

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CAMPUS DE ARARAQUARA

ANDRÉA CRISTINA DE LIMA

PREPARAÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS DE
PRAZIQUANTEL COM POLIVINILPIRROLIDONA PELO
PROCESSO DO FLUIDO SUPERCRÍTICO

(Ponto triplo)

T_c

Temperatura

Araraquara

2009

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CAMPUS DE ARARAQUARA

ANDRÉA CRISTINA DE LIMA

PREPARAÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS DE
PRAZIQUANTEL COM POLIVINILPIRROLIDONA PELO
PROCESSO DO FLUIDO SUPERCRÍTICO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (UNESP) como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof^a Dra. Maria Palmira Daflon Gremião

Coorientador: Prof^o Dr. Marco Vinícius Chaud

Araraquara

2009

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

L732p Lima, Andréa Cristina de
Preparação de dispersões sólidas de praziquantel com
polivinilpirrolidona pelo processo do fluido supercrítico / Andréa Cristina de
Lima. – Araraquara, 2009.
104 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita
Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação
em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Maria Palmira Daflon Gremião

Coorientador: Marco Vinícius Chaud

1. Fluido supercrítico. 2. Dispersão sólida. 3. Solubilidade. 4. Praziquantel.
5. Esquistossomose. 6. Tecnologia farmacêutica. I. Gremião, Maria Palmira
Daflon., orient.. II. Chaud, Marco Vinícius, coorientador. III. Título.

CAPES: 40300005

ANDRÉA CRISTINA DE LIMA

**PREPARAÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS DE PRAZICUANTEL
COM POLIVINILPIRROLIDONA PELO PROCESSO DO FLUIDO
SUPERCRÍTICO**

A Comissão Julgadora dos trabalhos de defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada em 13/08/2009 consideraram a candidata **Andréa Cristina de Lima**

() REPROVADA

(x) APROVADA

Prof. Dra. Maria Palmira Daflon Gremião

Profa. Dra. Mara Cristina Pinto

Prof. Dr. Humberto Gomes Ferraz

Prof. Dr. Osvaldo de Freitas

Prof. Dr. Newton Andréo Filho

Andréa Cristina de Lima

A Deus

Agradeço ao bom Deus por todas as bênçãos recebidas

Tenho tido mais do que pedi, ou esperava ter

Deus, em sua infinita misericórdia me deu, e continua me dando

Paz, alegria, saúde, coragem, inteligência....

Mesmo quando penso que não tenho o que eu quero

Aprendi a ver que isso não é ruim

Pois o que eu quero pode não ser bom.

E tudo que eu acho que deu errado em minha vida tem duas explicações:

Ou não era o que eu precisava e teria que ter/passar

Ou eu mesma busquei indo contra o que seria o certo para mim

Aprendi com meus erros e aprendi que Sua vontade

É o que me faz ter felicidade e vida regrada

Nada do que eu faço por mim é melhor do que seguir Seus caminhos,

Por isso ponho meus joelhos no chão, elevo minha voz e meus pensamentos até Deus

Para que eu continue tendo bênçãos como sempre tive

Não peço mais que eu posso ter, não peço mais do que mereço ter,

Não quero mais do que possa me dar!

OBRIGADA SENHOR!

Mestre

*...é aquele que caminha com o tempo, propondo paz, fazendo comunhão,
despertando sabedoria.*

*Mestre é aquele que estende a mão, inicia o diálogo e encaminha para a aventura da
vida.*

*Não é o que ensina fórmulas, regras, raciocínios, mas o que questiona e desperta para a
realidade .*

Não é aquele que dá de seu saber, mas aquele que faz germinar o saber do discípulo.

*Mestre é você, meu professor amigo que me compreende, me estimula, me comunica e
me enriquece com sua presença, seu saber e sua paciência.*

Eu serei sempre um discípulo na escola da vida.

Ao mestre Marco Vinícius Chaud

*A você, que acreditou em mim desde a iniciação científica, que me incentivou para o
caminho da pós-graduação, que em todas estas etapas se doou por inteiro, como
professor, orientador e amigo,*

e sobretudo por ainda continuar acreditando em mim.

*Obrigada CHAUD, mais uma vez, por toda confiança em mim depositada, por toda
sua dedicação, incentivo e paciência, incondicionais, durante todo este tempo.*

A você meus sinceros agradecimentos e meu eterno respeito e admiração.

À mestre Maria Palmira Daflon Gremião

*Obrigada PALMIRA, mais uma vez, pela orientação e paciência, sempre tão bem
transmitidas a mim, durante todo o período de execução de minha pós-graduação.*

A você meus sinceros agradecimentos.

A todos os mestres

*Dai-me, Senhor, o dom de ensinar,
Dai-me esta graça que vem do amor.
Mas, antes do ensinar, Senhor,
Dai-me o dom de aprender.
Aprender a ensinar,
Aprender o amor de ensinar.
Que o meu ensinar seja simples, humano e alegre, como o amor.
De aprender sempre.
Que eu persevere mais no aprender do que no ensinar.
Que minha sabedoria ilumine e não apenas brilhe,
Que o meu saber não domine ninguém, mas leve à verdade.
Que meus conhecimentos não produzam orgulho,
Mas cresçam e se abasteçam da humildade.
Que minhas palavras não firam e nem sejam dissimuladas,
Mas animem as faces de quem procura a luz.
Que a minha voz nunca assuste,
Mas seja a pregação da esperança.
Que eu aprenda que quem não me entende,
Precisa ainda mais de mim,
E que nunca lhe destine a presunção de ser melhor.
Dai-me, Senhor, também a sabedoria do desaprender,
Para que eu possa trazer o novo, a esperança,
E não ser um perpetuador das desilusões.
Dai-me, Senhor, a sabedoria do aprender,
Deixai-me ensinar para distribuir a sabedoria do amor.*

À minha família

Meus pais Sebastião Correia Lima e Maria do Socorro Lima:

*A vocês, que me deram a vida
e me ensinaram a vivê-la com dignidade,
não bastaria um obrigada.*

*A vocês, que iluminaram os caminhos
obscuros com afeto e dedicação
para que seus filhos trilhassem a vida sempre com honestidade e
cheios de esperanças, em busca de seus sonhos,
não bastaria meu muito obrigada.*

*A vocês, que se doaram inteiros e renunciaram
aos seus sonhos, para que, muitas vezes,
pudéssemos realizar os meus, ainda não bastaria meu muito obrigada.*

*Pela longo apoio e compreensão
desde o início de minha vida acadêmica,
não bastaria um muitíssimo obrigada.*

*A vocês, pai e mãe, pessoas de simples instrução, mas sábios por experiência,
não tenho palavras para agradecer tudo isso.*

*Mas é o que nos acontece agora,
quando procuro uma forma de exprimir esta emoção ímpar,
que com certeza vocês também tem o mérito,
Uma emoção que jamais seria traduzida por palavras.*

Meus irmãos:

Sandra, pelo incentivo, ajuda, paciência e conselhos;

Marcelo, pelo respeito à minha escolha;

Daniela, pela ajuda e pela compreensão.

Meu sobrinho:

Ao pequeno Matheus, pelo brilho que trouxe à nossa família.

Ao Fefe:

Por todo este período junto a mim, pela presença na ausência, pelos momentos mais humanos e menos acadêmicos.

Meus adorados animais de estimação:

Por toda ternura e sinceridade em todos nossos momentos de descontração.

Muito obrigada a todos vocês que sempre fazem parte da minha vida!

Agradecimentos

Ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, especialmente aos professores do laboratório de Farmacotécnica, pelos valiosos ensinamentos que tive o privilégio de usufruir nesta etapa.

À Universidade Metodista de Piracicaba (UNIMEP), que tem papel fundamental em minha formação, e que mais uma vez me acolheu da melhor forma possível, especialmente aos técnicos que sempre me ajudaram com muita dedicação.

Às alunas da Iniciação Científica Cibele, Paula e Samanta, pela amizade e por terem participado comigo na execução deste trabalho.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, especialmente às funcionárias Fátima, Margareth e Queila, por toda alegria transmitida na rotina do laboratório.

Ao Instituto de Química da Unesp de Araraquara, especialmente aos técnicos Bruno, Irene, Sebastião e Ricardo pela realização em parte dos experimentos.

Aos professores Raul César Evangelista e Ana Dóris de Castro pelas sugestões no Exame Geral de Qualificação.

Aos professores Humberto Gomes Ferraz, Mara Cristina Pinto, Newton Andréo Filho e Osvaldo de Freitas pelas sugestões no Exame de Defesa desta tese.

Aos funcionários da biblioteca que sempre me trataram com muita dedicação e ajuda em tudo que lhes fosse possível: Ana, Irani, Moacir e Max.

Às funcionárias da secretaria Claudia, Laura e Sônia pela paciência e atenção a mim dispensadas.

Às amigas de Araraquara Cris, Daniele, Helen, Luana, Mara e Samanta pela amizade e pela estadia em suas casas.

Aos amigos da pós: Arnóbio, Bia, Cris, Cristiane, Daniele, Fabrício, Flávia, Flávio, Giselle, Gustavo, Hilris, Joceana, Juliana, Juliane, Karen, Kelly, Ketylin, Priscileila e Thalita, e especialmente à Ana Luiza, por sua pronta ajuda sempre que eu a solicitava.

Às amigas Carina, Daniele, Flávia, Márcia, Nitalma, Pollyanna e Renata, pela amizade e incentivo, por nunca terem desistido de mim!

À Capes e à Fapesp, pelo apoio financeiro, meu muito obrigada!

O CADERNO

*Sou Eu Que Vou Seguir Você, Do Primeiro Rabisco Até O Be-A-Bá, Em Todos Os Desenhos
Coloridos Vou Estar, A Casa, A Montanha
Duas Nuvens No Céu, E Um Sol A Sorrir No Papel...*

*Sou Eu Que Vou Ser Seu Colega, Seus Problemas Ajudar A Resolver
Te Acompanhar Nas Provas Bimestrais, Você Vai Ver
Serei, De Você, Confidente Fiel, Se Seu Pranto Molhar Meu Papel...*

*Sou Eu Que Vou Ser Seu Amigo, Vou Lhe Dar Abrigo, Se Você Quiser, Quando Surgirem
Seus Primeiros Raios De Mulher, A Vida Se Abrirá
Num Feroz Carrossel, E Você Vai Rasgar Meu Papel...*

*O Que Está Escrito Em Mim, Comigo Ficaré Guardado
Se Lhe Dá Prazer, A Vida Segue Sempre Em Frente, O Que Se Há De Fazer...
Só Peço, A Você, Um Favor, Se Puder, Não Me Esqueça, Num Canto Qualquer...*

*Eu Não Sei Se Você Se Recorda Do Seu Primeiro Caderno, Eu Me Recordo Do Meu
Com Ele Eu Aprendi Muita Coisa, Foi Nele Que Descobri Que A Experiência Dos Erros
É Tão Importante Quanto À Experiência Dos Acertos*

*Por Que Vistos De Um Jeito Certo, Os Erros Nos Preparam Para Nossas Vitórias E Conquistas Futuras
Por Que Não Há Aprendizado Na Vida Que Não Passe Pela Experiência Dos Erros*

*Caderno É Uma Metáfora Da Vida, Quando Erros Cometidos Eram Demais Eu Me Recordo Que Nossa
Professora Nos Sugeriu Que A Gente Virasse A Página, Era Um Jeito Interessante De Descobrir A Graça
Que Há Nos Recomeços
Ao Virar A Página Os Erros Cometidos Deixavam De Nos Incomodar, E A Partir Deles A Gente Seguiu
Um Pouco, Mais Crescido*

*O Caderno Nos Ensina Que Erros Não Precisam Ser Fontes De Castigos, Erros Podem Ser Fontes De
Virtudes
Na Vida É A Mesma Coisa, O Erro Tem Que Estar A Serviço Do Aprendizado
Nenhum Tem Que Ser Fonte De Culpas, De Vergonhas, Nenhum Ser Humano Pode Ser Verdadeiramente
Grande Sem Que Seja Capaz De Reconhecer Os Erros Que Cometeu Na Vida*

*Uma Coisa É A Gente Se Arrepender Do Que Fez, Outra Coisa É A Gente Se Sentir Culpado
Culpas Nos Paralisam, Arrependimentos Não, Eles Nos Lançam Pra Frente, Nos Ajuda A Corrigir Os
Erros Cometidos*

*Deus É Semelhante A Um Caderno, Ele Nos Permite Os Erros Pra Que A Gente Aprenda Pra Fazer Do
Jeito Certo*

*Você Tem Errado Muito? Não Importa! Aceite De Deus Esta Nova Página De Vida Que Tem Nome De
Hoje. Recorde-Se Das Lições Do Seu Primeiro Caderno. Quando Os Erros São Demais Vire A Página!*

*O Que Está Escrito Em Mim, Comigo Ficaré Guardado
Se Lhe Dá Prazer, A Vida Segue Sempre Em Frente
O Que Se Há De Fazer.....Só Peço, A Você, Um Favor, Se Puder, Não Me Esqueça, Num Canto Qualquer...*

Padre Fábio de Melo

Andréa Cristina de Lima

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	1
LISTA DE FIGURAS.....	1
LISTA DE TABELAS.....	1
LISTA DE ABREVIATURAS.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	3
2.1. Esquistossomose e Tratamento.....	3
2.2. Biodisponibilidade de Fármacos.....	8
2.3. Dispersão Sólida.....	11
2.4. Métodos de Preparação de Dispersões Sólidas.....	16
2.5. Fluido Supercrítico.....	18
2.5.1. Dióxido de Carbono Supercrítico.....	21
2.6. Aplicações Farmacêuticas dos Fluidos Supercríticos.....	25
2.7. Técnicas utilizadas no Processamento de Materiais Farmacêuticos e Biológicos com Fluidos Supercríticos	27
3. OBJETIVOS.....	34
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
4.1. MATERIAL.....	35
4.1.1. Matéria- Prima.....	35
4.1.2. Equipamentos.....	35
4.2. MÉTODOS.....	35
4.2.1. Preparação das Dispersões Sólidas de Praziquantel com Polivinilpirrolidona pela Técnica do Fluido Supercrítico.....	35
4.2.2. Preparação da Mistura Física do Praziquantel com Polivinilpirrolidona	37
4.2.3. Avaliação da Solubilidade do Praziquantel, nas Misturas Físicas e nas Dispersões Sólidas.....	37
4.2.4. Análise Microscópica Eletrônica de Varredura do Praziquantel, nas Misturas Físicas e nas Dispersões Sólidas.....	37
4.2.5. Determinação Espectroscópica por Infravermelho com Transformada de Fourier.....	37
4.2.6. Estudos de Difração de Raios X.....	38
4.2.7. Estudos Térmicos.....	38

4.2.8. Avaliação da Taxa de Dissolução do Praziquantel, nas Misturas Físicas e nas Dispersões Sólidas.....	38
4.2.9. Avaliação da Absorção Intestinal de Praziquantel pelo Método do Saco Intestinal Invertido.....	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
5.1. Preparação das Dispersões Sólidas de Praziquantel com Polivinilpirrolidona pela Técnica do Fluido Supercrítico.....	40
5.2. Preparação da Mistura Física do Praziquantel com Polivinilpirrolidona.....	44
5.3. Avaliação da Solubilidade do Praziquantel, nas Misturas Físicas e nas Dispersões Sólidas.....	44
5.4. Análise Microscópica Eletrônica de Varredura do Praziquantel, nas Misturas Físicas e nas Dispersões Sólidas.....	45
5.5. Determinação Espectroscópica por Infravermelho com Transformada de Fourier.....	50
5.6. Estudos de Difração de Raios X.....	56
5.7. Estudos Térmicos.....	61
5.7.1. Calorimetria Exploratória Diferencial.....	61
5.7.2. Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial.....	66
5.8. Avaliação da Taxa de Dissolução do Praziquantel, nas Misturas Físicas e nas Dispersões Sólidas.....	72
5.9. Avaliação da Absorção Intestinal de Praziquantel pelo Método do Saco Intestinal Invertido.....	74
6. CONCLUSÃO.....	80
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
8. ANEXOS.....	100
8.1. Validação da Metodologia Analítica do Praziquantel.....	100
8.1.1. Linearidade.....	100
8.1.2. Precisão.....	103
8.1.3. Recuperação.....	103

RESUMO

Este estudo avalia as propriedades físico-químicas do praziquantel (PZQ) em dispersões sólidas (DS) preparadas através de tecnologia de fluido supercrítico (FSC). As DS de PZQ com polivinilpirrolidona K30 (PZQ: PVP K30) foram preparadas em condições supercríticas de temperatura e pressão que variaram de a 60 a 140 bars e 37 a 80°C utilizando a técnica do Gás Antissolvente (GAS). Equilíbrio de solubilidade, perfil de dissolução, propriedades térmicas (DSC, TGA e TG), difração de raios X (DRX), infravermelho com transformada de Fourier (IV), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e taxa de transporte, utilizando método do saco intestinal invertido, foram utilizados para caracterizar as DS em comparação com as misturas físicas (MF) e o PZQ. A solubilidade do PZQ nas DS aumentou significativamente com a diminuição da taxa PZQ: PVP K30. O estudo de dissolução mostrou aumento significativo da taxa de dissolução do PZQ nas DS. A DRX mostrou redução da cristalinidade do PZQ em todas as DS. O DSC e a TG mostraram que não houve alteração no ponto de fusão do PZQ e confirmaram o resultado da DRX em relação à redução da cristalinidade do PZQ. O DTA apresentou apenas uma temperatura de degradação revelando um composto organicamente puro e uma interação PZQ: PVP. O IV não mostrou nenhuma alteração significativa dos grupos funcionais do PZQ ou da PVP, o que sugere boa estabilidade para o composto. A MEV mostrou diferenças entre a interação física do PZQ com PVP K30 nas MF e DS. Estas interações foram evidenciadas no estudo de DRX. Um aumento significativo de cinco vezes na taxa de transporte do PZQ, através da membrana intestinal de ratos, foi observado para as DS. Os resultados obtidos confirmaram o potencial das DS para alterar propriedades físico-químicas importantes relacionadas à solubilidade do PZQ. A tecnologia de FSC utilizando o método GAS mostrou ser adequada para preparação de DS de PZQ: PVP K30. Os resultados obtidos e a experiência acumulada neste estudo permitem inferir que esta tecnologia pode ser empregada para obtenção de outros tipos de material farmacêutico e que as DS de PZQ podem ser utilizadas para aumentar a biodisponibilidade do PZQ.

ABSTRACT

In this study, the physicochemical properties of praziquantel (PZQ) in solid dispersions (SD), prepared by supercritical fluid (SCF) methodology, were investigated. The SD of PZQ with polyvinylpyrrolidone K30 (PZQ: PVP K30) were prepared under supercritical conditions of pressure and temperature, ranging from 60 to 140 bars and 37 to 80 °C, by the gas antisolvent process (GAS). Equilibrium solubility, dissolution profile, thermal properties (DSC, TGA and TG), powder X-ray diffraction (pXRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM) and gut transport rate, assessed in the everted gut-sac model, were used to characterize PZQ in SDs, in comparison with physical mixtures (PM) and PZQ alone. The solubility of PZQ in the SD increased significantly with decreasing PZQ: PVP K30 ratio. The rate of dissolution of the PZQ was significantly greater in the SD. The XRD patterns showed a reduction of the crystallinity of PZQ in all SD. DSC and TG showed that there was no change in the melting point of PZQ and confirmed the reduction in the crystallinity of PZQ detected by XRD. DTA showed only one degradation temperature, revealing an organically pure compound and a PZQ: PVP interaction. FTIR did not detect any significant changes in the functional groups of PZQ or PVP, suggesting that the compound has a good stability. SEM indicated differences between the PZQ-PVP physical interactions in the PM and SD. These interactions were evident in the XRD data. A significant 5-fold rise in the rate of transport of PZQ across the rat gut membrane was observed with the SDs. The results obtained confirmed the potential capacity of SDs to alter important physicochemical properties related to the solubility of PZQ. SCF technology, used in the GAS process, proved effective in the preparation of SDs of PZQ: PVP K30. These results and the insights gained in this study imply that this technique could be employed to prepare other types of pharmaceutical product and that SDs of PZQ may be used to increase the bioavailability of PZQ.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fórmula estrutural do praziquantel	7
Figura 2: Fórmula estrutural da polivinilpirrolidona	16
Figura 3: Diagrama de fase representativo do estado físico e supercrítico de uma substância inespecífica	20
Figura 4: Solubilidade da cafeína pura no CO ₂ supercrítico	25
Figura 5: Esquema de funcionamento RESS	28
Figura 6: Esquema de funcionamento GAS/ SAS	29
Figura 7: Esquema de funcionamento ASES	30
Figura 8: Esquema de funcionamento SEDS	31
Figura 9: Esquema de funcionamento PGSS	32
Figura 10: Equipamento utilizado para obtenção das partículas	36
Figura 11: Câmara de precipitação do equipamento de fluido supercrítico antes (a) e após (b) o processamento da amostra	41
Figura 12: Curvas de obtenção de dispersão sólida 1:1 a 60,0 ±5,0 °C	42
Figura 13: Curvas de obtenção de dispersão sólida 1:2 a 60,0 ±5,0 °C	43
Figura 14: Curvas de obtenção de dispersão sólida 1:3 a 60,0 ±5,0 °C	43
Figura 15: Efeito da concentração de polivinilpirrolidona K30 na solubilidade do praziquantel em água, à temperatura ambiente após agitação constante durante 24 horas	45
Figura 16: Fotomicrografia do praziquantel obtida por microscopia eletrônica de varredura em aumento de 1000 vezes	46
Figura 17: Fotomicrografia da polivinilpirrolidona K30 obtida por microscopia eletrônica de varredura em aumento de 1000 vezes	46
Figura 18: Fotomicrografia da mistura física (1:1) obtida por microscopia eletrônica de varredura em aumento de 1000 vezes	47
Figura 19: Fotomicrografia da dispersão sólida (1:1) obtida por microscopia eletrônica de varredura em aumento de 1000 vezes	47
Figura 20: Fotomicrografia da mistura física (1:2) obtida por microscopia eletrônica de varredura em aumento de 1000 vezes	48
Figura 21: Fotomicrografia da dispersão sólida (1:2) obtida por microscopia eletrônica de varredura em aumento de 1000 vezes	48

Figura 22: Fotomicrografia da mistura física (1:3) obtida por microscopia eletrônica de varredura em aumento de 1000 vezes	49
Figura 23: Fotomicrografia da dispersão sólida (1:3) obtida por microscopia eletrônica de varredura em aumento de 1000 vezes	49
Figura 24: Espectro de absorção na região do infravermelho do praziquantel	52
Figura 25: Espectro de absorção na região do infravermelho da polivinilpirrolidona K30	52
Figura 26: Espectro de absorção na região do infravermelho da mistura física 1:1	53
Figura 27: Espectro de absorção na região do infravermelho da dispersão sólida 1:1	54
Figura 28: Espectro de absorção na região do infravermelho da mistura física 1: 1	54
Figura 29: Espectro de absorção na região do infravermelho da dispersão sólida 1:1	55
Figura 30: Espectro de absorção na região do infravermelho da mistura física 1:3	55
Figura 31: Espectro de absorção na região do infravermelho da dispersão sólida 1:3	56
Figura 32: Difratoograma de raios X do praziquantel	57
Figura 33: Difratoograma de raios X da polivinilpirrolidona K30-	58
Figura 34: Difratoograma de raios X da mistura física 1:1	58
Figura 35: Difratoograma de raios X da dispersão sólida 1:1	59
Figura 36: Difratoograma de raios X da mistura física 1:2	59
Figura 37: Difratoograma de raios X da dispersão sólida 1:2	60
Figura 38: Difratoograma de raios X da mistura física 1:3	60
Figura 39: Difratoograma de raios X da dispersão sólida 1:3	61
Figura 40: Termograma (DSC) do praziquantel	62
Figura 41: Termograma (DSC) da polivinilpirrolidona	63
Figura 42: Termograma (DSC) da mistura física 1:1	63
Figura 43 Termograma (DSC) da dispersão sólida 1:1	64
Figura 44: Termograma (DSC) da mistura física 1:2	64
Figura 45: Termograma (DSC) da dispersão sólida 1:2	65

Figura 46: Termograma (DSC) da mistura física 1:3	65
Figura 47: Termograma (DSC) da dispersão sólida 1:3	66
Figura 48: Curva termoanalítica TG/DTA do praziquantel	68
Figura 49: Curva termoanalítica TG/DTA da polivinilpirrolidona K30	68
Figura 50: Curva termoanalítica TG/DTA da mistura física 1:1	69
Figura 51: Curva termoanalítica TG/DTA da dispersão sólida 1:	69
Figura 52: Curva termoanalítica TG/DTA da mistura física 1:2	70
Figura 53: Curva termoanalítica TG/DTA da dispersão sólida 1:2	70
Figura 54: Curva termoanalítica TG/DTA da mistura física 1:3	71
Figura 55: Curva termoanalítica TG/DTA da dispersão sólida 1:3	71
Figura 56: Perfil de dissolução do praziquantel, na dispersão sólida e na Mistura física com polivinilpirrolidona K30 (1:1)	72
Figura 57: Perfil de dissolução do praziquantel, na dispersão sólida e na mistura física com polivinilpirrolidona K30 (1:2)	73
Figura 58: Perfil de dissolução do praziquantel, na dispersão sólida e na mistura física com polivinilpirrolidona K30 (1:3)	73
Figura 59: Curva analítica do praziquantel em água	101
Figura 60: Curva analítica do praziquantel em TC 199	102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Temperaturas críticas de alguns gases comuns	21
Tabela 2: Temperaturas e pressões críticas utilizadas para uma massa total de CO ₂ de 3500 g e fluxo de 1 mL/min	40
Tabela 3: Condições operacionais mais adequadas para obtenção de dispersões sólidas por fluido supercrítico	42
Tabela 4: Concentrações de praziquantel transportadas através da membrana intestinal após 60 minutos de incubação	75
Tabela 5: Equação da reta e coeficiente de correlação linear das curvas de calibração de praziquantel em etanol e TC 199	102
Tabela 6: Resultados das medidas de absorvância por espectrometria UV e respectivos coeficientes de variação	103
Tabela 7: Percentual de recuperação do praziquantel	104

LISTA DE ABREVIATURAS

ASES: sistema de extração de solvente por aerosol
CO₂: dióxido de carbono
DL₅₀: dose letal para 50% da população em estudo
DS: dispersão sólida
DSC: calorimetria exploratória diferencial
DRX: difração de raios X
DTA: análise térmica diferencial
FSC: fluido supercrítico
GAS: gás antissolvente
IV: infravermelho
MEV: microscopia eletrônica de varredura
MF: mistura física
MS: Ministério da Saúde
OMS: Organização Mundial de Saúde
P: pressão
P_c: pressão crítica
PC: ponto crítico
PEG: polietilenoglicol
PGSS: precipitação de partículas de solução de gás saturado
PVP K30: polivinilpirrolidona K30
PT: ponto triplo
PZQ: praziquantel
RENAME: Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
RESS: expansão rápida de solução supercrítica
SAS: recristalização antissolvente supercrítico
SEDS: dispersão da solução expandida pelo fluido supercrítico
T: temperatura
T_c: temperatura crítica
TC 199: meio de cultura para tecidos
TG: termogravimetria

1. Introdução

A otimização terapêutica de fármacos já conhecidos, seja para melhoria da biodisponibilidade oral, direcionamento para alvos específicos ou alteração da via de administração é uma alternativa viável, de custo relativamente baixo, para suprir as demandas terapêuticas de novas doenças, e de doenças ressurgentes, principalmente as endêmicas. Nesta abordagem, atenção especial deve ser dada às doenças negligenciadas, que apesar dos altos índices de morbidade e mortalidade recebem pouco investimento em programas estratégicos realizados pelo Ministério da Saúde (MS) para prevenir sua proliferação. É notório que a crise da falta de medicamentos para estas doenças não chegou às proporções atuais apenas por falta de interesse científico, mas também pela falta de investimentos em pesquisa e desenvolvimento nesta área. Neste contexto, influencia o fato da prevalência das doenças negligenciadas ocorrerem em populações de baixo poder aquisitivo e de retorno financeiro ou político insignificantes. No Brasil, assim como na maioria dos países em desenvolvimento, o interesse apenas marginal da indústria farmacêutica em investir neste setor advém da precificação adotada pelo MS e dos custos relativamente altos de produção. Qualquer esforço para simplificar o processo de fabricação, reduzindo o número de operações unitárias envolvidas na obtenção do medicamento e agregando valores biofarmacêuticos ao produto final será bem recebido pelo setor produtivo, público ou privado.

Entre as doenças negligenciadas, a esquistossomose, doença crônica que afeta mais de 200 milhões de pessoas e compromete a saúde pública dos países em desenvolvimento é um dos exemplos que explicitam o quadro atual e mostram a relevância da abordagem citada. No Brasil, e na maior parte do mundo, o esquistossomicida de escolha é o praziquantel (PZQ), fármaco altamente efetivo contra todas as espécies de esquistossoma patogênicos ao homem. No entanto, sua baixa biodisponibilidade compromete a eficiência do tratamento. Desta forma, o grupo de pesquisa Sistemas de Liberação de Fármacos para Tratamento de Doenças Tropicais e Emergentes do Programa de Pós - Graduação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara (UNESP) em conjunto com o Grupo de Pesquisa e Desenvolvimento e Avaliação de Substâncias Bioativas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba (UNISO) vem trabalhando com o objetivo de desenvolver alternativas viáveis para melhorar a atividade terapêutica do PZQ.

Neste estudo foi utilizado como estratégia para otimizar a ação terapêutica do PZQ a preparação de dispersões sólidas (DS), com a finalidade de melhorar a solubilidade e a taxa de dissolução deste fármaco. Este processo vem sendo largamente utilizado e tem se mostrado eficiente em melhorar a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água. Contudo, as técnicas utilizadas, apesar de apresentarem bons resultados, envolvem solventes prejudiciais à saúde e ao meio ambiente e um grande número de operações unitárias que dificultam o escalonamento para níveis industriais.

Para preparar as DS e superar os problemas encontrados nas técnicas usuais, propusemos a preparação destes compostos através da tecnologia de fluido supercrítico (FSC). O fundamento para esta proposta foi baseado em uma das propriedades mais marcantes dos fluidos em estado supercrítico, a variação da densidade. Nestas condições, a densidade do fluido pode variar de valores próximos de zero até aqueles equivalentes aos de um líquido. Ou seja, podem se comportar como gás ou como líquido dependendo das condições de temperatura e pressão empregadas no sistema. Conseqüentemente, variações extremamente amplas nas propriedades do solvente podem ser alcançadas. Entretanto, não foi proposta deste estudo elucidar as interações microscópicas (não homogeneidade do gás) que ocorrem no estado supercrítico dos fluidos.

Como FSC o dióxido de carbono (CO₂) foi utilizado, pelo fato deste ser atóxico, não inflamável, apresentar baixa reatividade química, ser de fácil aquisição, baixo custo e, sobretudo, por seus parâmetros críticos baixos e comportamento físico-químico facilmente manipulável.

Como carreador para preparação das DS foi utilizado a polivinilpirrolidona K30 (PVP K30), devido sua compatibilidade, baixa toxicidade, alta solubilidade aquosa e tolerância fisiológica e a experiência adquirida com este composto na dissertação de mestrado (Lima, 2006), quando a PVP K30 foi utilizada para preparação das DS usando a técnica de evaporação do solvente a baixa pressão.

O PZQ não foi utilizado neste estudo apenas como fármaco modelo de substâncias do grupo II do sistema de classificação biofarmacêutico. Nosso grupo de pesquisa tem interesse particular neste fármaco por ser utilizado no tratamento da esquistossomose e de outras doenças parasitárias.

2. Fundamentação Teórica

2.1. Esquistossomose e Tratamento

As doenças parasitárias, entre as quais a esquistossomose, são provocadas por protozoários ou helmintos patogênicos, afetam mais de três bilhões de pessoas no mundo inteiro e impõem um ônus econômico substancial à saúde pública, sobretudo nos países menos desenvolvidos onde as infecções parasitárias são endêmicas. Dentre as condições que promovem estas infecções as principais são a falta de condições sanitárias adequadas, higiene pessoal, educação para a saúde, debilitação e resistência orgânica comprometida do hospedeiro, alta densidade populacional, controle inadequado dos vetores parasitários e dos reservatórios da infecção e ainda a resistência aos fármacos empregados na quimioterapia e substâncias no controle dos vetores (MATSUMOTO, 2002; GOODMAN; GILMAN, 2007).

Dentre as parasitoses as helmintíases são bastante disseminadas em nosso meio, constituem importante problema do ponto de vista clínico e geram danos expressivos que irão se refletir na saúde e no estado socioeconômico das populações. Por isso é de todo necessário o seu combate através de medidas preventivas adequadas, as quais dependem de educação, melhorias gerais das condições de vida e tratamento medicamentoso adequado. Apesar dos progressos no desenvolvimento de vacinas, a quimioterapia antiparasitária permanece, isoladamente, como o método mais eficaz, eficiente e econômico de controlar a maioria das parasitoses (CIOLI et al., 1995; CIOLI, 1998; PICA – MATTOCCIA et al., 2009).

A distribuição geográfica das helmintíases é cosmopolita, com mais de dois bilhões de pessoas afetadas. Em regiões tropicais, onde a prevalência é maior, a infestação simultânea por mais de um tipo de helminto é comum (GOODMAN; GILMAN, 2007). Além da alta prevalência mundial, o potencial de evolução para quadros graves justifica o interesse por estudos mais criteriosos sobre a terapêutica anti-helmíntica (SILVA, 2007).

Anti-helmínticos são quimioterápicos que agem localmente para eliminar os vermes do trato gastrointestinal ou sistematicamente para erradicar helmintos adultos ou formas em desenvolvimento que invadem órgãos e tecidos (GOODMAN; GILMAN, 2007).

A esquistossomose humana (também conhecida como bilharziose, ou, popularmente, barriga d'água) é uma helmintíase causada por esquistossoma, mais frequentemente pelo *Schistosoma mansoni* e *Schistosoma haematobium*, mas também *Schistosoma mekongi*, *Schistosoma japonicum* e *Schistosoma intercalatum* (SILVA, 2007). Os parasitas do *S. mansoni* têm como hospedeiro intermediário os moluscos do gênero *Biomphalaria* (caramujo), que causam esquistossomose intestinal, exceto o *S. haematobium* que causa esquistossomose urinária (GOODMAN; GILMAN, 2007; FIOCRUZ, 2008). A infecção é provocada pelas cercárias liberadas pelo caramujo, que penetram através da pele do homem (hospedeiro definitivo) quando este entra em contato com a água contaminada com o vetor (D'ARCY; HARRON, 1983).

O *S. haematobium* causa granulomas na uretra e os pacientes infectados apresentam disúria, hematúria, proteinúria ou total obstrução uretral. O *S. mansoni*, *S. japonicum* e *S. mekongi* invadem o intestino e o sistema porta, causando granulomas, gerando hipertensão portal e possível dano ao fígado (SILVA, 2007). As infecções por *S. mansoni* geralmente estão associadas com dores abdominais, diarreia, melena, cólicas, hepatomegalia e esplenomegalia (LENGELER et al., 2002). O fígado e o baço aumentam devido às inflamações causadas pela presença do verme e de seus ovos. Se não for tratada, a doença pode evoluir para sua forma crônica, na qual a diarreia fica cada vez mais constante alternando com prisão de ventre. O doente sente tonturas, palpitações, impotência, emagrecimento, o fígado endurece e aumenta ainda mais. Neste estágio o enfermo aparenta fraqueza e abdômen dilatado, barriga d'água (FIOCRUZ, 2008).

A esquistossomose é uma doença crônica transmitida por vias hídricas que afeta a saúde pública nos países em desenvolvimento, sendo constante em mais de 74 países, geralmente concentrada naqueles onde a política sanitária é inadequada (SAVIOLI et al., 1997). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), nas áreas tropicais e subtropicais a esquistossomose só é superada pela malária em termos de importância em saúde pública (FIOCRUZ, 2008).

As taxas de mortalidade desta doença são relativamente baixas, embora apresentem enorme capacidade debilitante. Apesar dos esforços de inúmeros países, estima-se que 200 milhões de pessoas estejam infectadas, entre as quais 120 milhões são sintomáticas e 20 milhões sofrem severamente com a doença (MATSUMOTO, 2002; BARSOU, 2003; BORCH et al., 2009). O continente mais

afetado pela infecção é a África (cerca de 80% dos casos estão concentrados no continente africano). A China é o país mais afetado na Ásia com uma estimativa de 900 mil pessoas infectadas. No Oriente Médio, o Iêmen é a região que apresenta maior número de infectados (GRYSEELS et al., 2006).

