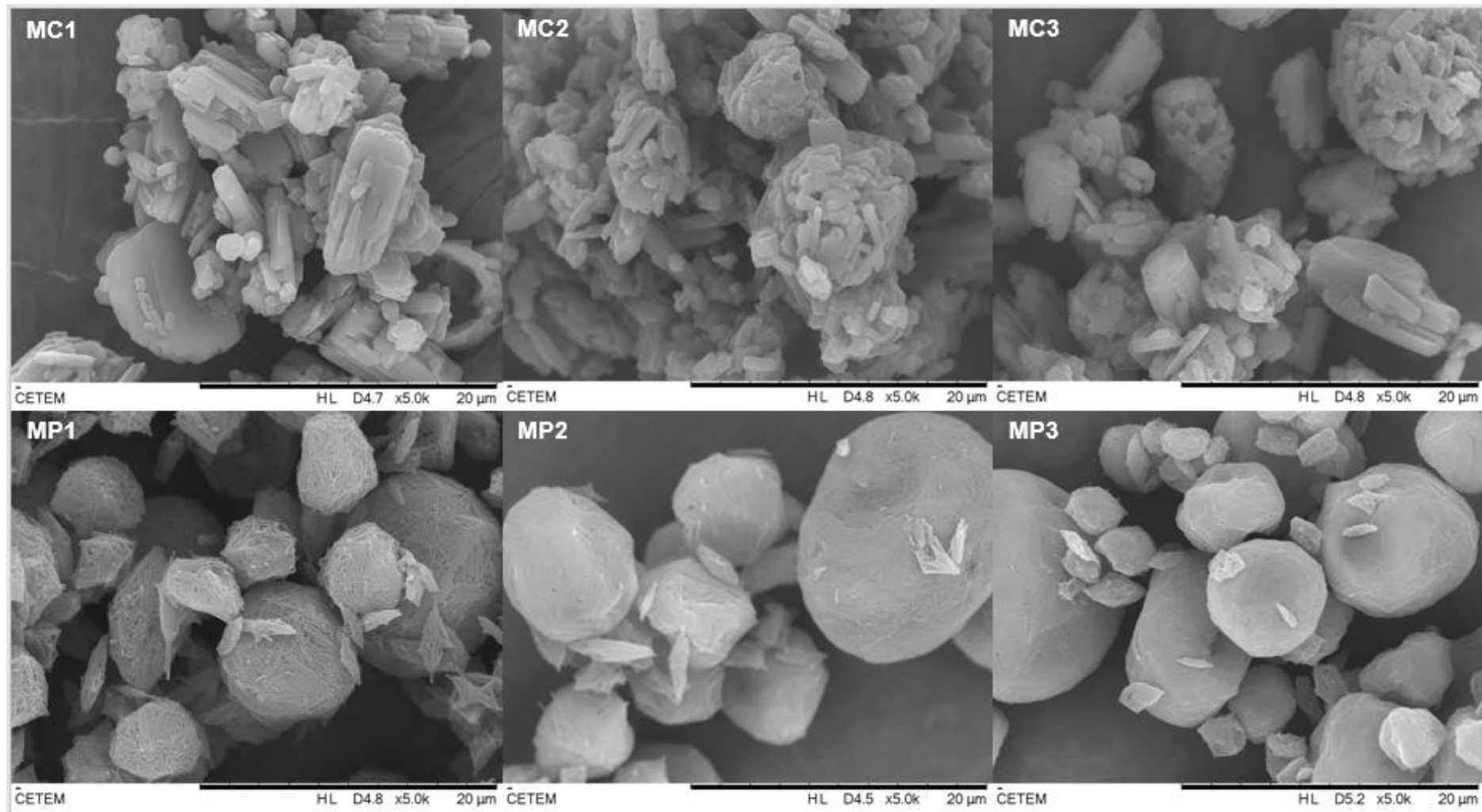


Figura 51. Micrografias das amostras MC1, MC2, MC3, MP1, MP2 e MP3 com magnitude de aproximação de 5000 vezes.

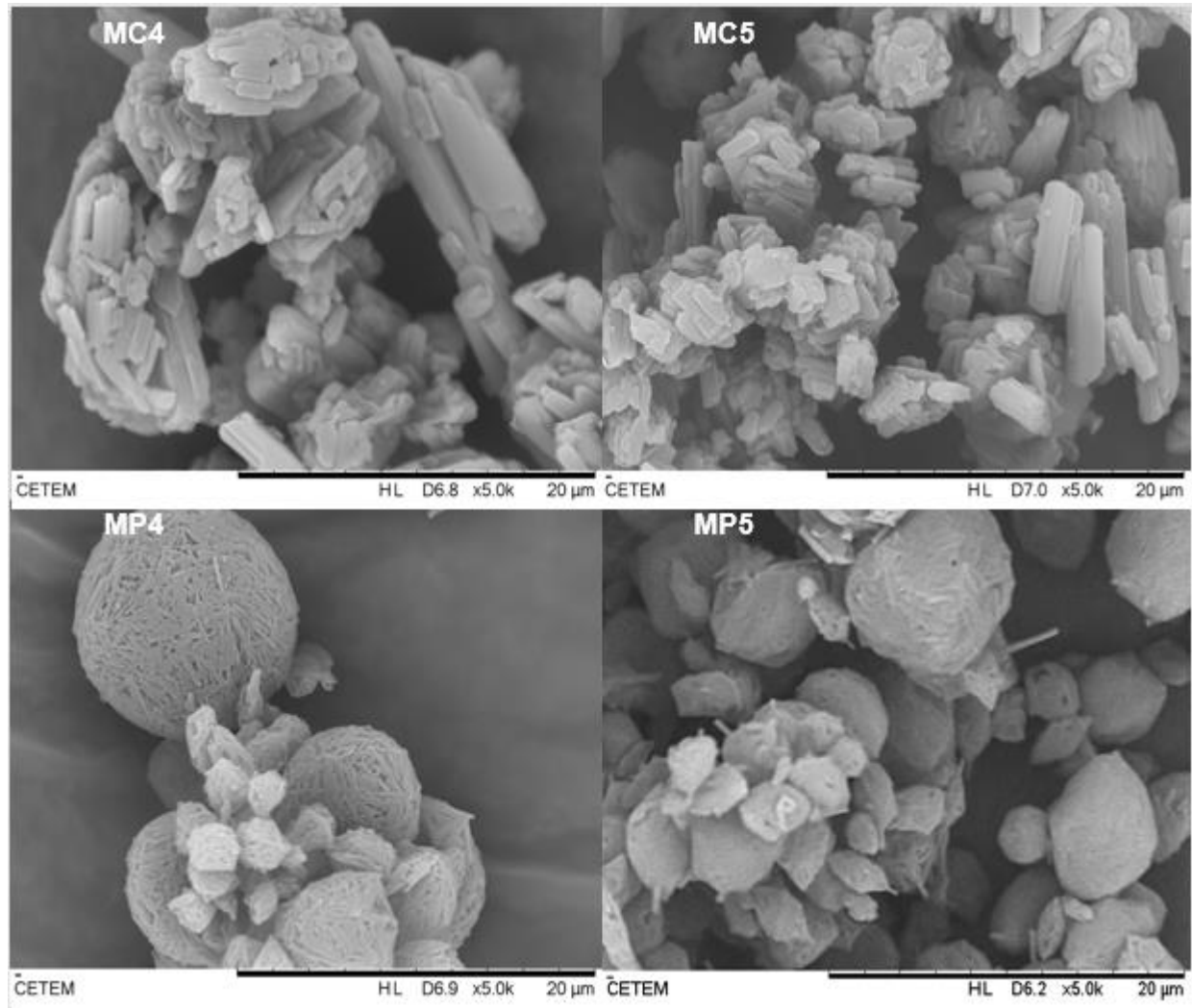


Figura 52. Micrografias das amostras MC4, MC5, MP4 e MP5 com magnitude de aproximação de 5000 vezes. As imagens do PZQ matéria-prima obtidas pelo ensaio de MEV estão apresentadas na Figura 50.

Já as imagens do L-PZQ antes do processamento obtidas pelo ensaio de MEV estão apresentadas na Figura 53 e, aparentemente, existe menor aglomeração entre as partículas, que se mostram menos alongadas em comparação ao formato apresentado pelo rac-PZQ.

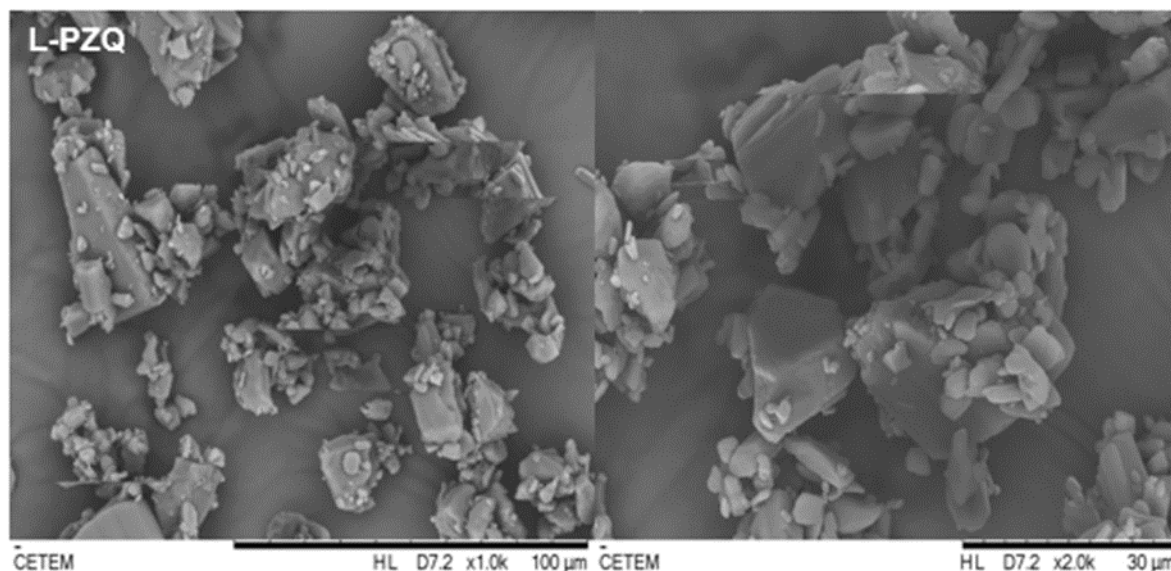


Figura 53. Micrografias da matéria-prima do L-PZQ com magnitude de aproximação de 1000 (esquerda) e 2000 (direita) vezes.

As imagens das amostras com L-PZQ estão apresentadas na Figura 54. A amostra MC6 apresenta partículas aglomeradas, com formato diferente e com tamanho maior em relação à amostra MC5. Já a amostra MP6, apesar de apresentar partículas de formato esférico (assim como a MP5), exhibe a presença de aglomerados de partículas com tamanhos maiores.

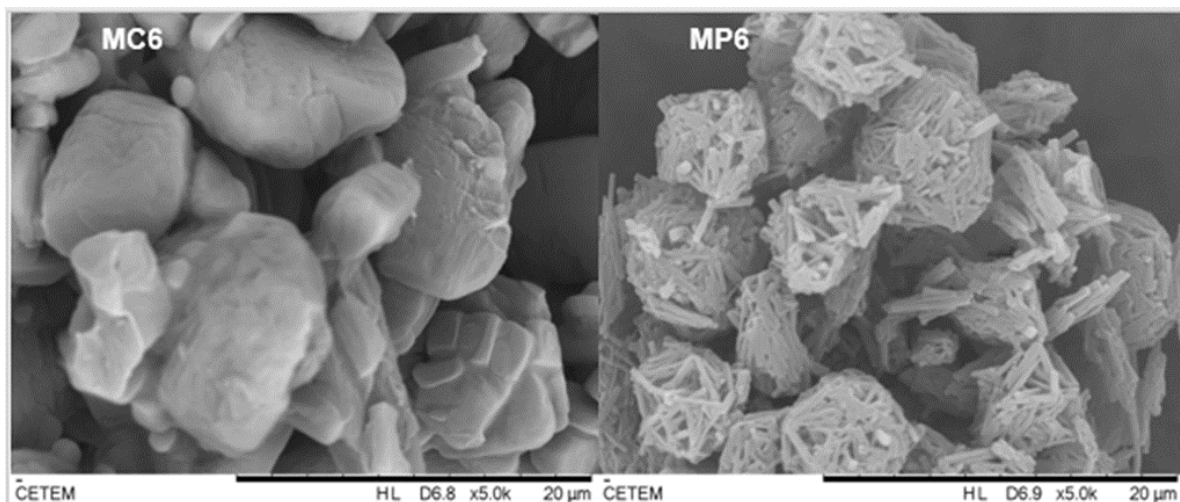


Figura 54. Micrografias das amostras MC6 e MP6 com magnitude de aproximação de 5000 vezes.

A utilização de técnicas adequadas para caracterização de micro e nanocristais é essencial para o entendimento de tais sistemas. Enquanto suspensões, as amostras foram caracterizadas em relação ao tamanho de partícula e estabilidade física, sendo possível observar a existência de uma relação inversa entre tais parâmetros. Tal informação é importante tendo em vista o interesse de que as suspensões se mantenham estáveis após o término da moagem, até o momento da etapa seguinte de secagem. As amostras em pó foram então caracterizadas por diferentes técnicas. Apesar da possibilidade de ocorrer transição de fases ou até mesmo uma desorganização da estrutura do fármaco durante o processamento, a análise de DRXP demonstrou que a cristalinidade foi mantida nas amostras. De maneira complementar, as análises de TGA e DSC corroboram com tal informação, uma vez que não houve alteração significativa nos valores de temperatura determinados em relação ao IFA puro e que as sutis variações relatadas podem estar relacionadas à presença dos estabilizantes na formulação. Apesar de tal presença, os resultados da análise de IV sugerem a não ocorrência de interação entre o fármaco e os estabilizantes utilizados. Por fim, as imagens obtidas por MEV forneceram detalhes sobre a morfologia e sugerem uma possível diferença de processabilidade entre as amostras preparadas pelas diferentes técnicas de moagem.

6.4.6 Solubilidade

A análise de concentração de saturação do IFA rac-PZQ foi conduzida em água, HCl 0,1 N LSS 0,1%, HCl 0,1 N, tampão fosfato pH 6,8 e tampão acetato pH 4,5, conforme apresentado na Tabela 34, para posterior escolha de um meio adequado para dissolução. É possível notar que a concentração de saturação do rac-PZQ em meio HCl 0,1 N com 0,1% de LSS é consideravelmente aumentada quando em comparação com água pura.

Tabela 34. Solubilidade do rac-PZQ em diferentes meios a 37 °C.

Meio	C (µg/mL) (média ± DP (DPR%))
H ₂ O	267,33 ± 19,49 (7,29)
HCl 0,1 N LSS 0,1%	760,49 ± 25,39 (3,34)
HCl 0,1 N	292,78 ± 7,79 (2,66)
Tampão pH 4,5	281,82 ± 8,13 (2,89)
Tampão pH 6,8	249,09 ± 10,71 (4,30)

Posteriormente, a avaliação foi conduzida para o IFA L-PZQ, conforme apresentado na Tabela 35. Como esperado, a concentração de saturação do isômero em água foi maior do que a do racemato. De maneira equivalente, o valor da concentração de saturação em meio HCl 0,1 N com 0,1% de LSS foi consideravelmente maior do que em água pura.

Tabela 35. Solubilidade do L-PZQ em diferentes meios à 37 °C.

Meio	C (µg/mL) (média ± DP (DPR%))
H ₂ O	372,15 ± 8,19 (2,20)
HCl 0,1 N LSS 0,1 %	968,33 ± 17,83 (1,84)
HCl 0,1 N	413,60 ± 6,10 (1,47)
Tampão pH 4,5	396,24 ± 8,12 (2,05)
Tampão pH 6,8	340,17 ± 13,35 (3,92)

Apesar do meio mencionado ser semelhante ao indicado para utilização pela monografia da Farmacopeia Americana (USP, 2018), variando apenas por apresentar menor quantidade de LSS, de acordo com os resultados obtidos a aplicação desse meio foi descartada, uma vez que possivelmente não seria discriminativo para o estudo das amostras processadas. Assim, o meio HCl 0,1 N foi escolhido para a condução do teste de desempenho, com resultados apresentados a seguir.

6.4.7 Dissolução

Diversos fatores podem influenciar diretamente a dissolução, tais como a natureza do meio de dissolução, a solubilidade do fármaco no mesmo, assim como a quantidade total de fármaco aplicada no ensaio. Tais fatores devem ser considerados e uma vez que o meio não deve estar saturado com o IFA para que a dissolução não seja afetada, é recomendada a manutenção da condição *sink* durante o ensaio (SHARGEL; YU, 2016). De acordo com a USP (2015), a condição *sink* se refere à utilização de volume de meio em um excesso, no mínimo 3 vezes maior do que o necessário para a formação de uma solução saturada com o fármaco, de forma a permitir com que o fármaco se dissolva continuamente. Dessa maneira, de acordo com o dado de solubilidade do rac-PZQ no meio HCl 0,1 N e considerando o volume de 900 mL da cuba de dissolução, a quantidade de amostra equivalente a 75 mg de PZQ foi padronizada para avaliação no ensaio de dissolução.

Foi conduzida a dissolução das amostras em pó MC1, MC2 e MC3. Na Figura 55, observa-se que apesar de todas as amostras apresentarem incremento no perfil de dissolução em relação ao rac-PZQ, houve maior incremento pela amostra MC2. Os perfis das amostras foram comparados até 60 minutos (tempo no qual o platô foi atingido para a maioria das amostras) através de ANOVA de fator duplo com repetição, com aplicação de Teste de Tukey como teste *post hoc*. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Todas as tabelas de comparação estatística encontram-se no APÊNDICE F. De acordo com os resultados, a influência da formulação (valor- $P=0,0036$) indica que a diferença entre os perfis de dissolução das amostras pode ser considerada estatisticamente significativa. Empregando-se o teste de Tukey, pode-se verificar que a diferença entre os perfis foi significativa na maioria dos pontos analisados.

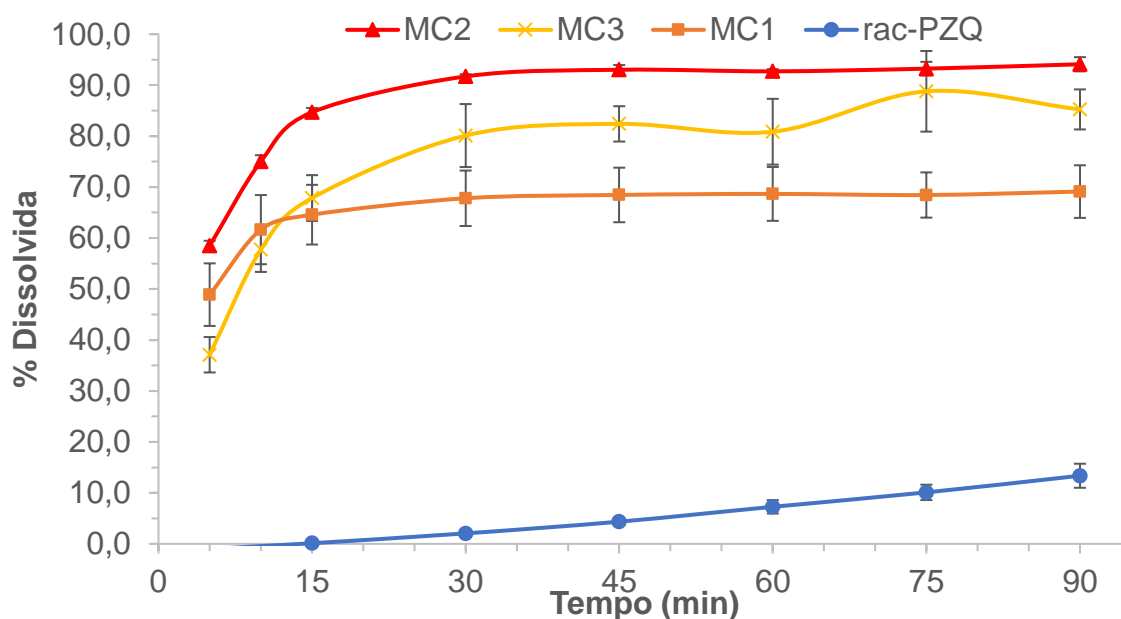


Figura 55. Comparação dos perfis de dissolução das amostras iniciais em pó MC1, MC2 e MC3 com o da matéria-prima PZQ.

A Tabela 36 apresenta os valores do percentual de PZQ dissolvido em 60 minutos e da eficiência de dissolução ao final do tempo total avaliado, tanto da matéria-prima rac-PZQ como das amostras. As amostras tiveram os percentuais de PZQ dissolvido no tempo de 60 minutos (platô atingido para a maioria das amostras) comparados entre si através de ANOVA de fator único, com valores de $p < 0,05$ considerados estatisticamente significativos e Teste de Tukey aplicado como teste *post hoc*. Da mesma forma, os valores de eficiência de dissolução em 90 minutos (tempo final do teste) foram avaliados. As tabelas de comparação estatística encontram-se no APÊNDICE F. Apesar de a porcentagem dissolvida não ser significativamente diferente entre MC2 e MC3, a eficiência de dissolução foi maior para a amostra MC2.

Tabela 36. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras MC1, MC2 e MC3 com a matéria-prima PZQ.

Amostra	% dissolvida 60 min (média ± DP (DPR%))	Eficiência de dissolução 90 min (%) (média ± DP (DPR%))
rac-PZQ	7,27 ± 1,31 (18,08)	5,01 ± 0,86 (17,17)
MC1	68,66 ± 5,28 (7,69)	64,64 ± 5,21 (8,06)
MC2	92,71 ± 0,43 (0,46)	86,45 ± 0,38 (0,44)
MC3	80,86 ± 6,46 (7,99)	75,27 ± 5,05 (6,71)

Os perfis das amostras MC1, MC2 e MC3 foram também comparados pelo fator de similaridade (f_2), até o tempo de 15 minutos, conforme Tabela 37. Os perfis são considerados semelhantes quando o fator f_2 estiver entre 50 e 100 (BRASIL, 2010). Assim, tanto as amostras MC2 e MC1 quanto as amostras MC2 e MC3 não apresentaram semelhança entre si, o que corresponde aos resultados da comparação da porcentagem de PZQ dissolvida em 15 minutos por ANOVA de fator duplo para tais pares de amostras.

