

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Desenvolvimento e controle de qualidade de micropartículas poliméricas  
contendo praziquantel para o tratamento pediátrico da esquistossomose**

**JAISON CARLOSSO MACHADO**

Porto Alegre, 2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Desenvolvimento e controle de qualidade de micropartículas poliméricas  
contendo praziquantel para o tratamento pediátrico da esquistossomose**

Tese apresentada por **Jaison Carlosso  
Machado** para obtenção do GRAU DE  
DOUTOR em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Nadia Maria Volpato  
Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Silvia Stanisçuaski Guterres

Porto Alegre, 2016

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 26.03.2018, pela Banca Examinadora constituída por:

Profa. Dra. Cristiane de Bona da Silva

Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Martin Steppe

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Valeria Pereira de Sousa

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Machado, Jaison

Desenvolvimento e controle de qualidade de micropartículas poliméricas contendo praziquantel para o tratamento pediátrico da esquistossomose / Jaison Machado. -- 2016.

171 f.

Orientador: Nadia Volpato.

Coorientador: Silvia Guterres.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2016.

1. Praziquantel. 2. Micropartículas. 3. Mascaramento de sabor. 4. Esquistossomose. 5. Língua eletrônica. I. Volpato, Nadia, orient. II. Guterres, Silvia, coorient. III. Título.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Controle de Qualidade de Medicamentos do Departamento de Produção e Controle de Qualidade de Medicamentos da Faculdade de Farmácia da UFRGS e no Instituto de Física da Universidade de São Paulo, na cidade de São Carlos, SP. O autor recebeu bolsa de estudos da Farmacopeia Brasileira.



## Agradecimentos

A profa. Dra. Nadia Maria Volpato pela orientação, incentivo, amizade e dedicação. Estando sempre disposta a ajudar e ensinar.

A profa. Dra. Silvia Guterres pela colaboração, orientação e incentivo no desenvolvimento deste projeto.

Aos professores Elfrides Shapoval, Martin Steppe e Cássia Virginia Garcia pelo carinho e amizade.

Aos meus colegas de por terem me recebido muito bem e pelos vários auxílios e discussões sobre diversos temas que vieram enriquecer este trabalho e a minha vida acadêmica.

Aos meus pais, pelo amor incondicional, pela confiança, dedicação, carinho e por sempre me apoiarem e acreditarem que educação é essencial para o crescimento e o desenvolvimento do ser humano.

Aos meus irmãos pela amizade, apoio, incentivo e paciência.

A minha esposa Viviane, pelo amor, compreensão, incentivo e companheirismo em todos os momentos.





## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS .....	13
LISTA DE FIGURAS.....	15
LISTA DE TABELAS .....	19
1 INTRODUÇÃO .....	27
2 OBJETIVOS .....	31
2.1 Objetivo Geral.....	31
2.2 Objetivos Específicos .....	31
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	33
3.1 Esquistossomose .....	33
3.2 Quimioterapia .....	41
3.3 Sistemas Microparticulados.....	45
3.3.1 Emulsificação/Evaporação do solvente .....	48
3.3.2 Coacervação.....	49
3.3.3 Secagem por aspersão (Spray-drying) .....	49
3.3.4 Polimerização interfacial .....	51
3.3.5 Precipitação por fluido supercrítico.....	52
3.3.6 Deposição interfacial e Deslocamento do solvente.....	53
3.4 Matrizes poliméricas.....	54
3.5 Técnicas de Mascaramento de sabor.....	58
3.6 Métodos de avaliação do mascaramento de sabor .....	62
3.6.1 Painéis humanos .....	62
3.6.2 Estímulo nervoso em rãs .....	62
3.6.3 Língua eletrônica .....	63

4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	67
4.1 Materiais.....	67
4.1.1 Matéria-Prima e Substância Química de Referência (SQR) .....	67
4.1.2 Matrizes poliméricas .....	67
4.1.3 Sistemas lipídicos e tensoativos .....	67
4.1.4 Aparelhos e equipamentos .....	67
4.2 Adequação e validação de metodologia analítica para determinação de praziquantel contido em sistemas microparticulados.....	68
4.3 Avaliação da solubilidade do PZQ na presença dos sistemas lipídicos e etanol.....	69
4.4 Teste de intumescimento dos polímeros Eudragit E100, RL 100 e L30D-55 .....	70
4.5 Desenvolvimento de micropartículas poliméricas contendo PZQ.....	71
4.5.1 Preparo das micropartículas poliméricas .....	71
4.5.1.1 Formulações contendo micropartículas formadas pelo polímero RL 100.....	73
4.5.1.2 Formulações contendo micropartículas formadas pelo polímero E 100.....	74
4.5.1.3 Formulações contendo micropartículas formadas pelo polímero L30D 55 .....	76
4.6 Caracterização das formulações desenvolvidas.....	77
4.6.1 Doseamento.....	77
4.6.2 Rendimento.....	78
4.6.3 Taxa de associação fármaco/polímero .....	78
4.6.4 Potencial Zeta .....	79
4.6.5 Diâmetro médio e índice de polidispersão .....	80

4.6.6	Avaliação da redispersibilidade dos pós .....	80
4.6.7	Avaliação morfológica das micropartículas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	80
4.6.8	Liberação <i>in vitro</i> .....	81
4.6.9	Análise térmica por calorimetria exploratória diferencial (DSC) .....	82
4.7	Desenvolvimento da forma farmacêutica pó para suspensão de uso oral contendo micropartículas de PZQ.....	82
4.7.1	Seleção dos componentes das formulações.....	84
4.7.2	Desenvolvimento de formulação contendo MC de PZQ e aspartame como edulcorante auxiliar.....	84
4.7.3	Desenvolvimento de formulação contendo MC de PZQ e sacarina como edulcorante .....	90
4.8	Armazenamento das formulações obtidas .....	95
4.9	Caracterização das formulações orais desenvolvidas .....	96
4.9.1	Determinação do Teor de PZQ .....	96
4.9.2	Determinação do tempo de sedimentação das suspensões.....	97
4.9.3	Avaliação do pH das suspensões .....	97
4.9.4	Avaliação efetividade do mascaramento do sabor.....	97
4.9.4.1	Funcionamento da Língua Eletrônica .....	98
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	101
5.1	Validação da metodologia analítica .....	101
5.1.1	Especificidade .....	101
5.1.2	Linearidade .....	102
5.1.3	Precisão .....	106
5.1.4	Exatidão .....	107

5.1.5 Robustez.....	108
5.1.5.1 Variações na vazão e composição da fase móvel.....	109
5.2 Avaliação da solubilidade do PZQ.....	110
5.3 Teste de intumescimento dos polímeros .....	111
5.4 Obtenção das micropartículas formadas pelos polímeros Eudragit RL 100, E 100 e L30D 55.....	113
5.5 Taxa de associação fármaco-polímero.....	115
5.6 Diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta.....	117
5.7 Doseamento e Rendimento .....	120
5.8 Análise de redispersão do pó .....	121
5.9 Avaliação morfológica das micropartículas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	124
5.10 Estudos de liberação <i>in vitro</i> .....	128
5.11 Análise térmica por calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	134
5.12 Determinação do teor de PZQ na forma farmacêutica pó para suspensão oral.....	136
5.13 Determinação do tempo de sedimentação das suspensões orais .....	137
5.14 Avaliação do pH das suspensões orais.....	138
5.15 Avaliação da efetividade do mascaramento do sabor das suspensões orais .....	141
6 CONCLUSÕES .....	147
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	151
ANEXOS.....	169

## LISTA DE ABREVIATURAS

ACN – Acetonitrila

AMS – Assembleia Mundial da Saúde

ANOVA – Análise de variância

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

A/O – Água em óleo

CLAE – Cromatógrafo líquido de alta eficiência

DSC – Calorimetria diferencial exploratória

DPR – Desvio padrão relativo

E100 – Eudragit E100

EHL – Equilíbrio hidrofílico lipofílico

EI - Eletrodos interdigitados

EMA – Agência Europeia de Medicamentos

FAS – Formulação contendo aspartame

FSS – Formulação contendo sacarina sódica

L30D-55 – Eudragit L30D-55

RL100 – Eudragit RL100

MAS – Mistura física contendo aspartame

MSS – Mistura física contendo sacarina sódica

MC – Microcápsula

ME – Microesfera

MET - Microscopia eletrônica de transmissão

MEV- Microscopia eletrônica de varredura

O/A – Óleo em água

OMS – Organização Mundial da Saúde

PA – Grau analítico

PAS – Placebo contendo aspartame

PSS – Placebo contendo sacarina sódica

PDA – Detector de fotodiodo

PNS – Plano Nacional de Saúde

PZQ - Praziquantel

SQR – Substância química de referência

TA – Taxa de associação

TCM – Triglicerídeo de cadeia Média

UV - Ultravioleta

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição mundial da esquistossome, OMS 2009.....	35
Figura 2. Áreas endêmicas e focais da esquistossomose mansoni no Brasil. Fonte: Secretaria de Vigilância em Saúde / MS, 2009. ....	37
Figura 3. Ciclo de vida dos esquistossomos.....	39
Figura 4. Estrutura química do praziquantel .....	43
Figura 5. Esquemática da adição da fase orgânica na fase aquosa. ....	72
Figura 6. Esquema do eletrodo interdigitado de ouro com 50 pares de dígito.....	98
Figura 7. Esquema do processo de fabricação de filme pela técnica de automontagem, LBL.....	99
Figura 8. Especificidade. Cromatograma validação de doseamento PZQ. (A) Substância química de referência PZQ; (B) Placebo micropartículas de PZQ em suspensão; (C) Placebo micropartículas de PZQ na forma de pó; (D) Placebo micropartículas PZQ pó para suspensão oral; (E) Placebo micropartículas PZQ após resuspensão em água. ....	102
Figura 9. Representação gráfica da curva padrão média do praziquantel SQR. ....	104
Figura 10. Representação gráfica da distribuição dos resíduos padronizados para curva padrão do praziquantel SQR. ....	105
Figura 11. Avaliação da solubilidade do PZQ em diferentes meios.....	110
Figura 12. Massa dos polímeros Eudragit L30D 55 e RL 100 após contato com TCM por um período de 28 dias.....	111
Figura 13. Massa do polímero Eudragit E 100 após contato com óleo de castanha, urucum e pequi, por um período de 28 dias.....	112
Figura 14. Índice de polidispersão das micropartículas poliméricas em suspensão, obtidas de acordo com as formulações MC E100 (1), MC E100 (3) e ME E100 (1)....	119

Figura 15. Índice de polidispersão das micropartículas poliméricas em suspensão, obtidas de acordo com as formulações MC L30D (3), MC L30D (4), ME L30D (2) e ME L30D (3).....	120
Figura 16. Distribuição do tamanho de partícula ( $\mu\text{m}$ ) por volume (%) das formulações contendo o polímero Eudragit E100. <b>(A)</b> MC E100 (1), <b>(B)</b> MC E100 (3), <b>(C)</b> ME E100 (3).....	123
Figura 17. Distribuição do tamanho de partícula ( $\mu\text{m}$ ) por volume (%) das formulações contendo o polímero L30D 55. <b>(A)</b> MC L30D (3), <b>(B)</b> MC L30D (4), <b>(C)</b> ME L30D (2), <b>(D)</b> ME L30D (3).....	124
Figura 18. Fotomicrografias obtidas a partir de MEV para o PZQ na sua forma livre. Aumento de 2500 x. ....	125
Figura 19. Fotomicrografias obtidas a partir de MEV para: <b>(A)</b> MC E100 (1), <b>(B)</b> MC E100 (3), <b>(C)</b> ME E100 (3). Aumento de 2500 x.....	126
Figura 20. Fotomicrografias obtidas a partir de MEV para: <b>(A)</b> MC L30D (3), <b>(B)</b> MC L30D (4), <b>(C)</b> ME L30D (2), <b>(D)</b> ME L30D (3). Aumento de 2500 x. ....	128
Figura 21. Perfis de liberação do PZQ a partir das micropartículas revestidas com polímero Eudragit E100 em tampão fosfato pH 6,8. Formulações MC E100 (1) e (3) e ME E100 (3).....	130
Figura 22. Perfis de liberação do PZQ a partir das micropartículas revestidas com polímero Eudragit L30D 55 em HCl 0,1M pH 1,2. Formulações MC L30D (3) e (4) e ME L30D (2) e (3). ....	131
Figura 23. Perfis de liberação do PZQ a partir das micropartículas revestidas com polímero Eudragit E100 em HCl 0,1M pH 1,2. Formulações MC E100 (1) e (3) e ME E100 (3).....	132
Figura 24. Perfis de liberação do PZQ a partir das micropartículas revestidas com polímero Eudragit L30D 55 em tampão pH 6,8. Formulações MC L30D (3) e (4) e ME L30D (2) e (3). ....	132



Figura 25. Curvas de DSC. PZQ na forma livre; mistura física dos constituintes da formulação; MC E100 (1) e placebo MC E100 (1).....	135
Figura 26. Curvas de DSC. PZQ na forma livre; mistura física dos constituintes da formulação; MC L30D (4) e placebo MC L30D (4). .....	136
Figura 27. Espectros de capacitância em função da frequência das cinco diferentes unidades sensoriais medidas em água deionizada. ....	140
Figura 28. Espectros de capacitância em função da frequência obtidos com o filme de Chit/PSS para as preparações com formulação, placebo e mistura física. ....	141
Figura 29. Gráfico IDMAP (frequência de 1 Hz a 1 MHz) dos espectros de capacitância utilizando as 5 unidades sensoriais medidos em água, no fármaco na sua forma livre e nas preparações de cada uma das formulações, seus respectivos placebos e misturas físicas, contendo diferentes quantidades dos flavorizantes sacarina e sacarose.....	142
Figura 30. Gráfico IDMAP dos espectros de capacitância utilizando as 5 unidades sensoriais medidos no fármaco na sua forma livre e nas soluções de cada uma das formulações, seus respectivos placebos e misturas físicas, contendo diferentes quantidades dos flavorizantes sacarina e sacarose. ....	143
Figura 31. Gráfico IDMAP dos espectros de capacitância utilizando as 5 unidades sensoriais medidos no fármaco na sua forma livre e nas soluções de cada uma das formulações, seus respectivos placebos e misturas físicas, contendo diferentes quantidades dos flavorizantes sacarina e sacarose. ....	144
Figura 32. Gráfico PCA dos espectros de capacitância utilizando as 5 unidades sensoriais medidos nas soluções de formulação, placebo e mistura física contendo diferentes quantidades dos flavorizantes sacarina, sacarose e aspartame.....	145
Figura 33. Gráfico de distribuição do tamanho de partícula ( $\mu\text{m}$ ) em relação ao volume (%) para dois lotes produzidos em maior escala, usados no preparo da forma farmacêutica pó para suspensão oral.....	169



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição das formulações contendo microcápsulas de PZQ formadas pelo polímero RL 100. ....	74
Tabela 2. Composição das formulações contendo microcápsulas de PZQ formadas pelo polímero E100. ....	75
Tabela 3. Composição das formulações contendo microesferas de PZQ, formadas pelo polímero E100. ....	75
Tabela 4. Composição das formulações contendo microcápsulas de PZQ formadas pelo polímero L30D 55. ....	76
Tabela 5. Composição das formulações contendo microesferas de PZQ formadas pelo polímero L30D 55. ....	77
Tabela 6. Formulação com uma quantidade de aspartame considerada ideal, FAS(0)..	86
Tabela 7. Formulação com uma quantidade de aspartame com 50% a menos da considerada ideal, FAS(-1)..	86
Tabela 8. Formulação com uma quantidade de aspartame com 50% a mais da considerada ideal, FAS(+1). ....	87
Tabela 9. Placebo da formulação com uma quantidade de aspartame considerada ideal, PAS(0).....	87
Tabela 10. Placebo da formulação com uma quantidade de aspartame com 50% a menos da considerada ideal, FAS(-1). ....	88
Tabela 11. Placebo da formulação com uma quantidade de aspartame com 50% a mais da considerada ideal, FAS(+1). ....	88
Tabela 12. Mistura física da formulação com uma quantidade de aspartame considerada ideal, FAS(0).....	89
Tabela 13. Mistura física da formulação com uma quantidade de aspartame com 50% a menos da considerada ideal, FAS(-1). ....	89

Tabela 14. Mistura física da formulação com uma quantidade de aspartame com 50% a mais da considerada ideal, FAS(+1).....	90
Tabela 15. Formulação com uma quantidade de sacarina considerada ideal, FSS(0)..	91
Tabela 16. Formulação com uma quantidade de sacarina com metade da considerada ideal, FSS(-1). .....	92
Tabela 17. Formulação com uma quantidade de sacarina com dobro da considerada ideal, FSS(+1). .....	92
Tabela 18. Placebo da formulação com uma quantidade de sacarina considerada ideal, PSS(0).....	93
Tabela 19. Placebo da formulação com uma quantidade de sacarina com metade da considerada ideal, PSS(-1).....	93
Tabela 20. Placebo da formulação com uma quantidade de sacarina com dobro da considerada ideal, PSS(+1).....	94
Tabela 21. Mistura física da formulação com uma quantidade de sacarina considerada ideal, MSS(0).....	94
Tabela 22. Mistura física da formulação com uma quantidade de sacarina com metade da considerada ideal, MSS(-1). .....	95
Tabela 23. Mistura física da formulação com uma quantidade de sacarina com dobro da considerada ideal, MSS(+1). .....	95
Tabela 24. Linearidade do PZQ SQR para os três diferentes dias e seus respectivos desvios padrões. ....	103
Tabela 25. Estatística de Regressão linear para o praziquantel. ....	105
Tabela 26. Análise de variância (ANOVA) da curva padrão do PZQ SQR. ....	105
Tabela 27. Resultados obtidos para a precisão do método de doseamento por CLAE.....	107
Tabela 28. Valores experimentais obtidos na determinação da exatidão do método por CLAE.....	108

Tabela 29. Variação na vazão da fase móvel. Parâmetros cromatográficos referentes ao pico do PZQ obtidos na robustez do método.....	109
Tabela 30. Taxa de associação (TA) do PZQ nas formulações de microcápsulas contendo o polímero RL 100. ....	115
Tabela 31. Taxa de associação do PZQ nas formulações de microcápsulas e microesferas contendo o polímero E 100. ....	115
Tabela 32. Taxa de associação do PZQ nas formulações das microcápsulas e microesferas contendo o polímero L30D 55.....	116
Tabela 33. Diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta das formulações selecionadas no item 5.4.....	117
Tabela 34. Valores de doseamento dos sistemas microparticulados formados pelos polímeros Eudragit E100 e L30D55, obtidos por CLAE.....	121
Tabela 35. Resultado do doseamento das microcápsulas contendo PZQ inseridas em um pó para suspensão oral. ....	137
Tabela 36. Resultado do doseamento das microcápsulas contendo PZQ inseridas em um pó para suspensão oral. ....	138
Tabela 37. Avaliação do pH em relação ao tempo das formulações contendo microcápsulas de PZQ. ....	139
Tabela 38. Avaliação do teor e da taxa de associação do pó obtido após secagem....	169



## RESUMO

### **Desenvolvimento e controle de qualidade de micropartículas poliméricas contendo praziquantel para o tratamento pediátrico da esquistossomose**

A esquistossomose é uma doença parasitária aguda e crônica causada por vermes sanguíneos (vermes nematoides) do gênero *Schistosoma*. O homem contrai a esquistossomose através da penetração ativa da cercaria na pele. A importância do tratamento desta enfermidade consiste não só no fato de curar a doença ou diminuir a carga parasitária dos pacientes, bem como impedir sua evolução para formas mais graves. Para o tratamento da esquistossomose o fármaco de escolha é o praziquantel; isso se deve ao seu amplo espectro, sua eficácia, segurança e a relação custo/tratamento. A única forma farmacêutica disponível no Brasil é o comprimido, na dose de 600 mg, a qual pode ser subdividida em quatro partes de 150 mg, a fim de facilitar o ajuste de dose. No entanto, no momento da subdivisão dos comprimidos ocorre o rompimento do revestimento. Este fato acaba levando a uma exposição do fármaco e, conseqüentemente, de seu sabor amargo. Esta característica dificulta a administração do medicamento, principalmente na população infantil, prejudicando o tratamento e o controle da doença. Uma alternativa para este problema é o desenvolvimento de sistemas poliméricos microparticulados que associados ao fármaco impediriam o contato direto com as papilas gustativas e assim promoveriam uma melhoria na palatabilidade. Para isso utilizou-se a técnica modificada de deposição interfacial do polímero pré-formado seguido de secagem por aspersão. Três matrizes poliméricas, com diferentes características de liberação foram utilizadas, Eudragit RL 100 – liberação tempo dependente e Eudragit E100 e L30D-55 – liberação pH dependente. Além disso, dois tipos de sistemas carreadores do fármaco foram preparados, microcápsulas e microesferas poliméricas. Estes sistemas obtidos foram avaliados e caracterizados a fim de eleger a melhor proposta de formulação visando o mascaramento do sabor do fármaco. De acordo com os resultados obtidos selecionou-se um sistema composto por microcápsulas formadas a partir do polímero L30D-55. A partir de então inseriu-se este sistema na forma farmacêutica pó para suspensão oral, onde diferentes propostas de formulações, contendo dois edulcorantes auxiliares, aspartame e sacarina, separadamente, e seus respectivos placebos foram avaliadas

através de um método *in vitro* para a determinação do sabor, a língua eletrônica ou sensor gustativo. As diferentes formulações avaliadas apresentaram capacidade em mascarar o sabor desagradável do fármaco e, assim resultam em uma promissora alternativa para o aumento da adesão por parte dos pacientes à terapêutica, principalmente para crianças, em virtude da facilidade de administração, do ajuste da dose em função da massa corpórea e ao sabor muito mais agradável ao paladar infantil.

Palavras-chave: Praziquantel, microcápsulas, microesferas, sistemas poliméricos, mascaramento de sabor, pó para suspensão oral, língua eletrônica.



## ABSTRACT

### ***Development and quality control of polymer microparticles containing praziquantel for the pediatric treatment of schistosomiasis***

Schistosomiasis is a parasitic disease acute and chronic caused by blood worms (nematodes worms) of the genus *Schistosoma*. Man acquires schistosomiasis through the active penetration of the worms in skin. The importance of treatment of this disease is not only the fact of curing the disease or decreases the parasite load of patients, well as prevent progression to more severe forms. For the treatment of schistosomiasis praziquantel is the drug of choice, this is due to its wide spectrum, its efficacy, safety and the relation cost / treatment. The single dosage form available in Brazil is tablet at a dose of 600 mg, which can be subdivided into four parts of 150 mg to facilitate dose adjustment. However when the subdivision of the tablets occurs the disruption of the coating. This fact provides a drug exposure and consequently of its bitter taste. This characteristic complicates the administration of the drug mainly in children, affecting the treatment and control of disease. An alternative for this problem is the development of microparticulate polymeric systems which associated with the drug would prevent direct contact with the taste buds and thus promote an improvement in palatability. For this was used a modified technique interfacial deposition of preformed polymer followed by spray drying. Three polymer matrices with different release characteristics have been used, Eudragit RL 100 – time dependent release, and Eudragit E100 and L30D-55 – pH dependent release. Furthermore, two types of drug carrier systems have been prepared, polymeric microspheres and microcapsules. These systems obtained were evaluated and characterized in order to select the best proposal formulation aimed at masking the taste of the drug. According to the results we selected a system comprising microcapsules formed from L30D-55 polymer. From then was inserted into this system in the pharmaceutical form, powder for oral suspension, where different proposals formulations containing two auxiliary sweeteners, aspartame and saccharin, separately, and their respective placebos were evaluated in an *in vitro* method for determining the taste, the electronic tongue. The different formulations tested presented excellent ability to mask the unpleasant taste of the drug and thus present an excellent alternative for increasing adherence to therapy, especially for children, because of the ease of

administration, according on dose adjustment of body mass and the much more palatable to children's taste.

Key Words: Praziquantel, microcapsules, microspheres, polymer systems, masking flavor, powder for oral suspension, electronic tongue.

---

## 1 INTRODUÇÃO

---

A esquistossomose mansônica é uma doença parasitária, causada pelo trematódeo *Schistosoma mansoni*, cujas formas adultas habitam os vasos mesentéricos do hospedeiro definitivo e as formas intermediárias se desenvolvem em caramujos gastrópodes aquáticos do gênero *Biomphalaria*. A fase inicial das esquistossomoses é, em geral, assintomática. Entretanto, se não tratada a infecção inicial, os portadores da infecção pelo *Schistosoma* podem evoluir para formas clínicas extremamente graves, podendo chegar ao óbito. A magnitude de sua prevalência, associada à severidade das formas clínicas e a sua evolução, conferem a esquistossomose uma grande relevância como problema de saúde pública (DA SILVA *et al.*, 2005; BRASIL, 2009).

O grupo das esquistossomoses representa a segunda doença tropical mais prevalente no mundo depois da malária e é um dos principais problemas de saúde em muitos países em desenvolvimento. Seis espécies parasitam o homem: *Schistosoma mansoni*, *S. japonicum*, *S. haematobium*, *S. intercalatum*, *S. malayensis* e *S. mekongi*. *S. mansoni* é a única de transmissão autóctone no Brasil (HOTEZ & BOTTAZZI, 2008).

O tratamento da esquistossomose consiste na utilização de medicamentos específicos, para a cura da infecção. Existem dois medicamentos disponíveis para tratamento de crianças e adultos portadores de *S. mansoni*: o praziquantel (PZQ) e a oxaminiquina (BRASIL, 2009). O PZQ é um fármaco mundialmente reconhecido como primeira escolha para o tratamento das esquistossomoses mais comuns, além de ser classificado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como fármaco essencial, tendo como destaque o fato de ser administrado em dose única (BECKETT *et al.*, 1999; ALLEN *et al.*, 2002; DE CLERCQ *et al.*, 2002; MATSUMOTO, 2002; GONZÁLEZ-ESQUIVEL *et al.*, 2005).

PZQ é indicado para o tratamento de infecções decorrentes das seguintes espécies de *Schistosoma*: *S. haematobium*, *S. japonicum*, *S. mansoni*, and *S. mekongi*. Sua absorção é considerada boa, de 75 a 100% é absorvido a partir de uma dose oral e seu pico plasmático é alcançado cerca de 1 a 3 horas após a sua

---

administração. Existe uma considerável variação inter-individual, por razões desconhecidas, na taxa de absorção e no *clearance*, sendo assim os valores de  $C_{m\acute{a}x}$ ,  $T_{m\acute{a}x}$  e ASC demonstram uma grande amplitude (DOLLERY, 1999; CASTRO *et al.*, 2000).

Por apresentar baixos efeitos toxicológicos, ao contrário da oxaminiquina, o PZQ tornou-se o fármaco de escolha para o tratamento da esquistossomose. É altamente efetivo contra as cinco espécies de *Schistosoma*, sendo indicado também para o tratamento de teníase, cisticercose e infecções por *Diphyllobothrium spp* e *Hymenolepis nana*. Tem pouco ou nenhum efeito adverso e ao longo dos anos, seu preço tem sido reduzido substancialmente (CIOLI *et al.*, 1995; REICH *et al.*, 1995; NOVAES *et al.*, 1999; UTZINGER *et al.*, 2001; SHUHUA, 2005; JEZIORSKI *et al.*, 2006; SHAOHONG *et al.*, 2006; TAYLOR, 2006).

Os dados até o momento demonstram que a administração pediátrica do PZQ é adaptada a partir da formulação para adultos, através da divisão dos comprimidos. Estes são atualmente a única forma farmacêutica existente no mercado, nas dosagens de 150, 500 e 600 mg, o que dificulta a administração em crianças, pois a divisão ou esmagamento do comprimido acentua o sabor amargo, dificultando a aceitação por elas (WOELFLE *et al.*, 2011). Além disso, este procedimento pode ocasionar variações de dosagem durante o processo de ruptura e prejudicar a terapêutica, conforme já descrito na literatura (VAN SANTEN *et al.*, 2002; FERREIRA *et al.*, 2011; VERRUE *et al.*, 2011).

A palatabilidade de formulações orais pediátricas é fundamental para adesão a regimes terapêuticos (MATSUI, 2007). De acordo com esta necessidade vem crescendo o interesse no desenvolvimento de formulações pediátricas nos últimos anos, através de diferentes técnicas usadas para mascarar o sabor desagradável de fármacos. Estas técnicas de mascaramento de sabor podem ser divididas em técnicas mais simplificadas como: a adição de flavorizantes e edulcorantes; adição de veículos lipofílicos (lipídeos e lecitina) e veículos hidrofílicos (celulose, proteínas, gelatina e prolaminas), mascaramento de sabor por reações de complexação, e através de resinas de troca iônica. Além destas técnicas existem outras abordagens diversas como: adição de agentes efervescentes, modificações reológicas, formação de dispersões sólidas e processos de liofilização, que podem colaborar com o mascaramento de sabor desagradável de alguns fármacos (SOHI, 2004).

Mais recentemente alguns autores propuseram novos métodos de disfarçar o sabor como descrito por SOLLOHUB e colaboradores em 2011, onde propuseram o desenvolvimento de microcápsulas contendo roxitromicina, através da técnica de secagem por spray drying, usando como revestimento para as microcápsulas o polímero Eudragit L30D-55. JAŃCZYK *et al.*, 2010, também desenvolveram sistemas microparticulados para mascarar o sabor dos fármacos roxitromicina e ibuprofeno pela técnica de spray drying, usando o mesmo polímero.

Micropartículas poliméricas vêm sendo estudadas como formas farmacêuticas de liberação prolongada, como estratégia para a estabilização de fármacos, proteínas e DNA recombinante, frente a agentes como luz ou pH e para mascarar características organolépticas de diversas substâncias (O'DONNEL *et al.*, 1997; YAMAGATA *et al.*, 2003).

A técnica proposta utilizada neste estudo para obtenção dos sistemas microparticulados foi realizada através de uma modificação do método desenvolvido por FESSI e colaboradores em 1989. Os autores criaram um método para obter sistemas nanoparticulados através da deposição interfacial do polímero pré-formado. Este processo consiste no emprego de um solvente miscível com água, onde o polímero, a substância ativa e um agente estabilizante (tensoativo de baixo equilíbrio hidrófilo-lipófilo – EHL) compõe a fase orgânica, são dissolvidos e posteriormente adicionados em uma fase aquosa contendo um estabilizador hidrofílico (tensoativo de alto EHL) (FESSI *et al.*, 1989; JAGER *et al.*, 2009).

Segundo Vila Jato (1999), é importante destacar que as micropartículas podem constituir por si próprias uma forma farmacêutica ou então ser acondicionadas em uma forma farmacêutica secundária. É possível, portanto, administrá-las como suspensão ou incluí-las em uma cápsula ou comprimido.

Em virtude da ausência de formulações terapêuticas para o tratamento da esquistossomose de uso pediátrico e a ausência de relatos na literatura de formulações com estas características, propõe-se o desenvolvimento de uma formulação composta por micropartículas de PZQ na forma de pó para suspensão oral, que simultaneamente mantenha a integridade do fármaco e promova o mascaramento do sabor amargo em um veículo aquoso em que o fármaco se mantenha estável.



---

## 2 OBJETIVOS

---

### 2.1 Objetivo Geral

Desenvolver sistemas microparticulados contendo praziquantel através da técnica modificada de deposição interfacial do polímero pré-formado seguido de secagem por aspersão, os quais possam ser inseridos na forma farmacêutica pó para suspensão oral, a fim de mascarar o sabor desagradável do fármaco e, assim, aumentar a adesão à terapêutica, principalmente para crianças, em virtude da facilidade de administração e do ajuste da dose em função da massa corpórea.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver e validar metodologia analítica para quantificação do praziquantel por HPLC com detecção UV-Vis, na formulação proposta;
  - Avaliar o desempenho de diferentes polímeros no preparo de micropartículas de praziquantel;
  - Preparar micropartículas através da técnica modificada de deposição interfacial do polímero pré-formado seguido de secagem por aspersão;
  - Realizar a caracterização físico-química das micropartículas contendo PZQ e perfis de dissolução *in vitro* para escolha dos melhores parâmetros de formulação e de processo;
  - Desenvolver formulações para incorporar as micropartículas obtidas na forma farmacêutica pó para suspensão oral, que apresentem características de fácil administração e ajuste de dose, principalmente voltada ao público pediátrico;
  - Caracterizar essas formulações e seus respectivos placebo e misturas físicas quanto a teor, pH e tempo de sedimentação;
  - Avaliar as formulações selecionadas quanto à capacidade de mascaramento do sabor utilizando um método *in vitro*, a língua eletrônica.
-





---

## 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

---

### 3.1 Esquistossomose

A esquistossomose é uma doença parasitária aguda e crônica causada por vermes sanguíneos (vermes nematoides) do gênero *Schistosoma*, sendo as espécies que mais afetam os humanos são: *S. mansoni*, *S. japonicum* e *S. haematobium*. São vermes digenéticos, delgados, de coloração branca e sexos separados (característica desta família), onde a fêmea adulta, mais alongada, encontra-se alojada em uma fenda do corpo do macho, denominada de canal ginecóforo (OMS, 2000; OMS, 2014).

Possui distribuição endêmica em áreas tropicais, além de ser encontrada em 76 países em territórios situados na África, América Latina, Oriente Médio e no continente Asiático (OLIVEIRA *et al.*, 2008). Estima-se que 779 milhões de pessoas estão sob-risco de infecção e 207 milhões estão infectadas em todo o mundo (IBIKOUNLÉ *et al.*, 2009). A transmissão da doença no Brasil é ativa em 16 estados, e está distribuída mais intensamente no País numa faixa de terras contínuas, ao longo de quase toda a costa litorânea da região Nordeste, a partir do Rio Grande do Norte, incluído os estados da Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia, onde se interioriza alcançando Minas Gerais, além do Espírito Santo, na região Sudeste, seguindo o trajeto de importantes bacias hidrográficas (BRASIL, 2011).

As estimativas mostram que pelo menos 258 milhões de pessoas necessitaram de tratamento preventivo em 2014. O tratamento preventivo, que deve ser repetido ao longo de anos, irá reduzir e prevenir a morbidade. A transmissão da doença tem sido relatada em 78 países. No entanto, a quimioterapia preventiva para esquistossomose, onde as pessoas e as comunidades são direcionadas para o tratamento de grande escala, só é necessária em 52 países endêmicos com moderada a alta transmissão (OMS, 2014).