O Brasil, com 25 milhões de pessoas vivendo em áreas endêmicas e aproximadamente oito milhões de infectados é o país mais afetado das Américas e apresenta uma das principais zonas de distribuição da doença no mundo, não somente devido à vastidão de sua zona endêmica e à existência de grande número de pacientes portadores das formas graves da doença, mas também pela expansão dessa endemia para outras áreas do país, até então indenes. A maior concentração de casos está na região Nordeste, onde o clima predominantemente tropical fornece as condições necessárias para o desenvolvimento da doença, além de uma variedade de *habitats* aquáticos que funcionam como criadouros de moluscos (NEVES et al., 1995; SILVA, 2007). Contudo há identificação de áreas focais também no Sudeste, região socioeconômica mais desenvolvida. Por este motivo, no estado de São Paulo, entre os dias 25 e 30 de maio de 2009, foi lançada uma campanha pela Secretaria da Saúde do Estado, para promover a 1ª Semana de Esquistossomose, com o objetivo de orientar a população e realizar exames para detectar e tratar a doença em todo estado. A esquistossomose encontra-se em plena expansão no Brasil, e, excetuando o estado do Rio Grande do Sul e os estados da região Norte (Acre, Amapá, Amazonas, Rondônia, Roraima e Tocantins), a esquistossomose ocorre em todos os demais estados, ora como zona endêmica, ora como focos isolados (GOODMAN; GILMAN, 2007; FIOCRUZ, 2008).

A esquistossomose é classificada como uma doença negligenciada¹, com investimento restrito para pesquisa e pouco interesse dos países mais desenvolvidos na sua erradicação, cabendo, portanto, aos países mais afetados os estudos e as pesquisas para tratamento desta doença.

1) Doença negligenciada: Uma doença mortal ou muito grave pode ser considerada negligenciada quando as opções de tratamento são inadequadas ou não existem; quando o seu mercado potencial de medicamentos é insuficiente para provocar uma pronta resposta do setor privado, e por fim, quando o interesse do governo em lutar contra esse tipo de doença é insuficiente. Em suma, há uma lacuna de mercado e uma de política pública (DND, 2001).

No Brasil o investimento em programas e estratégias na área de fármacos e medicamentos tem se mostrado incipiente, perpetuando os quadros de morbidade e mortalidade causados pelas doenças negligenciadas. Em outubro de 2008, o CNPq/MCT/MS lançou um edital (Edital MCT/CNPq/CT-Saúde/MS/SCTIE/DECIT nº 034/2008) no valor de US\$ 8 milhões para financiamento de pesquisas nesta área. Este edital contemplou apenas sete projetos distribuídos entre as seguintes doenças: esquistossomose, dengue, doença de Chagas, leishmaniose, malária, tuberculose e hanseníase. A pouca atenção dada pelos órgãos de fomento às doenças negligenciadas desestimulam a formação de grupos de pesquisas voltados para esta área.

Nos últimos 20 anos, o avanço na terapêutica esquistossomicida resumiu-se na substituição dos antimoniais trivalentes, que ofereciam baixa eficácia, efeitos colaterais intensos e esquemas de tratamento prolongados, por fármacos como a oxamniquina e o praziquantel (PZQ). Estes apresentam, comparativamente aos antimoniais, boa eficácia e tolerabilidade e esquemas de tratamentos simplificados. Atualmente, no Brasil, apenas estes dois fármacos são utilizados. A oxamniquina, porém, apresenta efeitos colaterais sobre o sistema nervoso central, efeitos mutagênicos e carcinogênicos. A decisão da empresa farmacêutica detentora do registro de produtos contendo oxamniquina de limitar a produção de medicamentos com este fármaco, tornou o PZQ a única forma de tratar esta parasitose (FERRARI et al., 2003; YANG et al., 2009). Assim, o PZQ tornou-se o fármaco de escolha para o tratamento da esquistossomose, na maioria das áreas endêmicas, devido à sua eficácia, facilidade de administração, efeitos colaterais bem tolerados a curto prazo e custo, relativamente, baixo (CIOLI; PICA – MATTOCCIA, 2003; TWEYONGYERE et al., 2009). O PZQ, reconhecido, mundialmente, como fármaco de primeira escolha no tratamento das formas mais comuns de esquistossomose é classificado como um fármaco essencial pela OMS, está incluído na RENAME (Relação Nacional de Medicamentos Essenciais) e se destaca por ser administrado em dose única (BECKET et al., 1999; MATSUMOTO, 2002; ALLEN et al., 2002; CLERCQ et al., 2002). O PZQ foi descoberto em 1972 na Alemanha como resultado da pesquisa realizada pelas indústrias Merck e Bayer. Em 1978, o PZQ foi sintetizado na China (SHUHUA, 2005), desde 1975 tem sido estudado experimentalmente em animais mostrando alta eficácia contra todas as espécies do gênero *Schistosoma*, que

parasitam os humanos, além de ser efetivo contra outras infecções por trematódeos e cestódeos (NOVAES et al., 1999; GREENBERG, 2005).

Quimicamente o PZQ é a 2-(ciclohexilcarbonil)-1, 2, 3, 6, 7,11 b – hexahidro – 4 H – pirazino (2,1 – a) isoquinolin – 4 – ona (Figura 1). Apresenta-se fisicamente como um pó cristalino, sem cor e sem odor e com sabor amargo característico. É estável em condições normais de temperatura e armazenamento e praticamente insolúvel em água (0,4 mg/mL). Essas características, juntamente com dados de micromerítica e principalmente a solubilidade devem ser levadas em consideração no desenvolvimento de formas farmacêuticas contendo este fármaco. No tratamento da esquistossomose em adultos e crianças com mais de quatro anos o PZQ é administrado em um dia, como três doses de 20 mg/kg em intervalos de 4 a 6 horas ou como uma dose única de 40 a 60 mg/kg (PARFITT, 2002).

A dose letal para 50% da população em estudo (DL₅₀) para administração oral em ratos é em torno de 2400 mg/kg. Não foi encontrada atividade genotóxica do fármaco utilizando bactérias, leveduras e células de mamíferos; estudos de carcinogenicidade também se mostraram negativos (GROL, 1984). Em relação à avaliação da toxicidade do PZQ nos seres humanos, não foi descrita nenhuma alteração significativa nos testes e nos órgãos vitais, para doses únicas de administração do fármaco. Pouco se sabe sobre o uso continuado, mesmo que intermitente, deste fármaco. Alguns estudos de mutagenicidade têm sugerido que o PZQ é desprovido desta atividade, porém isto não é conclusivo, pois existem estudos conflitantes em relação a sua atividade clastogênica e coclastogênica (ANWAR et al., 1989; ANWAR, 1994; HERRERA et al., 1998).

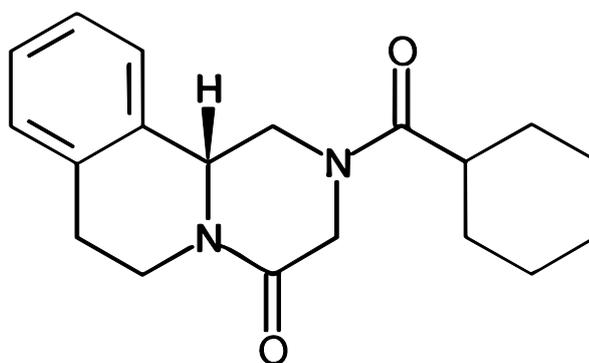


Figura 1: Fórmula estrutural do praziquantel

A biodisponibilidade do PZQ é limitada pela taxa de dissolução. Doses altas são necessárias para vencer o metabolismo hepático e atingir, desta forma, concentrações sanguíneas adequadas. O PZQ é administrado ao homem somente por via oral na forma farmacêutica de comprimidos, se sua solubilidade puder ser melhorada outras vias de administração, como a parenteral, ou até mesmo a oral, nas formas farmacêuticas de solução ou suspensão podem ser de utilidade na terapêutica esquistossomicida humana e animal (BECKET et al., 1999).

2.2. Biodisponibilidade de Fármacos

Uma das formas mais racionais para otimizar a terapêutica de fármacos de biodisponibilidade baixa, seria melhorando propriedades físico-químicas importantes como taxa de transporte e de dissolução. No caso do PZQ, estratégias que aumentem sua taxa de dissolução poderão contribuir para melhorar a sua biodisponibilidade. Para contemplar os interesses da indústria farmacêutica estas estratégias devem estar agregadas a outros valores, como estabilidade física e química, facilidade de escalonamento, simplicidade de produção e controle e retorno financeiro. Entre estas estratégias o fato de concentrar esforços em fármacos de propriedades biofarmacêuticas bem conhecidas é relevante (LIMA, 2006).

A biodisponibilidade está relacionada com a velocidade de absorção do fármaco. Solubilidade e biodisponibilidade são fatores inter-relacionados e frequentemente constituem um desafio no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas. Nos regimes terapêuticos convencionais, muitas vezes, uma grande quantidade de fármaco é administrada e uma grande fração é excretada ou metabolizada sem exercer nenhuma atividade. Alternativas eficientes que tornem os fármacos mais disponíveis para determinado sítio alvo, com taxas de dissolução mais adequadas para produzir o efeito pretendido têm sido descritas na literatura. Estas alternativas têm a finalidade de aumentar o índice terapêutico, diminuir efeitos colaterais, direcionar os fármacos a sítios específicos do organismo, reduzir toxicidade, liberar o fármaco de maneira controlada e aumentar a sua solubilidade em sistemas aquosos (SILER-MARINKOVIC et al., 1997; TOKUMURA et al., 2009).

A taxa de dissolução é frequentemente a etapa que limita a absorção gastrointestinal dos fármacos em formas farmacêuticas sólidas. A relação entre solubilidade e absorção é muito importante quando se leva em consideração fármacos com baixa solubilidade aquosa. Na tentativa de alcançar uma absorção

rápida e completa, inúmeras estratégias vêm sendo desenvolvidas e testadas com o objetivo de modificar o perfil de dissolução de fármacos hidrofóbicos.

As possíveis causas da baixa absorção de fármacos administrados por via oral estão relacionados à solubilidade aquosa inferior a 100 µg/mL, ponto de fusão maior que 200°C, $\log P > 3$, taxa de dissolução intrínseca menor que 0,1mg/cm²/min, peso molecular maior que 500 e forças elevadas de coesão entre as partículas do fármaco. Se a taxa de dissolução do fármaco é significativamente menor que a taxa de absorção a dissolução do fármaco é o passo limitante no seu processo de absorção, o que acaba prejudicando a biodisponibilidade dos mesmos (SETHIA; SQUILLANTE, 2004). Um fármaco é considerado pouco solúvel quando a dose terapêutica não é completamente dissolvida em 250 mL de fluido gástrico simulado (solução de HCl pH 2) e altamente permeável quando mais que 90% da dose é absorvida pelo trato gastrintestinal (YASUJI et al., 2008).

Os primeiros passos, no desenvolvimento de qualquer forma farmacêutica, incluem a avaliação da taxa de dissolução do fármaco incorporado, estabilidade do fármaco no sistema e a escolha de uma formulação farmacoteticamente adequada para a fabricação do medicamento. O desenvolvimento de novas técnicas para melhorar a solubilidade, a taxa de dissolução e a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água é de grande importância no desenvolvimento de produtos farmacêuticos, em especial para aqueles administrados por via oral (EMARA et al., 2002; SETHIA; SQUILLANTE, 2003). Contudo, este fator permanece como um dos principais desafios tecnológicos nessa área. As principais limitações estão relacionadas à granulometria, à propriedade de coesão das partículas, molhabilidade e estabilidade do fármaco. Técnicas mecânicas para micronização de partículas têm sido utilizadas, contudo o campo de aplicação é bastante limitado, seja pela perda de matéria-prima, polidispersidade granulométrica, desnaturação, tempo de processamento, gasto de energia ou pela manutenção da maioria das características do estado sólido do fármaco (BANDI et al., 2004).

O Sistema de Classificação Biofarmacêutico classifica os fármacos em quatro classes dependendo de sua solubilidade e permeabilidade no trato gastrintestinal. Classe I é o fármaco que possui altas solubilidade e permeabilidade, classe II é o fármaco com baixa solubilidade e alta permeabilidade, classe III alta solubilidade e baixa permeabilidade, e classe IV é aquele com baixas solubilidade e permeabilidade. Sabe-se que mais de 40% dos fármacos estão classificados na

classe II ou IV, ou seja, grande número deles apresentam baixa solubilidade em água (YASUJI et al., 2008). Neste sistema o PZQ está enquadrado na classe II, ou seja, entre os fármacos de baixa solubilidade e alta permeabilidade (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

Aumentar e/ ou acelerar a dissolução do fármaco é particularmente importante quando este pertence à classe II, já que a biodisponibilidade oral de medicamentos com eles fabricados pode ser limitada devido à baixa taxa de dissolução do fármaco no trato gastrintestinal. No caso do fármaco incluído na classe II, a correlação *in vitro/ in vivo* pode ser um indício da taxa de dissolução se a dose do fármaco não for muito alta; por esta razão os estudos de dissolução, *in vitro*, fornecem informações úteis para avaliar a biodisponibilidade de um fármaco (YASUJI et al., 2008).

Muitas técnicas para aumentar a taxa de dissolução de fármacos hidrofóbicos têm sido apresentadas na literatura. Estas incluem redução do tamanho da partícula para aumentar área de superfície, modificação do estado sólido, solubilização em sistemas tensoativos, formação de complexos solúveis em água e uso de pró-fármacos (MUTALIK et al., 2008). Além disso, sistemas coloidais, como lipossomas, nanopartículas, microemulsão e cristal líquido, têm sido empregados com relativo sucesso na área farmacêutica.

O PZQ representa um exemplo em que a pesquisa de novas alternativas é necessária para melhorar sua biodisponibilidade com objetivos de reduzir as altas doses terapêuticas, diversificar as formas farmacêuticas disponíveis utilizadas e subsidiar programas de quimioterapia em massa nas áreas endemicamente afetadas pela esquistossomose. A literatura tem apresentado alternativas para tornar o PZQ mais disponível em seu sítio alvo. Estas incluem redução granulométrica, através de operações mecânicas, mistura física (MF) com substâncias mais hidrossolúveis, adição de tensoativos, modificação na área de superfície por adsorção de polímeros hidrofílicos e sistemas micro e nanoestruturados (ROUCHOTAS et al., 2000; VERMA et al., 2003; EMARA et al., 2002; GOHEL; PATEL, 2003; CINTO, 2005; LIMA, 2006; SOUZA, 2008).

O segundo passo no desenvolvimento, racional, de qualquer forma farmacêutica inclui avaliação, *in vitro*, da taxa de permeação. Diferentes técnicas têm sido utilizadas para esta finalidade, entre elas, câmara de fluxo transepitelial, a cultura de células e a técnica do saco intestinal invertido. Entre os modelos *in vitro*, a

técnica do saco intestinal invertido tem sido utilizada para determinar o potencial absorptivo de fármacos e o mecanismo pelo qual a absorção ocorre.

O saco intestinal invertido foi primeiramente usado para estudar o transporte de açúcares e aminoácidos. Durante um período de tempo vários autores, usando como meio de incubação solução salina apontaram como limitação deste método o tempo de sobrevivência das células. Contudo, Barthe e colaboradores (1998) confirmaram a viabilidade do teste do saco intestinal invertido utilizando, para incubação, um meio de cultura para tecidos (TC 199). Para avaliar a integridade do saco intestinal invertido e a vitalidade das células, monitoraram durante o experimento a concentração de glicose dentro e fora do segmento intestinal. A técnica é simples, rápida, reprodutível e de custo financeiro baixo. Este sistema de dois compartimentos permite avaliar a cinética de absorção pelo tecido epitelial e a transferência através da camada epitelial, pela medida da quantidade de fármaco dentro do saco intestinal no final do período de incubação. Este sistema tem sido usado para estudar a absorção de lipossomas e proteínas (ROWLAND; WOODLEY, 1981), lectinas bioadesivas (NAISBETT; WOODLEY, 1994) e polímeros não biodegradáveis (PATO et al., 1994). Usando a técnica do saco intestinal invertido é possível identificar por qual mecanismo o fármaco é capaz de atravessar a barreira epitelial do intestino, e assim tomar uma decisão racional sobre a melhor forma de favorecer a permeabilidade do fármaco através da membrana. Todos os sistemas de estudos *in vitro* apresentam vantagens e desvantagens. Parâmetros fisiológicos tais como tempo de trânsito, esvaziamento gástrico, irrigação sangüínea e sistema nervoso não podem ser medidos neste método. Contudo o papel destes parâmetros na absorção pode ser avaliado através de modelos de estudos *in situ* ou em *in vivo* (RUAN et al., 2006).

2.3. Dispersão Sólida

A permeação de moléculas através das membranas absorptivas é condicionada ao coeficiente de partição ($\log P < 3$), à taxa de liberação e à solubilidade do fármaco no meio. Entre as diferentes técnicas para melhorar a solubilidade do fármaco as dispersões sólidas (DS) têm tido grande destaque (CHIOU; RIEGELMAN, 1970; SERAJUDDIN et al., 1990; MARIN et al., 2002; SETHIA; SQUILLANTE, 2003; SETHIA; SQUILLANTE, 2004; TRAPANI et al., 2004; SIX et al., 2005; LIMA, 2006; VASCONCELOS et al., 2007).

O termo DS tem sido utilizado para descrever um tipo de processo tecnológico em que um ou mais fármacos está disperso em um carreador biologicamente inócuo, ou seja, é a mistura de um ou mais componentes farmacologicamente ativos em um ou mais carreadores fisiologicamente compatível. Este processo farmacêutico tem sido proposto com o objetivo de aumentar a taxa de dissolução e a absorção oral de fármacos pouco solúveis em água. Com o desenvolvimento tecnológico deste processo várias aplicações farmacêuticas têm sido sugeridas (LIMA, 2006).

As DS foram primeiramente descritas por Sekiguchi e Obi em 1961. Estes autores notaram que a formação de misturas eutéticas aumentava a taxa de dissolução e a biodisponibilidade de fármacos hidrofóbicos. Assim, várias dessas misturas foram sintetizadas com este mesmo objetivo, mostrando resultados bastante satisfatórios. Vários carreadores farmacêuticos foram utilizados, dentre os quais uréia e sacarose, excipientes cristalinos muito solúveis em água. Estas DS foram classificadas como sendo de primeira geração (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

Com o passar do tempo foi sendo testado e constatado que DS nas quais o fármaco era mantido no estado cristalino podiam não ser tão efetivas, uma vez que são termodinamicamente mais estáveis. Surgiram, desta forma, as DS de segunda geração, constituídas por carreadores amorfos em substituição aos cristalinos, e assim, as DS passaram a ser manipuladas utilizando carreadores não cristalinos. Neste caso o fármaco estaria molecularmente disperso neste carreador. Os carreadores poliméricos mostraram-se muito vantajosos na manipulação destas dispersões, pois são mais eficazes na obtenção de DS com características amorfas. Estes carreadores são classificados em dois tipos: sintéticos e semi-sintéticos. Como exemplo de sintéticos podemos citar a polivinilpirrolidona (PVP), os polietilenoglicóis (PEGs) e os polimetacrilatos. Já os polímeros semi-sintéticos mais usualmente utilizados são a hidroxipropilmetilcelulose, etilcelulose e os derivados de amido, tais como as ciclodextrinas e o glicolato sódico de amido (CHIOU; RIEGELMAN, 1969; CIRRI et al., 2004; LIMA, 2006; SUN et al., 2008).

Já a terceira geração de DS tem mostrado que a taxa de dissolução pode ser melhorada se o carreador utilizado apresentar propriedades autoemulsificantes. Neste tipo de dispersão, o carreador utilizado é um excipiente farmacêutico com propriedades tensoativas ou a mistura de polímeros amorfos e tensoativo, com a finalidade de melhorar a solubilidade de fármacos hidrofóbicos e aumentar a

estabilidade do produto farmacêutico utilizado (VASCONCELOS et al., 2007). Estudo recente mostrou um aumento da estabilidade da fluvastatina em DS com diferentes tipos de polímero, entre eles a PVP (PAPAGEORGIU et al., 2009).

De forma geral as DS de primeira geração aumentam a taxa de dissolução de fármacos pela formação de finos cristais do fármaco via sistema monoeutético ou eutético. Assim, as DS de primeira geração podem ser vistas como uma técnica de redução de partículas. Sob certas condições nas DS de segunda e terceira geração o fármaco pode ser incorporado na matriz hidrofílica sem sofrer qualquer tipo de recristalização. Partículas do fármaco em DS são liberadas como pequenas partículas amorfas, melhorando, desta forma, sua dissolução. Além de aumentar a taxa de dissolução podem promover a liberação sustentada de fármacos, alterar propriedades do estado sólido, melhorar a liberação de fármacos em pomadas e bases de supositórios e aumentar e/ ou melhorar a solubilidade e estabilidade de fármacos pouco solúveis em água (HABIB, 2001). Isto pode ser explicado pelo aumento da área de superfície devido às mudanças no estado físico dos fármacos incorporados, como por exemplo, estado microcristalino em misturas eutéticas e formas moleculares ou amorfas em coprecipitados. Este fenômeno pode ser melhor compreendido pela equação de Noyes- Whitney, que mostra que a taxa de dissolução é diretamente proporcional à área de superfície do fármaco, aumentando desta forma a efetiva área de superfície para dissolução. A micronização também melhora a solubilidade de fármacos com tamanhos de partículas menores de 1 μm , como foi provado pela equação de Ostwald – Freundlich, que demonstra que a solubilidade aumenta exponencialmente em função da redução do tamanho da partícula. As DS modificam a estrutura física do cristal, gerando compostos com maiores entropia ou entalpia que o da forma cristalina, como formas polimórficas ou amorfas (SUN et al., 2008; YASUJI et al., 2008). A DS produz uma significativa redução no tamanho da partícula. Como o carreador se dissolve facilmente o fármaco estará no meio de dissolução na forma de partículas muito pequenas (micronizadas) propiciando uma taxa de dissolução e absorção mais rápida (TRAPANI et al., 1999). Contudo, a dissolução do fármaco contido em uma DS é influenciada por vários fatores como o método empregado para prepará-la, proporção fármaco/ carreador, características do carreador usado e características da superfície das partículas resultantes da DS (OZKAN et al., 2000).

Além do aumento da área de superfície pela redução do tamanho da partícula e da redução da cristalinidade, as DS podem promover outras alterações que aumentam a taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis em água. Entre estas alterações destaca-se o aumento da molhabilidade e a redução das forças de coesão interpartículas (CHIOU; RIEGELMAN, 1971; VERMA et al., 2003; SETHIA; SQUILLANTE, 2003; JOSHI et al., 2004).

Chiou e Riegelman (1971) relataram a função de polímeros hidrofílicos em melhorar a solubilidade e o grau de dissolução de fármacos com solubilidade baixa. Uma possibilidade atrativa pode ser representada pelo uso de polímeros solúveis em água, tais como PVP, PEG, derivados da celulose, ciclodextrinas, empregando a tecnologia de DS com a finalidade do aumento da dissolução do fármaco pouco solúvel em água (CIRRI et al., 2004). Estes excipientes têm sido utilizados, principalmente por suas propriedades de compatibilidade, baixa toxicidade, alta solubilidade aquosa e tolerância fisiológica (KHAN; JIABI, 1998; MARIN et al., 2002; HIRASAWA et al., 2004).

PVP tem sido extensivamente utilizada, e tem trazido resultados satisfatórios quando se pretende aumentar a solubilidade e a taxa de dissolução de fármacos com baixa solubilidade (EL-ARINI; LEUENBERGER, 1998; BROMAN et al., 2001; MARIN et al., 2002; GOHEL; PATEL, 2003; MALLICK et al., 2003; HIRASAWA et al., 2004; TRAPANI et al., 2004; LIMA, 2006; CWIERTNIA, 2008; WU et al., 2009).

Emara e colaboradores (2002) avaliaram que nifedipina em DS com PEGs é mais absorvida devido ao aumento da sua solubilidade em água na presença destes carreadores. Esta alteração está relacionada à modificação do estado cristalino da nifedipina para o estado amorfo. Este estudo concluiu que o método de obtenção da DS bem como o tipo e a concentração do carreador utilizado influenciam no resultado terapêutico da nifedipina.

A taxa de dissolução de DS de halofantrina em PVP foram significativamente maiores quando comparadas a comprimidos contendo somente este princípio ativo. A baixa solubilidade aquosa e a deficiente biodisponibilidade da forma farmacêutica disponível despertaram o interesse no desenvolvimento de uma formulação de DS do fármaco para a redução do tamanho da partícula, aumentando assim seu grau de molhabilidade e solubilidade aquosa (ABDUL-FATTAH; BHARGAVA, 2002).

DS de ibuprofeno em PEG 1000, talco e PEG e talco foram preparadas pelo processo de evaporação do solvente. Os resultados mostraram aumentos

significativos na taxa de dissolução do fármaco quando este foi incorporado neste tipo de processo tecnológico farmacêutico (KHAN; JIABI, 1998).

Chutimaworapan e colaboradores (2000) usaram na preparação de DS de nifedipina, vários processos (fusão, evaporação e fusão/ evaporação). A solubilidade e taxa de dissolução foi aumentada significativamente por todos os processos, especialmente no processo da fusão.

Usando fosfolipídios ou PEGs como carreadores obtiveram aumento na taxa de dissolução de etopropazina. Os resultados mostraram que os fosfolipídios aumentaram cerca de oito vezes a taxa de dissolução e que esta modificação está relacionada à perda da cristalinidade do fármaco (PRABHU et al., 2001).

DS de artemisinina foram obtidas pelo processo do fluido supercrítico (FSC), com o propósito de aumentar a taxa de dissolução da artemisinina, com o objetivo de aumentar sua absorção intestinal. Os resultados foram satisfatórios, indicando que a redução no tamanho das partículas nas DS possibilitou a melhora das características de absorção intestinal da artemisinina (VAN NIJLEN et al., 2003).

Lima (2006) utilizando PVP ou glicolato sódico de amido como carreador em DS de PZQ obteve bons resultados quanto à melhora da solubilidade do fármaco, de acordo com os dados obtidos em análises físico-químicas comparativas entre fármaco, MF e DS do PZQ nos carreadores farmacêuticos. Tanto PVP como glicolato sódico de amido aumentaram a solubilidade do fármaco, mudança no estado cristalino para amorfo, além de indicar estabilidade dos sistemas.

Apesar de muitos trabalhos relatarem o grande interesse da área farmacêutica no uso de DS, já que o uso deste tipo de processo farmacêutico tem mostrado ser de grande utilidade na melhora da taxa de dissolução e na biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água, muito pouco das formulações tem sido desenvolvidas em larga escala devido principalmente a problemas associados com o processo de manufatura e estabilidade física e química das DS, já que a aplicação comercial efetiva das DS depende de vários fatores, tais como o método de preparação, a reprodutibilidade das propriedades farmacotécnicas, da formulação, além da estabilidade física e química do fármaco incorporado nas DS (SHEEN et al., 1990; SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

Pesquisas empregando DS nos últimos 30-40 anos indicam que esta é uma estratégia muito útil para melhorar a taxa de liberação e a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água. A mais frequente preocupação com as DS está

relacionada com a possibilidade de escalonamento, a estabilidade física e a quantidade de carreador necessária para alcançar a taxa de liberação desejada. Quando uma alta concentração de carreador é necessária, a quantidade de dispersão requerida para administrar a dose usual do fármaco pode ser tão alta que inviabiliza a produção de comprimidos ou cápsulas que possam ser facilmente deglutidas.

Dadas as inúmeras vantagens oferecidas pelas DS as perspectivas futuras desta técnica são promissoras. A busca de novas técnicas e processos de obtenção possibilitarão expandir seu uso, para além do aumento da solubilidade de fármacos hidrofóbicos.

A PVP, utilizada neste trabalho, é um pó fino, branco, sem odor, com ponto de fusão aproximadamente 150 °C, muito higroscópico, livremente solúvel em ácidos, clorofórmio, etanol, metanol e água. PVP é utilizada em uma variedade de formulações farmacêuticas, principalmente nas formas farmacêuticas sólidas (KIBBE, 2002). A solubilidade de vários fármacos pouco solúveis em água pode ser aumentada pela mistura de PVP. A Figura 2 mostra a fórmula estrutural da PVP.

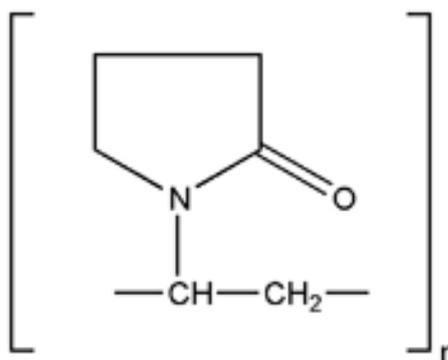


Figura 2: Fórmula estrutural da polivinilpirrolidona

2.4. Métodos de Preparação de Dispersões Sólidas

Entre os processos tecnológicos disponíveis para obtenção de DS, o método de evaporação do solvente tem sido visto como um dos mais empregados. Contudo o uso de solventes orgânicos tem limitado o uso desta técnica e dificultado sua aplicação industrial. No método de preparação por evaporação do solvente, o

carreador e o fármaco são dissolvidos em um solvente, geralmente, orgânico, e o solvente é evaporado a uma temperatura fixa e à pressão reduzida. Com a remoção do solvente ocorre uma supersaturação do meio seguido de precipitação simultânea dos constituintes. O solvente, aderido à superfície da partícula coprecipitada, é removido por secagem com auxílio de vácuo. Contudo, nestes casos, há a possibilidade de formação de solvatos (TACHIBANA; NAKAMURA, 1965; SEKIKAWA et al., 1979; TAKAYAMA et al., 1982; SEKIKAWA et al., 1983; BLOCH et al., 1983). O método de evaporação do solvente é indicado para fármacos termolábeis, que poderiam se degradar na temperatura de fusão do carreador. A dificuldade deste método está em encontrar um solvente que dissolva tanto o fármaco como o carreador. Além disso, o uso de diferentes solventes pode induzir o aparecimento de diferentes polimorfos (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

Outro método para obtenção das DS é a fusão, processo em que o carreador é aquecido a uma temperatura ligeiramente superior a do seu ponto de fusão e o fármaco fundido ou não é incorporado ao carreador. A mistura fundida é resfriada sob agitação constante o que permite uma mistura homogênea do fármaco no carreador. A DS é em seguida pulverizada para obter um pó com granulometria entre 125-250 μm (JAFARI et al., 1988; ALDEN et al., 1992; ALDEN et al., 1993; SAERS et al., 1993). Se o fármaco tem alto grau de solubilidade no carreador, ele pode permanecer “dissolvido” no estado sólido, originando o que é conhecido como solução sólida. Sob estas condições a redução no tamanho das partículas provê um nível máximo de dispersão molecular do fármaco no carreador. Se, por outro lado, a solubilidade do fármaco no estado sólido não é alta, cristais do fármaco dispersam-se no carreador. Neste caso é observado, apenas, um aumento moderado na taxa de dissolução. Além de se apresentar disperso na forma molecular ou de pequenos cristais uma mudança no estado sólido de cristalino para amorfo pode ocorrer, favorecendo a taxa de dissolução (KREUSCHENER et al., 1980). A estabilidade do fármaco pode ser afetada pelo tempo de fusão e pela velocidade de resfriamento (CHIOU, 1977). Este método é útil, principalmente, para fármacos e carreadores que se misturam no estado líquido após a fusão de ambos. A utilização deste processo é relativamente simples e rápida. As desvantagens incluem sublimação, transformação polimórfica e degradação térmica, as quais podem afetar negativamente nas propriedades físico-químicas do fármaco, na taxa de cristalização e tamanho do

cristal (GOLDBERG et al., 1965; EL-BANNA et al., 1975; FORD et al., 1979; FORD et al., 1981).

Um método usado para fármacos que tenham elevado ponto de fusão ou que sejam termolábeis é o método de preparação fusão-evaporação do solvente. A solução do fármaco é incorporada ao carreador previamente fundido; se o carreador é capaz de reter uma certa proporção do solvente mantendo suas propriedades sólidas ou se este é inócuo, a remoção do solvente é desnecessária. Contudo, como citado anteriormente há a possibilidade da formação de solvatos (SINGLA; VIJAN, 1990; FERNANDEZ et al., 1992).

2.5. Fluido Supercrítico

Dentre todos os procedimentos técnicos empregados para obtenção de DS a tecnologia do FSC oferece vantagens consideráveis para a formação de micro e nanopartículas de fármacos e excipientes farmacêuticos. Estudos pioneiros têm sido reportados na literatura apontando as vantagens desta técnica (SETHIA; SQUILLANTE, 2003; YEO; KIRAN, 2005; KAWASHIMA; YORK, 2008; YASUJI et al., 2008). Entre elas destacam: uniformidade granulométrica, microencapsulação, revestimento de superfície, alto grau de pureza dos produtos, controle do aparecimento de polimorfos, possibilidade de processar moléculas termolábeis e processo unitário de produção das partículas. Esta tecnologia é tida como ecologicamente aceitável e de fácil transposição de escala (SETHIA; SQUILLANTE, 2003; YILDIZ et al., 2007).

FSC é qualquer fluido que esteja a uma temperatura e pressão acima de seus valores críticos (MAJERIK et al., 2007). Por este motivo vale ressaltar que nenhuma substância é um FSC, mas sim que pode ser levada ao seu estado supercrítico, sob condições pré-estabelecidas de calor e pressão, até que estes consigam superar o seu ponto crítico, ou seja, fluidos tornam-se supercríticos quando são comprimidos além de sua pressão crítica (P_c) e simultaneamente aquecidos além de sua temperatura crítica (T_c) (GUPTA; SHIM, 2007).

A extração com FSC conquistou posições expressivas em diversos setores das indústrias química, petroquímica, alimentícia, de polímeros, de produção de pigmentos, identificação e controle de matérias-primas, assim como no desenvolvimento de produtos farmacêuticos, a tal ponto que o FSC passou a ser chamado de "o solvente do novo milênio". Além da extração, esta tecnologia tem

vido utilizada na separação e processos de cristalização e obtenção de partículas, com rapidez, eficiência e alto grau de pureza (LANG; WAI, 2001). A escolha do FSC é muito importante no desenvolvimento do produto e no processo de eliminação supercrítica do solvente utilizado. Parâmetros como pressão, temperatura, estrutura química e concentração do cossolvente, vazão, método de operação (estático ou dinâmico), diâmetro de partículas e tempo de extração devem ser considerados na otimização de processos com FSC.

Para todas as substâncias existe uma fase específica em que uma P_c e T_c existem ao mesmo tempo. Nesta fase, a pressão é suficiente para impedir que a substância evapore e ao mesmo tempo determina um limite no grau de mobilidade molecular; a temperatura é também alta o suficiente para prevenir que o composto torne-se líquido (YASUJI et al., 2008). O FSC mostra propriedades semelhantes aos dos líquidos (densidade) e aos dos gases (compressibilidade). Estas propriedades especiais dos FSC conferem-lhes grandes vantagens num processo de extração e precipitação de partículas (AYMONIER et al., 2006; MAJERIK et al., 2007; YASUJI et al., 2008). Para geração de partículas a característica mais atraente dos FSC é sua propriedade de apresentar características similares a de um líquido, o que lhe confere grande poder de solvatação e a compressibilidade próxima a de um gás (SKOOG; LEARY, 1992).

A linha líquido- gás que explica este fenômeno estende-se de um ponto triplo (PT) até um ponto crítico (PC), onde as propriedades líquido e vapor chegam a ser idênticas, e é acima deste ponto que a região é chamada de supercrítica. O estado físico de uma substância inespecífica pode ser descrito por um diagrama de fases, representado na Figura 3.