Tabela 37. Comparação pelo fator f_2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras MC1, MC2 e MC3.

Comparação até 15 minutos	f_2	Similar?
MC2 vs. MC1	41	Não
MC3 vs. MC1	56	Sim
MC3 vs. MC2	36	Não

Além disso, foi conduzida a dissolução das amostras em pó MP1, MP2 e MP3. De maneira equivalente, na Figura 56 é possível observar que apesar de todas as amostras apresentarem incremento no perfil de dissolução das mesmas em relação ao PZQ, a amostra MP2 alcança porcentagem dissolvida máxima em menor tempo. Os perfis de dissolução foram comparados e apesar dos valores obtidos entre as amostras se tornarem mais próximos após 30 minutos de dissolução, a diferença entre os perfis é significativa (valor- $P=0,0002$) na maioria dos pontos analisados.

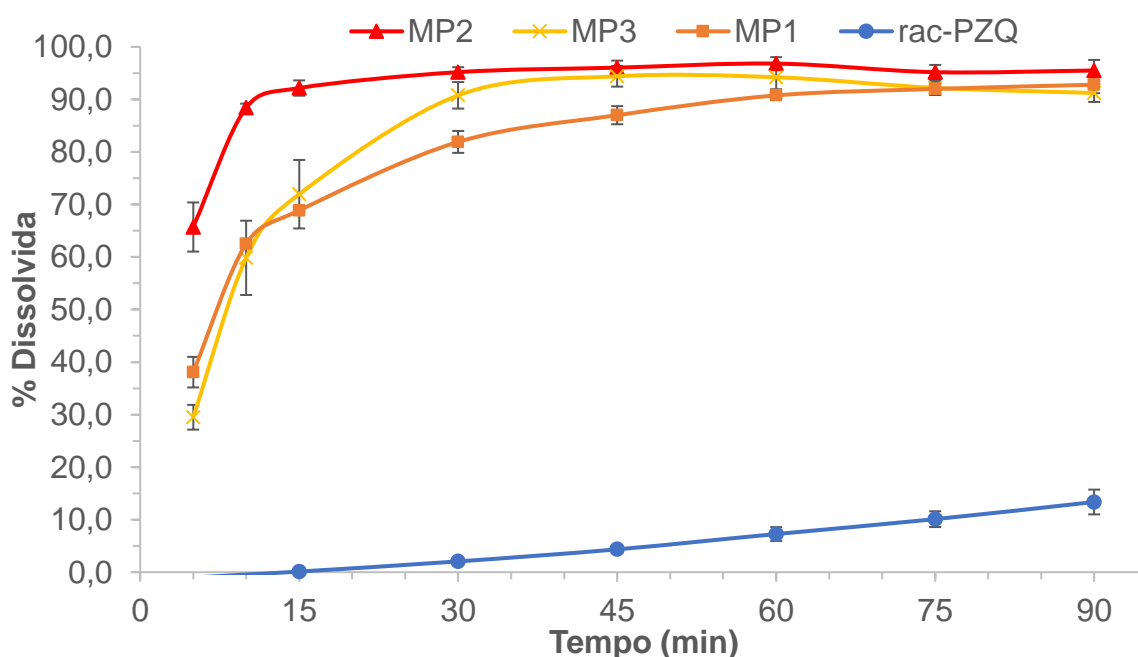


Figura 56. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó MP1, MP2 e MP3 com o da matéria-prima PZQ.

A Tabela 38 compara o percentual de PZQ dissolvido em 60 minutos e a eficiência de dissolução ao final do tempo total avaliado, tanto da matéria-prima rac-PZQ como das amostras. As amostras tiveram os percentuais de PZQ dissolvido em 60 minutos comparados entre si através de ANOVA de fator único, com aplicação de Teste de Tukey como teste *post hoc*. Da mesma forma, os valores de eficiência de dissolução em 90 minutos foram avaliados. Os valores de porcentagem dissolvida não variaram muito entre as amostras, porém, a eficiência de dissolução foi maior para a amostra MP2, mostrando-se significativamente diferente em relação à MP1 e MP3.

Tabela 38. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras em pó MP1, MP2 e MP3 com a matéria-prima PZQ.

Amostra	% dissolvida 60 min (média ± DP (DPR%))	Eficiência de dissolução 90 min (%) (média ± DP (DPR%))
rac-PZQ	7,27 ± 1,31 (18,08)	5,01 ± 0,86 (17,17)
MP1	90,77 ± 0,52 (0,57)	79,59 ± 0,92 (1,16)
MP2	96,82 ± 1,23 (1,27)	90,64 ± 1,08 (1,20)
MP3	94,22 ± 2,28 (2,42)	82,50 ± 2,72 (3,30)

Os perfis das amostras MP1, MP2 e MP3 foram também comparados pelo fator de similaridade (f_2), até o tempo de 15 minutos, conforme Tabela 39. Tanto as amostras MP2 e MP1 quanto as amostras MP3 e MP2 apresentaram diferença entre si, o que corresponde aos resultados da comparação da porcentagem de PZQ dissolvida em 15 minutos por ANOVA de fator duplo para tais pares de amostras.

Tabela 39. Comparação pelo fator f_2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras MP1, MP2 e MP3.

Comparação até 15 minutos	f_2	Similar?
MP2 vs. MP1	30	Não
MP3 vs. MP1	63	Sim
MP3 vs. MP2	27	Não

Foi conduzida a dissolução das amostras em pó MC4 e MC5, para comparação entre a amostra inicial e sua respectiva otimização. Na Figura 57 e na Figura 58, observa-se que o perfil de dissolução das amostras do mesmo grupo mostrou valores próximos. Os perfis das amostras de mesmo grupo (MC1 vs. MC4 e MC2 vs. MC5) foram comparados até 60 minutos através de ANOVA de fator duplo com repetição, com valores de $p < 0,05$ considerados estatisticamente significativos e aplicação de Teste de Sidak como teste *post hoc*. A diferença entre os perfis de dissolução das amostras não pode ser considerada estatisticamente significativa (valor- $P=0,5439$ e $0,3280$, respectivamente). Empregando-se o teste de Sidak, pode-se verificar que a diferença entre os perfis não foi significativa em nenhum dos pontos analisados.

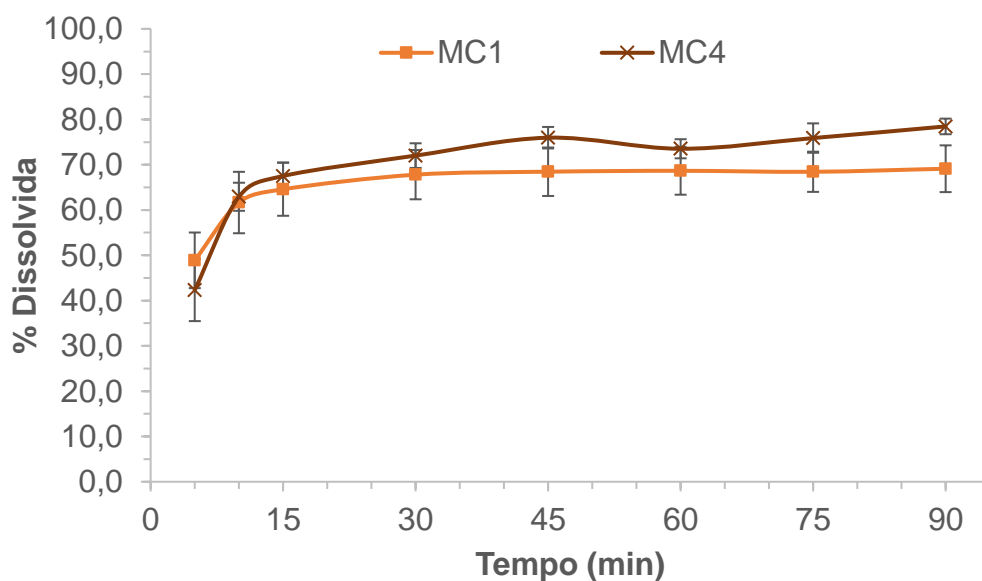


Figura 57. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó inicial vs. otimizada: MC1 e MC4.

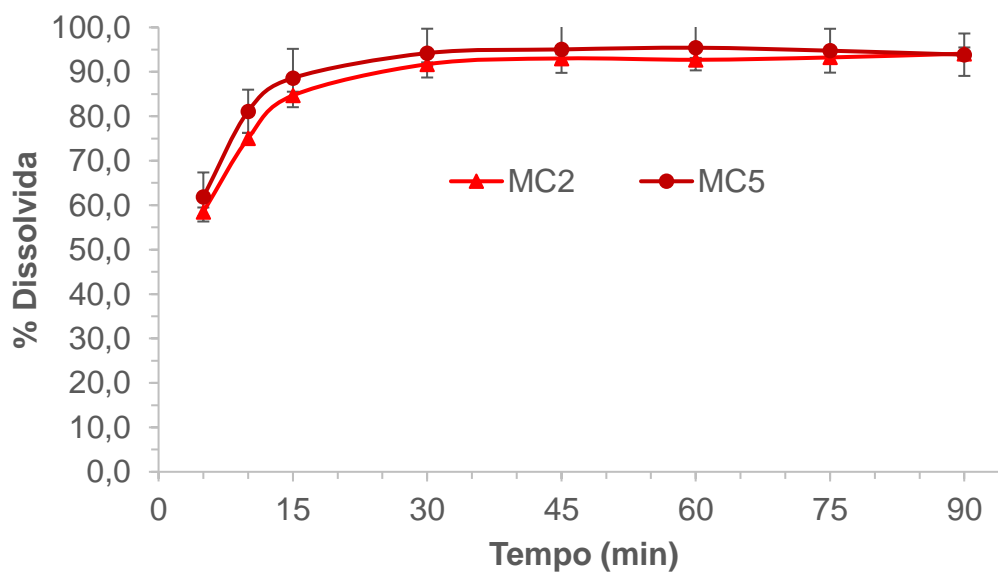


Figura 58. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó inicial vs. otimizada: MC2 e MC5.

A Tabela 40 apresenta os dados do percentual de PZQ dissolvido em 60 minutos e da eficiência de dissolução ao final do tempo total avaliado, para as amostras MCs iniciais e suas respectivas otimizações (MC1 vs. MC4 e MC2 vs. MC5). Os valores foram comparados entre si por Teste t não-pareado, com nível de

confiança de 95%, sendo $p < 0,05$ considerado estatisticamente significativo. A comparação entre pares demonstrou não haver diferença significativa tanto entre os valores do percentual de PZQ dissolvido (valor- $P=0,2126$ e $0,4097$, respectivamente), quanto entre os valores de eficiência de dissolução (valor- $P=0,1887$ e $0,4600$, respectivamente). Tal resultado era esperado uma vez que as amostras de um mesmo grupo possuem a mesma composição e foram submetidas ao mesmo processamento.

Tabela 40. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras em pó MC1 vs. MC4 e MC2 vs. MC5.

Amostra	% dissolvida 60 min (média ± DP (DPR%))	Eficiência de dissolução 90 min (%) (média ± DP (DPR%))
MC1	68,66 ± 5,28 (7,69)	64,64 ± 5,21 (8,06)
MC4	73,52 ± 2,11 (2,87)	69,45 ± 0,78 (1,12)
MC2	92,71 ± 0,43 (0,46)	86,45 ± 0,38 (0,44)
MC5	95,43 ± 5,09 (5,34)	88,85 ± 5,08 (5,72)

Os perfis das amostras MC1 vs. MC4 e MC2 vs. MC5 foram também comparados pelo fator de similaridade (f_2), até o tempo de 15 minutos, conforme Tabela 41. Os pares de amostras apresentaram similaridade entre si, o que corresponde aos resultados da comparação da porcentagem de PZQ dissolvida em 15 minutos por ANOVA de fator duplo para tal grupo de amostras.

Tabela 41. Comparação pelo fator f_2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras MC1 vs. MC4 e MC2 vs. MC5.

Comparação até 15 minutos	f_2	Similar?
MC4 vs. MC1	68	Sim
MC5 vs. MC2	66	Sim

De maneira equivalente, foi conduzida a dissolução das amostras em pó MP4 e MP5, para comparação entre a amostra inicial e sua respectiva otimização (MP1 vs. MP4 e MP2 vs. MP5). Na Figura 59 e Figura 60, observa-se que o perfil de dissolução das amostras do mesmo grupo mostrou padrão semelhante. Os perfis das amostras foram comparados até 60 minutos através de ANOVA de fator duplo com repetição, com valores de $p < 0,05$ considerados estatisticamente significativos e aplicação de Teste de Sidak como teste *post hoc*. A diferença entre os perfis de dissolução das

amostras pode ser considerada estatisticamente significativa entre as amostras MP1 vs. MP4 (valor-P=0,0022), mas não para as amostras MP2 vs. MP5 (valor-P=0,0813). Empregando-se o teste de Sidak, pode-se verificar que a diferença entre os perfis foi significativa na maioria dos pontos analisados para as amostras MP1 e MP4, mas o contrário foi observado para MP2 e MP5.

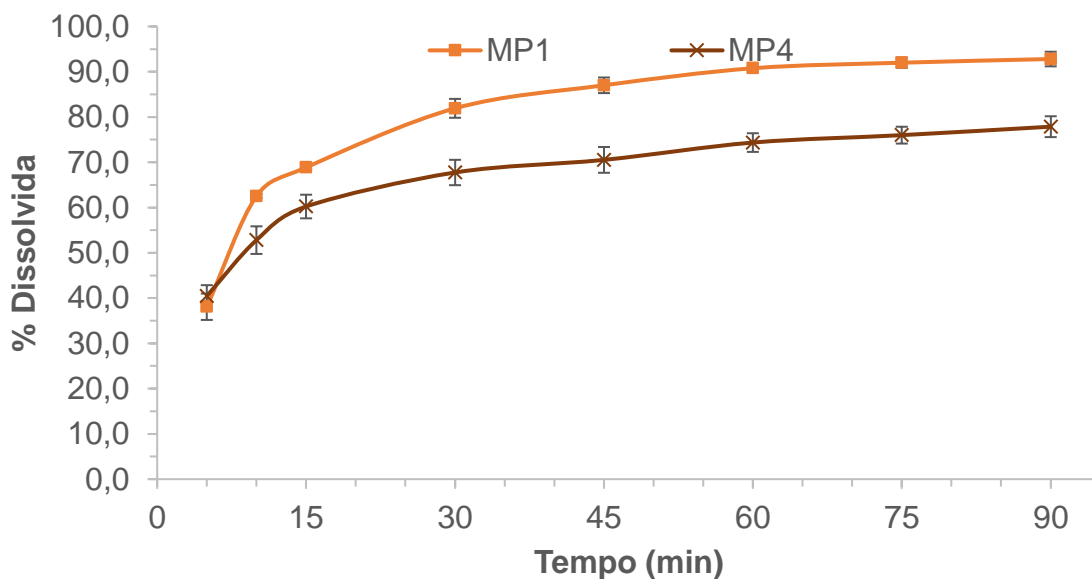


Figura 59. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó inicial vs. otimizada: MP1 e MP4.

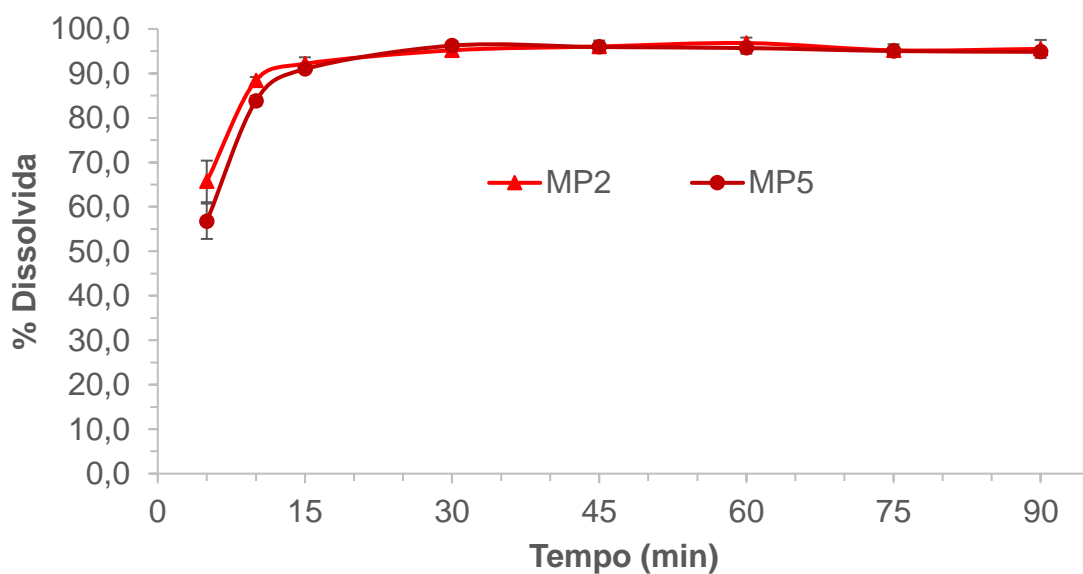


Figura 60. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó inicial vs. otimizada: MP2 e MP5.

A Tabela 42 apresenta os dados do percentual de PZQ dissolvido em 60 minutos e da eficiência de dissolução ao final do tempo total avaliado, para as amostras MPs iniciais e suas respectivas otimizações. Os valores foram comparados entre si por Teste t não-pareado, com nível de confiança de 95%, sendo $p < 0,05$ considerado estatisticamente significativo. Para as amostras MP1 vs. MP4, a diferença foi significativa entre os valores do percentual de PZQ dissolvido e de eficiência de dissolução (valor-P=0,0002 e 0,0007, respectivamente), sendo que a amostra MP4 apresentou valores mais baixos. Já para as amostras MP2 vs. MP5, a diferença não foi significativa entre os valores testados (valor-P=0,3384 e 0,2634, respectivamente).

Tabela 42. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras em pó MP1 vs. MP4 e MP2 vs. MP5.

Amostra	% dissolvida 60 min (média ± DP (DPR%))	Eficiência de dissolução 90 min (%) (média ± DP (DPR%))
MP1	90,77 ± 0,52 (0,57)	79,59 ± 0,92 (1,16)
MP4	74,35 ± 2,06 (2,77)	66,46 ± 2,21 (3,33)
MP2	96,82 ± 1,23 (1,27)	90,64 ± 1,08 (1,20)
MP5	95,71 ± 1,28 (1,34)	89,64 ± 0,77 (0,86)

Os perfis das amostras MP1 vs. MP4 e MP2 vs. MP5 foram também comparados pelo fator de similaridade (f_2), até o tempo de 15 minutos, conforme Tabela 43. Os pares de amostras apresentaram similaridade entre si, o que se apresenta de maneira contrária aos resultados da comparação da porcentagem de PZQ dissolvida em 15 minutos por ANOVA de fator duplo para MP1 vs. MP4, porém, convergente com os resultados para MP2 vs. MP5

Tabela 43. Comparação pelo fator f_2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras MP1 vs. MP4 e MP2 vs. MP5.

Comparação até 15 minutos	f_2	Similar?
MP4 vs. MP1	56	Sim
MP5 vs. MP2	61	Sim

De maneira geral, uma vez que os pares comparados possuem a mesma composição, mas as amostras otimizadas foram processadas no moinho de pérolas

por um tempo ótimo, era esperado que os valores aqui discutidos fossem mais altos para as amostras otimizadas, o que não foi observado. Considerando os resultados de tamanho de partícula de pó para tais amostras, uma possível causa para esse comportamento talvez seja os maiores valores de d_{90} e span observados para a amostra MP4, em comparação com a amostra MP1. No caso do grupo de amostra 2, ainda que o valor de d_{90} tenha sido maior na amostra otimizada (MP5), de acordo com o resultado da dissolução, pode-se inferir que a influência do estabilizante utilizado no incremento da dissolução é maior do que a influência do tamanho de partícula do pó da amostra.

Assim, foi conduzida a comparação da dissolução entre amostras em pó finais, considerando a otimização. Na Figura 61 observa-se que apesar das amostras MC4, MC5 e MC3 apresentarem incremento no perfil de dissolução das mesmas em relação ao PZQ, houve maior incremento pela amostra MC5. Os perfis das amostras foram comparados até 60 minutos através de ANOVA de fator duplo com repetição, com valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos e aplicação de Teste de Tukey como teste *post hoc*. A influência da formulação (valor- $P=0,0021$) indica que a diferença entre os perfis de dissolução das amostras pode ser considerada estatisticamente significativa. Empregando-se o teste de Tukey, pode-se verificar que a diferença entre os perfis foi significativa na maioria dos pontos analisados.

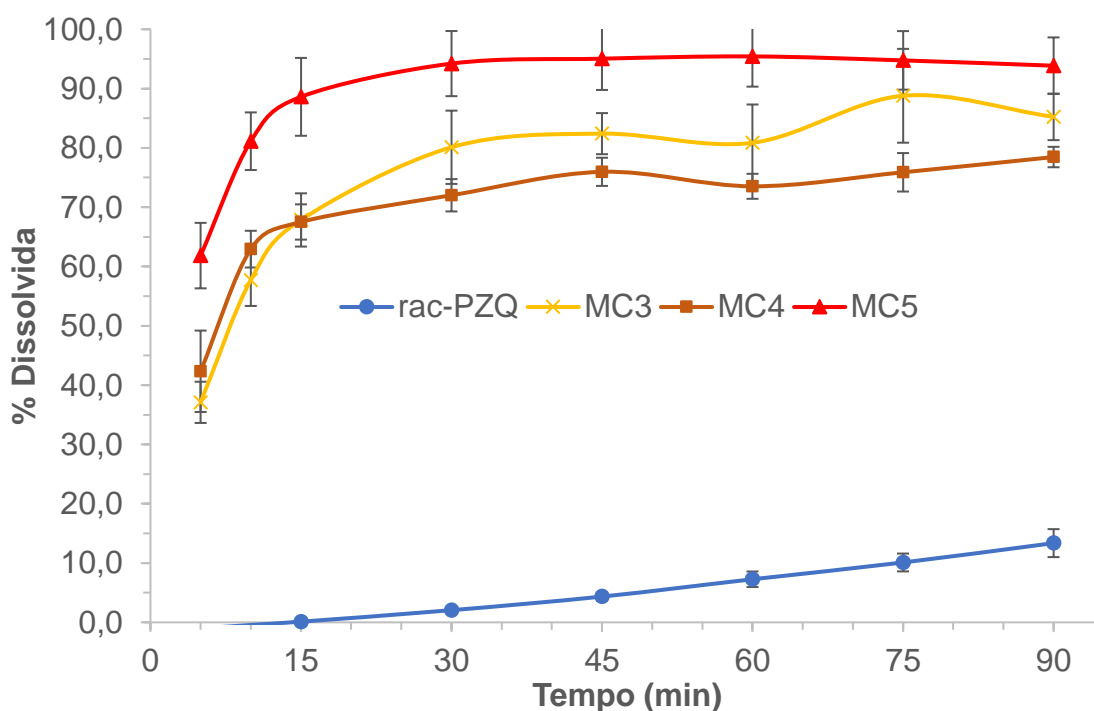


Figura 61. Comparação dos perfis de dissolução das amostras finais em pó MC4, MC5 e MC3 com o da matéria-prima PZQ, após a otimização.