Trata-se de uma doença de veiculação hídrica, cuja transmissão ocorre quando o indivíduo suscetível entra em contato com águas superficiais contaminadas onde existam caramujos, *hospedeiros intermediários*, liberando

---

cercarias, larvas do *Schistosoma* em seu estado maduro, que penetram na pele e mucosas dos seres humanos (CAFFREY, 2007). A incubação dura em torno de um mês e é caracterizada por febre, mal estar, anorexia, tosse e fadiga, correspondendo esse período à migração pela corrente sanguínea. Na fase invasiva, as larvas atingem a fase adulta e fixam-se nos sistemas porta e mesentérico (LAMBERTUCCI *et al.*, 2000; VENNERVALD *et al.*, 2005). A suscetibilidade ao verme é geral, qualquer pessoa independente de sexo, raça, idade, uma vez entrando em contato com as cercarias, pode vir a contrair a doença (BRASIL, 2008).

A distribuição geográfica das várias espécies de esquistossomas é dependente da distribuição da espécie do seu hospedeiro intermediário. Esta doença é um dos principais problemas de saúde pública que acomete a África, Ásia e América do Sul, em um total de 74 países. Na Ásia, estimam-se 900 mil casos de esquistossomose, sendo a China o país que mais apresenta pessoas infectadas nesse continente. O país com mais casos de esquistossomose no Oriente Médio é o Iêmen. Mundialmente, mais de 700 milhões de pessoas estão em risco de infecção e mais de 207 milhões de pessoas estão infectadas (OMS, 2009). A taxa de mortalidade é de 280.000 pessoas por ano, sendo o maior percentual de mortes no continente africano (JEZIORSKI & GREENBERG, 2006). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), nas áreas tropicais e subtropicais, a esquistossomose é a segunda doença mais importante em termos socioeconômicos e de saúde pública, superada apenas pela malária (OMS, 2009). A Figura 1 retrata a distribuição mundial da doença no ano de 2009.

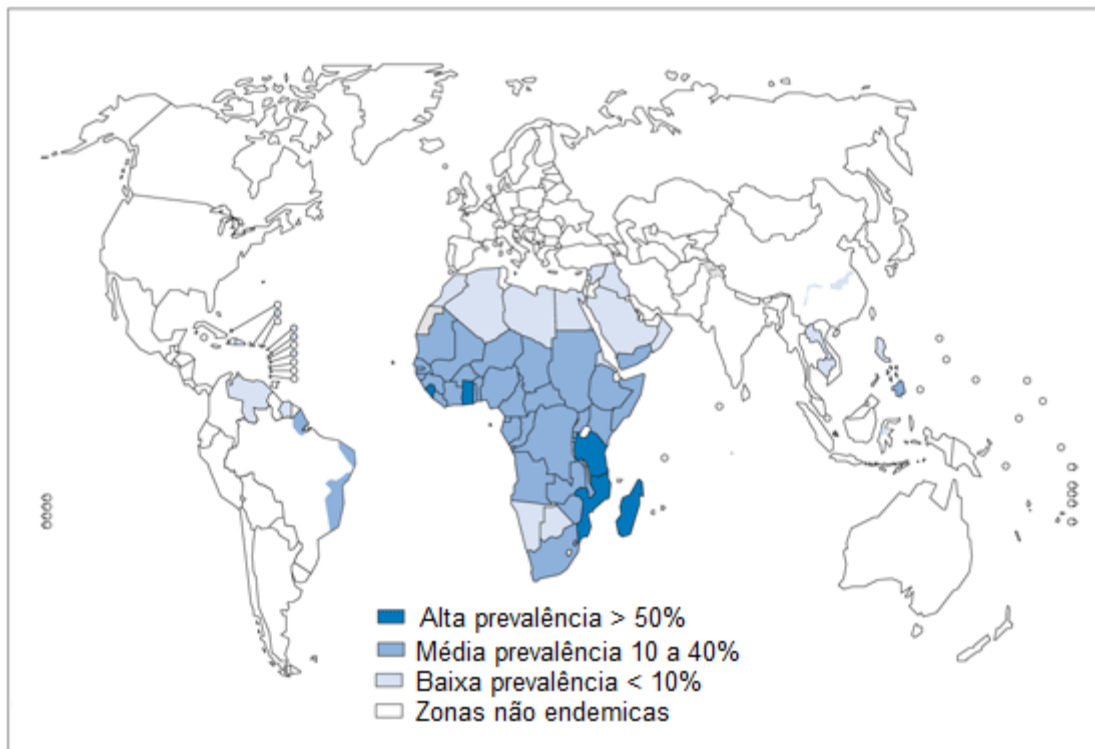


Figura 1. Distribuição mundial da esquistossomose, OMS 2009.

Conforme alguns estudos esta parasitose teve origem nas bacias de dois importantes rios africanos: o Nilo e o Yangtse. Os ovos do gênero *Shistosoma*, agente etiológico da esquistossomose, foram encontrados nas vísceras de múmias egípcias (COUTINHO, 1977; NEVES, 2016). Esta helmintose espalhou-se por todo o continente africano e, através do tráfico de escravos, foi trazida para as Américas. Entretanto, apenas o *S. mansoni* aqui se fixou, seguramente pelo encontro de bons hospedeiros intermediários e de condições ambientais semelhantes às da região de origem (ANDREWS *et al.*, 1983; SHEKHAR, 1991).

A esquistossomose penetrou no Brasil em meados do século XVI, disseminando-se a partir de 1920, com o início das migrações internas. Atualmente, o Brasil é considerado uma das principais áreas de distribuição da doença no mundo, não somente devido à vastidão de sua zona endêmica e à existência de grande número de pacientes portadores de formas graves da doença, mas também pela expansão desta endemia para outras áreas do país, que até então não haviam entrado em contato com a doença (SEUBERT *et al.*, 1977; COURA-FILHO, 1994).

No Brasil, a doença foi descrita em 18 estados e no Distrito Federal, sendo que sua ocorrência está diretamente ligada à presença dos moluscos transmissores. Os estados das regiões Nordeste, Sudeste e Centro-oeste são os mais afetados. Estima-se que cerca de 25 milhões de pessoas vivem em áreas sob o risco de contrair a doença (BRASIL, 2009). O aumento da população em áreas de risco, aliado a falta de saneamento, eleva a proliferação da esquistossomose (CHITSULO *et al.*, 2000). A região Nordeste é a mais afetada por esta doença devido ao clima tropical dessa região favorecer o desenvolvimento da esquistossomose, propiciando também, o criadouro dos moluscos, cujo desenvolvimento se dá em ambientes aquáticos (NEVES, 2016; SILVA, 2006).

Atualmente, a doença é detectada em todas as regiões do país. As áreas endêmicas e focais abrangem 19 estados (Figura 3): Alagoas, Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte (faixa litorânea), Paraíba, Sergipe, Espírito Santo e Minas Gerais (com predominância no norte e nordeste do estado). No Pará, Maranhão, Piauí, Ceará, Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina, Paraná, Rio Grande do Sul, Goiás e no Distrito Federal, a transmissão é focal, não atingindo grandes áreas (BRASIL, 2009).

De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e do Departamento de Recursos Hídricos (SRH) e segundo estudo de ROLLEMBERG e colaboradores 2011, existe uma relação direta entre a frequência de doenças parasitárias e indicadores sociais e de desenvolvimento. O estudo ainda revelou que os municípios com prevalência da esquistossomose maior do que 15% tinham baixa cobertura dos sistemas de esgoto, ressaltando a importância de um maior controle sobre os fatores de risco ambiental e educacional na tentativa de reduzir a prevalência das doenças parasitárias. A Figura 2 ilustra a distribuição da doença, áreas endêmicas e focais, espalhadas pelo Brasil no ano de 2009.

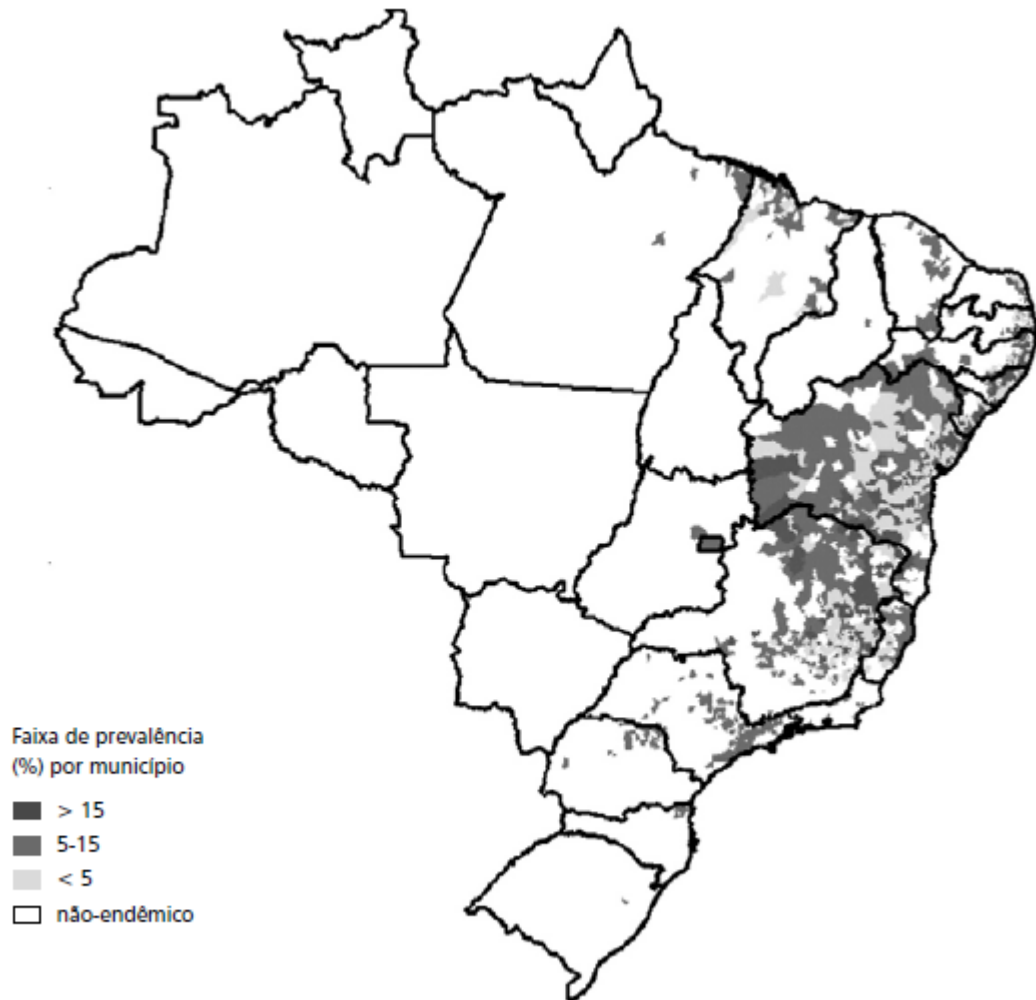


Figura 2. Áreas endêmicas e focais da esquistossomose mansoni no Brasil.  
 Fonte: Secretaria de Vigilância em Saúde / MS, 2009.

Em maio de 2001, a Assembleia Mundial da Saúde (AMS) aprovou uma resolução que estimula os países membros a atingir, até 2010, uma meta mínima para regular a administração de medicamentos anti-helmínticos em, no mínimo, 75% da população, e 100% das crianças em idade escolar. Essas crianças são particularmente vulneráveis à infecção e desempenham um papel importante na transmissão do parasita e, por estarem em idade escolar, são alvos da Organização Mundial da Saúde em termos de controle de helmintos (UTZINGER *et al.*, 2001).

Ainda que inicialmente assintomática, a infecção pelo *S.mansoni* contribui para condições como desnutrição calórica, implicações no crescimento e desenvolvimento da criança, anemia e baixo desempenho escolar (WRIGHT, 1972). Uma vez estabelecida a infecção por *S.mansoni*, a doença esquistossomose pode durar anos. A produção de formas graves está associada à resposta imunológica do

hospedeiro à invasão, ao amadurecimento e à deposição de ovos do verme (DA SILVA, *et al.* 2005). Na fase tardia as formas crônicas são classificadas de acordo com o órgão mais acometido: formas hepatointestinal, hepática, hepatoesplênica, formas complicadas - vasculopulmonar, glomerulopatia, neurológica, pseudoneoplásica ou doença linfoproliferativa (BRASIL, 2010).

A esquistossomose, também conhecida popularmente por barriga d'água, é causada muito frequentemente pelos *Schistosoma mansoni* e *S. haematobium*. Os vermes adultos apresentam de 12 a 28 mm de comprimento e 0,3 a 0,6 mm de largura, de acordo com a espécie. A fêmea é mais comprida e delgada em relação ao macho. Os ovos medem em torno de 150 µm de comprimento por 60 µm de largura, apresentam espículos voltados para trás. A presença do miracídio no ovo caracteriza a maturidade deste, que é a forma geralmente encontrada nas fezes (NEVES, 2016). Cada ser humano infectado pode apresentar milhares de vermes e a vida dos vermes pode ser superior a vinte anos. As fêmeas depositam nas paredes do intestino cerca de 1000 ovos por dia, onde podem amadurecer, serem destruídos, levados para o fígado ou atingirem a luz intestinal e serem eliminados nas fezes, onde permanecem viáveis por 7 dias (LIMA, 2002).

Os principais causadores desta doença são três espécies de trematódeo: *Schistosoma mansoni*, *S. japonicum* e *S. haematobium* (CAFREY, 2007). Embora estes helmintos possam infectar todos os membros de uma população, os grupos mais vulneráveis, aqueles que estão em maior risco, são crianças em idade pré-escolar (faixa de 2 – 5 anos) (OMS, 2006). Um agravante para os infectados nesta faixa etária é a administração de doses adequadas dos medicamentos, uma vez que a variedade corpórea entre as crianças é muito elevada.

O homem é o principal hospedeiro definitivo e nele o parasita apresenta a forma adulta, reproduz-se sexuadamente e por meio da eliminação dos ovos do *S. mansoni*, no ambiente, pelas fezes, ocasionando a contaminação das coleções hídricas. O ciclo biológico do *S. mansoni* depende da presença do hospedeiro intermediário no ambiente. Os caramujos gastrópodes aquáticos, pertencentes à família Planorbidae e gênero *Biomphalaria*, são os organismos que possibilitam a reprodução assexuada do helminto (BRASIL, 2009).

O homem adquire a esquistossomose através da penetração ativa da cercaria na pele. Após a infecção, as cercarias desenvolvem-se para uma forma parasitária

primária denominada esquistossômulo, que inicia o processo de migração, via circulação sanguínea e linfática, até atingir o coração e em seguida os pulmões. Os esquistossômulos chegam aos vasos sanguíneos e alcançam o fígado, onde evoluem para as formas adultas. Nos vasos portais mesentéricos, ocorre a sobreposição da fêmea no canal ginecóforo do macho e, conseqüentemente, a cópula, seguida de oviposição (BRASIL, 2009).

O ciclo de vida dos esquistossomos está representado na Figura 3. Os ovos são eliminados com as fezes (*S. mansoni* e *S. japonicum*) ou urina (*S. haematobium*) (1). Sob condições apropriadas, os ovos eclodem e liberam miracídios (2) que nadam e penetram no caramujo, hospedeiro intermediário específico (3). Os estágios no caramujo incluem duas gerações de esporocistos (4) e a produção de cercarias (5). Abandonando o caramujo, as cercarias infectantes nadam, penetram na pele do hospedeiro humano (6) e perdem sua cauda bifurcada, tornando-se esquistossômulos (7). O esquistossômulo migra através de diversos tecidos e estágios para sua residência nas veias (8,9). Vermes adultos, nos humanos, residem em várias localidades das vênulas mesentéricas, dependendo das espécies (10).

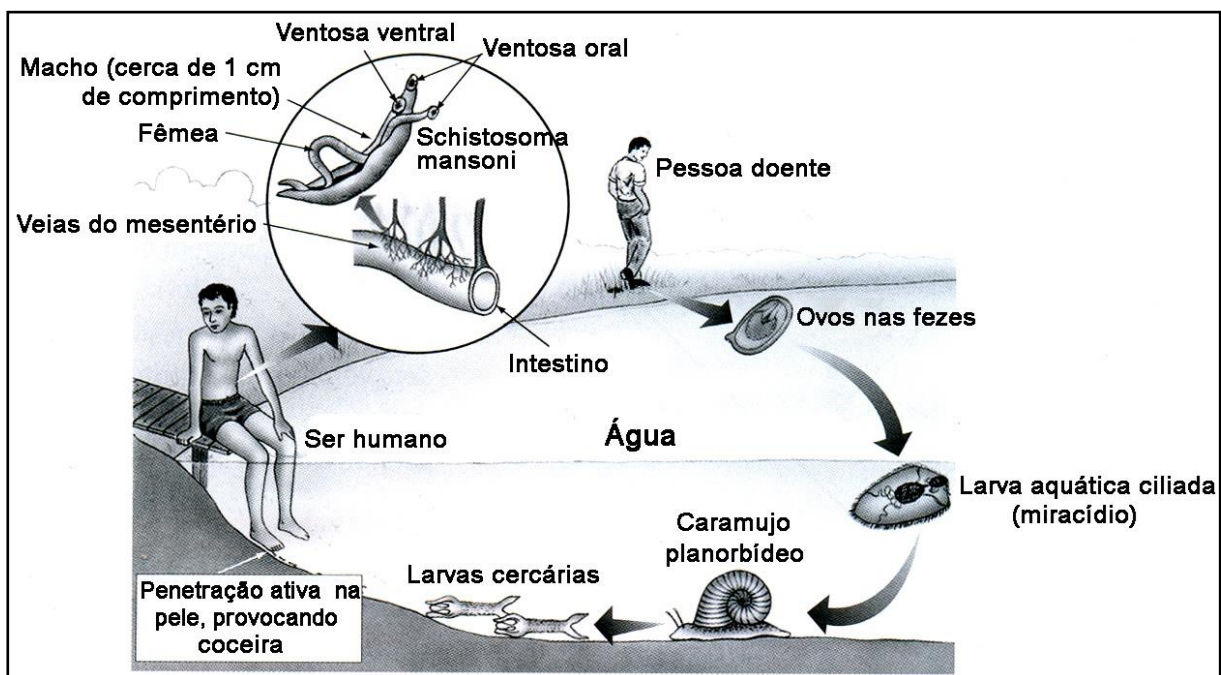


Figura 3. Ciclo de vida dos esquistossomos.

O período de incubação ocorre em média, de 1 a 2 meses após a infecção, que corresponde à fase de penetração das cercarias, seu desenvolvimento, até a instalação dos vermes adultos no interior do hospedeiro definitivo. Nesse período,

em raras ocasiões, há o relato de sintomas como: astenia, cefaleia, anorexia, mal-estar e náusea (BRASIL, 2009).

Cada espécie de esquistossomo tem uma predileção distinta tanto por locais de deposição de ovos como na manifestação da sintomatologia. 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 (MAINARDES, 2004).

Nas veias mesentéricas superiores que drenam o intestino delgado, encontra-se com maior facilidade o *S. japonicum*; já o *S. mansoni* é geralmente encontrado nas veias mesentéricas superiores que drenam o intestino grosso. Contudo, não é possível afirmar que estas espécies parasitam exclusivamente uma região específica, pois são capazes de mover-se de uma região para outra. O *S. haematobium* é mais frequentemente encontrado no plexo venal da bexiga, podendo também ser encontrado em vênulas retais. As fêmeas depositam ovos nas pequenas vênulas dos sistemas porta e perivesical. Os ovos são movidos progressivamente para o lúmen do intestino (*S. mansoni* e *S. japonicum*) e da bexiga e ureteres (*S. haematobium*), e são eliminados com as fezes ou urina, respectivamente (DE LIMA, 2006).

A esquistossomose urinária é principalmente causada por *S. haematobium*, enquanto as outras espécies de esquistossoma causam a esquistossomose intestinal. A esquistossomose mansônica causa geralmente dores abdominais, diarreia, melena, cólicas e tenesmo (contração de músculos lisos, de esfíncteres, ou esforço doloroso para urinar ou defecar) (LOUKAS & HOTEZ, 2011).

Nos casos graves da fase crônica desta doença, ocorre constipação constante, podendo causar até obstrução dos ramos intra-hepáticos da veia porta, gerando hipertensão portal. O fígado e o baço aumentam devido a inflamações causadas pela presença do verme e de seus ovos, podendo evoluir para a fase crônica desta doença, se a mesma não for tratada. Uma vez a fase crônica instaurada, a diarreia fica mais constante e surge também prisão de ventre. Nesta fase, tonturas, palpitações, impotência, emagrecimento e enrijecimento do fígado aparecem com frequência (NEVES, 2016). Em pacientes com esquistossomose,



deve-se estar atento ao aparecimento de hipertensão pulmonar, pois uma alta prevalência (30%) desta condição foi observada por LAPA *et al.*, 2006.

Segundo o Plano Nacional de Saúde (PNS) o Brasil vem apresentando avanços importantes no seu controle e na capacidade de resposta, principalmente quanto às doenças relacionadas à transmissão hídrica e às imunizáveis. Contudo, ainda persistem aglomerados de doenças relacionadas à pobreza – como a esquistossomose – que apresentam tecnologias disponíveis de controle e que se concentram em bolsões de populações pobres (BRASIL, 2011).

O diagnóstico de certeza é feito por meio de exames laboratoriais associados aos achados epidemiológicos. Os métodos diretos são realizados a partir da demonstração da presença de ovos de *S. mansoni* nas fezes ou tecidos ou de antígenos do parasita. Os métodos indiretos envolvem mecanismos imunológicos e reação do tipo antígeno-anticorpo. Tais métodos, quando positivos, não indicam obrigatoriamente a infecção ativa já que a presença de anticorpos pode durar por anos após a cura da infecção.

### **3.2 Quimioterapia**

A importância do tratamento reside não só no fato de curar a doença ou diminuir a carga parasitária dos pacientes, bem como impedir sua evolução para formas mais graves. Existem dois fármacos disponíveis para o tratamento da esquistossomose: a oxamniquina e o praziquantel. O primeiro só atua para o tratamento de infecções causadas por *Schistosoma mansoni*, não possui atividade contra os outros esquistossomos humanos e apresenta efeitos colaterais no sistema nervoso central e efeitos carcinogênicos, além de possuir um custo bem elevado. Atualmente, o praziquantel é o fármaco de escolha, em função do menor custo/tratamento (BRASIL, 2010; ARAÚJO *et al.*, 2008).

O praziquantel (PZQ) é seguro e eficaz, e até o momento há pouca evidência de desenvolvimento de resistência significativa, apesar dos relatos das baixas taxas de cura no Senegal, e preocupações com tratamentos regulares e repetidos administrados no Brasil, China, e particularmente no Egito, onde mais de 53 milhões de doses de PZQ foram administradas em 15 anos (FENWICK *et al.*, 2003).

O PZQ na apresentação de comprimidos de 600 mg é administrado por via oral, em dose única de 50mg/kg de peso para adultos e 60mg/kg de peso para crianças. Os efeitos colaterais são leves, não existindo evidências de que provoque lesões tóxicas graves no fígado ou em outros órgãos. Dentre as reações adversas observadas, predominam diarreia e dor abdominal (BRASIL, 2009).

O PZQ é um anti-helmíntico de amplo espectro, descoberto em 1972 na Alemanha, utilizado no tratamento de parasitas trematodos e cestodos. (REICH & GOVINDARAJ, 1998). Foi o primeiro produto aprovado para uso veterinário no tratamento da esquistossomose e outras verminoses como a cisticercose. Logo em seguida foi aprovado seu uso em humanos (WATSON, 2009). Atualmente, o PZQ é o fármaco de escolha no tratamento de todas as espécies de esquistossomos, sendo também indicado para o tratamento de teníase, cisticercose e infecções por *Diphyllobothrium spp* e *Hymenolepis nana*. O PZQ faz parte da lista de fármacos essenciais da OMS (NOVAES *et al.*, 1999; GREENBERG, 2005; OMS, 2006; TAYLOR, 2006).

O PZQ, 2-(Cicloexilcarbonil)-1,2,3,6,7,11b-hexaidro-4Hpirazino[2,1-a]isoquinolin-4-ona, apresenta-se sob a forma de pó cristalino branco a quase branco, sendo muito pouco solúvel em água, facilmente solúvel em etanol e diclorometano. Apresenta faixa de fusão de 136 °C a 142 °C (ANVISA, 2010). Na sua estrutura (Figura 4), existe um centro assimétrico na posição 11b. A preparação comercial é um racemato composto por partes iguais de seus isômeros ópticos: "levo" R (-) e "dextro" S (+). Apenas o isômero R (-) é dotado de atividade anti-helmíntica, como demonstrado por estudos *in vivo* e *in vitro* (ANDREWS *et al.*, 1983; LIU *et al.*, 1986; XIAO & CATTO, 1989; WU *et al.* 1991). Outras publicações demonstram através de estudos *in vivo* que o isômero R (-) é 352 vezes mais potente que o isômero S (+) (XIAO, 1989). Já o isômero S (+) está associado aos efeitos colaterais do fármaco, bem como ao sabor desagradável (LIM *et al.*, 1995; CIOLI, 1998; MEEHAN *et al.*, 2003; FENWINCK *et al.*, 2003; GREENBERG, 2005; ROSZKOWSKI *et al.*, 2006; WOELFLE *et al.*, 2011).

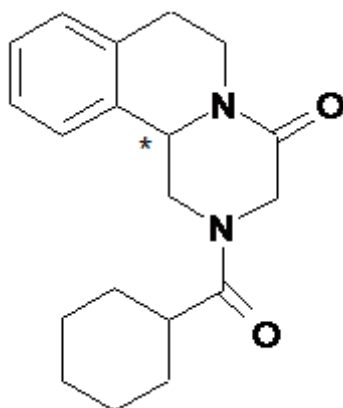


Figura 4. Estrutura química do praziquantel

A estratégia da OMS para o tratamento da esquistossomose visa reduzir a morbidade através de terapia medicamentosa com PZQ, com foco no tratamento periódico de crianças em idade escolar e adultos considerados de risco (OMS, 2008). Crianças em idade escolar são vistas como um grupo de alto risco para desenvolverem infecções por esquistossomos, pois em muitos casos as suas necessidades nutricionais aumentadas não são adequadamente atendidas, já que estão comprometidas por infecções por helmintos, e estão continuamente expostas ao solo e água contaminados, aliado a menor consciência da necessidade de uma boa higiene pessoal (MONTRESOR *et al.*, 2002).

De acordo com o sistema de classificação biofarmacêutica, o PZQ é classificado como classe II, indicando alta permeabilidade, porém baixa solubilidade em água (PASSERINI *et al.*, 2006). Devido a esta característica de baixa solubilidade associada à baixa biodisponibilidade, faz necessária a administração em altas doses do fármaco por via oral, uma vez que o PZQ precisa vencer a barreira aquosa do estômago e o metabolismo de primeira passagem, para alcançar concentrações plasmáticas adequadas (BECKET *et al.*, 1999). Na terapêutica desta doença, a dose de PZQ a ser administrada é calculada em função do peso, ou seja, aproximadamente 40 mg/Kg, em dose única, sendo capaz de tratar a patologia, mas não a previne (REICH & GOVINDARAJ, 1998; DAYAN, 2003). Doses de 60 mg/Kg também podem ser requeridas, principalmente quando há possibilidade de reincidência (ISMAIL *et al.*, 1996; WILLIAM *et al.*, 2001).

O PZQ administrado oralmente é rapidamente absorvido, quantidades mensuráveis aparecem no sangue a partir de 15 minutos após a dosagem (VALÊNCIA *et al.*, 1994), e os picos plasmáticos ocorrem após 1 a 2 horas em indivíduos normais (LEOPOLD *et al.*, 1978). Apesar de o PZQ ser rapidamente e quase que completamente absorvido no ser humano, apresenta biodisponibilidade baixa ou errática devido a um significativo efeito de metabolismo de primeira passagem no fígado com um rápido desaparecimento da circulação e uma meia-vida plasmática que varia de 1 a 3 horas. A eliminação ocorre essencialmente através da urina e das fezes, e é mais de 80% completa após 24 h (STEINER *et al.*, 1976; ALI, 2006).

A biodisponibilidade do PZQ é aumentada pela administração simultânea de substâncias que inibem atividades do citocromo P450. Por exemplo, a cimetidina provoca um aumento de 100% (METWALLY *et al.*, 1995;. JUNG *et al.*, 1997) e tem sido utilizado em associação com o PZQ especialmente para o tratamento de neurocisticercose, onde concentrações elevadas do fármaco são necessárias. A administração concomitante de PZQ e albendazol tem sido sugerida para aumentar a relação custo-eficácia de programas de desparasitação de grande escala e a combinação de fato foi considerada segura e eficaz (PASSERINI *et al.*, 2006), apesar do PZQ ser conhecido como responsável pelo aumento significativo da biodisponibilidade do albendazol (HOMEIDA *et al.*, 1994; SOTELO & JUNG, 1998).

O aumento da biodisponibilidade do praziquantel mediante administração simultânea com alimentos tem sido relatado, um efeito que pode ser mediado através de alterações nas atividades da enzima microsomal. CASTRO e colaboradores 2000 reportaram que a administração concomitante de PZQ com alimentos aumenta a concentração plasmática deste fármaco. GIORGI *et al.*, (2003) descobriram que tanto o suco de toranja liofilizado quanto o suco líquido comercial aumentaram significativamente a concentração plasmática e  $t_{1/2}$  do PZQ em cães.

Vários estudos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de superar problemas de baixa biodisponibilidade e alta variabilidade farmacocinética, e muitos têm focado no desenvolvimento de sistemas micro e nanoestruturados para liberação de fármacos. Estes sistemas incluem carreadores poliméricos ou baseados em lipídeos tais como: lipossomas, vesículas nas quais um volume aquoso é totalmente rodeado por uma membrana de bicamada fosfolipídica; micelas, que são

agregados anfílicos em uma solução aquosa; micro/nanoemulsão, sistemas compostos por água e óleo, estabilizados por moléculas anfílicas e que são opticamente isotrópicas e termodinamicamente estáveis, e nanopartículas, incluindo nanoesferas e nanocápsulas (HEURTAULT *et al.*, 2003; ROGER *et al.*, 2010). Atualmente, as micropartículas e nanopartículas lipídicas sólidas ocupam uma posição de destaque entre os sistemas lipídicos para liberação de fármacos disponíveis, por aumentar a biodisponibilidade de fármacos e reduzir a variabilidade farmacocinética de fármacos lipofílicos.

Em doses terapêuticas o PZQ não causa nenhum efeito ao homem, somente no helminto (RANG *et al.*, 2001; LIMA *et al.*, 2002). Efeitos indesejáveis podem ocorrer, porém são leves, passageiros e de rara importância clínica, uma vez que o PZQ apresenta baixa toxicidade. Os efeitos colaterais mais comuns são: distúrbios gastrointestinais, vertigem, dores musculares e articulares, erupções cutâneas, febre baixa, hepatomegalia e esplenomegalia (LAMBERTUCCI *et al.*, 2000; RANG *et al.*, 2001).

O PZQ é um fármaco pertencente à classe das pirazinoisoquinolonas, o primeiro fármaco anti-helmíntico a atender os requisitos da OMS para o tratamento da população em uma ampla faixa de infecções parasitárias (REICH *et al.*, 1995). A sua ação anti-helmíntica tem como base a alteração da homeostasia do cálcio nas células dos vermes, desregulando os mecanismos que controlam o fluxo de cátions através das membranas celulares, inibindo as enzimas que mantêm os gradientes de íons inorgânicos. Isto se deve provavelmente à inibição da bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  dos esquistossomos, aumentando a permeabilidade das membranas aos íons cálcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ), que leva à intensificação da atividade muscular, seguida por contração e paralisia espástica. Como consequência, os helmintos se separam dos tecidos do hospedeiro e são rapidamente deslocados das veias mesentéricas para o fígado, ao passo que os helmintos intestinais são expelidos (KOROLKOVAS, 1997; GREENBERG, 2005; JEZIORSKI & GREENBERG, 2006).

### **3.3 Sistemas Microparticulados**

A tecnologia de obtenção de micropartículas tem sido utilizada em diversas indústrias, como a agrícola, alimentar, de produtos domésticos, médica, gráfica e

cosmética. Na indústria farmacêutica, estes sistemas têm como objetivo primordial a liberação controlada, melhorando a eficácia, a absorção, a biodisponibilidade e por consequência o efeito terapêutico dos fármacos, reduzindo drasticamente os efeitos adversos. Além disso, podem facilitar a administração, mascarar propriedades organolépticas e proteger o fármaco de agentes atmosféricos (umidade, luz, calor e/ou oxidação), redução ou eliminação da irritação gástrica ou efeitos secundários provocados por alguns fármacos, administração de fármacos incompatíveis, melhoramento das características de escoamento de pós, facilitação do manuseio de substâncias tóxicas e produção de formas farmacêuticas de liberação controlada, sustentada e vetorizada (BURGESS & HICKEY, 1994; KAS & ONER, 2000).

Os sistemas microparticulados são pequenas partículas sólidas e esféricas com tamanho que varia entre 1 e 1000  $\mu\text{m}$  (ARSHADY, 1991; BURGESS & HICKEY, 1994). Subdividem-se em microcápsulas, a qual contém sistemas reservatório ou matrizes, que mantém a substância ativa revestida por polímeros de espessuras variáveis, podendo este ser semipermeável ou completamente permeável. Estas partículas apresentam geralmente geometria esférica, pertencendo a este grupo as microcápsulas e os lipossomas. As microesferas são formadas por sistemas matriciais nos quais o fármaco se encontra uniformemente disperso e/ou dissolvido numa rede polimérica, podendo este ser encontrado na superfície da matriz em contato direto com o meio externo (LINHARD, 1988; GIUNCHEDI & CONTE, 1995; BATYCKY *et al.*, 1997; KAS & ONER, 2000).