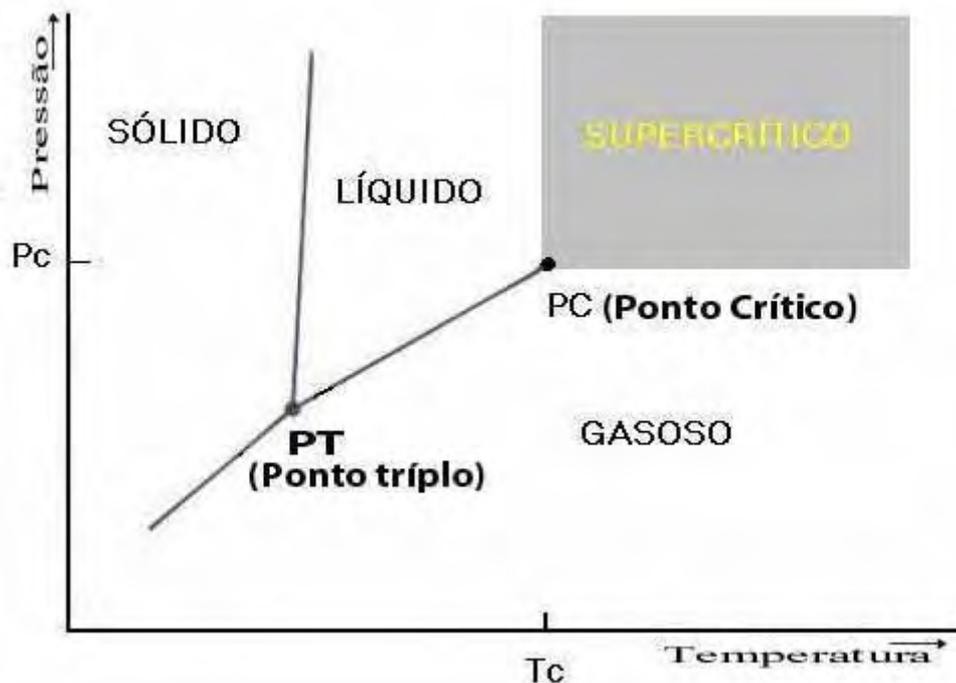


Figura 3: Diagrama de fase representativo do estado físico e supercrítico de uma substância inespecífica

Outra característica importante dos FSC é ter um coeficiente de difusão de massa maior e viscosidade e tensão superficial menores que um solvente líquido, o que lhe permite penetrar em pequenos espaços e poros de materiais sólidos dos quais se deseja extrair o soluto (extração) ou o solvente (formação de partículas), neste caso favorecendo a extração controlada pela difusão molecular (MCHUGH; KRUKONIS, 1994; WANG; WELLER, 2006).

Os FSC são frequentemente utilizados como solventes. O estado supercrítico do solvente é atingido quando a temperatura (T) e a pressão (P) estão acima dos seus parâmetros críticos, ou seja, $T > T_c$ e $P > P_c$. A tecnologia do FSC trabalha com T e P moderadas, e a separação do solvente é relativamente fácil e mais eficiente que outros processos com o mesmo propósito. Além disto, o tempo de eliminação do solvente é, depois de estabelecida as condições ideais de P_c e T_c , relativamente rápido. Os produtos obtidos apresentam alto valor agregado e o tamanho das partículas pode ser controlado usando diferentes modelos de bico atomizador (bocal) (MOHAMED et al., 1989).

A Tabela 1 apresenta as Tcs e as Pcs de alguns gases comuns. Os dados da tabela indicam, por exemplo, que o dióxido de carbono (CO₂) líquido não pode ser formado pelo aumento da P, a menos que a T esteja acima de 37 °C.

Tabela 1: Temperaturas críticas de alguns gases comuns

	Temperatura crítica (° C)	Pressão Crítica (bars)
Gases nobres		
Hélio	- 268	
Neônio	- 229	
Argônio	- 123	
Criptônio	- 64	
Xenônio	17	
Halogênios		
Cloro	144	
Bromo	311	
Moléculas inorgânicas pequenas		
Hidrogênio	- 240	
Oxigênio	- 118	
Água	374	221,2
Nitrogênio	- 147	
Amônia	132	113,5
<i>Dióxido de carbono</i>	37	60- 70
Compostos orgânicos		
Metano	- 83	
Tetracloroeto de carbono	283	
Benzeno	289	

2.5.1. Dióxido de Carbono Supercrítico

Dentre os FSC utilizados o CO₂ é o de primeira escolha devido às suas características físico-químicas mais adequadas (WANG; WELLER, 2006). Contudo, sua aplicação deve-se principalmente ao fato de ser atóxico, não inflamável,

apresentar baixa reatividade química, fácil acesso, obtido com alto grau de pureza, baixo custo e, sobretudo, por seus parâmetros críticos baixos (TAYLOR, 1996).

Na área farmacêutica o CO₂ supercrítico tem sido apontado como o FSC mais vantajoso, seja para a micronização, controle de polimorfismo ou obtenção de DS (MORIBE et al., 2008). Outra vantagem do uso de CO₂ supercrítico é a facilidade de sua remoção de materiais poliméricos quando o processo é finalizado e, mesmo que uma pequena quantidade de gás fique preso à matriz polimérica não proporciona riscos à saúde devido suas propriedades atóxicas (AYMONIER et al., 2006; YILDIZ et al., 2007; YASUJI et al., 2008). O CO₂ supercrítico tem sido usado industrialmente em uma variedade de processos, incluindo a descafeinização de chá e café (em que, ao contrário dos solventes orgânicos, não ocorre a formação de um resíduo desagradável e possivelmente tóxico), extração de ácidos graxos, especiarias, flavorizantes, fragrâncias, óleo de milho e corantes de pimentas vermelhas. Outras aplicações incluem polimerização, fracionamento de polímeros, formação de partículas de uso farmacêutico, tinturas têxteis, limpeza de máquinas e peças eletrônicas (GUPTA; SHIM, 2007). Além disso, dispersões só de água/CO₂ ou de CO₂/água na forma de emulsões ou microemulsões oferecem novas possibilidades de minimizar a poluição ambiental causada pelos solventes orgânicos e pode ser aplicada em qualquer campo de produção, incluindo processos químicos, farmacêuticos, alimentícios, microeletrônicos para solubilização e separação (ex. proteínas, íons e metais pesados), formação de partículas, entre outros (JOHNSTON; ROCHA, 2009).

Desta forma, grande parte da atenção dispensada à técnica dos FSC tem sido dada ao processo obtido pelo uso do CO₂. O CO₂ (O=C=O) é considerado uma molécula apolar. Contudo, devido à presença de seu momento quadrupolo (sistema neutro composto de quatro cargas elétricas pontuais, duas positivas e duas negativas, dispostas alternadamente) uma pequena polaridade é detectada. O CO₂ supercrítico pode ser descrito como um solvente hidrofóbico com polaridade comparável ao hexano. Desta forma, moléculas apolares ou de baixo peso molecular dissolvem-se facilmente em CO₂ supercrítico, enquanto moléculas polares ou de alto peso molecular (exemplo polímeros, ácidos graxos alifáticos e seus ésteres, ácidos aromáticos, proteínas, metais complexos) têm baixa solubilidade. Alguns compostos polares ou apolares (exemplo acetona, metanol, etanol, tolueno, hexano e mentol) são usados como cossolventes (também chamados de 'entrainers' ou

'modificadores') para aumentar a solvatação do pó e a polaridade do CO₂ (GUPTA; SHIM, 2007).

Assim, o CO₂ apesar de ser caracterizado como uma molécula apolar apresenta um caráter intermediário entre um solvente totalmente não-polar e fracamente polar (CLIFFORD, 1998). Muitos solutos não voláteis são também insolúveis em CO₂, seja devido à perda do momento dipolo seja devido às forças, mais fracas, de Van der Waals. Estas características que poderiam ser desvantagens podem ser contornadas pela adição de intermediários (cossolvente), que apresentem características polares e ampliar as aplicações dos FSC. A adição de um intermediário faz aumentar a solubilidade, de um determinado soluto por um determinado componente, devido às associações químicas e interações entre eles e/ou o aumento de densidade (BRUNNER, 1983). A presença de intermediários rompe a interação entre a molécula de interesse e a matriz, aumentando a eficiência do processo (LANG; WAI, 2001). Em processos de extração, as vantagens do uso de intermediários são favorecimento da dessorção do soluto e a diminuição da quantidade de solvente utilizado. O fator predominante, no entanto, é a natureza química dos componentes e as condições experimentais de T, P e concentrações (ZHONG; MASUOKA, 1997). Brennecke et al. (1990) sugerem a formação de um cluster ao redor da molécula. O termo cluster se refere ao aumento de densidade local em decorrência da maior quantidade de solvente no entorno da molécula. Este aumento de densidade se deve à atração entre soluto e solvente e à compressibilidade do sistema próximo ao ponto crítico, formando assim aglomerados de moléculas de solvente. Ting et al. (1993) afirmam que, dependendo do soluto e do intermediário, haverá a possibilidade de formação de ligações de hidrogênio entre as moléculas de soluto e as moléculas do intermediário. A escolha do intermediário deve ser feita racionalmente. O isopropanol tem efeito de cossolvente menor que o propanol, devido ao impedimento estérico que dificulta a formação de cluster de solvatação, pois o posicionamento da hidroxila no meio da cadeia dificulta a aproximação para a formação da ligação de hidrogênio com o oxigênio presente na molécula do soluto. A adição de cossolvente modifica a polaridade do CO₂ e as propriedades do solvente supercrítico. No caso da adição de álcoois, a P_c e a T_c aumentam de acordo com o aumento da concentração destes na mistura (MCHUGH; KRUKONIS, 1994).

A solubilidade é o critério mais importante que afeta a eficácia de muitos dos processos envolvendo os FSC, que pode ter um direto efeito na taxa, rendimento ou na economia do processo. Dependendo do processo, alta solubilidade ou solubilidade extremamente baixa podem ser desejadas. Por exemplo, alta solubilidade é exigida em processos de extração supercrítica. Por outro lado, baixa solubilidade é requerida para misturas de solventes orgânicos/ CO₂, usados em processos de precipitação supercrítica como antissolventes para obtenção de partículas (SUN et al., 2008).

A solubilidade do soluto no FSC depende de um complexo equilíbrio entre a densidade do FSC e a P de vapor do soluto, os quais são controlados pela T e pela P do sistema. O CO₂ supercrítico é capaz de solubilizar componentes não polares ou de baixa polaridade e incapaz de solubilizar proteínas, polissacarídeos e sais minerais, tem um alto poder de solvatação de compostos orgânicos oxigenados de média massa molecular, tem baixa solubilidade em água à T abaixo de 100 °C e é capaz de separar componentes que tem baixa volatilidade e alta massa molecular e/ou que são mais polares com o incremento da P (BRUNNER, 2005).

A baixa T crítica (37 °C) do CO₂ permite sua utilização no estado supercrítico sem prejudicar as propriedades funcionais de compostos termolábeis (MCHUGH; KRUKONIS, 1994). A P crítica relativamente baixa (60-70 bars) é facilmente alcançada e possibilita uma série de combinações entre T_c e P_c que facilitam os processos de eliminação de solventes com diferentes características.

Quando se aplicam pequenas alterações na T ou na P é possível observar variações, consideráveis, de densidade do CO₂ na região supercrítica. Através das isotermas é possível notar que após o PC a densidade é influenciada pela T. Para a P_c de 100 bars um aumento na T 60 K (-213,15 °C) reduz significativamente a densidade do FSC. Como conseqüência, o aumento de T aumenta a energia livre do sistema e com isso seu potencial de solubilização. Por outro lado baixas T favorecem o poder de solvatação do FSC. Nesta região, à medida que se afasta da P_c este efeito fica menos evidente. Em determinados valores críticos de P e T a solubilidade independe da T do gás. Neste caso o comportamento do gás é delimitado pela chamada P de cruzamento (CHIMOWITZ; PENNISI, 1986). Em situações nas quais a P está acima da P de cruzamento aumentos de T aumentam a solubilidade do soluto no FSC. Abaixo da P de cruzamento um aumento de T diminui a solubilidade do soluto no FSC. Esse fenômeno é denominado de comportamento

retrógrado do FSC. O comportamento retrógrado é uma característica típica dos processos de extração supercrítica e é atribuído principalmente a uma relação entre os efeitos de P de vapor que aumenta com a T e o efeito da densidade do solvente que diminui com a T, o que resulta na redução da solubilidade. Este comportamento retrógrado é uma manifestação da predominância do efeito da densidade que é muito sensível à T nestas condições. Um exemplo de comportamento retrógrado está na Figura 4, que apresenta a solubilidade da cafeína em CO₂ supercrítico (SALDAÑA et al., 1999). Observa-se na Figura 4 que abaixo da P de cruzamento (19 MPa), aumentos de T diminuem a solubilidade da cafeína (devido à diminuição da densidade), enquanto que acima dessa P, T mais altas solubilizam maior quantidade de cafeína.

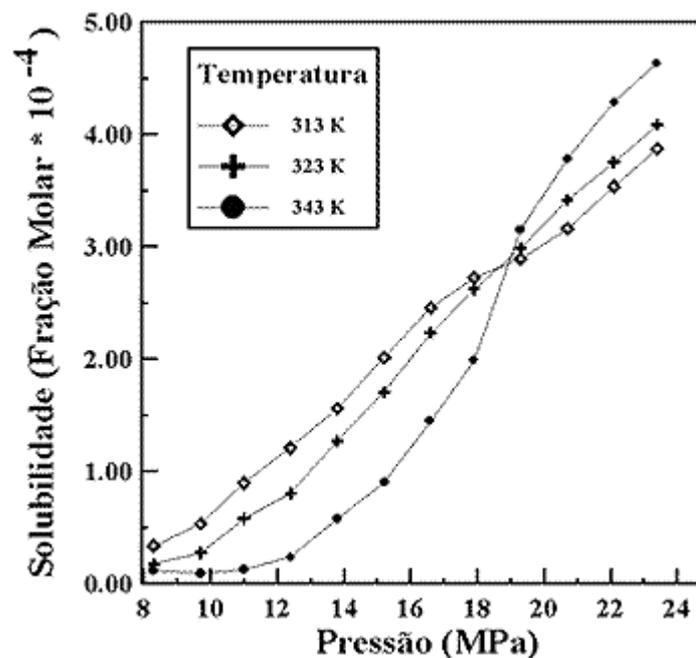


Figura 4: Solubilidade da cafeína pura no CO₂ supercrítico (SALDAÑA et al., 1999)

2.6. Aplicações Farmacêuticas dos Fluidos Supercríticos

O interesse pelos sistemas envolvendo FSC na área farmacêutica cresceu muito nos últimos anos impulsionado pelas suas aplicações na geração de produtos para uso alimentício, cosmético, terapêutico e analítico. Sem dúvida nenhuma, a área de maior crescimento em aplicações dos FSC foi a indústria farmacêutica.

Como exemplo podemos citar a análise de antibióticos, antifúngicos, benzodiazepínicos, sulfonamidas, tocoferóis e esteróides (CARRILHO et al., 2006).

O uso do FSC na área farmacêutica para melhorar a solubilidade de fármacos lipofílicos pode favorecer a comercialização de vários produtos farmacêuticos, alguns deles já no mercado, como por exemplo, Rapamune[®] (solução oral para profilaxia de rejeição em pacientes transplantados renais), Emend[®] (prevenção de náuseas e vômitos), Elyzol[®] (antibiótico) e Carbatrol[®] (anticonvulsivante). De fato, as aplicações farmacêuticas da tecnologia dos FSC têm sido extensamente publicadas em excelentes artigos e revisões da literatura (PERRUT, 2000; CARRILHO et al., 2006; YASUJI et al., 2008). Uma vez que a tecnologia dos FSC pode ser usada na produção de partículas com adequados tamanhos e diâmetro, é fácil compreender que sua aplicação em processos farmacêuticos é vantajosa. Por esta razão a aplicação comercial vem gradualmente crescendo, sendo usada também na fabricação de pós para liberação pulmonar. Além disso, vacinas, proteínas, peptídeos e DNA também são fabricados com o emprego desta tecnologia (BOUNACEUER et al. 2007; YASUJI et al., 2008). Duas das maiores vantagens dos FSC são que eles requerem pouco ou nenhum solvente orgânico e pouco ou nenhum aquecimento na produção das partículas.

Muitas técnicas tradicionais são usadas na literatura para a preparação de DS de fármacos, mas sempre apresentam limitações de seu uso. O processo do FSC tem sido considerado excelente. A técnica de formação de partículas empregando FSC envolveu diferentes técnicas nos últimos 20 anos. Uma ampla variedade de materiais orgânicos e inorgânicos têm sido obtidos na formação de partículas na qual se utiliza a técnica do FSC como solvente ou antissolvente. As versáteis condições de operação que são possíveis neste processo permitem flexibilidade no controle do tamanho das partículas a serem obtidas, que de fato tem aberto novos horizontes para a tecnologia do FSC na área de partículas por estender a operação à nanotecnologia. Dentre as vantagens da técnica cita-se a estabilidade que as partículas resultantes apresentam frente às variáveis do processo (YASUJI et al., 2008).

2.7. Técnicas utilizadas no Processamento de Materiais Farmacêuticos e Biológicos com Fluidos Supercríticos

Na última década o processo utilizando FSC mostrou grande evolução em muitos dos desafios enfrentados pela indústria na formação de partículas. As técnicas que têm sido utilizadas nas aplicações farmacêuticas são:

1) **Rapid Expansion of Supercritical Solutions (RESS): Expansão Rápida de Solução Supercrítica** ou Precipitação de Soluções Supercríticas: o processo é uma técnica simples e eficiente, em que um FSC, como o CO₂, com ou sem um cossolvente, passa pela matéria-prima formando uma solução supercrítica. Esta solução agora contendo o soluto é então submetida à despressurização por expansão através de um fino bocal coaxial. A capacidade solvente do FSC é então reduzida, causando supersaturação e resultando na formação de partículas muito finas ou nucleação do produto. Para processos farmacêuticos o RESS tem ampla aplicação para compostos de baixa polaridade (solubilidade razoável em CO₂ supercrítico) (JUNG; PERRUT, 2001).

A utilização do processo RESS permite a micronização de solutos com a formação de partículas pequenas e uniformes (nanopartículas), desde que o soluto seja solúvel no FSC. A distribuição do tamanho das partículas formadas durante a expansão depende das condições de operação, assim como da geometria do bocal de expansão (ejetor). Esse processo, uma nova tecnologia frente às convencionais, não utiliza solventes orgânicos, é de fácil medição e, devido às características do FSC, produz partículas com diâmetros uniformes. Conforme esquema apresentado na Figura 5 o RESS consiste na saturação do FSC com o(s) substrato(s), com a despressurização desta solução diretamente no bocal aquecido em uma câmara sob baixa P, com o objetivo de promover a rápida nucleação do substrato na forma de pequenas partículas.

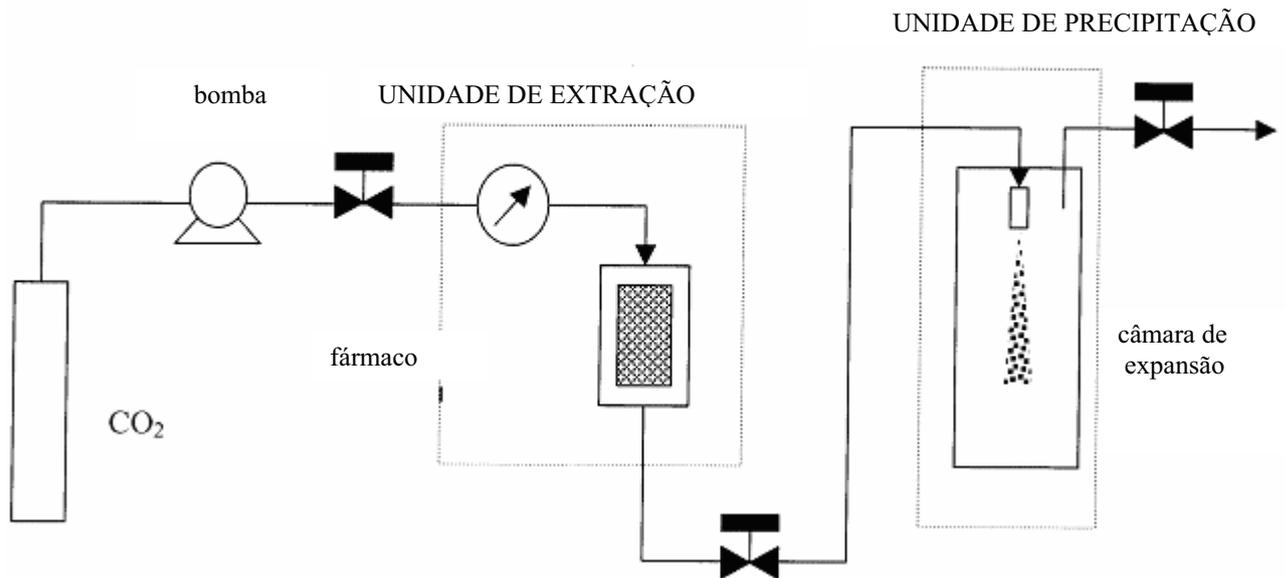


Figura 5: Esquema de funcionamento RESS (adaptado de JUNG; PERRUT, 2001)

2) **Supercritical Anti-Solvent and Related Process (GAS/ SAS, ASES, SEDS): Antissolvente Supercrítico e Processos Relacionados:** nestes processos o FSC é usado como um antissolvente que causa a precipitação do(s) substrato(s) inicialmente dissolvido em um solvente líquido (JUNG; PERRUT, 2001). O soluto é recristalizado da solução por um dos três métodos:

a) no primeiro método (GAS (gas anti-solvent)/ SAS (supercritical anti-solvent)) uma parte da solução é expandida e misturada com um gás denso em um recipiente (Figura 6). Devido à dissolução do gás comprimido, o solvente expandido tem menor força solvente que o solvente puro. A mistura então começa a supersaturar e o soluto precipita em micropartículas. Este tem sido chamado de Gás Antissolvente (GAS) ou Recristalização Antissolvente Supercrítico (SAS). Como aparece na Figura 6, o precipitador é parcialmente preenchido com a solução da substância ativa. O CO₂ é então bombeado sob alta P e introduzido no recipiente, preferencialmente no fundo para alcançar uma melhor mistura do solvente e do antissolvente. Depois de algum tempo, a solução expandida é escoada sob condições isobáricas para dessolvatar as partículas precipitadas.

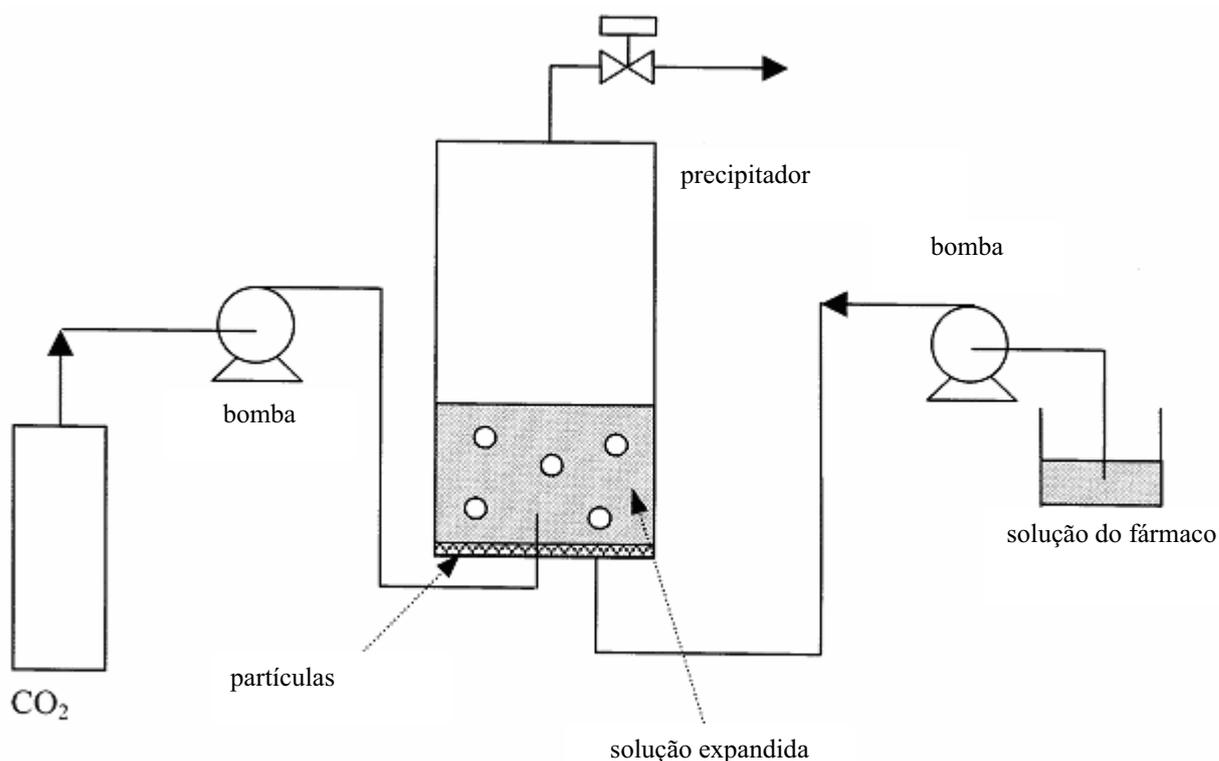


Figura 6: Esquema de funcionamento GAS/ SAS (adaptado de JUNG; PERRUT, 2001)

b) No segundo método (ASES= aerosol solvent extraction system) o(s) substrato(s) em solução são pulverizados no FSC (geralmente o CO_2), por período de tempo pré-determinado. Este é então seguido pela passagem de CO_2 supercrítico para extrair e remover o solvente e secar o produto precipitado (Figura 7). O foco da aplicação desta técnica está na redução do tamanho de partículas (JUNG; PERRUT, 2001).

A dissolução do fluido nas gotas é acompanhada por uma grande expansão de volume, e conseqüentemente, redução do poder solvente do líquido, causando alta elevação na supersaturação dentro da mistura de líquido, e a conseqüente formação de partículas pequenas e uniformes. O FSC é bombeado para a superfície do recipiente por aumento da P na bomba. Assim o sistema alcança o estado de equilíbrio (T e P), e a solução da substância ativa é introduzida sob alta P por um bocal. Para produzir pequenas gotículas no bocal, a solução líquida é bombeada com aproximadamente 20 bars. Partículas são coletadas em um filtro na parte inferior do recipiente. A mistura (FSC - solvente) retira o solvente e flui para um tanque de despressurização em que as condições (T e P) permitem a separação gás-líquido. Após a coleta de uma quantidade suficiente de partículas, o

bombeamento líquido da solução é suspenso e o FSC puro continua a correr através do sistema para remover o solvente residual das partículas. Este processo pulverizador tem sido chamado processo de sistema de extração de solvente por aerosol (ASES).

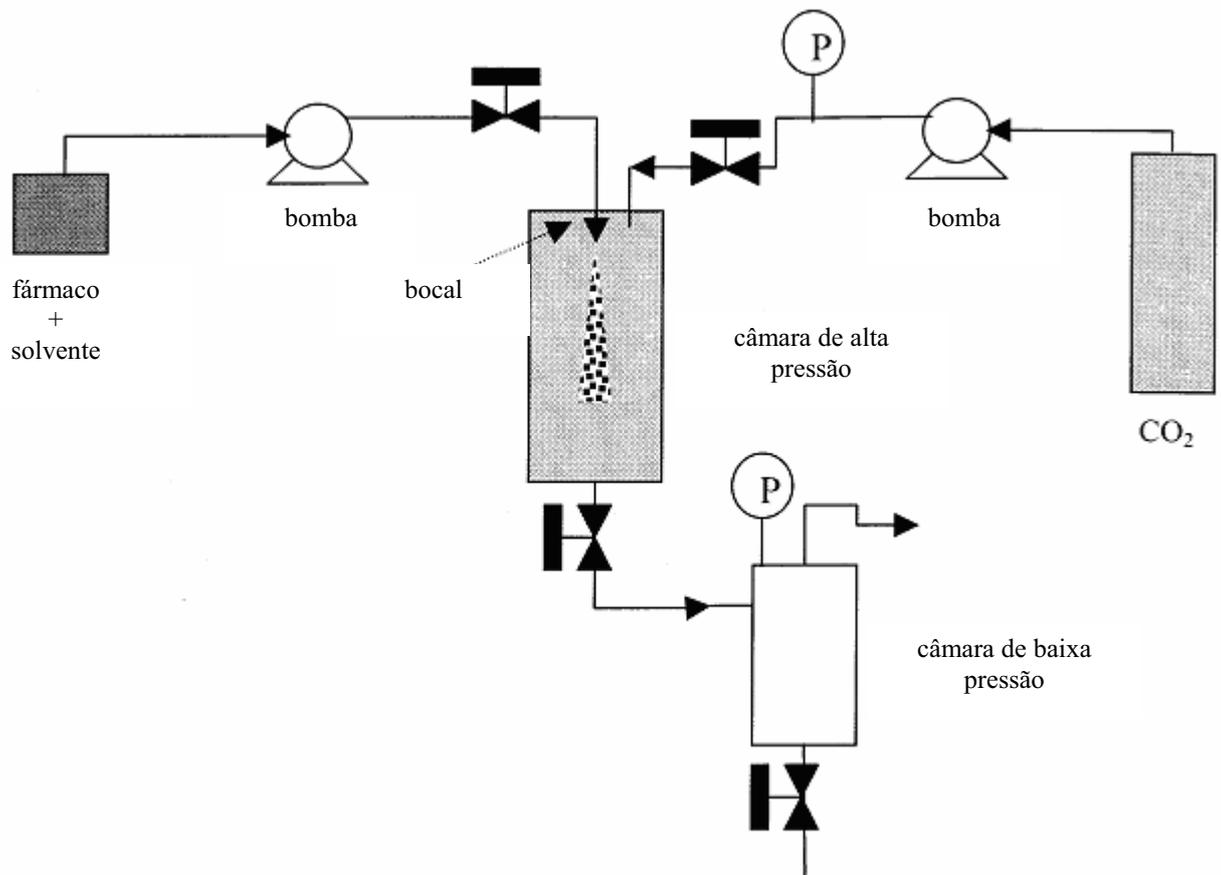


Figura 7: Esquema de funcionamento ASES (adaptado de JUNG; PERRUT, 2001)

c) O terceiro método, conhecido como Dispersão da Solução Expandida pelo Fluido Supercrítico (SEDS= solution enhanced dispersion by supercritical fluids) foi baseado no conceito de simultaneidade, ou seja, uso de um FSC como agente dispersante, por meio de bocal coaxial, e seu uso simultâneo como antissolvente e veículo para extrair o solvente da solução do fármaco. A técnica tem sido usada para processar compostos solúveis em água, inclusive biológicos, por introdução de um antissolvente orgânico junto com o FSC e a solução do fármaco. Certamente o FSC é usado por suas propriedades químicas e por seu efeito mecânico de “melhor pulverização”: um bocal com duas passagens coaxiais permite introduzir o FSC e a

solução de substâncias ativas no recipiente para formação da partícula, sob condições de P e T controladas (Figura 8). Além disso, as condições são elevadas de modo que o FSC possa extrair o solvente da solução ao mesmo tempo em que a disperse.

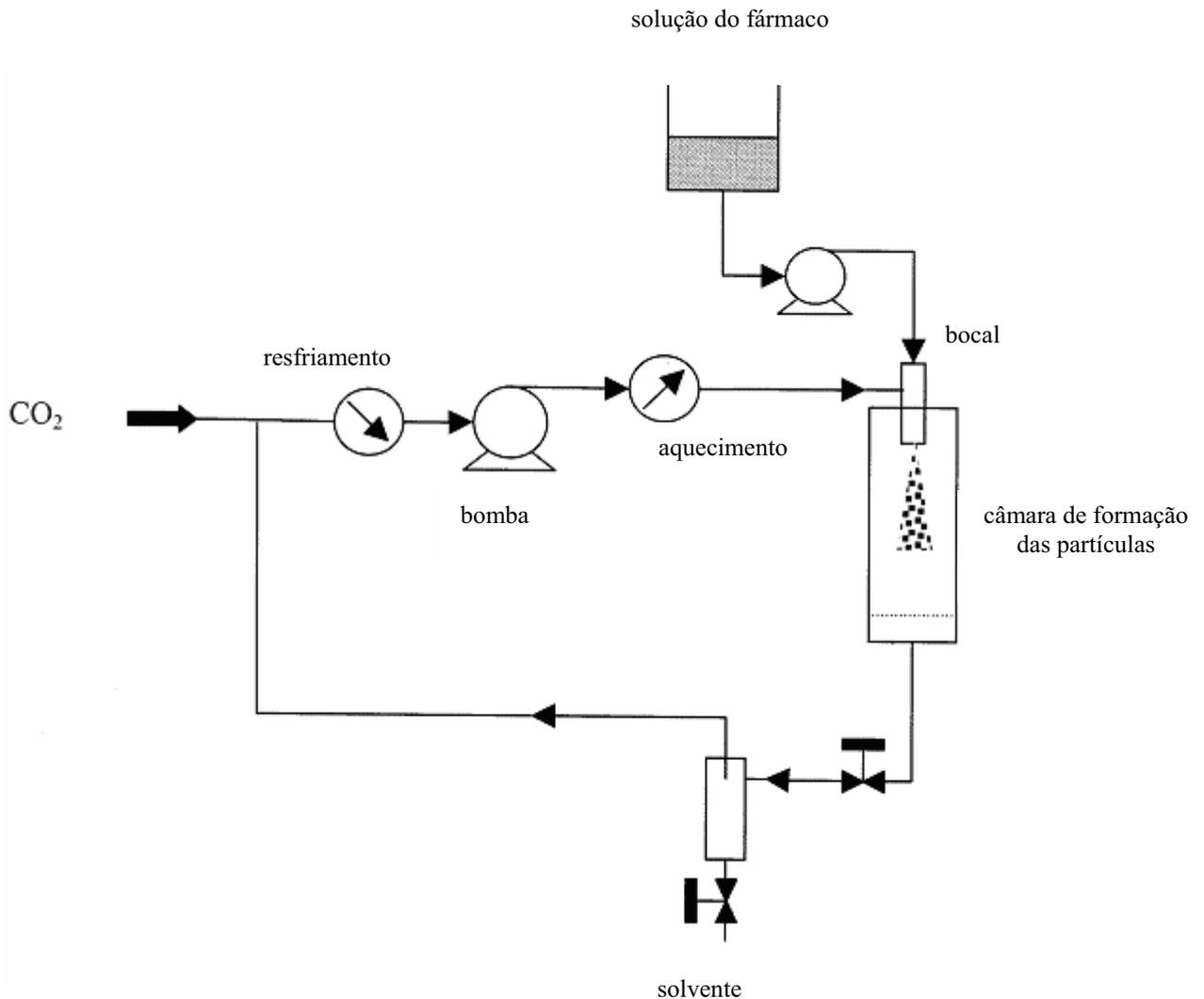


Figura 8: Esquema de funcionamento SEDS (adaptado de JUNG; PERRUT, 2001).

Estes três últimos processos podem conduzir à formação de micro e nanopartículas e são adequados para processar sólidos difíceis de dissolver em FSC, ou são sensíveis à altas T, tais como peptídeos ou proteínas. Além disso, a

adição de um carreador (frequentemente um polímero) à solução ativa pode conduzir à formação de micro e nanoesferas ativas carregadas por esse polímero, tais como as DS.

3) Particles from Gas-Saturated Solutions/ Suspensions (PGSS): Precipitação de Partículas de Solução de Gás Saturado ou Precipitação de Solução de Gás Saturado: esta técnica envolve o conceito de fusão do material a ser processado, e que então se dissolve num FSC sob P. A solução saturada é então expandida através de um bocal onde o FSC, que é mais volátil, escapa formando partículas finas e secas. Neste caso, o processo para uso farmacêutico é limitado devido às altas T necessárias para manter o material fundido.

Como a solubilidade dos gases comprimidos em líquidos e sólidos tais como polímeros é frequentemente alta, e muito mais alta que a solubilidade de tais líquidos e sólidos na fase comprimida, o processo consiste em solubilização do CO₂ supercrítico em substâncias fundidas ou suspensas, que é expandida por um bocal com a formação de partículas sólidas (Figura 9).