A Tabela 44 apresenta os valores do percentual de PZQ dissolvido em 60 minutos e da eficiência de dissolução ao final do tempo total avaliado, tanto da matéria-prima rac-PZQ como das amostras MC4, MC5 e MC3. As amostras tiveram os percentuais de PZQ dissolvido em 60 minutos comparados entre si através de ANOVA de fator único, com valores de $p < 0,05$ considerados estatisticamente significativos e aplicação de Teste de Tukey como teste *post hoc*. Da mesma forma, os valores de eficiência de dissolução em 90 minutos foram também avaliados. Apesar de a porcentagem dissolvida não ser significativamente diferente entre MC5 e MC3, a eficiência de dissolução foi maior para a amostra MC5.

Tabela 44. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras finais MC4, MC5 e MC3 com a matéria-prima PZQ.

Amostra	% dissolvida em 60 min (média \pm DP (DPR%))	Eficiência de dissolução 90 min (%) (média \pm DP (DPR%))
rac-PZQ	7,27 \pm 1,31 (18,08)	5,01 \pm 0,86 (17,17)
MC4	73,52 \pm 2,11 (2,87)	69,45 \pm 0,78 (1,12)
MC5	95,43 \pm 5,09 (5,34)	88,85 \pm 5,08 (5,72)
MC3	80,86 \pm 6,46 (7,99)	75,27 \pm 5,05 (6,71)

Os perfis das amostras MC4, MC5 e MC3 foram também comparados pelo fator de similaridade (f_2), até o tempo de 15 minutos, conforme Tabela 45. A amostra MC5 não apresentou semelhança com nenhuma outra amostra, o que corresponde aos resultados da comparação da porcentagem de PZQ dissolvida em 15 minutos por ANOVA de fator duplo para tal grupo de amostras.

Tabela 45. Comparação pelo fator f_2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras finais MC4, MC5 e MC3.

Comparação até 15 minutos	f_2	Similar?
MC5 vs. MC4	35	Não
MC3 vs. MC4	68	Sim
MC3 vs. MC5	32	Não

De maneira equivalente, as amostras em pó finais MP4, MP5 e MP3 foram comparadas. Na Figura 62 observa-se que apesar das amostras apresentarem incremento no perfil de dissolução das mesmas em relação ao PZQ, houve maior incremento pela amostra MP5, que alcança porcentagem dissolvida máxima em menor tempo. Os perfis das amostras foram comparados até 60 minutos através de ANOVA de fator duplo com repetição, com valores de $p < 0,05$ considerados estatisticamente significativos e aplicação de Teste de Tukey como teste *post hoc*. A influência da formulação (valor-P $< 0,0001$) indica que a diferença entre os perfis de dissolução das amostras pode ser considerada estatisticamente significativa. Empregando-se o teste de Tukey, pode-se verificar que a diferença entre os perfis foi significativa na maioria dos pontos analisados.

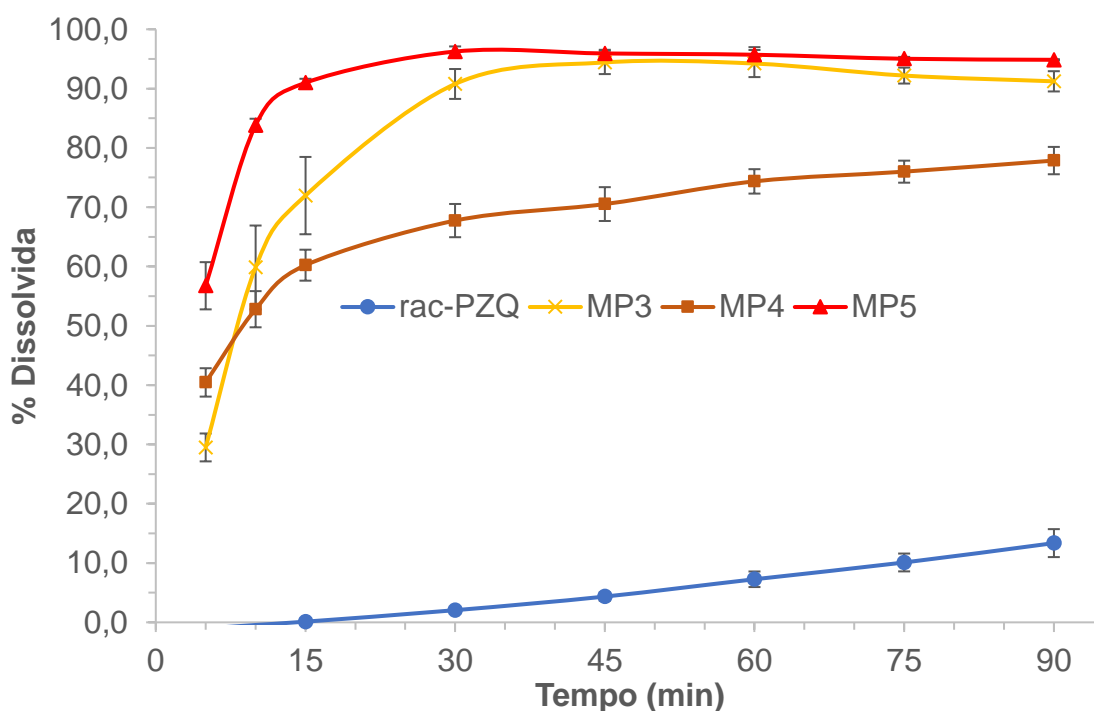


Figura 62. Comparação dos perfis de dissolução das amostras finais em pó MP4, MP5 e MP3 com o da matéria-prima PZQ, após a otimização.

A Tabela 46 apresenta os valores do percentual de PZQ dissolvido em 60 minutos e da eficiência de dissolução ao final do tempo total avaliado, tanto da matéria-prima rac-PZQ como das amostras MP4, MP5 e MP3. As amostras tiveram os percentuais de PZQ dissolvido em 60 minutos comparados entre si através de ANOVA de fator único, com valores de $p < 0,05$ considerados estatisticamente significativos e aplicação de Teste de Tukey como teste *post hoc*. Da mesma forma, os valores de eficiência de dissolução em 90 minutos foram avaliados. Apesar de a porcentagem dissolvida não ser significativamente diferente entre MP5 e MP3, a eficiência de dissolução foi maior para a amostra MP5.

Tabela 46. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras finais MP4, MP5 e MP3, com a matéria-prima PZQ.

Amostra	% dissolvida 60 min (média \pm DP (DPR%))	Eficiência de dissolução 90 min (%) (média \pm DP (DPR%))
rac-PZQ	7,27 \pm 1,31 (18,08)	5,01 \pm 0,86 (17,17)
MP4	74,35 \pm 2,06 (2,77)	66,46 \pm 2,21 (3,33)
MP5	95,71 \pm 1,28 (1,34)	89,64 \pm 0,77 (0,86)
MP3	94,22 \pm 2,28 (2,42)	82,50 \pm 2,72 (3,30)

Os perfis das amostras MP4, MP5 e MP3 foram também comparados pelo fator de similaridade (f_2), até o tempo de 15 minutos, conforme Tabela 47. As amostras MP4, MP5 e MP3 não mostraram similaridade entre elas, o que corresponde aos resultados da comparação da porcentagem de PZQ dissolvida em 15 minutos por ANOVA de fator duplo para tal grupo de amostras.

Tabela 47. Comparação pelo fator f_2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras finais MP4, MP5 e MP3.

Comparação até 15 minutos	f_2	Similar?
MP5 vs. MP4	28	Não
MP3 vs. MP4	50	Não
MP3 vs. MP5	31	Não

De acordo com os resultados de dissolução obtidos, comparados e expostos anteriormente, a formulação contendo como estabilizantes LSS e POL 407 foi selecionada para avaliação detalhada por ter demonstrado maior incremento na dissolução do fármaco. Assim, as amostras finais MC5 e MP5 foram comparadas com a mistura física MF2, de mesma composição. De acordo os perfis de dissolução apresentados na Figura 63, nota-se que as amostras processadas apresentaram taxa de dissolução próximas entre si, além de expressivamente maiores do que a MF2. Os perfis das amostras MC5 vs. MP5 foram comparados até 60 minutos através de ANOVA de fator duplo com repetição, com valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos e aplicação de Teste de Sidak como teste *post hoc*. A diferença entre os perfis de dissolução não pode ser considerada estatisticamente significativa entre as amostras MC5 vs. MP5 (valor- $P=0,8757$) em nenhum dos pontos analisados.

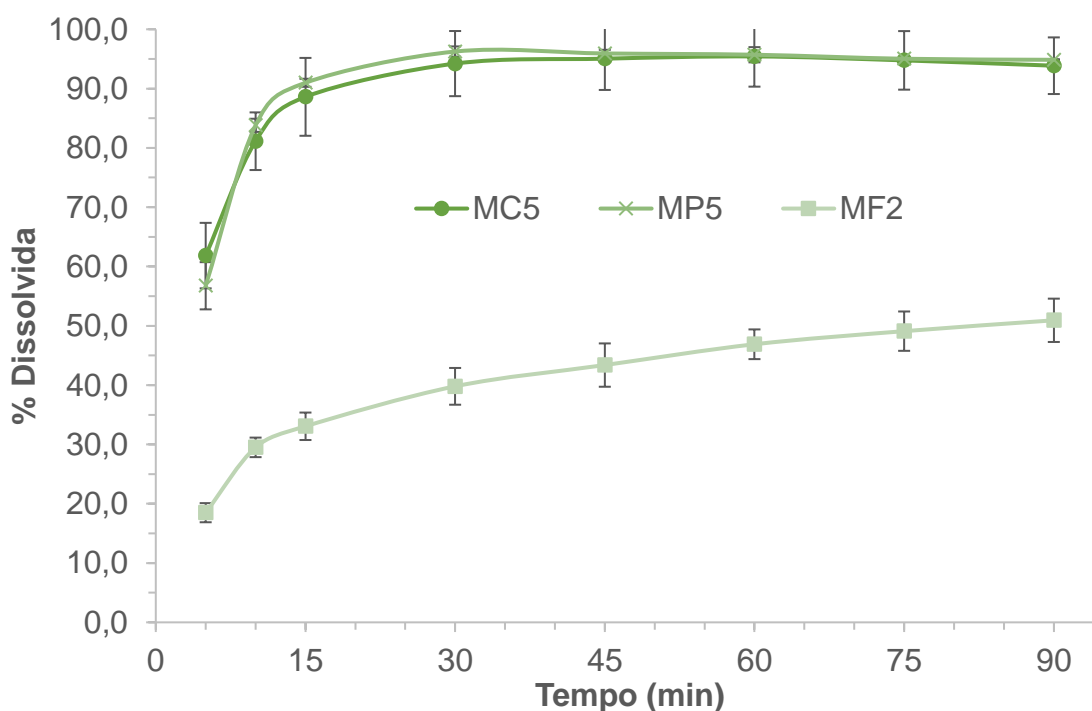


Figura 63. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó MC5, MP5 e MF2, de mesma composição.

A Tabela 48 apresenta os dados do percentual de PZQ dissolvido em 60 minutos e da eficiência de dissolução ao final do tempo total avaliado, para as amostras MC5 vs. MP5. Os valores foram comparados entre si por Teste t não-pareado, com nível de confiança de 95%, sendo $p < 0,05$ considerado estatisticamente significativo. A diferença não foi significativa entre os valores do percentual de PZQ dissolvido e de eficiência de dissolução (valor- $P = 0,9306$ e $0,8030$, respectivamente).

Tabela 48. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras em pó MC5, MP5 e MF2, de mesma composição.

Amostra	% dissolvida em 60 min (média \pm DP (DPR%))	Eficiência de dissolução 90 min (%) (média \pm DP (DPR%))
MC5	95,43 \pm 5,09 (5,34)	88,85 \pm 5,08 (5,72)
MP5	95,71 \pm 1,28 (1,34)	89,64 \pm 0,77 (0,86)
MF2	46,89 \pm 2,51 (5,34)	40,45 \pm 2,82 (6,97)

Os perfis das amostras MC5 vs. MP5 foram também comparados pelo fator de similaridade (f_2), até o tempo de 15 minutos, conforme Tabela 49. As amostras apresentaram similaridade entre si, o que é condizente resultados da comparação da

porcentagem de PZQ dissolvida em 15 minutos por ANOVA de fator duplo para as mesmas. As comparações entre as amostras de outras composições encontram-se no APÊNDICE G.

Tabela 49. Comparação pelo fator f2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras MC5 e MP5.

Comparação até 15 minutos	f2	Similar?
MP5 vs. MC5	71	Sim

Assim, apesar da amostra MP5 enquanto suspensão ter apresentado tamanho de partícula na escala nanométrica, a secagem da amostra formando aglomerados micrométricos influenciou o processo de dissolução e o incremento promovido pelos NCs não foi maior do que pelo MCs. Ainda assim, ambas as amostras processadas apresentaram melhor desempenho do que a simples MF dos componentes da formulação. Dessa maneira, para o prosseguimento do estudo tal composição foi escolhida para aplicação utilizando o L-PZQ.

Por fim, as amostras MC6, MP6 e MF4 foram comparadas. Na Figura 64 observa-se que todas as amostras apresentaram incremento no perfil de dissolução das mesmas em relação ao L-PZQ. Assim, os perfis das amostras foram comparados até 60 minutos através de ANOVA de fator duplo com repetição, com valores de $p < 0,05$ considerados estatisticamente significativos e aplicação de Teste de Tukey como teste *post hoc*. A influência do processamento (valor- $P=0,0094$) indica que a diferença entre os perfis de dissolução das amostras pode ser considerada estatisticamente significativa. Porém, empregando-se o teste de Tukey, pode-se notar que a partir de 30 minutos, a diferença entre os perfis não é significativa na maioria dos pontos analisados.

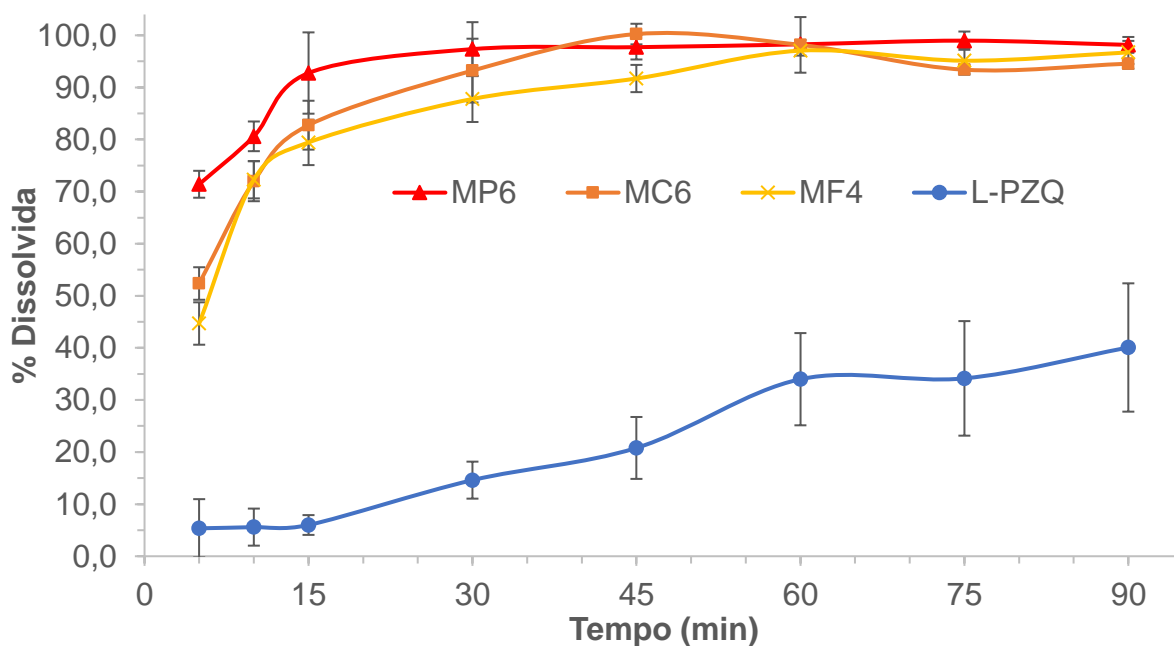


Figura 64. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó MC6, MP6 e MF4, de mesma composição, com o da matéria-prima L-PZQ.

A Tabela 50 apresenta os valores do percentual de L-PZQ dissolvido em 60 minutos e da eficiência de dissolução ao final do tempo total avaliado, tanto da matéria-prima L-PZQ como das amostras MC6, MP6 e MF4. As amostras tiveram os percentuais de L-PZQ dissolvido em 60 minutos comparados entre si através de ANOVA de fator único, com valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos e aplicação de Teste de Tukey como teste *post hoc*. Da mesma forma, os valores de eficiência de dissolução em 90 minutos foram avaliados. Apesar de a porcentagem dissolvida não ser significativamente diferente entre as amostras, a eficiência de dissolução da amostra MP6 foi maior, ainda que apenas em relação à MF4.

Tabela 50. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras MC6, MP6 e MF4, com a matéria-prima L-PZQ.

Amostra	% dissolvida em 60 min (média ± DP (DPR%))	Eficiência de dissolução 90 min (%) (média ± DP (DPR%))
L-PZQ	33,99 ± 8,85 (26,05)	21,87 ± 5,24 (23,97)
MC6	98,16 ± 5,34 (5,44)	88,15 ± 2,34 (2,65)
MP6	98,26 ± 0,86 (0,87)	92,32 ± 1,84 (1,99)
MF4	97,06 ± 0,95 (0,98)	85,33 ± 2,53 (2,97)

Os perfis das amostras MC6, MP6 e MF4 foram também comparados pelo fator de similaridade (f_2), até o tempo de 15 minutos, conforme Tabela 51. A amostra MP6 não mostrou similaridade com as outras amostras, o que corresponde aos resultados da comparação da porcentagem de L-PZQ dissolvida em 15 minutos por ANOVA de fator duplo para tal grupo de amostras.

Tabela 51. Comparação pelo fator f_2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras finais MC6, MP6 e MF4

Comparação até 15 minutos	f_2	Similar?
MC6 vs. MP6	44	Não
MC6 vs. MF4	65	Sim
MP6 vs. MF4	37	Não

No geral, de acordo com os resultados apresentados para MCs e MPs, nota-se que as amostras processadas apresentaram incremento na dissolução do rac-PZQ em relação à mistura física dos componentes. Todas as amostras combinando o fármaco com excipientes apresentaram maiores valores de dissolução em comparação ao IFA rac-PZQ puro. Deve-se salientar que ao contrário do esperado, as amostras preparadas pelo moinho de pérolas não apresentaram vantagem proporcional ao processamento adicional a que foram submetidas, no sentido de incremento no perfil de dissolução do fármaco. Uma possível razão é que as amostras MPs depois de secas, apresentaram-se como aglomerados micrométricos formados por partículas de tamanhos na escala nanométrica, o que fez com que os resultados de desempenho fossem semelhantes aos apresentados pelos MCs, com partículas de tamanho na escala micrométrica. Assim, nesse caso, o excipiente utilizado na formulação processada demonstrou ter maior impacto na dissolução *in vitro* do que o tamanho de partícula do pó.

Considerando as amostras contendo L-PZQ, tanto aquelas que foram processadas quanto a mistura física, apresentaram expressivo incremento na dissolução em relação ao IFA L-PZQ puro. Tal resultado pode estar relacionado com a solubilidade do L-PZQ no meio ser maior do que o rac-PZQ, e então, a simples presença do excipiente na composição da MF4, foi suficiente para incrementar os resultados de dissolução do L-PZQ e torná-los semelhantes aos das amostras processadas.

Yang e colaboradores (2018) produziram micro e nanocristais (com tamanho médio de 3,7 μm e 364,4 nm) de PZQ por moagem e obtiveram resultados de porcentagem dissolvida próximos de 100, tanto para as amostras quanto para a mistura física, sendo que os nanocristais apresentaram taxa de dissolução um pouco maior em comparação aos microcristais (deve-se salientar que o meio utilizado apresentava 0,2% LSS em HCl 0,1 N). No entanto, durante os estudos farmacocinéticos, os NCs apresentaram maior biodisponibilidade oral, promovendo um aumento significativo na área sob a curva (AUC, do inglês, *area under curve*) e concentração plasmática máxima (C max), em comparação aos MCs.

6.4.8 Avaliação da palatabilidade

Nas línguas eletrônicas baseadas em espectroscopia de impedância (como a utilizada neste trabalho), as unidades sensoriais, formadas por eletrodos interdigitados de ouro recobertos com filmes ultrafinos de diferentes materiais, são utilizadas para investigação das interações entre os analitos presentes em solução e os materiais que constituem tal sistema (RIUL, 2003). No entanto, em tais arranjos multissensoriais o conceito de seletividade global é empregado pelo uso de um conjunto de eletrodos que apesar de individualmente serem pouco seletivos (ou não específicos), quando combinados, respondem de forma reprodutível aos diversos analitos em solução, de maneira que não haja interação específica entre os mesmos (RIUL *et al.*, 2010).