O conceito de microcápsula surgiu da idealização do modelo celular. Neste, a membrana que envolve e protege o citoplasma e os demais componentes exerce ao mesmo tempo outras funções, como controlar a entrada e a saída de material na célula. De modo semelhante, a microcápsula consiste em uma camada de um agente encapsulante, geralmente um material polimérico que atua como um filme protetor, isolando a substância ativa (gotículas líquidas, partículas sólidas ou material gasoso) e evitando o efeito de sua exposição inadequada. Essa membrana se desfaz sob estímulo específico, liberando a substância no local ou momento ideal (RÉ, 2000).

Existem duas formas de classificar as microcápsulas, conforme o núcleo esteja ou não dividido no interior da partícula revestida, em polinucleares ou mononucleares. As microesferas podem ser homogêneas ou heterogêneas

conforme a substância ativa se encontre no estado molecular (dissolvido) ou na forma de partículas (suspensão) (AFTABROUCHAD & DOELKER, 1992).

O que torna o processo de microencapsulação único é o tamanho reduzido das suas partículas e sua versatilidade e adaptação a uma grande variedade de formas farmacêuticas. A escolha do método mais adequado depende do tipo da substância ativa, da aplicação e do mecanismo de liberação desejado para a sua ação. A diferença básica entre os métodos existentes está no tipo de envolvimento ou aprisionamento do material ativo pelo agente encapsulante, visto que a combinação entre o material e o agente ativo pode ser de natureza física, química ou físico-química.

As microesferas e também as dispersões sólidas são sistemas muito parecidos, nos quais o fármaco encontra-se disperso em um carreador polimérico compatível solúvel em água com a finalidade de alterar as propriedades do estado sólido, aumentar a taxa de dissolução, promover a liberação sustentada, melhorar o coeficiente de solubilidade e a estabilidade de fármacos (SETHIA & SQUILLANTE, 2003; WEUTS *et al.*, 2005).

Tanto as microesferas como as dispersões sólidas podem ser obtidas por vários processos, entretanto, a fusão e a evaporação do solvente são, ainda, as mais empregadas. Dentro do processo de evaporação de solventes, destaca-se a técnica de *spray-drying*, sendo atualmente um dos métodos mais empregados (STORPIRITS *et al.*, 2009).

O método ideal de obtenção de sistemas microparticulados deve ser simples, reprodutível, rápido, fácil de transpor à escala industrial e deve ser pouco dependente das características de solubilidade do fármaco e polímero (GIUNCHEDI & CONTE, 1995).

Técnicas mais elaboradas vêm sendo utilizadas ao longo dos anos visando o mascaramento do sabor desagradável de fármacos como: método desenvolvido através de spray-congelamento para mascarar o sabor amargo da claritomicina (YAJIMA, 1996); preparo de microesferas de cefuroxima usando polímeros pH dependentes (LORENZO-LAMOSA *et al.*, 1997); ISHIKAWA e colaboradores em 1999, preparam comprimidos revestidos mascarando o sabor amargo dos grânulos de cloridrato de pirenzepina e cloridrato de oxibutinina por compressão; SUGAO *et*

*al.*, 1998, promoveram o mascaramento de sabor do pó de cloridrato de indeloxazina através de uma mistura compreendendo óleo hidrogenado e tensoativos num leito fluidizado, utilizando o método de pulverização lateral.

As características do fármaco e de liberação ajudam na escolha do método mais adequado de encapsulação de ativos, e diferentes métodos de obtenção de micropartículas estão solidamente descritos, onde pode-se destacar as técnicas de emulsificação/evaporação do solvente, coacervação, secagem por aspersão (spray drying), polimerização interfacial e precipitação através de fluido supercrítico.

### **3.3.1 Emulsificação/Evaporação do solvente**

Essa técnica tem sido frequentemente empregada, tendo em vista a simplicidade dos procedimentos envolvidos na obtenção das partículas e as possibilidades de modulação das características físicas e físico-químicas das partículas por meio da escolha dos componentes da formulação e das condições de preparação (BHARDWAJ *et al.*, 1995; KHIDR *et al.*, 1998; ZANETTI, 2001). A designação emulsificação/evaporação do solvente é normalmente usada para nomear um conjunto de processos onde acontece a formação de uma emulsão que pode ser do tipo óleo/água (o/a) e também óleo/óleo (o/o). Nos dois casos, a fase chamada interna, onde o polímero se encontra dissolvido, é um solvente orgânico que apresenta uma solubilidade limitada na fase externa da emulsão, a qual pode ser água, formando uma emulsão o/a, ou óleo, formando uma emulsão o/o.

Na microencapsulação por emulsificação/evaporação do solvente, inicialmente a substância ativa é dispersa ou dissolvida na fase interna onde está o polímero. Em seguida, a fase interna é emulsificada na fase externa, que contém um tensoativo (agente estabilizante da emulsão), para evitar a agregação e a coalescência. O solvente orgânico é então removido por evaporação sob agitação, favorecendo a formação de glóbulos poliméricos compactos nos quais o agente ativo se encontra encapsulado. As partículas formadas passam posteriormente por operações complementares, como separação, lavagem e secagem (VILA JATO, 1999; ZANETTI, 2001).



### 3.3.2 Coacervação

A técnica de microencapsulação é a mais antiga e talvez mais utilizada, emprega a separação de fases por coacervação. Essa técnica consiste na obtenção, a partir de uma solução contendo uma macromolécula dispersa, de duas fases líquidas imiscíveis, uma fase de coacervado, em que a macromolécula está presente em elevada concentração e uma fase de equilíbrio, em que a mesma está em baixa concentração. Geralmente consiste de três etapas realizadas sob agitação contínua: (a) formação de três fases químicas imiscíveis; (b) a deposição do revestimento, e (c) enrijecimento do revestimento. A separação de fase da coacervação foi classificada em duas categorias, coacervação simples e coacervação complexa. O primeiro implica a adição de uma substância fortemente hidrofílica, a uma solução coloidal. Esta substância adicionada promove a formação de duas fases. A coacervação complexa é principalmente um processo dependente do pH. A natureza ácida ou básica do sistema é alterada para produzir microcápsulas. Acima de certo valor de pH crítico, o sistema dependendo da sua natureza ácida ou básica pode produzir microcápsulas. Geralmente a coacervação complexa aborda o sistema que contém mais de um coloide (FELDER *et al.*, 2003; SINHA & TREHAN, 2003).

A coacervação pode ser realizada em meio aquoso ou orgânico, dependendo das propriedades físico-químicas do polímero que será empregado e do material a ser encapsulado. A coacervação em fase aquosa apenas pode ser usada para encapsular materiais insolúveis em água. A coacervação em fase orgânica permite a encapsulação de material hidrossolúvel, mas exige a utilização de solventes orgânicos (KAS & ONER, 2000).

### 3.3.3 Secagem por aspersão (Spray-drying)

A secagem por aspersão (spray-drying) vem sendo vastamente empregada na indústria farmacêutica visando à secagem de materiais, como por exemplo: materiais termossensíveis, para aumentar a solubilidade de fármacos, ou aumentar as características de fluxo de alguns excipientes (BROADHEAD *et al.*, 1992; PALMIERI *et al.*, 1999).

A substância ativa a ser encapsulada é misturada a uma solução do composto que constitui o material encapsulante, polímero, formando assim uma

emulsão. Ao ser atomizado dentro do secador, ocorre a evaporação do líquido da solução que contém o polímero com a formação da membrana ao redor das gotas do material ativo (VILA JATO, 1999).

O princípio da secagem é baseado na atomização de uma solução, contendo fármacos e moléculas transportadoras, utilizando-se ar comprimido ou nitrogênio comprimido através de uma câmara de dessecação, e utilizando uma corrente de ar quente para o processo de secagem. Isto é realizado em três etapas: (i) formação do aerossol, (ii) contato do aerossol com o ar quente e secagem do aerossol, e (iii) separação do produto seco e o ar carregado com o solvente (BENITA, 2006).

A atomização leva a formação de pequenas gotas que, com a evaporação instantânea do solvente, originam as partículas. Neste processo o fármaco a ser encapsulado é disperso ou dissolvido em uma solução contendo a matriz polimérica, juntamente com a presença de um agente estabilizante, formando uma emulsão. Ao ser atomizado, através de uma corrente de ar quente dentro do secador, ocorre a evaporação da fase líquida e, por conseguinte, a formação da membrana ao redor das gotículas onde o fármaco está presente (VILA JATO, 1999).

A técnica de spray drying geralmente leva a uma ampla distribuição de tamanho de partícula, com uma forma Gaussiana, centrado em 10 micrometros. A taxa de fluxo, a geometria bico injetor, e a viscosidade da solução são os parâmetros que mais influenciam (BENOIT *et al.*, 2006).

Este processo tem sido bastante utilizado devido a vantagens como a facilidade de transposição para um plano industrial, rapidez de produção, eficiências de encapsulação superiores às obtidas por outros métodos; e pode ser utilizado para uma grande variedade de polímeros e de princípios ativos. Além disso, é capaz de produzir pós com tamanho de partícula, forma e teor de umidade controláveis. É um processo cuja produção é efetuada num só passo e produz micropartículas com características semelhantes às obtidas através de outras técnicas, no que se refere à distribuição de tamanhos, morfologia e cinética de liberação. No entanto, apresenta os inconvenientes de haver uma grande percentagem de perdas, uma vez que as micropartículas se agregam bastante às paredes do ciclone, sendo bastante difícil recuperá-las e de não se poder processar soluções de elevada viscosidade (YEO *et al.*, 2001; BENITA, 2006; MANSUR *et al.*, 2010).

A formação de micropartículas através da secagem por aspersão é um processo comercialmente de baixo custo, sendo largamente utilizado para a encapsulação de fragrâncias, óleos e substâncias com sabor desagradável, isso se deve muito a sua capacidade de secagem de insumos a base de solventes orgânicos, sem correr o risco de explosões ou incêndios. (JYOTHI *et al.*, 2010; MUJUMDAR, 2015).

Esta técnica de secagem é menos dependente dos parâmetros de solubilidade do fármaco e do polímero, e pode ser usada sem solventes orgânicos. Quando utilizado com solventes orgânicos, a quantidade de solvente residual nas partículas é muitas vezes menor do que o atingido com técnicas de remoção de emulsão-solvente (0,05-0,2%) (PRIOR *et al.*, 2000).

No geral se apresenta como uma técnica simples, rápida, que permite a obtenção da forma final sem ter que recorrer a lavagens para isolar as micropartículas ou eliminar o solvente residual. Ainda há possibilidade de conseguir grandes produções em operação contínua com equipamento simples, produção de partículas relativamente uniformes e esféricas, boa eficiência e baixo custo do processo. Tem como inconveniente o uso de calor, capaz de afetar as propriedades de polímeros e fármacos termo-sensíveis (AFTABROUCHAD & DOELKER, 1992; VILA JATO, 1999; SANTOS *et al.*, 2000).

Através desta técnica, podem se formar microcápsulas ou microesferas, conforme o fármaco está disperso ou dissolvido na solução de polímero. Os fatores de formulação que influenciam as características das micropartículas são a concentração em polímero, a temperatura e a velocidade de alimentação do sistema (GIUNCHEDI & CONTE, 1995).

### **3.3.4 Polimerização interfacial**

A polimerização interfacial é um método muito rápido, facilmente transponível à escala industrial (KREUTER, 1994), que se caracteriza pela polimerização de um monômero na interface de duas fases imiscíveis. Se a fase interna for um líquido, é possível dispersar ou solubilizar o monômero nesta fase e emulsionar a mistura na fase externa à qual se adiciona um correagente, que inicia a formação de polímero na superfície das gotas de líquido.

Nesta técnica, o revestimento da cápsula irá ser formado sobre ou na superfície da gotícula ou da partícula por polimerização dos monômeros reativos. Geralmente os monômeros utilizados incluem isocianatos e cloretos ácidos. Estes podem ser utilizados individualmente ou em combinação. A formação ocorre quando o monômero é dissolvido na solução que contém o material de revestimento e então irá ser disperso na fase aquosa, juntamente com agentes dispersantes. Um correagente contendo um grupamento amina funcional é adicionado à mistura. Isto resultará na rápida polimerização na superfície e assim levará a formação do invólucro da cápsula (SCHER, 1983).

O seu emprego é limitado pela toxicidade associada aos monômeros que não reagem pela elevada permeabilidade do revestimento e pela fragilidade das membranas obtidas. No entanto, é possível obter partículas com tamanho e espessura de parede controláveis por utilização de diferentes monômeros.

### **3.3.5 Precipitação por fluido supercrítico**

A definição de fluidos supercríticos é que são gases altamente comprimidos os quais possuem diversas propriedades vantajosas tanto na fase líquida como na gasosa. O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) é o gás mais amplamente utilizado, devido apresentar características como: baixo valor de temperatura crítica, não ser tóxico, inflamável, apresentar elevado grau de pureza e baixo custo. De acordo com estas definições, três métodos de produção de micropartículas são empregados:

- *Rápida expansão da solução supercrítica*

Neste processo o fluido supercrítico que contém o ingrediente ativo e o material de revestimento é mantido a alta pressão e, em seguida liberados à pressão atmosférica através de um pequeno bocal. A queda repentina na pressão provoca dessolvatação do material de revestimento, que é então depositado em torno da substância ativa (núcleo) e forma então uma camada de revestimento.

- *Processo anti-solvente*

Este processo também é denominado fluido supercrítico anti-solvente. Nesse caso o fluido supercrítico é adicionado a uma solução contendo o material de revestimento e a substância ativa, mantidos a alta pressão. Isto leva a uma expansão de volume da solução que causa supersaturação de tal modo que a precipitação do soluto ocorre. Assim, o soluto tem de ser solúvel no solvente líquido, mas não deve dissolver-se na mistura de solvente e fluido supercrítico. Por outro lado, o solvente líquido deve ser miscível com o fluido supercrítico. Este processo não é adequado para a encapsulação de compostos hidrossolúveis, uma vez que a água tem baixa solubilidade em fluidos supercríticos.

- *Obtenção de micropartículas a partir do processo de gás-saturado*

Este processo é realizado através da mistura de núcleo e do material de revestimento em fluido supercrítico a alta pressão. Durante este processo o fluido supercrítico penetra no material de revestimento, causando inchamento (YEO, *et al.*, 2001; JYOTHI, *et al.*, 2010).

### **3.3.6 Deposição interfacial e Deslocamento do solvente**

Inicialmente a técnica de nanoprecipitação foi descrita por Fessi e colaboradores em 1988, para a obtenção de nanopartículas. Este método também é conhecido como método de deposição interfacial ou deslocamento do solvente. Estas técnicas são muito similares baseadas na emulsificação espontânea da fase interna orgânica contendo o polímero dissolvido na fase aquosa externa. No entanto, o deslocamento de solvente forma nanoesferas ou nanocápsulas, enquanto que a deposição interfacial forma apenas nanocápsulas.

Para a síntese de sistemas nanoestruturados são necessárias duas fases: a solvente e outra não solvente, também chamada de fase orgânica e fase aquosa, respectivamente. A fase orgânica é constituída principalmente de uma solução da substância formadora de película, tal como um polímero, da substância ativa, de uma matriz oleosa e um tensoativo lipofílico, todos em solução em um solvente ou uma mistura destes, como por exemplo, etanol, acetona, hexano, diclorometano ou

dioxano. Por outro lado, a fase aquosa é normalmente constituída de água e agente surfactante, este a fim de evitar a aglomeração das partículas obtidas.

Além do fármaco solubilizado, o núcleo das nanopartículas é constituído de um surfactante A/O e um sistema oleoso, escolhido de acordo com a maior solubilidade do fármaco neste óleo, ausência de toxicidade, baixa solubilidade do óleo no polímero e vice-versa e ausência do risco de degradação do polímero (LIMAYEM *et al.*, 2006). Enfatiza-se que os diferentes tipos de triglicéridos derivados dos ácidos caprílico e cáprico são muitas vezes utilizados devido à sua ampla gama de solubilidade das substâncias ativas. Em relação ao solvente usado para solubilizar o polímero, a acetona é a escolha na maioria das vezes. Porém outros solventes como o etanol podem ser escolhidos, sempre considerando a solubilidade do fármaco e do óleo no solvente. Água ou soluções tamponantes podem ser utilizadas na fase aquosa e o polissorbato 80 ou polaxamer 188 podem ser utilizados como agentes estabilizantes.

De acordo com esta metodologia as partículas são obtidas na forma de uma suspensão coloidal, obtida quando a fase orgânica é adicionada lentamente sobre a fase aquosa e mantida sob agitação moderada. As principais variáveis do processo são aquelas associados às seguintes condições: forma de adição da fase orgânica na fase aquosa, velocidade de injeção fase orgânica, velocidade de agitação de fase aquosa, e proporção de fase orgânica em relação à fase aquosa. Do mesmo modo, as características das partículas são influenciadas pela natureza e concentração dos seus componentes (PLASARI *et al.*, 1997; CHORNY *et al.*, 2002; LEGRAND *et al.*, 2007; LINCE *et al.*, 2008).

### **3.4 Matrizes poliméricas**

Os polímeros têm sido utilizados para controlar a taxa de liberação do fármaco a partir de diferentes formulações. Também podem ligar-se às partículas de uma forma farmacêutica e alterar as propriedades de fluxo. Diversas aplicações dos polímeros no controle da liberação do fármaco têm surgido, uma vez que os polímeros oferecem propriedades únicas que até agora não foram alcançados por qualquer outro material. Estes materiais são macromoléculas que possuem uma grande cadeia molecular, além de conter uma variedade de grupos funcionais que

podem ser associados a materiais de baixo e elevado peso molecular (LEONG & LANGER, 1988; WANG *et al.*, 2007).

Uma grande variedade de materiais de revestimento está disponível para ser utilizada nos processos de microencapsulação. Nos últimos anos algumas patentes inovadoras têm apresentado polímeros desenvolvidos para algumas aplicações especiais, conferindo características bioadesivas e mucoadesivas. No entanto, muitos materiais de revestimento tradicionais são satisfatórios para a utilização no trato gastrointestinal. Eles incluem polímeros inertes e aqueles sensíveis ao pH como os derivados de carboxilato e amino, que incham ou dissolvem, de acordo com o grau de reticulação (GUTCHO, 1979; KYO *et al.*, 1995; HSIEH, 1998; HAZNEDAR & DORTUE, 2004).

A seleção do material de revestimento apropriado define as propriedades físicas e químicas das microcápsulas e microesferas resultantes. Durante a escolha de um polímero os requisitos do produto, por exemplo, estabilização, redução da volatilidade, características de liberação, condições ambientais, etc., devem ser levados em consideração. O polímero deve ser capaz de formar uma película coesa revestindo o material contido no núcleo, deve ser quimicamente compatível e inerte com este material e proporcionar as propriedades de revestimento desejadas, tais como a resistência, a flexibilidade, a impermeabilidade, a estabilidade e propriedades ópticas (SPENLEHAUER *et al.*, 1988; SHIMIZU *et al.*, 1992; ITOI *et al.*, 1996; BRAZEL & PEPPAS, 2000; BIRNBAUM & BRANNON-PEPPAS, 2003).

Geralmente polímeros hidrofílicos, hidrofóbicos ou uma combinação de ambos são utilizados para o processo de microencapsulação. Os polímeros frequentemente utilizados são poliésteres biodegradáveis, especialmente poli-ε-caprolactona (PCL), poli (ácido láctico) (PLA) e poli (ácido-glicólico) (PLGA). O Eudragit® também pode ser utilizado como outros polímeros, tais como poli (cianoacrilato de alquilo) (PACA). Polímeros sintéticos têm maior pureza e melhor reprodutibilidade do que polímeros naturais (KHOEE & YAGHOUBIAN, 2008). Por outro lado, alguns polímeros são copolimerizados de PEG, a fim de diminuir o reconhecimento das nano e micropartículas através do sistema fagócito mononuclear (NOGUEIRA DE ASSIS *et al.*, 2008).

Os polimetacrilatos, conhecidos comercialmente como Eudragit® são copolímeros derivados de ésteres de ácido acrílico e metacrílico, cujas propriedades

físico-químicas são determinadas por grupos funcionais (R). Estes estão disponíveis numa grande variedade de formas físicas (dispersão aquosa, grânulos e pós de solução orgânica). A flexibilidade de combinar os diferentes tipos de polímeros permite alcançar o perfil de liberação desejado do fármaco, através da liberação no local certo e no momento certo e, se necessário, ao longo de um período de tempo desejado. Outras funções importantes são a proteção contra influências do meio externo e mascarar o sabor e o odor a fim de aumentar a adesão do paciente ao tratamento (JOSHI, 2013).

Estes polímeros são amplamente utilizados na indústria farmacêutica e aprovados para uso oral. São (co) polímeros sintéticos preparados por polimerização de radicais livres e estão disponíveis em diferentes formas: como dispersões aquosas, soluções orgânicas, grânulos ou pós. As suas propriedades físico-químicas são determinadas por grupos funcionais, e a sua solubilidade no aparelho digestivo resulta a partir de variações dos monômeros e reações de polimerização. Grupos ácidos ou alcalinos de polimetacrilatos solúveis permitem a liberação dependente do pH, através da formação de sal. Copolímeros catiônicos ou neutros, insolúveis, porém permeáveis, por outro lado, permitem aplicação para liberação retardada através do inchamento, independente do pH e dissolução através de difusão controlada.

As principais aplicações dos polimetacrilatos estão relacionadas com proteção contra umidade e mascaramento do sabor desagradável de substâncias por diversas razões. Primeiro, eles protegem o fármaco de influências ambientais, luz e umidade, que podem afetar a estabilidade química e física das substâncias. Segundo, os revestimentos aumentam a adesão do paciente ao mascarar o sabor amargo ou o odor desagradável de certas substâncias. Além disso, são muitas vezes utilizados para alcançar perfis de liberação terapêuticamente desejados. As matrizes poliméricas são farmacologicamente inativas e são compatíveis com as membranas da pele e mucosas.

Dentre os diferentes tipos de polimetacrilatos destaca-se o Eudragit® E, um polímero catiônico composto de dimetilaminoetil metacrilato e outros ésteres neutros do ácido metacrílico, comumente utilizado com revestimento de formas farmacêuticas sólidas para proteção do fármaco e mascaramento do sabor desagradável (QUINTEROS *et al.*, 2008). Este polímero, na sua forma não-



protonada, é solúvel em solvente orgânicos e insolúvel em água. Os grupamentos amino terciários são ionizáveis em condições ácidas tornando o polímero solúvel em pH menor que 5,0, proporcionando assim revestimentos gastro-solúveis, que são insolúveis a ligeiramente permeável na saliva (EERIKAINEN *et al.*, 2004; MOUSTAFINE *et al.*, 2005).

Dentro do grupo E, destaca-se o Eudragit E100, empregado em diversos estudos com a finalidade de mascarar o sabor de fármacos, como descrito por BREITKREUTZ *et al.*, 2003, onde foram desenvolvidos pequenos grânulos, saliva resistente, contendo benzoato de sódio, para ser incorporado em uma forma farmacêutica pediátrica. O Eudragit E100 foi usado como revestimento capaz de mascarar o sabor amargo do benzoato de sódio durante pelo menos cinco minutos, sem atrasar a liberação em meio ácido *in vivo*.

Um segundo tipo destes polímeros é o Eudragit L30D55, que se apresenta sob a forma de dispersão aquosa com 30% de sólidos dispersos. Exibe coloração branco-leitosa com fraco odor característico. A dispersão é miscível com água em qualquer proporção, mantendo a aparência branca leitosa. Uma solução límpida a ligeiramente turva, viscosa é obtida através de mistura de 1 parte de EUDRAGIT® L 30 D-55 com 5 partes de acetona. Os mesmos resultados são obtidos por mistura com etanol ou álcool isopropílico; inicialmente, o polímero é precipitado, mas, em seguida, dissolve-se novamente no solvente orgânico em excesso.

O Eudragit L30D55 é usado preferencialmente como revestimento entérico devido as suas características de solubilidade. Por se tratar de um copolímero aniônico à base de ácido metacrílico e acrilato de etila, apresenta propriedades de liberação em soluções com pH superiores a 5,5, isto apresenta algumas vantagens como: proteção de fármacos sensíveis ao pH gástrico, proteção da mucosa gástrica contra ativos agressivos, aumento da eficácia do fármaco e aumento da estabilidade do fármaco durante o período de armazenamento.

Este polímero a base de metacrilatos também pode ser utilizado para mascarar o sabor desagradável de alguns fármacos, como descrito por SOLLOHUB *et al.*, 2011, onde neste estudo os autores desenvolveram microcápsulas revestidas com Eudragit L30D55, contendo roxitrominicina, obtendo alta eficiência no mascaramento do sabor desagradável do ativo.

Eudragit® RL 100 é um copolímero de acrilato de etila, metacrilato de metila e um baixo conteúdo de éster de ácido metacrílico, com grupos amônia quaternários. Os grupos amônia estão presentes como sais e assim permitem que estes polímeros sejam permeáveis. De acordo com suas propriedades físicas apresenta-se como uma substância sólida, na forma de grânulos transparentes a opaco e com fraco odor característico. É utilizado principalmente em formulações em que se deseja um controle da liberação do ativo em função do tempo, controle de liberação tempo dependente. Um exemplo desta aplicação foi descrito por Dias e colaboradores em 2011, onde propuseram uma formulação de liberação controlada contendo nanopartículas carregadas positivamente com anfotericina-B, pelo método de nanoprecipitação para aplicação oftálmica.

### **3.5 Técnicas de Mascaramento de sabor**

Os seres humanos detectam o sabor através de células receptoras gustativas que são agrupadas no interior das papilas gustativas. Cada ser humano tem cerca de 10.000 papilas gustativas e cada uma contém de 50 a 100 células gustativas. As papilas gustativas são quimiorreceptores estimulados por substâncias químicas dissolvidas na saliva administradas por via oral. Cada um dos receptores gustativos fica localizado na porção superior das células. Estes receptores são proteínas transmembranares que se ligam a moléculas e íons originando os quatro sabores primários – doce, salgado, azedo e amargo. Frequentemente existe correlação entre a estrutura de um composto químico e o seu sabor. Sais com baixo peso molecular tendem a apresentarem sabor salgado, já sais com maior peso molecular tendem ao amargo. Compostos que contém nitrogênio, como os alcaloides, tendem a ser bastante amargos. Compostos orgânicos que apresentam grupamentos hidroxila tendem a se tornar cada vez mais doces de acordo com o aumento do número de hidroxilas (THIBODEAU & PATTON, 2006; SHARMA & LEWIS, 2010).

As propriedades organolépticas são importantes condições para o desenvolvimento de uma forma farmacêutica oral sólida, que podem influenciar na preferência do consumidor e facilitar a administração. No caso de fármacos amargos, o gosto é um dos parâmetros mais importantes que regem a adesão do paciente ao tratamento, além disso, a administração oral de fármacos amargos com

um grau aceitável de palatabilidade é uma questão fundamental para profissionais de saúde, especialmente para as áreas pediátrica e geriátrica (SOHI *et al.*, 2004; PATEL *et al.*, 2009).

O desejo de melhorar a palatabilidade de formulações tem promovido o desenvolvimento de várias novas tecnologias para a diminuição de sabores desagradáveis. Redução e inibição do amargor são características importantes de uma boa forma farmacêutica oral. Um progresso considerável no desenvolvimento de formulações que visam mascarar o sabor desagradável de fármacos foi alcançado nos últimos anos (SOHI, 2004). Várias técnicas disponíveis para mascarar o sabor amargo de fármacos estão descritas tais como:

- *Adição de componentes flavorizantes e adoçantes*

Esta técnica é a abordagem mais simples para mascarar o sabor, porém não é muito bem sucedida para medicamentos altamente amargos. Adoçantes e flavorizantes artificiais são geralmente usados associados a outras técnicas para melhor eficiência do mascaramento, conforme realizado por Eby em 1992, onde a combinação de ácido cítrico e bicarbonato de sódio com alguns edulcorantes foram empregados para mascarar o sabor amargo do acetato de zinco di-hidratado na forma de pastilhas.

- *Resinas de troca iônica*

Resinas de troca iônica são polímeros orgânicos inertes, sintéticos, que consistem em uma rede de hidrocarboneto ao qual estão ligados grupos ionizáveis, estes possuem a capacidade de trocar seus íons instáveis com os íons presentes na solução na qual as resinas estão em contato (SHARMA & LEWIS, 2010). Rajesh *et al.*, 2015, mascararam o sabor do ciprofloxacino usando resinas de troca iônica, além de promover uma liberação prolongada do ativo.

- *Complexação com ciclodextrinas*

As ciclodextrinas, um oligossacárido cíclico obtido a partir do amido, têm sido usadas extensivamente no mascaramento do sabor de fármacos amargos através da formação de complexos com a molécula do ativo, principalmente por ligações do

tipo Van der Waals. Este agente de complexação é capaz de mascarar o sabor amargo seja diminuindo a sua solubilidade via oral ou a disponibilidade do fármaco para entrar em contato com as papilas gustativas. Além disso, as ciclodextrinas apresentam um sabor adocicado e não apresentam toxicidade (SHALINI & SHAILA, 2010; WADHWA & PURI, 2011). Mady e colaboradores em 2010 avaliaram a carboximetil-ciclodextrina acidificada buscando uma melhoria da estabilidade química e mascaramento do sabor da famotidina.

- *Alteração de pH e Solubilidade*

Outra técnica bastante abordada é a diminuição da solubilidade de compostos. Como uma substância tem de ser dissolvida para a percepção pelos receptores localizados nas papilas gustativas na língua humana, uma solubilidade inferior do ativo equivaleria a um sabor melhor. Portanto, os modificadores de pH convertem uma substância na sua forma menos solúvel ou mesmo insolúvel e assim também podem ser usados para obter efeitos de mascaramento de sabor (OGATA *et al.*, 2012).

Agentes modificadores do pH são capazes de gerar um microambiente de pH específico em meio aquoso que pode facilitar a precipitação *in situ* do fármaco na saliva reduzindo, assim, as sensações gerais do gosto por formas de dosagem líquidas. Em 2004, Wyley descreveu uma aplicação de agentes modificadores de pH, tal como a L-arginina, para o mascaramento do sabor de uma des-quinolona, a qual preservou o pH alcalino da suspensão para promover a precipitação *in situ* do fármaco na saliva.

- *Formação de barreiras físicas*

Outra abordagem de mascaramento de sabor é construir barreiras físicas como em comprimidos revestidos ou grânulos. O revestimento atua como uma barreira física para as partículas de fármaco, minimizando assim a interação deste com as papilas gustativas. O revestimento é um método eficiente e, frequentemente, utilizado como técnica de mascaramento de sabor, empregando como material de revestimento polímeros, lipídeos e açúcares. Estes materiais podem ser usados sozinhos ou em associações, em uma única camada ou múltiplas camadas, sendo

aplicado com sucesso nos casos em que os comprimidos se destinam a permanecer por poucos períodos na cavidade oral. Assim, uma camada de revestimento pode proteger o sabor desagradável do ativo das papilas gustativas, até que o comprimido seja completamente ingerido (MALIK *et al.*, 2011; NAKANO *et al.*, 2013).

- *Microencapsulação*

A microencapsulação é um procedimento com uma longa história na indústria farmacêutica, e mascarar o sabor representa uma área expandida da sua aplicação. É um processo pelo qual gotículas muito pequenas ou partículas de material sólido são cercadas ou revestidas com uma película ou material polimérico. Inicialmente é importante compreender que somente a parte solúvel dos fármacos pode gerar a sensação de sabor. Por isso, o revestimento do fármaco com um filme polimérico adequado pode diminuir a solubilidade na saliva e assim o sabor pode ser mascarado. No caso das microcápsulas o revestimento cria uma barreira entre o fármaco e as papilas gustativas, assim, leva ao mascaramento do sabor do fármaco. A obtenção de micropartículas pode ser realizada por diferentes técnicas, onde destacam-se: a secagem por aspersão, a liofilização, a coacervação, emulsificação/evaporação do solvente, a polimerização interfacial, entre outras.

Ao longo dos anos diversas publicações com o objetivo de mascarar o sabor de ativos farmacêuticos vêm sendo disponibilizadas, como por exemplo, descrito por Sollohub e colaboradores em 2011, que tinham como objetivo obter microcápsulas com alta eficiência para mascarar o sabor da roxitromicina utilizando a técnica de spray drying. Além deles, Ozer & Hincal em 1990, propuseram um método simples por coacervação usando gelatina para microencapsular o fármaco beclamida, a fim de mascarar o sabor, usando como agente de coacervação Sulfato de Sódio anidro. Em 1996, Yojima & Nogata desenvolveram microcápsulas de claritromicina pela técnica de liofilização (cogelamento por asperção) usando como revestimento monoestearato de glicerila e assim promover o mascaramento do sabor desagradável do fármaco. A técnica de evaporação do solvente, para o mascaramento do sabor, foi usada em 1998 por Mauger & Robinson, a fim de inibir o sabor desagradável do metronidazol, utilizando Eudragit E como revestimento.

### **3.6 Métodos de avaliação do mascaramento de sabor**

Existem diferentes formas de avaliar o sucesso da inibição do sabor de determinados fármacos, de modo a comprovar a total ou parcial subtração do gosto a partir da estratégia proposta. Uma destas técnicas é a avaliação sensorial em humanos. Entretanto, gosto é uma percepção muito subjetiva e, dependendo dos indivíduos, o sabor percebido pode variar em diferentes graus. Se tiver um controle do experimento bem estabelecido é possível medir com precisão e repetibilidade os limiares de sabor (DEEPAK *et al.*, 2012).

#### **3.6.1 Painéis humanos**

Uma das formas de avaliar o sucesso no mascaramento do sabor de determinada substância é através da realização de painéis humanos, que empregam uma classificação psicofísica dos estímulos gustativos. Neste método, um grupo de 5 a 10 voluntários são treinados para avaliar o sabor através do uso de amostras de referência, com variações de insípido a muito amargo. Assim, valores numéricos são então atribuídos a estes níveis de amargura (ex. 0 a 5). Subsequentemente, a solução a ser testada é avaliada na mesma escala para avaliar o seu nível de amargor (SWARBRIK & BOYLAN, 1990). Painéis humanos são preferidos e habitualmente aplicados como um método de avaliação do sabor de medicamentos ou formulações durante o processo de desenvolvimento farmacêutico. No entanto, a alta variabilidade e subjetividade dos sentidos humanos com relação ao sabor, bem como as preocupações éticas e de segurança devido à possível toxicidade do fármaco são fatores limitantes ao uso de painéis humano (BARTOSHUK, 2000).