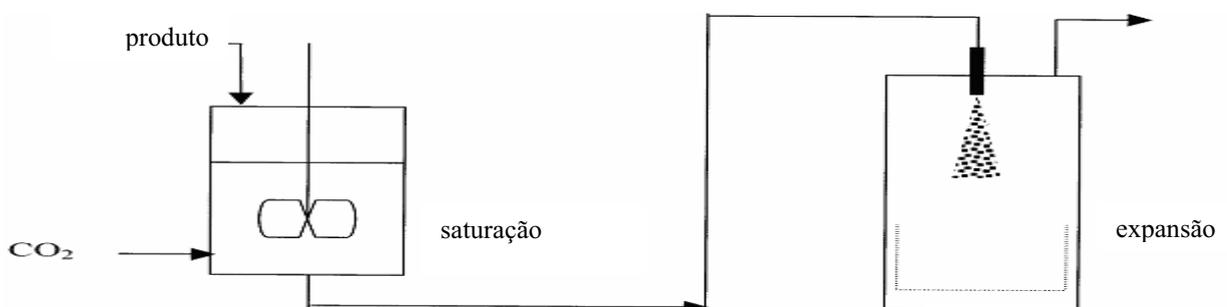


Figura 9: Esquema de funcionamento PGSS (adaptado de JUNG; PERRUT, 2001).

Os FSC exibem propriedades originais e particulares, que permitem o controle de parâmetros do ambiente da reação tais como a densidade e a viscosidade, difusividade ou tensão de superfície através do controle da P e da T. Estas

propriedades específicas são exploradas, então, para a aplicação do processo em materiais utilizados na preparação de DS. A possibilidade de controlar propriedades de transferência de massa de um FSC é particularmente útil para o crescimento (nucleação) dos cristais ou das partículas. O controle do tamanho de partículas em FSC foi em meados do século XXI, onde a nanotecnologia e nanociência representou uma área com grande potencial para o futuro (YASUJI et al., 2008).

O desenvolvimento e fabricação de sistemas particulados farmacêuticos estão ainda, na sua maior parte, como um grande desafio na ciência. Entretanto, um cuidadoso estudo e manipulação de sistemas particulados incluindo nanopartículas está sendo possibilitado pela aplicação da tecnologia dos FSC.

LIMA (2006) obteve melhora significativa da solubilidade do PZQ usado como modelo nos experimentos, quando DS deste fármaco foram preparadas pela técnica de evaporação do solvente. Ainda, recente em nosso grupo de pesquisa foi verificado que a solubilidade do PZQ em sistemas aquosos aumentou significativamente na presença de lipossomas de fosfatidilcolina de soja sem alterar sua efetividade quando testado em cultura de *S. mansoni*. O PZQ encapsulado em lipossomas multilamelares de lecitina de soja foi mais efetivo que o PZQ, sugerindo que o fármaco encapsulado estaria mais disponível para ser absorvido (MOURÃO, 2001; CINTO, 2005; SOUZA, 2008). Assim, procedimentos farmacotécnicos que melhorem a taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis em água têm papel importante na dissolução e conseqüente absorção e eficácia terapêutica de fármacos, sendo, portanto de grande importância na área farmacêutica.

Neste trabalho, mais que melhorar a biodisponibilidade do PZQ e aumentar sua eficácia no combate da esquistossomose, nosso intuito é contribuir para o avanço do uso da tecnologia dos FSC em processos farmacêuticos e demonstrar a importância das DS no melhoramento de medicamentos a partir de fármacos já conhecidos.

3. Objetivos

Geral

- Otimizar a solubilidade do PZQ
- Aplicação da tecnologia de FSC na preparação de DS de PZQ;
- Avaliação e desenvolvimento de DS de PZQ utilizando a tecnologia do FSC.
- Avaliar os parâmetros relacionados aos processos de obtenção das DS pela técnica do FSC.

Específicos

- Preparar DS de PZQ pela tecnologia do FSC, utilizando CO₂ como fluido;
- Caracterização físico - química das partículas geradas no processo de obtenção das DS.

4. Material e Métodos

4.1. Material

4.1.1. Matéria-Prima

- ✓ Acetonitrila Grau HPLC (J. T. Baker®)
- ✓ Ácido Clorídrico 0,1 N (Chemco®)
- ✓ Etanol Absoluto (Synth®)
- ✓ Gás Carbônico (White Martins®) 98,9% grau de pureza
- ✓ Polivinilpirrolidona K 30 (Henrifarma®)
- ✓ Praziquantel Padrão (Sigma®)
- ✓ Praziquantel (Gerbras®) lote 11001/ 2005
- ✓ TC 199: NaCl, KCl, CaCl₂, Na₂PO₄, glicose

4.1.2. Equipamentos

- ✓ Agitador Magnético (Nova Ética® modelo 114)
- ✓ Agitador Orbital (Kline® modelo 255)
- ✓ Balança Analítica (Marte® modelo AL 500)
- ✓ Bomba de Vácuo (Tecnal® TE-058)
- ✓ Calorímetro Exploratório Diferencial Shimadzu® DSC-50 (Instituto de Química)
- ✓ Difrátômetro de Raios X (Siemens®) (Instituto de Química)
- ✓ Dissolutor (Nova Ética® modelo 299) (Facis Unimep)
- ✓ Equipamento Fluido Supercrítico (Autic®) (Facis Unimep)
- ✓ Equipamento para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) Varian - modelo ProStar (FCFAR Unesp)
- ✓ Espectrofotômetro (Shimadzu® UV 1601 PC) (Facis Unimep)
- ✓ Evaporador Rotativo (Tecnal® TE-210)
- ✓ Infravermelho com transformada de Fourier (Shimadzu® modelo 8300) (Instituto de Química)
- ✓ Microscópio Jeol JSM – T 330 A Scanning Microscope (Instituto de Química)

4.2. MÉTODOS

4.2.1. Preparação das Dispersões Sólidas de Praziquantel com Polivinilpirrolidona pela Técnica do Fluido Supercrítico

Para obtenção das DS de PZQ em PVP várias combinações pressão/temperatura foram testadas até que um ponto ótimo para a precipitação das partículas fosse obtido. O aparelho (Figura 10) era primeiramente ligado até que a câmara de refrigeração (f) chegasse à -5 °C. Após este tempo, as válvulas de

controle de vazão do FSC (d) eram reguladas até que as condições críticas do CO₂ fossem alcançadas (60-140 bars e 37-80 °C). O PZQ e a PVP K30 eram dissolvidos separadamente em etanol, e imediatamente misturados. Uma câmara de precipitação com capacidade nominal para 500 mL era carregada com a solução PZQ - PVP (1:1, 1:2 e 1:3). Esta solução, PZQ - PVP, era bombeada para o interior da câmara de precipitação, mantendo-se as condições supercríticas, concomitantemente, com o CO₂, com fluxo de 1 mL/min. O estado supercrítico era mantido pelo aquecimento do sistema e bombeamento contínuo de CO₂ pelas bombas de pistão (e). Quando a fase líquida do gás expandia (despressurização), as partículas sólidas formadas eram coletadas na câmara de precipitação (a).



Figura 10: Equipamento utilizado para obtenção das partículas

- a) câmara de precipitação
- b) manômetros
- c) medidor de fluxo de CO₂
- d) válvulas para controle da vazão do FSC
- e) bombas de pistão
- f) câmara de refrigeração

4.2.2. Preparação da Mistura Física do Praziquantel com Polivinilpirrolidona

As MF foram preparadas pela homogeneização de PZQ com PVP em diferentes proporções (1:1, 1:2 e 1:3). Quantidades apropriadas de PZQ ou PVP foram pesadas e misturadas em gral com auxílio de pistilo por 10 minutos.

4.2.3. Avaliação da Solubilidade do Praziquantel, nas Misturas Físicas e nas Dispersões Sólidas

O PZQ, as MF e as DS de PZQ com PVP K30 foram pesados em balança analítica e misturadas com 10,0 mL de água de forma que a concentração final de PZQ fosse 2,0 mg/mL. Todas as amostras ficaram sob agitação constante por 24 horas à temperatura ambiente. Após este período as amostras foram filtradas por papel de filtro (0,45 mm) e a concentração de PZQ dissolvido determinada por espectrometria UV em 263 nm (Espectrofotômetro (Shimadzu® UV 1601 PC)).

4.2.4. Análise Microscópica Eletrônica de Varredura do Praziquantel, nas Misturas Físicas e nas Dispersões Sólidas

A análise microscópica das amostras de PZQ nas MF e nas DS se deu por meio de microscópio eletrônico Jeol JSM – T 330 A. As amostras foram cobertas com ouro, sob vácuo, em equipamento BAL-TEC SCD 050, por aproximadamente 200 s. As fotomicrografias foram obtidas a 26 °C, durante 100 s. As imagens foram capturadas com aumento de 1000 vezes.

4.2.5. Determinação Espectroscópica por Infravermelho com Transformada de Fourier

O espectro de absorção no infravermelho foi obtido por meio de transformador de Fourier (Shimadzu Hyper IR 151) usando o método dos discos de brometo de potássio. As amostras de PZQ, MF e DS (30 mg) foram misturadas com 375 mg de brometo de potássio. A mistura foi comprimida por prensa hidráulica (8 kgF) por 2 minutos para que discos com 10 mm de diâmetro fossem obtidos. Os espectros foram obtidos na faixa de 500 a 4000 cm^{-1} .

4.2.6. Estudos de Difração por Raios X

Os estudos de DRX do PZQ, nas MF e nas DS foram realizados utilizando-se difrator de raios X, Siemens, com níquel purificado e radiação de cobre. Todas as análises foram realizadas com a difração em ângulo de 2θ , variando de 5 a 70°.

4.2.7. Estudos Térmicos

A análise térmica do PZQ, nas MF e nas DS se deu por meio de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA). As DSC foram obtidas na faixa de 0 a 300 °C, sob atmosfera de nitrogênio, com razão de aquecimento de 10 °C/min e fluxo de 50 mL/min. Todas as análises foram feitas utilizando cadinhos de alumínio contendo aproximadamente 1 mg de amostra. O DSC do PZQ nas DS e nas MF foram comparadas com a DSC do PZQ. O TG e o DTA foram obtidas na faixa de 25-600 °C, sob atmosfera de nitrogênio (fluxo de 50 mL/min) e razão de aquecimento de 10 °C/min. Os ensaios foram conduzidos utilizando cadinho de óxido de alumínio.

4.2.8. Avaliação da Taxa de Dissolução do Praziquantel, nas Misturas Físicas e nas Dispersões Sólidas

O teste de dissolução foi conduzido segundo metodologia descrita na USP 26. A avaliação da taxa de dissolução do PZQ, na MF e na DS foi avaliada usando aparelho 2 de dissolução. O meio de dissolução (HCl 0,1 N com 2,0 mg lauril sulfato de sódio/ mL; 900 mL) mantido sob agitação constante de 50 rpm e temperatura de 37° C. As alíquotas de 5,0 mL foram coletadas nos tempos 5, 10, 15, 20, 40 e 60 minutos. O volume do meio foi mantido constante pela reposição simultânea de 5,0 mL de HCl 0,1 N a 37 °C. As amostras foram filtradas por meio de papel de filtro e a concentração de fármaco dissolvido analisado em comprimento de onda de 263 nm. Os resultados apresentados são a média de 6 determinações.

4.2.9. Avaliação da Absorção Intestinal de Praziquantel pelo Método do Saco Intestinal Invertido

Ratos machos adultos (210-250 g), mantidos em jejum por 8h, foram anestesiados com éter e o intestino delgado imediatamente dissecado, lavado com solução TC 199 a 10°C e colocado em meio de cultura para tecido (TC 199) na mesma temperatura e oxigenado (O₂:CO₂ – 95:5). O intestino foi então gentilmente invertido com auxílio de uma haste flexível com sua extremidade protegida com um

fino tecido de seda (mini brush), uma das extremidades foi fechada utilizando fio de sutura e o segmento intestinal preenchido com TC 199. A outra extremidade do segmento intestinal foi então fechada com auxílio de fios de sutura, de forma que o comprimento do segmento intestinal fosse de 6 cm. Ao meio de incubação foi adicionado PZQ, MF ou DS (1:1; 1:2; 1:3) de PZQ. A incubação foi realizada a 37°C, sob agitação suave do sistema previamente oxigenado. Após o período de 60 min de incubação, as amostras presentes no interior do saco intestinal foram filtradas e analisadas por CLAE. Este experimento teve aprovação do Comitê de Ética na FCFar/ Unesp, sob o parecer número 26/ 2009.

5. Resultados e Discussão

5.1. Preparação das Dispersões Sólidas de Praziquantel com Polivinilpirrolidona pela Técnica do Fluido Supercrítico

A Tabela 2 apresenta algumas das combinações pressão/temperatura testadas até que conseguíssemos um ponto ótimo para a precipitação das partículas. Os valores em negrito são as condições mais favoráveis para a obtenção das DS.

Tabela 2: Temperaturas e pressões críticas utilizadas para uma massa total de CO₂ de 3500 g e fluxo de 1 mL/min

Temperatura (°C)	Pressão (bars)	Dispersão Sólida
37,0	70,0	-
37,0	75,0	-
37,0	85,0	-
39,0	80,0	-
39,0	70,0	-
40,0	94,0	-
40,0	100,0	-
40,0	110,0	-
60,0	70,0	+
60,0	80,0	+++
60,0	100,0	++

O sinal + representa a obtenção de partículas.

A Figura 11 mostra a câmara de precipitação do equipamento de FSC, antes (a) e depois (b) da precipitação das partículas. Detalhe do bico atomizador pode ser observado na figura b.



a



b

Figura 11: Câmara de precipitação do equipamento de fluido supercrítico antes (a) e após (b) o processamento da amostra.

Ensaio preliminares em condições variadas de temperatura, pressão, velocidades de fluxo de solução e massa acumulada de CO₂ foram realizadas com a finalidade de otimizar os recursos do equipamento. As Figuras 12-14 apresentam os resultados dos ensaios exploratórios realizados para obtenção das DS usando as soluções etanólicas de PZQ: PVP K30 (1:1; 1:2 e 1:3), a melhor condição operacional ensaiada para cada DS está apresentada na Tabela 3. A temperatura de 60°C foi previamente estipulada como máxima em função do ponto de fusão da PVP K30. Temperaturas superiores a esta poderiam levar à fusão da PVP K30 e modificar a técnica, de preparação por evaporação do solvente para “hot melt”. Temperaturas superiores a 100 °C foram descartadas durante o período de padronização em função do baixo rendimento apresentado.

Tabela 3: Condições operacionais mais adequadas para obtenção das dispersões sólidas por fluido supercrítico

	<i>Dispersões sólidas</i>		
	1:1	1:2	1:3
Massa acumulada de CO ₂ (mg)	1500,0	2500,0	3500,0
Temperatura (°C)	60,0±5,0	60,0±5,0	60,0±5,0
Pressão (bars)	80,0	80,0	80,0
Fluxo de solução (mL/min)	1,0	1,0	1,0
Massa acumulada de DS (g)	15,0	15,0	17,0
Densidade CO ₂ (g/cm ³)	7,06	7,06	7,06

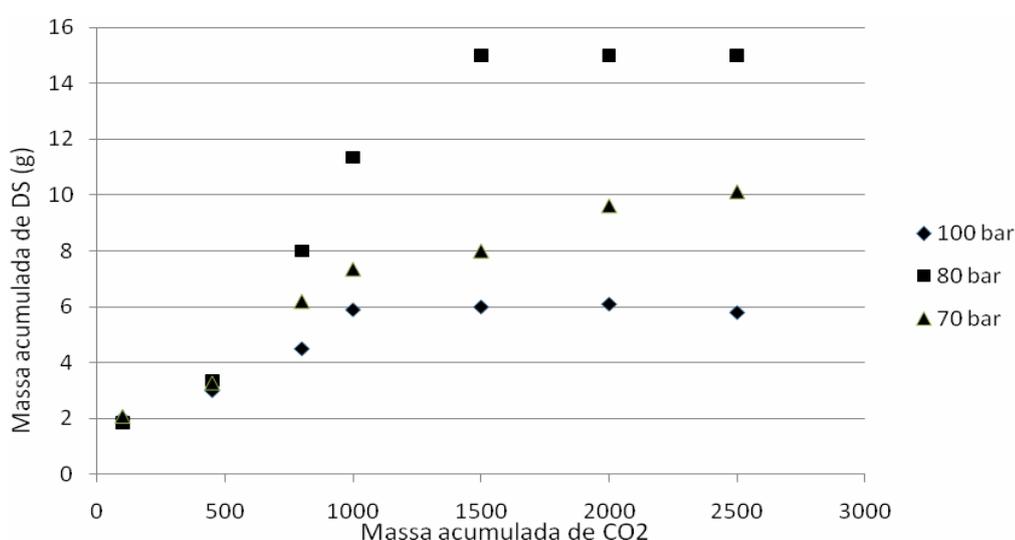


Figura 12: Curvas de obtenção de dispersão sólida 1:1 a 60,0±5,0

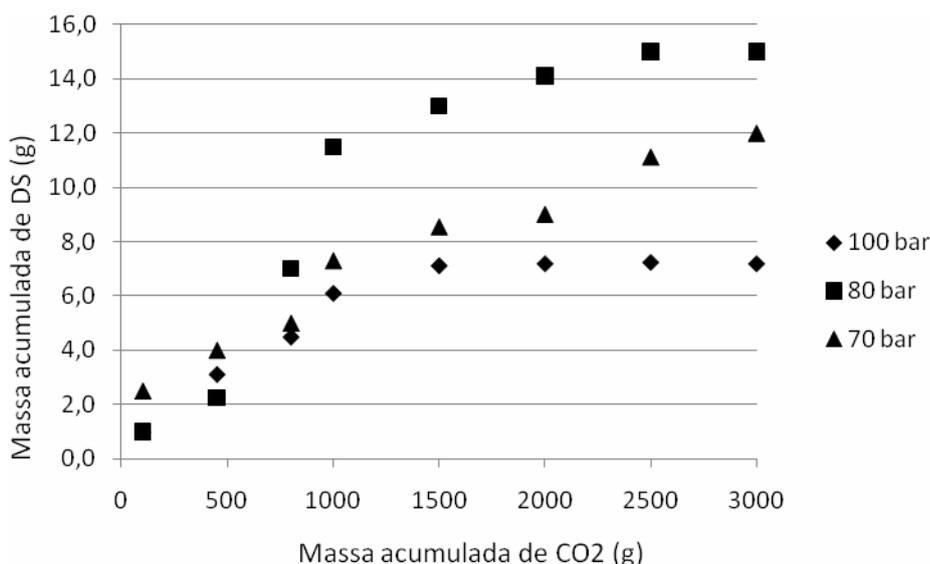


Figura 13: Curvas de obtenção de dispersão sólida 1:2 a 60,0±5,0.

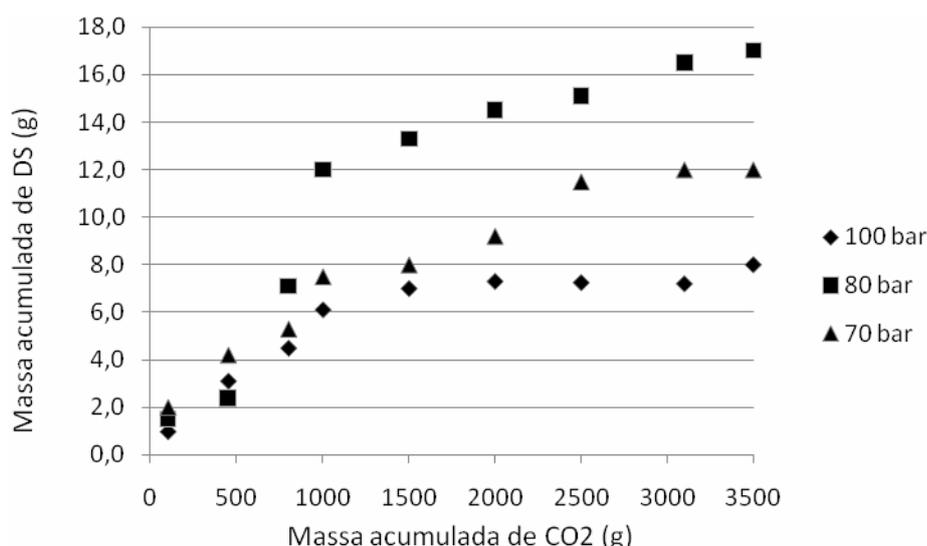


Figura 14: Curvas de obtenção de dispersão sólida 1:3 a 60,0±5,0°C

A análise comparativa das curvas de obtenção das DS indica um comportamento diferenciado entre as pressões de 70, 80 e 100 bars. Nestas pressões as densidades do CO₂, na temperatura de 60°C, são respectivamente 6,184, 7,066 e 8,83 g/cm³. A pressão de 70 bars foi utilizada por ser a mínima necessária para obtenção das condições críticas. E, 100 bars foi utilizado como pressão máxima neste estudo, porque as curvas de extração do solvente indicaram maior capacidade de extração a 80 bars quando a temperatura é de 60°C. Nestas condições o aumento da viscosidade do FSC (100 bars; 60 °C e 8,83 g/cm³) não

aumentou o rendimento do processo. Possivelmente, uma parte significativa da DS ou dos seus componentes isolados eram extraídos juntamente com o solvente. Embora mais estudos precisem ser realizados, estes resultados indicam que a pressão de cruzamento está numa faixa ligeiramente maior ou menor que 80 bars. Esta hipótese poderia ou não ser aceita se uma nova estação de precipitação fosse acoplada ao equipamento existente. A maior quantidade de CO₂ necessária para obtenção das DS 1:3 (Figura 14) pode ser devido à maior viscosidade, decorrente da concentração da PVP K30 no meio, o que diminuiu a força de arraste. Outros parâmetros devem ser avaliados, contudo haverá necessidade de substituir as bombas de alimentação atuais do sistema e adaptar o equipamento existente de novos acessórios entre eles: visor na câmara de precipitação, dupla estação de precipitação, bombas injetoras de gás e soluções mais potentes e um dispositivo gerador de ciclone para retirar o pó da câmara de precipitação sem a necessidade de despressurizar o equipamento a cada ciclo.

5.2. Preparação da Mistura Física do Praziquantel com Polivinilpirrolidona

As MF de PZQ com a PVP K30 foram realizadas para avaliar o efeito da presença do carreador nas características físicas e químicas do PZQ. Essas preparações foram submetidas aos testes de solubilidade e caracterização físico-química e comparadas com PZQ e com as DS nas mesmas concentrações.

5.3. Avaliação da Solubilidade do Praziquantel, nas Misturas Físicas e nas Dispersões Sólidas

Os resultados do teste de solubilidade (Figura 15) mostraram que houve aumento na solubilidade do PZQ quando o mesmo foi disperso em PVP, tanto nas MF 1:1 e 1:2 como nas DS 1:1; 1:2; e 1:3. Nas MF 1:1 e 1:2 a solubilidade do PZQ aumenta, muito provavelmente, devido ao aumento da molhabilidade decorrente da solubilidade da PVP em água e do aumento da dispersibilidade do PZQ por redução das forças de coesão (PATE; PATEL, 2007). Lima (2006) obteve resultados semelhantes preparando DS de PZQ: PVP K30 por evaporação do solvente.

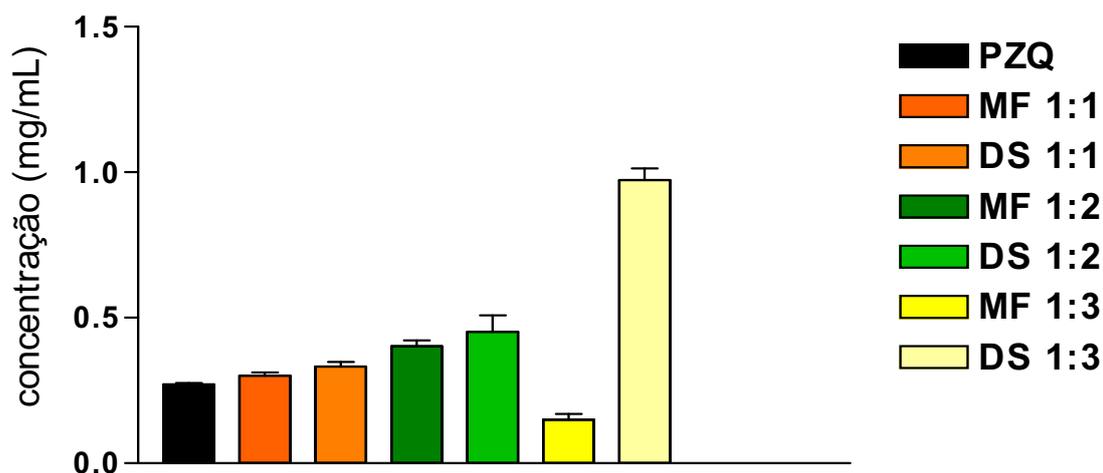


Figura 15: Efeito da concentração da PVP K30 na solubilidade do PZQ em água, à temperatura ambiente após agitação constante durante 24 horas.

5.4. Análise Microscópica Eletrônica de Varredura do Praziquantel, nas Misturas Físicas e nas Dispersões Sólidas

A microscopia eletrônica de varredura é a técnica mais utilizada para obtenção de imagens ampliadas para observação das características de superfície e tamanho das partículas. Esta técnica fornece imagens aumentadas para observação das características morfológicas de materiais. Os resultados, quando correlacionados a outras informações, relacionadas às propriedades físico-químicas e caracterização de fármacos podem confirmar hipóteses sobre o comportamento dos materiais obtidos (QUAGLIA et al., 2003).

As Figuras 16-23 apresentam fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura do PZQ, nas MF e nas DS. São evidentes as diferenças entre os compostos puros, as MF e as DS. O PZQ é caracterizado pela forma cristalina e se apresenta agrupado na forma de bastonete (Figura 16). A PVP K30 é caracterizada por partículas esféricas de natureza amorfa (Figura 17). Nas MF 1:1 e 1:2 (Figuras 18 e 20) a presença da PVP não pode ser facilmente observada. Este fato pode estar relacionado a uma segregação dos componentes em função do volume e do formato das partículas, da diferença de densidade aparente dos pós ou da proporção de PZQ e PVP K30.

Nas Figuras 19, 21 e 23 são evidentes as modificações na propriedade material que ocorre nas estruturas físicas do PZQ e da PVP, resultado do processo tecnológico empregado para obtenção das DS. A formação de clusters sólidos

aumenta com a redução da taxa PZQ/PVP K30. Na DS 1:3 (Figura 23) a estrutura aparentemente menos rígida das partículas formadas sugerem uma redução da cristalinidade do PZQ. HOU et al. (2009) relaciona esta estrutura a um aumento da porosidade do fármaco.

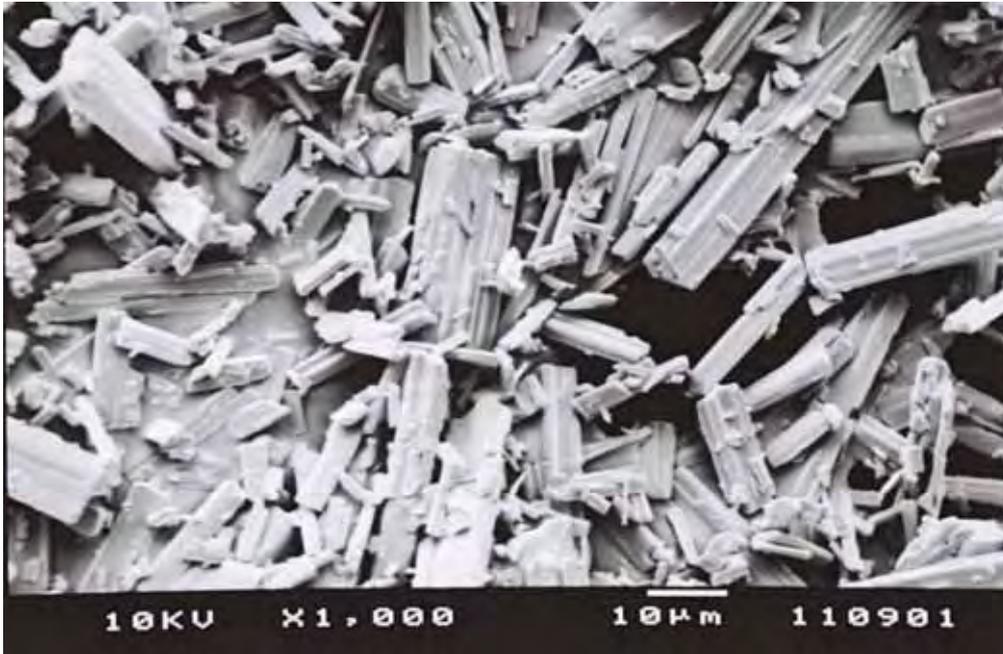


Figura 16: Fotomicrografia do praziquantel obtida por microscopia eletrônica de varredura em aumento de 1000 vezes

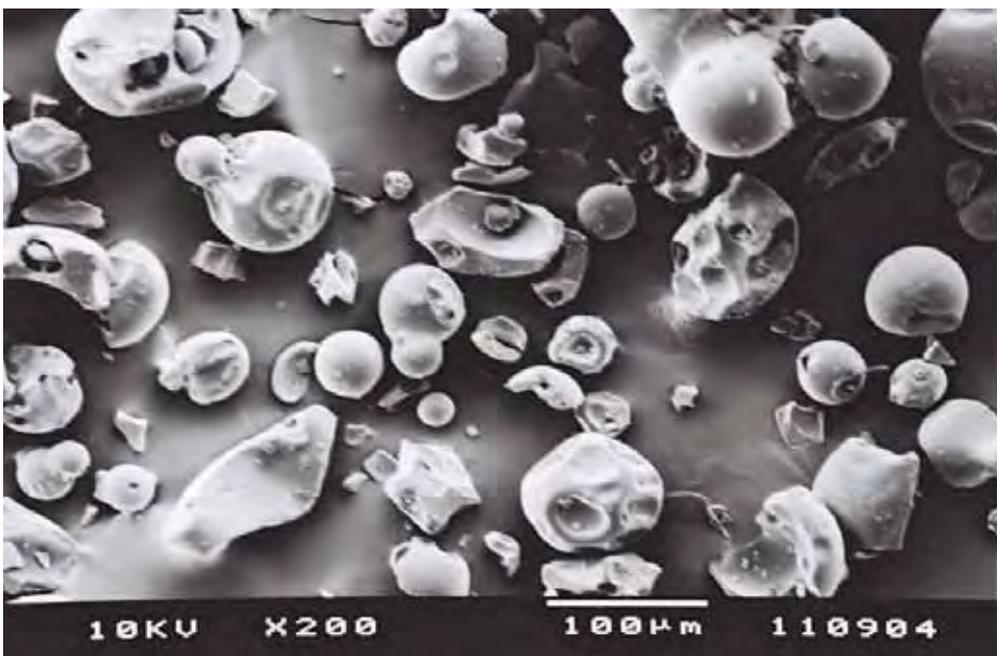


Figura 17: Fotomicrografia da polivinilpirrolidona K30 obtida por microscopia eletrônica de varredura em aumento de 1000 vezes

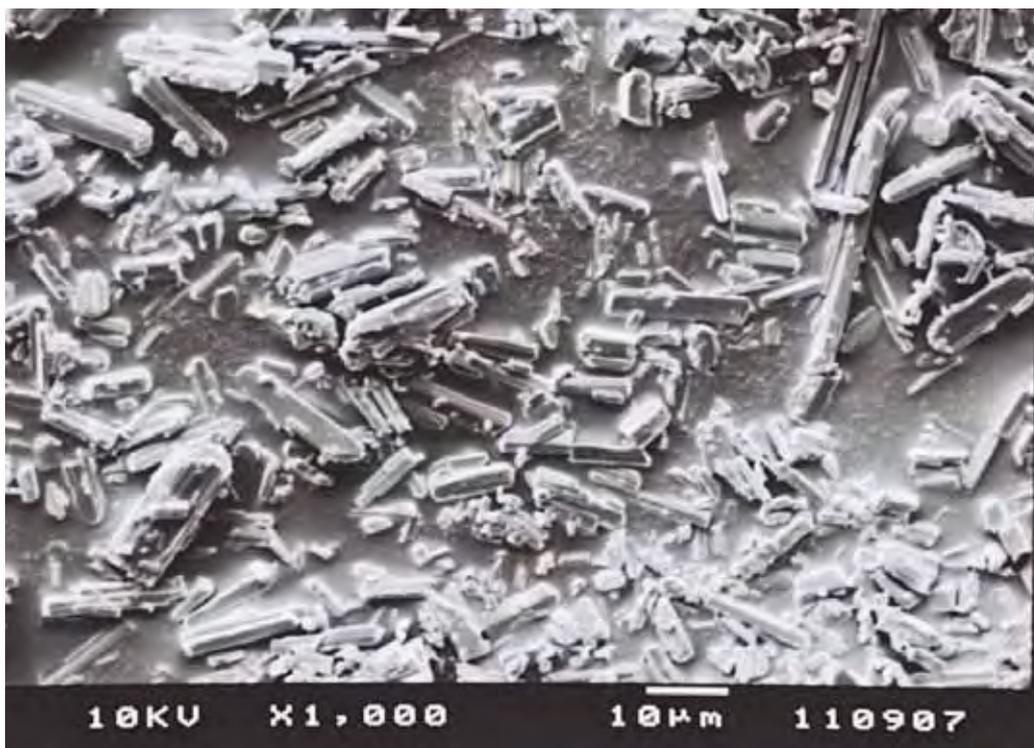


Figura 18: Fotomicrografia da mistura física (1: 1) obtida por microscopia eletrônica de varredura em aumento de 1000 vezes



Figura 19: Fotomicrografia da dispersão sólida (1:1) obtida por microscopia eletrônica de varredura em aumento de 1000 vezes



Figura 20: Fotomicrografia da mistura física (1:2) obtida por microscopia eletrônica de varredura em aumento de 1000 vezes

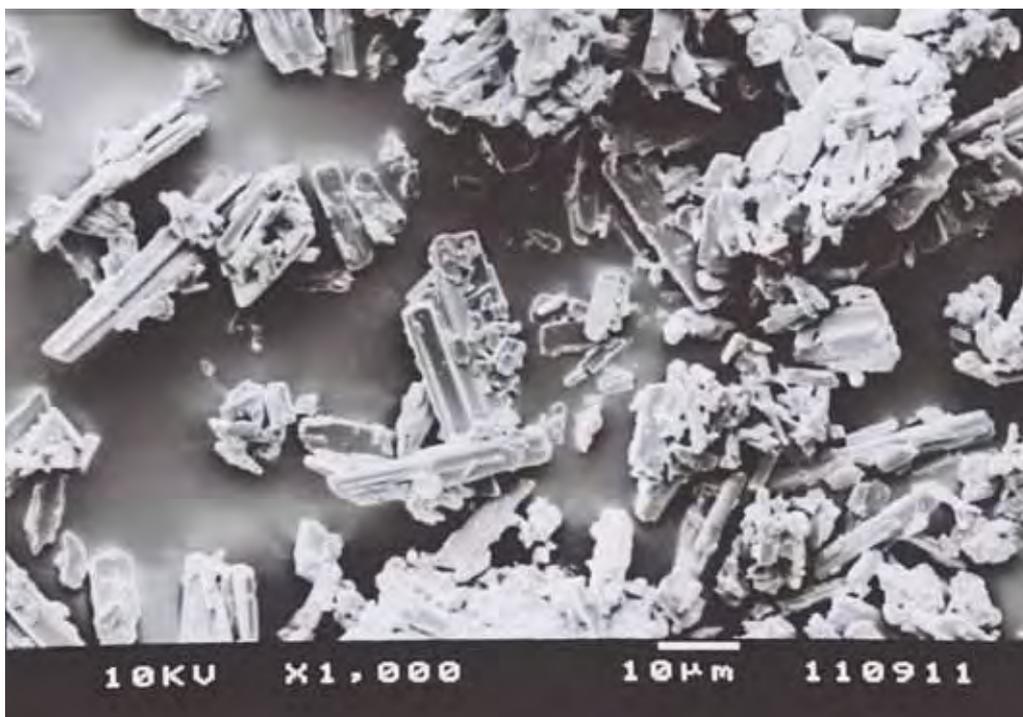


Figura 21: Fotomicrografia da dispersão sólida (1:2) obtida por microscopia eletrônica de varredura em aumento de 1000 vezes

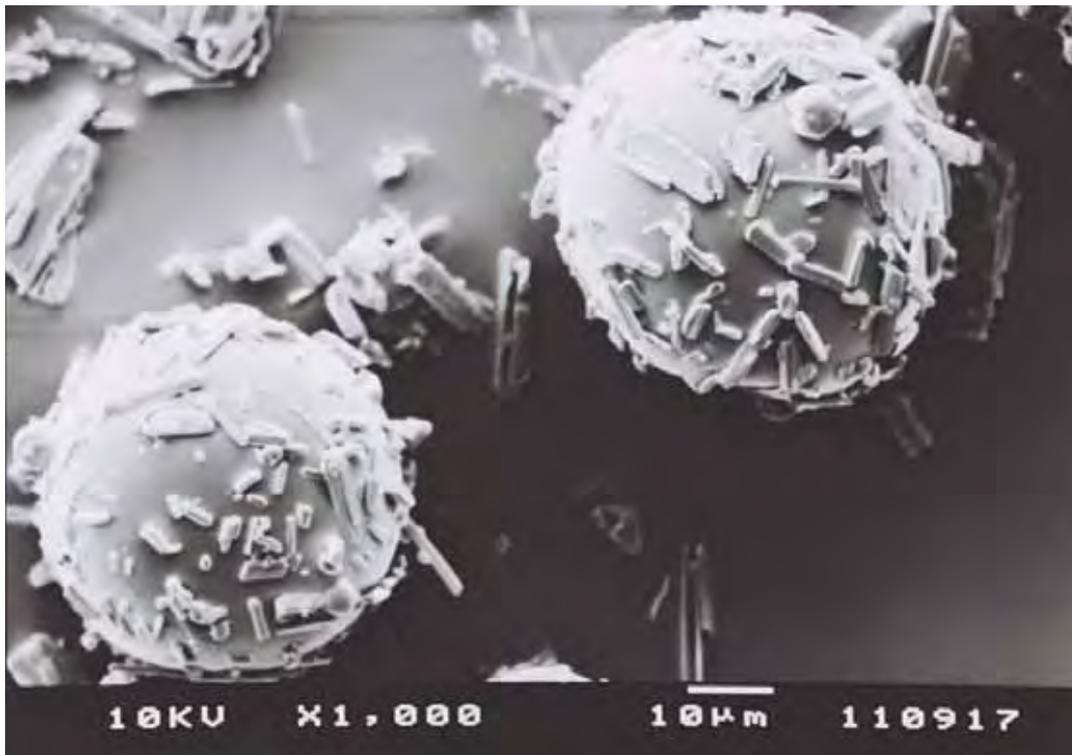


Figura 22: Fotomicrografia da mistura física (1:3) obtida por microscopia eletrônica de varredura em aumento de 1000 vezes

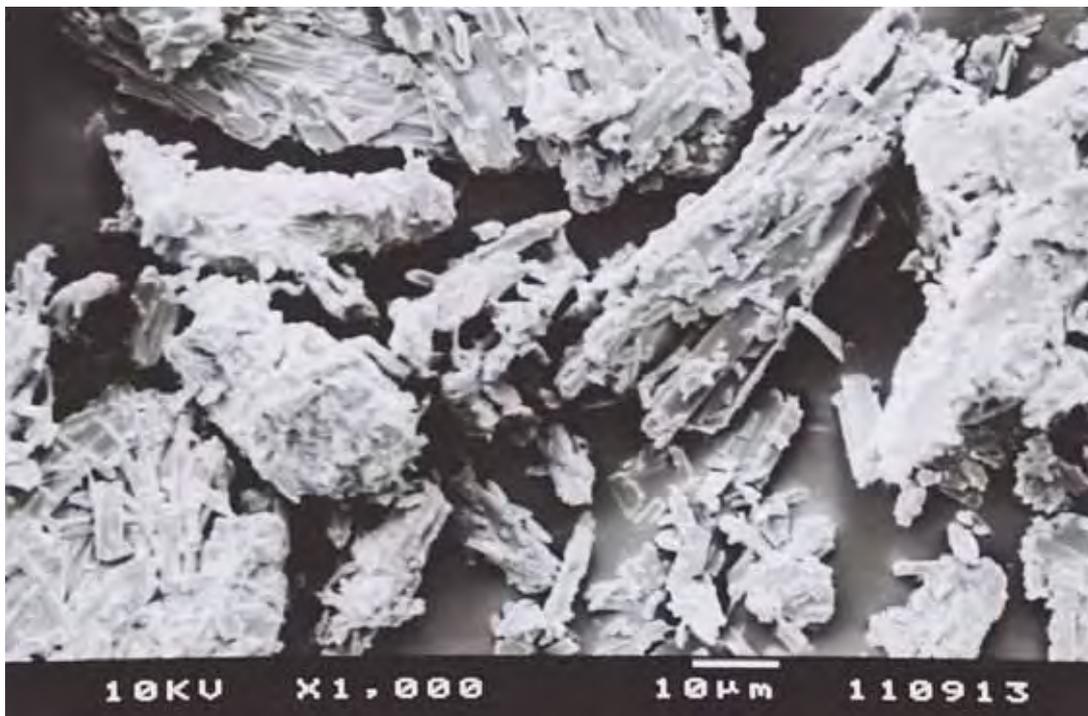


Figura 23: Fotomicrografia da dispersão sólida (1:3) obtida por microscopia eletrônica de varredura em aumento de 1000 vezes

Na Figura 22 pode ser observado uma aderência dos cristais de PZQ na superfície das partículas da PVP K 30, este fato pode ter reduzido a área de contato do PZQ com o solvente, retardando a difusão das moléculas no meio de dissolução, princípio básico para que a solubilidade ocorra. A solubilidade das DS aumentou com a diminuição da taxa de PZQ/ PVP K30. As Figuras 19, 21 e 23 mostram maior interação física entre o PZQ e a PVP K30 fato que não é observado com a mesma intensidade nas MF 1:1 e 1:2 (Figuras 18 e 20). Este resultado evidencia a influência do processo tecnológico empregado na obtenção das DS.