Nesse sentido, as propriedades únicas dos nanomateriais tem feito com que sejam aplicados em tais sensores químicos na tentativa de melhorar o poder discriminativo destes. O grafeno, em particular, tem sido escolhido por seu potencial de aplicação para a construção de sensores altamente sensíveis, além de estáveis (FACURE *et al.*, 2017; SUN *et al.*, 2019). Assim, devido às diferentes características elétricas apresentadas pelos filmes ultrafinos depositados sobre o eletrodo, cada unidade sensorial responde de maneira única aos diversos sistemas líquidos analisados.

Nesses sistemas, a espectroscopia de impedância permite a análise de propriedades dos materiais pela aplicação de sinais elétricos em frequências alternadas e medição dos sinais elétricos de saída correspondentes (ALCAÑIZ *et al.*, 2012). Assim, a resposta de saída pode ser combinada para a construção de um

padrão de reconhecimento. Para tanto, o método estatístico de análise multivariada dos dados pela análise de componentes principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) (VARMUZA; FILZMOSER, 2009) se mostra como uma abordagem interessante por decompor a matriz de dados primários através de projeção multidimensional em uma nova base de coordenadas, formada por direções ortogonais com dados de máxima variância. Os vetores da matriz de dados são chamados de componentes principais e não são correlacionados, sendo ordenados de modo que o PC1 apresenta a maior quantidade de variância, seguido pelo PC2, e assim por diante. Em outras palavras, a PCA reduz a dimensionalidade do conjunto de dados, criando gráficos bi ou tridimensionais (com coordenadas baseadas em nova base, ou *scores plot*) com as contribuições de cada componente dos sensores (*load plots*), sendo que a porcentagem em cada eixo mostra a quantidade de informação extraída pelo componente principal (VARMUZA; FILZMOSER, 2009).

Para a condução das análises, antes do uso dos IDEs modificados com os nanocompósitos para medidas das amostras, foram realizadas também medidas no tampão fosfato pH 6,8. É importante ressaltar que normalmente as respostas na região de frequência mais baixa (< 100 Hz) são governadas pelo efeito de dupla camada, enquanto que as frequências mais altas (> 100 kHz) são governadas pela capacitância geométrica. Dessa maneira, os filmes que recobrem os eletrodos governam as respostas na região de frequência intermediária, entre 100 Hz até 100 kHz (TAYLOR; MACDONALD, 1987). Assim, de acordo com experimentos prévios e os resultados obtidos, nesse trabalho os resultados foram correlacionados por PCA pelo agrupamento das informações de resistência elétrica a 100 Hz, uma vez que esta demonstrou maior capacidade discriminativa entre as amostras (FACURE *et al.*, 2017).

Em uma primeira investigação, o PCA foi empregado para interpretação das respostas coletadas a 100 Hz para as soluções rac-PZQ e L-PZQ em concentração de 5 nmol/L em tampão fosfato pH 6,8. Na Figura 65 é possível observar que as amostras foram claramente diferenciadas, uma vez que estão posicionadas em quadrantes diferentes, sendo a proximidade dos pontos das replicatas de cada amostra um indicativo de reprodutibilidade das medidas. O valor de PC1 e PC2 estão relacionados com 63,17% e 29,34% das variâncias dos dados, respectivamente,

sendo que o arranjo foi capaz de discriminar as soluções em concentrações nanomolares.

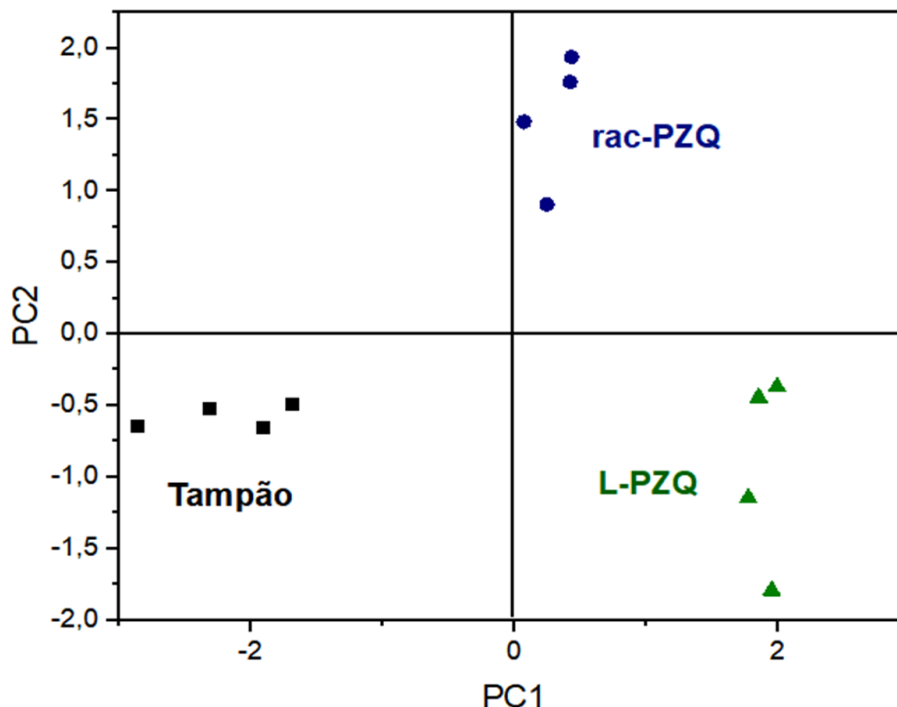


Figura 65. Gráfico PCA das soluções de rac-PZQ e L-PZQ, além do tampão como referência, para as respostas de resistência coletadas em 100 Hz.

Uma vez que existe indicação na literatura de que a presença de LSS em formulações pode impactar as avaliações em língua eletrônica, apesar de não comprometer o desempenho da mesma (IMMOHR; TURNER; PEIN-HACKELBUSCH, 2016), as amostras formuladas foram analisadas de maneira separada. A Figura 66, mostra o gráfico PCA das amostras MC5, MP5, MC6 e MP6, no qual é possível perceber claramente o agrupamento entre as amostras contendo rac-PZQ (MC5 e MP5) e L-PZQ (MC6 e MP6). O valor de PC1 foi de 73,29% e PC2 de 24,24%. O posicionamento do grupo de amostras em quadrantes diferentes em relação ao PC2, além da distância no eixo PC1, mostram que a língua eletrônica foi capaz de discriminar as amostras e indicam a possível diferença de palatabilidade entre as mesmas. Tal indicação está em concordância com os resultados de palatabilidade de um estudo realizado com humanos por Meyer e colaboradores (2009), no qual o L-PZQ demonstrou ter um sabor significativamente menos amargo do que o rac-PZQ.

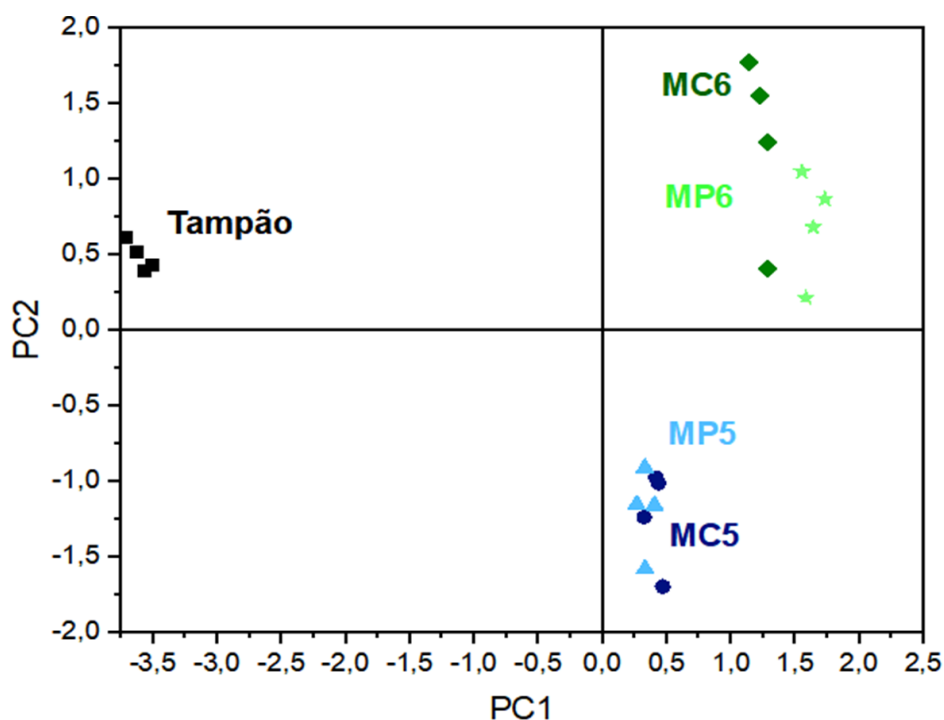


Figura 66. Gráfico PCA das soluções de MC5, MP5, MC6 e MP6, além do tampão como referência, para as respostas de resistência coletadas em 100 Hz.

A avaliação sensorial *in vitro* do rac-PZQ foi conduzida em estudo prévio encontrado na literatura, embora outra técnica de modificação dos eletrodos tenha sido utilizada e formulações com mascaramento de sabor tenham sido avaliadas, os resultados foram discriminativos entre as formulações e o placebo, comparados ao IFA puro (MACHADO *et al.*, 2018). Além disso, existe registro na literatura do desenvolvimento de sensores estereoseletivos baseados em ciclodextrinas, em consideração à necessidade de detecção da possível diferença de palatabilidade entre enantiômeros. O PZQ foi testado como um dos fármacos modelo de amargor, no entanto, os desvios entre as medidas foram muito altos e os resultados da diferença entre os sinais medidos para o rac-PZQ e o L-PZQ indicaram, nesse caso, um reconhecimento quiral insatisfatório pela aplicação de tais sensores (IMMOHR; PEINHACKELBUSCH, 2017).

Por fim, a avaliação da palatabilidade é um fator importante no processo de desenvolvimento de formulações farmacêuticas e apesar de o uso da língua eletrônica apresentar inúmeras vantagens em relação aos painéis humanos, é necessário que alguns parâmetros de validação sejam considerados durante o desenvolvimento das metodologias, conforme indicado por Woertz e colaboradores (2010), para que então a correlação com painéis humanos seja possível.

7 CONCLUSÃO

Conforme o exposto, existem esforços para o desenvolvimento de uma formulação de PZQ para crianças em idade pré-escolar, que além de biodisponibilidade mais adequada apresente também uma forma farmacêutica mais conveniente a pacientes pediátricos. Neste sentido, os micro e nanocristais destacam-se como uma alternativa tecnológica para superar este tipo de situação, sendo o uso do L-PZQ isolado uma aposta para a melhora da palatabilidade do medicamento.

Neste trabalho, foram apresentadas metodologias de preparo e caracterização de micro e nanocristais de PZQ racemato, posteriormente aplicadas ao isômero L-PZQ. Na primeira etapa, a partir dos resultados de solubilidade obtidos, foi possível a seleção dos agentes mais promissores para a estabilização das micro e nanossuspensões. No geral, apesar das amostras preparadas no moinho de pérolas (MPs) terem apresentado um maior nível de estabilização física, a etapa de secagem se mostrou limitante no sentido de obtenção de tamanhos na escala nanométrica, sendo que o diâmetro de corte d_{50} da partícula de pó se aproximou dos valores obtidos para as preparadas no moinho coloidal (7 μm e 9 μm , respectivamente). Apesar disso, é importante ressaltar que as técnicas aplicadas durante o processamento destacam-se também por terem permitido a manutenção da cristalinidade do fármaco.

De acordo com os resultados, todas as formulações processadas apresentaram melhora no desempenho da dissolução quando comparadas ao fármaco puro. Dessa maneira, tanto as técnicas de moagem coloidal quanto a moagem com pérolas (sendo a aplicação da primeira, nesse caso de estudo, um requisito para a última) são interessantes por terem demonstrado reprodutibilidade, além da possibilidade de escalonamento. As amostras iniciais e otimizadas do grupo 2 apresentaram porcentagem dissolvida próxima de 100%, logo nos 30 primeiros minutos do perfil avaliado. Apesar de ser esperado maior incremento na dissolução pelas amostras MPs, o tamanho de partícula do pó obtido pode ter sido limitante nesse sentido. Vale ressaltar que em todos os casos, as amostras preparadas no moinho de pérolas apresentaram maior eficiência de dissolução em relação às respectivas processadas apenas no moinho coloidal.

Dessa maneira, uma vez que na otimização a redução no tempo de processamento é vantajoso por tornar mais viável o custo relacionado ao processo, os parâmetros e composição de tais amostras foram aplicados utilizando o IFA L-PZQ. Apesar de os tamanhos de partícula obtidos terem sido maiores em comparação às amostras otimizadas com rac-PZQ (em suspensão), o desempenho das formulações foi melhorado em relação ao IFA L-PZQ puro. Uma vez que os valores de porcentagem dissolvida e eficiência de dissolução foram comparáveis entre as amostras MC6 e MP6, tais amostras, assim como a MC5 e MP5, seriam escolhidas para a continuidade do projeto e entendimento de seu comportamento *in vivo* em ensaios de biodisponibilidade.

Assim, as amostras finais contendo rac-PZQ e L-PZQ foram avaliadas utilizando a língua eletrônica e comparadas por PCA, sendo que os resultados indicaram uma possível diferença de palatabilidade entre as mesmas.

8 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

As perspectivas são vastas e apesar de o presente trabalho se mostrar mais como uma introdução para o entendimento dos mecanismos de obtenção de cristais pelas abordagens *top-down* aplicadas, os resultados promissores podem ser aplicados, futuramente, para o direcionamento nas decisões durante o desenvolvimento de um produto final. Nesse sentido, pode-se ainda explorar a variação de parâmetros no moinho de pérolas, como o aumento da vazão de alimentação para a diminuição da polidispersão, ou ainda, a troca de pérolas com diâmetros menores como uma etapa intermediária do processo, na tentativa de obtenção de menores tamanhos de partícula. Com relação à secagem, o leito fluidizado é uma alternativa a ser explorada, para avaliação do seu impacto no tamanho de partícula e morfologia do pó gerado.

Em relação à caracterização, uma medida mais minuciosa possibilitaria a determinação do tamanho de cristalito das amostras e a investigação de sua influência nos resultados de dissolução. Além disso, as análises térmicas poderiam ser repetidas para uma avaliação mais cuidadosa, na tentativa de inclusive estabelecer uma possível relação entre os eventos mostrados para as amostras do grupo 1 e os menores resultados de porcentagem dissolvida apresentados para as mesmas. Para tanto, a avaliação pode também ser complementada utilizando termomicroscopia (TOA). Além disso, o teste de dissolução intrínseca pode ser conduzido para avaliação de outros fatores que interferem no ensaio (que não o efeito da área superficial), além da possibilidade de identificação de transições da forma cristalina durante o mesmo. Não obstante, a avaliação de nanocristais realizada em fontes de luz síncrotron, pela técnica de imageamento por difração coerente em condição de Bragg (Bragg CDI), apesar de se tratar de uma abordagem experimental complexa, pode ainda, possivelmente, ser explorada na área farmacêutica tendo em vista a indicação de sua aplicação para estudo da morfologia e dissolução de cristais (BERGSTRÖM *et al.*, 2019).

Por fim, apesar da utilização da língua eletrônica ter apresentado resultados satisfatórios no sentido de discriminação entre as amostras, seria interessante a comparação dos resultados aplicando instrumentos comerciais, além da correlação dos mesmos utilizando painéis humanos.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Farmacopeia Brasileira. **Brasil**, v. 2, p. 1220–1222, 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. **Consultas a medicamentos registrados**. Disponível em: <<https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/q/?substancia=7728>>. Acesso em: 20 abr. 2019.

ALCAÑIZ, M.; VIVANCOS, J.-L.; MASOT, R.; IBAÑEZ, J.; RAGA, M.; SOTO, J.; MARTÍNEZ-MÁÑEZ, R. Design of an electronic system and its application to electronic tongues using variable amplitude pulse voltammetry and impedance spectroscopy. **Journal of Food Engineering**, v. 111, n. 1, p. 122–128, 1 jul. 2012.

ALFORD, A.; KOZLOVSKAYA, V.; KHARLAMPIEVA, E. **Small angle scattering for pharmaceutical applications: From drugs to drug delivery systems**. [s.l.: s.n.]. v. 1009

ALLEN, F. H. The Cambridge Structural Database: a quarter of a million crystal structures and rising. **Acta Crystallographica Section B Structural Science**, v. 58, n. 3, p. 380–388, 2002.

ALLEN, F. H.; BELLARD, S.; BRICE, M. D.; CARTWRIGHT, B. A.; DOUBLEDAY, A.; HIGGS, H.; HUMMELINK, T.; HUMMELINK-PETERS, B. G.; KENNARD, O.; MOTHERWELL, W. D. S.; RODGERS, J. R.; WATSON, D. G. The Cambridge Crystallographic Data Centre: computer-based search, retrieval, analysis and display of information. **Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry**, v. 35, n. 10, p. 2331–2339, 1979.

AMIDON, G. L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutical Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability. **Pharmaceutical Res**, v. 12, n. 3, 1995.

ANAND, V.; KATARIA, M.; KUKKAR, V.; SAHARAN, V.; CHOUDHURY, P. K. The latest trends in the taste assessment of pharmaceuticals. **Drug Discovery Today**, v. 12, n. 5–6, p. 257–265, 1 mar. 2007.

ANAND, V.; KHARB, V.; KATARIA, M.; KUKKA, V.; CHOUDHURY, P. K. Taste assessment trials for sensory analysis of oral pharmaceutical products. **Pakistan journal of pharmaceutical sciences**, v. 21, n. 4, p. 438–450, 2008.

ANDREWS, P.; THOMAS, H.; POHLKE, R.; SEUBERT, J. Praziquantel. **Medicinal Research Reviews**, v. 3, n. 2, p. 147–200, 1983.

BAGCHUS, W. M.; BEZUIDENHOUT, D.; HARRISON-MOENCH, E.; KOURANY-LEFOLL, E.; WOLNA, P.; YALKINOGLU, O. Relative Bioavailability of Orally Dispersible Tablet Formulations of Levo- and Racemic Praziquantel: Two Phase I Studies. **Clinical and Translational Science**, v. 12, n. 1, p. 66–76, 2019.

BARAKAT, R.; MORSHEDY, H. EL. Efficacy of two praziquantel treatments among

primary school children in an area of high *Schistosoma mansoni* endemicity, Nile Delta, Egypt. **Parasitology**, v. 138, n. 4, p. 440–446, 2011.

BASF. **Soluplus® For better solubility and bioavailability**, 2018.

BERGSTRÖM, C. A. S.; BOX, K.; HOLM, R.; MATTHEWS, W.; MCALLISTER, M.; MÜLLERTZ, A.; RADES, T.; SCHÄFER, K. J.; TELEKI, A. Biorelevant intrinsic dissolution profiling in early drug development: Fundamental, methodological, and industrial aspects. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 139, p. 101–114, 1 jun. 2019.

BITTERLICH, A.; LAABS, C.; BUSMANN, E.; GRANDEURY, A.; JUHNKE, M.; BUNJES, H.; KWADE, A. Challenges in Nanogrinding of Active Pharmaceutical Ingredients. **Chemical Engineering & Technology**, v. 37, n. 5, p. 840–846, 1 maio 2014.

BLAGDEN, N.; DE MATAS, M.; GAVAN, P. T.; YORK, P. Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, n. 7, p. 617–630, 2007.

BOLDYREV, V. V. Mechanochemical modification and synthesis of drugs. **Journal of Materials Science**, v. 39, n. 16–17, p. 5117–5120, 2004.

BRASIL. Resolução RDC N.º 31, de 11 de agosto de 2010. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa)**, p. 36–38, 2010.

BUTCHI SWITZERLAND. B-290 Mini Spray Dryer Operation Manual. **Büchi Labortechnik AG**, 2019.

CARON, V.; TAJBER, L.; CORRIGAN, O. I.; HEALY, A. M. A comparison of spray drying and milling in the production of amorphous dispersions of sulfathiazole/polyvinylpyrrolidone and sulfadimidine/ polyvinylpyrrolidone. **Molecular Pharmaceutics**, v. 8, n. 2, p. 532–542, 2011.

CASTRO, N.; MEDINA, R.; SOTELO, J.; JUNG, H. Bioavailability of praziquantel increases with concomitant administration of food. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 44, n. 10, p. 2903–2904, 2000.

CEDILLO-CRUZ, A.; AGUILAR, M. I.; FLORES-ALAMO, M.; PALOMARES-ALONSO, F.; JUNG-COOK, H. A straightforward and efficient synthesis of praziquantel enantiomers and their 4'-hydroxy derivatives. **Tetrahedron Asymmetry**, v. 25, n. 2, p. 133–140, 2014.

CHAUD, M. V.; LIMA, A. C.; VILA, M. M. D. C.; PAGANELLI, M. O.; PAULA, F. C.; PEDREIRO, L. N.; GREMIÃO, M. P. D. Development and evaluation of praziquantel solid dispersions in sodium starch glycolate. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, 2013.

CHEN, M.-L.; JOHN, M.; LEE, S. L.; TYNER, K. M. Development Considerations for Nanocrystal Drug Products. **The AAPS Journal**, v. 19, n. 3, p. 642–651, 2017.

CLINICALTRIALS.GOV. Identifier: **NCT02806232. An Open Label Dose Finding Safety and Efficacy in Children and Infants Infected With Schistosomiasis (S. Mansoni)**. Disponível em: <<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02806232?term=L-praziquantel&draw=2&rank=6>>. Acesso em: 20 nov. 2019a.

CLINICALTRIALS.GOV. Identifier: **NCT03845140. L-praziquantel Orodispersible Tablets (L-PZQ ODT) in Schistosoma Infected Children**. Disponível em: <<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03845140?term=L-praziquantel&draw=2&rank=1>>. Acesso em: 7 abr. 2020b.

CORREA, D. S.; MEDEIROS, E. S.; OLIVEIRA, J. E.; PATERNO, L. G.; MATTOSO, L. H. C. Nanostructured Conjugated Polymers in Chemical Sensors: Synthesis, Properties and Applications. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 14, n. 9, p. 6509–6527, 2014.