#### **3.6.2 Estímulo nervoso em rãs**

Uma segunda técnica proposta trata da avaliação do sabor através da resposta obtida ao estímulo nervoso utilizando rãs. Neste método, rãs adultas são anestesiadas intraperitonealmente e o nervo glossofaríngeo é localizado e dissecado a partir do tecido circundante e cortado proximalmente. Um AC-amplificador e um integrador eletrônico são utilizados para amplificar e integrar os impulsos nervosos,

respectivamente. A altura do pico da resposta integrado é então considerada como a magnitude da resposta (KATSURAGI & KASHIWAYANAGI, 1997).

### 3.6.3 Língua eletrônica

Um interesse particular para a predição do sabor de formulações farmacêuticas levou ao desenvolvimento de métodos alternativos que atendam às dificuldades associadas com a análise sensorial humana. Nesta área, além de testes de dissolução, dispositivos analíticos sensoriais de sabor ganharam maior atenção e representam instrumentos-chave para rastrear intensidades de sabor e qualidades de substâncias medicamentosas (WOERTZ *et al.*, 2011a).

Língua eletrônica, ou sensor gustativo, é a designação dada para um conjunto de sensores capazes de distinguir amostras líquidas, e foi inspirado nas características da língua humana para a discriminação de sabores (CIOSEK & WROBLEWSKI, 2007; DANTAS *et al.*, 2009; RIUL, 2010). No sistema biológico, a língua possui diferentes tipos de papilas gustativas distribuídas na boca, as quais possuem habilidades específicas de detecção. Na língua eletrônica, as unidades sensoriais são equivalentes às papilas gustativas.

O uso de conjuntos de sensores com a seletividade parcialmente sobreposta de padrões combinada com a análise multivariada de dados são sistemas muitas vezes referidos como sentidos artificiais porque operam numa forma semelhante aos sentidos humanos. Tais sistemas que analisam soluções aquosas foram denominados sensores de sabor, porque eles estão relacionados com os sentidos humanos do sabor (WINQUIST *et al.*, 2004).

Quando temos um conjunto de unidades sensoriais formadas por diferentes filmes, então forma-se o sensor do tipo língua eletrônica. Para tanto, é empregado o conceito de seletividade global, no qual diferenças na resposta elétrica de diversos materiais servem como uma impressão digital da amostra analisada (DANTAS *et al.*, 2009; RIUL, 2010).

Este conjunto de unidades sensoriais é imerso na solução a ser analisada, e então são realizadas medidas elétricas em cada uma das unidades sensoriais (aquisição de dados). Esta parte de aquisição de dados é análoga às transmissões

de informações feitas pelos neurotransmissores desde as papilas até o cérebro. As repostas obtidas pelas medidas elétricas na *língua eletrônica* são processadas por técnicas estatísticas ou computacionais, e então é formada a resposta discriminativa, semelhante ao trabalho desenvolvido pelo cérebro humano no reconhecimento dos sabores.

Três níveis semelhantes estão envolvidos para o mecanismo de reconhecimento do gosto em seres humanos e línguas eletrônicas: o nível do receptor (papilas gustativas em humanos, membrana lipídica de sensores em línguas eletrônicas), o nível do circuito (transmissão neural em seres humanos, transdutores em línguas eletrônicas) e o nível de percepção (cognição no tálamo em humanos, análise estatística pelo software em línguas eletrônicas) (WINQUIST *et al.*, 2004). Usando transdutores compostos por vários tipos de membranas lipídicas e poliméricas, informações de gosto fornecidas por amostras líquidas são convertidas em padrões eletrônicos. Afirma-se que a saída do sensor exhibe padrões diferentes para as substâncias que produzem diferentes qualidades de sabor, enquanto ele fornece padrões semelhantes para as substâncias químicas com gostos semelhantes (ANAND *et al.*, 2007).

Este é um dispositivo de detecção de sabor automatizado para detectar a magnitude do amargor de diversas substâncias, como por exemplo, os fármacos. O dispositivo tem um transdutor que é composto por vários tipos de membranas de lipídeo/ polímero com características diferentes que podem detectar o sabor de um modo semelhante à percepção do paladar humano. A resposta ao sabor é transferida na forma de um padrão composto por sinais elétricos a partir dos potenciais de membrana da parte do receptor. Respostas diferentes do padrão de potencial elétrico são obtidas para as substâncias que produzem diferentes características gustativas. Atualmente, a técnica tem sido aplicada, para a avaliação quantitativa da amargura de alguns medicamentos disponíveis comercialmente (TAKAGI & TOKA, 1998).

Geralmente, a tarefa destes dispositivos alterna entre reconhecer padrões de sabores, estimar quantidades de determinadas substâncias ou detectar moléculas específicas, todas executadas em meios líquidos. Há vários tipos de *línguas eletrônicas* descritas na literatura, diferentes principalmente pelos métodos empregados na aquisição de dados, como a potenciometria (TOKO, 1996;



WINQUIST, *et al.*, 2000; WILSON, *et al.*, 2012), voltametria cíclica (WINQUIST, *et al.*, 1997; WINQUIST, *et al.*, 1998; WINQUIST, *et al.*, 2000; CAMPOS, *et al.*, 2012) e espectroscopia de impedância (RIUL, *et al.*, 2002; RIUL, *et al.*, 2003; VOLPATI, *et al.*, 2012). Dentre estes, o método mais avançado em termos de produto acabado para aplicação comercial é o potenciométrico, método base de alguns dispositivos disponíveis no mercado, como os produtos *Tasting Sensing System* da empresa *Isent* (Japão), *ASTREE* da empresa *Alpha MOS* (França) e *MultiArray* da *McScience* (Korea).



---

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

---

### **4.1 Materiais**

#### **4.1.1 Matéria-Prima e Substância Química de Referência (SQR)**

A SQR de PZQ foi adquirida junto à Farmacopeia Brasileira, sendo empregada como referência nas análises que exigiram a identificação e quantificação do PZQ nos sistemas microparticulados.

Praziquantel matéria-prima, foi gentilmente fornecido pelo laboratório Farmanguinhos, Rio de Janeiro (RJ), colaborador do projeto, sendo este material empregado na preparação das micropartículas.

#### **4.1.2 Matrizes poliméricas**

Os polímeros Eudragit E100, RL 100 e L30D 55, foram empregados como matrizes poliméricas no desenvolvimento dos sistemas microparticulados, sendo gentilmente fornecidos pela empresa Evonik® Brasil.

#### **4.1.3 Sistemas lipídicos e tensoativos**

O sistema lipídico, óleo de castanha do Brasil, usado como núcleo das microcápsulas, foi gentilmente fornecido pela empresa Inovam Brasil, enquanto o triglicerídeo de cadeia média (TCM), também usado com núcleo oleoso foi adquirido junto ao mercado local (Brasquim, Porto Alegre, Brasil).

Os tensoativos utilizados no desenvolvimento das formulações foram o polissorbato 80 e o polaxamer, Labsynth (São Paulo, Brasil), ambos com características não-iônicas.

#### **4.1.4 Aparelhos e equipamentos**

- Balança Analítica – AND – HM-202
-

- Agitador magnético – Velp Científica - Are
- Ultraturrax – T25 Basic – Ika-Werke
- Centrífuga de Eppendorff – Centrifuge 5417R
- Mini spray-drier – Buchi B-290
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência – LC 20 AT, Shimadzu
- Zetasizer – nano-ZS modelo ZEN 3600, Malvern Instruments Limited
- Calorímetro – DSC 60, Shimadzu
- Dissolutor – Varian – VK 7010
- Mastersizer – Mastersizer 2000, Malvern Instruments Limited
- Microscópio eletrônico de varredura – JEM 1200, EXII
- Analisador de impedância Solartron 1260

#### **4.2 Adequação e validação de metodologia analítica para determinação de praziquantel contido em sistemas microparticulados**

As Farmacopeias Brasileira e Britânica apresentam em seus compêndios oficiais somente métodos para a determinação de PZQ na forma de insumo farmacêutico e comprimido oral. Além disso, a ausência de dados descritos na literatura para a avaliação do produto intermediário (suspensão e pó contendo as micropartículas), bem como o produto acabado propriamente dito (pó para suspensão extemporânea), tornou-se necessário o desenvolvimento de um método analítico para este fim.

O sistema cromatográfico utilizado consistiu em um cromatógrafo a líquido da empresa Shimadzu (Kyoto, Japan) composto de um modelo de bomba LC-20AT, detector de fotodiodo SPD-M20A (PDA), sistema controlador CBM 20A, sistema de degaseificação da fase móvel DGU-20A<sub>5</sub>, forno para coluna CTO-20AC e um sistema auto injetor SIL-20AC. Os dados foram adquiridos e processados através do software LC solution. As análises cromatográficas foram realizadas utilizando uma coluna de fase reversa C18 (250 mm x 4,6 mm, tamanho de partícula 5 µm) mantida a 25°C. A fase móvel consistiu de uma mistura de água:acetonitrila (60:40, v/v). A vazão da fase móvel foi de 1,5 mL/min e o volume de injeção foi de 10 µL. A detecção foi realizada a 210 nm.

A partir destas condições analíticas foi proposto e validado um único método de doseamento tanto para a suspensão inicial, formada no processo de obtenção das micropartículas, como para o pó obtido após a secagem. O mesmo método foi utilizado para avaliar o teor de PZQ na formulação final, na forma de pó para ressuspensão oral, como da amostra já ressuspensa em água.

A validação do método foi realizada de acordo com a RE 899 de 2003 e o ICH 2005, avaliando-se os seguintes parâmetros: especificidade, linearidade, repetibilidade, precisão, exatidão e robustez, a fim de avaliar os diferentes processos envolvidos no desenvolvimento das formulações, bem como para a análise do produto acabado.

#### **4.3 Avaliação da solubilidade do PZQ na presença dos sistemas lipídicos e etanol**

As avaliações da solubilidade do PZQ em TCM, óleo de castanha do Brasil e etanol foram realizadas com a finalidade de avaliar a capacidade destas soluções de solubilizarem o fármaco e, posteriormente, esta informação ser utilizada nos estudos de pré-formulação. A metodologia utilizada foi através da adição do fármaco, em excesso, a fim de saturar os solventes, em tubos de ensaio contendo 2,0 mL de cada solvente, mantidos sob agitação magnética durante um período de 24 horas. Estes tubos permaneceram em banho-maria com o propósito de manter a temperatura sob controle durante o ensaio.

O teste foi realizado em três diferentes temperaturas: 25 °C, 37 °C e 45 °C, a fim de avaliar a influência da temperatura na solubilidade do fármaco e também tendo em vista a definição de temperatura ideal a ser aplicada no método de preparo das micropartículas, para se obter uma maior eficiência no processo de encapsulação do fármaco. As amostras foram preparadas em duplicata para avaliação dos três polímeros candidatos a matriz polimérica: Eudragit E 100, RL 100, L30D-55.

Após este período de tempo, as amostras foram submetidas à centrifugação a 5000 rpm durante 15 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi coletado e transferiu-se 25,0 µL para balão volumétrico de 50 mL, adicionou-se 20 mL de etanol e em seguida completou-se o volume do balão com fase móvel. Após filtração em

membrana de celulose 0,45  $\mu\text{m}$ , as amostras foram analisadas por CLAE de acordo com as condições do método descritas no item 4.2.

#### **4.4 Teste de intumescimento dos polímeros Eudragit E100, RL 100 e L30D-55**

Guterres e colaboradores (2000) propuseram, pela primeira vez, a determinação do intumescimento do polímero pelos componentes do núcleo oleoso, como metodologia para avaliação da adequabilidade de polímeros e óleos para a formulação de nanocápsulas. Uma vez que os constituintes das matrizes poliméricas são muito semelhantes, tanto para nano como para micropartículas, optou-se por aplicar esta metodologia na avaliação das matrizes poliméricas a serem utilizadas no preparo dos sistemas microparticulados contendo PZQ.

Para a obtenção dos filmes poliméricos dos dois primeiros polímeros Eudragit E100 e RL 100, foi necessário solubilizar, separadamente, cada um dos polímeros em etanol. Inicialmente pesou-se aproximadamente 5,0 g de cada polímero e dissolveu-se em 50 mL de etanol grau analítico. Após transferiu-se as soluções de cada um dos polímeros para placas de Petri, seguido de repouso, à temperatura ambiente, até completa evaporação do solvente e, assim, ocorrer a formação de um filme polimérico. Por outro lado, para a obtenção dos filmes do polímero Eudragit L30D 55, por este já se tratar de uma suspensão do polímero em água, simplesmente transferiu-se uma quantidade equivalente a 3,0 g do polímero para placas de Petri, seguido de repouso, à temperatura ambiente, até completa evaporação do solvente e então formação do filme.

Os filmes formados foram cortados em pedaços de aproximadamente 1,0 g e colocados em contato com diferentes matrizes lipídicas, como o TCM e o óleo de castanha do Brasil, e armazenados protegidos da luz. Os filmes foram afastados do contato com o óleo, secos suavemente com papel absorvente e pesados em balança analítica nos tempos 0, 1, 2, 4, 7, 14, 21 e 28 dias. Após cada secagem e pesagem os filmes eram recolocados em contato com a matriz oleosa, para dar continuidade ao teste.

## **4.5 Desenvolvimento de micropartículas poliméricas contendo PZQ**

Após a avaliação da solubilidade do PZQ, item 4.3, e da seleção dos polímeros e sistemas oleosos mais adequados, de acordo com o item 4.4., deu-se início aos estudos de desenvolvimento das formulações. Para esse desenvolvimento inicial levou-se em consideração o uso de três sistemas poliméricos com diferentes características de solubilização e conseqüente liberação do ativo: Eudragit RL 100, o qual possui características de liberação em função do tempo; Eudragit E100 e L30D-55, os quais apresentam liberação em relação ao pH do meio em que se encontram, sendo que o primeiro solubiliza-se em pH levemente ácido e o segundo em valores próximos ao neutro a levemente básico.

A partir de então duas estratégias de obtenção de sistemas microparticulados foram propostas a fim de obter uma melhor condição na inibição do sabor desagradável do fármaco. A primeira delas foi através da obtenção de microcápsulas poliméricas, na qual o ativo encontra-se dissolvido em um núcleo lipofílico e envolto por um filme polimérico. A segunda estratégia trata-se de microesferas, sistema onde o fármaco permanece associado diretamente a matriz polimérica.

Sendo assim, ambas as propostas de sistemas microparticulados foram preparados utilizando-se uma variação da técnica de deposição do polímero pré-formado, a fim de se obter partículas na escala micrométrica e conseqüentemente aumentar a carga de fármaco por partícula. Após esta etapa inicial as suspensões contendo os sistemas microparticulados passaram por um processo de secagem, por spray-drying, com o objetivo de obter as micropartículas na forma de pó.

### **4.5.1 Preparo das micropartículas poliméricas**

- **Preparação das microcápsulas poliméricas**

Para o preparo das microcápsulas, de acordo com a adaptação proposta ao método de deposição interfacial do polímero pré-formado, inicialmente a fase orgânica foi preparada em um béquer onde os polímeros selecionados foram previamente solubilizados, separadamente, em etanol. Permanecendo sob agitação constante e a uma temperatura controlada de 45 °C. Após completa solubilização e homogeneização, a matriz oleosa foi adicionada seguida pelo fármaco. Esta solução

permaneceu sob agitação por 10 minutos até completa homogeneização de todos seus constituintes.

Em um segundo béquer, a fase aquosa foi preparada através da solubilização do agente tensoativo de elevado EHL, polissorbato 80 ou polaxamer, juntamente com o adjuvante de secagem, Aerosil, mantidos também a 45 °C. A escolha do meio aquoso levou em consideração as características de solubilização dos polímeros. Para as micropartículas desenvolvidas a partir do polímero E100, a solução aquosa utilizada foi o ácido clorídrico 0,01M, a fim de manter a estabilidade do sistema formado pelas micropartículas em suspensão. Já para a produção das micropartículas formadas pelo polímero L30D-55, o meio aquoso escolhido foi hidróxido de sódio 0,05M, com a mesma finalidade de manter o equilíbrio quando em suspensão. Como não ocorre o problema de incompatibilidade em função do pH para as amostras contendo o polímero RL 100, estas foram preparadas usando apenas água.

- **Preparação das microesferas poliméricas**

No desenvolvimento das microesferas, a técnica utilizada foi a mesma da obtenção das microcápsulas, porém retirou-se a matriz oleosa que estava presente na fase orgânica.

Em ambos os casos, logo após a homogeneização de cada uma das fases, injetou-se a fase orgânica, com auxílio de uma seringa de 100 mL, no interior da fase aquosa, (Figura 5). Durante a adição manteve-se a fase aquosa sob agitação com auxílio de um homogeneizador, modelo Ultra-Turrax®, na velocidade de 30000 rpm, durante 10 minutos.

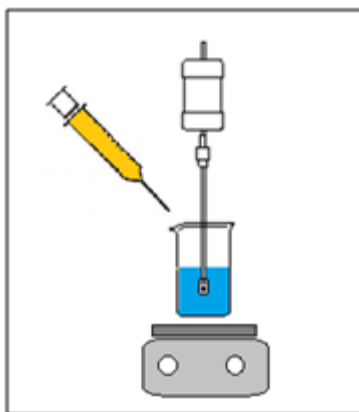


Figura 5. Esquemática da adição da fase orgânica na fase aquosa.



Após este procedimento, as emulsões obtidas contendo as micropartículas passaram por um processo de secagem por aspersão, a fim de se obter um pó com a presença dos sistemas microparticulados previamente formados. Para isso utilizou-se um mini spray-drier, modelo Buchi B-290, configurado com os seguintes parâmetros de secagem: temperatura de entrada em 140 °C; temperatura de saída em 80 °C; percentual de aspiração em 100% e fluxo da bomba em 5 mL/minuto.

Os materiais secos obtidos após a secagem foram caracterizados para selecionar as pré-formulações mais promissoras quanto à capacidade de associar o fármaco ao polímero e, conseqüentemente, fornecer o desejado mascaramento do sabor desagradável do PZQ.

Portanto, propôs-se o desenvolvimento de diversos sistemas microparticulados a fim de avaliar o comportamento de cada matriz polimérica, bem como as diferentes concentrações dos principais constituintes destes sistemas, para que se pudesse alcançar o máximo de carga e associação do fármaco ao polímero. Para isto, foram preparadas diferentes propostas de microcápsulas com o polímero RL 100, e microcápsulas e microesferas com os polímeros E100 e L30D-55.

#### **4.5.1.1 Formulações contendo micropartículas formadas pelo polímero RL 100**

Primeiramente procurou-se desenvolver formulações com o polímero tempo dependente RL 100, tendo em vista que a liberação do ativo a partir das micropartículas se daria ao longo do tempo, o que poderia promover uma retenção inicial do fármaco e, assim, o não aparecimento do seu sabor desagradável no momento da administração por via oral. Somente depois de ingerido que o PZQ seria liberado a partir do sistema microparticulado para que pudesse ser absorvido *in vivo*.

Para isto, quatro propostas de sistemas microparticulados foram previamente preparadas, onde variaram-se as quantidades de polímero e fármaco, a fim de obter uma máxima carga e eficiente associação do ativo ao polímero. Sendo assim, temos inicialmente: fase orgânica: RL 100, triglicérido de cadeia média (TCM), e PZQ. Na fase aquosa testou-se dois agentes tensoativos não-iônicos, poloxamer e polissorbato 80, porém as quantidades de ambos foram as mesmas, diluídos em água, conforme Tabela 1.

Tabela 1. Composição das formulações contendo microcápsulas de PZQ formadas pelo polímero RL 100.

<b>Composição</b>	<b>Formulação</b>			
	<b>MC-RL100 (1)</b>	<b>MC-RL 100 (2)</b>	<b>MC-RL100 (3)</b>	<b>MC-RL100 (4)</b>
<b>Fase orgânica</b>				
Eudragit RL100 (g)	3,0	2,0	3,0	2,0
TCM (mL)	3,0	3,0	3,0	3,0
PZQ (g)	0,5	0,5	0,3	0,3
Etanol (mL)	30,0	30,0	30,0	30,0
<b>Fase aquosa</b>				
Polissorbato 80 (g)	-	0,1	-	0,1
Polaxamer (g)	0,1	-	0,1	-
Água (mL)	70,0	70,0	70,0	70,0

O preparo das formulações seguiu conforme descrito no item 4.5.1., onde foi adicionada a fase orgânica sobre a fase aquosa, sob agitação constante e em seguida realizou-se a secagem por aspersão.

#### 4.5.1.2 Formulações contendo micropartículas formadas pelo polímero E 100

Uma alternativa com relação à escolha de um novo sistema polimérico foi a utilização do polímero E100, um copolímero catiônico à base de metacrilato de dimetilaminoetilo, metacrilato de butilo e metacrilato de metilo (2:1:1). De acordo com o pretendido, diferentes propostas de formulações foram desenvolvidas variando quantitativamente os seguintes constituintes da fase orgânica: Eudragit E100 e triglicerídeo de cadeia média, porém mantendo a mesma concentração do ativo. Na fase aquosa, a presença de um único agente tensoativo não-iônico, polissorbato 80, diluído em HCl 0,1N, foi utilizado. As formulações propostas para as microcápsulas e microesferas formadas pelo polímero E 100 estão demonstradas nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

Tabela 2. Composição das formulações contendo microcápsulas de PZQ formadas pelo polímero E100.

<b>Composição</b>	<b>Formulação</b>			
	<b>MC-E100 (1)</b>	<b>MC-E100 (2)</b>	<b>MC-E100 (3)</b>	<b>MC-E100 (4)</b>
<b>Fase orgânica</b>				
Eudragit E100 (g)	4,0	4,0	3,0	3,0
TCM (mL)	3,0	2,0	3,0	2,0
PZQ (g)	0,5	0,5	0,5	0,5
Etanol (mL)	30,0	30,0	30,0	30
<b>Fase aquosa</b>				
Polissorbato 80 (g)	0,1	0,1	0,1	0,1
HCl 0,1 (mL)	70	70	70	70

Tabela 3. Composição das formulações contendo microesferas de PZQ, formadas pelo polímero E100.

<b>Composição</b>	<b>Formulação</b>		
	<b>ME-E100 (1)</b>	<b>ME-E100 (2)</b>	<b>ME-E100 (3)</b>
<b>Fase orgânica</b>			
Eudragit E100 (g)	3,0	4,0	5,0
PZQ (g)	0,5	0,5	0,5
Etanol (mL)	30,0	30,0	30,0
<b>Fase aquosa</b>			
Polissorbato 80 (g)	-	-	-
Polaxamer (g)	0,1	0,1	0,1
HCl 0,1M (mL)	70,0	70,0	70,0

O preparo das formulações seguiu conforme descrito no item 4.5.1., onde adicionou-se a fase orgânica sobre a fase aquosa, sob agitação constante. As suspensões obtidas contendo as micropartículas foram logo em seguida encaminhadas a secagem por aspersão.

#### 4.5.1.3 Formulações contendo micropartículas formadas pelo polímero L30D 55

Assim como apresentado no item anterior, dois tipos de microestruturas foram novamente desenvolvidas, microcápsulas e microesferas. Diferentes formulações foram avaliadas variando quantitativamente os seguintes constituintes na fase orgânica: Eudragit L30D55, TCM e o PZQ. Já na fase aquosa manteve-se o mesmo tensoativo não-iônico em todos os testes e na com a mesma proporção. Nas microcápsulas, a matriz do núcleo lipídico está presente na formulação, o que não ocorre com as formulações de microesferas. As Tabelas 4 e 5 trazem a composição qualitativa e quantitativa para cada uma das propostas.

Tabela 4. Composição das formulações contendo microcápsulas de PZQ formadas pelo polímero L30D 55.

<b>Composição</b>	<b>Formulação</b>			
	<b>MC-L30D (1)</b>	<b>MC-L30D (2)</b>	<b>MC-L30D (3)</b>	<b>MC-L30D (4)</b>
<b>Fase orgânica</b>				
Eudragit L30D55 (g)	4,0	4,0	3,0	3,0
TCM (mL)	3,0	2,0	3,0	2,0
PZQ (g)	0,5	0,5	0,5	0,5
Etanol (mL)	30,0	30,0	30,0	30,0
<b>Fase aquosa</b>				
Polissorbato 80 (g)	0,1	0,1	0,1	0,1
NaoH 0,05M (mL)	70,0	70,0	70,0	70,0

O preparo de ambas as formulações seguiu conforme descrito no item 4.5.1., onde adicionou-se a fase orgânica diretamente no interior da fase aquosa, sob agitação magnética constante, seguido de homogeneização em Utraturax® e posterior secagem por aspensão.

Tabela 5. Composição das formulações contendo microesferas de PZQ formadas pelo polímero L30D 55.

<b>Composição</b>	<b>Formulação</b>		
	<b>ME-L30D (1)</b>	<b>ME-L30D (2)</b>	<b>ME-L30D (3)</b>
<b>Fase única</b>			
Eudragit L30D55 (g)	5,0	5,0	5,0
PZQ (g)	0,5	0,3	0,2

#### 4.6 Caracterização das formulações desenvolvidas

As suspensões contendo o fármaco associado às micropartículas poliméricas, formadas a partir dos três diferentes tipos de polímeros foram caracterizadas de acordo com:

- Taxa de associação fármaco/polímero;
- Potencial zeta;
- Distribuição do tamanho de partícula.

Para o pó obtido após a secagem de cada uma das formulações propostas realizou-se a caracterização de acordo com:

- Doseamento;
- Rendimento
- Taxa de associação fármaco/polímero;
- Distribuição do tamanho de partículas;
- Microscopia eletrônica de varredura;
- Liberação *in vitro*.

##### 4.6.1 Doseamento

A concentração de PZQ no pó contendo as micropartículas foi determinada por CLAE utilizando coluna com fase estacionária de octadecilsílica – C18 (250 x 4,6 mm), tamanho de partícula – 5 µm (X-Bridge Waters ®). Foi construída a curva

analítica do PZQ em fase móvel. A partir de solução estoque de 0,5 mg/mL de PZQ em etanol, foram preparadas diluições correspondentes às concentrações de 25 – 175 µg/mL. Cada uma das soluções resultantes foi filtrada em membrana de acetato de celulose (Millipore®) com poros de 0,45 µm de diâmetro e analisadas por CLAE. A detecção do PZQ foi feita em detector PDA com comprimento de onda de 210 nm utilizando acetonitrila:água (60:40, v/v) como fase móvel, fluxo de 1,5 mL/min., volume de injeção de 10 µL. Cada formulação pesada, foi dissolvida em etanol de modo a obter uma concentração teórica final de 100 µg/mL.

#### 4.6.2 Rendimento

O rendimento do processo de secagem foi calculado a partir do somatório das massas dos componentes utilizados na preparação dos sistemas microparticulados (exceto os líquidos). Este valor foi comparado com a quantidade total de pó obtido após o processo de secagem. O rendimento total foi calculado de acordo com a Equação 1 e expresso em percentagem.

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Massa de todos os componentes (g)}}{\text{massa total do pó (g)}} \times 100$$

#### 4.6.3 Taxa de associação fármaco/polímero

A taxa de associação do fármaco ao polímero, tanto para as micropartículas inicialmente em suspensão como após a secagem, em cada formulação desenvolvida, foi calculada com base na relação entre a concentração real total e a experimental de PZQ obtida na fase externa de uma dispersão previamente preparada da amostra, em um meio adequado à característica de solubilidade do polímero, para que não houvesse uma solubilização deste durante a realização do ensaio e sim do fármaco que não estivesse associado ao sistema polimérico.

A partir dos resultados de doseamento obtidos para o pó, pesou-se o equivalente a 2,50 mg de PZQ na amostra e transferiu-se para balão volumétrico de 25 mL, utilizando-se como diluente HCl 0,1M ou tampão fosfato pH 6,8, de acordo

com o tipo de polímero formador da micropartículas. Após realizada esta etapa, transferiu-se 1,0 mL da amostra para um *ependorf* contendo uma membrana com diâmetro de poro de 10.000 Da. A amostra foi centrifugada a 8000 rpm durante 10 minutos a 20 °C. A fase externa, que permeia a membrana foi então coletada e analisada por CLAE de acordo com método previamente validado, sendo expressa em porcentagem. A taxa de associação (TA) foi determinada pela medida da concentração do PZQ livre no meio aquoso das dispersões de micropartículas após ultracentrifugação e subsequentemente calculada a partir da Equação 2:

$$TA (\%) = 100 - \frac{\text{Concentração do filtrado da amostra } (\mu\text{g/mL})}{\text{Concentração real da amostra } (\mu\text{g/mL})} \times 100$$

A quantificação do PZQ nas dispersões de micropartículas foi determinada por CLAE de acordo com o item 4.2.

#### 4.6.4 Potencial Zeta

A maioria das partículas em contato com um líquido adquire uma carga elétrica na sua superfície. Este potencial elétrico é chamado de potencial zeta e é influenciado pelas mudanças na interface com o meio dispersante, em razão da dissociação de grupos funcionais na superfície da partícula ou da adsorção de espécies iônicas presentes no meio aquoso de dispersão (HEURTAULT, *et al.*, 2003; SCHAFFAZICK, *et al.*, 2003).

O potencial zeta das suspensões contendo as micropartículas, de cada uma das formulações, foi obtido por meio da técnica de espalhamento de luz dinâmico (Zetasizer® nano-ZS modelo ZEN 3600, Malvern) após diluição de 500 vezes em NaCl 10mM previamente filtrada em membrana de 0,45 µm. Os resultados foram obtidos através da média de três determinações, calculando-se os valores médios e os respectivos desvios padrões.

#### **4.6.5 Diâmetro médio e índice de polidispersão**

Os métodos usuais utilizados para a determinação da distribuição de tamanho das micropartículas são baseados em espectroscopia de correlação fotônica, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e/ou microscopia eletrônica de transmissão (MET). As determinações do diâmetro médio e do índice de polidispersão das suspensões, das diferentes formulações foram realizadas pelo equipamento se Mastersize® 2000, Malvern. Todas as análises foram realizadas em triplicata. As amostras contendo os polímeros Eudragit RL 100, E100 e L30D 55 foram diluídas com água Milli'Q, tampão fosfato pH 6,8 e ácido clorídrico 0,01M, respectivamente, antes de cada medição. Os resultados foram obtidos através da média de três repetições.

#### **4.6.6 Avaliação da redispersibilidade dos pós**

A capacidade de redispersão das amostras após suspensão foi mensurada utilizando-se Mastersize® 2000. Foi empregada a via úmida utilizando como meio redispersante tampão pH 6,8, para as formulações contendo E100, devido a característica do polímero de não liberação do fármaco em pH acima de 5,5. Já para as formulações empregando L30D 55, o qual apresenta características de não liberação em pH inferiores a 5,0, utilizou-se como meio redispersante HCl 0,01M. Estas condições foram aplicadas a fim de avaliar a alteração do tamanho das partículas presentes em cada uma das amostras anteriormente selecionadas. Cada amostra foi colocada no amostrador e em tempos determinados (0,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 min.) o diâmetro foi medido. O tempo zero foi adotado para a leitura feita na amostra quando ela era adicionada ao amostrador.

#### **4.6.7 Avaliação morfológica das micropartículas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

A forma e a superfície das micropartículas obtidas foram medidas em Microscópio Eletrônico de Varredura Jeol Scanning Microscope JSM-6060 em modo Alto Vácuo. O estudo foi feito após secagem da amostra em temperatura ambiente (25 °C), adsorvida sobre pino de alumínio e fixada com auxílio de fita de carbono.



Em seguida as amostras foram metalizadas em ouro e analisadas em aumentos entre 1000 a 10000 vezes.

#### 4.6.8 Liberação *in vitro*

Os perfis de dissolução *in vitro* foram realizados a fim de avaliar a liberação do PZQ, a partir da matriz polimérica em diferentes meios de dissolução com relevância fisiológica e que indicassem o grau de solubilização do PZQ, tanto para avaliar a capacidade do sistema microparticulado, inicialmente, em reter o fármaco, como posteriormente em liberá-lo, quando da preparação extemporânea dos pós. Neste contexto:

- a) *Micropartículas formadas pelo polímero Eudragit E100*: inicialmente foram submetidas a perfis de dissolução em meios com características de pH próximo a neutralidade, tampão fosfato de potássio pH 6,8. Esta condição foi usada para avaliar a capacidade dos sistemas microparticulados em manterem-se estáveis e assim limitar a liberação do ativo para o meio. A segunda avaliação foi realizada em meio de dissolução com característica do pH mais ácido, ácido clorídrico 0,1M. Este ensaio, ao contrário do anterior, foi realizado para garantir que haveria uma eficiente liberação do fármaco a partir da matriz polimérica e estivesse disponível para ser dissolvido no meio em questão.
- b) *Micropartículas formadas pelo polímero Eudragit L30D 55*: inicialmente foram submetidas a perfis de dissolução em meios com características de pH levemente ácido, ácido clorídrico 0,1 M. Esta condição foi usada para avaliar a capacidade dos sistemas microparticulados em manterem-se estáveis e assim limitar a liberação do ativo para o meio. A segunda avaliação foi realizada em meio de dissolução com característica do pH mais neutros, tampão fosfato de potássio pH 6,8. Este ensaio, ao contrário do anterior, foi realizado para garantir que haveria uma eficiente liberação do fármaco a partir da matriz polimérica e este estivesse disponível para ser dissolvido no meio em questão.

Estas avaliações prévias são necessárias para garantir que, inicialmente, quando reconstituído, como proposto para forma de dosagem final, não haja uma liberação do ativo para o meio aquoso, o que poderia afetar o sabor da formulação. E também, para comprovar que após a administração por via oral, ou seja, quando atingir o trato gastrointestinal, haja a liberação do ativo e esse esteja disponível para ser absorvido.

Os estudos foram realizados em um dissolutor Vankel® VK 7010, equipado com multi-banho (n = 8), amostrador múltiplo automatizado VK 8000 e bomba peristáltica bidirecional. Foi utilizado o aparato USP II, pá, a uma velocidade de 50 rpm.