5.5. Determinação Espectroscópica por Infravermelho com Transformada de Fourier

A espectroscopia de vibração no IV é utilizada para identificação de grupos funcionais de moléculas orgânicas. Quando a radiação infravermelha, em frequência adequada, é absorvida por uma molécula converte-se em energia de vibração molecular, gerada por grupos funcionais. Esta energia pode ser registrada na forma de bandas de vibração/rotação originando um espectro de absorção no IV. Analisando o resultado da espectroscopia de absorção no IV é possível avaliar a existência de interações químicas entre dois ou mais compostos. Algumas vezes as interações são de natureza fraca e mostram-se inócuas, não ocasionando nenhum tipo de instabilidade ou de interferência na biodisponibilidade do fármaco. Em outros casos, as interações entre os compostos podem ocasionar alterações significativas restringindo o uso concomitante destas substâncias. Contudo, a escolha cuidadosa dos componentes de uma formulação pode gerar interações vantajosas e agregar valores ao novo produto, como por exemplo, o aumento da estabilidade, aumento da solubilidade e da velocidade de liberação, e melhores resultados quanto à biodisponibilidade (SETHIA; SQUILANTE, 2004).

Os espectros de IV do PZQ, da PVP K30 e das MF foram obtidos com amostras sem qualquer tipo de tratamento prévio. Os espectros destas amostras foram comparados com os resultados obtidos com as DS. Os espectros foram analisados na região de 500 a 4000 cm^{-1} . As Figuras 24 - 31 mostram os espectros de absorção no IV do PZQ, da PVP K30, MF e DS. A Figura 24 mostra o espectro de vibração do PZQ, no qual podem ser observadas as bandas características relativas aos grupos funcionais CH da estrutura cíclica (2929 e 2852 cm^{-1}), as quais são bandas referentes às vibrações de deformação axial assimétrica e simétrica, respectivamente de forte e média intensidades. As bandas referentes às duas

amidas aparecem acopladas em 1650 cm^{-1} (amida hexocíclica) e 1629 cm^{-1} . Em 1496 cm^{-1} e 1445 cm^{-1} ocorrem deformações axiais C-C do anel aromático. Estas deformações estão acopladas à deformação angular simétrica do plano C-H de estrutura cíclica (1420 cm^{-1}). Em 1350 e 1000 cm^{-1} ocorrem bandas referentes à deformação axial da ligação C-N, angular simétrica e assimétrica fora do plano de C-H e angular no plano aromático. Entre 3100 e 3000 cm^{-1} ocorre deformação axial de C-H do anel aromático e na região de menor frequência ocorre uma banda em 764 cm^{-1} referente à deformação angular fora do plano de C-H. Este aspecto é importante para caracterizar o anel aromático. A ausência de uma banda específica na região entre 3700 e 3300 cm^{-1} e a presença de diferenças, significativas, na região abaixo de 1500 cm^{-1} confirma a forma racêmica do PZQ (LIU et al., 2004; PASSERINI et al., 2006).

Para entender melhor as possíveis interações entre o PZQ e a PVP K30 foi preciso avaliar o espectro de IV do PVP K30. A Figura 25 mostra o espectro de absorção no IV da PVP K30. A banda em 3500 cm^{-1} é relativa ao estiramento da ligação N-H da amina secundária presente na molécula do carreador. Aparecem várias outras bandas de média intensidade entre 1700 e 1500 cm^{-1} em vários graus de sobreposição. Em 1600 cm^{-1} há uma banda característica típica do estiramento da ligação C=O do grupo carboxila. Há sobreposição da banda deste grupamento com bandas de estiramento da ligação N-H (entre 1600 - 1500) cm^{-1} de forte intensidade e a presença de alcanos alifáticos apresenta bandas na região compreendida entre 3000 e 2800 cm^{-1} e entre 1400 e 1300 cm^{-1} , devido ao estiramento da ligação C-H dos carbonos sp^2 e sp^3 .

As Figuras 26-31 mostram os IV das MF e das DS. Em todos eles observam-se bandas em 3500 cm^{-1} , característicos da ligação N-H do grupamento amina proveniente da PVP K30, mas com intensidade reduzida, muito provavelmente, devido sua mistura com o PZQ. As demais bandas de absorção características ao fármaco ou carreador permaneceram praticamente inalteradas. A menor intensidade dos picos está relacionada à taxa de carregamento do fármaco nas MF e DS. Estes resultados evidenciam que não houve alteração nos grupamentos funcionais do PZQ ou da PVP K30, decorrente do processo tecnológico ou de interações entre estes compostos.

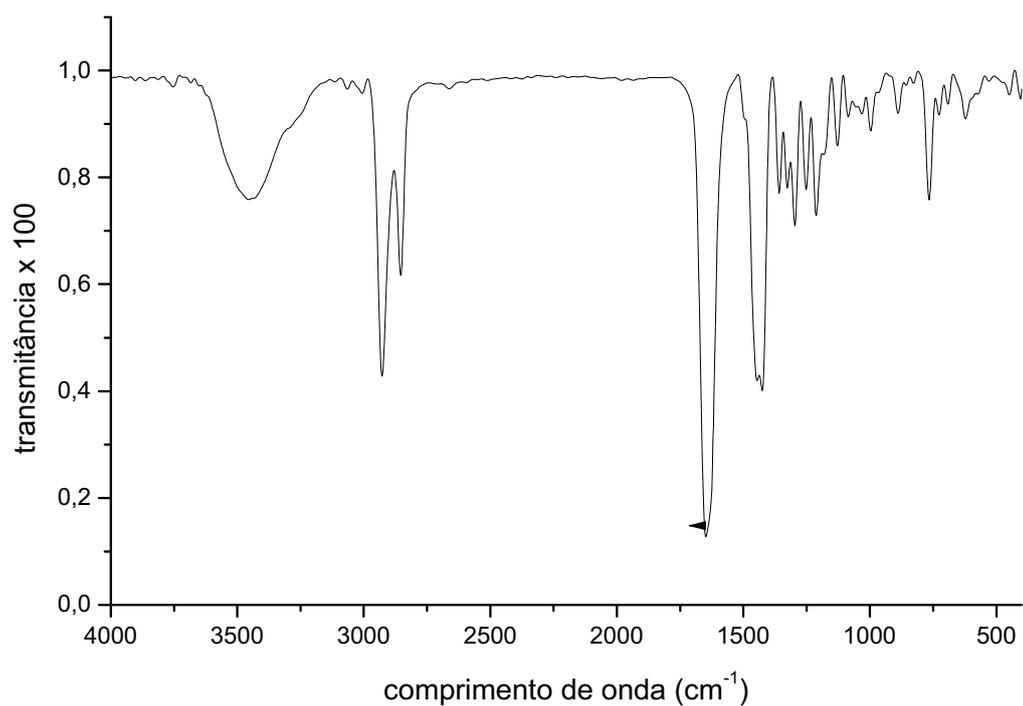


Figura 24: Espectro de absorção na região do infravermelho do praziquantel

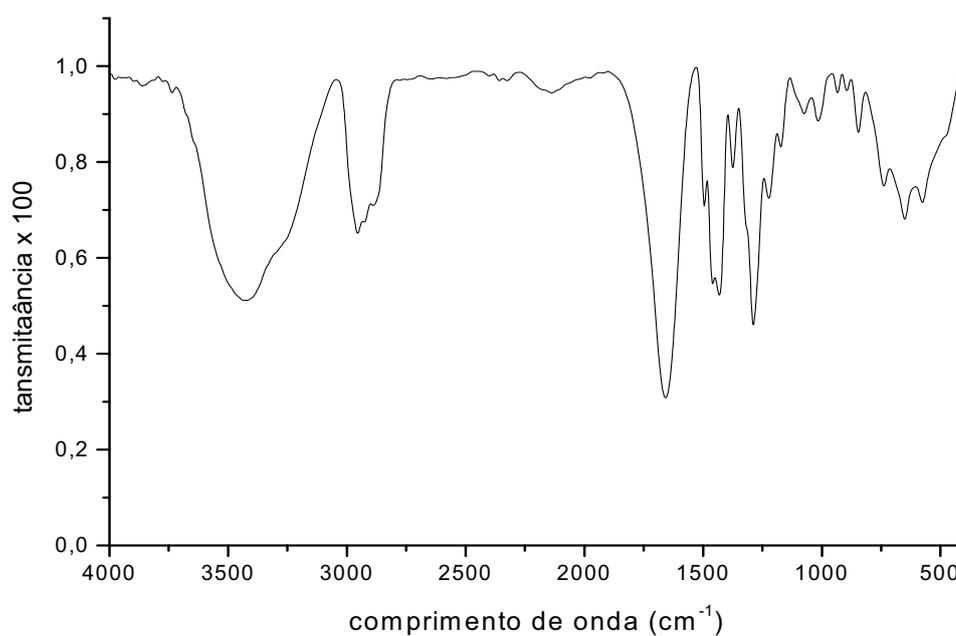


Figura 25: Espectro de absorção na região do infravermelho da polivinilpirrolidona K30

As Figuras 26-31 mostram os espectros IV das MF e das DS. Através da comparação entre os espectros fica caracterizada a manutenção das absorbâncias dos principais grupos funcionais, indicação da preservação química do PZQ e da PVP K30.

As alterações na intensidade das bandas são devido às proporções relativas de PZQ e PVP K30 nas MF e DS. As MF apresentam pouco deslocamento, diferentemente das DS que além de apresentarem deslocamentos apresentaram maior intensidade quando comparadas às MF.

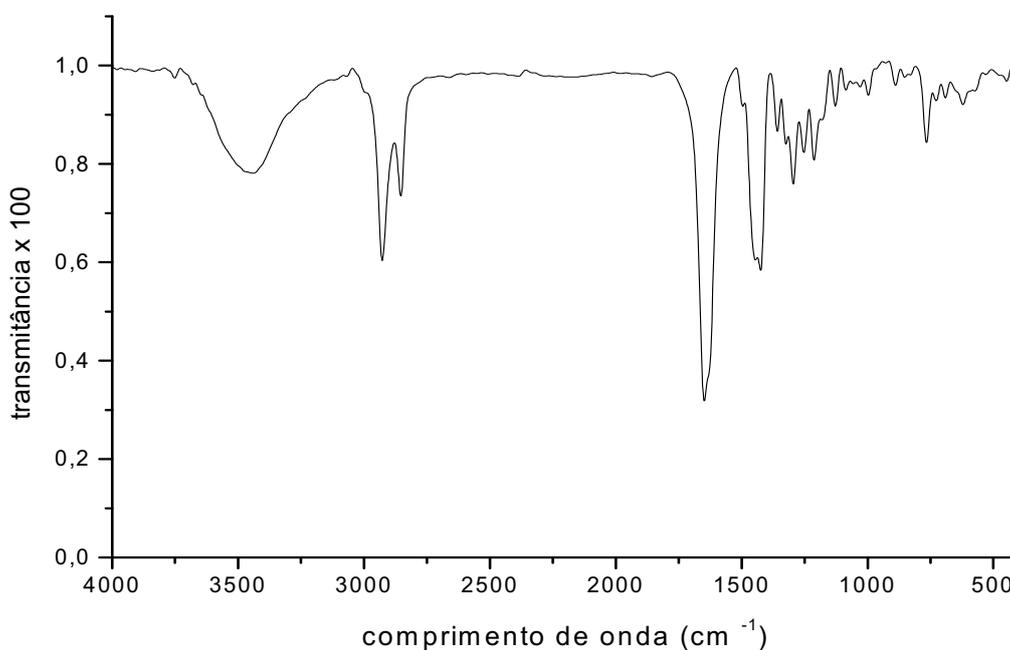


Figura 26: Espectro de absorção na região do infravermelho da mistura física 1:1

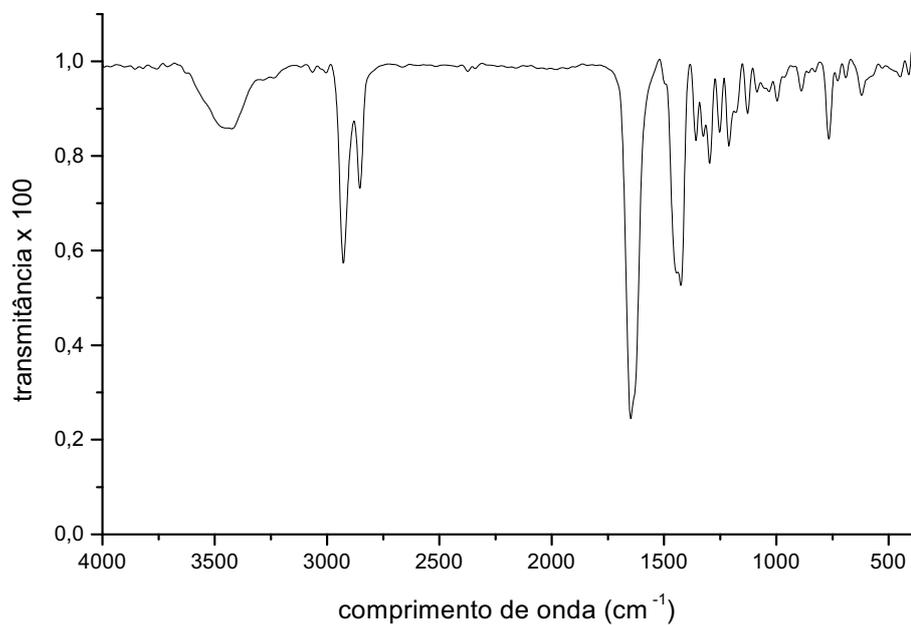


Figura 27: Espectro de absorção na região do infravermelho da dispersão sólida 1:1

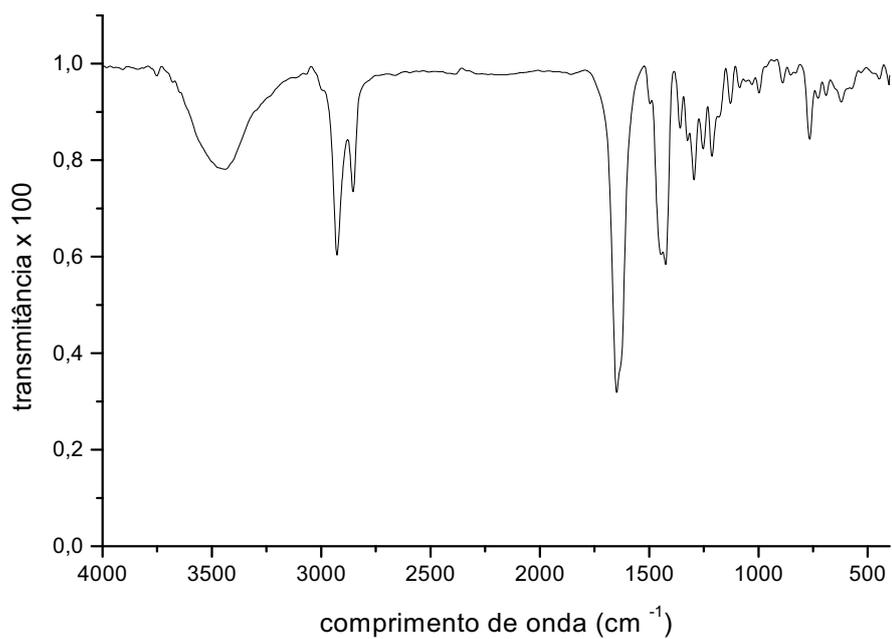


Figura 28: Espectro de absorção na região do infravermelho da mistura física 1:2

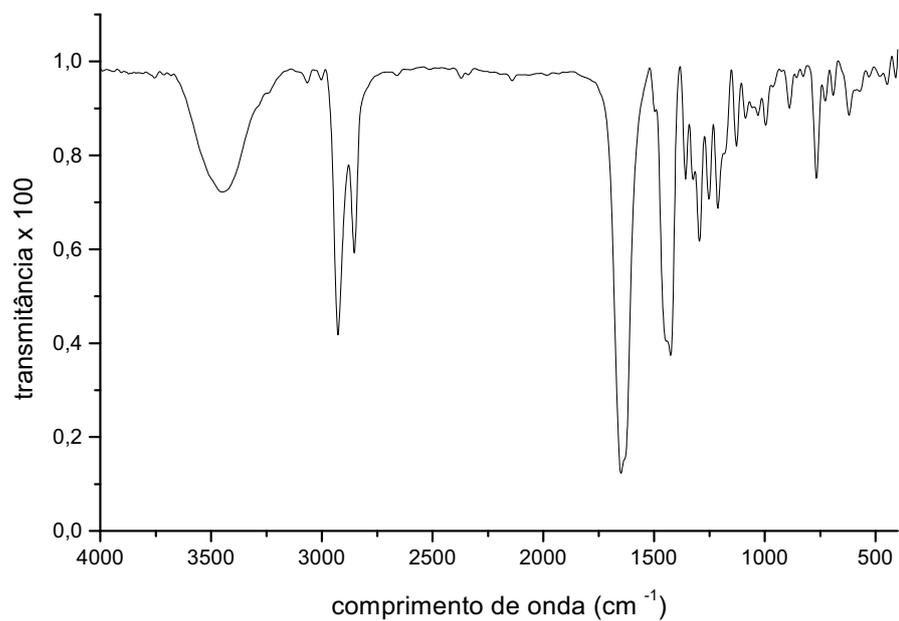


Figura 29: Espectro de absorção na região do infravermelho da dispersão sólida 1:2

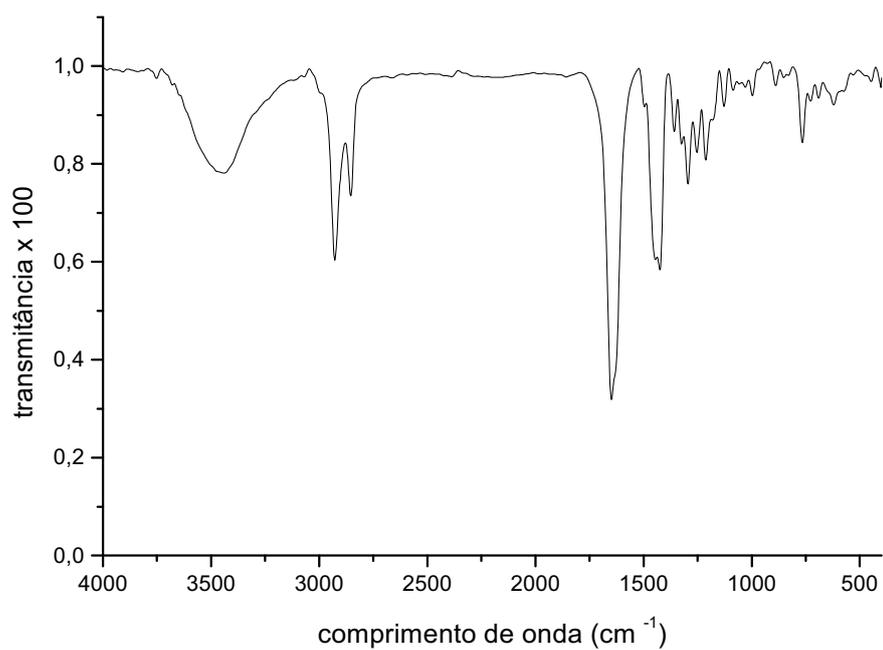


Figura 30: Espectro de absorção na região do infravermelho da mistura física 1:3

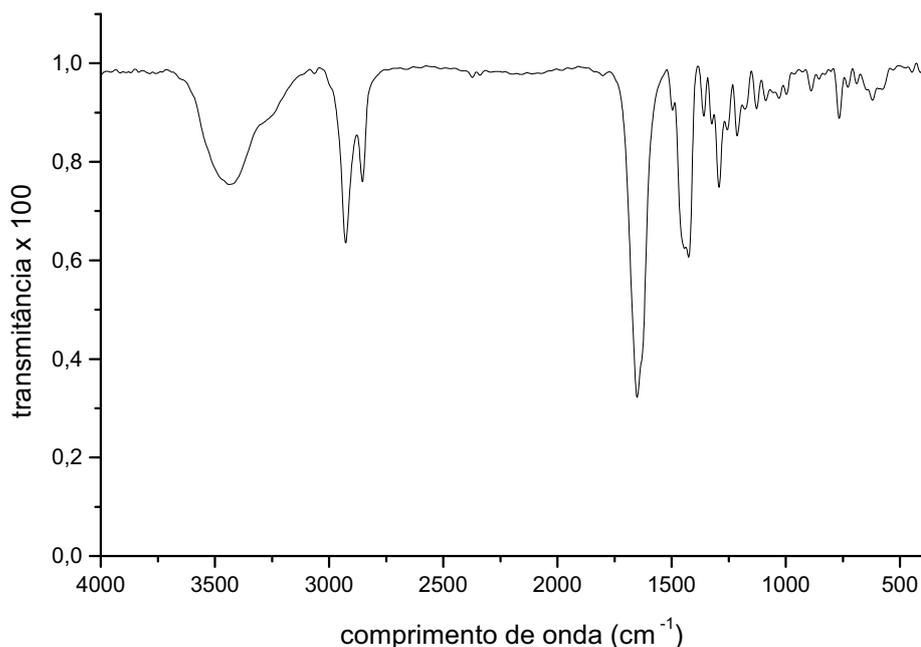


Figura 31: Espectro de absorção na região do infravermelho da dispersão sólida 1:3

5.6. Estudos de Difração por Raios X

Difração de raios X é o espalhamento da radiação de raios X incidente sobre um átomo. Quando este raio incide sobre uma estrutura cristalina o ângulo de espalhamento é perfeitamente definido pelo plano cristalográfico. A análise do feixe difratado fornece informações sobre o arranjo, simetria, distância interatômica e orientação dos átomos no cristal. A medida consiste na incidência de radiação e na varredura angular da amostra sobre o eixo do círculo difratométrico. O detector de raios X é disposto de forma que 2θ é a posição angular do detector e θ é o ângulo entre o feixe incidente de raios X e a superfície da amostra (SKOOG; LERY, 1992). Neste estudo a técnica de difração de raios X foi aplicada para avaliar a influência da PVP K30 e do FSC sobre o estado cristalino do PZQ, com objetivos de entender o aumento da solubilidade do PZQ nas DS, e identificar a possível presença de polimorfos. A principal diferença entre os difratogramas do enantiômero de PZQ e a forma racêmica reflete-se na intensidade e na forma dos picos. A forma racêmica do PZQ apresenta picos de maior intensidade e mais agudos que o correspondente enantiômero (-) PZQ (LIU et al., 2004; PASSERINI et al., 2006).

As Figuras 32 e 33 evidenciam, respectivamente, a natureza cristalina do PZQ e a natureza amorfa da PVP K30. As Figuras 34-39 mostram os difratogramas das amostras de MF e DS. Os difratogramas das MF mostram picos de reflexão dos

raios-X semelhantes aos apresentados pelo PZQ. Nestes difratogramas a altura dos picos varia em função da taxa de carregamento do PZQ. Os difratogramas das DS mostram redução significativa da rede cristalina do PZQ evidenciando a natureza amorfa do PZQ nestes compostos. Resultados semelhantes foram observados por Van Nijlen et al. (2003), Mana et al. (2006), Wu et al. (2008), que avaliaram por difração de raios X, respectivamente, DS de artemisina com PVP K30, cetoprofeno com PVP K30 e dióxido de titânio. Os resultados obtidos com esta análise concorrem para explicar o aumento da solubilidade do PZQ nas DS (Figura 15), uma vez que a forma amorfa é, invariavelmente, mais solúvel que a forma cristalina do mesmo composto.