COSTA, E. D.; PRIOTTI, J.; ORLANDI, S.; LEONARDI, D.; LAMAS, M. C.; NUNES, T. G.; DIOGO, H. P.; SALOMON, C. J.; FERREIRA, M. J. Unexpected solvent impact in the crystallinity of praziquantel/poly(vinylpyrrolidone) formulations. A solubility, DSC and solid-state NMR study. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 511, n. 2, p. 983–993, 25 set. 2016.

CRAIG, D. Q. M.; READING, M. **Thermal Analysis of Pharmaceuticals**. 1. ed. [s.l.] CRC Press, 2006.

CUGOVČAN, M.; JABLAN, J.; LOVRIĆ, J.; CINČIĆ, D.; GALIĆ, N.; JUG, M. Biopharmaceutical characterization of praziquantel cocrystals and cyclodextrin complexes prepared by grinding. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 137, p. 42–53, 2017.

DA FONSECA, L. B.; VIÇOSA, A. L.; MATTOS, A. C. A.; COELHO, P. M. Z.; ARAÚJO, N.; ZAMITH, H. P. DA S.; VOLPATO, N. M.; NELE, M.; PINTO, J. C. C. DA S. Desenvolvimento de um medicamento brasileiro nanoencapsulado para o tratamento da esquistossomose. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 1, n. 4, p. 85–91, 2014.

DA SILVA, K. M. A.; DE LIMA RAMOS JÚNIOR, F. J.; JÚNIOR, J. V. C.; BRANDÃO, D. O.; LINS, T. B.; MACÊDO, R. O.; DE SOUZA, F. S. Characterization of solid dispersions of a powerful statin using thermoanalytical techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 0123456789, 2019.

DAMETTO, P. R.; DAMETTO, A. C.; POLESE, L.; RIBEIRO, C. A.; CHORILLI, M.; DE FREITAS, O. Development and physicochemical characterization of solid dispersions containing praziquantel for the treatment of schistosomiasis. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 127, n. 2, p. 1693–1706, 2017.

DATE, A. A.; DESAI, N.; DIXIT, R.; NAGARSENKER, M. Self-nanoemulsifying drug delivery systems: formulation insights, applications and advances. **Nanomedicine (London, England)**, v. 5, n. 10, p. 1595–1616, 2010.

DE MEDEIROS, M. DOS S. G.; GARRUTI, D. DOS S. Estudos de palatabilidade de medicamentos: análise sensorial e aceitabilidade de formulações pediátricas. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 6, n. 2, p. 44, 2018.

DOENHOFF, M. J.; CIOLI, D.; UTZINGER, J. Praziquantel: Mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 21, n. 6, p. 659–667, 2008.

DOUROUMIS, D.; FAHR, A.; SIEPMANN, J.; SNOWDEN, M. Drug delivery strategies for poorly water-soluble drugs. **John Wiley & Sons, Ltd. United Kingdom**, v. 1, 2013.

DRESSMAN, AMIDON, REPPAS, AND SHAH, PHARM. RES., 1998, 15, 11. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. v. 15, n. 11, 1998.

DU, J.; LI, X.; ZHAO, H.; ZHOU, Y.; WANG, L.; TIAN, S.; WANG, Y. Nanosuspensions of poorly water-soluble drugs prepared by bottom-up technologies. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 495, n. 2, p. 738–749, 30 nov. 2015.

DWECK, J. **Disciplina de Análises Térmicas de Materiais e Processos**. Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ): Material didático de publicação interna, 2019.

EL-ARINI, S. K.; GIRON, D.; LEUENBERGER, H. Solubility properties of racemic praziquantel and its enantiomers. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 3, n. 4, p. 557–564, 1998.

ERNEST, T. B.; FORD, J. L.; ELDER, D. P.; ROBERTS, M.; MARTINI, L. G. Developing paediatric medicines: identifying the needs and recognizing the challenges. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 59, n. 8, p. 1043–1055, 2007.

ESPINOSA-LARA, J. C.; GUZMAN-VILLANUEVA, D.; ARENAS-GARCÍA, J. I.; HERRERA-RUIZ, D.; RIVERA-ISLAS, J.; ROMÁN-BRAVO, P.; MORALES-ROJAS, H.; HÖPFL, H. Cocrystals of active pharmaceutical ingredients - Praziquantel in combination with oxalic, malonic, succinic, maleic, fumaric, glutaric, adipic, and pimelic acids. **Crystal Growth and Design**, v. 13, n. 1, p. 169–185, 2013.

FACURE, M. H. M.; MERCANTE, L. A.; MATTOSO, L. H. C.; CORREA, D. S. Detection of trace levels of organophosphate pesticides using an electronic tongue based on graphene hybrid nanocomposites. **Talanta**, v. 167, n. November 2016, p. 59–66, 2017.

FANDARUFF, C.; SEGATTO SILVA, M. A.; GALINDO BEDOR, D. C.; DE SANTANA, D. P.; ROCHA, H. V. A.; REBUFFI, L.; AZANZA RICARDO, C. L.; SCARDI, P.; CUFFINI, S. L. Correlation between microstructure and bioequivalence in Anti-HIV Drug Efavirenz. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 91, p. 52–58, 2015.

FAROKHZAD, O. C.; LANGER, R. Impact of Nanotechnology on Drug Discovery & Development Pharamext. **American Chemical Society**, v. 3, n. 1, p. 16–20, 2009.

FDA. **Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms**. Rockville, MD: [s.n.].

FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. **Physicochemical Principles of Pharmacy**. [s.l.: s.n.]. v. 4

FONSECA, L. B. DA. **Desenvolvimento de Nanopartículas Poliméricas Contendo Praziquantel para o Tratamento da Esquistossomose**. [s.l.] Tese de Doutorado - Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

FORMULACTION. Stability of Suspensions for Electronic Applications. p. 1–6, 2009a.

FORMULACTION. Stability analysis with Turbiscan® (special cases). **Application note TURBISCAN®**, p. 1–2, 2009b.

GONZÁLES-CABALLERO, F.; LÓPEZ-DURÁN, J. DE D. G. Pharmaceutical Emulsions and Suspensions. In: NIELLOUD, F., MARTI-MESTRES, G. (Ed.). **Drugs and the Pharmaceutical Sciences**. New York, NY: Marcel Dekker, Inc., 2000. v. 105p. 127–190.

GONZALEZ, M. A.; RAMÍREZ RIGO, M. V.; GONZALEZ VIDAL, N. L. Praziquantel systems with improved dissolution rate obtained by high pressure homogenization. **Materials Science and Engineering: C**, v. 93, p. 28–35, 1 dez. 2018.

GREENWOOD, G. . The growth of dispersed precipitates in solutions. **Acta Metallurgica**, v. 4, n. 3, p. 243–248, 1956.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 70, p. 81–98, 2010.

HARAGUCHI, T.; YOSHIDA, M.; KOJIMA, H.; UCHIDA, T. Usefulness and limitations of taste sensors in the evaluation of palatability and taste-masking in oral dosage forms. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 11, n. 4, p. 479–485, 1 ago. 2016.

HENNART, S. L. A.; VAN HEE, P.; DROUET, V.; DOMINGUES, M. C.; WILDEBOER, W. J.; MEESTERS, G. M. H. Characterization and modeling of a sub-micron milling process limited by agglomeration phenomena. **Chemical Engineering Science**, v. 71, p. 484–495, 26 mar. 2012.

HICKEY, A. J.; GANDERTON, D. Size, reduction and classification. In: HICKEY, A. J.; GANDERTON, D. (Eds.). **Pharmaceutical Process Engineering**. Second edi ed. New York, NY: Informa Healthcare USA, Inc., 2010. p. 136–154.

HOFFMEISTER, C. R. D.; DA COSTA, M. A.; PRADO, L. D.; ROCHA, H. V. A.; FANDARUFF, C.; SILVA, M. A. S.; CABRAL, L. M.; ROCHA, H. V. A.; PITTA, L. R.; BILATTO, S. E. R.; CORRÊA, D. S.; BILATTO, S. E. R.; CORRÊA, D. S.; TASSO, L. Efavirenz dissolution enhancement III: Colloid milling, pharmacokinetics and electronic tongue evaluation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, p. 310–317, 2017.

HUSSAARTS, L.; VAN DER WEIJDE, K.; DOME, P.; KOURANY-LEFOLL, E.;

REINHARD-RUPP, J.; DE VRUEH, R. Product development programs for neglected tropical diseases: A crucial role for expert meetings. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, 2017.

IMMOHR, L. I.; PEIN-HACKELBUSCH, M. Development of stereoselective e-tongue sensors considering the sensor performance using specific quality attributes—A bottom up approach. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 253, p. 868–878, 2017.

IMMOHR, L. I.; TURNER, R.; PEIN-HACKELBUSCH, M. Impact of sodium lauryl sulfate in oral liquids on e-tongue measurements. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 515, n. 1–2, p. 441–448, 2016.

JACOBS, C.; MÜLLER, R. H. Production and characterization of a budesonide nanosuspension for pulmonary administration. **Pharmaceutical Research**, v. 19, n. 2, p. 189–194, 2002.

JANTRATID, E.; JANSSEN, N.; CHOKSHI, H.; TANG, K.; DRESSMAN, J. B. Designing biorelevant dissolution tests for lipid formulations: Case example – Lipid suspension of RZ-50. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, n. 2, p. 776–785, 1 jun. 2008.

JUNGHANNS, J. U. A. H.; MÜLLER, R. H. Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications. **International Journal of Nanomedicine**, v. 3, n. 3, p. 295–309, 2008.

KALANTAR-ZADEH, K.; FRY, B. **Nanotechnology-Enabled Sensors**. [s.l.] Springer, Boston, MA, 2008. v. 53

KAWABATA, Y.; WADA, K.; NAKATANI, M.; YAMADA, S.; ONOUE, S. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 420, n. 1, p. 1–10, 25 nov. 2011.

KECK, C. M.; MÜLLER, R. H. Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenisation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 62, n. 1, p. 3–16, 1 jan. 2006.

KHADKA, P.; RO, J.; KIM, H.; KIM, I.; KIM, J. T.; KIM, H.; CHO, J. M.; YUN, G.; LEE, J. Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 6, p. 304–316, 1 dez. 2014.

KHAN, K. A. The concept of dissolution efficiency. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 27, n. 1, p. 48–49, 1975.

KORADIA, K. D.; SHETH, N. R.; KORADIA, H. D.; DABHI, M. R. Ziprasidone nanocrystals by wet media milling followed by spray drying and lyophilization: Formulation and process parameter optimization. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 43, p. 73–84, 1 fev. 2018.

LEOPOLD, G.; UNGETHÜM, W.; GROLL, E.; DIEKMANN, H. W.; NOWAK, H.; WEGNER, D. H. G. Clinical pharmacology in normal volunteers of praziquantel, a new drug against schistosomes and cestodes - An example of a complex study covering both tolerance and pharmacokinetics. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 14, n. 4, p. 281–291, 1978.

LI, M.; AZAD, M.; DAVÉ, R.; BILGILI, E. Nanomilling of Drugs for Bioavailability Enhancement: A Holistic Formulation-Process Perspective. **Pharmaceutics**, v. 8, n. 2, 20 maio 2016.

LI, T.; MATTEI, A. **Pharmaceutical Crystals: Science and Engineering**. USA: John Wiley & Sons, Inc., 2019.

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 Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 58, n. 2, p. 265–278, 1 set. 2004.

LIU, T.; MÜLLER, R. H.; MÖSCHWITZER, J. P. Effect of drug physico-chemical properties on the efficiency of top-down process and characterization of nanosuspension. **Expert Opinion on Drug Delivery**, 2015.

LIU, Y.; QIAN, M.; WANG, X.; JIA, J.; WANG, Q.; JIANG, Y.; WANG, R.; YAN, S.; CHEN, B.; LI, J.; QIU, Z.; SHEN, J. Comparative efficacy of praziquantel and its optic isomers in experimental therapy of schistosomiasis japonica in rabbits. **Chinese Medical Journal**, v. 99, n. 12, p. 935–940, 1986.

LIU, Y.; WANG, X.; WANG, J.; CHING, C. B. Structural characterization and enantioseparation of the chiral compound praziquantel. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 93, n. 12, p. 3039–3046, 1 dez. 2004.

LIVERSIDGE, G. G.; CUNDY, K. C.; BISHOP, J. F.; CZEKAI, D. A. **US Patent 5,145,684**, 1992.

LOH, Z. H.; SAMANTA, A. K.; SIA HENG, P. W. Overview of milling techniques for improving the solubility of poorly water-soluble drugs. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 10, n. 4, p. 255–274, 1 jul. 2015.

LORENZ, J. K.; REO, J. P.; HENDL, O.; WORTHINGTON, J. H.; PETROSSIAN, V. D. Evaluation of a taste sensor instrument (electronic tongue) for use in formulation development. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 367, n. 1–2, p. 65–72, 2009.

MACHADO, J. C.; SHIMIZU, F. M.; ORTIZ, M.; PINHATTI, M. S.; CARR, O.; GUTERRES, S. S.; OLIVEIRA, O. N.; VOLPATO, N. M. Efficient praziquantel encapsulation into polymer microcapsules and taste masking evaluation using an electronic tongue. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 91, n. 6, p. 865–874, 2018.

MACRAE, C. F.; EDGINGTON, P. R.; MCCABE, P.; PIDCOCK, E.; SHIELDS, G. P.; TAYLOR, R.; TOWLER, M.; VAN DE STREEK, J. Mercury : visualization and analysis

of crystal structures . **Journal of Applied Crystallography**, v. 39, n. 3, p. 453–457, 2006.

MAINARDES, R. M.; GREMIÃO, M. P. D.; EVANGELISTA, R. C. Thermoanalytical study of praziquantel-loaded PLGA nanoparticles. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 4, p. 523–530, 2006.

MALVERN. Getting Started - Manual Mastersizer. n. August, p. 183, 1997.

MALVERN INSTRUMENTS LIMITED. A basic guide to particle characterization. p. 1–24, 2015.

MATSUI, D. Current issues in pediatric medication adherence. **Pediatric Drugs**, v. 9, n. 5, p. 283–288, 2007.

MEDAREVIĆ, D.; DJURIŠ, J.; IBRIĆ, S.; MITRIĆ, M.; KACHRIMANIS, K. Optimization of formulation and process parameters for the production of carvedilol nanosuspension by wet media milling. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 540, n. 1–2, p. 150–161, 2018.

MEIER, H.; BLASCHKE, G. Investigation of Praziquantel metabolism in isolated rat hepatocytes. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 26, n. 3, p. 409–415, 1 out. 2001.

MERISKO-LIVERSIDGE, E.; LIVERSIDGE, G. G. Nanosizing for oral and parenteral drug delivery: A perspective on formulating poorly-water soluble compounds using wet media milling technology. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 63, n. 6, p. 427–440, 30 maio 2011.

MERISKO-LIVERSIDGE, E.; LIVERSIDGE, G. G.; COOPER, E. R. Nanosizing: a formulation approach for poorly-water-soluble compounds. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 18, n. 2, p. 113–120, 1 fev. 2003.

MEYER, T.; SEKLJIC, H.; FUCHS, S.; BOTHE, H.; SCHOLLMAYER, D.; MICULKA, C. Taste, A New Incentive to Switch to (R)-Praziquantel in Schistosomiasis Treatment. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, n. 1, p. e357, 2009.

MOHAMED-AHMED, A. H. A.; SOTO, J.; ERNEST, T.; TULEU, C. Non-human tools for the evaluation of bitter taste in the design and development of medicines: a systematic review. **Drug Discovery Today**, v. 21, n. 7, p. 1170–1180, 1 jul. 2016.

MONTEIRO, A.; AFOLABI, A.; BILGILI, E. Continuous production of drug nanoparticle suspensions via wet stirred media milling: A fresh look at the Rehbinder effect. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 39, n. 2, p. 266–283, 2013.

MÜLLER, R. H.; GOHLA, S.; KECK, C. M. State of the art of nanocrystals – Special features, production, nanotoxicology aspects and intracellular delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 78, n. 1, p. 1–9, 1 maio 2011.

MÜLLER, R. H.; KECK, C. M. Twenty years of drug nanocrystals: Where are we, and where do we go? **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.

80, n. 1, p. 1–3, 1 jan. 2012.

MÜLLER, R. H.; PETERS, K. Nanosuspensions for the formulation of poorly soluble drugs. I. Preparation by a size-reduction technique. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 160, n. 2, p. 229–237, 26 jan. 1998.

MÜNSTER, M.; MOHAMED-AHMED, A. H. A.; IMMOHR, L. I.; SCHOCH, C.; SCHMIDT, C.; TULEU, C.; BREITKREUTZ, J. Comparative in vitro and in vivo taste assessment of liquid praziquantel formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 529, n. 1–2, p. 310–318, 30 ago. 2017.

NAVARATNAM, A. M. D.; SOUSA-FIGUEIREDO, J. C.; STOTHARD, J. R.; KABATEREINE, N. B.; FENWICK, A.; MUTUMBA-NAKALEMBE, M. J. Efficacy of praziquantel syrup versus crushed praziquantel tablets in the treatment of intestinal schistosomiasis in Ugandan preschool children, with observation on compliance and safety. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 106, n. 7, p. 400–407, 2012.

NUTAN, M. T. H.; REDDY, I. K. General Principles of Suspensions. In: KULSHRESHTHA, A. K.; SINGH, O. N.; WALL, G. M. (Eds.). . **Pharmaceutical suspensions**. New York, NY: Springer, 2010. p. 39–65.

OBERDÖRSTER, G. Safety assessment for nanotechnology and nanomedicine: Concepts of nanotoxicology. **Journal of Internal Medicine**, v. 267, n. 1, p. 89–105, 2010.

OLLIARO, P.; DELGADO-ROMERO, P.; KEISER, J. The little we know about the pharmacokinetics and pharmacodynamics of praziquantel (racemate and R-enantiomer). **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 69, n. 4, p. 863–870, 2014.

OLLIARO, P. L.; VAILLANT, M. T.; BELIZARIO, V. J.; LWAMBO, N. J. S.; OULDABDALLAHI, M.; PIERI, O. S.; AMARILLO, M. L.; KAATANO, G. M.; DIAW, M.; DOMINGUES, A. L. C.; FAVRE, T. C.; LAPUJADE, O.; ALVES, F.; CHITSULO, L. A multicentre randomized controlled trial of the efficacy and safety of single-dose praziquantel at 40 mg/kg vs. 60 mg/kg for treating intestinal schistosomiasis in the Philippines, Mauritania, Tanzania and Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 6, 2011.

ORUBU, E. S.; TULEU, C. Medicines for children: flexible solid oral formulations. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 95, n. 3, p. 238–240, 2017.

PASSERINI, N.; ALBERTINI, B.; PERISSUTTI, B.; RODRIGUEZ, L. Evaluation of melt granulation and ultrasonic spray congealing as techniques to enhance the dissolution of praziquantel. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 318, n. 1–2, p. 92–102, 2006.

PATRA, J. K.; DAS, G.; FRACETO, L. F.; CAMPOS, E. V. R.; RODRIGUEZ-TORRES, M. D. P.; ACOSTA-TORRES, L. S.; DIAZ-TORRES, L. A.; GRILLO, R.; SWAMY, M. K.; SHARMA, S.; HABTEMARIAM, S.; SHIN, H. S. Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 16, n. 71, p. 1–33, 2018.

PATRAVALE, V. B.; DATE, A. A.; KULKARNI, R. M. Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 56, n. 7, p. 827–840, 2004.

PEIN, M.; PREIS, M.; ECKERT, C.; KIENE, F. E. Taste-masking assessment of solid oral dosage forms—A critical review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 465, n. 1–2, p. 239–254, 25 abr. 2014.

PRADO, L. D.; ROCHA, H. V. A. Estado sólido na indústria farmacêutica: Uma breve revisão. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 2080–2112, 2015.

RABINOW, B. E. Nanosuspensions in drug delivery. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 9, p. 785–796, 2004.

REINHARD-RUPP, J.; KLOHE, K. Developing a comprehensive response for treatment of children under 6 years of age with schistosomiasis: Research and development of a pediatric formulation of praziquantel. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 6, n. 1, p. 17–20, 2017.

RIUL, A. A Ciência Imitando o Corpo Humano. **Physicae**, p. 37–43, 2003.

RIUL, A.; DANTAS, C. A. R.; MIYAZAKI, C. M.; OLIVEIRA, O. N. Recent advances in electronic tongues. **Analyst**, v. 135, n. 10, p. 2481–2495, 2010.

ROSZKOWSKI, P.; MAURIN, J. K.; CZARNOCKI, Z. Enantioselective synthesis of (R)-(-)-praziquantel (PZQ). **Tetrahedron Asymmetry**, v. 17, n. 9, p. 1415–1419, 2006.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. [s.l.: s.n.]. v. 6

SADRIEH, N.; BROWER, J.; YU, L.; DOUB, W.; STRAUGHN, A.; MACHADO, S.; PELSOR, F.; SAINT MARTIN, E.; MOORE, T.; REEPMAYER, J.; TOLER, D.; NGUYENPHO, A.; ROBERTS, R.; SCHUIRMANN, D. J.; NASR, M.; BUHSE, L. Stability, dose uniformity, and palatability of three counterterrorism drugs - Human subject and electronic tongue studies. **Pharmaceutical Research**, v. 22, n. 10, p. 1747–1756, 2005.

SALUNKE, S.; BRANDYS, B.; GIACOIA, G.; TULEU, C. The STEP (Safety and Toxicity of Excipients for Paediatrics) database: Part 2 - The pilot version. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 457, n. 1, p. 310–322, 2013.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; DE LUCCA FREITAS, L.; POHLMANN, A. R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726–737, 2003.

SHAH, D. A.; PATEL, M.; MURDANDE, S. B.; DAVE, R. H. Influence of spray drying and dispersing agent on surface and dissolution properties of griseofulvin micro and nanocrystals. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 42, n. 11, p. 1842–1850, 2016.

SHARGEL, L.; YU, A. B. C. **Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics**. 7. ed. [s.l.] McGraw-Hill Education, 2016.

SHEGOKAR, R.; MÜLLER, R. H. Nanocrystals: Industrially feasible multifunctional formulation technology for poorly soluble actives. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 399, n. 1–2, p. 129–139, 31 out. 2010.