#### **4.6.9 Análise térmica por calorimetria exploratória diferencial (DSC)**

As análises por calorimetria diferencial exploratória (DSC) foram realizadas em calorímetro exploratório diferencial Shimadzu modelo DSC-60, sob atmosfera de nitrogênio. Os termogramas foram adquiridos e avaliados através do software TA acquisition. Desse modo, foram obtidos os termogramas das formulações contendo as micropartículas, do ativo somente, da mistura física dos componentes, bem como do placebo das formulações, a fim de avaliar a cristalinidade e identificar possíveis modificações na estrutura das micropartículas.

Como suporte de amostra foi empregado um cadinho de alumínio e como referência um similar vazio. A massa da amostra foi de aproximadamente 2,00 mg. As razões de aquecimento e resfriamento utilizadas foram de 10 °C min<sup>-1</sup>. Convencionalmente, adotou-se como endotérmico a disposição dos picos indicados no sentido descendente. Neste estudo, a investigação do comportamento térmico das amostras seguiu o seguinte procedimento: aquecimento entre 25 °C a 250 °C, seguido de resfriamento até 30 °C e posterior reaquecimento até 250 °C.

#### **4.7 Desenvolvimento da forma farmacêutica pó para suspensão de uso oral contendo micropartículas de PZQ**

Após a realização da caracterização dos pós contendo as micropartículas poliméricas com PZQ, selecionou-se o sistema microparticulado mais promissor com

relação ao mascaramento do sabor do fármaco. A partir de então, desenvolveu-se diferentes formulações para vincular as micropartículas à forma farmacêutica pó para suspensão de uso oral.

Para o desenvolvimento das formulações orais foi necessário produzir os sistemas microparticulados em maior escala. Sendo assim, foram produzidos dois lotes maiores, aumentando-se a quantidade de suspensão no processo de secagem. Com o objetivo de se ter um controle de qualidade entre os lotes e avaliar as possíveis interferências do escalonamento, se fez necessário realizar uma avaliação destas micropartículas produzidas, sendo analisadas com relação ao teor, diâmetro médio da partícula e índice de polidispersão, além da eficiência de encapsulação. Os resultados referentes à avaliação destes dois lotes encontram-se no Anexo I.

A fim de auxiliar no mascaramento do sabor do fármaco residual, ou seja, a porção de ativo não associado à matriz polimérica, e assim, promover uma melhoria na palatabilidade da formulação, dois edulcorantes extensivamente utilizados na indústria de medicamentos e alimentos foram selecionados: aspartame e sacarina. Adicionalmente, a sacarose também foi utilizada como edulcorante auxiliar, além de também agir como diluente na fórmula. Estes foram adicionados em cada formulação associados, para que se pudesse garantir ao máximo que o sabor do fármaco não associado fosse inibido ou mascarado. Assim, realizaram-se diferentes proporções das combinações sacarose/aspartame e sacarose/sacarina.

Para cada uma das formulações também foi preparado o seu respectivo placebo, a fim de demonstrar que a presença do fármaco realmente é o fator determinante do amargor. Além disso, preparou-se um sistema onde todos os componentes formadores das micropartículas, incluindo o PZQ, foram misturados mecanicamente, ou seja, sem haver a formação das microestruturas, obtendo assim apenas uma mistura física entre todos os componentes.

O preparo da forma farmacêutica pó para suspensão oral iniciou com a pesagem individual de cada um dos componentes da formulação. Em seguida foram adicionados um a um em gral de porcelana, de acordo com o método da diluição geométrica de pós. Com auxílio de um pistilo, cada componente da formulação foi triturado a fim de obter um tamanho de partícula uniforme e uma distribuição homogênea. Após todos adjuvantes serem triturados e

homogeneizados, foi adicionado o pó contendo os sistemas microparticulados, sendo homogeneizado cuidadosamente até a obtenção de um pó fino e uniforme.

#### **4.7.1 Seleção dos componentes das formulações**

Uma preocupação relevante com as formulações é quanto ao valor do pH que elas devam apresentar após serem reconstituídas com água. Uma vez que, os sistemas microparticulados selecionados são formados pelo polímero L30D-55, e este quando em condições de neutralidade já apresentaria uma liberação antecipada do PZQ. Sendo assim, se torna necessário que o pH da formulação final, após reconstituição em água, tenha características levemente ácidas. Levando em consideração este aspecto relacionado ao pH, também é necessário que o pó apresente as características ideais de uma suspensão, como: sedimentar lentamente e redispersar facilmente com a agitação suave do recipiente; não formar sedimento duro não dispersível (caking) no fundo do frasco; não produzir o fenômeno de crescimento cristalino e apresentar características de um sistema defloculado. Para alcançar estes objetivos os seguintes adjuvantes foram selecionados: Lauril Sulfato de Sódio, Goma Xantana, Ácido Cítrico, Ácido Maleico, Sacarose, Sacarina e Aspartame.

#### **4.7.2 Desenvolvimento de formulação contendo MC de PZQ e aspartame como edulcorante auxiliar**

Uma primeira estratégia para mascarar um possível sabor residual do fármaco, uma vez que parte deste pode não estar completamente associado à matriz polimérica e, portanto, na forma livre poderia ocasionar um certo sabor desagradável, buscou-se uma alternativa que pudesse auxiliar na melhora da palatabilidade da formulação e suprimir este sabor residual. Sendo assim, optou-se pelo uso de edulcorantes que são largamente usados em produtos farmacêuticos e, historicamente, um dos mais utilizados é o aspartame. A escolha do aspartame justifica-se pelo fato de apresentar um poder edulcorante aproximado de 180-200 vezes maior do que a sacarose. A sacarose presente na formulação também possui essa função, porém, pode também ser utilizada como um diluente, fornecendo um volume maior de pó a ser reconstituído.

A partir destas necessidades, foi proposto o desenvolvimento de três formulações com diferentes quantidades de aspartame. A primeira com uma concentração intermediária deste edulcorante, portanto, sendo considerada a formulação central ou *FAS(0)*. Variações na concentração do aspartame foram realizadas com o objetivo de avaliar se um aumento ou diminuição da sua concentração influenciariam na capacidade de mascaramento do sabor da formulação. Então, formulações com 50% a menos e 50% a mais da quantidade de aspartame inicial foram preparadas e denominadas *FAS(-1)* e *FAS(+1)*, respectivamente.

Para cada uma destas três formulações propostas também foi realizado uma formulação placebo, onde o pó contendo as microcápsulas de PZQ foi substituído por outro que passou pelo mesmo processo de obtenção das micropartículas que continham o fármaco, porém, sem a presença do ativo. Assim, mantivemos qualitativamente e quantitativamente a mesma proporção de cada um dos componentes da formulação. Formulações placebo com três níveis de aspartame também foram realizadas, portanto, para a formulação central, *PAS(0)*, temos a concentração intermediária de aspartame, *PAS(-1)* apresenta a 50% a menos e *PAS(+1)* 50% a mais do edulcorante.

Com o objetivo de garantir que nenhum dos componentes presentes na formulação final possa causar o mascaramento total do fármaco, ou seja, que a supressão do sabor esteja sendo causada devido a presença de alguma substância da fórmula e não que o mascaramento esteja ocorrendo porque o PZQ está associado a matriz polimérica, uma mistura física de todos os componentes da formulação, incluindo o fármaco, foi realizada. Da mesma forma que para as formulações anteriores, três níveis de concentração de aspartame foram utilizados, assim temos *MAS(0)*, com uma concentração intermediária do aspartame; *MAS(-1)* com 50% a menos e *MAS(+1)*, que contém 50% a mais em relação concentração inicial do edulcorante.

As Tabelas de 6 a 14 trazem detalhadamente cada uma das formulações propostas, com cada um dos seus componentes, respectivas concentrações e porcentagens.

Tabela 6. Formulação com uma quantidade de aspartame considerada ideal, FAS(0).

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Pó MC PZQ	1,200	50,0
LSS	0,024	1,0
Goma Xantana	0,036	1,5
Ác. Cítrico	0,048	2,0
Ác. Maleico	0,060	2,5
Sacarose	0,792	33,0
Aspartame	0,240	10,0
Total	2,400	100,0

Tabela 7. Formulação com uma quantidade de aspartame com 50% a menos da considerada ideal, FAS(-1).

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Pó MC PZQ	1,200	50,0
LSS	0,024	1,0
Goma Xantana	0,036	1,5
Ác. Cítrico	0,048	2,0
Ác. Maleico	0,060	2,5
Sacarose	0,912	38,0
Aspartame	0,120	5,0
Total	2,400	100,0

Tabela 8. Formulação com uma quantidade de aspartame com 50% a mais da considerada ideal, FAS(+1).

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Pó MC PZQ	1,200	50,0
LSS	0,024	1,0
Goma Xantana	0,036	1,5
Ác. Cítrico	0,048	2,0
Ác. Maleico	0,060	2,5
Sacarose	0,672	28,0
Aspartame	0,360	15,0
Total	2,400	100,0

Tabela 9. Placebo da formulação com uma quantidade de aspartame considerada ideal, PAS(0).

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Placebo Pó	1,200	50,0
LSS	0,024	1,0
Goma Xantana	0,036	1,5
Ác. Cítrico	0,048	2,0
Ác. Maleico	0,060	2,5
Sacarose	0,672	33,0
Aspartame	0,360	10,0
Total	2,400	100,0

Tabela 10. Placebo da formulação com uma quantidade de aspartame com 50% a menos da considerada ideal, FAS(-1).

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Placebo Pó	1,200	50,0
LSS	0,024	1,0
Goma Xantana	0,036	1,5
Ác. Cítrico	0,048	2,0
Ác. Maleico	0,060	2,5
Sacarose	0,912	33,0
Aspartame	0,120	10,0
Total	2,400	100,0

Tabela 11. Placebo da formulação com uma quantidade de aspartame com 50% a mais da considerada ideal, FAS(+1).

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Placebo Pó	1,200	50,0
LSS	0,024	1,0
Goma Xantana	0,036	1,5
Ác. Cítrico	0,048	2,0
Ác. Maleico	0,060	2,5
Sacarose	0,672	33,0
Aspartame	0,360	10,0
Total	2,400	100,0



Tabela 12. Mistura física da formulação com uma quantidade de aspartame considerada ideal, FAS(0).

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Mistura Física	1,200	50,0
LSS	0,024	1,0
Goma Xantana	0,036	1,5
Ác. Cítrico	0,048	2,0
Ác. Maleico	0,060	2,5
Sacarose	0,672	33,0
Aspartame	0,360	10,0
Total	2,400	100,0

Tabela 13. Mistura física da formulação com uma quantidade de aspartame com 50% a menos da considerada ideal, FAS(-1).

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Mistura Física	1,200	50,0
LSS	0,024	1,0
Goma Xantana	0,036	1,5
Ác. Cítrico	0,048	2,0
Ác. Maleico	0,060	2,5
Sacarose	0,912	33,0
Aspartame	0,120	10,0
Total	2,400	100,0

Tabela 14. Mistura física da formulação com uma quantidade de aspartame com 50% a mais da considerada ideal, FAS(+1).

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Mistura Física	1,200	50,0
LSS	0,024	1,0
Goma Xantana	0,036	1,5
Ác. Cítrico	0,048	2,0
Ác. Maleico	0,060	2,5
Sacarose	0,912	33,0
Aspartame	0,120	10,0
Total	2,400	100,0

#### **4.7.3 Desenvolvimento de formulação contendo MC de PZQ e sacarina como edulcorante**

A fim de avaliar a presença de um segundo edulcorante a ser incorporado nas formulações propostas e que este pudesse fornecer um grau diferenciado de sabor em relação ao aspartame, a sacarina foi então selecionada, uma vez que chega ser 300 a 600 vezes mais doce que a sacarose. Assim como nas formulações com aspartame, a sacarina foi adicionada em diferentes níveis de concentração: baixo, médio e alto.

Para cada uma destas formulações propostas também foram preparadas formulações placebo correspondentes, com microcápsulas sem PZQ. Assim pode-se manter qualitativamente e quantitativamente a mesma proporção de cada um dos componentes na formulação.

Com o objetivo de garantir que nenhum dos componentes presentes na formulação final possa causar o mascaramento total do fármaco, ou seja, que a supressão do sabor esteja sendo causada devido a presença de alguma substância da fórmula e não que o PZQ esteja associado a matriz polimérica, uma mistura física de todos os componentes da formulação, incluindo o fármaco, foi realizada. A mistura física foi preparada pesando-se cada um dos componentes da formulação e,

em seguida, realizou-se a homogeneização com auxílio de gral e pistilo, até a obtenção de um pó fino e homogêneo.

Assim como ocorreu para as formulações no qual o aspartame era o edulcorante principal, as preparações contendo sacarina sódica também apresentaram três níveis de concentração. Portanto, para a formulação central, *FSS(0)*, temos a concentração intermediária de sacarina, *FSS(-1)* apresenta a 50% a menos e *FSS(+1)* 50% a mais do edulcorante. O mesmo princípio se aplicou no preparo dos placebos e das misturas físicas dos constituintes, assim temos respectivamente: *PSS(0)*, *PSS(-1)* e *PSS(+1)*; e *MSS(0)*, *MSS(-1)* e *MSS(+1)*.

As tabelas abaixo trazem detalhadamente cada uma das formulações propostas, com cada um dos seus componentes, respectivas concentrações e porcentagens.

Tabela 15. Formulação com uma quantidade de sacarina considerada ideal, *FSS(0)*.

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Pó MC PZQ	1,200	50,0
LSS	0,012	0,5
Goma Xantana	0,036	1,5
Ác. Cítrico	0,048	2,0
Ác. Maleico	0,060	2,5
Sacarose	1,052	43,0
Sacarina	0,012	0,5
Total	2,400	100,0

Tabela 16. Formulação com uma quantidade de sacarina com metade da considerada ideal, FSS(-1).

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Pó MC PZQ	1,200	50,0
LSS	0,012	0,5
Goma Xantana	0,036	1,5
Ác. Cítrico	0,048	2,0
Ác. Maleico	0,060	2,5
Sacarose	1,058	43,2
Sacarina	0,006	0,3
Total	2,400	100,0

Tabela 17. Formulação com uma quantidade de sacarina com dobro da considerada ideal, FSS(+1).

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Pó MC PZQ	1,200	50,0
LSS	0,012	0,5
Goma Xantana	0,036	1,5
Ác. Cítrico	0,048	2,0
Ác. Maleico	0,060	2,5
Sacarose	1,046	43,6
Sacarina	0,018	0,8
Total	2,400	100,0

Tabela 18. Placebo da formulação com uma quantidade de sacarina considerada ideal, PSS(0).

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Placebo Pó	1,200	50,0
LSS	0,012	0,5
Goma Xantana	0,036	1,5
Ác. Cítrico	0,048	2,0
Ác. Maleico	0,060	2,5
Sacarose	1,052	43,0
Sacarina	0,012	0,5
Total	2,400	100,0

Tabela 19. Placebo da formulação com uma quantidade de sacarina com metade da considerada ideal, PSS(-1).

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Placebo Pó	1,200	50,0
LSS	0,012	0,5
Goma Xantana	0,036	1,5
Ác. Cítrico	0,048	2,0
Ác. Maleico	0,060	2,5
Sacarose	1,058	43,2
Sacarina	0,006	0,3
Total	2,400	100,0

Tabela 20. Placebo da formulação com uma quantidade de sacarina com dobro da considerada ideal, PSS(+1).

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Placebo Pó	1,200	50,0
LSS	0,012	0,5
Goma Xantana	0,036	1,5
Ác. Cítrico	0,048	2,0
Ác. Maleico	0,060	2,5
Sacarose	1,046	43,2
Sacarina	0,018	0,3
Total	2,400	100,0

Tabela 21. Mistura física da formulação com uma quantidade de sacarina considerada ideal, MSS(0).

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Mistura Física	1,200	50,0
LSS	0,012	0,5
Goma Xantana	0,036	1,5
Ác. Cítrico	0,048	2,0
Ác. Maleico	0,060	2,5
Sacarose	1,052	43,0
Sacarina	0,012	0,5
Total	2,400	100,0

Tabela 22. Mistura física da formulação com uma quantidade de sacarina com metade da considerada ideal, MSS(-1).

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Mistura Física dos componentes	1,200 g	50,0 %
LSS	0,012 g	0,5 %
Goma Xantana	0,036 g	1,5 %
Ác. Cítrico	0,048 g	2,0 %
Ác. Maleico	0,060 g	2,5 %
Sacarose	1,058 g	43,2 %
Sacarina	0,006 g	0,3 %
Total	2,400 g	100,0%

Tabela 23. Mistura física da formulação com uma quantidade de sacarina com dobro da considerada ideal, MSS(+1).

<b>COMPOSIÇÃO</b>	<b>MASSA DOSE INDIVIDUAL (g)</b>	<b>COMPOSIÇÃO (%)</b>
Mistura Física dos componentes	1,200	50,0
LSS	0,012	0,5
Goma Xantana	0,036	1,5
Ác. Cítrico	0,048	2,0
Ác. Maleico	0,060	2,5
Sacarose	1,046	43,2
Sacarina	0,018	0,3
Total	2,400	100,0

#### **4.8 Armazenamento das formulações obtidas**

Após o preparo foi realizada uma pesagem das amostras a fim de serem adicionadas em um frasco adequado. Para isso utilizou-se frasco de vidro âmbar de 100 mL, com tampa plástica com rosca. A pesagem da amostra levou em consideração a dose de administração dos comprimidos de praziquantel disponíveis no mercado brasileiro. Uma vez que cada comprimido possui dosagem de 600 mg,

porém com a possibilidade de ser dividido em até quatro partes, ou seja em doses de 150 mg, o conteúdo total adicionado da formulação foi de 1,20 g de pó contendo as micropartículas de fármaco, o que corresponde a 150 mg de PZQ, a ser diluído em 60 mL de água.

#### **4.9 Caracterização das formulações orais desenvolvidas**

Cada uma das formulações desenvolvida, do tipo pó para suspensão oral, contendo as micropartículas poliméricas de PZQ foi avaliada quanto a dosagem do ativo, tanto para a forma em pó como após a reconstituição em água; determinação do tempo de sedimentação das partículas em suspensão; avaliação do pH e a capacidade em inibir o sabor do fármaco após reconstituição.

##### **4.9.1 Determinação do Teor de PZQ**

A avaliação da quantidade de ativo tanto quando na forma de pó como após a reconstituição foi realizada de acordo com o método descrito no item 4.2 e foi realizado para todas as formulações propostas contendo as micropartículas de PZQ. Para a análise do pó, transferiu-se aproximadamente 80 mg da formulação, para balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se no balão cerca de 70 mL de etanol P.A. e deixou-se em ultrassom por 30 minutos. Após, completou-se o volume do balão volumétrico com o mesmo solvente e homogeneizou-se a amostra; em seguida, esta foi filtrada em filtro de papel quantitativo. Finalmente, a amostra foi filtrada para vial com auxílio de filtro de celulose regenerada, com diâmetro de 0,45  $\mu\text{m}$ . A concentração final teórica da amostra foi de 100,0  $\mu\text{g/mL}$ .

Para o doseamento da suspensão, 4,0 mL da amostra reconstituída foram transferidos para balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se no balão cerca de 70 mL de etanol P.A. e deixou-se em ultrassom por 30 minutos. Após, completou-se o volume do balão volumétrico com o mesmo solvente e homogeneizou-se a amostra; em seguida, esta foi filtrada em filtro de papel quantitativo. Finalmente, a amostra foi filtrada para vial com auxílio de filtro de celulose regenerada, com diâmetro de 0,45  $\mu\text{m}$ . A concentração final teórica da amostra foi de 100,0  $\mu\text{g/mL}$ .



Uma solução padrão de praziquantel também foi preparada para fins de comparação, na concentração teórica de 100 µg/mL. Este foi usado tanto para avaliação do teor do pó como da suspensão.

#### **4.9.2 Determinação do tempo de sedimentação das suspensões**

Para este ensaio, as suspensões de cada formulação proposta foram colocadas em provetas de vidro de 100 mL e deixadas em repouso sobre a bancada. Foi avaliada a formação de sedimento, em função do tempo, até o surgimento de um volume de sedimento constante (PRISTA *et al.*, 1995; LACHMAN *et al.*, 2001). A avaliação da sedimentação foi realizada por um período de 24 horas de repouso.

#### **4.9.3 Avaliação do pH das suspensões**

Cada uma das formulações desenvolvidas, após serem devidamente reconstituídas com auxílio de água, foram avaliadas quanto ao valor do pH da suspensão. Para essa medição utilizou-se peagâmetro digital previamente calibrado no dia da realização das análises e as leituras dos pHs das amostras foram avaliados em diferentes tempos: logo após a reconstituição (T0), após 10 (T10), 30 (T30) e 60 minutos (T60).

#### **4.9.4 Avaliação efetividade do mascaramento do sabor**

As amostras das formulações pó para suspensão oral contendo as micropartículas, seus respectivos placebo e mistura física contendo o fármaco e além dos flavorizantes sacarina, sacarose e aspartame foram preparadas usando água ultrapura Milli-Q de um sistema Millipore Direct-Q5.

A análise de cada uma das amostras foi realizada logo após a sua reconstituição. A avaliação do ativo isolado também foi realizada, pela dispersão de cerca 150 mg do fármaco em 60 mL de água. As amostras foram analisadas no Analisador de impedância Solartron 1260, nomeadamente conhecido como língua eletrônica.

#### 4.9.4.1 Funcionamento da Língua Eletrônica

Nas línguas eletrônicas baseadas em medidas de impedância elétrica, como a aplicada a este estudo, as unidades sensoriais são formadas por eletrodos interdigitados de ouro (ou platina) recobertos com filmes ultrafinos de diferentes materiais, e.g., polímeros condutores (RIUL *et al.*, 2003), polímeros naturais (DOS SANTOS, *et al.*, 2003), ftalocianinas (VOLPATI, *et al.*, 2008), biomoléculas (AOKI, *et al.*, 2010; SIQUEIRA, *et al.*, 2010).

Para a fabricação dos sensores, filmes finos foram depositados sobre eletrodos interdigitados (EI) de ouro, fabricados pela técnica de fotolitografia convencional no Laboratório de Microfabricação (LNNano, LNLS), (USP, São Carlos, Brasil), utilizando como substrato uma lâmina de vidro Bk7. Conforme esquematizado na Figura 6, o eletrodo contém 50 pares de dígitos ( $L = 3$  mm), cada dígito tem uma largura ( $w$ ) de  $10\ \mu\text{m}$ , espessura ( $h$ ) de  $120\ \text{nm}$  (20nm de cromo e 100 nm de ouro) e são separados entre si a uma distância ( $s$ ) de  $10\ \mu\text{m}$ .

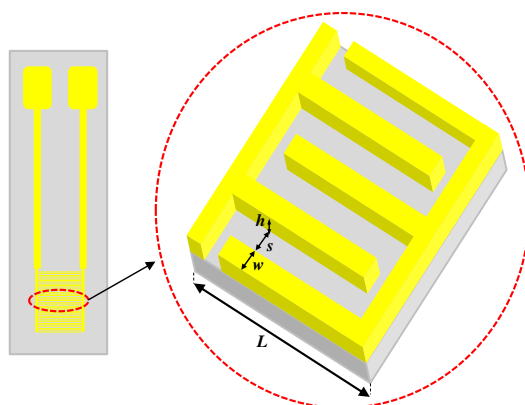


Figura 6. Esquema do eletrodo interdigitado de ouro com 50 pares de dígito.

Para a fabricação dos filmes que seriam depositados nos eletrodos EI foram preparadas soluções com concentração de  $0,5\ \text{mg/mL}$  de cada um dos materiais descritos na seção anterior (PEI, PSS, Chit, PPY, PANI, PEDOT:PSS e NiTsPc) em água ultrapura do sistema Millipore Direct-Q5 em  $\text{pH} = 3$ . A modificação da superfície dos eletrodos interdigitados (EI) de ouro foi realizada depositando filmes nanoestruturados pela técnica de automontagem LbL (do inglês *Layer-by-Layer*,) que consiste na imersão alternada do substrato em soluções catiônicas e aniônicas

formando filmes com multicamadas devido às interações eletrostáticas entre as espécies, conforme esquematizado na Figura 7.

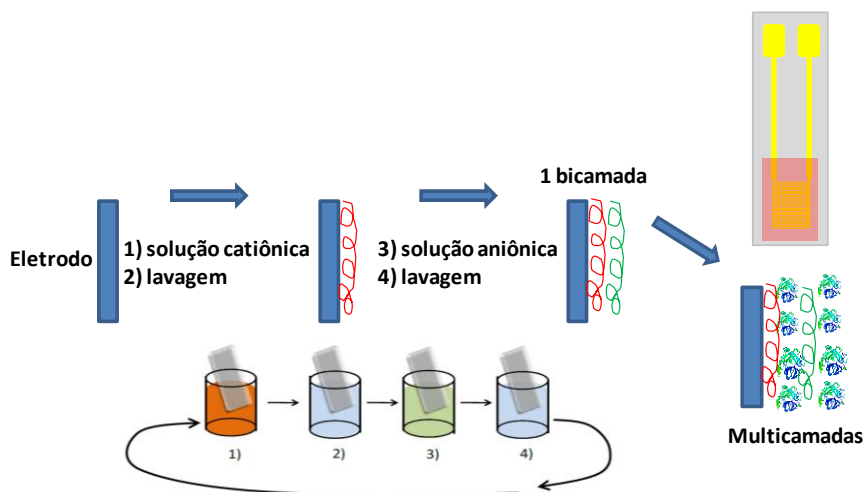


Figura 7. Esquema do processo de fabricação de filme pela técnica de automontagem, LbL.

Cinco unidades sensoriais foram fabricadas com 5-bicamadas de filme LbL utilizando as seguintes arquiteturas: *i*) (PEI/NiTSPc), *ii*) (PANI/PSS), *iii*) (PEI/PEDOT:PSS), *iv*) (PEI/PPY) e *v*) (Chit/PSS). Deve-se ressaltar que as soluções de PEDOT:PSS e PPY foram preparadas com 0,5 mol/L de cloreto de sódio (NaCl).



---

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

---

### 5.1 Validação da metodologia analítica

O principal objetivo da validação de um método analítico é demonstrar que este é apropriado para a finalidade pretendida. A validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto, deve apresentar linearidade, especificidade, precisão e exatidão adequadas à análise (BRASIL, 2003; ICH 2005).

#### 5.1.1 Especificidade

A especificidade é a capacidade que um método instrumental possui de medir exatamente um composto em presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz (BRASIL, 2003; ICH, 2005). Sendo assim, a fim de verificar possíveis interferentes presentes na formulação de praziquantel, a avaliação do placebo foi realizada, através da avaliação de seu espectro de absorção na região do UV – Visível.

Os cromatogramas demonstrados na Figura 8 representam: (A) substância química de referência PZQ; (B) placebo micropartículas de PZQ em suspensão; (C) placebo micropartículas de PZQ na forma de pó; (D) placebo micropartículas PZQ pó para suspensão oral; (E) placebo micropartículas PZQ após resuspensão em água. De acordo com a figura, nenhum dos excipientes presentes na formulação, tanto na forma inicial de obtenção das micropartículas, como na forma final de pó para suspensão oral, interfere na determinação do praziquantel, sendo confirmado pela análise de pureza de pico realizada através do detector de arranjo de diodos.

---

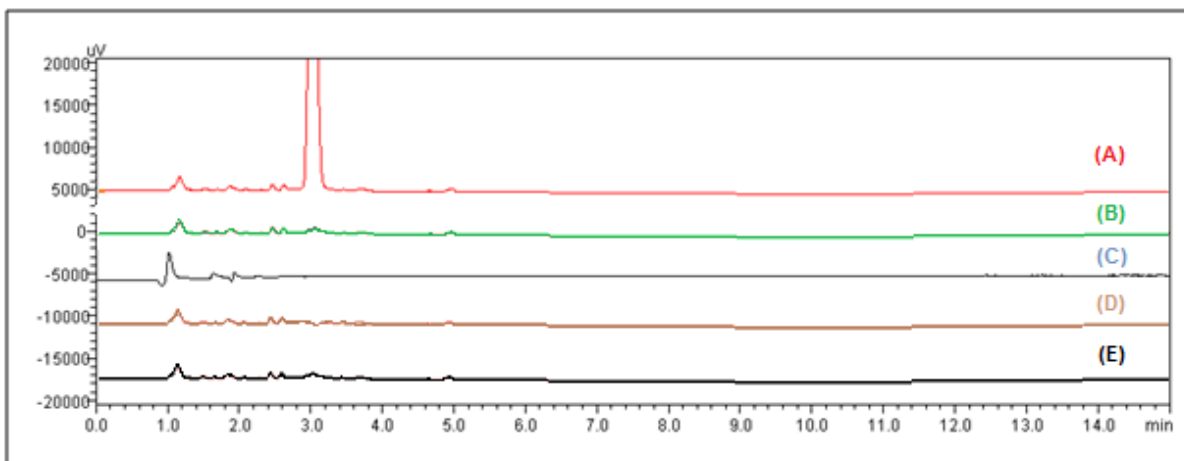


Figura 8. Especificidade. Cromatograma validação de doseamento PZQ. (A) Substância química de referência PZQ; (B) Placebo micropartículas de PZQ em suspensão; (C) Placebo micropartículas de PZQ na forma de pó; (D) Placebo micropartículas PZQ pó para suspensão oral; (E) Placebo micropartículas PZQ após resuspensão em água.

### 5.1.2 Linearidade

A linearidade corresponde à capacidade do método analítico em demonstrar que os resultados são diretamente proporcionais à concentração do analito dentro de um intervalo especificado. Deve ser avaliada através da construção de curvas padrão com, no mínimo, 5 níveis de concentração (BRASIL, 2003, RIBANI *et al.*, 2004; ICH, 2005; USP 34, 2011).

A linearidade do método foi determinada a partir da construção de três curvas analíticas de PZQ SQR contendo 7 níveis de concentração, realizada em três dias diferentes. As concentrações empregadas foram 25 µg/mL; 50 µg/mL; 80 µg/mL; 100 µg/mL; 120 µg/mL; 150 µg/mL e 175 µg/mL. Os valores obtidos para cada nível em cada um dos dias com seus respectivos desvios padrões estão representados na Tabela 24.

Tabela 24. Linearidade do PZQ SQR para os três diferentes dias e seus respectivos desvios padrões.

<b>Praziquantel SQR (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>N</b>	<b>Área do pico</b>	<b>Média</b>	<b>DPR (%)</b>
25,0	1	677346	680617	0,43
	2	682996		
	3	681510		
50,0	1	1344131	1355923	3,01
	2	1401361		
	3	1322276		
80,0	1	2158906	2165135	0,55
	2	2178945		
	3	2157554		
100,0	1	2713424	2722437	2,30
	2	2789176		
	3	2664710		
120,0	1	3289604	3312137	1,15
	2	3290795		
	3	3356012		
150,0	1	4070136	4000968	2,55
	2	4048750		
	3	3884019		
175,0	1	4549583	4539648	0,61
	2	4508539		
	3	4560822		

A Figura 9 demonstra a representação gráfica da curva de linearidade da concentração do padrão de praziquantel em função da área, bem como a equação linear e o coeficiente correlação linear (r).

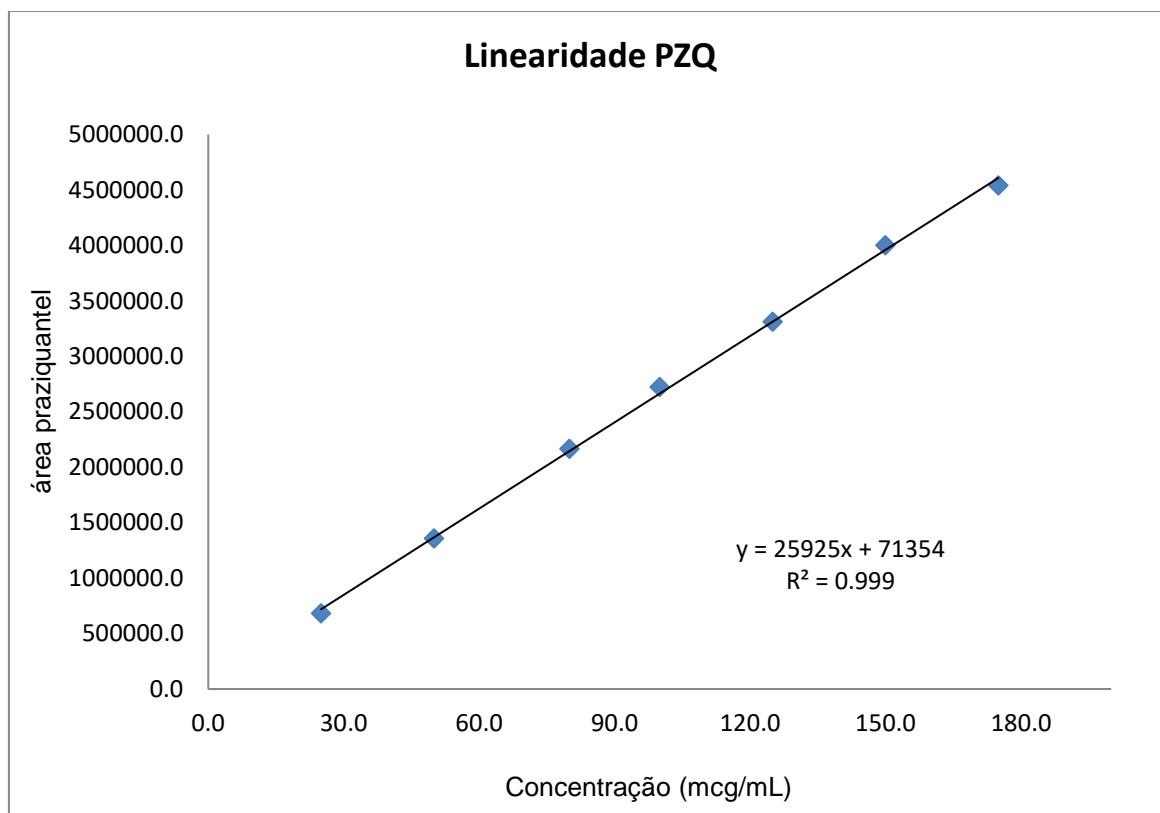


Figura 9. Representação gráfica da curva padrão média do praziquantel SQR.