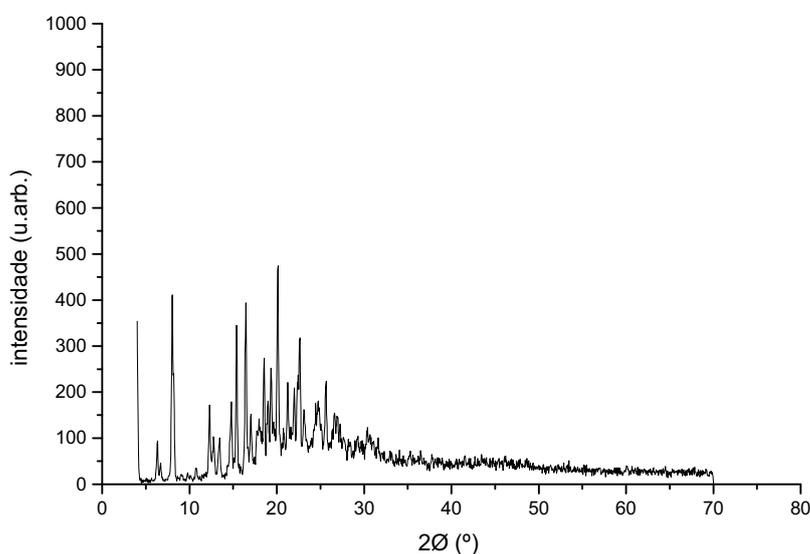


Figura 32: Difratograma de raios X do praziquantel

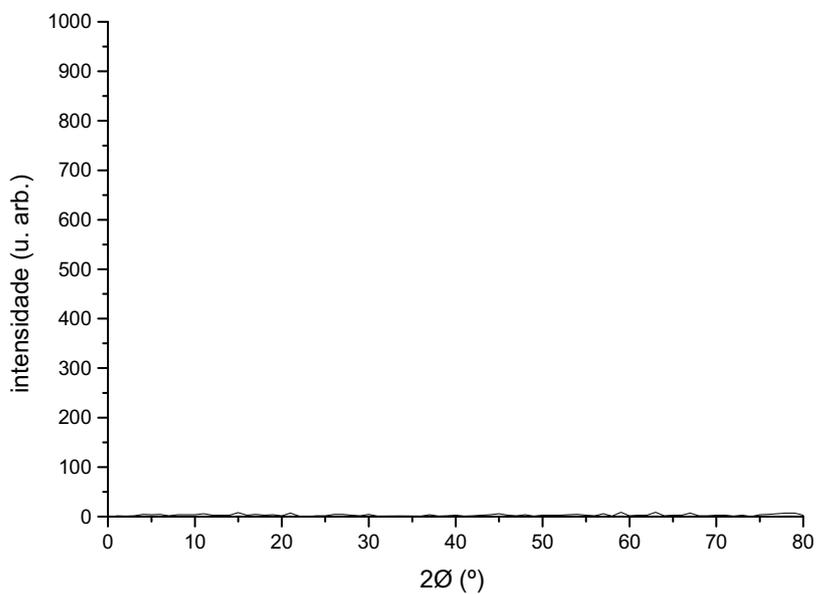


Figura 33: Difratograma de raios X da polivinilpirrolidona K30

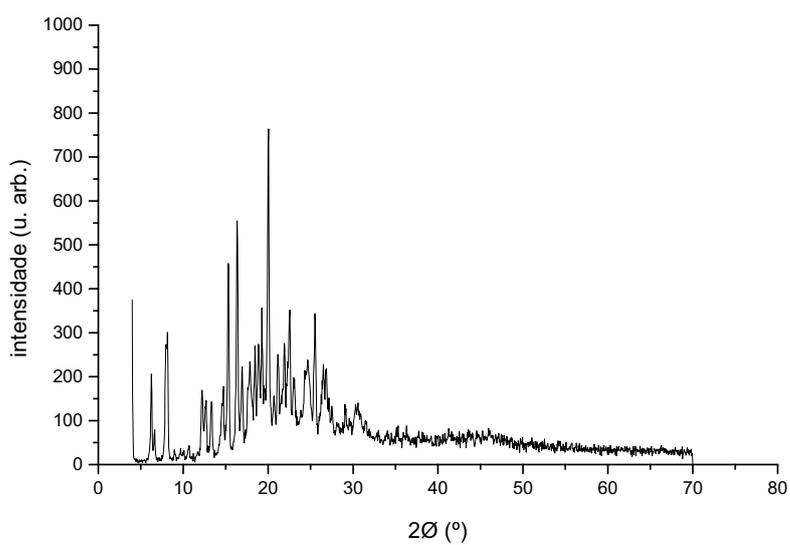


Figura 34: Difratograma de raios X da mistura física 1:1

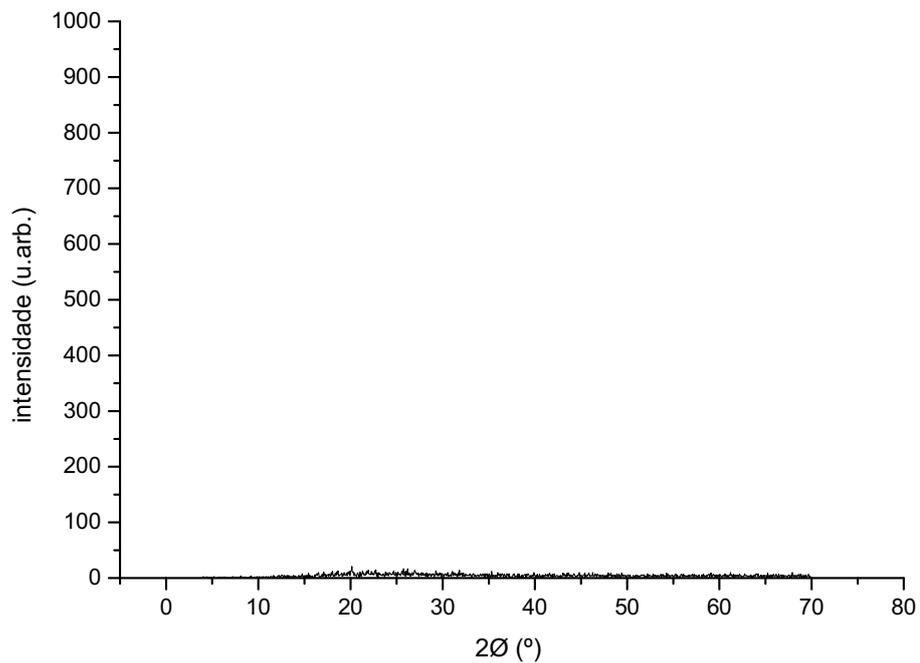


Figura 35: Difratograma de raios X da dispersão sólida 1:1

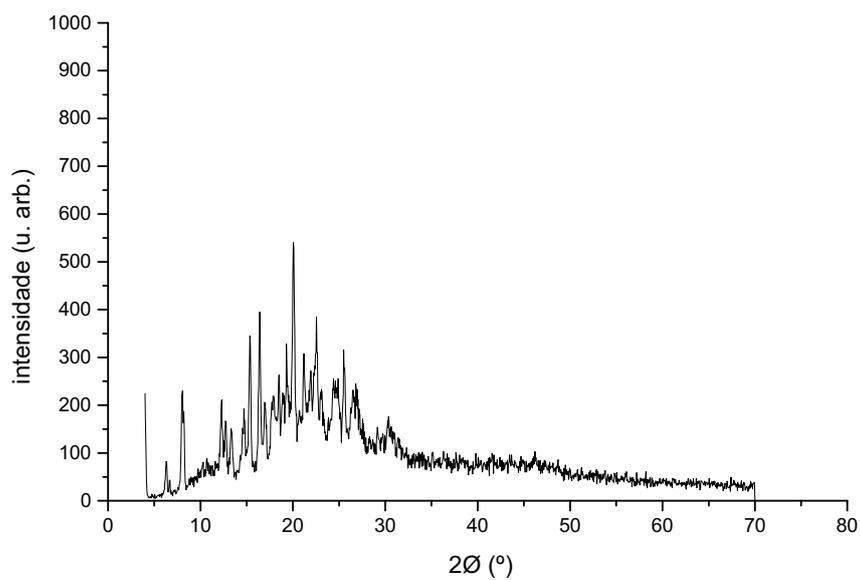


Figura 36: Difratograma de raios X da mistura física 1:2

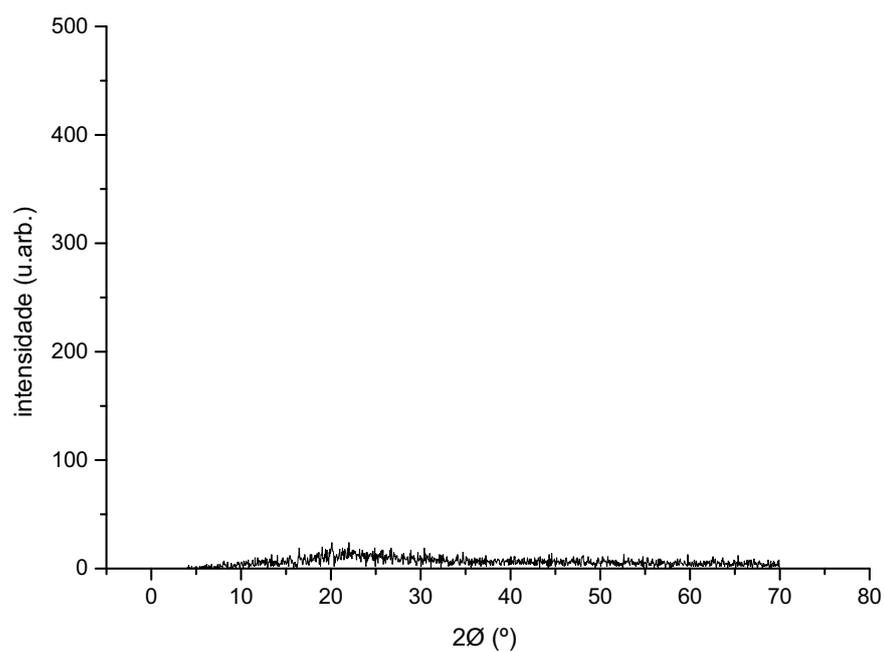


Figura 37: Difratoograma de raios X da dispersão sólida 1:2

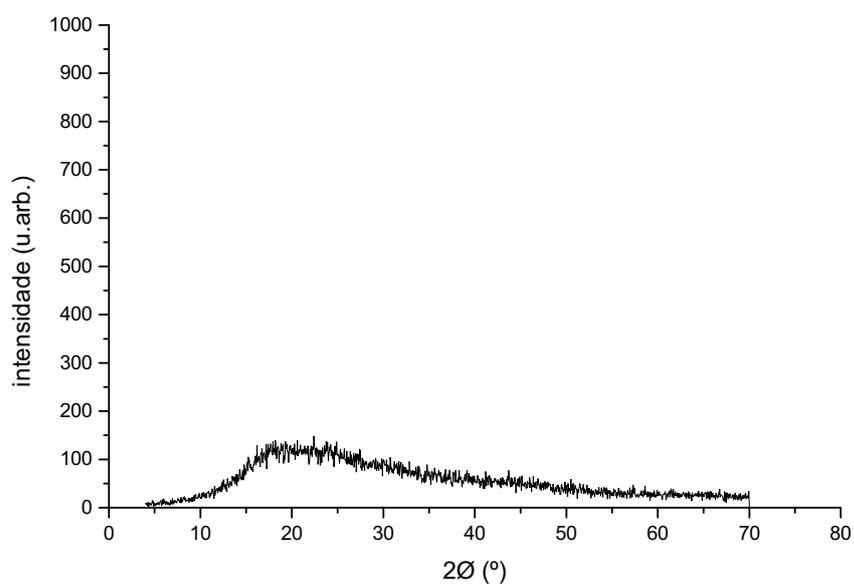


Figura 38: Difratoograma de raios X da mistura física 1:3

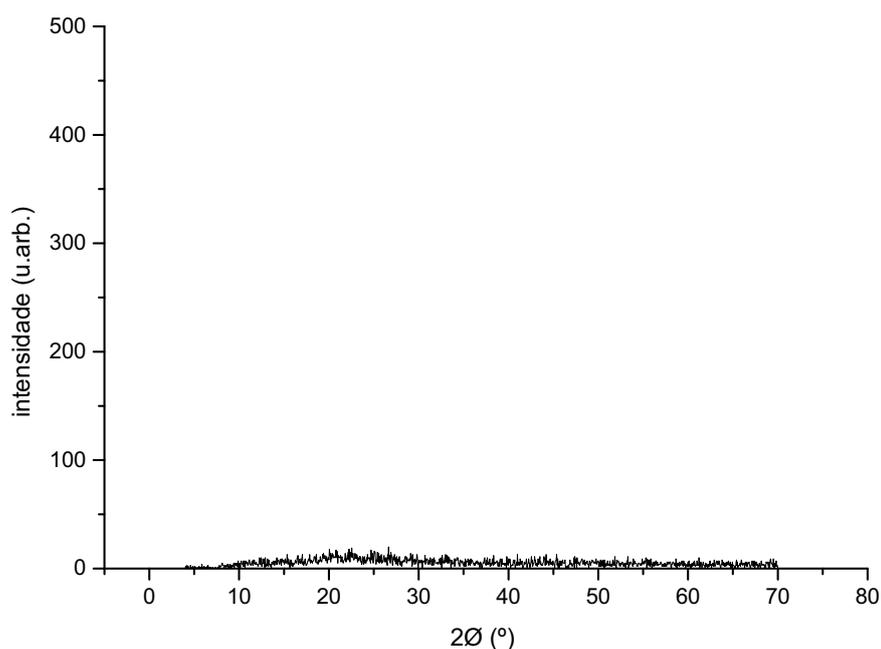


Figura 39: Difratograma de raios X da dispersão sólida 1:3

5.7. Estudos Térmicos

5.7.1. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As análises térmicas englobam um grupo de técnicas nas quais uma propriedade específica da substância analisada é monitorada em função da temperatura ou do tempo de aquecimento. As substâncias químicas podem sofrer mudanças em seu estado, o que pode alterar drasticamente suas propriedades físicas. As principais variações podem ser consequência da temperatura ou fatores externos tais como mudança nos parâmetros básicos utilizados na análise em consideração. As temperaturas de transição de fase mais importantes no estudo do comportamento de materiais poliméricos são a temperatura de transição vítrea e a temperatura de decomposição.

A DSC é uma técnica térmica na qual as diferenças no fluxo de calor da substância e da referência são medidas como uma função da temperatura, enquanto ambas estão submetidas a um programa de temperatura controlada. A DSC tem sido empregada principalmente para avaliar a ocorrência de polimorfismo, comportamento de fusão, grau de pureza, presença de hidratos, degradação, incompatibilidades, interações e sistemas vítreos (WENDLANT, 1985). Na curva de DSC (Figura 40) o PZQ apresentou pico endotérmico agudo a 139°C, temperatura

que corresponde ao ponto de fusão da mistura racêmica que está entre 136-140°C, enquanto o ponto de fusão do enantiômero (-)-PZQ é 110,6 °C (LIU et al., 2004). O pico endotérmico do (±) PZQ apresentou entalpia de fusão de $-96,4$ J/g, valor semelhante ao obtido por Liu et al. (2004) e Torre et al. (1999). A PVP K30 (Figura 41) apresentou dois picos endotérmicos, um em 60 °C, temperatura inicial de carbonização deste composto (KIBBE, 2002), e outro em aproximadamente 100°C referente à perda de água. A entalpia de fusão encontrada foi de $110,8$ °C, resultado semelhante ao obtidos por Thybo et al. (2008). Os pontos de fusão do PZQ nas amostras de MF e DS (Figuras 42-47) não apresentaram deslocamento significativo em relação ao ponto de fusão do PZQ puro. Este resultado confirma que apenas a forma racêmica do PZQ estava presente, reforçando a análise feita a partir dos estudos de difração de raios X.

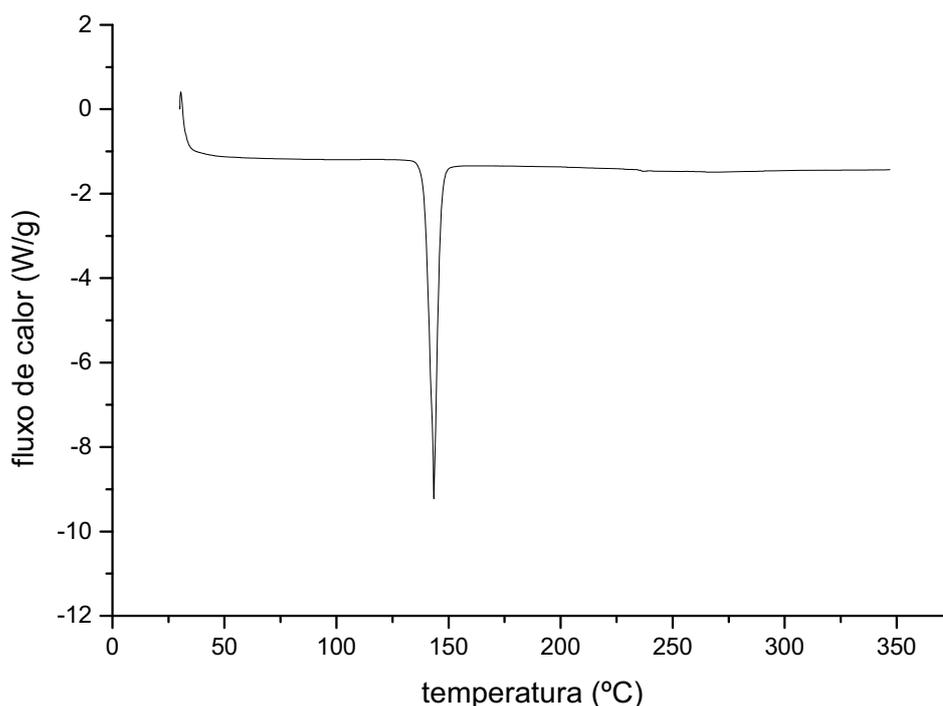


Figura 40: Termograma (DSC) do praziquantel

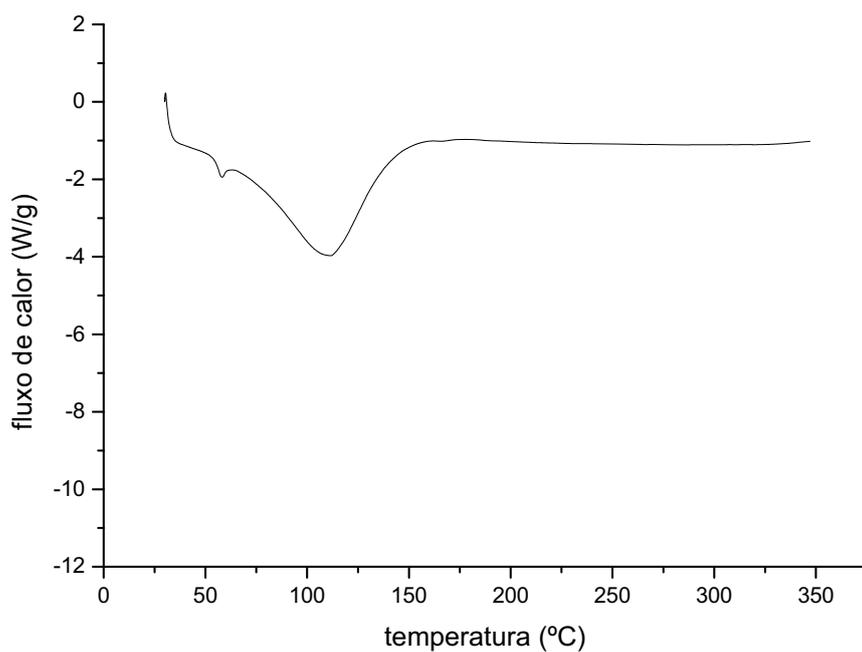


Figura 41: Termograma (DSC) da polivinilpirrolidona

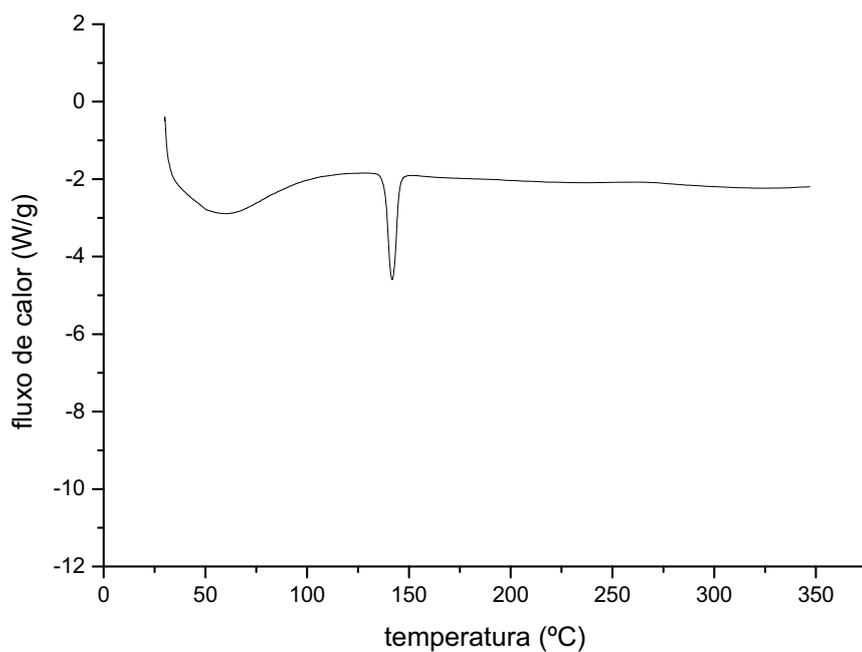


Figura 42: Termograma (DSC) da mistura física 1:1

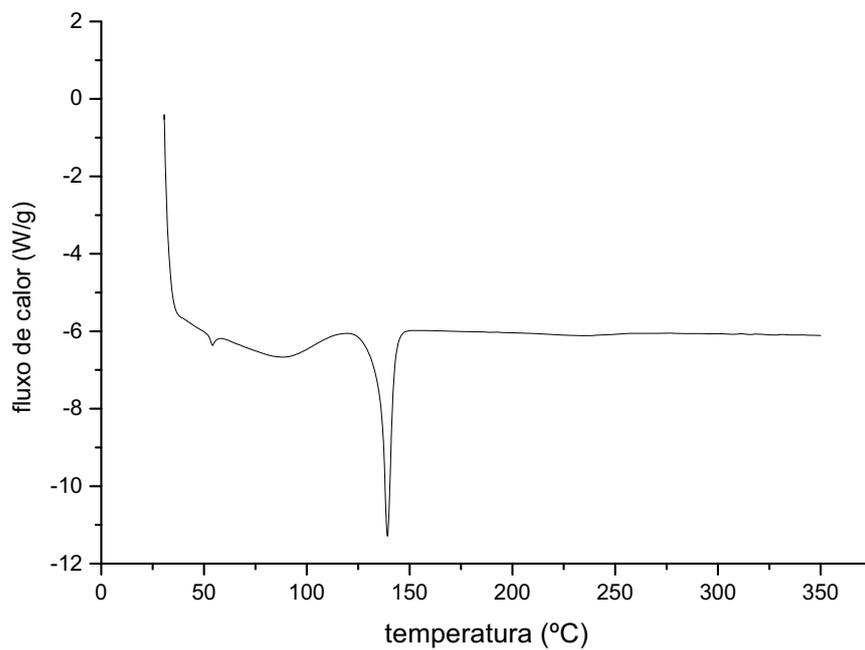


Figura 43: Termograma (DSC) da dispersão sólida 1:1

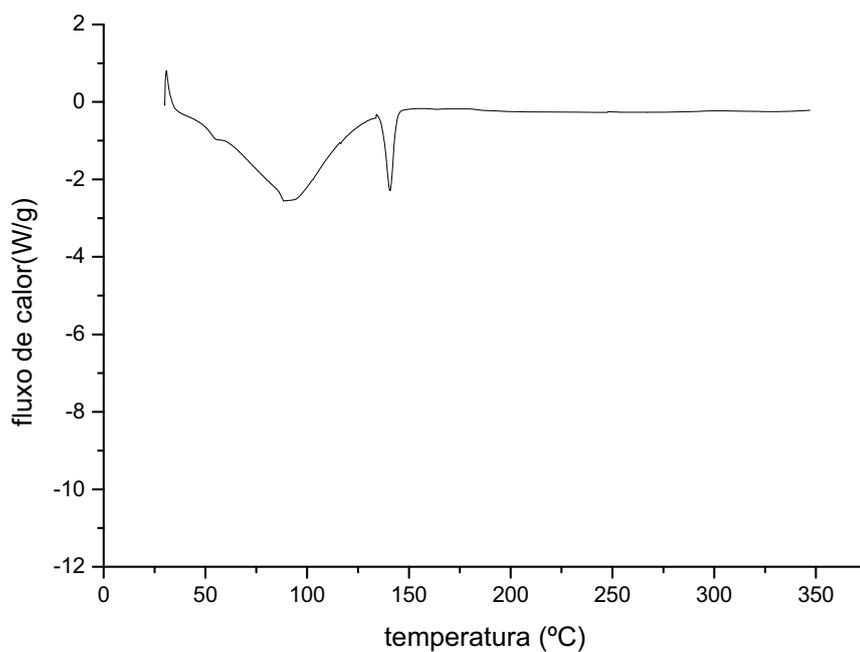


Figura 44: Termograma (DSC) da mistura física 1:2

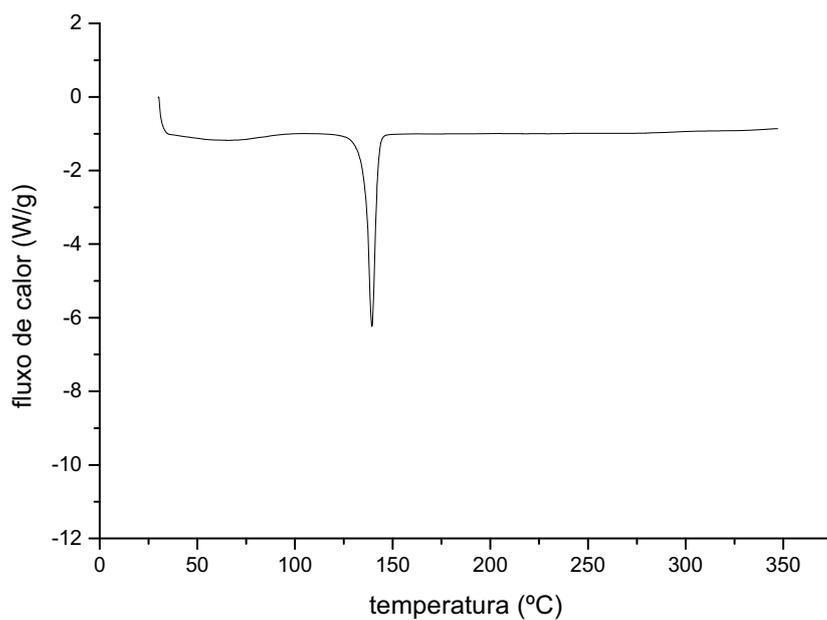


Figura 45: Termograma (DSC) da dispersão sólida 1:2

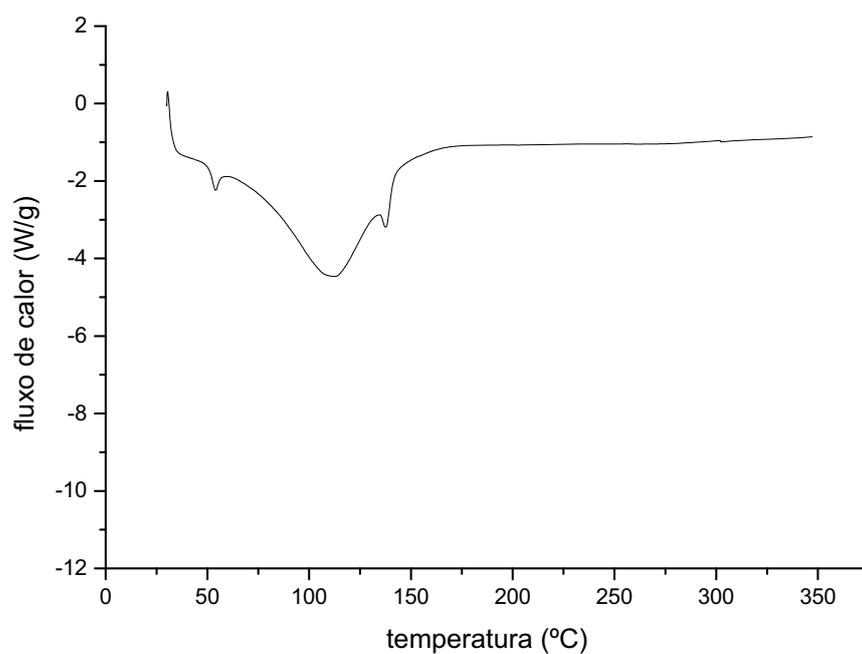


Figura 46: Termograma (DSC) da mistura física 1:3

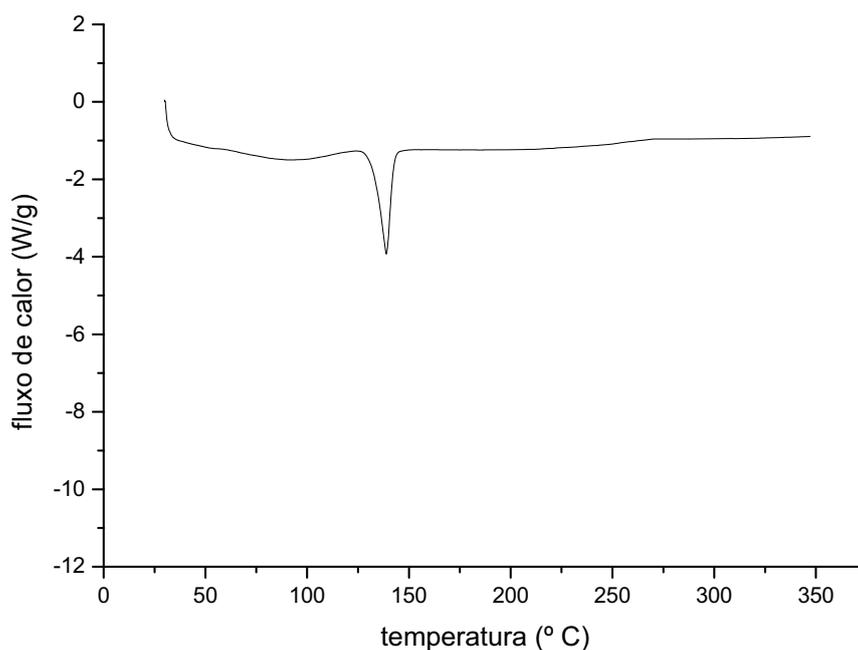


Figura 47: Termograma (DSC) da dispersão sólida 1:3

5.7.2. Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial

A termogravimetria (TG) é importante para avaliar a perda de massa de uma amostra em função do aumento contínuo da temperatura. As informações obtidas por métodos TG são mais limitadas que aquelas obtidas por outros métodos térmicos. Estas ficam limitadas a avaliar reações de decomposição e de oxidação e processos físicos como vaporização, sublimação e desorção.

A Análise Térmica Diferencial (DTA) é uma técnica na qual a diferença de temperatura entre uma substância e um material de referência é medida em função da temperatura. Geralmente, o gradiente de temperatura envolve aquecimento da amostra e do material de referência de tal modo que a temperatura da amostra cresce linearmente com o tempo. A diferença na temperatura da amostra e da referência é monitorada e colocada em um gráfico contra a temperatura da amostra para proporcionar um termograma diferencial. A DTA encontra ampla aplicação na determinação do comportamento e na composição de material farmacêutico. É também uma forma simples de determinar os pontos de fusão, ebulição e decomposição de compostos orgânicos (WENDLANT, 1985).

A Figura 48 mostra as curva TG e DTA do PZQ. Na curva TG o PZQ apresenta um único estágio de decomposição térmica entre 200 e 300 °C, com uma

massa residual final de aproximadamente 0,5%. Na curva de DTA o pico endotérmico em 139 °C refere-se ao ponto de fusão do PZQ. Estes resultados sugerem um composto orgânico puro.

A Figura 49 mostra as curvas TG e DTA da PVP K30. Na curva TG a PVP K30 apresenta estágio de decomposição entre 35 e 60°C, com massa residual de aproximadamente 3,5%. Na curva DTA o pico endotérmico em 60°C é referente ao ponto de fusão da PVP K30.

As curvas TG das MF (Figuras 50, 52 e 54) apresentaram dois momentos de decomposição, o primeiro 35 e 60°C, referente à PVP K30 e o segundo (200-300 °C) referente ao PZQ. As curvas TG das DS (Figuras 51, 53 e 55) mostram um único momento de decomposição (200-300 °C) correspondentes à decomposição do PZQ. Estes resultados indicam aumento da estabilidade da PVP K30 nas DS obtidas por FSC. A massa residual final foi semelhante nas três amostras de DS (1:1; 1:2 e 1:3) e corresponde à massa residual final do PZQ. As curvas DTA das MF (Figuras 50, 52 e 54), apresentaram os picos endotérmicos do PZQ (149° C) e da PVP K30 (60°C), a área acima do pico varia de acordo com a proporção relativa dos dois compostos. As curvas DTA das DS 1:1 e 1:2 não mostram os pontos de fusão característicos da PVP K30 (Figuras 51 e 53), que, no entanto, aparecem na Figura 55, referente à DS 1:3. Os termogramas diferenciais (DTA) confirmam a pureza do PZQ verificada no DSC (Figura 40).