SHU-HUA, X.; CATTO, B. A. Comparative in vitro and in vivo activity of racemic praziquantel and its levorotated isomer on schistosoma mansoni. **Journal of Infectious Diseases**, v. 159, n. 3, p. 589–592, 1989.

SIEVENS-FIGUEROA, L.; BHAKAY, A.; JEREZ-ROZO, J. I.; PANDYA, N.; ROMAÑACH, R. J.; MICHNIAK-KOHN, B.; IQBAL, Z.; BILGILI, E.; DAVÉ, R. N. Preparation and characterization of hydroxypropyl methyl cellulose films containing stable BCS Class II drug nanoparticles for pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 423, n. 2, p. 496–508, 2012.

SINHA, B.; MÜLLER, R. H.; MÖSCHWITZER, J. P. Bottom-up approaches for preparing drug nanocrystals: Formulations and factors affecting particle size. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, n. 1, p. 126–141, 30 ago. 2013.

STEINER, K.; GARBE, A.; DIEKMANN, H. W.; NOWAK, H. The fate of praziquantel in the organism I. Pharmacokinetics in animals. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 1, n. 2, p. 85–95, 1976.

STRICKLEY, R. G. Pediatric Oral Formulations: An Updated Review of Commercially Available Pediatric Oral Formulations Since 2007. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 108, n. 4, p. 1335–1365, 2019.

STRICKLEY, R. G.; IWATA, Q.; WU, S.; DAHL, T. C. Pediatric Drugs—A Review of Commercially Available Oral Formulations. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 5, 2007.

SUN, T.; PAN, H.; MEI, Y.; ZHANG, P.; ZENG, D.; LIU, X.; RONG, S.; CHANG, D. Electrochemical sensor sensitive detection of chloramphenicol based on ionic-liquid-assisted synthesis of de-layered molybdenum disulfide/graphene oxide nanocomposites. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 49, n. 3, p. 261–270, 2019.

TAYLOR, D. M.; MACDONALD, A. G. AC admittance of the metal/insulator/electrolyte interface. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 20, p. 1277–1283, 1987.

TEERANACHAIDEEKUL, V.; JUNYAPRASERT, V. B.; SOUTO, E. B.; MÜLLER, R. H. Development of ascorbyl palmitate nanocrystals applying the nanosuspension technology. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 354, n. 1–2, p. 227–234, 16 abr. 2008.

THE MERCK INDEX. **The Merck Index**. 13. ed. [s.l.] Merck & Co., 2001.

TIMÓTEO, T. R. R.; DE MELO, C. G.; DANDA, L. J. DE A.; SILVA, L. C. P. B. B.; FONTES, D. A. F.; SILVA, P. C. D.; AGUILERA, C. S. B.; SIQUEIRA, L. DA P.; ROLIM,

L. A.; ROLIM NETO, P. J. Layered double hydroxides of CaAl: A promising drug delivery system for increased dissolution rate and thermal stability of praziquantel. **Applied Clay Science**, v. 180, n. July, p. 105197, 2019.

TOZIOPOULOU, F.; MALAMATARI, M.; NIKOLAKAKIS, I.; KACHRIMANIS, K. Production of aprepitant nanocrystals by wet media milling and subsequent solidification. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 533, n. 2, p. 324–334, 2017.

TRASTULLO, R.; DOLCI, L. S.; PASSERINI, N.; ALBERTINI, B. Development of flexible and dispersible oral formulations containing praziquantel for potential schistosomiasis treatment of pre-school age children. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 495, n. 1, p. 536–550, 10 nov. 2015.

TUOMELA, A.; HIRVONEN, J.; PELTONEN, L. **Stabilizing agents for drug nanocrystals: Effect on bioavailability** **Pharmaceutics**, 2016.

UNGÁR, T. Microstructural parameters from X-ray diffraction peak broadening. **Scripta Materialia**, v. 51, n. 8, p. 777–781, 1 out. 2004.

UNITED STATES PHARMACOPEIA AND NATIONAL FORMULARY (USP 38/NF 33). The dissolution procedure: development and validation <1092>. p. 7103–7123, 2015.

UNITED STATES PHARMACOPEIA AND NATIONAL FORMULARY (USP 41-NF 36). **United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 41-NF 36)**. [s.l.] United States Pharmacopeial Convention, 2018.

UTZINGER, J.; KEISER, J. Schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis: common drugs for treatment and control. **Expert Opin. Pharmacother**, v. 5, n. (2), p. 263–285, 2004.

VALLE, I. V. Métodos in Vitro E in Vivo Para Análise Sensorial De Medicamentos. **Trabalho de conclusão de curso (Pós-graduação Lato sensu) - Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos/FIOCRUZ**, 2017.

VAN DE HULST, H. C. **Rigorous scattering theory for spheres of arbitrary size (Mie theory) techniques. Em: Light scattering by small particles**. New York: Dover Publications Inc., 1981.

VAN DOOREN, A. A.; MÜLLER, B. W. Effects of heating rate and particle size on temperatures and specific enthalpies in quantitative differential scanning calorimetry. **Thermochimica Acta**, v. 54, n. 1–2, p. 115–129, 1982.

VARMUZA, K.; FILZMOSE, P. **Introduction to Multivariate Statistical Analysis in Chemometrics**. [s.l: s.n.].

VEHRING, R. Pharmaceutical particle engineering via spray drying. **Pharmaceutical Research**, v. 25, n. 5, p. 999–1022, 2008.

VERRUE, C.; MEHUYS, E.; BOUSSERY, K.; REMON, J. P.; PETROVIC, M. Tablet-splitting: A common yet not so innocent practice. **Journal of Advanced Nursing**, v.

67, n. 1, p. 26–32, 2011.

WALSH, J.; CRAM, A.; WOERTZ, K.; BREITKREUTZ, J.; WINZENBURG, G.; TURNER, R. Playing hide and seek with poorly tasting paediatric medicines: Do not forget the excipients. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 73, p. 14–33, 30 jun. 2014.

WANG, G. D.; MALLET, F. P.; RICARD, F.; HENG, J. Y. Y. Pharmaceutical nanocrystals. **Current Opinion in Chemical Engineering**, v. 1, n. 2, p. 102–107, 2012.

WANG, H.; FANG, Z. Z.; ZHENG, Y.; ZHOU, K.; HU, C.; KRAUSZ, K. W.; SUN, D.; IDLE, J. R.; GONZALEZ, F. J. Metabolic profiling of praziquantel enantiomers. **Biochemical Pharmacology**, v. 90, n. 2, p. 166–178, 2014.

WANG, Y.; ZHENG, Y.; ZHANG, L.; WANG, Q.; ZHANG, D. Stability of nanosuspensions in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 172, n. 3, p. 1126–1141, 28 dez. 2013.

WILLIAMS, H. D.; TREVASKIS, N. L.; CHARMAN, S. A.; SHANKER, R. M.; CHARMAN, W. N.; POUTON, C. W.; PORTER, C. J. H. Strategies to Address Low Drug Solubility in Discovery and Development. **Pharmacological Reviews**, v. 65, n. 1, p. 315–499, 2013.

WOELFLE, M.; SEERDEN, J. P.; DE GOOIJER, J.; POWWER, K.; OLLIARO, P.; TODD, M. H. Resolution of praziquantel. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 9, p. 1–7, 2011.

WOERTZ, K.; TISSEN, C.; KLEINEBUDDE, P.; BREITKREUTZ, J. Performance qualification of an electronic tongue based on ICH guideline Q2. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 51, n. 3, p. 497–506, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis: report of a WHO expert committee. 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Schistosomiasis: progress report 2001–2011 and strategic plan 2012–2020. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. International strategies for tropical disease treatments: Experiences with praziquantel. p. 1–116, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Drug Development and Evaluation for Helminths and Other Neglected Tropical Diseases (2007) Business Plan 2008-2013. 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Children's medicines: A situational analysis. 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. TDR Results 2013 Report. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. WHO Model List of Essential Medicines for Children. n. 6th edition, 2017a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. 20th WHO Model List of Essential Medicines. 2017b.

WU, L.; ZHANG, J.; WATANABE, W. Physical and chemical stability of drug nanoparticles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 63, n. 6, p. 456–469, 30 maio 2011.

YANG, R.; ZHANG, T.; YU, J.; LIU, Y.; WANG, Y.; HE, Z. In vitro/vivo assessment of praziquantel nanocrystals: Formulation, characterization, and pharmacokinetics in beagle dogs. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 000, p. 1–8, 2018.

YANG, R.; ZHANG, T.; YU, J.; LIU, Y.; WANG, Y.; HE, Z. In vitro/vivo assessment of praziquantel nanocrystals: Formulation, characterization, and pharmacokinetics in beagle dogs. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 14, n. 3, p. 321–328, 2019.

YUE-HAN, L.; MING-XIN, Q.; XIAO-GEN, W.; YU-ZHU, Q.; SHEN-HE, Y.; BO-YI, C.; JIA-SHENG, L.; ZONG-YING, Q. Levo-praziquantel versus praziquantel in experimental and clinical treatment of schistosomiasis japonica. **Chinese Medical Journal**, v. 106, n. 08, p. 593–596, 1993.

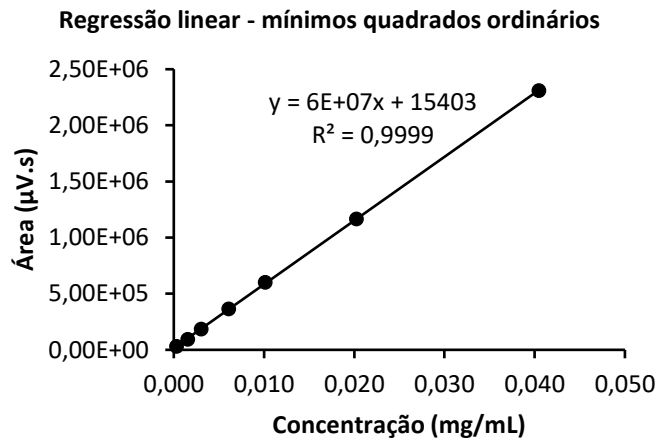
ZAJICEK, A.; FOSSLER, M. J.; BARRETT, J. S.; WORTHINGTON, J. H.; TERNIK, R.; CHARKOFTAKI, G.; LUM, S.; BREITKREUTZ, J.; BALTEZOR, M.; MACHERAS, P.; KHAN, M.; AGHARKAR, S.; MACLAREN, D. D. A Report from the Pediatric Formulations Task Force: Perspectives on the State of Child-Friendly Oral Dosage Forms. **The AAPS Journal**, v. 15, n. 4, p. 1072–1081, 2013.

ZHANG, D.; WANG, H.; JI, J.; NIE, L.; SUN, D. A quantification method for determination of racemate praziquantel and R-enantiomer in rat plasma for comparison of their pharmacokinetics. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1048, p. 64–69, 2017.

ZHANG, Y.; HUO, M.; ZHOU, J.; ZOU, A.; LI, W.; YAO, C.; XIE, S. DDSolver: An add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles. **AAPS Journal**, v. 12, n. 3, p. 263–271, 2010.

APÊNDICE A – CURVA DE CALIBRAÇÃO DO PZQ EM HPLC

Concentração (mg/mL)	Área (µV.s)			Média	DP	DPR (%)
	1	2	3			
0,0003	28091,50	29788,00	29065,50	28981,67	851,35	2,94%
0,0015	98924,00	91466,50	92203,50	94198,00	4109,39	4,36%
0,0030	183794,00	184982,50	184575,00	184450,50	603,95	0,33%
0,0061	367980,50	361144,00	365827,50	364984,00	3495,43	0,96%
0,0101	601852,50	593768,00	608658,00	601426,17	7454,15	1,24%
0,0202	1169763,50	1148605,00	1174902,00	1164423,50	13938,07	1,20%
0,0404	2314557,00	2313461,00	2297123,00	2308380,33	9764,53	0,42%



ANOVA de mínimos quadrados ordinários

	SQ	GL	MQ	$R^2_{(det)}$	F_{crit}	$F_{(p-1)(n-p)}$
Regressão	1,20E+13	1	1,20E+13	0,99987	149759	4,380750
Resíduos	1,524E+09	19	8,021E+07			
Total	1,20E+13	20	6,01E+11			

✓ VÁLIDO

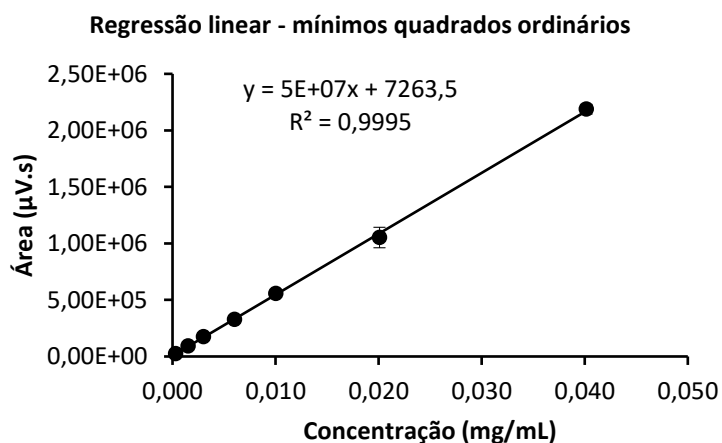
	SQ	GL	MQ	$R^2_{(máx)}$	F_{crit}	$F_{(m-p)(n-m)}$
F. ajuste	7,73E+08	5	1,55E+08	0,9999	2,88378	2,958249
Erro puro	7,51E+08	14	5,36E+07			
Resíduos	1,52E+09	19	8,02E+07			

✓ VÁLIDO

* $\alpha=0,05$

APÊNDICE B – CURVA DE CALIBRAÇÃO DO L-PZQ EM HPLC

Concentração (mg/mL)	Área (µV.s)			Média	DP	DPR (%)
	1	2	3			
0,0003	20995	22388	35082	26155,000	7762,320	29,68%
0,0015	90883	102611	86317	93270,333	8405,244	9,01%
0,0030	184869	176306	167373	176182,667	8748,652	4,97%
0,0060	340923	338555	307620	329032,667	18581,673	5,65%
0,0100	576690	553825	545928	558814,333	15976,397	2,86%
0,0201	1109535	1099642	947511	1052229,333	90823,537	8,63%
0,0402	2202639	2221852	2138663	2187718,000	43555,477	1,99%



ANOVA de mínimos quadrados ordinários

	SQ	GL	MQ	R^2 (det)	F_{crit}	$F_{(p-1)(n-p)}$
Regressão	1,07E+13	1	1,07E+13	0,99744	7396	4,380750
Resíduos	2,74E+10	19	1,44E+09			
Total	1,07E+13	20	5,35E+11		✔ VÁLIDO	

	SQ	GL	MQ	R^2 (máx)	F_{crit}	$F_{(m-p)(n-m)}$
F. ajuste	5,51E+09	5	1,10E+09	0,9980	0,7037969	2,958249
Erro puro	2,19E+10	14	1,56E+09			
Resíduos	2,74E+10	19	1,44E+09		✔ VÁLIDO	

* $\alpha=0,05$

APÊNDICE C – SOLUBILIDADE: RESULTADOS E COMPARAÇÃO

Tabela 52. Concentração do rac-PZQ em água e em diferentes meios a 25 °C até a estabilização.

Estabilizante (0,2% (m/v))	C (µg/mL) (média ± DP (DPR%))			
	Tempo	3 h	24 h	48 h
-		196,06 ± 1,77 (0,90)	200,03 ± 3,54 (1,77)	198,04 ± 2,25 (1,14)
LSS		383,67 ± 56,88 (14,82)	421,17 ± 5,73 (1,36)	414,65 ± 0,94 (0,23)
Tween 80		-	239,02 ± 4,62 (1,93)	249,47 ± 2,80 (1,12)
HPMC		184,36 ± 1,90 (1,03)	192,31 ± 0,00 (0,00)	192,04 ± 1,90 (0,99)
Poloxâmero 188		206,31 ± 0,00 (0,00)	208,52 ± 0,48 (0,23)	206,59 ± 0,48 (0,23)
Poloxâmero 407		205,75 ± 3,68 (1,79)	213,08 ± 2,62 (1,23)	212,27 ± 1,25 (0,59)
PVP K30		213,67 ± 8,85 (4,14)	219,19 ± 3,13 (1,43)	218,09 ± 6,62 (3,03)
Soluplus		-	-	351,41 ± 40,13 (11,42)

Tabela 53. Concentração do L-PZQ em água e em diferentes meios a 25 °C até a estabilização.

Estabilizante (0,2% (m/v))	C (µg/mL) (média ± DP (DPR%))			
	Tempo	3 h	24 h	48 h
-		295,43 ± 8,25 (2,79)	283,69 ± 8,93 (3,15)	272,81 ± 4,24 (1,55)
LSS*		659,61 ± 7,22 (1,10)	690,84 ± 2,18 (0,32)	748,68 ± 22,33 (2,98)
Poloxâmero 407		318,56 ± 0,97 (0,30)	319,40 ± 0,97 (0,30)	310,99 ± 2,57 (0,83)
PVP K30		308,07 ± 3,73 (1,21)	304,93 ± 4,71 (1,55)	300,94 ± 6,07 (2,02)
Soluplus		-	345,56 ± 4,81 (1,39)	367,66 ± 13,93 (3,79)

*LSS foi lido em 72h com resultado de 783,39 ± 3,05 (0,39)

Tabela 54. ANOVA de fator único para a solubilidade do rac-PZQ na presença de diferentes estabilizantes.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Tratamento (entre colunas)	131411	6	21902	F (6, 14) = 91,87	P<0,0001
Residual (dentro das colunas)	3338	14	238,4		
Total	134749	20			

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 55. Teste de Tukey aplicado aos valores da solubilidade do rac-PZQ na presença de diferentes estabilizantes.

	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
POL 188 vs. HPMC	Não	-	0,9000
POL 407 vs. HPMC	Não	-	0,6820
PVP K30 vs. HPMC	Não	-	0,4201
LSS vs. HPMC	Sim	****	<0,0001
TWEEN 80 vs. HPMC	Sim	**	0,0063
SOLUPLUS vs. HPMC	Sim	****	<0,0001
POL 407 vs. POL 188	Não	-	0,9991
PVP K30 vs. POL 188	Não	-	0,9644
LSS vs. POL 188	Sim	****	<0,0001
TWEEN 80 vs. POL 188	Não	-	0,0512
SOLUPLUS vs. POL 188	Sim	****	<0,0001
PVP K30 vs. POL 407	Não	-	0,9990
LSS vs. POL 407	Sim	****	<0,0001
TWEEN 80 vs. POL 407	Não	-	0,1119
SOLUPLUS vs. POL 407	Sim	****	<0,0001
LSS vs. PVP K30	Sim	****	<0,0001
TWEEN 80 vs. PVP K30	Não	-	0,2342
SOLUPLUS vs. PVP K30	Sim	****	<0,0001
TWEEN 80 vs. LSS	Sim	****	<0,0001
SOLUPLUS vs. LSS	Sim	**	0,0028
SOLUPLUS vs. TWEEN 80	Sim	****	<0,0001

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 56. ANOVA de fator único para a solubilidade do L-PZQ na presença de diferentes estabilizantes.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Tratamento (entre colunas)	477386	3	159129	F (3, 8) = 2579	P < 0,0001
Residual (dentro das colunas)	493,5	8	61,69		
Total	477879	11			

SQ: soma de quadrados; gl: graus de liberdade; MQ: média quadrática.

Tabela 57. Teste de Tukey aplicado aos valores da solubilidade do L-PZQ na presença de diferentes estabilizantes.

	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
PVP K30 vs. POL 407	Não	-	0,446
LSS vs. POL 407	Sim	****	< 0,0001
SOLUPLUS vs. POL 407	Sim	****	< 0,0001
LSS vs. PVP K30	Sim	****	< 0,0001
SOLUPLUS vs. PVP K30	Sim	****	< 0,0001
SOLUPLUS vs. LSS	Sim	****	< 0,0001

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

APÊNDICE D – COMPILADO TAMANHO DE PARTÍCULA

Tabela 58. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada e índices de polidispersão (span) para as amostras em suspensão ao longo do tempo da moagem.

Amostra	Tempo (min)	Tamanho de partícula (µm)			Span
		d10	d50	d90	
MC1	0	4,55	14,1	35,5	2,2
	25	2,61	9,17	23,70	2,30
MC2	0	4,30	14,20	36,70	2,29
	25	2,79	9,25	24,50	2,35
MC3	0	3,24	11,10	29,90	2,40
	25	0,43	5,87	20,30	3,38
MC4	0	4,01	13,50	37,80	2,51
	25	0,79	7,54	21,50	2,74
MC5	0	3,69	13,30	35,70	2,41
	25	0,54	6,84	17,30	2,45
MP1	10	1,15	2,94	6,60	1,86
	30	0,49	1,47	5,00	3,06
	60	0,36	0,58	3,82	6,03
	120	0,30	0,48	6,11	12,21
	180	0,28	0,45	8,59	18,48
MP2	10	1,43	3,25	7,35	1,82
	30	0,48	1,73	5,01	2,62
	60	0,36	0,62	5,42	8,15
	120	0,32	0,53	10,90	20,10
	180	0,36	686,00	1990,00	2,90
MP3	10	0,38	2,55	6,96	2,57
	30	0,39	0,71	5,74	7,49
	60	0,31	0,51	7,18	13,38
	120	0,25	0,41	6,81	16,20
	180	0,20	0,34	0,56	1,07
MP4	10	1,12	2,88	6,83	1,98
	30	0,47	1,17	4,35	3,32
	60	0,39	0,66	5,55	7,87
MP5	10	0,81	2,36	4,35	1,50
	30	0,34	0,76	3,26	3,84
	60	0,24	0,44	3,13	6,53
MC6	0	8,94	21,00	46,40	1,79
	25	6,47	16,00	33,90	1,71
MP6	10	1,76	4,05	20,70	4,69
	30	0,49	1,51	17,00	10,92
	60	0,42	0,76	10,90	13,89

Tabela 59. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada e índices de polidispersão (span) para as amostras em suspensão no tempo final da moagem.