A linearidade da curva padrão foi também avaliada através da estatística de regressão e da análise de variância (ANOVA) conforme a Tabelas 25 e 26, respectivamente.



Tabela 25. Estatística de Regressão linear para o praziquantel.

<b>ESTATÍSTICA DE REGRESSÃO</b>	
R múltiplo	0,998361064
R-Quadrado	0,996724814
R-quadrado ajustado	0,996552436
Erro padrão	77560,49772
Observações	21

Tabela 26. Análise de variância (ANOVA) da curva padrão do PZQ SQR.

	<b>gl</b>	<b>SQ</b>	<b>MQ</b>	<b>F</b>	<b>F de significação</b>
Regressão	1	3,4784E+13	3,48E+13	5782,197	4,49E-25
Resíduo	19	1,143E+11	6,02E+09		
Total	20	3,4898E+13			

Os resultados demonstram que a curva padrão obtida apresenta regressão linear significativa ( $p < 0,05$ ) e não apresenta desvio de linearidade ( $F_{cal} < F_{tab}$ ) no intervalo de 25,0  $\mu\text{g/mL}$  a 175,0  $\mu\text{g/mL}$  de PZQ.

Os dados obtidos foram plotados no gráfico de resíduos padronizados em função das concentrações das soluções padrão de Praziquantel, sendo apresentado na Figura 10.

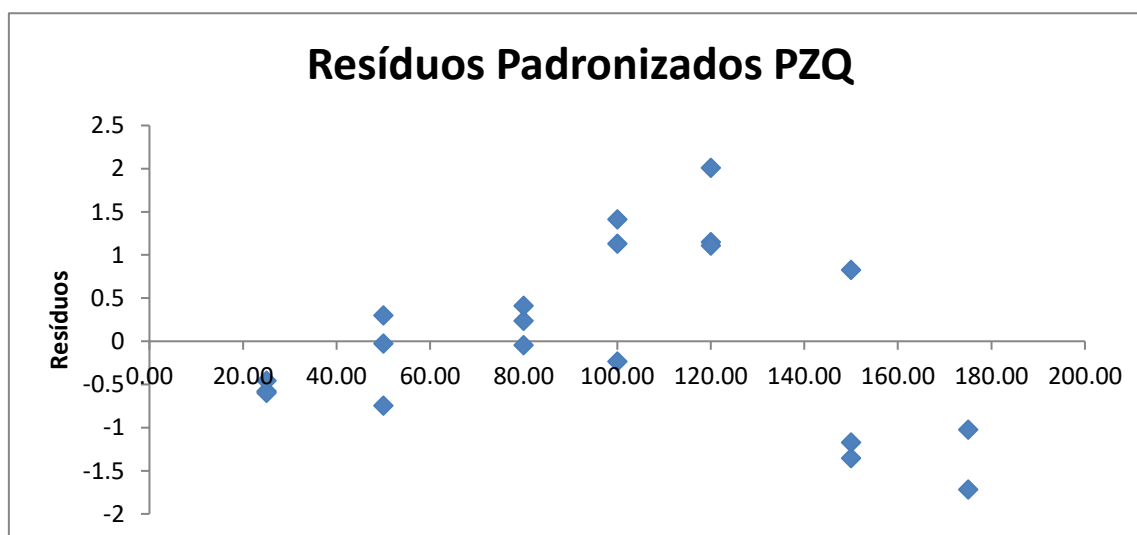


Figura 10. Representação gráfica da distribuição dos resíduos padronizados para curva padrão do praziquantel SQR.

Através da análise dos gráficos de resíduos padronizados, denota-se que os mesmos estão distribuídos aleatoriamente, indicando que o modelo de regressão utilizado para análise dos dados está adequado. Deste modo, pode-se dizer que o método apresenta linearidade dentro do intervalo de 25 a 175% da concentração alvo.

### **5.1.3 Precisão**

A precisão é a dispersão dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de um mesmo material (BRASIL, 2003). Normalmente, é expressa como desvio padrão relativo (DPR) (FDA 1994; ICH 2005; USP 34, 2011). A precisão foi avaliada em dois níveis: repetibilidade e precisão intermediária.

A repetibilidade representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas dentro de um curto período de tempo, sob as mesmas condições, a precisão intermediária expressa a concordância dos resultados alterando-se dias, analistas ou equipamentos (BRASIL 2003; ICH 2005; USP 34, 2011).

A precisão do método foi avaliada através dos DPR da repetibilidade e da precisão intermediária. Os resultados obtidos estão representados na Tabela 27.

Tabela 27. Resultados obtidos para a precisão do método de doseamento por CLAE.

Concentração teórica (µg/mL)	Dia	Amostra	Teor (%)	Precisão	
				Intra-dia	Inter-dia
100,0	1	1	102,21	0,58%	
		2	101,47		
		3	102,48		
		4	100,89		
		5	101,35		
		6	101,55		
100,0	2	1	103,00	0,71%	0,19%
		2	101,45		
		3	100,97		
		4	101,82		
		5	102,23		
		6	102,43		
100,0	3	1	101,42	0,95%	
		2	100,94		
		3	100,14		
		4	100,05		
		5	102,56		
		6	101,68		

Os valores de DPR para a repetibilidade e para a precisão intermediária indicam que o método proposto apresenta repetibilidade quando executado mais de uma vez no mesmo dia e sua análise é precisa quando realizada em diferentes dias e por diferentes analistas, estando de acordo com o especificado pela ANVISA (DPR menor que 5,0%).

#### 5.1.4 Exatidão

A exatidão de um método analítico é a proximidade dos resultados obtidos pelo método desenvolvido em relação a um valor aceito como verdadeiro (BRASIL, 2003, RIBANI *et al.*, 2004). É expressa em termos de percentagem da quantidade medida da substância em relação à quantidade de amostra adicionada (FDA, 1994; ICH, 2005; USP 34, 2011).

Para avaliar a exatidão do método foram adicionadas quantidades conhecidas de praziquantel no placebo em solução. As concentrações finais avaliadas correspondem à 80%, 100% e 120% da concentração de trabalho (100 µg/mL). A porcentagem de recuperação foi calculada por meio da razão entre a concentração média experimental e a concentração teórica. Os valores experimentais obtidos são apresentados na Tabela 28.

Tabela 28. Valores experimentais obtidos na determinação da exatidão do método por CLAE.

Faixa de concentração	Amostra	Concentração adicionada de PZQ (µg/mL)	Concentração observada de PZQ (µg/mL)	Recuperação (%)	Média (%)
80%	1	80,53	82,03	101,86	100,95
	2	80,92	80,84	99,90	
	3	80,72	81,59	101,08	
100%	1	100,20	101,93	101,73	101,21
	2	100,89	101,68	100,78	
	3	100,45	101,58	101,12	
120%	1	120,35	123,14	102,32	102,66
	2	120,74	124,09	103,11	
	3	120,69	123,77	102,55	
Média				101,61	
DPR				0,97	

De acordo com os resultados obtidos para a recuperação do padrão adicionado, apresentado nas três faixas de concentração avaliada forneceu valores entre 98,0 e 102,0%, logo, pode-se concluir que o método proposto é exato para a determinação de PZQ.

### 5.1.5 Robustez

A robustez de um método mede a capacidade de fornecer resultados confiáveis mesmo com pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos (FDA, 1994; BRASIL, 2003; ICH, 2005). Para avaliar a robustez do método por CLAE realizou-se modificações na vazão e na composição da fase móvel e avaliou-se

tanto os parâmetros cromatográficos como a recuperação da amostra submetida ao teste de robustez em relação à amostra descrita no método.

#### 5.1.5.1 Variações na vazão e composição da fase móvel

A Tabela 29 demonstra os parâmetros cromatográficos obtidos na avaliação da robustez, para as modificações realizadas na vazão e na composição da fase móvel.

Tabela 29. Variação na vazão da fase móvel. Parâmetros cromatográficos referentes ao pico do PZQ obtidos na robustez do método.

Condições	Tempo de retenção	Assimetria	Fator capacidade	Nº de pratos teóricos	Área	Recuperação (%)
Inicial	3,1 min	1,15	2,01	13521	2788594	100,16
Vazão 0,9 mL/min	3,9 min	1,18	2,05	14186	2760335	101,10
Vazão 1,1 mL/min	2,2 min	1,11	1,90	10435	2800938	100,73
ACN: Água (78:22)	2,2 min.	1,2	1,45	10834	2699433	98,53
ACN: Água (82:18)	4,0 min.	1,31	2,05	12865	2754971	99,16

Em ambas as condições avaliadas, em comparação com a condição inicial, podemos verificar que os parâmetros cromatográficos do pico do PZQ sofreram pequenas alterações, permanecendo sempre dentro dos parâmetros considerados ideais para uma reprodutibilidade adequada do método, quando em presença de pequenos fatores que possam afetá-lo. Os valores de recuperação para cada uma das alterações permaneceram na faixa de 98,0 a 102,0%, isso demonstra a capacidade do método em responder de forma adequada às pequenas modificações propostas.

Uma vez que todos os resultados apresentados nesta validação mostraram-se dentro dos critérios de aceitação, considera-se que o método de doseamento do praziquantel presente em micropartículas poliméricas está validado para sua finalidade.

## 5.2 Avaliação da solubilidade do PZQ

Os resultados obtidos na avaliação da solubilidade do PZQ em diferentes condições de meio e temperatura estão demonstrados na Figura 11. De acordo com essa figura pode-se observar as elevadas taxas de solubilidade do fármaco quando presente em meio lipofílico, principalmente quando associado à elevação da temperatura a 45 °C, obtendo valores de concentração de: 43,28 mg/mL e 36,42 mg/mL para TCM e óleo de castanha do Brasil, respectivamente. Estas elevadas taxas se devem principalmente a característica lipofílica apresentada pelo fármaco, corroborando com os dados apresentados no Index Merck, 1996 e na Farmacopeia Brasileira 5 ed.

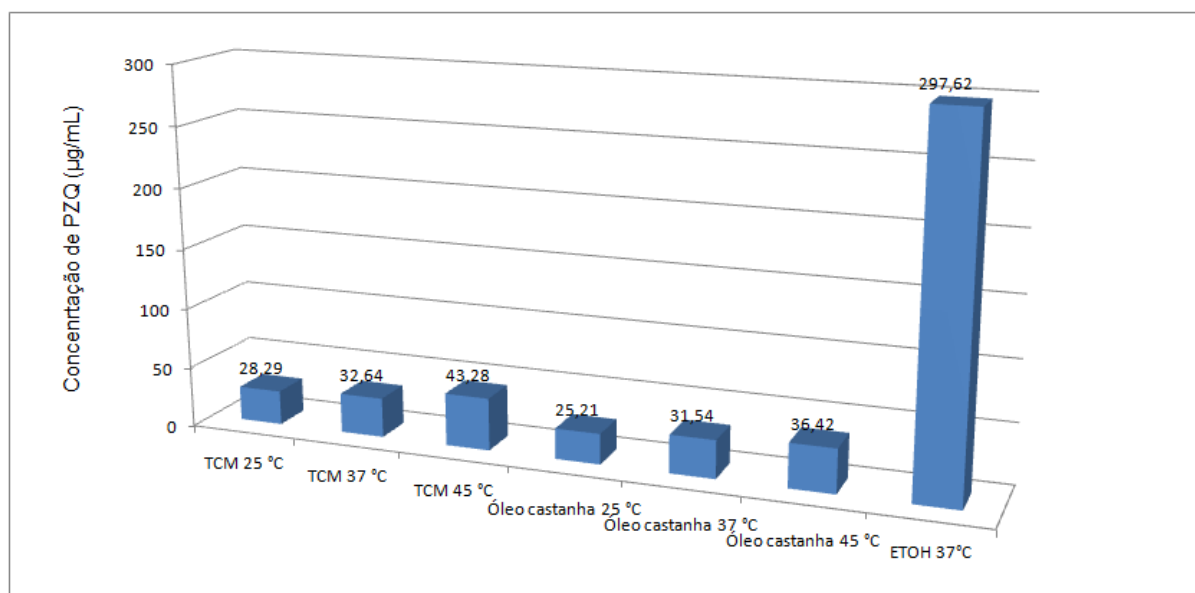


Figura 11. Avaliação da solubilidade do PZQ em diferentes meios.

Além disso, a elevada solubilidade apresentada pelo fármaco quando em presença de etanol, aproximadamente 300 mg/mL, ratifica os dados apresentados pelas Farmacopeias Brasileira e Britânica, que consideram o fármaco facilmente solúvel neste solvente. Isto demonstra a possibilidade da formação de um sistema cosolvente que pode ser exercido pela associação de etanol juntamente com a matriz lipídica. Isto possibilitaria uma maior adição/ incorporação de PZQ ao sistema microparticulado e, conseqüentemente, resultar em aumento de dose. Essa

condição se torna interessante uma vez que o tratamento requer doses elevadas do fármaco e em muitas ocasiões aplicadas uma única vez.

### 5.3 Teste de intumescimento dos polímeros

Conduziu-se o teste de intumescimento das matrizes poliméricas com o objetivo de avaliar cada polímero selecionado quanto à capacidade de permanecerem inalterados quando em presença de um sistema lipídico, ou seja, não propiciar inchamento ou dissolução das matrizes poliméricas quando em contato com os componentes do núcleo oleoso. Isto poderia acarretar em um rompimento do revestimento e, subsequente, liberação do ativo antes de período considerado adequado e, assim, proporcionar o sabor amargo característico do fármaco. Portanto, procedeu-se conforme descrito no item 4.4 para a avaliação dos polímeros RL100, E100 e L30D-55. A Figura 12 demonstra as variações de massa dos polímeros após diferentes tempos de contato com o TCM.

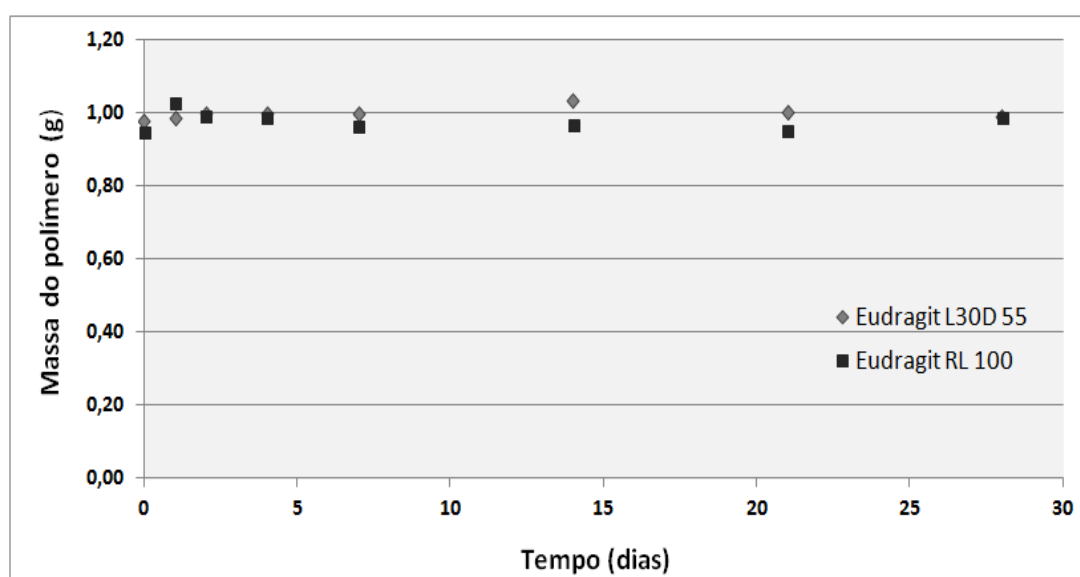


Figura 12. Massa dos polímeros Eudragit L30D 55 e RL 100 após contato com TCM por um período de 28 dias.

Inicialmente pode-se observar que a Figura 12 não traz resultados referentes ao filme polimérico obtido com o polímero Eudragit E100, pois a avaliação foi interrompida logo após 24 horas de contato com o TCM. Isto ocorreu devido a sua completa solubilização quando em contato com a matriz lipídica, sendo assim

desconsiderou-se o uso deste óleo com esta matriz lipídica devido à incompatibilidade de ambos. Com relação as massas dos demais polímeros, estas permaneceram constantes por um período de 28 dias indicando a não solubilização ou intumescimento destes polímeros pelo TCM, o que poderia levar a uma liberação do fármaco indevida. Também pode-se observar que as massas dos filmes poliméricos, nos primeiros dias, sofreram um discreto aumento de peso (inferior a 10%), porém isto não é relevante, já que isto ocorre devido à quantidade residual de óleo aderido ao filme que não pode ser completamente retirado com papel absorvente. Portanto, pode-se concluir que um núcleo oleoso formado por TCM pode ser empregado em microcápsulas formadas por filmes poliméricos compostos de Eudragit RL100 e L30D-55, sem comprometer a estabilidade da formulação.

A fim de não descartar a utilização do Eudragit E100, outros compostos oleosos foram testados, de forma que poderiam ser utilizados como núcleo em microcápsulas, como o óleo de castanha do Brasil, óleo de urucum e de pequi. A Figura 13 demonstra as variações de massa do polímero após contato com estes sistemas oleosos por um período de 28 dias.

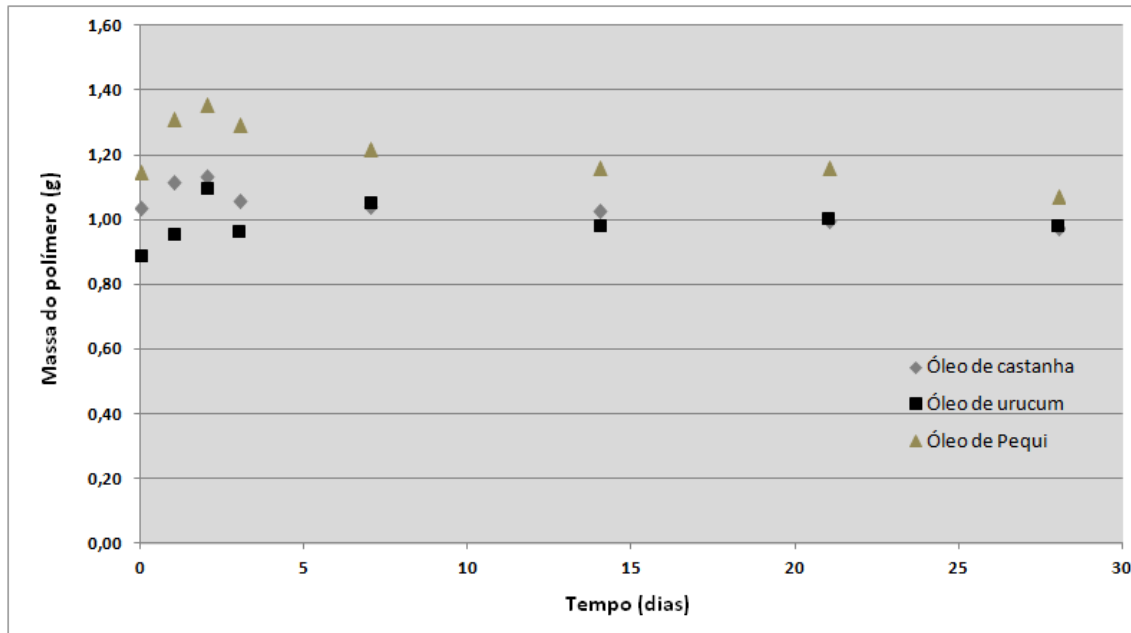


Figura 13. Massa do polímero Eudragit E 100 após contato com óleo de castanha, urucum e pequi, por um período de 28 dias.

De acordo com a Figura 13, pode-se observar que nos primeiros dias houve um acréscimo de massa (inferior a 10%), assim como ocorreu anteriormente, devido



à quantidade residual de óleo aderido ao filme polimérico, o qual não pode ser completamente removido com o papel absorvente. No decorrer do tempo as massas permaneceram praticamente constantes, por um período de 28 dias, indicando a não solubilização do polímero em nenhuma das matrizes oleosas em que esteve em contato. Assim, podemos sustentar o polímero Eudragit E100 como uma alternativa no preparo de microcápsulas, desde que em presença de um destes três sistemas oleosos avaliados. De acordo com estes resultados e dos testes de solubilidade demonstrados na Figura 11, selecionou-se o óleo de castanha do Brasil para fazer parte dos sistemas microparticulados formados pelo Eudragit E100.

#### **5.4 Obtenção das micropartículas formadas pelos polímeros Eudragit RL 100, E 100 e L30D 55**

Existem vários métodos descritos na literatura para a produção de micropartículas poliméricas, como: a coacervação, a nebulização, a evaporação de solvente, a polimerização interfacial em meio líquido, a preparação em leito fluidizado e a extrusão (THIES, 1996). Porém, a escolha da técnica mais adequada depende da solubilidade do fármaco e do material de revestimento, do tamanho de partícula desejado, da espessura e da permeabilidade ideal da membrana, bem como da velocidade de liberação. Sendo assim, as suspensões contendo micropartículas poliméricas, microcápsulas e microesferas, carreadoras do PZQ foram preparadas através da técnica modificada de deposição interfacial de polímero pré-formado (FESSI *et al.*, 1989), seguido de secagem por aspensão (*spray-drying*).

Diversos trabalhos realizados no desenvolvimento, tanto de sistemas nanoparticulados como microparticulados, empregando os polímeros Eudragit RL 100, E100 e L30D 55, vêm sendo realizados nos últimos anos com os mais diversos objetivos, como: preparar sistemas carreadores de fármaco a fim de promover uma liberação prolongada ou sustentada de um determinado fármaco (KRISTMUNDSDÓTTIR *et al.*, 1996; RATTES & OLIVEIRA, 2004), investigar parâmetros de processo que afetam as propriedades e a dissolução *in vitro* de fármacos (KHAMANGA *et al.*, 2009), bem como atuar como barreira no mascaramento do sabor desagradável de determinadas moléculas (SOLLOHUB *et al.*, 2011). De acordo com estas características, decidiu-se propor um sistema

microparticulado capaz de mascarar o sabor desagradável do PZQ, tendo em vista as especificações de liberação de cada um dos polímeros, conforme descrito a seguir:

- Eudragit RL 100, por se tratar de um polímero de liberação tempo dependente, a liberação do fármaco não deve ocorrer nos momentos iniciais, ou seja, no início do contato das micropartículas com o agente de suspensão, havendo a liberação somente após algum tempo, logo após a administração, no sistema gastrointestinal, evitando assim o contato direto do fármaco com as papilas gustativas no momento da administração.
- Eudragit E 100, é um polímero que apresenta característica de liberação do fármaco de acordo com o pH do meio em que se encontra. Quando em meios com pH inferior a 5,0, através do processo de intumescimento, este polímero promove a liberação do fármaco, porém quando em contato com meio com pH maior que 5,0, promove uma retenção do fármaco, não liberando o ativo para o meio. Característica ideal para o desenvolvimento de formulações com pH próximo ao neutro, e assim pode servir como uma barreira a fim de evitar o contato direto do fármaco com as papilas gustativas.
- Eudragit L30D 55, assim como o Eudragit E100, trata-se de um polímero de liberação pH dependente, porém com comportamento inverso em relação à liberação fornecida pelo E100. Quando o Eudragit L30D55 está em contato com um meio de pH inferior a 5,0, este promove a retenção do mesmo, não havendo a liberação do fármaco para o meio, porém quando em contato com meio de pH maior que 5,0 o fármaco é liberado. Comportamento ideal para o desenvolvimento de formulações levemente ácidas.

Levando-se em consideração os resultados apresentados a seguir para a caracterização de sistemas microparticulados, podemos afirmar que o método proposto para a produção destes sistemas, aliado as diferentes estratégias de comportamento da matriz polimérica, foi alcançado com sucesso. Sendo assim, foram preparados os seguintes sistemas poliméricos:

## 5.5 Taxa de associação fármaco-polímero

A quantificação da taxa de associação do PZQ às matrizes poliméricas empregadas foi realizada tanto para a suspensão contendo as micropartículas, antes do processo de secagem, como para o produto final obtido após a secagem, o pó.

Após separação de fases empregando ultracentrifugação com membrana filtrante, o filtrado contendo o fármaco livre foi analisado e quantificado por CLAE. A área obtida foi aplicada na equação da reta da curva analítica, determinando-se a quantidade de fármaco livre para cada uma das formulações desenvolvidas, este valor foi utilizado para os cálculos usando a Equação 1. As Tabelas 30, 31 e 32 apresentam os resultados para cada uma das formulações propostas de acordo com o tipo de polímero empregado.

Tabela 30. Taxa de associação (TA) do PZQ nas formulações de microcápsulas contendo o polímero RL 100.

<b>Formulação RL 100</b>		
Microcápsulas	TA (%) suspensão.	TA (%) pó
MC RL 100 (1)	52,5 ± 2,8	62,68 ± 3,7
MC RL 100 (2)	67,8 ± 3,3	68,15 ± 4,9
MC RL 100 (3)	64,1 ± 2,0	69,92 ± 4,0
MC RL 100 (4)	49,5 ± 3,7	65,25 ± 6,1

Tabela 31. Taxa de associação do PZQ nas formulações de microcápsulas e microesferas contendo o polímero E 100.

<b>Formulação E 100</b>					
Microcápsulas	TA susp.(%)	TA pó (%)	Microesferas	TA susp.(%)	TA pó (%)
MC E 100 (1)	54,1 ± 3,2	69,3 ± 3,5	ME E 100 (1)	55,3 ± 4,1	50,2 ± 4,5
MC E 100 (2)	44,8 ± 3,7	54,3 ± 5,2	ME E 100 (2)	50,9 ± 3,5	56,6 ± 3,8
MC E 100 (3)	57,2 ± 1,9	63,3 ± 5,1	ME E 100 (3)	66,9 ± 4,7	71,8 ± 6,3
MC E 100 (4)	45,5 ± 2,6	49,4 ± 3,9	-	-	-

Tabela 32. Taxa de associação do PZQ nas formulações das microcápsulas e microesferas contendo o polímero L30D 55.

<b>Formulação L30 D55</b>					
Microcápsulas	TA susp.(%)	TA pó (%)	Microesferas	TA susp.(%)	TA pó (%)
MC L30D (1)	66,4 ± 2,7	67,9 ± 4,5	ME L30D (1)	81,7 ± 2,6	79,7 ± 5,0
MC L30D (2)	60,1 ± 1,5	58,7 ± 2,9	ME L30D (2)	90,9 ± 2,8	94,7 ± 3,6
MC L30D (3)	88,1 ± 4,0	90,8 ± 2,4	ME L30D (3)	89,8 ± 3,3	92,5 ± 4,1
MC L30D (4)	88,3 ± 2,2	94,2 ± 3,0	-	-	-

De acordo com os valores obtidos de taxa de associação do fármaco à matriz polimérica, para todas as formulações testadas, com os três diferentes polímeros, pode-se observar que quando em suspensão, a associação do fármaco ao polímero apresenta valores inferiores quando comparado ao teste realizado com as amostras após secagem. Isto pode ocorrer devido a um processo onde parte do fármaco livre em suspensão adere a matriz polimérica no momento da secagem por aspensão. Ou seja, isto demonstra que a técnica de secagem se torna essencial para aumentar os níveis de associação do fármaco a matriz polimérica, conseqüentemente diminuir a porção de fármaco na forma livre e assim contribuir para melhora da palatabilidade dos sistemas microparticulados desenvolvidos.

Podemos observar também que os melhores resultados obtidos, com uma significativa taxa de associação (em torno de 90%) entre fármaco/polímero, ocorreram para as micropartículas poliméricas, microcápsulas e microesferas, contendo o polímero Eudragit L30D 55, principalmente: MC L30D (3) e (4) e ME L30D (2) e (3). Estes altos valores de agregação, quando comparados com os sistemas microparticulados formados a partir dos polímeros RL 100 e E100, nos levam a acreditar que estas propostas são as mais promissoras com relação a um possível mascaramento do sabor amargo do fármaco, portanto, foram selecionadas para dar prosseguimento aos ensaios de caracterização.

Entre tanto, mesmo sem apresentar elevados índices de associação entre fármaco e polímero (aproximadamente 70%), as micropartículas formadas pelo polímero Eudragit E100, MC E100 (1) e (3) e ME E100 (3), também foram selecionadas para avaliação nas etapas seguintes, com a finalidade de serem comparadas com as demais formulações selecionadas. Já as os sistemas

microparticulados obtidos com o polímero RL 100 foram desconsiderados, uma vez que apresentaram resultados considerados insatisfatórios de associação entre fármaco e polímero.

### 5.6 Diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta

Após as análises de eficiência de encapsulação e seleção dos sistemas microparticulados que acredita-se mais promissores, com relação ao mascaramento do sabor, realizou-se uma avaliação quanto ao diâmetro apresentado pelas partículas, a variação desta faixa de diâmetro e a carga elétrica que estas carregam em sua superfície.

A Tabela 33 relaciona as características de diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta para as suspensões obtidas das sete propostas de micropartículas selecionadas de acordo com resultados obtidos no item 5.5. Todos estes ensaios foram realizados em triplicata.

Tabela 33. Diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta das formulações selecionadas no item 5.4.

<b>Sistema Microparticulado</b>	<b><math>\varnothing</math> (<math>\mu\text{m}</math>) <math>\pm</math> DP</b>	<b>Span</b>	<b>Potencial <math>\xi</math> (mV) <math>\pm</math> DP</b>
MC E100 (1)	6,6 $\pm$ 0,44	1,65	+ 20,1 $\pm$ 0,08
MC E100 (3)	7,4 $\pm$ 0,55	0,85	+ 16,2 $\pm$ 0,11
ME E100 (3)	4,8 $\pm$ 0,52	1,74	+ 34,5 $\pm$ 0,07
MC L30D (3)	1,5 $\pm$ 0,52	1,59	- 21,3 $\pm$ 0,07
MC L30D (4)	1,1 $\pm$ 0,73	2,38	- 18,1 $\pm$ 0,10
ME L30D (2)	5,1 $\pm$ 0,54	1,71	- 30,1 $\pm$ 0,12
ME L30D (3)	4,0 $\pm$ 0,55	1,80	- 34,3 $\pm$ 0,09

As suspensões contendo tanto as microcápsulas como as microesferas formadas pelo polímero E 100, apresentaram diâmetros médios próximos entre si, principalmente para a MC E100 (3), com um valor de Span inferior a 1,0. Este

resultado indica a homogeneidade na distribuição do tamanho de partícula da amostra, como pode ser observado graficamente na Figura 14.

Já o índice de polidispersão para as MC E100 (1) e ME E100 (3), apresentaram valores entre 1,0 e 2,0; possivelmente devido ao fato da existência de uma subpopulação de partículas nanométricas, como demonstra o gráfico de distribuição de tamanho na Figura 14. Esta subpopulação pode estar relacionada com a presença do dióxido de silício, utilizado como adjuvante de secagem, que em excesso, permanece na forma livre após o processo de secagem.

Para as formulações obtidas com o polímero L30D 55, pode-se observar que o diâmetro médio das microesferas são superiores aos das microcápsulas. Isso pode ser devido às diferenças na forma de preparo dos dois sistemas, tendo em vista que a formulação das microesferas foi obtida a partir de uma única fase; já das microcápsulas, a partir da mistura da fase orgânica com a aquosa.

O índice de polidispersão foi semelhante para os dois sistemas poliméricos, ambos apresentando valores superiores a 1,0. Este valor mais elevado de dispersão pode ser visualizado na Figura 15, onde temos para a formulação MC L30D (3) duas populações de partículas, uma delas inclusive estando em escala nanométrica. No caso das formulações de microesferas, ME L30D (2) e ME L30D (3), uma segunda população também está presente, porém de forma não tão acentuada como descrito anteriormente. Novamente esta segunda população de partículas pode estar relacionada com a presença do dióxido de silício, que foi utilizado como adjuvante de secagem no processo por spray-drier.

Porém, o mais importante a se destacar é que a técnica proposta para obtenção de sistemas microparticulados foi eficiente, uma vez que todas as formulações avaliadas apresentaram tamanhos de partículas na escala micrométrica. Este fator era desejado, devido a necessidade de associar uma grande quantidade de ativo a matriz polimérica. O fato de se obter partículas na escala micrométrica a partir de uma adaptação da técnica descrita por Fessi e colaboradores em 1989, onde apenas nanopartículas eram produzidas, pode ser considerado um avanço e uma nova realidade na obtenção de micropartículas poliméricas.

A medida de potencial zeta pode ser utilizada para prever a estabilidade físico-química de suspensões e emulsões coloidais. O potencial zeta para as formulações formadas pelo polímero E 100 apresentou valores superiores à + 16,0 mV, sendo o valor positivo devido ao fato do polímero ser catiônico. Já para as formulações desenvolvidas com o polímero L30D 55, estas apresentaram valores superiores a – 18,0 mV, a carga negativa é em função de o polímero apresentar características aniônicas. Para ambas as propostas de matrizes poliméricas os valores obtidos podem ser considerados adequados e eficientes para manter o sistema que contém as micropartículas sem agregação e precipitação das microestruturas, uma vez que a carga presente na superfície leva a repulsão eletrostática, resultante da densidade da carga na superfície.