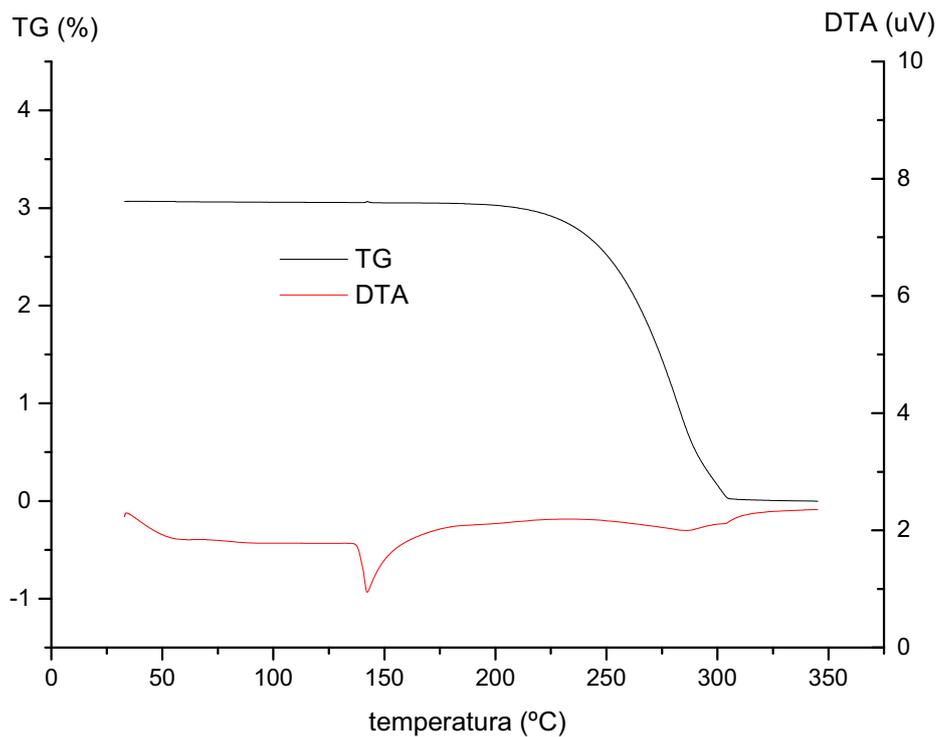


Figura 48: Curva termoanalítica TG/ DTA do praziquantel

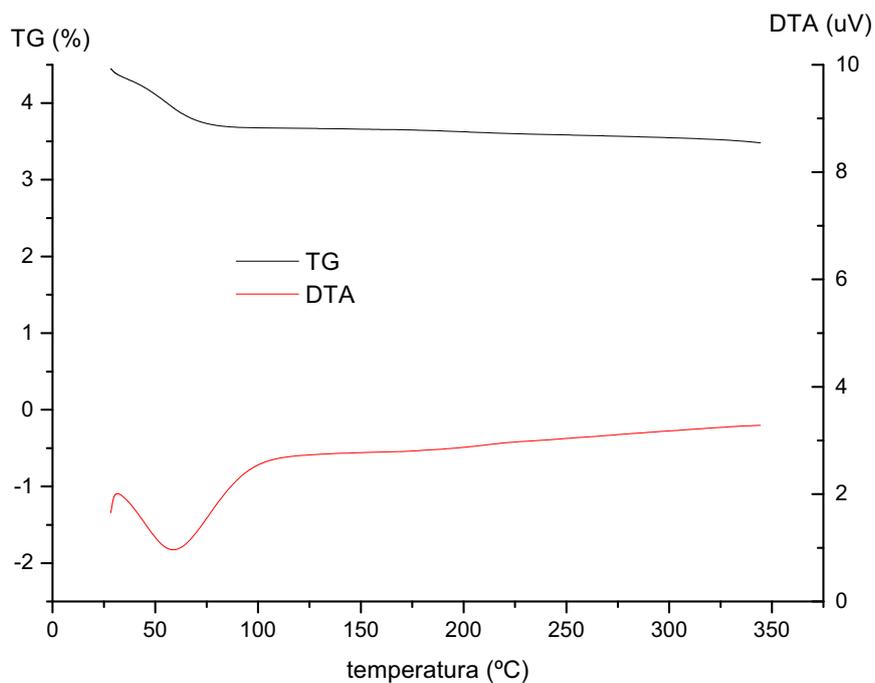


Figura 49: Curva termoanalítica TG/ DTA da polivinilpirrolidona K30

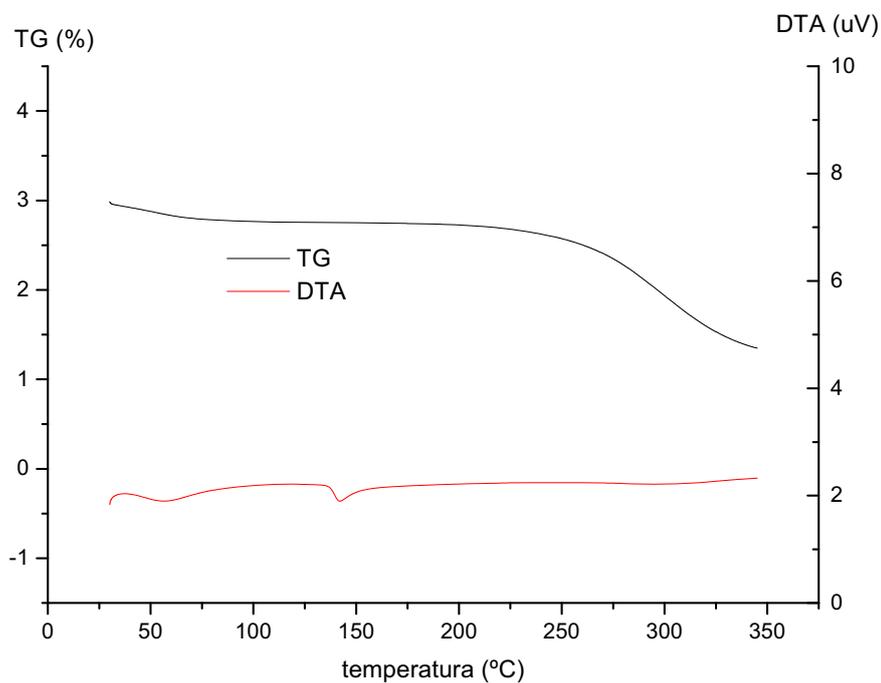


Figura 50: Curva termoanalítica TG/ DTA mistura física 1:1

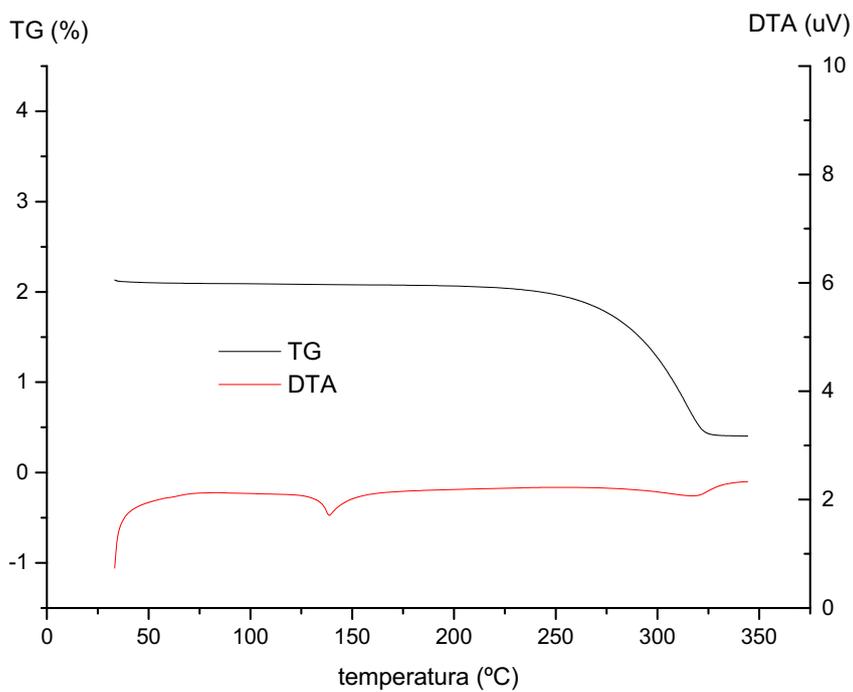


Figura 51: Curva termoanalítica TG/ DTA dispersão sólida 1:1

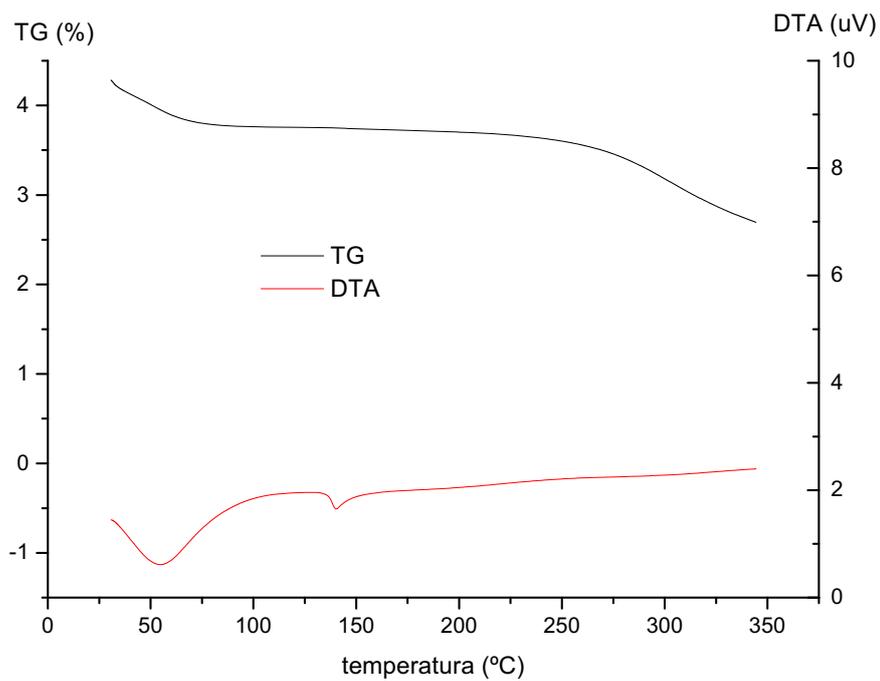


Figura 52: Curva termoanalítica TG/ DTA mistura física 1:2

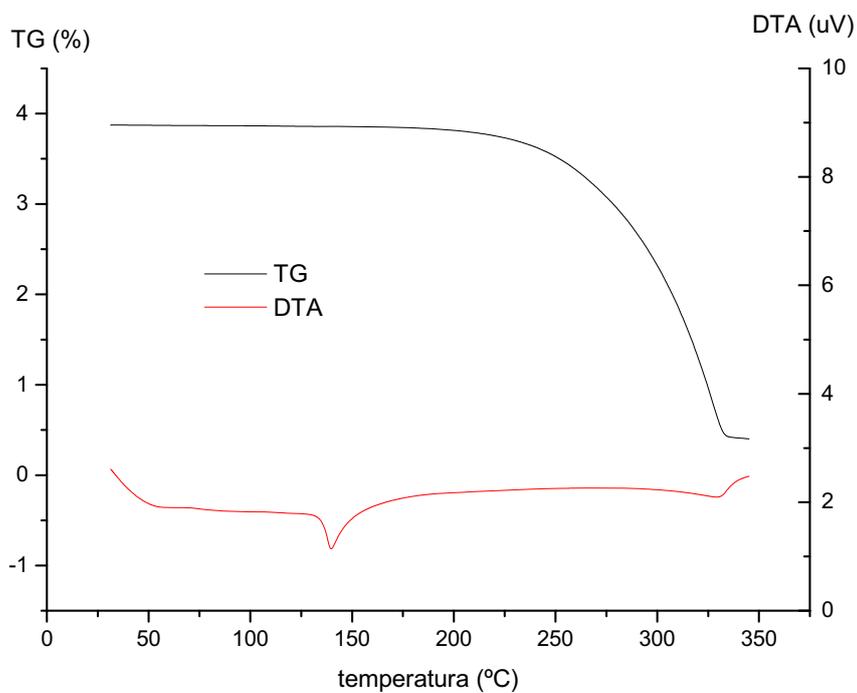


Figura 53: Curva termoanalítica TG/ DTA dispersão sólida 1:2

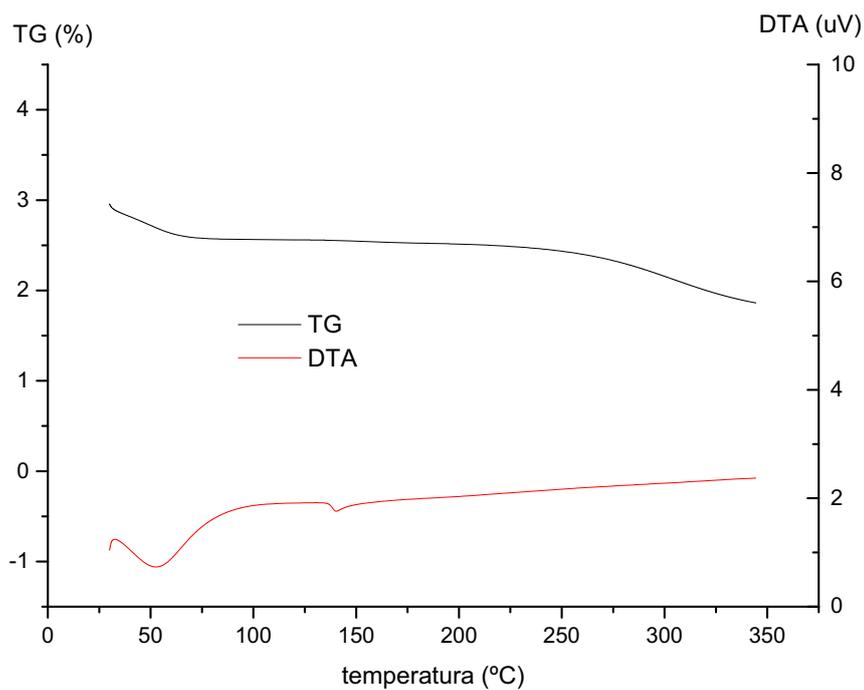


Figura 54: Curva termoanalítica TG/ DTA mistura física 1:3

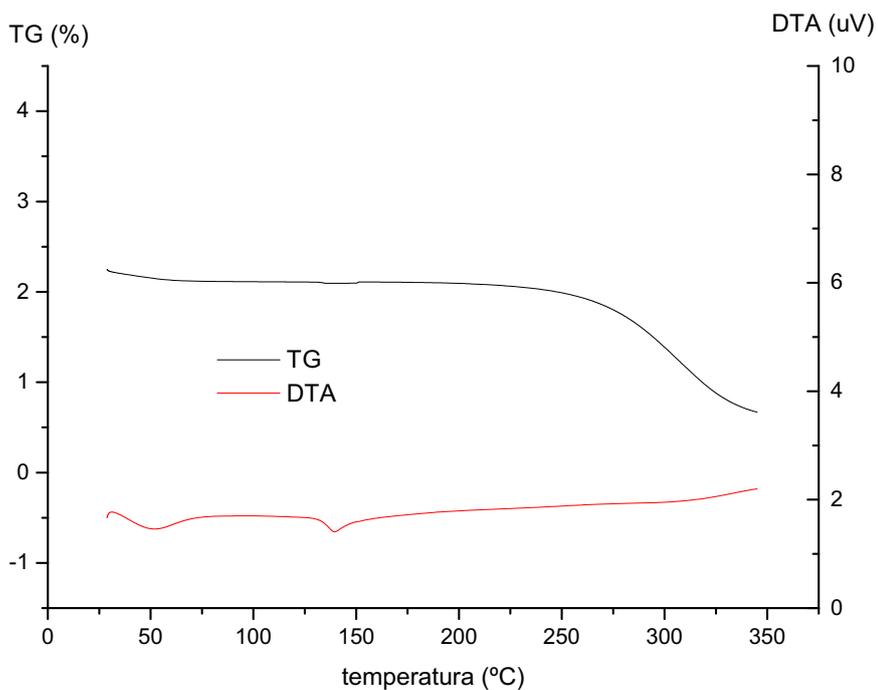


Figura 55: Curva termoanalítica TG/ DTA dispersão sólida 1:3

5.8. Avaliação do Perfil de Dissolução do Praziquantel, nas Misturas Físicas e nas Dispersões Sólidas

O perfil de dissolução do PZQ nas DS e MF com PVP K30 (1:1, 1:2 e 1:3) está apresentado nas Figuras 56-58. Os resultados mostram que a presença da PVP K30 aumenta significativamente a quantidade de PZQ dissolvido. Contudo, nas DS a dissolução do PZQ é mais favorável à liberação quando comparado com a MF. O perfil de dissolução da DS foi significativamente maior que a taxa de dissolução das MF a partir de 10 min. A maior taxa de dissolução do PZQ nas DS confirma os resultados obtidos nos estudos de caracterização, além da significativa redução da cristalinidade do PZQ observada nos resultados de DRX e análises térmicas. Baseado em estudos semelhantes Mehramizi et al. (2007) é possível inferir que ocorre aumento da molhabilidade do PZQ em função da hidrofiliicidade da PVP K30. O fato da MF 1:3 ter apresentado perfil de dissolução semelhante ao das MF 1:1 e 1:2 ao contrário do estudo de solubilidade é devido ao uso de lauril sulfato de sódio (LSS) no meio de dissolução, o que aumenta a velocidade de difusão molecular.

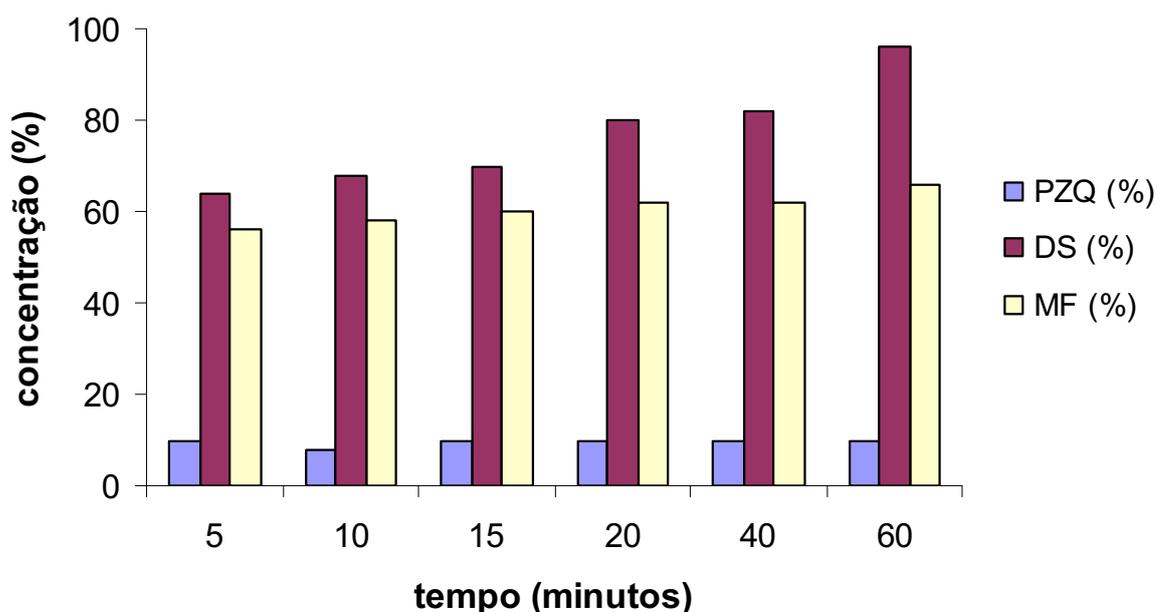


Figura 56: Perfil de dissolução do praziquantel, na dispersão sólida e na mistura física com polivinilpirrolidona K30 (1:1).

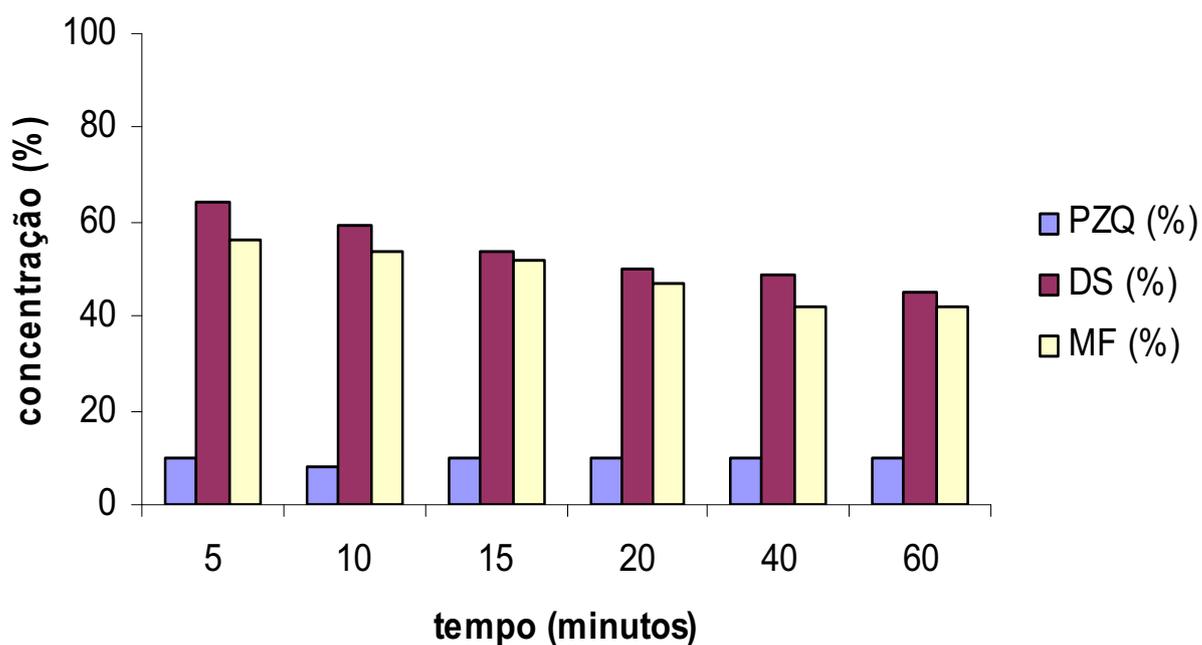


Figura 57: Perfil de dissolução do praziquantel, na dispersão sólida e na mistura física com polivinilpirrolidona K30 (1:2)

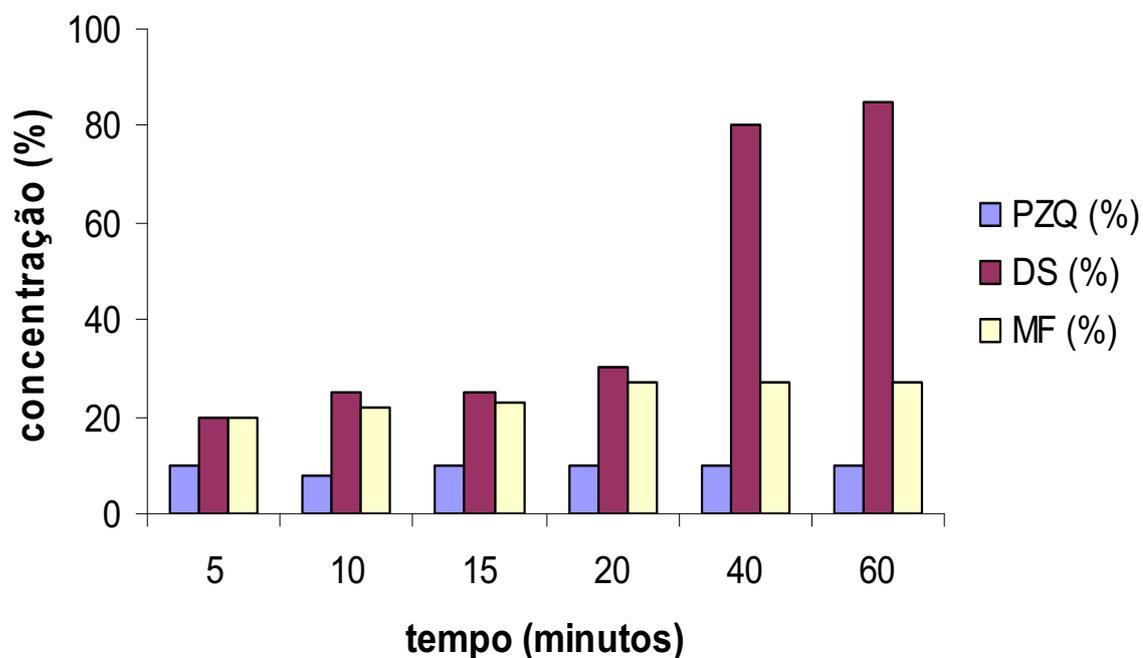


Figura 58: Perfil de dissolução do praziquantel na dispersão sólida e na mistura física com polivinilpirrolidona K30 (1:3)

Na avaliação da taxa de dissolução houve significativo aumento na concentração de PZQ quando este estava em DS obtidas pelo método do FSC. Provavelmente houve aumento na interação do fármaco com o carreador, e consequentemente maior área de superfície e molhabilidade do fármaco em função da mudança do estado do fármaco, de cristalino para amorfo, especialmente quando a proporção entre os componentes foi de 1:3.

5.9. Avaliação da Absorção Intestinal de Praziquantel pelo Método do Saco Intestinal Invertido

A quantidade de fármaco absorvido do trato gastrointestinal para a circulação sistêmica é resultado de um processo complexo que inclui interações físico-químicas e interações biológicas, as quais podem interferir negativamente ou positivamente no processo de transporte. Tradicionalmente, a complexidade do processo de absorção é avaliada em estudos de biodisponibilidade *in vivo*, usando diferentes espécies animais. No entanto, tem sido evidente a necessidade de modelos simplificados que anteceda os estudos de biodisponibilidade e que permitam melhor compreensão do processo e das possibilidades de interferência na absorção de fármacos ou de nutrientes. O método do saco intestinal envolve uma técnica simples, rápida e com boa reprodutibilidade. O método é de muita utilidade na seleção de fármacos obtidos por *high throughput screening* (HTS) ou química combinatorial, formulações farmacêuticas e diferentes tipos de combinação fármaco carreador (SILVA et al., 2009). Neste estudo, o método do saco intestinal invertido foi utilizado para avaliar, comparativamente, a permeabilidade do PZQ, nas MF e DS. O resultado é apresentado na Tabela 4.

Tabela 4: Concentrações de praziquantel transportada através da membrana intestinal após 60 minutos de incubação

	PZQ ($\mu\text{g/ml}$) no meio de incubação	PZQ ($\mu\text{g/mL}$) transportado	Taxa de transporte
PZQ	1000,0	79,8	1,0
MF 1:1	1000,0	126,8	1,58
DS 1:1	1000,0	189,7	2,37
MF 1:2	1000,0	198,4	2,48
DS 1:2	1000,0	214,5	2,68
MF 1:3	1000,0	96,6	1,21
DS 1:3	1000,0	404,2	5,06

O PZQ é classificado no Grupo II do Sistema de Classificação Biofarmacêutico, grupo que inclui fármacos pouco solúveis, mas facilmente permeáveis. A hipótese levantada neste estudo era se a possível vantagem obtida com o aumento da solubilidade do PZQ na DS com PVP K30 poderia causar qualquer prejuízo no transporte do PZQ. Pelos resultados apresentados (Tabela 4) é possível afirmar que a presença da PVP K30 aumenta o transporte do PZQ através da membrana intestinal. Contudo este aumento é mais expressivo nas DS, em especial nas DS 1:3, onde o aumento foi cinco vezes maior que o PZQ.

O processamento de materiais, frequentemente o último estágio em uma série de operações unitárias na indústria farmacêutica, é a etapa mais crítica na síntese de novos produtos. Formulações estáveis, fármacos mais biodisponíveis e uma forma apropriada de liberação complementarizam o processo da cadeia de produção de medicamentos. Neste campo, um dos principais desafios da indústria farmacêutica tem sido melhorar a biodisponibilidade de fármacos, pouco solúveis em água, veiculados em sistemas estáveis e facilmente escalonáveis.

Uma grande quantidade de fármacos pouco solúveis em água e sobre os quais pouco se sabe a respeito do perfil biofarmacêutico, estão espalhadas em quimiotecas existentes no mundo todo. Estes fármacos são virtualmente obtidos através de química combinatorial e HTS. Paralelamente à busca de soluções para estes fármacos eternamente candidatos ao aproveitamento como medicamento, a indústria farmacêutica, acertadamente, tem buscado soluções para aperfeiçoar a biodisponibilidade de substâncias já conhecidas, em especial aquelas cuja biodisponibilidade é limitada pela taxa de dissolução. Um grande número de

estratégias tem sido utilizado com esta finalidade. Entre elas, as DS se destacam pela facilidade de obtenção e por possibilitar o uso de carreadores com características físicas ou químicas bastante diferentes e variadas. A PVP K30 é um polímero que tem aplicação limitada na preparação de DS pelo método *hot melt* devido à sua temperatura de transição vítrea (T_g 155°C) (KIBBE, 2002). Contudo, devido à boa solubilidade em uma ampla variedade de solventes, a PVP K30 é, particularmente, apropriada para preparação de DS pelo método do solvente (LEUNER; DRESSMAN, 2000). A boa solubilidade deste polímero em água pode, no mínimo, melhorar a molhabilidade de fármacos pouco solúveis em água, fato que observamos neste estudo através do aumento da solubilidade das MF. O tamanho da cadeia da PVP K30 tem influência significativa na taxa de dissolução do fármaco na DS, uma série de estudos tem apontado para uma redução da solubilidade em função do aumento da massa molar deste polímero (JACHOWICZ, 1987; WALKING, 1994; YAGI et al., 1996; XU et al., 2007; CHEN et al., 2008; CWIERTNIA, 2008; PAPAGEORGIU et al., 2009). Neste estudo, as propriedades físico-químicas da PVP K30 mostraram-se adequadas para a preparação de DS com PZQ por coprecipitação, usando a tecnologia de FSC.

Estudo recente mostrou um aumento da estabilidade da fluvastatina em DS com diferentes tipos de polímero, entre eles a PVP K30 (PAPAGEORGIU et al., 2009). Sethia e Squilante (2004) mostraram que as DS de carbamazepina com PVP K30 obtida por evaporação do solvente e por métodos supercríticos continuavam estáveis após um ano da data de preparação. Esta propriedade agrega um grande valor à tecnologia de preparação de DS e abre novas perspectivas para aplicação das técnicas decorrentes deste processo tecnológico. Nestes casos, a obtenção de DS em condições supercríticas apresenta mais vantagens que os demais métodos que usam temperaturas mais elevadas. Contudo esta faculdade de aumentar a estabilidade dos fármacos deve ser avaliada caso a caso através de estudos acelerados de estabilidade.

O FSC apresenta muitas aplicações no campo farmacêutico, e vários estudos têm sido publicados usando esta tecnologia para processos de extração, separação de polimorfos e isômeros, alterações morfológicas, alteração do estado cristalino e pesquisa e desenvolvimento de agentes terapêuticos derivados de biotecnologia. A aplicação desta tecnologia na obtenção de DS com objetivos de aumentar a biodisponibilidade de fármacos tem sido pouco aproveitada. A partir dos resultados obtidos neste estudo é possível antever novas aplicações da associação destas

tecnologias para preparação de formulações alternativas, com objetivos terapêuticos específicos. Uma perspectiva concreta seria a preparação de DS fármaco-fármaco bem como fármaco-fármaco-polímero.

As condições supercríticas possibilitam trabalhar em condições brandas de temperatura, reduzindo o gasto de energia e com impacto ambiental muito baixo, uma vez que o fluido pode ser dissolvido em água e o solvente pode ser totalmente recuperado. O processo de transposição de escala tem sido facilmente alcançado possibilitando o escalonamento a partir de vasos com capacidade para 50 mL e uma bomba de CO₂ com capacidade para 1,8 Kg/h para vasos de 2L com bomba de CO₂ de vazão equivalente a 18 Kg/h (SUN, 2008).

O equipamento utilizado neste estudo foi o primeiro produzido no país para geração de partículas. A planta do equipamento, apesar de ser considerado um protótipo, apresenta todas as características de segurança requeridas para o processamento de material sólido na forma de pó. Embora não tenha sido utilizado neste estudo, a planta do equipamento permite aplicar, com segurança, temperaturas acima de 100 °C e mais de 1000 bars de pressão. Os pontos críticos do processo tais como velocidade de injeção da solução e do gás, descompressão do sistema com medida da vazão de gás puderam ser controladas manualmente através das válvulas micrométricas. Alguns aspectos poderiam ser modificados e/ou alterados para otimizar o processo. Para maior segurança do operador contra a inalação do material particulado um sistema de ciclone para separação do pó à medida que o mesmo vai sendo formado poderia ser acoplado ao sistema. A falta de um visor na câmara de precipitação, embora não tenha comprometido o desempenho do equipamento poderia facilitar a obtenção das melhores condições de temperatura e pressão. As bombas de injeção de solução e de CO₂ precisam apresentar melhor desempenho para reduzir o tempo total de operação. As bombas utilizadas neste equipamento eram de pistão e poderiam ser substituídas por bombas pneumáticas ou centrífugas que melhorassem, principalmente, a vazão do gás. Uma grande evolução para este equipamento seria acoplar uma interface que possibilitasse a informatização do processo, principalmente sobre a regulação automática das válvulas micrométricas.

As condições brandas de temperatura e pressão usadas no processo de obtenção das DS, certamente, contribuíram para manutenção das características físicas e químicas do PZQ. Estas condições que por ora foram apresentadas na Tabela 3 possibilitaram que a densidade do CO₂ se ajustasse à densidade do meio

solvente e apresentasse assim a função antissolvente para o soluto (GAS). Nestas condições ocorre uma expansão do volume, e uma subsequente redução de aproximadamente duas vezes na densidade do solvente. Tal redução na capacidade solvente provocou uma mudança de fase onde as moléculas nucleadas do soluto e as partículas foram separadas da solução, originando as DS. As variáveis do processo incluíram a taxa solvente/ antissolvente e massa de CO₂ adicionada. Wubbolts et al. (1998) relataram um aumento aparente na temperatura do sistema ao adicionar o gás comprimido na solução. Neste caso as partículas formariam em solução exigindo operações subsequentes de filtração e secagem, contrariando um dos principais benefícios da tecnologia de FSC, que seria a obtenção de partícula em apenas uma operação. Neste estudo não encontramos as mesmas dificuldades apresentadas por Wubbolts et al. (1998) provavelmente pelo fato de termos modificado o processo, utilizando um bico coaxial de forma que a solução era pulverizada (spray) pela pressão do CO₂.

A PVP K30 foi utilizada primeiramente, na área farmacêutica, como expansor plasmático. Atualmente a PVP K30 é amplamente utilizada no setor farmacêutico, como excipiente nas mais diferentes formas farmacêuticas, exceto nas injeções intramusculares. A baixa toxicidade da PVP K30 faz dela um carreador em potencial também para preparação de DS. Diferentes proporções de fármaco: PVP K30 tem sido utilizada com este objetivo. Na maior parte dos estudos, assim como neste, a solubilidade do fármaco aumenta com a redução da taxa fármaco: PVP K30 (DOHERTY; YORK, 1989; KEARNEY et al., 1994; TORRADO et al., 1996; TANTISHAIYAKUL et al., 1996). Doherty e York (1989) justificaram alterações no perfil de solubilidade das diferentes DS, em função de regiões cristalinas que eram obtidas nas proporções 1:1 e não estavam presentes na proporção 1:3. Kearney et al. (1994) relacionaram o perfil bifásico de liberação com a existência de áreas amorfas e cristalinas na mesma DS. Tantishaiyakul e colaboradores (1996) mostraram que a taxa de liberação de piroxicam das DS com PVP foi melhor apenas nas DS 1:4, este resultado foi justificado através dos espectros de difração de raios X que detectaram nas demais taxas de carregamento áreas cristalinas e semi-cristalinas. Resultado semelhante foi obtido por Lima (2006) com DS de PZQ: PVP K30. Estes trabalhos tinham em comum o fato de terem sido obtidos por evaporação do solvente em evaporadores rotativos. Neste estudo, obtendo as DS por tecnologia de FSC a condição de baixa cristalinidade ou praticamente amorfa das DS foi observada, igualmente, em todas as taxas de carregamento, 1:1, 1:2 e 1:3. Os picos

endotérmicos das curvas de termogravimetria (TGA e DSC) mostram, no entanto, que ocorreu uma redução da cristalinidade e deixou evidente que a taxa de carregamento influencia no estado cristalino da DS. Esta constatação contribuiu para justificar a diferença na solubilidade do PZQ nas DS 1:1, 1:2 e 1:3. No entanto, não foi suficiente para influenciar no perfil de dissolução do PZQ, nas condições em que o estudo foi realizado.

Os resultados deste estudo mostram, por um lado, que o aumento da solubilidade e do perfil de liberação não podem ser atribuídos apenas à redução da cristalinidade, outros aspectos devem ser observados, entre eles aumento da molhabilidade em função da solubilidade do polímero em água, redução granulométrica, forma de interação fármaco-polímero. Por outro lado, o perfil mais uniforme das DS obtidas por tecnologias de FSC encontrada neste estudo, contrasta com aqueles obtidos por outras tecnologias usando fármacos diferentes, mas o mesmo carreador. Embora estas afirmações necessitem de maior fundamentação, observação semelhante foi relatada por Sethia e Squillante (2004) em estudos com carbamazepina e PVP K30.

Os resultados obtidos neste estudo indicam que o PZQ nas DS com PVP K30 poderiam ser mais efetivos que o PZQ no tratamento da esquistossomose. Embora o processo utilizado pudesse, inicialmente, encarecer o produto final, quando comparado com o medicamento disponível no mercado, novas formas farmacêuticas poderiam ser fabricadas. Medicamentos na forma de solução oral facilitariam o tratamento de crianças e de pessoas com dificuldades de deglutição; na forma de solução parenteral, permitiria o tratamento em massa, em campanhas públicas para erradicação da esquistossomose ou no mínimo, para diminuir o índice Daly = Disability Adjusted Life Years (índice de mortalidade e morbidade simultaneamente) relacionado a esta doença.

Estudos de biodisponibilidade e toxicidade precisam ser formalmente realizados, antes da concretização desta proposta.

Como a esquistossomose é um caso sério de saúde pública, é preciso que o governo através dos seus programas de fomento à ciência e tecnologia incentivem a continuidade deste estudo, se apropriem desta tecnologia e transfiram para as indústrias farmacêuticas públicas no Brasil e demais países afetados por esta doença.

6. Conclusão

A tecnologia de FSC utilizando o método do gás antissolvente (GAS) mostrou ser adequada para preparação de DS de PZQ: PVP K30. Os resultados obtidos e a experiência acumulada neste estudo permitem inferir que esta tecnologia pode ser empregada para obtenção de outros tipos de material farmacêutico, incluindo DS fármaco-fármaco.

Os resultados obtidos confirmaram o potencial das DS para alterar propriedades físico-químicas importantes relacionadas à solubilidade de fármacos pouco solúveis em água, tais como o PZQ.

O potencial da PVP K30 como material farmacêutico para solucionar problemas de biodisponibilidade de fármacos quando esta é limitada pela taxa de dissolução foi confirmado neste estudo.

A proporção de PVP K30 utilizada na preparação das DS (1:1, 1:2 ou 1:3) influenciou diretamente o equilíbrio de solubilidade do PZQ. A solubilidade aumentou com o aumento da concentração da PVP K30. Este fato não mudou significativamente o perfil de dissolução do PZQ nas DS, muito provavelmente devido à presença de LSS no meio de dissolução.

A MEV mostrou as diferenças entre a interação física do PZQ com PVP K30 nas MF e DS. Estas interações foram evidenciadas no estudo de difração de raios X onde as mudanças no estado cristalino do fármaco e o possível aumento da molhabilidade concorrem para explicar o aumento da solubilidade do PZQ nas DS em comparação com as MF e o PZQ puro.

Os estudos na região IV mostraram que os grupos funcionais do PZQ foram preservados e este é um fator importante para a validação do processo de obtenção das DS, pois reflete a estabilidade do produto obtido.

As curvas TG das DS mostraram o mesmo perfil do PZQ puro confirmando os resultados obtidos no estudo de IV, que sugeriam um composto orgânico puro.

As curvas DSC mostram que não houve alteração nas temperaturas de fusão do PZQ, sinal de ausência de polimorfismo, degradação ou incompatibilidade com o carreador. A redução na entalpia de fusão nas DS contribui para explicar a redução na cristalinidade do PZQ e sugerem uma interação positiva do PZQ com a PVP K30.

O estudo de permeação intestinal, *ex vivo*, utilizando o modelo do saco intestinal invertido mostrou aumento da taxa de transporte do PZQ nas DS, fator importante na previsão da biodisponibilidade do PZQ.

Destas observações podemos concluir que o uso da tecnologia de FSC para obtenção de DS é uma alternativa, em potencial, para otimizar a biodisponibilidade de fármacos. O domínio das diferentes técnicas e a evolução do equipamento empregado neste processo podem ser importantes na transposição de escala, além de permitir saber, com maior precisão, se uma determinada combinação fármaco:carreador ou fármaco:fármaco conduzirá a uma solução sólida “verdadeira” ou a uma dispersão parcialmente cristalina, bem como as chances reais de saber se uma dada DS permanecerá fisicamente estável após a estocagem e/ou novos processamentos.

Outra perspectiva para aplicação desta tecnologia é a do seu emprego para modificar o perfil de liberação de fármacos, uma vez que polímeros que sejam pouco solúveis em água ou que intumescem em meio aquoso sugerem que DS obtidas por FSC têm um grande potencial, para numa única etapa de produção, produzir formas particuladas de liberação controlada.

7. Referências Bibliográficas

ABDUL-FATTAH, A.M.; BHARGAVA, H.N. Preparation and in vitro evaluation of solid dispersions of halofantrine. **Int. J. Pharm.**, v. 235, p. 17-33, 2002.

ALDEN, M.; TEGENFELDT, J.; SJOKVIST, E. Structure of solid dispersions in the system polyethyleneglycol-griseofulvin with additions of sodium dodecyl sulfate. **Int. J. Pharm.**, v. 83, p.47-52, 1992.

ALDEN, M.; TEGENFELDT, J.; SJOKVIST, E. Structures formed by interaction in solid dispersions of the system polyethyleneglycol-griseofulvin with charged and non charged surfactents added. **Int. J. Pharm.**, v. 94, p.31-38, 1993.

ALLEN, H. E.; CROMPTON, D. W.T.; SILVA, N.; LOVERDE, P.T.; OLDS, G.R. New policies for using anthelmintics in high risk groups. **Trends Parasitol.**, v. 18, n. 9, p. 381-382, 2002.

ANWAR, W.A.; AU, W.W.; RAMANUJAM, V.M.; LEGATOR, M.S. Enhancement of benzene clastogenicity by praziquantel in mice. **Mutat. Res.**, v. 222, n. 3, p. 283-289, 1989.

ANWAR, W.A. Praziquantel (antischistosomal drug): is it clastogenic, co-clastogenic or anticlastogenic? **Mutat. Res.**, v. 305, n.2, p.165-173, 1994.

AYMONIER, C.; SERANI, A.L.; REVERÓN, H.; GARRABOS, Y.; CANSSELL, F. Review of supercritical fluids in inorganic materials science. **J. Supercrit. Fluids.**, v. 38, p. 242-251, 2006.

BANDI, N.; WEI, W.; ROBERTS, C.B.; KOTRA, L.P.; KOMPELLA, U.B. Preparation of budesonide- and indomethacin-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (HPBCD) complexes using a single-step, organic-solvent-free supercritical fluid process. **Eur. J. Pharm. Sci.**, v. 23, n. 2, p. 159-168, 2004.

BARSOUM, R.S. Schistosomiasis and the kidney. **Semin. Nephrol.**, v. 23, n.1, p.34-41, 2003.

BARTHE L.; WOODLEY J.F.; KENWORTHY, S.; HOUIN, G. An improved everted sac as a simple and accurate technique to measure paracellular transport across the small intestine. **Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.**, v.23, p.313-323, 1998.

BECKET, G.; SCHEP, L.J.; TAN, M.Y. Improvement of the in vitro dissolution of praziquantel by complexation with α , β and γ cyclodextrins. **Int. J. Pharm.**, v. 179, p. 65-75, 1999.

BLOCH, D.W.; ELEGAKEY, M.A.; SPEISER, P. Spray dried solid dispersion of hydrochlorothiazide and chlortalidone in pentaerythritol. **Pharm. Acta Helv.**, v.58, p.14-22, 1983.

BORCH, M.; KIERNAN, M.; RUST, K.; BARON, B.; SIMMONS, B.; HATTALA, P.; DAVEY, A.; YOVANOVICH, J.; SHAYDER, D.; WASILEWSKI, A., LAFARO, V.E. Schistosomiasis: a case study. **Urol. Nurs.**, v. 29, n.1, p. 26-29, 2009.

BOUNACEUR, A.; RODIER, E.; FAGES, J. Maturation of a ketoprofen/ β cyclodextrin mixture with supercritical carbon dioxide. **J. Supercrit. Fluids.**, v. 41, p. 429-439, 2007.

BRENNECKE, J.F.; TOMASKO, D.L.; PESHKIN, J.; ECKERT, C.A. Fluorescence spectroscopy studies of dilute supercritical solutions. **Ind. Eng. Chem. Res.**, v. 29, p.1682-1688,1990.

BROMAN, E., KHOO, C., TAYLOR, L.S. A comparison of alternative polymer excipients and processing methods for making solid dispersions of a poorly water soluble drugs. **Int. J. Pharm.**, v. 222, p. 139-151, 2001.

BRUNNER G. Selectivity of supercritical compounds and entrainers with respect to model substances. **Fluid Phase Equilib.**, v.10, p. 289-298, 1983.

BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application to food processing. **J. Food Eng.**, v. 67, p. 21-33, 2005.

CARRILHO, E.; TAVARES, M. C. H.; LANÇAS, F. M. Fluidos supercríticos em química analítica. III. Cromatografia com Fluido supercrítico: aplicações. **Quim. Nova**, v. 29, n. 4, p. 790-795, 2006.

CHEN, J.; QIU, I.; HU, M.; JIN, Y.; HAN, J. Preparation, characterization and in vitro evaluation of solid dispersions containing doxorubicin. **Drug Dev Ind Pharm.**, v.34, p. 588-594, 2008.

CHIMOWITZ, E.H.; PENNISI, K.J. Process synthesis concepts for supercritical gas extraction in the crossover region. **AI ChE J.**, v.32, p. 1665-1676, 1986.