Amostra	Tempo (min)	Tamanho de partícula (µm)			Span
		d10	d50	d90	
MC1	25	2,61	9,17	23,70	2,30
MC2	25	2,79	9,25	24,50	2,35
MC3	25	0,43	5,87	20,30	3,38
MC4	25	0,79	7,54	21,50	2,74
MC5	25	0,54	6,84	17,30	2,45
MP1	180	0,28	0,45	8,59	18,48
MP2	180	0,36	686,00	1990,00	2,90
MP3	180	0,20	0,34	0,56	1,07
MP4	60	0,39	0,66	5,55	7,87
MP5	60	0,24	0,44	3,13	6,53
MC6	25	6,47	16,00	33,90	1,71
MP6	60	0,42	0,76	10,90	13,89

Tabela 60. Diâmetros de corte para diferentes percentis da distribuição acumulada e índices de polidispersão (span) para as amostras em pó (secas após moagem).

Amostra	Tamanho de partícula (µm)			
	d10 (média ± DP)	d50 (média ± DP)	d90 (média ± DP)	Span (média ± DP)
rac-PZQ	4,19 ± 0,76	18,57 ± 2,99	1903,33 ± 202,32	105,17 ± 25,70
MC1	4,55 ± 0,27	8,23 ± 0,64	16,17 ± 1,42	1,41 ± 0,04
MC2	3,45 ± 0,31	9,39 ± 0,82	30,80 ± 6,01	2,89 ± 0,48
MC3	1,82 ± 0,08	5,76 ± 0,19	20,57 ± 2,12	3,26 ± 0,32
MC4	3,85 ± 0,29	10,51 ± 0,64	42,17 ± 3,58	3,64 ± 0,24
MC5	4,98 ± 0,28	11,77 ± 0,15	32,00 ± 6,02	2,30 ± 0,54
MP1	3,46 ± 0,29	7,77 ± 0,54	16,07 ± 0,74	1,62 ± 0,06
MP2	3,14 ± 0,17	7,93 ± 0,22	17,23 ± 0,86	1,78 ± 0,15
MP3	2,71 ± 0,22	6,96 ± 0,32	17,83 ± 0,42	2,18 ± 0,17
MP4	2,57 ± 0,05	6,83 ± 0,17	23,83 ± 3,23	3,11 ± 0,40
MP5	2,99 ± 0,18	8,76 ± 0,23	24,20 ± 0,75	2,42 ± 0,10

APÊNDICE E – CARACTERIZAÇÃO DOS EXCIPIENTES

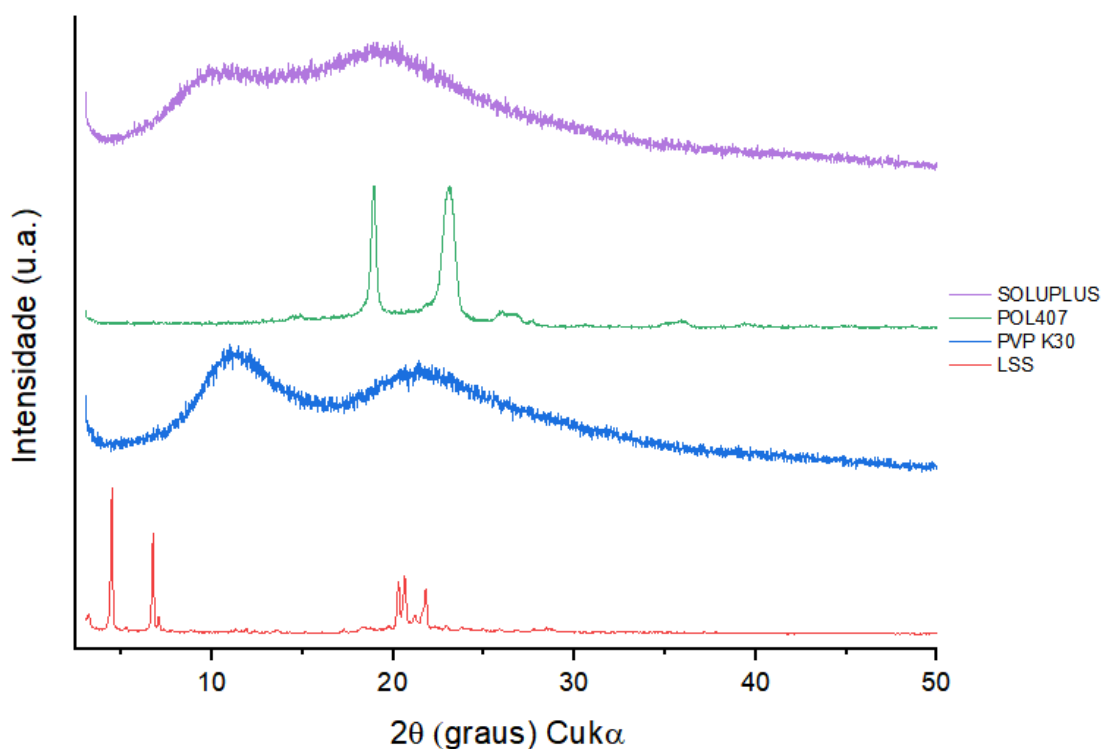


Figura 67. Padrões de difração dos estabilizantes utilizados nas formulações.

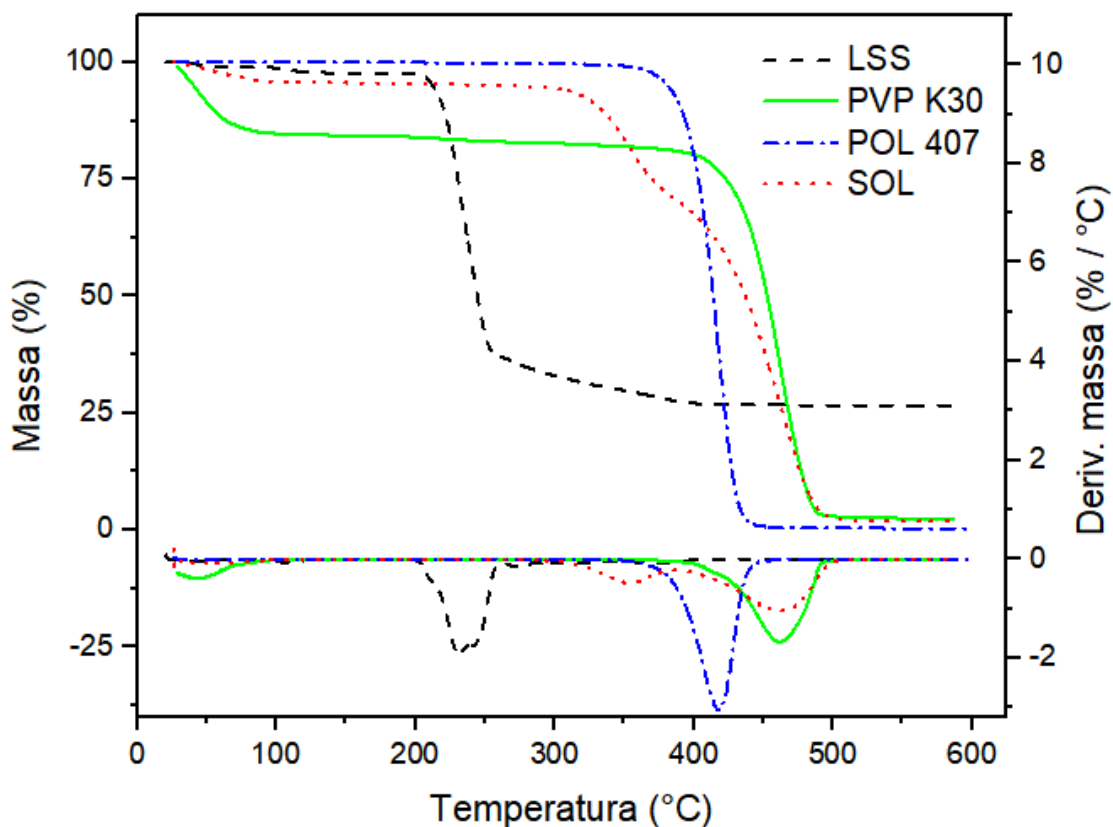


Figura 68. Curvas TGA/DTG dos excipientes LSS, PVP K30, POL 407 e Soluplus.

Tabela 61. Dados da análise termogravimétrica para dos excipientes LSS, PVP K30, POL 407 e Soluplus.

Amostra	Massa (mg)	Etapa	T _{onset} (°C)	T _{máx} (°C)	Perda de massa (%)
LSS	5,511	1	101,41	103,83	2,35
		2	268,96	230,91	70,76
PVP K30	4,395	1	26,89	43,38	16,45
		2	436,19	461,71	80,84
POL 407	8,662	1	397,91	416,61	99,39
SOL	9,122	1	43,12	55,57	4,17
		2	328,80	353,49	23,48
		3	429,010	461,75	70,235

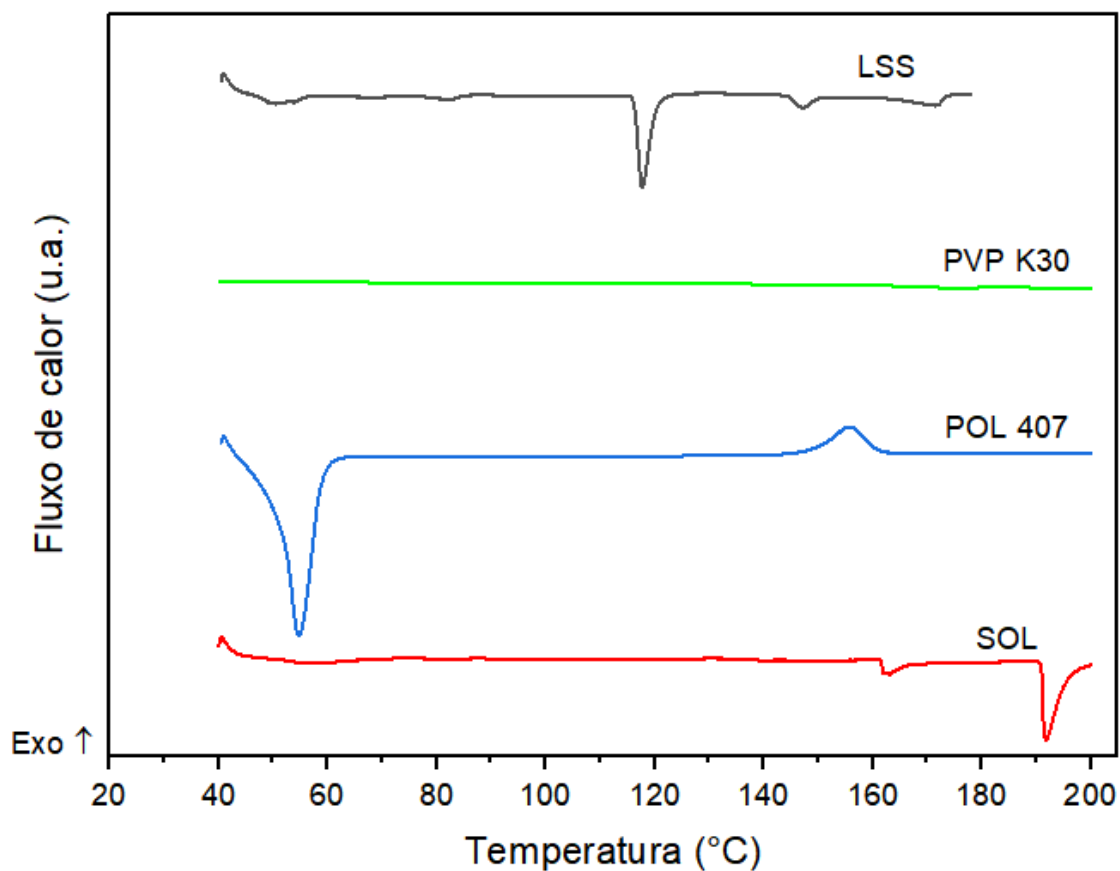


Figura 69. Curvas DSC dos excipientes LSS, PVP K30, POL 407 e Soluplus.

Tabela 62. Dados da análise de DSC para excipientes LSS, PVP K30, POL 407 e Soluplus.

Amostra	Evento	Temperatura (°C)	Entalpia (J/g)
LSS	1	82,07	2,07
	2	116,31	26,21
	3	147,11	4,48
	4	171,38	3,83
PVP K30		168,07*	-
POL 407	1	54,73	131,30
	2	155,87	23,73
SOL	1	58,41	7,48
	2	163,08	5,48
	3	191,85	31,01

*Temperatura de transição vítrea (Tg) determinada em segundo ciclo de aquecimento.

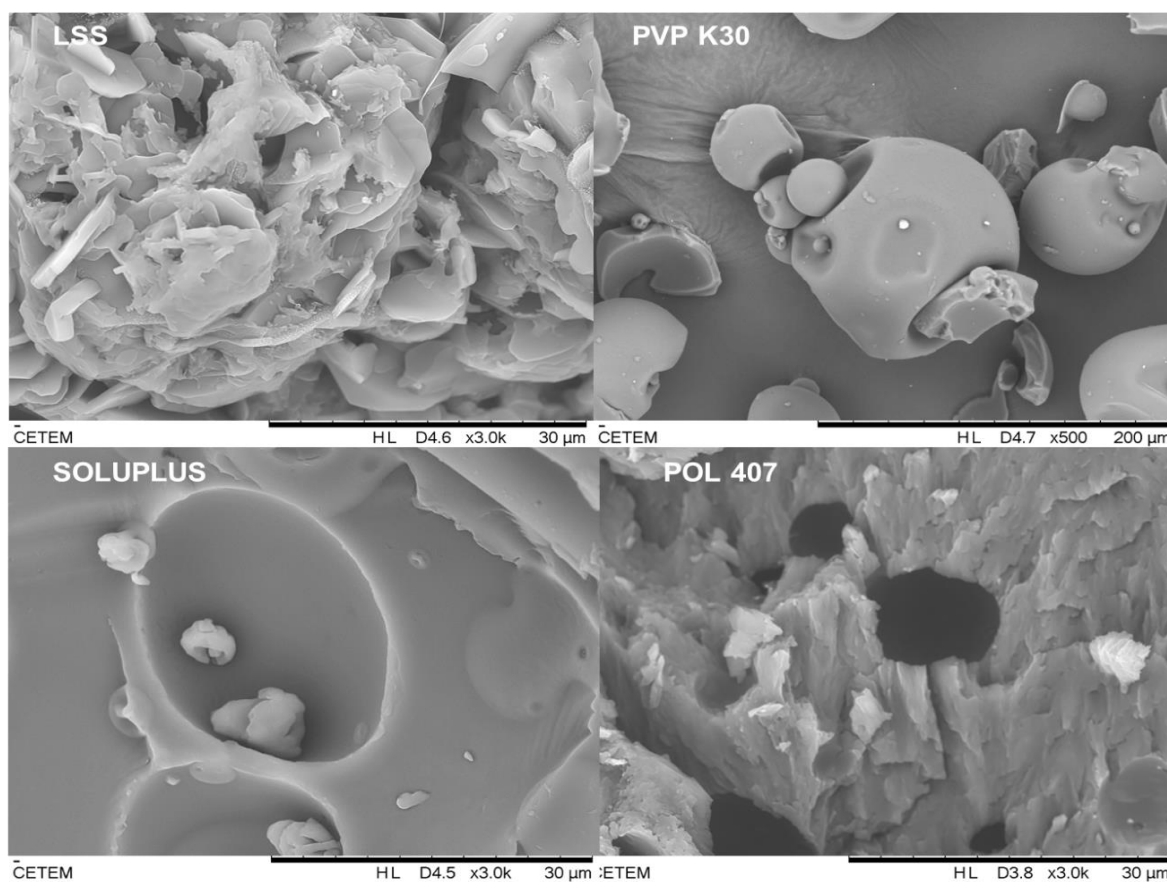


Figura 70. Micrografias dos estabilizantes utilizados nas formulações.

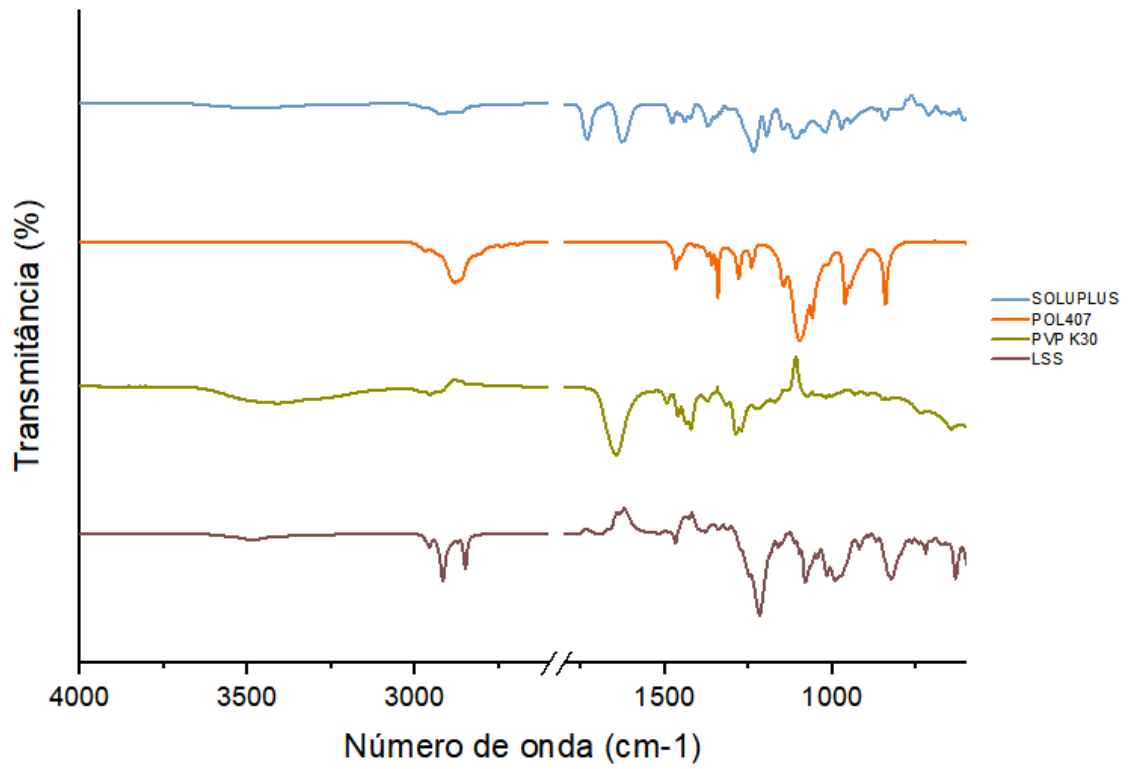


Figura 71. Padrões de difração dos estabilizantes utilizados nas formulações.

APÊNDICE F – DISSOLUÇÃO: COMPARAÇÃO ESTATÍSTICA

Tabela 63. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MC1, MC2 e MC3.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Interações	838,8	10	83,88	F (10, 30) = 72,83	P<0,0001
Tempo	7571	5	1514	F (5, 30) = 1315	P<0,0001
Formulação	3677	2	1839	F (2, 6) = 16,49	P=0,0036
Dentro do grupo	668,9	6	111,5	F (6, 30) = 96,80	P<0,0001
Residual	34,55	30	1,152		

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 64. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MC1, MC2 e MC3.

	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
5 minutos			
MC2 vs. MC1	Sim	*	0,0304
MC3 vs. MC1	Sim	**	0,0066
MC3 vs. MC2	Sim	****	<0,0001
10 minutos			
MC2 vs. MC1	Sim	**	0,0020
MC3 vs. MC1	Não	-	0,5276
MC3 vs. MC2	Sim	****	<0,0001
15 minutos			
MC2 vs. MC1	Sim	****	<0,0001
MC3 vs. MC1	Não	-	0,6405
MC3 vs. MC2	Sim	***	0,0001
30 minutos			
MC2 vs. MC1	Sim	****	<0,0001
MC3 vs. MC1	Sim	**	0,0045
MC3 vs. MC2	Sim	**	0,0076
45 minutos			
MC2 vs. MC1	Sim	****	<0,0001
MC3 vs. MC1	Sim	**	0,0013
MC3 vs. MC2	Sim	*	0,0154
60 minutos			
MC2 vs. MC1	Sim	****	<0,0001
MC3 vs. MC1	Sim	**	0,0049

MC3 vs. MC2 Sim ** 0,0063

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 65. ANOVA de fator único para a % dissolvida em 60 minutos das amostras MC1, MC2 e MC3.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Tratamento (entre colunas)	867,7	2	433,8	F (2, 6) = 18,65	P=0,0027
Residual (dentro das colunas)	139,6	6	23,26		
Total	1007	8			

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 66. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida em 60 minutos das amostras MC1, MC2 e MC3.

	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
60 minutos			
MC2 vs. MC1	Sim	**	0,0021
MC3 vs. MC1	Sim	*	0,0482
MC3 vs. MC2	Não	-	0,0538

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 67. ANOVA de fator único para a eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras MC1, MC2 e MC3.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Tratamento (entre colunas)	713,6	2	356,8	F (2, 6) = 20,27	P=0,0021
Residual (dentro das colunas)	105,6	6	17,6		
Total	819,3	8			

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 68. Teste de Tukey aplicado aos valores de eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras MC1, MC2 e MC3.

	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
90 minutos			
MC2 vs. MC1	Sim	**	0,0017
MC3 vs. MC1	Sim	*	0,0479
MC3 vs. MC2	Sim	*	0,0394

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 69. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MP1, MP2 e MP3.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Interações	1744	10	174,4	F (10, 30) = 46,93	P<0,0001
Tempo	16007	5	3201	F (5, 30) = 861,3	P<0,0001
Formulação	3329	2	1665	F (2, 6) = 48,53	P=0,0002
Dentro do grupo	205,8	6	34,3	F (6, 30) = 9,229	P<0,0001
Residual	111,5	30	3,717		

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 70. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MP1, MP2 e MP3.