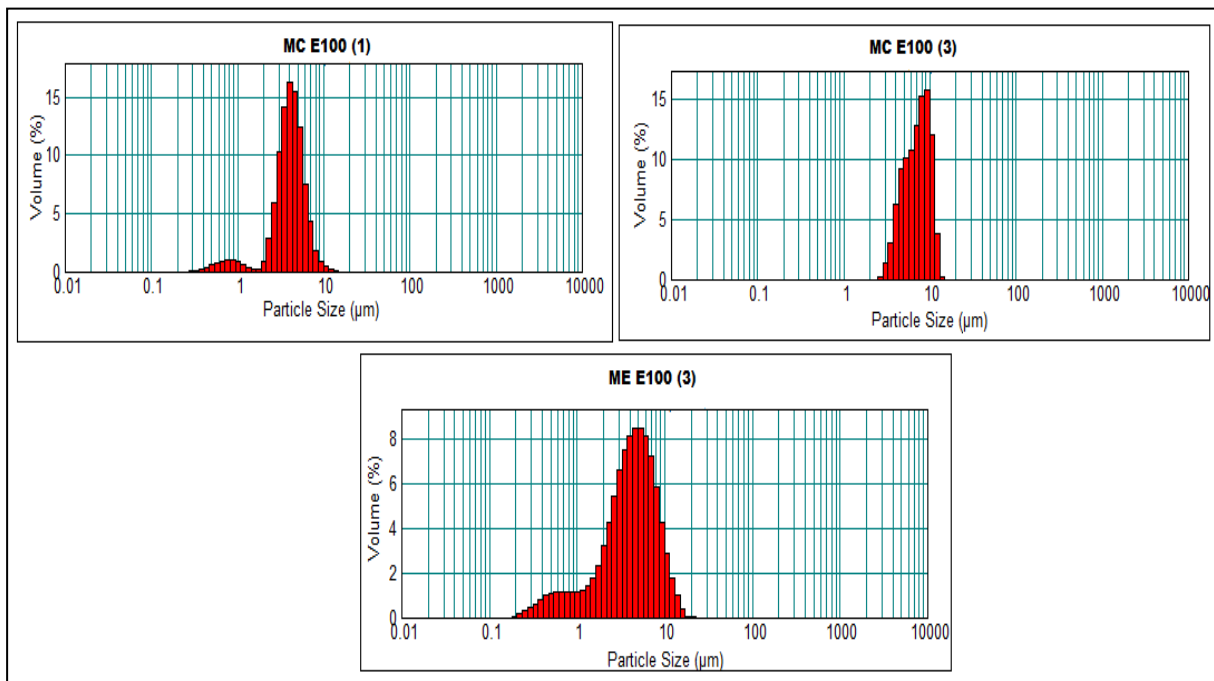


Figura 14. Índice de polidispersão das micropartículas poliméricas em suspensão, obtidas de acordo com as formulações MC E100 (1), MC E100 (3) e ME E100 (1).

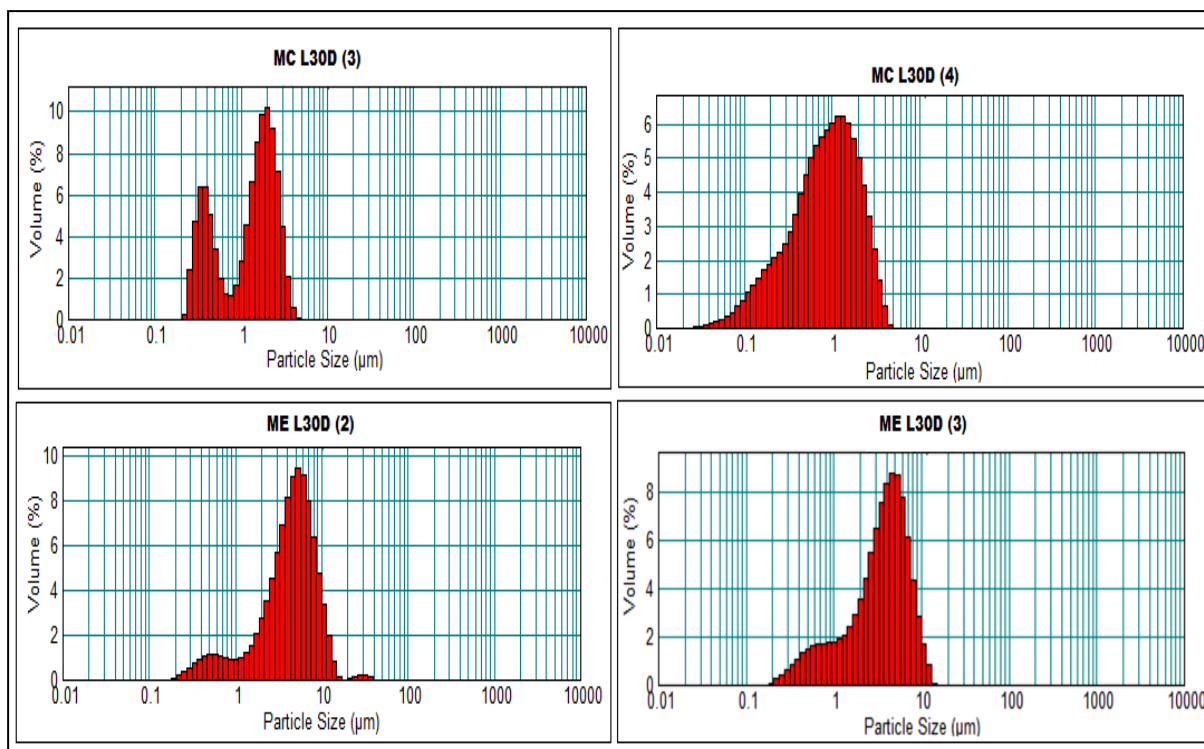


Figura 15. Índice de polidispersão das micropartículas poliméricas em suspensão, obtidas de acordo com as formulações MC L30D (3), MC L30D (4), ME L30D (2) e ME L30D (3).

### 5.7 Doseamento e Rendimento

O teor de PZQ foi avaliado para cada um dos sistemas microparticulados propostos. A finalidade deste ensaio consiste em obtermos de forma clara e precisa a quantidade de ativo que está incorporado as micropartículas poliméricas, tendo em vista as altas doses necessárias para se obter o efeito desejado e a necessidade de ajuste de dose de acordo com a massa corpórea do paciente. Assim, esta avaliação foi realizada nas micropartículas obtidas após o processo de secagem.

O rendimento obtido para cada um dos sistemas microparticulados também foi avaliado, a fim de podermos avaliar a eficiência do processo de secagem.

O resultado de teor para cada formulação e os valores obtidos para rendimento de cada um dos sistemas estão representados na Tabela 34.



Tabela 34. Valores de doseamento dos sistemas microparticulados formados pelos polímeros Eudragit E100 e L30D55, obtidos por CLAE.

<b>Formulação</b>	<b>Teor (mg/g)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
MC E100 (1)	56,42	95,77
MC E100 (3)	84,05	93,52
ME E100 (3)	78,01	94,05
MC L30D (3)	45,78	97,13
MC L30D (4)	125,10	93,49
ME L30D (2)	79,66	95,52
ME L30D (3)	38,27	94,61

De acordo com a Tabela 34, podemos verificar que em alguns casos conseguiu-se vincular uma quantidade relativamente grande de fármaco aos sistemas microparticulados desenvolvidos. Destacam-se as formulações MC E100 (3) e MC L30D (4), com teores de 84,05 e 125,10 mg/g, respectivamente. Este valor elevado favorece a incorporação das micropartículas a uma forma farmacêutica, como por exemplo, pó para suspensão oral, uma vez que, com uma dosagem maior do ativo não há necessidade de adicionar grande quantidade do sistema microparticulado a forma farmacêutica. Esta condição é considerada ideal, tendo em vista as altas doses de PZQ necessárias no tratamento da esquistossomose. Sendo assim, utilizando-se de um menor volume de pó, que contém os sistemas microparticulados, no preparo da forma farmacêutica, pode haver uma maior facilidade no momento da redispersão do produto, em determinado volume de água.

Com relação ao rendimento, podemos observar elevados valores de recuperação do total de massa adicionado em cada sistema microparticulado, superiores a 90%. O que comprova a eficiência do método de secagem proposto.

### **5.8 Análise de redispersão do pó**

Para cada um dos sistemas microparticulados propostos, no momento em que estas são redispersas em meio aquoso, as micropartículas tendem a retornar ao seu tamanho inicial, ou seja, tendem a passar por um processo de desaglomeração em função do tempo. Este processo pode levar a uma diminuição do tamanho das partículas. A mesma situação ocorre para o adjuvante de secagem, neste caso o dióxido de silício, que não se solubiliza e sim se redispersa no meio. As Figuras 16 e 17 trazem os gráficos de distribuição do diâmetro de partícula obtido em função do

tempo, para os sistemas microparticulados contendo o polímero usado no revestimento das mesmas Eudragit E100 e Eudragit L30D55, respectivamente.

A Figura 16 exhibe o comportamento dos sistemas microparticulados - MC E100 (1), MC E100 (3) e ME E100 (3) frente à desaglomeração em tampão fosfato pH 6,8 no tempo zero, ou seja, logo após a adição do agente suspensor (linha em vermelho) e após 10 minutos de agitação (linha verde). Pode-se observar que, para as micropartículas MC E100 (1) e ME E100 (3), ocorre uma diminuição do tamanho de partícula devido a redispersão do pó com o passar do tempo. Na primeira delas o comportamento inicial apresenta duas populações, sendo majoritária a que apresenta diâmetro maior. Com o passar do tempo (10 minutos) há uma inversão, com o aumento da população das partículas de menor diâmetro, o que confirma a desaglomeração do pó no meio aquoso. No segundo caso há um deslocamento do pico inicial para a esquerda, também confirmando uma diminuição do tamanho médio das partículas, possivelmente devido ao processo de desaglomeração destas. Além disso, pode-se observar o surgimento de mais uma subpopulação, que apresentou diâmetro menor, em torno de 1 micrometro, possivelmente referente às partículas do dióxido de silício presentes. Este deslocamento dos gráficos para a esquerda comprova a capacidade dos pós em se redispersarem após 10 minutos de agitação, favorecendo uma melhor redispersão e homogeneidade dos sistemas microparticulados.

Para o sistema microparticulado MC E100 (3), não houve mudança da distribuição do tamanho das partículas após 10 minutos de agitação, como mostra a Figura 16 (c). Os perfis de distribuição após 10 minutos de agitação foram, visualmente, muito parecidos aos obtidos na análise inicial, o que demonstra que não ocorreu desaglomeração do pó durante o tempo analisado. Isso pode ter acontecido uma vez que o pó já se apresentou totalmente disperso no momento inicial do ensaio, não havendo assim desaglomerações, ou os aglomerados formados não foram capazes de serem dissolvidos nas condições do ensaio.

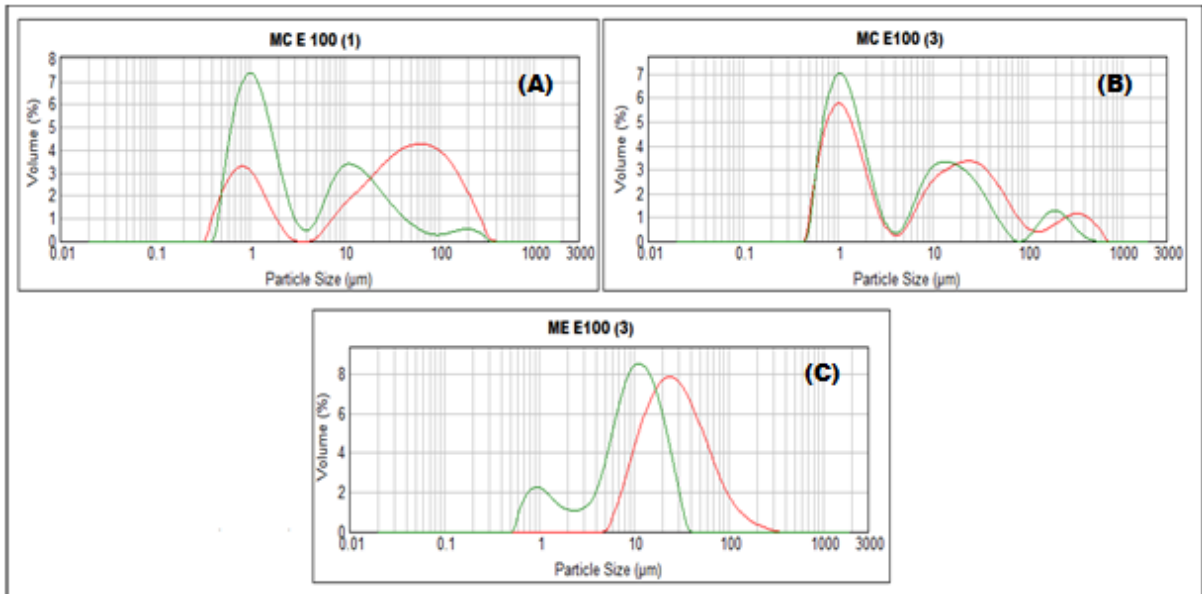


Figura 16. Distribuição do tamanho de partícula ( $\mu\text{m}$ ) por volume (%) das formulações contendo o polímero Eudragit E100. **(A)** MC E100 (1), **(B)** MC E100 (3), **(C)** ME E100 (3).

A Figura 17 traz o desempenho das formulações MC L30D (3) e (4), além das ME L30D (2) e (3), frente à desaglomeração em tampão pH 6,8 no tempo zero, logo após a adição do agente suspensor (linha em vermelho) e após 10 minutos de agitação (linha verde). Pode-se observar claramente para as formulações que contém as microcápsulas o processo de desaglomeração de suas partículas em função da agitação e do tempo, uma vez que há um deslocamento dos picos para a esquerda, determinando um menor tamanho de partícula. O mesmo ocorre para a formulação ME L30D (3) contendo microesferas, onde o tamanho no tempo inicial era de aproximadamente 100  $\mu\text{m}$  e após agitação passou para faixa de 1 a 10  $\mu\text{m}$ .

Já no caso da formulação ME L30D (2), não houve redução do tamanho de suas partículas, como se pode observar claramente na Figura 17 (C). Isso, provavelmente, deve-se ao fato de o pó apresentar excelentes propriedades de fluxo e rápida capacidade de desagregação quando em suspensão.

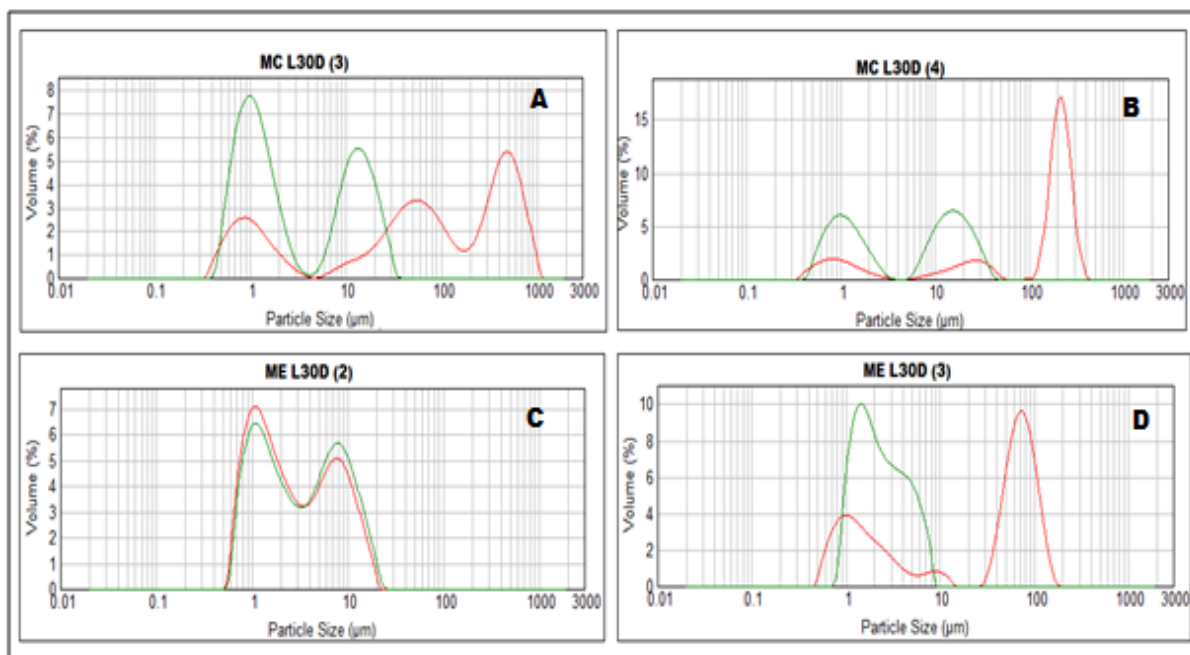


Figura 17. Distribuição do tamanho de partícula ( $\mu\text{m}$ ) por volume (%) das formulações contendo o polímero L30D 55. **(A)** MC L30D (3), **(B)** MC L30D (4), **(C)** ME L30D (2), **(D)** ME L30D (3).

### 5.9 Avaliação morfológica das micropartículas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura foi realizada para verificar a morfologia, dos sistemas microparticulados previamente selecionados, contendo os polímeros Eudragit E100 e L30D 55 e também para verificar a presença do PZQ na forma livre, ou seja, sem estar associado a matriz polimérica.

Inicialmente, podemos observar os cristais de PZQ na sua forma livre, Figura 18, para que possamos comparar quando estes estiverem em presença dos sistemas microparticulados desenvolvidos.

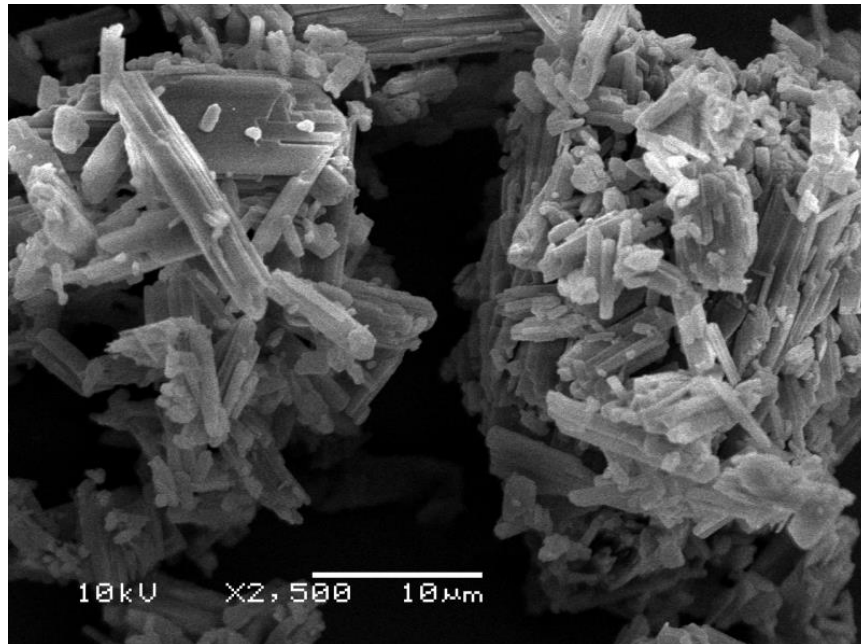


Figura 18. Fotomicrografias obtidas a partir de MEV para o PZQ na sua forma livre. Aumento de 2500 x.

Para os sistemas microparticulados formados pelo polímero E100, pode-se observar que as microcápsulas, Figura 19 (A) e (B), apresentaram partículas perfeitamente esféricas e com superfície lisa, sem presença de rugosidades; a heterogeneidade do tamanho, com partículas de diferentes diâmetros, também pode ser visualizado. Esse dado corrobora com as informações obtidas na análise de redispersão do pó, onde pode-se observar variações no tamanho das partículas. A forma esférica apresentada se deve a presença do núcleo oleoso, que recoberto pela matriz polimérica favorece a formação deste tipo de estrutura. Além disso, na Figura 19 (A), consegue-se observar a presença de alguns cristais de fármaco que não foram totalmente encapsulados, estes quando livres podem comprometer o sabor da formulação.

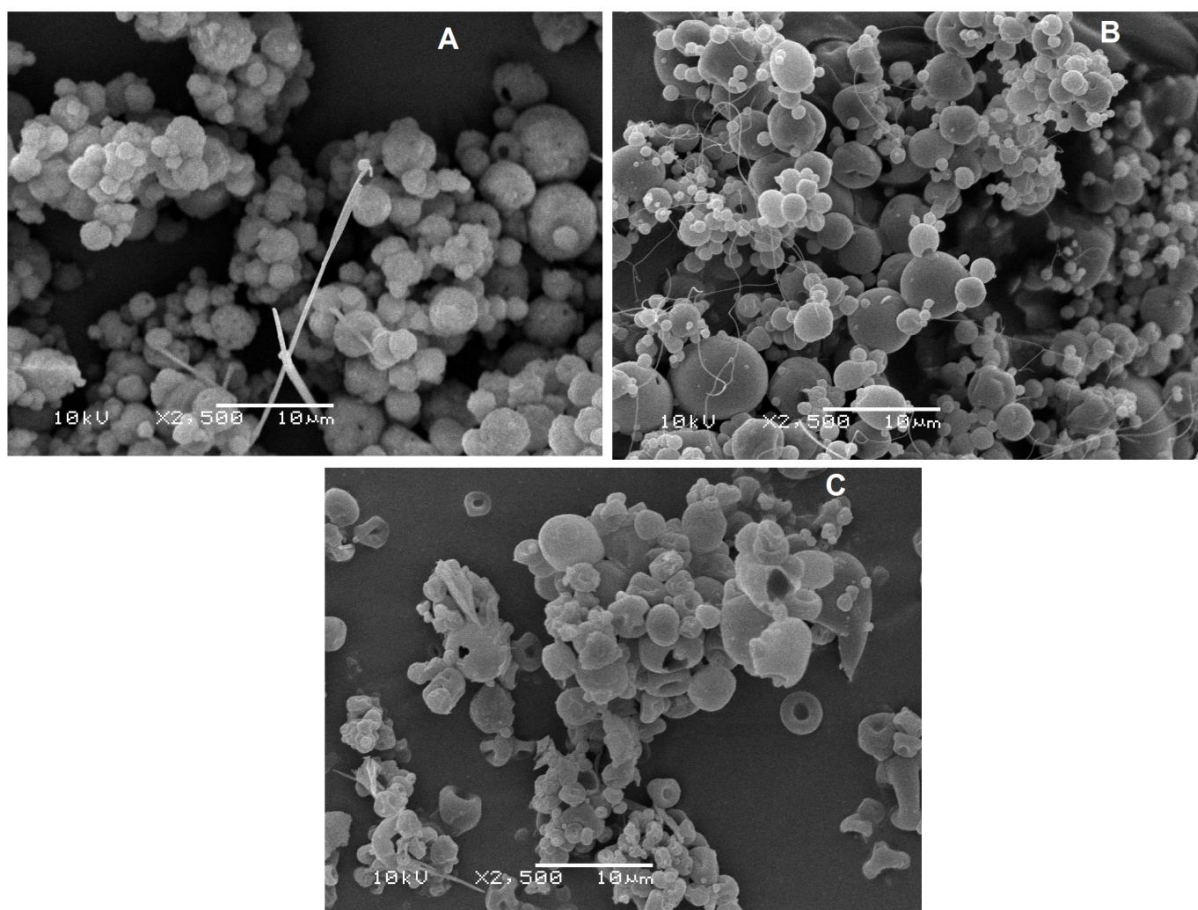


Figura 19. Fotomicrografias obtidas a partir de MEV para: **(A)** MC E100 (1), **(B)** MC E100 (3), **(C)** ME E100 (3). Aumento de 2500 x.

Com relação à microesferas do sistema MC E100 (3), Figura 19 (C), percebemos a presença de micropartículas com formato discoide e bicôncavo, provavelmente devido à ausência do núcleo oleoso.

Já para os sistemas microparticulados as formulações contendo o polímero L30D 55, pode-se observar que: para as microcápsulas, Figura 20 (A) e (B), obteve-se micropartículas perfeitamente esféricas e com superfície lisa, sem a presença de rugosidades. Além disso, pode-se visualizar uma dispersão no tamanho das estruturas, vindo ao encontro dos resultados obtidos na análise de redispersão do pó. Alguns cristais de fármaco não encapsulados também podem ser visualizados para a formulação MC L30D (3), Figura 20 (A). Porém para a formulação MC L30D (4), Figura 20 (B), destaca-se a ausência de cristais de fármacos, estando provavelmente, todo o PZQ no interior da microcápsula. Estas informações corroboram com os dados de taxa de associação fármaco/polímero do pó, onde

justamente o sistema MC L30D (4) que visualmente não apresentou cristais do fármaco, também demonstrou o valor mais elevado de taxa de associação fármaco/polímero.

Ainda, de acordo com a Figura 20, as microesferas apresentaram formato de disco bicôncavo, assim como aquelas obtidas com o polímero E100, já que não há um núcleo lipídico em seu interior. Assim como ocorreu para as microcápsulas, o sistema contendo microesferas, também apresentou uma superfície lisa e sem rugosidades. Além disso, pode-se observar a ausência de cristais do fármaco nas imagens, o que corrobora com os elevados valores de taxa de associação apresentados no item 5.5.

Esta ausência de fármaco livre é um bom indício, pois estando o ativo associado a matriz polimérica, quando o material for disperso em meio aquoso, o sabor desagradável do fármaco não estará pronunciado, facilitando a sua administração e aceitação quando vinculado a uma forma farmacêutica apropriada.



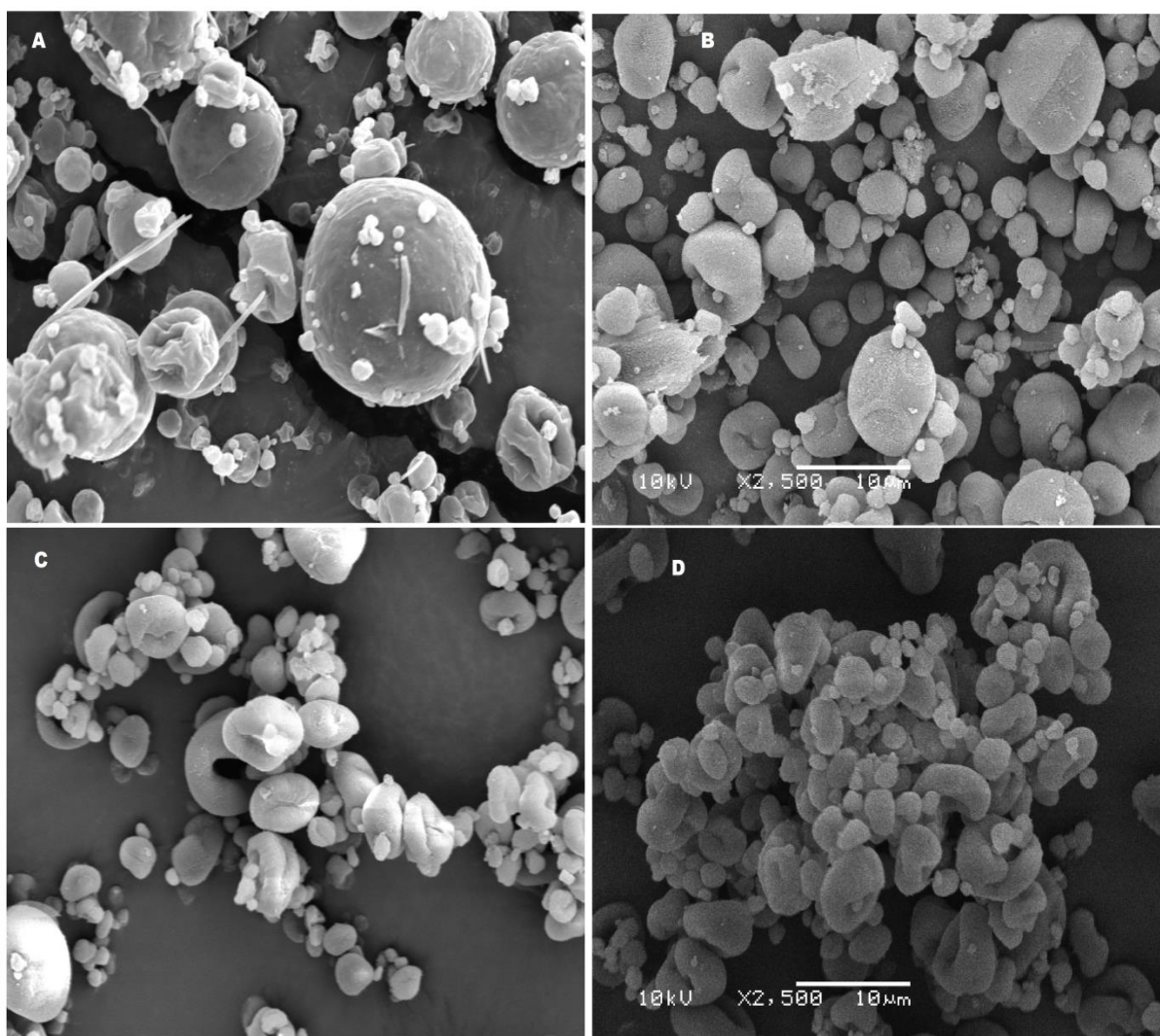


Figura 20. Fotomicrografias obtidas a partir de MEV para: **(A)** MC L30D (3), **(B)** MC L30D (4), **(C)** ME L30D (2), **(D)** ME L30D (3). Aumento de 2500 x.

### 5.10 Estudos de liberação *in vitro*

Os ensaios de dissolução podem ser uma excelente ferramenta para auxiliar no entendimento do comportamento das micropartículas quando em presença de um meio aquoso. Estes testes podem evidenciar se, em certos valores de pH, o fármaco permanecerá associado à matriz polimérica, e por qual período de tempo, ou, caso contrário se logo após o contato com o meio já se inicia a liberação.

A fim de auxiliar nesta investigação seguiu-se conforme as etapas descritas no item 4.6.8. Na Figura 21 estão representados os perfis de liberação do PZQ a partir das micropartículas formadas pelo polímero E100: MC E100 (1) e (3) e ME E100 (3). Pela análise dos perfis de liberação, pode-se verificar que, nos momentos



iniciais do teste, a partir de 10 minutos, o sistema microparticulado formado por microesferas apresentou uma liberação de quase 90% do total de teor do fármaco. Resultado considerado muito próximo da dissolução do fármaco caso estivesse na forma livre, um valor extremamente elevado, uma vez que o objetivo é justamente ao contrário, liberar a menor quantidade de fármaco possível no meio e assim não causar o sabor amargo. Porém, para os sistemas contendo microcápsulas, pode-se observar um aumento gradual da liberação nos primeiros 30 minutos, porém após este período ocorre uma estagnação na liberação do fármaco a partir da MC E100 (1), liberando aproximadamente 30% até o final do ensaio, um período de 3 horas. O mesmo ocorre com a formulação MC E100 (3), porém com uma liberação um pouco maior, cerca de 40%, durante o mesmo período.

Esses dados convergem com os valores obtidos na avaliação da taxa de associação fármaco/polímero, item 4.6.1, uma vez que para as micropartículas MC E100 (1), o resultado obtido de associação fármaco/polímero foi de 69,3%, ou seja, cerca de 30% do fármaco não foi encapsulado, podendo estar na forma de cristais livres, sendo então esses 30% inicialmente liberados no perfil de dissolução em poucos minutos. Após este período o restante do fármaco permanece aprisionado na matriz polimérica por todo o período de teste, isso demonstra a eficácia na manutenção da estrutura da matriz polimérica, tanto em relação ao meio de dissolução como ao núcleo oleoso, onde o fármaco está dissolvido e internalizado. Resultado semelhante ocorreu para as MC E100 (3), que apresentou uma eficiência de encapsulação de 63,3%, ou seja, cerca de 40% do fármaco está na forma livre e assim, pode ser dissolvido nos momentos iniciais do teste de dissolução.

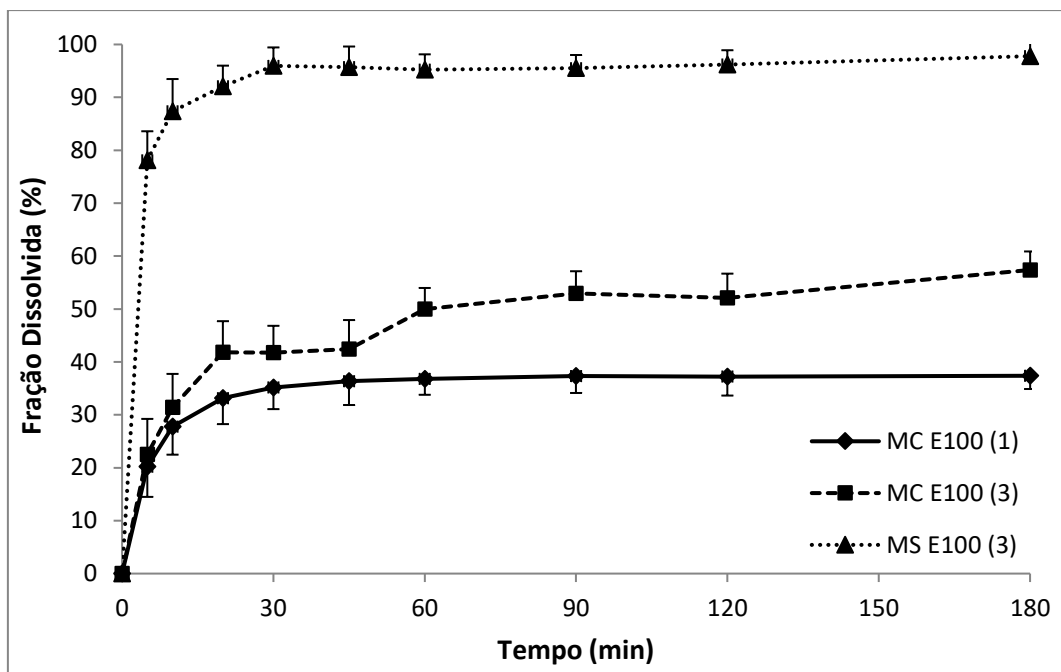


Figura 21. Perfis de liberação do PZQ a partir das micropartículas revestidas com polímero Eudragit E100 em tampão fosfato pH 6,8. Formulações MC E100 (1) e (3) e ME E100 (3).

Já na figura 22 estão demonstrados os perfis de liberação das micropartículas formadas pelo polímero L30D 55: MC L30D (3) e (4) e ME L30D (2) e (3), em HCl 0,1 M. A partir das curvas dos perfis de liberação pode-se observar que para os sistemas microparticulados constituídos por microesferas a velocidade de liberação do fármaco é superior quando comparado às microcápsulas, assim como ocorreu para as microesferas formadas pelo polímero E100. Isto provavelmente se deve ao fato das microesferas, apesar de exibirem uma considerável taxa de associação, cerca de 90%, apresentarem o fármaco aderido à superfície da microesfera e não na forma encapsulada como ocorre com as microcápsulas, estando em contanto direto com o meio de dissolução, o que facilita a sua remoção a partir da matriz polimérica e subsequente dissolução no meio. Sendo assim, a velocidade de liberação inicial é maior, porém com um leve aumento durante os demais pontos analisados, o que sugere que parte do fármaco possa estar inserido intrinsecamente na matriz do polímero.