CHIOU, W. L.; RIEGELMAN, S. Preparation and dissolution characteristics of several fast-release solid dispersion of griseofulvin. **J. Pharm. Sci.**, v. 58, n.12, p.1505-1510, 1969.

CHIOU, W.L.; RIEGELMAN, S. Oral absorption of griseofulvin in dogs: increased absorption via solid dispersion in polyethylene glycol 6000. **J. Pharm. Sci.**, v. 59, n.7, p.937-941, 1970.

CHIOU, W.L.; RIEGELMAN, S. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. **J. Pharm. Sci.**, v. 60, n.9, p.1281-1302, 1971.

CHIOU, W. L. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems: X-ray diffraction and aqueous solubility studies on griseofulvin-polyethyleneglycol 6000 systems. **J. Pharm. Sci.**, v. 66, n.7, p.989-991, 1977.

CHUTIMAWORAPAN, S.; RITTHIDEJ, G. C.; YONEMOCHI, E.; OGUCHI, T.; YAMAMOTO, K. Effect of water-soluble carriers on dissolution characteristics of nifedipine solid dispersions. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 26, n. 11, p. 1141-1150, 2000.

CINTO, P.O. **Avaliação da absorção intestinal de praziquantel a partir de lipossomas de fosfatidilcolina de soja empregando o modelo do saco intestinal invertido.** 69 f. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L.; ARCHER, S. Antischistosomal drugs: past, present.....and future? **Pharm Ther.**, v. 68, n.1, p. 35-85, 1995.

CIOLI, D. Chemoterapy of schistosomiasis: an update. **Parasitol Today.**, v. 14, n.10, p. 418-422, 1998.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L. Praziquantel. **Parasitol Res.**, v. 90, p. S 3-S 9, 2003.

CIRRI, M.; MURA, P.; RABASCO, A. M.; GINES, J.M.; MOYANO, J.R.; GONZALEZ-RODRIGUEZ, M.L. Characterization of ibuproxam binary and ternary dispersion with hydrophilic carriers. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 30, n.1, p. 65-74, 2004.

CLERCQ, D.D.; VERCRUYSSSE, J.; KONGS, A.; VERLÉ, P.; DOMPNIER, J.P.; FAYE, P.C. Efficacy of artesunate and praziquantel in *Schistosoma haematobium* infected schoolchildren. **Acta Trop.**, v. 82, p. 61-66, 2002.

CLIFORD, T. **Fundamentals of supercritical fluids.** Oxford University Press. Inglaterra, 1998.

CWIERTNIA, B. Solubility of selected derivatives of 1,4 benzodiazepine – 2- one in the presence of PVP. **Acta Pol. Pharm.**, v. 65, n. 4, p. 487-491, 2008.

D'ARCY, P.F.; HARRON, D.W.G. Schistosomiasis. **Pharm. Int.**, v.4, n.1, p.16-20, 1983.

DND – Drugs for Neglected Diseases working group, 2001. Desequilíbrio fatal: a crise em Pesquisa e Desenvolvimento de drogas para doenças negligenciadas. Campanha de acesso a medicamentos essenciais. Genebra: Médicos Sem Fronteiras (MSF).

EL-BANNA, H. M.; ABD-ELFATTAH, S.; DAABIS, N.A. Physicochemical study of drug binary systems. Phenobarbital-urea system. **Pharmazie**. v. 29, n.6. p. 396-400, 1975.

EL-ARINI, S. K.; LEUENBERGER, H. Dissolution properties of praziquantel-PVP systems. **Pharm. Acta Helv.**, v. 73, p. 89-94, 1998.

EMARA, L.H.; BADR, R.M.; ELBARY, A. A. Improving the dissolution and bioavailability of nifedipina using solid dispersions and solubilizers. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 28, n.7, p. 795-807, 2002.

FERNANDEZ, M.; RODRIGUEZ, I. C.; MARGARIT, M.V., CEREZO, A. Characterization of solid dispersions of piroxicam/ polyethyleneglycol 4000. **Int. J. Pharm.**, v.84, p.197-202. 1992.

FERRARI, M.L.A.; COELHO, P.M.Z.; ANTUNES, C.M.F.; TAVARES, C.A.P.; CUNHA, A.S. Efficacy of oxamniquine and praziquantel in the treatment of *Schistosoma mansoni* infection: a controlled trial. **Bull. World Health. Organ.**, v. 81, n. 3, 2003.

FIOCRUZ. Disponível em www.fiocruz.br. Acesso em 20 de maio de 2008.

FORD, J. L.; STEWART, A. F.; RUBINSTEIN, M. H. The assay and stability of chlorpropamide in solid dispersion with urea. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 31, n.11, p. 726-729, 1981.

GOHEL, M.C.; PATEL, L.D. Processing of nimesulide-PEG 400-PG-PVP solid dispersions: preparation, characterization and in vitro dissolution. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 29, n. 3, p.299-310, 2003.

GOLDBERG, A.H.; GIBALDI, M.; KANIG, J.L. Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solution and eutetic mixture I. Theoretical consideration and discussion of the literature. **J. Pharm. Sci.**, v. 54, p.1145-1148, 1965.

GOODMAN, L.; GILMAN, A. G. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 11. ed. São Paulo: Editora Mc Graw Hill, p. 701-708, 1436 p., 2007.

GREENBERG, R. M. Are Ca²⁺ channels targets of praziquantel action? **Int. J. Parasitol.**, v. 35, p. 1-9, 2005.

GROL, E. Praziquantel. **Ad. Pharmacol. Chem.**, v. 20, p. 219-237, 1984.

GRYSEELS, B.; POLMAN, K.; CLERINX, J.; KESTENS, L. Human schistosomiasis. **Lancet.**, v. 368, n. 9541, p. 1106-1118, 2006.

GUPTA, R. B.; SHIM, J.J. **Solubility in supercritical carbon dioxide**. New York: CRC Press, 2007.

HABIB M .J. **Pharmaceutical solid dispersion technology**. Pennsylvania: Technomic, 2001, 97 p.

HERRERA, L.A.; VALVERDE, M.; OSTROSKY-WEGMAN, P.; SPEIT, G.; ROJAS, D. C. E. Analysis of the DNA damage induced by praziquantel in V-79 Chinese hamster fibroblasts and human blood cells using the single-cell gel electrophoresis assay. **Teratog. Carcinog. Mutagen.**, v. 18, n.1, p. 41-47, 1998.

HIRASAWA, N.; ISHISE, S.; MIYATA, H.; DANJO, K. Application of nilvadipine solid dispersion to tablet formulation and manufacturing using crospovidone and methylcellulose as dispersion carriers. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 52, n. 2, p. 244-247, 2004.

HOU, Z.; YANG, P.; LIAN, H.; WANG, L.; ZHANG, C.; LI, C.; CHAI, R.; CHENG, Z.; LIN, J. Multifunctional hydroxyapatite nanofibers and microbelts as drug carriers. **Chem.**, 2009.

JACHOWICZ, R., Dissolution rates of partially water-soluble drugs from solid dispersion systems II. Phenytoin. **Int. J. Pharm.**, v.35, p. 7-12, 1987.

JAFARI, M. R.; DANTI, A.G.; AHMED, I. Comparison of polyethyleneglycol, polyvinylpyrrolidone and urea as excipients for solid dispersion systems of miconazole nitrate. **Int. J. Pharm.**, v. 48, p. 207-215, 1988.

JOSHI, H.N.; TEJWANI, R.W.; DAVIDOVICH, M.; SAHASRABUDHE, V.P.; JEMAL, M.; BATHALA, M.S.; VARIA, S.A.; SERAJUDDIN, A.T.M. Bioavailability enhancement of a poorly water – soluble drug by solid dispersion in polyethylene glycol – polysorbate 80 mixture. **Int. J. Pharm.**, v. 269, p.251-258, 2004.

JOHNSTON, K. P.; ROCHA, S. R. P. Colloids in supercritical fluids over the last 20 years and future directions. **J. Supercrit. Fluids.**, v. 47, p. 523-530, 2009.

JUNG, J.; PERRUT, M. Particle design using supercritical fluids: literature and patent survey. **J. Supercrit. Fluids.**, v. 20, p. 179-219, 2001.

KAWASHIMA, Y.; YORK, P. Drug delivery applications of supercritical fluid technology. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 60, n. 3, p. 297-298, 2008.

KHAN, G.M.; JIABI, Z. Preparation, characterization, and dissolution studies of ibuprofen solid dispersions using polyethylene glycol (PEG), talc, and PEG – talc as dispersion carriers. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 24, n.5, p. 455-462, 1998.

KIBBE, A.H. **Handbook of pharmaceutical excipients.** 3rd ed. London: Pharmaceutical Press. 2002.

KREUSCHNER, K.; FROMMING, K.H.; HOSEMANN, R. Plug compounds – A new physical configuration of solid dispersion using the exemple of solidified phenylbutazone-urea melt embeddings. **Acta Pharm. Technol.**, n.26, p.159-164, 1980.

LANG, Q.; WAI, C. M. Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies - a practical review. **Tal.**, v. 53, n. 4, p. 771-782, 2001.

LENGELER, C.; UTZINGER, J.; TANNER, M. Screening for schistosomiasis with questionnaires. **Trends Parasitol.**, v. 18, n, 9, p. 375-377, 2002.

LEUNER, C.; DRESSMAN, J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, v. 50, n. 1, p.47-60, 2000.

LIMA, A. C. **Obtenção e caracterização de dispersões sólidas de praziquantel.** 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

LIU, Y.; WANG, X.; WANG, J. K.; CHING, C. B. Structural characterization and enantioseparation of the chiral compound praziquantel. **J. Pharm. Sci.**, v.93, n. 12, p. 3039-3046, 2004.

MAJERIK, V.; CHARBIT, G.; BADENS, E.; HORV'ATH, G.; SZOKONYA, L.; NATHALIE BOSC, N.; TEILLAUD, E. Bioavailability enhancement of an active substance by supercritical antisolvent precipitation. **J. Supercrit. Fluids.**, v. 40, p. 101–110, 2007.

MALLICK, S.; SAHOO, A.; MITRA, S.S. Preparation, physicochemical characterization and drug release studies of albendazole solid dispersions. **Boll. Chim. Farm.**, n. 4, 2003.

MANNA, L.; BANCHERO, M.; SOLA, D.; FERRI, A.; RONCHETTI, S.; SICARDI, S. Impregnation of PVP microparticles with ketoprofen in the presence of supercritical CO₂. **J. Supercrit. Fluids.** 2006.

MARÍN, M. T.; MARGARIT, M.V.; SALCEDO, G.E. Characterization and solubility study of solid dispersions of flunarizine and polyvinylpyrrolidone. **Farmaco**, v. 57, n. 9, p. 723-727, 2002.

MATSUMOTO, J. Adverse effects of praziquantel treatment of *Schistosoma japonicum* infection: involvement of host anaphylactic reactions induced by parasite antigen release. **Int. J. Parasitol.**, v. 32, p. 461-471, 2002.

MCHUGH, M.A.; KRUKONIS, V. **Supercritical fluid extraction: principles and applications**, 2nd ed. Boston: Butterworths , 1994.

MEHRAMIZI, A.; ALIJANI, B.; POURFARZIB, M.; DORKOOSH, F. A.; RAFIEE-TEHRANI, M. Solid carriers for improved solubility of glizipide in osmotically controlled oral drug delivery. **Drug. Dev. Ind. Pharm.**, v. 33, n. 8, p. 812-823, 2007.

MOHAMED, R.S.; HAVERSON, D.S.; DEBENEDETTI, P.G.; PRUD' HOMME, R. Solid formation after the expansion of supercritical mixture. **ACS Symposium Series**. cap. 23, p. 355-378, 1989.

MORIBE, K.; TOZUKA, Y.; YAMAMOTO, K. Supercritical carbon dioxide processing of active pharmaceutical ingredients for polymorphic control and for complex formation. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v.60, p. 328-338, 2008.

MOURÃO, S. C. **Preparação e caracterização de lipossomas contendo praziquantel**. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, São Paulo, 2001.

MUTALIK, S.; ANJU, P.; MANOJ, K.; USHA, A. N. Enhancement of dissolution rate and bioavailability of aceclofenac: A chitosan-based solvent change approach. **Int. J. Pharm.**; v. 350 (1-2), p. 279-290, 2008.

NAISBETT, B.; WOODLEY J.F. The potential of tomato lectin in oral drug delivery system. 2- Mechanism of uptake in vitro. **Int. J. Pharm.**, v.110, p.127-136, 1994.

NEVES, D.P.; MELO, A.L.; GENARO, O.; LINARDI, P.M. **Esquistossomose**. In: ____. *Parasitologia Humana*. 9.ed. São Paulo: Atheneu, p.212-237, 1995.

NOVAES, M. R. C. G.; SOUZA, J. P.; ARAÚJO, H. C. Síntese do antihelmíntico praziquantel a partir da glicina. **Quim. Nova**, v. 22, n. 1, p.5-10, 1999.

OZKAN, Y.; DOGANAY, N.; DIKMEN, N.; ISIMER, A. Enhanced release of solid dispersions of etodolac in polyethylene glycol. **Farmaco**. v. 55, p. 433-438, 2000.

PARFITT, K. (Ed.). **Martindale: the complete drug reference**. 32rd. ed. London: The Pharmaceutical Press, 2002. p. 108-109.

PAPAGEORGIU, G.Z.; PAPADIMITRIOU, S.; KARAVAS, E.; GEORGARAKIS, E.; DOCOSLIS, A.; BIKIARIS, D. Improvement chemical and physical stability of fluvastatin drug through hydrogen bonding interactions with different polymer matrices. **Curr. Drug Dev.**, v. 6, p. 101-112. 2009.

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

PATE, R.P.; PATEL, M.M. Physicochemical characterization and dissolution study of dolid dsipersions of lovastatin with polyethylene glycol 4000 and polyvinylpyrrolidone K 30. **Pharm. Dev. Technol.**, v.12, p. 21-33. 2007.

PATO J.; MORA M.; NAISBETH, B.; WOODLEY, J.F.; DUNCAN, R. Uptake and transport of poly(N-vinylpyrrolidone-co-maleic acid) by the adult rat small intestine cultured in vitro: effect of chemical structure. **Int. J. Pharm.**, v.104, p.227-237, 1994.

PERRUT, M. Supercritical fluid applications: industrial development and economic issues. **Ind. Eng. Chem. Res.**, v. 39, p. 4531- 4535, 2000.

PICA-MATTOCCIA, L.; DOENHOFF, M.J.; VALLE, C.; BASSO, A.; TROIANI, A.R.; LIBERTI, P.; FESTUCCI, A.; GUIDI, A.; CIOLI, D. Genetic analysis of decreased praziquantel sensitivity in a laboratory strain of schistosoma mansoni. **Acta Trop.**, v. 111, n. 1, p. 82- 85, 2009.

PRABHU, S., BROCKS, D.R., BETAGERI, G.V. Enhancement of dissolution of ethopropazine using solid dispersions prepared with phospholipid and/or polyethylene glycol. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 27, n. 5, p.413-418, 2001.

QUAGLIA, M. G.; DONATI, E.; FANALI, S.; CATARCINI, P. Ibuprofen quality control by electrochromatography. **Farmaco.** v. 58, n.9, p. 699-705, 2003.

ROWLAND, R.N.; WOODLEY, J. F. The uptake of distearyphosphatidylcholine/cholesterol liposomes by rat intestinal sac in vitro. **Biochem. Bioph. Acta.** v. 673, p.217-223, 1981.

ROUCHOTAS, C.; CASSIDY, O.E.; ROWLEY, G. Comparison of surface modification and solid dispersion techniques for drug dissolution. **Int. J. Pharm.**, v. 195, p. 1-6, 2000.

RUAN, L. P.; CHEN, S.; YU, B. Y.; ZHU, D. N.; CORDELL, G.A.; QIU, S.X. Prediction of human absorption of natural compounds by the non-everted rat intestinal sac model. **European J. Med. Chem.**, v. 41, p. 605-610, 2006.

SAERS, E.S.; NYSTROM, C.; ALDEN, M. Physicochemical aspects of drug release. XVI. The effect of storage on drug dissolution from solid dispersions and the influence of cooling rate and incorporation on surfactant. **Int. J. Pharm.**, v. 90, p.105-118, 1993.

SALDAÑA, M.D.A.; MAZZAFERA, P.; MOHAMED, R.S. Extraction of purine alkaloids from maté plant *Ilex paraguariensis* using supercritical CO₂. **J Agric. Food Chem.**, v.47, p.3804-3808, 1999.

SAVIOLI, L.; RENGANATHAN, E.; MONTRESO, A.; DAVIS, A.; BEHBEHANI, K. Control of Schistosomiasis—a global picture. **Parasitol. Today.** v. 13, n.11, p.444-448, 1997.

SEKIGUCHI, K.; OBI, N. Studies on absorption of eutetic mixtures. I: A comparison of the behavior of eutetic mixture of sulphathiazole and that of ordinary sulphathiazole in man. **Chem. Pharm. Bull.**, v.1, n.9, p.866-872, 1961.

SEKIKAWA, H.; FAKUDA, W.; TAKADA, M.; OHTANI, K.; ARITA, T.; NAKANO, M. Dissolution behaviors and gastrointestinal absorption of tolbutamide in tolbutamide-PVP coprecipitate. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 27, p.31-37, 1979.

SEKIKAWA, H., FUKUDA, W., TAKADA, M., OHTANI, K., ARITA, T., NAKANO, N. Dissolution behavior and gastrointestinal absorption of dicumarol from solid dispersion systems of dicumarol-polyvinylpyrrolidone and dicumarol- β -cyclodextrin. **Chem. Pharm. Bull.**, v.31, n.4, p.1350-1356, 1983.

SERAJUDDIN, A.T.M.; SHEEN, P.C.; AUGUSTINE, M.A. Improved dissolution of a poorly water-soluble drug from solid dispersions in polyethylene glycol: polysorbate 80 mixtures. **J. Pharm. Sci.**, v.79, n.5, p.463-64, 1990.

SETHIA, S.; SQUILLANTE, E. Solid dispersions: revival with greater possibilities and applications in oral drug delivery. **Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.**, v.20, n. 2&3, p. 215-247, 2003.

SETHIA, S.; SQUILLANTE, E. Solid dispersions of carbamazepine in PVP K 30 by conventional solvent evaporation and supercritical methods. **Int. J. Pharm.**, v. 19, n. 272, p. 1-10, 2004.

SHEEN, P.C.; KIM, S.I.; PETILLO, J.J.; SERAJUDDIN, A.T.M. Bioavailability of a poorly water-soluble drug from tablet and solid dispersion in humans. **J. Pharm. Sci.**, v. 80, n. 7, 1990.

SHUHUA, X. Development of antischistosomal drugs in China, with particular consideration to praziquantel and the artemisinins. **Acta Trop.**, v. 96, p. 153- 167, 2005.

SILER-MARINKOVIC, S.; MOJOVIC, L.; DAVINIC, V.; BUGARKY, B. Liposomes as carriers of antimicrobial drugs. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 23, n.5, p. 483-488, 1997.

SILVA, P. **Farmacologia**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007, p. 1156-1158, 1374 p.

SILVA, C.F.; SEVERINO P.; MARTINS, F.; CHAUD, M.V.; SANTANA, M. H. A. The intestinal permeation of didanosine from granules containing microspheres using the everted gut sac model. **J. Microencapsul.**, 2009.

SINGLA, A. K.; VIJAN, T. Dissolution of sulfamethoxazole from polyethyleneglycols and polyvinylpyrrolidone solid dispersion. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v.16, p.875-872, 1990.

SIX, K.; DAEMS, T.; HOON, J.; HECKEN, A.V.; DEPRE, M.; BOUCHE, M. P.; PRINSEN, P.; VERRECK, G.; PEETERS, J.; BRESTWER, M. E.; MOOTER, G.V. Clinical study of solid dispersions of itraconazole prepared by hot-stage extrusion. **Eur. J. Pharm. Sci.**, v.24, p. 179-186, 2005.

SKOOG, D.A.; LEARY, J.J. **Principles of instrumental analysis**. 4th ed. Philadelphia. Sauders College Publishing. 786 p., 1992.

SOUZA, A.L.R. **Avaliação do efeito do praziquantel veiculado em dispersões lipídicas no tratamento de camundongos infectados com *schistosoma mansoni***. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.

SUN, N.; WEI, X.; WU, B.; CHEN, J.; WU, W. Enhanced dissolution of silymarin/polyvinylpyrrolidone solid dispersion pellets prepared by a one-step fluid-bed coating technique. **Powder Tech.**, v. 182, p. 72-80, 2008.

TACHIBANA, T.; NAKAMURA, N. A method of preparing an aqueous colloidal dispersion of organic materials by using water-soluble polymers: dispersion of β -carotene by poly (vinylpyrrolidone). **Polymer.**, v. 203, n.1, p.130-133, 1965.

TAKAYAMA, K.; NAMBU, N.; NAKAI, T. Factors affecting the dissolution of ketoprofen from solid dispersion in various water-soluble polymers. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 30, p.3013-3016, 1982.

TAYLOR, L. T. **Supercritical fluid extraction**. New York: Wiley Interscience Publ , 1996.

TING, S.S.T.; McNAUGHTON, S.J.; TOMASKO, D.L.; FOSTER, N.R. Solubility of naproxen in supercritical carbon dioxide with and without cosolvents. **Ind. Eng. Chem. Res.**, v.32, p. 1471-1481, 1993.

TOKUMURA, T.; MURAOKA, A.; MACHIDA, Y. Improvement of oral bioavailability of flurbiprofen from flurbiprofen/beta-cyclodextrin inclusion complex by action of cinnarizine. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, 2009 .

THYBO, P.; PEDERSEN, B. L.; HOVGAARD, L.; HOLM, R.; MULLERTZ, A. Characterization and physical stability of spray dried solid dispersions of probucol and PVP- K 30. **Pharm. Dev. Technol.**, v.13, n. 5, p. 375- 386, 2008.

TORRE, P.; TORRADO, S.; TORRADO, S. Preparation, dissolution and characterization of praziquantel solid dispersions. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 47, n. 11, p. 1629-1633, 1999.

TRAPANI, G.; FRANCO, M.; LATROFA, A.; PANTALEO, M.R.; PROVENZANO, M.R.; SANNA, E.; MACIOCCO, E.; LISO, G. Physicochemical characterization and in vivo properties of Zolpidem in solid dispersions with polyethylene glycol 4000 and 6000. **Int. J. Pharm.**, v. 184, p. 121-130, 1999.

TRAPANI, G.; CUTRIGNELLI, A.; LATROFA, A.; FRANCO, M.; SERRA, M.; PSIU, M.G.; BIGGIO, G.; LISO, G. Valproic acid-hydrophilic cyclodextrin complexes and

valproic acid-solid dispersions: evaluation of their potential pharmaceutical use. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 30, n.1, p. 53-64, 2004.

TWEYONGYERE, R.; MAWA, P.A.; EMOJONG, N.O.; MPAIRWE, H.; JONES, F.M.; DUONG, T.; DUNNE, D.W.; VENNERVALD, B. J.; KATUNGUKA-RWAKISHAYA, E.; ELLIOTT, A.M. Effect of praziquantel treatment of schistosoma mansoni during pregnancy on intensity of infection and antibody responses to schistosome antigens: results of a randomised, placebo-controlled trial. **Infect. Dis.**, v. 18, p. 9-32, 2009.

VAN NIJLEN, T.; BRENNAN, K.; VAN DEN MOOTER, G.; BLATON, N.; KINGET, R.; AUGUSTIJNS, P. Improvement of the dissolution rate of artemisinin by means of supercritical fluid technology and solid dispersions. **Int. J. Pharm.**, v. 26, n. 254, p. 173-181, 2003.

VASCONCELOS, T.; SARMENTO, B.; COSTA, P. Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. **Drug Discov. Today.**, v. 12, n. 23-24, p.1068-1075, 2007.

VERMA, M.M.; KUMAR, M.T.; BALASUBRAMANIAM, J.; PANDIT, J.K. Dissolution, bioavailability and ulcerogenic studies on piroxicam – nicotinamide solid dispersion formulations. **Boll. Chim. Farm.**, v. 142, n. 3, p. 119-24, 2003.

WALKING, W.D. Povidone. In: WADE, A; WELLER, P.J. Editors. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. American Pharmaceutical Association. The pharmaceutical Press. Washington, DC. London. p. 392-399, 1994.

WANG, L.; WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends Food Sci. Techn.**, v.17, p. 300–312, 2006.

WENDLANT, W.W. **Thermal analysis**. Wiley interscience publication. 3.ed. Estados Unidos, 1985.

WU, C. I.; HUANG, J. W.; WEN, Y., L.; WEN, S. B.; SHEN, Y. H.; YEH, M. Y. Preparation of TiO₂ nanoparticles by supercritical carbon dioxide. **Mater Lett.**, v. 62, 1923-1926, 2008.

WU, K.; LI, J.; WANG, W.; WINSTEAD, D. A. Formation and characterization of solid dispersions of piroxicam and polyvinylpyrrolidone using spray drying and precipitation with compressed antisolvent. **J. Pharm. Sci.**, v. 98, n.7, p. 2422-2231, 2009.

XU, I.; LI, S.M.; SUNADA, H. Preparation and evaluation of ibuprofen solid dispersion systems with kollidon particles using a pulse combustion dryer system. **Chem. Pharm. Bull.**, v.55, p. 1545-1550, 2007.

YAGI, N.; TERASHIMA, Y.; ENMOTSU, H.; EKIKAWA, H.; TAKADA, M. Dissolution behavior of probucol from solid dispersion system of probucol-polyvinylpyrrolidone. **Chem. Pharm. Bull.**, v.44, p. 241-244, 1996.

YANG, L.; GENG, Y.; LI, H.; ZHANG, Y.; YOU, J.; CHANG, Y. Enhancement the oral bioavailability of praziquantel by incorporation into solid lipid nanoparticles. **Pharmazie**, v. 64, n. 2, p. 86-89, 2009.

YASUJI, T., TAKEUCHI, H., KAWASHIMA, Y. Particle design of poorly water- soluble drug substances using supercritical fluid technologies. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 60, p. 388-398, 2008.

YEO, S.D., KIRAN, E. Formation of polymer particles with supercritical fluids: A review. **J. Supercrit. Fluids.**, v. 34, p. 287-308, 2005.

YILDIZ, N., TUNA, S., DOKER, O., ÇALIMI, A. Micronization of salicylic acid and taxol (paclitaxel) by rapid expansion of supercritical fluids. **J. Supercrit. Fluids.**, v. 41, p. 440-451, 2007.

ZHONG, C.; MASUOKA, H. An EOS/GE type mixing rule for perturbed hard-sphere equation of state and its application to the calculation of solid solubility in supercritical carbon dioxide. **Fluid Phase Equilib.**, v. 141, p. 13-23, 1997.

8. Anexos

A validação foi realizada para complementação dos ensaios realizados. Estes resultados foram utilizados na leitura dos testes aplicados neste trabalho.

8.1. Validação da Metodologia Analítica do Praziquantel

A validação foi realizada para garantir por meios de estudos experimentais que os métodos empregados atendessem às exigências analíticas, assegurando, desta forma, resultados confiáveis. Os parâmetros de validação analisados foram especificidade, linearidade, precisão, recuperação (ANVISA, 2003). Os limites de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) do PZQ foram realizados anteriormente por Cinto, 2004 (CINTO, 2004).

8.1.1. Linearidade

A linearidade dos métodos de análise foram avaliadas por espectrometria UV e CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência).

A obtenção da curva analítica por espectrometria UV (263 nm) foi construída a partir de uma solução estoque com 5,0 mg/mL de PZQ em etanol. A partir dessa solução diluições em água foram feitas para se obter concentrações de 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,5; 0,8; 1,0 e 2,0 mg/mL de PZQ para avaliação da solubilidade e do perfil de dissolução.

A Figura 59 mostra a curva analítica do PZQ em água. Os valores apresentados são a média de 6 determinações.

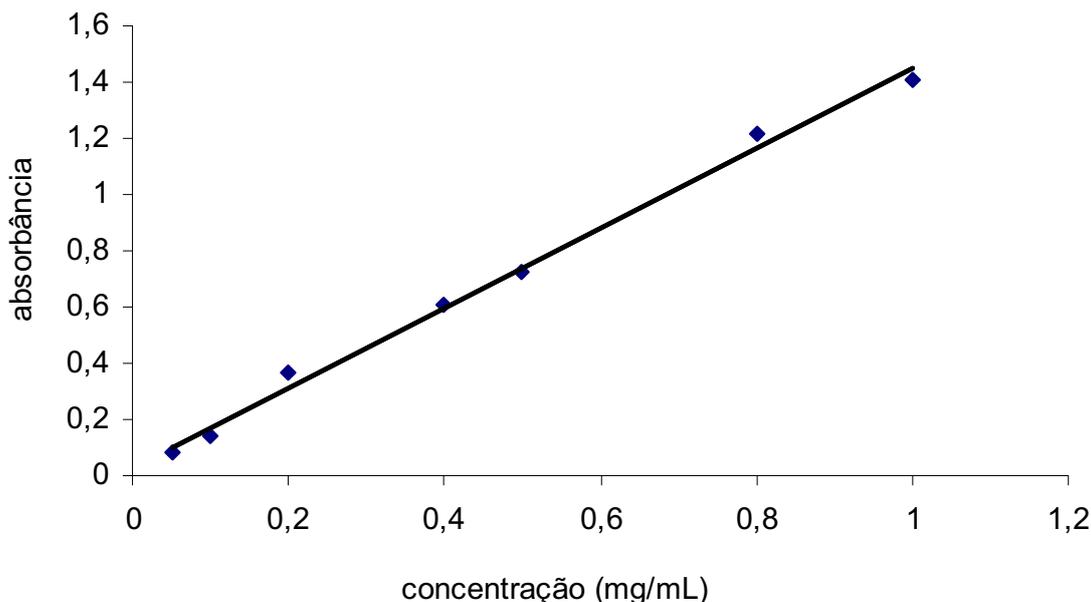


Figura 59: Curva analítica do praziquantel em água

A obtenção da curva analítica por CLAE foi construída a partir de solução estoque de 1 mg/mL de PZQ em etanol. A partir desta solução foram preparadas diluições correspondentes às concentrações de 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 $\mu\text{g/mL}$ em TC 199 para quantificação do PZQ na avaliação da permeação intestinal. Cada concentração foi preparada em triplicata e as soluções resultantes foram filtradas em membrana de teflon (0,22 mm) e analisadas por CLAE. As condições cromatográficas empregadas foram:

- Coluna de Fase Estacionária: octadecilsílica – C₁₈ (250 x 4,6mm), tamanho de partícula – 5 μm
- Detector: DAD (arranjo de diodos) UV – 215 nm
- Fase Móvel: Acetonitrila:Água (45:55, v/v)
- Vazão: 1mL/min
- Volume de Injeção: 100 μL
- Tempo de Corrida: 20 min

A Figura 60 mostra a curva analítica do PZQ em TC 199. Os valores apresentados são a média de 6 determinações.

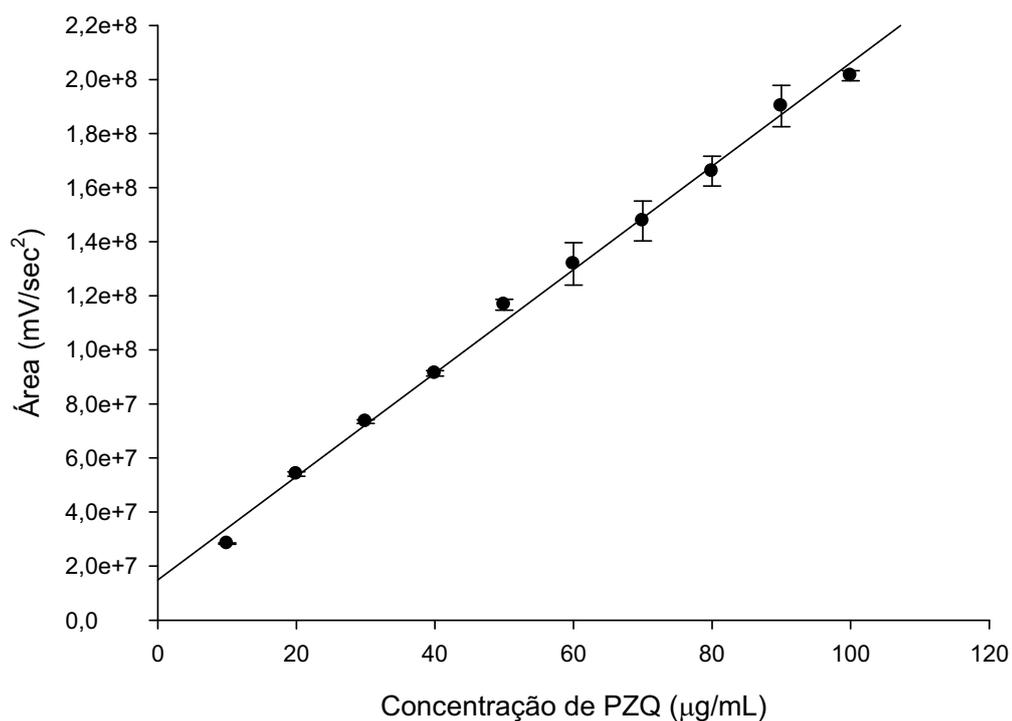


Figura 60: Curva analítica do praziquantel em TC 199

Os coeficientes de correlação linear e as equações da reta foram obtidos a partir da regressão linear das curvas de PZQ em água e TC 199 e estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5: Equação da reta e coeficiente de correlação linear das curvas de calibração de PZQ em etanol e TC 199.

	PZQ em etanol	PZQ em TC 199
Intersecção com o eixo Y	0,0329	14867263,64
Coeficiente angular	1,4177	1913437,702
equação da reta	$y = 1,4177x + 0,0329$	$y = 1913437,702x + 14867263,64$
coeficiente de correlação linear (r^2)	0,9979	0,9992

8.1.2. Precisão

A partir da solução estoque de PZQ em etanol na concentração de 5,0 mg/mL foram preparadas soluções de PZQ em água nas concentrações de 10, 50 e 100 mg/mL, correspondentes às concentrações baixa, média e alta do intervalo linear da curva padrão. As soluções foram filtradas e analisadas por espectrometria UV em 263 nm.

Os ensaios de precisão permitem avaliar a proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Neste estudo avaliamos a precisão intracorridas (repetibilidade), e o valor máximo aceitável, estipulado para este estudo, foi de 5%. A repetibilidade do método foi verificada pela análise das concentrações de 10, 50 e 100 mg/mL de PZQ em etanol. Os resultados obtidos nos três níveis de concentração e o coeficiente de variação (CV) são apresentados na Tabela 6 e indicam que os resultados são repetíveis (CV < 5%), intracorridas.

Tabela 6: Resultados das medidas de absorvância por espectrometria UV e respectivos coeficientes de variação

Concentração de PZQ (mg/mL)	1	2	3	Média	CV (%)
10	8,5699	8,1235	8,78962	8,49434	1,04
50	46,5699	45,2455	48,6555	46,8236	2,56
100	96,4566	96,7883	98,4751	97,2400	2,45

8.1.3. Recuperação

O teste foi realizado adicionando quantidades conhecidas de fármaco em água destilada. A quantidade de fármaco adicionada à água corresponde às regiões inferior, mediana e superior da curva padrão, respectivamente, 0,05, 0,4 e 2,0 mg/mL.

A recuperação foi calculada como porcentagem de recuperação da quantidade conhecida de fármaco adicionada à amostra, acrescida dos intervalos de confiança, utilizando a seguinte fórmula:

$$R\% = \frac{CM}{CT} \times 100$$

onde: CM= concentração média experimental

CT= concentração teórica

O intervalo é a faixa entre os limites de quantificação inferior e superior de um método analítico. Neste estudo o intervalo foi avaliado através da determinação quantitativa do PZQ. Para esta avaliação foi utilizado concentrações de 0,05, 0,4 e 2,0 mg/mL. Os resultados são apresentados na Tabela 7 e estão em conformidade com a RE 899/2005 da ANVISA, uma vez que apresentam índices de recuperação no intervalo de 80 a 120% da concentração teórica do teste.

Tabela 7: Percentual de recuperação do praziquantel

PZQ (mg/mL)	PZQ (mg/mL) determinado	PZQ (%)
0,05	0,043	86
0,4	0,44	110
2,0	2,19	109,5