	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
5 minutos			
MP2 vs. MP1	Sim	****	<0,0001
MP3 vs. MP1	Sim	**	0,0031
MP3 vs. MP2	Sim	****	<0,0001
10 minutos			
MP2 vs. MP1	Sim	****	<0,0001
MP3 vs. MP1	Não	-	0,5185
MP3 vs. MP2	Sim	****	<0,0001
15 minutos			
MP2 vs. MP1	Sim	****	<0,0001
MP3 vs. MP1	Não	-	0,4174
MP3 vs. MP2	Sim	****	<0,0001
30 minutos			
MP2 vs. MP1	Sim	****	<0,0001
MP3 vs. MP1	Sim	**	0,0023
MP3 vs. MP2	Não	-	0,1768
45 minutos			
MP2 vs. MP1	Sim	**	0,0018
MP3 vs. MP1	Sim	*	0,0115
MP3 vs. MP2	Não	-	0,7787
60 minutos			
MP2 vs. MP1	Sim	*	0,0444
MP3 vs. MP1	Não	-	0,3388
MP3 vs. MP2	Não	-	0,5375

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 71. ANOVA de fator único para a % dissolvida em 60 minutos das amostras MP1, MP2 e MP3.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Tratamento (entre colunas)	55,33	2	27,66	F (2, 6) = 11,86	P=0,0082
Residual (dentro das colunas)	13,99	6	2,332		
Total	69,32	8			

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 72. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida em 60 minutos das amostras MP1, MP2 e MP3.

	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
60 minutos			
MP2 vs. MP1	Sim	**	0,0068
MP3 vs. MP1	Não	-	0,0724
MP3 vs. MP2	Não	-	0,1736

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 73. ANOVA de fator único para a eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras MP1, MP2 e MP3.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Tratamento (entre colunas)	196,9	2	98,47	F (2, 6) = 31,27	P=0,0007
Residual (dentro das colunas)	18,89	6	3,149		
Total	215,8	8			

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 74. Teste de Tukey aplicado aos valores de eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras MP1, MP2 e MP3.

	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
90 minutos			
MP2 vs. MP1	Sim	***	0,0006
MP3 vs. MP1	Não	-	0,1912
MP3 vs. MP2	Sim	**	0,0033

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 75. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MC1 e MC4.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Interações	175,9	5	35,18	F (5, 20) = 6,221	P=0,0012
Tempo	2977	5	595,4	F (5, 20) = 105,3	P<0,0001
Amostra	50,6	1	50,6	F (1, 4) = 0,4388	P=0,5439
Dentro do grupo	461,3	4	115,3	F (4, 20) = 20,39	P<0,0001
Residual	113,1	20	5,656		

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 76. Teste de Sidak aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MC1 e MC4.

MC4 vs. MC1	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
5 minutos	Não	-	0,5149
10 minutos	Não	-	0,9998
15 minutos	Não	-	0,9781
30 minutos	Não	-	0,8849
45 minutos	Não	-	0,3622
60 minutos	Não	-	0,7998

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 77. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MC2 e MC5.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Interações	16,09	5	3,218	F (5, 20) = 2,331	P=0,0803
Tempo	5350	5	1070	F (5, 20) = 775,2	P<0,0001
Amostra	106,4	1	106,4	F (1, 4) = 1,239	P=0,3280
Dentro do grupo	343,4	4	85,85	F (4, 20) = 62,20	P<0,0001
Residual	27,61	20	1,38		

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 78. Teste de Sidak aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MC2 e MC5.

MC5 vs. MC2	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
5 minutos	Não	-	0,8898
10 minutos	Não	-	0,3506
15 minutos	Não	-	0,7957
30 minutos	Não	-	0,9702
45 minutos	Não	-	0,9897
60 minutos	Não	-	0,9561

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 79. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MP1 e MP4.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Interações	381	5	76,2	F (5, 20) = 41,69	P<0,0001
Tempo	7805	5	1561	F (5, 20) = 854,2	P<0,0001
Amostra	993,5	1	993,5	F (1, 4) = 49,45	P=0,0022
Dentro do grupo	80,37	4	20,09	F (4, 20) = 10,99	P<0,0001
Residual	36,55	20	1,827		

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 80. Teste de Sidak aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MP1 e MP4.

MP4 vs. MP1	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
5 minutos	Não	-	0,7379
10 minutos	Sim	****	<0,0001
15 minutos	Sim	***	0,0004
30 minutos	Sim	****	<0,0001
45 minutos	Sim	****	<0,0001
60 minutos	Sim	****	<0,0001

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 81. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MP2 e MP5.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Interações	102	5	20,4	F (5, 20) = 7,199	P=0,0005
Tempo	5546	5	1109	F (5, 20) = 391,5	P<0,0001
Amostra	55,81	1	55,81	F (1, 4) = 5,376	P=0,0813
Dentro do grupo	41,53	4	10,38	F (4, 20) = 3,664	P=0,0214
Residual	56,67	20	2,833		

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 82. Teste de Sidak aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MP2 e MP5.

MP5 vs. MP2	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
5 minutos	Sim	****	<0,0001
10 minutos	Não	-	0,0595
15 minutos	Não	-	0,9796
30 minutos	Não	-	0,9892
45 minutos	Não	-	>0,9999
60 minutos	Não	-	0,9855

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 83. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras finais MC4, MC5 e MC3.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Interações	342,8	10	34,28	F (10, 30) = 6,651	P<0,0001
Tempo	9242	5	1848	F (5, 30) = 358,7	P<0,0001
Formulação	4528	2	2264	F (2, 6) = 20,58	P=0,0021
Dentro do grupo	660,1	6	110	F (6, 30) = 21,35	P<0,0001
Residual	154,6	30	5,154		

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 84. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida das amostras finais MC4, MC5 e MC3.

	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
5 minutos			
MC5 vs. MC4	Sim	****	<0,0001
MC3 vs. MC4	Não	-	0,3786
MC3 vs. MC5	Sim	****	<0,0001
10 minutos			
MC5 vs. MC4	Sim	***	0,0001
MC3 vs. MC4	Não	-	0,3829
MC3 vs. MC5	Sim	****	<0,0001
15 minutos			
MC5 vs. MC4	Sim	****	<0,0001
MC3 vs. MC4	Não	-	0,9957
MC3 vs. MC5	Sim	****	<0,0001
30 minutos			
MC5 vs. MC4	Sim	****	<0,0001
MC3 vs. MC4	Não	-	0,1075
MC3 vs. MC5	Sim	**	0,0024
45 minutos			
MC5 vs. MC4	Sim	****	<0,0001
MC3 vs. MC4	Não	-	0,2355
MC3 vs. MC5	Sim	**	0,0068
60 minutos			
MC5 vs. MC4	Sim	****	<0,0001
MC3 vs. MC4	Não	-	0,1566
MC3 vs. MC5	Sim	**	0,0018

- $P > 0,05$; * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$; **** $P \leq 0,0001$.

Tabela 85. ANOVA de fator único para a % dissolvida em 60 minutos das amostras finais MC4, MC5 e MC3.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Tratamento (entre colunas)	745,6	2	372,8	F (2, 6) = 15,51	P = 0,0043
Residual (dentro das colunas)	144,2	6	24,03		
Total	889,8	8			

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 86. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida em 60 minutos das amostras finais MC4, MC5 e MC3.

	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
60 minutos			
MC5 vs. MC4	Sim	**	0,0038
MC3 vs. MC4	Não	-	0,2379
MC3 vs. MC5	Não	*	0,0252

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 87. ANOVA de fator único para a eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras finais MC4, MC5 e MC3.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Tratamento (entre colunas)	594,5	2	297,3	F (2, 6) = 17,17	P = 0,0033
Residual (dentro das colunas)	103,9	6	17,31		
Total	698,4	8			

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 88. Teste de Tukey aplicado aos valores de eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras finais MC4, MC5 e MC3.

	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
90 minutos			
MC5 vs. MC4	Sim	**	0,003
MC3 vs. MC4	Não	-	0,2758
MC3 vs. MC5	Sim	*	0,0168

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 89. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras finais MP4, MP5 e MP3.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Interações	1726	10	172,6	F (10, 30) = 55,12	P<0,0001
Tempo	14102	5	2820	F (5, 30) = 900,8	P<0,0001
Formulação	5878	2	2939	F (2, 6) = 68,41	P<0,0001
Dentro do grupo	257,8	6	42,96	F (6, 30) = 13,72	P<0,0001
Residual	93,92	30	3,131		

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 90. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida das amostras finais MP4, MP5 e MP3.

	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
5 minutos			
MP5 vs. MP4	Sim	****	<0,0001
MP3 vs. MP4	Sim	***	0,0004
MP3 vs. MP5	Sim	****	<0,0001
10 minutos			
MP5 vs. MP4	Sim	****	<0,0001
MP3 vs. MP4	Sim	*	0,0240
MP3 vs. MP5	Sim	****	<0,0001
15 minutos			
MP5 vs. MP4	Sim	****	<0,0001
MP3 vs. MP4	Sim	***	0,0001
MP3 vs. MP5	Sim	****	<0,0001
30 minutos			
MP5 vs. MP4	Sim	****	<0,0001
MP3 vs. MP4	Sim	****	<0,0001
MP3 vs. MP5	Não	-	0,0953
45 minutos			
MP5 vs. MP4	Sim	****	<0,0001
MP3 vs. MP4	Sim	****	<0,0001
MP3 vs. MP5	Não	-	0,8245
60 minutos			
MP5 vs. MP4	Sim	****	<0,0001
MP3 vs. MP4	Sim	****	<0,0001
MP3 vs. MP5	Não	-	0,8310

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 91. ANOVA de fator único para a % dissolvida em 60 minutos das amostras finais MP4, MP5 e MP3.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Tratamento (entre colunas)	852,9	2	426,5	F (2, 6) = 115,2	P < 0,0001
Residual (dentro das colunas)	22,21	6	3,701		
Total	875,1	8			

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 92. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida em 60 minutos das amostras finais MP4, MP5 e MP3.

	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
60 minutos			
MP5 vs. MP4	Sim	****	< 0,0001
MP3 vs. MP4	Sim	****	< 0,0001
MP3 vs. MP5	Não	-	0,635

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 93. ANOVA de fator único para a eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras finais MP4, MP5 e MP3.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Tratamento (entre colunas)	845,2	2	422,6	F (2, 6) = 98,20	P < 0,0001
Residual (dentro das colunas)	25,82	6	4,304		
Total	871,1	8			

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 94. Teste de Tukey aplicado aos valores de eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras finais MP4, MP5 e MP3.

	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
90 minutos			
MP5 vs. MP4	Sim	****	< 0,0001
MP3 vs. MP4	Sim	***	0,0002
MP3 vs. MP5	Sim	*	0,0132

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 95. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MC5 e MP5.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Interações	62,98	5	12,6	F (5, 20) = 5,881	P=0,0017
Tempo	6036	5	1207	F (5, 20) = 563,6	P<0,0001
Formulação	2,498	1	2,498	F (1, 4) = 0,02777	P=0,8757
Dentro do grupo	359,9	4	89,98	F (4, 20) = 42,01	P<0,0001
Residual	42,84	20	2,142		

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 96. Teste de Sidak aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MC5 e MP5.

MP5 vs. MC5	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
5 minutos	Não	-	0,5996
10 minutos	Não	-	0,9660
15 minutos	Não	-	0,9815
30 minutos	Não	-	0,9915
45 minutos	Não	-	>0,9999
60 minutos	Não	-	>0,9999

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 97. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MC6, MP6 e MF4.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Interações	747,8	10	74,78	F (10, 30) = 7,144	P<0,0001
Tempo	11561	5	2312	F (5, 30) = 220,9	P<0,0001
Processamento	1077	2	538,6	F (2, 6) = 11,23	P=0,0094
Dentro do grupo	287,8	6	47,97	F (6, 30) = 4,582	P=0,0021
Residual	314	30	10,47		

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 98. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MC6, MP6 e MF4.

	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
5 minutos			
MP6 vs. MC6	Sim	****	<0,0001
MF4 vs. MC6	Não	-	0,0685
MF4 vs. MP6	Sim	****	<0,0001
10 minutos			
MP6 vs. MC6	Sim	*	0,0364
MF4 vs. MC6	Não	-	0,9959
MF4 vs. MP6	Sim	*	0,0445
15 minutos			
MP6 vs. MC6	Sim	*	0,0133
MF4 vs. MC6	Não	-	0,5872

MF4 vs. MP6	Sim	***	0,0009
30 minutos			
MP6 vs. MC6	Não	-	0,4409
MF4 vs. MC6	Não	-	0,2466
MF4 vs. MP6	Sim	*	0,0186
45 minutos			
MP6 vs. MC6	Não	-	0,7329
MF4 vs. MC6	Sim	*	0,0388
MF4 vs. MP6	Não	-	0,1833
60 minutos			
MP6 vs. MC6	Não	-	0,9995
MF4 vs. MC6	Não	-	0,9414
MF4 vs. MP6	Não	-	0,9305

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001

Tabela 99. ANOVA de fator único para a % dissolvida em 60 minutos das amostras MC6, MP6 e MF4.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Tratamento (entre colunas)	2,693	2	1,346	F (2, 6) = 0,1339	P=0,8772
Residual (dentro das colunas)	60,32	6	10,05		
Total	63,01	8			

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 100. Teste de Tukey aplicado aos valores de % dissolvida em 60 minutos das amostras finais MC6, MP6 e MF4.

	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
60 minutos			
MP6 vs. MC6	Não	-	0,9992
MF4 vs. MC6	Não	-	0,9058
MF4 vs. MP6	Não	-	0,8891

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001

Tabela 101. ANOVA de fator único para a eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras finais MC6, MP6 e MF4.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Tratamento (entre colunas)	74,12	2	37,06	F (2, 6) = 7,277	P=0,0249
Residual (dentro das colunas)	30,55	6	5,092		
Total	104,7	8			

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 102. Teste de Tukey aplicado aos valores de eficiência de dissolução em 90 minutos das amostras finais MC6, MP6 e MF4.

	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
90 minutos			
MP6 vs. MC6	Não	-	0,1387
MF4 vs. MC6	Não	-	0,3423
MF4 vs. MP6	Sim	*	0,0212

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001

APÊNDICE G – COMPARAÇÃO DA DISSOLUÇÃO ENTRE AMOSTRAS DE MESMA COMPOSIÇÃO

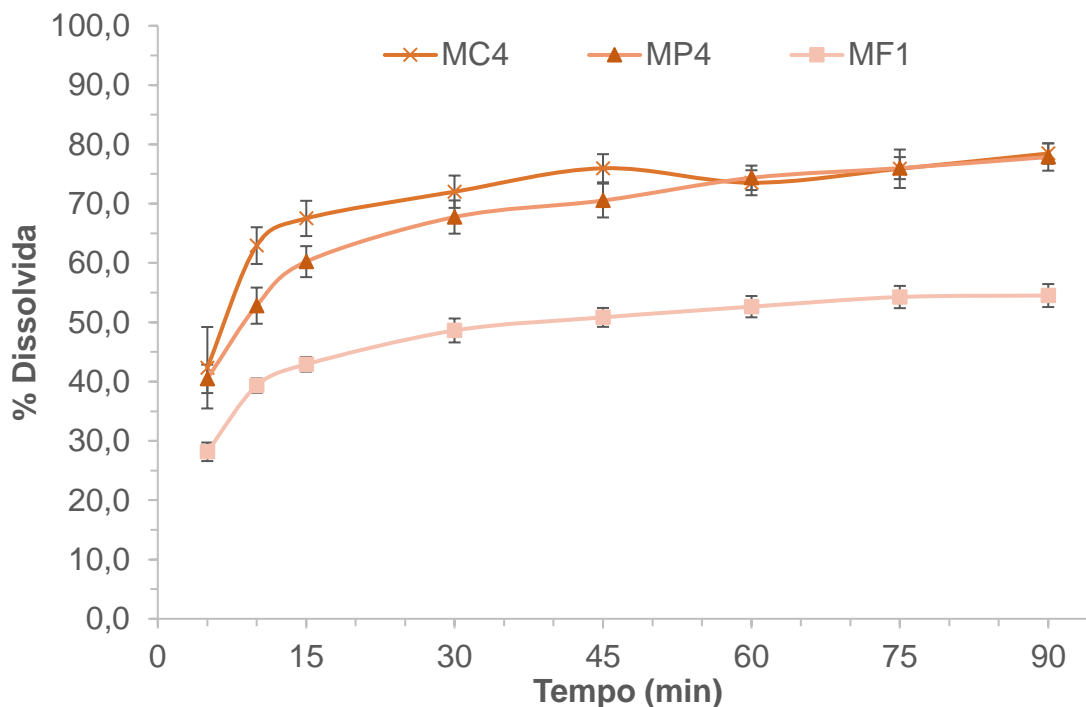


Figura 72. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó MC4, MP4 e MF1, de mesma composição.

Tabela 103. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MC4 e MP4.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Interações	113,1	5	22,63	F (5, 20) = 3,609	P=0,0173
Tempo	4590	5	918,1	F (5, 20) = 146,4	P<0,0001
Formulação	198,4	1	198,4	F (1, 4) = 6,351	P=0,0653
Dentro do grupo	124,9	4	31,23	F (4, 20) = 4,982	P=0,0060
Residual	125,4	20	6,269		

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 104. Teste de Sidak aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MC4 e MP4.

MP4 vs. MC4	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
5 minutos	Não	-	0,981
10 minutos	Sim	**	0,0047
15 minutos	Não	-	0,0632

30 minutos	Não	-	0,5306
45 minutos	Não	-	0,2653
60 minutos	Não	-	0,9998

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 105. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras em pó MC4, MP4 e MF1, de mesma composição.

Amostra	% dissolvida 60 min (média ± DP (DPR%))	Eficiência de dissolução 90 min (%) (média ± DP (DPR%))
MC4	73,52 ± 2,11 (2,87)	69,45 ± 0,78 (1,12)
MP4	74,35 ± 2,06 (2,77)	66,46 ± 2,21 (3,33)
MF1	52,63 ± 1,80 (3,42)	47,45 ± 1,61 (3,39)

Tabela 106. Comparação pelo fator f2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras MC4 e MP4.

Comparação até 15 minutos	f2	Similar?
MP4 vs. MC4	57	Sim

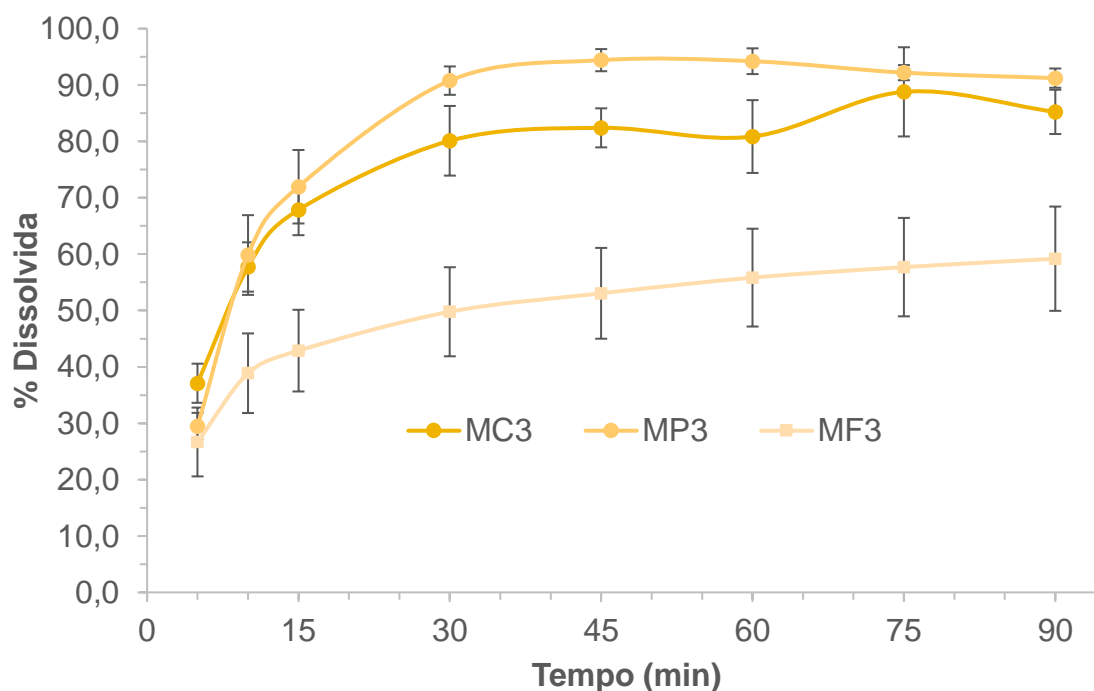


Figura 73. Comparação dos perfis de dissolução das amostras em pó MC3, MP3 e MF3, de mesma composição.

Tabela 107. ANOVA de fator duplo para a % dissolvida das amostras MC3 e MP3.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F (gl n, gl d)	valor-P
Interações	473,3	5	94,66	F (5, 20) = 23,57	P<0,0001
Tempo	14137	5	2827	F (5, 20) = 703,9	P<0,0001
Formulação	300,4	1	300,4	F (1, 4) = 2,775	P=0,1711
Dentro do grupo	433	4	108,3	F (4, 20) = 26,95	P<0,0001
Residual	80,33	20	4,016		

SQ: soma de quadrados

gl: graus de liberdade

MQ: média quadrática

Tabela 108. Teste de Sidak aplicado aos valores de % dissolvida das amostras MC3 e MP3.

MP3 vs. MC3	Significante?	Resumo	valor-P ajustado
5 minutos	Não	-	0,2896
10 minutos	Não	-	0,9945
15 minutos	Não	-	0,8694
30 minutos	Não	-	0,0547
45 minutos	Sim	*	0,0240
60 minutos	Sim	**	0,0100

- P > 0,05; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001; **** P ≤ 0,0001.

Tabela 109. Comparação dos percentuais de PZQ dissolvido e da eficiência de dissolução das amostras em pó MC3, MP3 e MF3, de mesma composição.

Amostra	% dissolvida em 60 min (média ± DP (DPR%))	Eficiência de dissolução 90 min (%) (média ± DP (DPR%))
MC3	80,86 ± 6,46 (7,99)	75,27 ± 5,05 (6,71)
MP3	94,22 ± 2,28 (2,42)	82,50 ± 2,72 (3,30)
MF3	55,83 ± 8,68 (15,55)	49,40 ± 7,86 (15,91)

Tabela 110. Comparação pelo fator f2 entre os perfis de dissolução até 15 minutos das amostras MC3 e MP3.

Comparação até 15 minutos	f2	Similar?
MP3 vs. MC3	64	Sim