Com relação a avaliação da liberação das microcápsulas podemos destacar o percentual de dissolução limitado apresentado pela formulação MC L30D (4), que nos momentos iniciais, até 30 minutos, dissolveu menos de 10% do fármaco e mesmo depois de transcorridas 3 horas de estudo, liberou menos de 30% do ativo.

Esses dados corroboram com os obtidos nos testes de eficiência de encapsulação, que apresentou resultados superiores a 90%. Isto garante que, durante o período de realização do teste a maior parte do fármaco está associado ao polímero, o que é desejado, e o que torna esta formulação uma excelente candidata a supressão do sabor do fármaco.

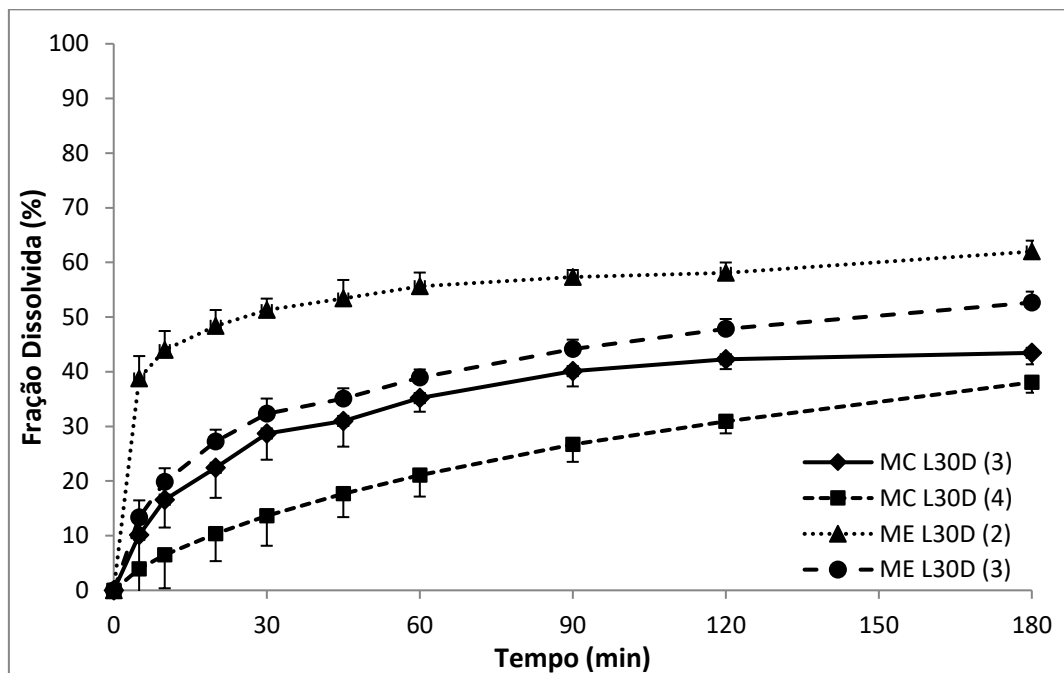


Figura 22. Perfis de liberação do PZQ a partir das micropartículas revestidas com polímero Eudragit L30D 55 em HCl 0,1M pH 1,2. Formulações MC L30D (3) e (4) e ME L30D (2) e (3).

Posteriormente à avaliação da capacidade dos sistemas microparticulados reterem o ativo quando em contato com o meio de dissolução, realizou-se uma avaliação da capacidade do fármaco ser liberado a partir da matriz polimérica, novamente, através do ensaio de dissolução. Para isto utilizou-se das mesmas condições já descritas, porém utilizando como meio de dissolução tampão fosfato pH 6,8 e HCl 0,1M na avaliação das micropartículas formadas pelos polímeros L30D 55 e E 100, respectivamente.

As Figuras 23 e 24 demonstram, respectivamente, os perfis de dissolução das formulações obtidas com o polímero L30D 55: MC L30D (3); MC L30D (4); ME L30D (2); ME L30D (3) e com o polímero E100: MC E100 (1); MC E100 (3); ME E100 (3).

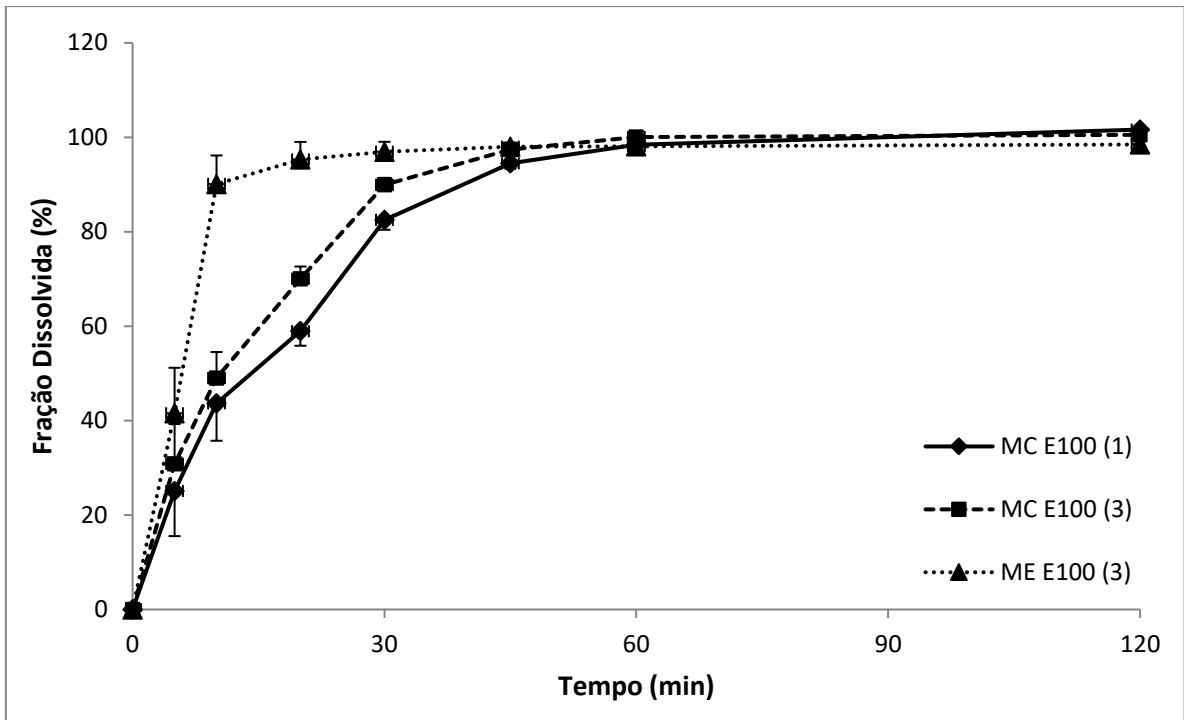


Figura 23. Perfis de liberação do PZQ a partir das micropartículas revestidas com polímero Eudragit E100 em HCl 0,1M pH 1,2. Formulações MC E100 (1) e (3) e ME E100 (3).

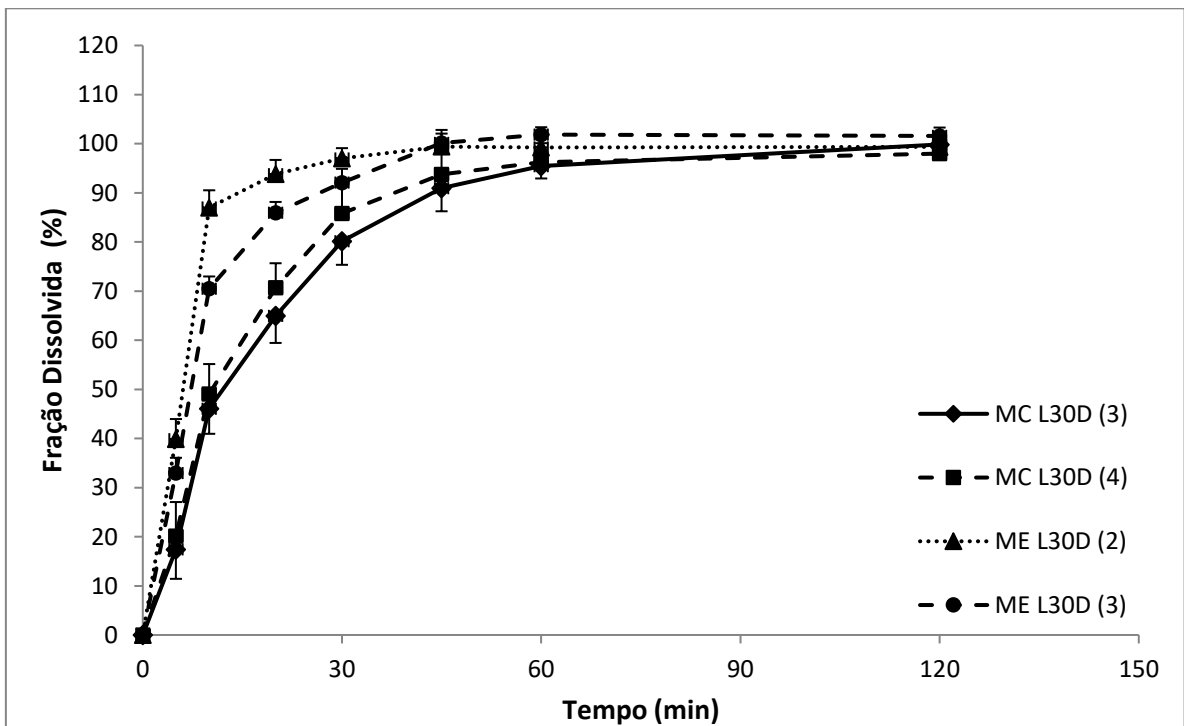


Figura 24. Perfis de liberação do PZQ a partir das micropartículas revestidas com polímero Eudragit L30D 55 em tampão pH 6,8. Formulações MC L30D (3) e (4) e ME L30D (2) e (3).

De acordo com ambas as figuras, pode-se observar que em todas as propostas de sistemas microparticulados avaliadas houve a liberação e dissolução de quase a totalidade do fármaco no meio selecionado. Pode-se observar também que para as microesferas a dissolução ocorre em velocidade maior quando comparada às microcápsulas, corroborando com os dados das Figuras 21 e 22. Isso se deve ao fato de que, nas microcápsulas, a maioria do fármaco se encontra recoberto pela matriz polimérica e está em sua grande parte solubilizado internamente no núcleo oleoso, sendo assim a matriz o protege do contato direto com o meio de dissolução.

Podemos considerar que uma pequena quantidade do ativo também se encontra distribuída ao redor da superfície da microcápsula, uma vez que nem todo o fármaco foi englobado. Este fato explica os percentuais de liberação inicial no ensaio de dissolução, resultados que se mantêm com os mesmos valores por todo o período de realização do ensaio, comprovando que ocorre uma liberação mínima do ativo que está internalizado na microcápsula.

Já para as microesferas, a maior e mais rápida dissolução do PZQ em relação às microcápsulas, em todos os testes realizados, nos faz acreditar que o fármaco encontra-se disperso sobre a superfície da matriz polimérica, com uma pequena porção internalizada pelo filme polimérico. Assim, estando o fármaco em contato direto com o meio de dissolução, ocorre uma maior velocidade de liberação e dissolução.

Outro fator determinante para a liberação parcial do fármaco, quando microencapsulado, são as características de solubilização dos polímeros. Estando em contato com o meio ácido, as micropartículas formadas pelo polímero L30D 55, tendem a manter-se ligadas à matriz polimérica, porém quando em contato com o meio entérico, condição em que o polímero apresenta-se solúvel, o PZQ é liberado quase que por completo, conforme Figuras 22 e 24. Assim, podemos sugerir que, para uma formulação do tipo suspensão oral, quando em presença de meio com pH levemente ácido, o sistema microparticulado irá manter-se estável e o fármaco permanecerá encapsulado. Porém quando for administrado *in vivo*, o fármaco será liberado quando em contato com o pH do intestino. A condição contrária irá favorecer as microcápsulas formadas pelo polímero E100, uma vez que quando em

contato com o meio de dissolução neutro a alcalino, o fármaco apresenta uma liberação restrita, já quando em meio ácido ocorre uma dissolução quase completa.

Uma vez que as microcápsulas MC L30D (4) apresentaram uma satisfatória retenção do fármaco, quando em presença de meio ácido e quando em contato com meio entérico houve uma liberação e posterior dissolução do ativo, considerou-se esta formulação com as características ideais para ser vinculada a uma forma farmacêutica, que tem como objetivo mascarar o sabor do PZQ. A MC L30D (4), quando em suspensão em um meio adequado, levemente ácido propiciaria que o fármaco permanecesse na sua grande maioria encapsulado e assim não haveria contato com as papilas gustativas e, quando ingerido, haveria uma liberação do ativo assim que atingisse a porção intestinal do sistema digestivo, com pHs mais elevados.

### **5.11 Análise térmica por calorimetria exploratória diferencial (DSC)**

Sólidos cristalinos exibem características diferentes das observadas nas respectivas formas amorfas. Como resultado da quebra do retículo cristalino por aquecimento, os cristais apresentam pontos de fusão com picos endotérmicos bem definidos. Sendo assim, o estado físico do PZQ no interior das micropartículas foi caracterizado pela análise das curvas de DSC. Para a realização deste teste, utilizaram-se somente os sistemas microparticulados MC L30D (4), já que apresentou os melhores resultados no ensaio de liberação. E para fins de comparação o sistema ME E100 (1) também foi avaliado.

Primeiramente foi analisado o PZQ na sua forma pura, a fim de identificar o processo de fusão. Como controle, foram analisados os placebos das MC E100 (1) e MC L30D (4). Na sequência, analisaram-se as ME E100 (1) e MC L30D (4) e suas respectivas misturas físicas. A curva para o PZQ na forma pura demonstra um acentuado pico endotérmico que corresponde ao ponto de fusão a 139 °C, indicando a sua natureza cristalina. Já as curvas dos polímeros E100 e L30D 55, na sua forma pura, exibem um evento endotérmico (200 °C aproximadamente), referente ao pico que sugere a transição vítrea. Nenhum ponto de fusão foi observado, já que ambos os polímeros estão disponíveis na forma amorfa. As curvas de DSC para cada uma das condições estão demonstradas na Figura 25. Resultados semelhantes foram

obtidos por JAFARI, 2013, para o Eudragit E 100 na sua forma livre e por HUYGHEBAERT, *et al.*, 2005 e LIN, *et al.*, 2008, para o polímero L30D 55.

Para as MC E100 (1) e MC L30D (4), visualizou-se apenas o evento endotérmico referente ao processo apresentado pelos polímeros de forma isolada (200 °C). Ou seja, o processo de microencapsulação não afeta a estrutura do polímero. Além disso, de acordo com as Figuras 26, não detectamos nenhum sinal do fármaco nas amostras analisadas; o pico endotérmico do PZQ permaneceu ausente, o que indica que o fármaco está interiorizado ou distribuído uniformemente na micropartícula polimérica. No termograma da mistura física de todos os componentes da formulação podemos observar o pico endotérmico referente ao PZQ, nos indicando que a simples presença dos excipientes na formulação não altera a estrutura cristalina do fármaco, bem como não são capazes de impedir o aparecimento do pico do PZQ.

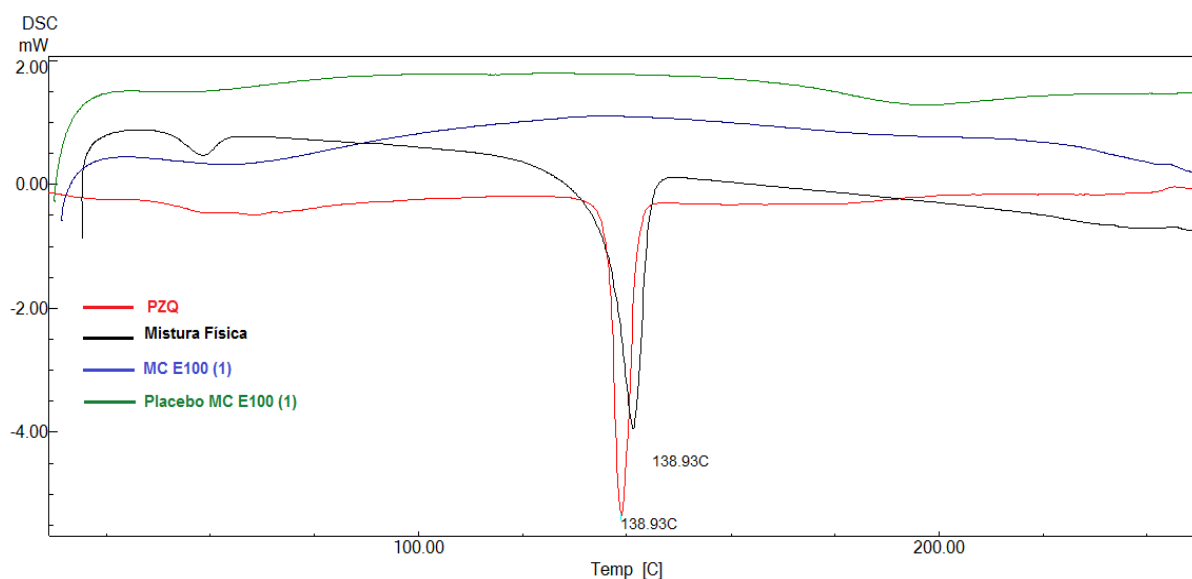


Figura 25. Curvas de DSC. PZQ na forma livre; mistura física dos constituintes da formulação; MC E100 (1) e placebo MC E100 (1).

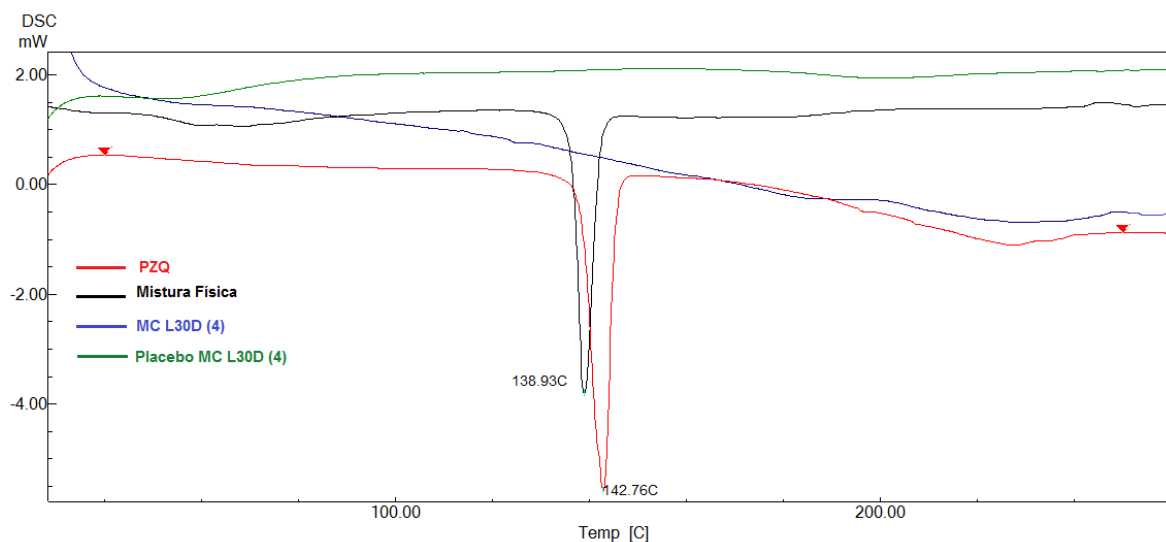


Figura 26. Curvas de DSC. PZQ na forma livre; mistura física dos constituintes da formulação; MC L30D (4) e placebo MC L30D (4).

### 5.12 Determinação do teor de PZQ na forma farmacêutica pó para suspensão oral

A avaliação do teor para as formulações orais contendo as microcápsulas de PZQ, obtidas a partir da MC L30D (4), foi realizado para a mistura do pó, onde o valor teórico da dose é 150 mg de praziquantel em cada frasco. Uma vez que a massa total da formulação é de, aproximadamente, 2,40 g, temos uma concentração teórica de 62,5 mg de PZQ para cada 1,0 g de formulação. Também realizou-se o doseamento da amostra após reconstituição com 60 mL de água, obtendo uma concentração teórica de 2,50 mg/mL. Sendo assim, cada uma das amostras propostas foi avaliada em triplicata e o valor encontrado do doseamento está representado na Tabela 35.



Tabela 35. Resultado do doseamento das microcápsulas contendo PZQ inseridas em um pó para suspensão oral.

FORMULAÇÃO	TEOR PZQ PÓ		DPR	TEOR PZQ SUSPENSÃO		DPR
	(mg/g)	(%)		(%)	(mg/mL)	
<b>FAS(-1)</b>	59,82	95,71	1,11	2,43	97,11	0,44
<b>FAS(0)</b>	60,19	96,30	0,89	2,45	98,05	0,36
<b>FAS(+1)</b>	61,29	98,07	1,84	2,46	98,23	1,29
<b>FSS(-1)</b>	58,19	93,11	2,14	2,40	96,14	1,91
<b>FSS(0)</b>	60,57	96,92	1,77	2,40	95,88	1,07
<b>FSS(+1)</b>	58,85	94,16	1,39	2,55	97,29	0,79

Considerando um teste de rotina de controle de qualidade, onde o teor de uma suspensão seja avaliado, de acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª edição, adotamos uma faixa ideal de aceitação um intervalo de 90 a 100% da dose declarada. De acordo com os resultados obtidos, tanto para a forma de pó como após reconstituição, todas as formulações testadas apresentaram-se dentro desta faixa de aceitação, o que comprova a presença do fármaco na quantidade declarada no produto.

### 5.13 Determinação do tempo de sedimentação das suspensões orais

A Tabela 36 traz os resultados do tempo de sedimentação das seis formulações propostas avaliadas, quando em repouso em proveta. Pode-se observar que nas primeiras horas ocorreu uma sedimentação lenta e após 24 horas de ensaio todo o material disperso já está sedimentado no fundo da proveta.

Tabela 36. Resultado do doseamento das microcápsulas contendo PZQ inseridas em um pó para suspensão oral.

FORMULAÇÃO	Intervalos de leituras de sedimentação			
	1 hora	2 horas	3 horas	24 horas
<b>FAS(-1)</b>	± 2,0 mL	± 5,0 mL	± 5,0 mL	± 17,0 mL
<b>FAS(0)</b>	± 2,0 mL	± 5,0 mL	± 6,0 mL	± 17,0 mL
<b>FAS(+1)</b>	± 2,0 mL	± 5,0 mL	± 6,0 mL	± 17,0 mL
<b>FSS(-1)</b>	± 1,0 mL	± 3,0 mL	± 5,0 mL	± 15,0 mL
<b>FSS(0)</b>	± 1,0 mL	± 3,0 mL	± 6,0 mL	± 14,0 mL
<b>FSS(+1)</b>	± 1,0 mL	± 4,0 mL	± 6,0 mL	± 15,0 mL

O sedimento de todas as suspensões foi facilmente redisperso quando agitado. Dessa forma, pode-se dizer que os componentes do veículo conferem às suspensões boas características de estabilidade, fazendo com que apresentem baixa velocidade de sedimentação e fácil redispersão do sedimentado, o que acarreta em uma boa homogeneidade do produto, diminuindo assim, o risco de erros de dose na hora da administração do medicamento.

#### 5.14 Avaliação do pH das suspensões orais

A avaliação do pH das formulações foi realizada a fim de garantir que com o passar do tempo as formulações depois de reconstituídas manteriam valores de pH dentro de uma faixa considerada ideal para que não houvesse liberação do fármaco a partir da matriz polimérica. Sabendo que o polímero se mantém estável em pH inferior a 5,0, considerou-se uma faixa ideal de pH o intervalo de 4,30 a 5,00.

Tabela 37. Avaliação do pH em relação ao tempo das formulações contendo microcápsulas de PZQ.

FORMULAÇÃO	Intervalos de leituras de pH			
	T0	10 min.	30 min.	60 min.
FAS(-1)	4,51	4,53	4,54	4,60
FAS(0)	4,44	4,45	4,45	4,52
FAS(+1)	4,58	4,60	4,59	4,63
FSS(-1)	4,69	4,69	4,74	4,74
FSS(0)	4,88	4,85	4,88	4,91
FSS(+1)	4,72	4,70	4,76	4,82

De acordo com a Tabela 37 podemos observar que todas as formulações desenvolvidas apresentaram valores de pH dentro da faixa considerada ótima, de acordo com as características de solubilização do polímero. Assim, pode-se presumir que para o período avaliado, 60 minutos, os sistemas microparticulados podem se manter estáveis quando em suspensão. Desta forma, existiria a possibilidade de não ocorrer a liberação do ativo para o meio e, conseqüentemente, não causar um sabor amargo indesejável.

### ***Medidas de capacitância elétrica***

O sistema de língua eletrônica utilizado neste trabalho é baseado em medidas de espectroscopia de impedância elétrica. Os espectros de capacitância foram adquiridos utilizando o software *Smart*, em um equipamento analisador de impedância Solartron 1260A, em um intervalo de frequência de 1 Hz a 1 MHz, aplicando tensão AC de 25 mV em temperatura de 20 °C.

Na Figura 27 demonstram-se os espectros de capacitância elétrica em função da frequência para as diferentes arquiteturas das unidades sensoriais imersas em água deionizada. Pode-se observar que as 5 arquiteturas apresentam diferentes perfis, o que indica alteração nas linhas do campo elétrico nas proximidades da superfície dos EI devido à presença do filme.

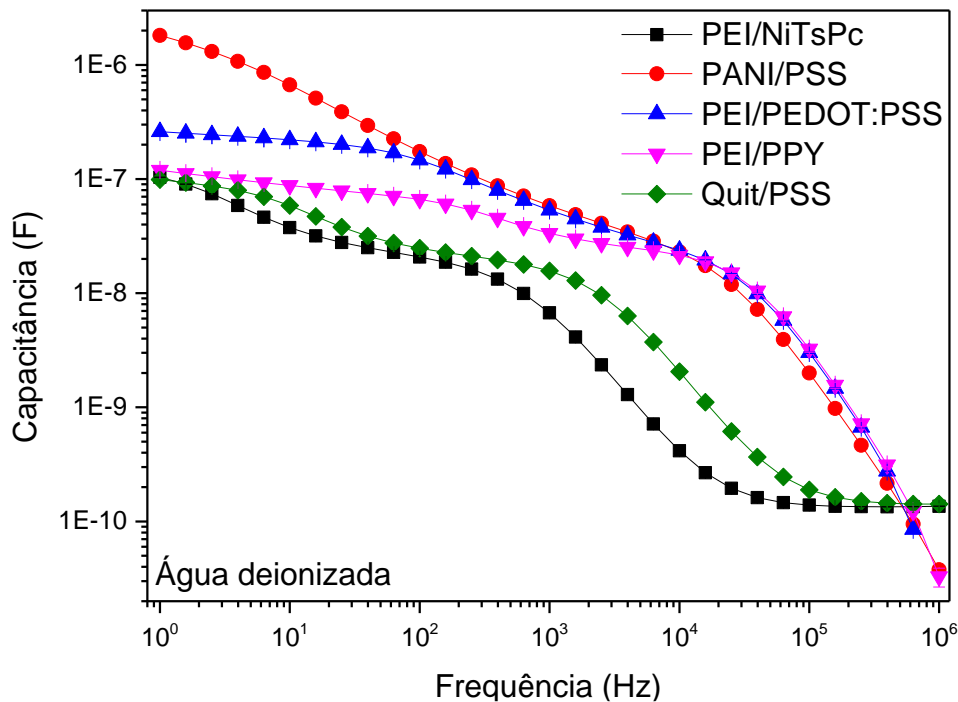


Figura 27. Espectros de capacitância em função da frequência das cinco diferentes unidades sensoriais medidas em água deionizada.

Na Figura 28 são demonstrados os espectros de capacitância em função da frequência para o filme de Chit/PSS obtidos nas diferentes preparações de formulação, placebo e mistura física, somando um total de 20 amostras, medidos em triplicata. Com a grande quantidade de informação obtida nas medidas de língua eletrônica, a complexidade na análise dos resultados exige a utilização de técnicas específicas. Nesse contexto, análises estatísticas são utilizadas com êxito para facilitar a discriminação das diferentes amostras analisadas.

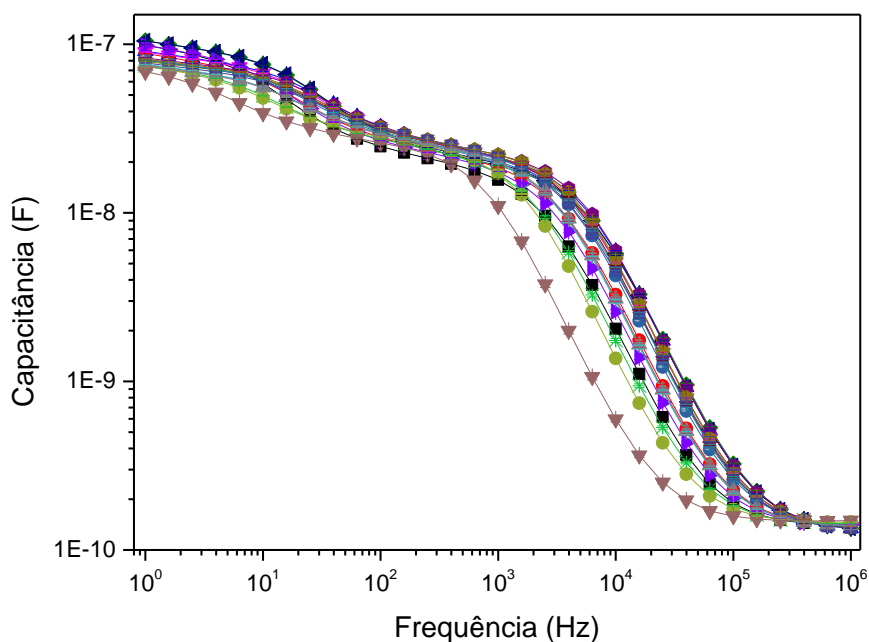


Figura 28. Espectros de capacitância em função da frequência obtidos com o filme de Chit/PSS para as preparações com formulação, placebo e mistura física.

### 5.15 Avaliação da efetividade do mascaramento do sabor das suspensões orais

Os resultados da capacitância elétrica em função da frequência foram analisados por técnicas estatísticas utilizando o software *PEx-Sensors*. Neste trabalho foi utilizado a técnica de projeção multidimensional IDMAP (*Interactive Document Map*) que utiliza distâncias Euclidianas entre os pontos dos dados, empregando os dados de capacitância dimensionalmente reduzidos pela técnica *Fastmap* no intervalo de frequência de 1 Hz a 1 MHz.

De acordo com a Figura 29, gráfico IDMAP das cinco unidades sensoriais, é possível observar a discriminação das preparações de formulação, placebo e mistura física contendo diferentes quantidades dos flavorizantes sacarina, sacarose e aspartame. O valor do coeficiente de silhueta (CS) calculado nesta análise é de 0,4302, de acordo com Paulovich, *et al.* 2011, o que representa uma baixa qualidade na discriminação, embora seja possível observar a separação entre as preparações.

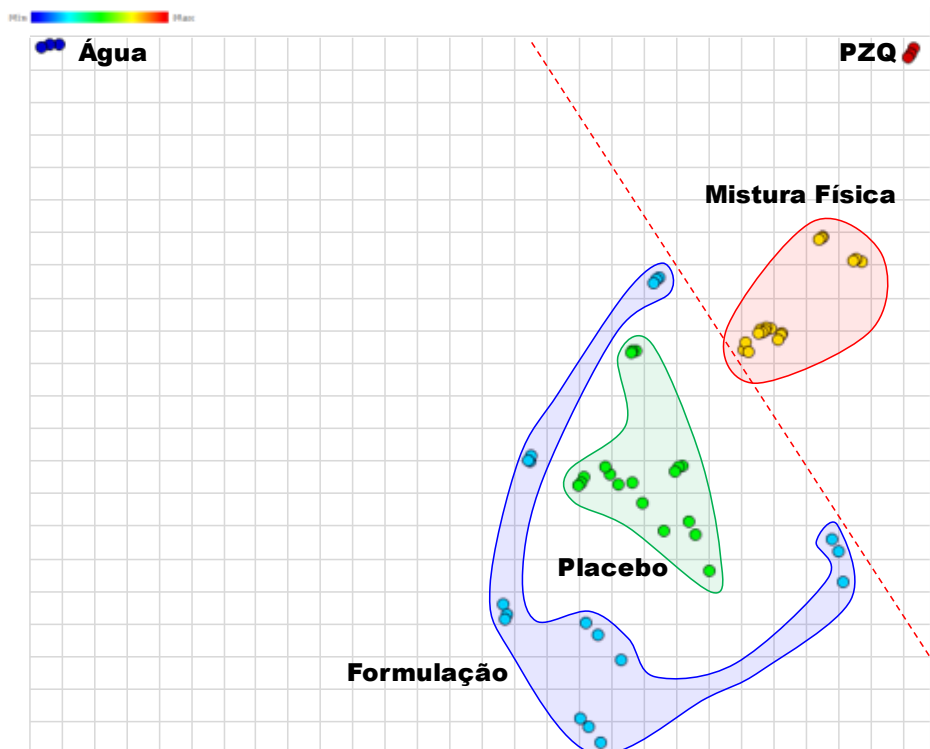


Figura 29. Gráfico IDMAP (frequência de 1 Hz a 1 MHz) dos espectros de capacitância utilizando as 5 unidades sensoriais medidos em água, no fármaco na sua forma livre e nas preparações de cada uma das formulações, seus respectivos placebos e misturas físicas, contendo diferentes quantidades dos flavorizantes sacarina e sacarose.

Como a resposta das unidades sensoriais para a água destilada é muito diferente das soluções contendo o fármaco, a informação foi excluída, conforme mostrado na Figura 30, a discriminação das soluções torna-se mais evidente e o valor de CS aumenta para 0,4673;

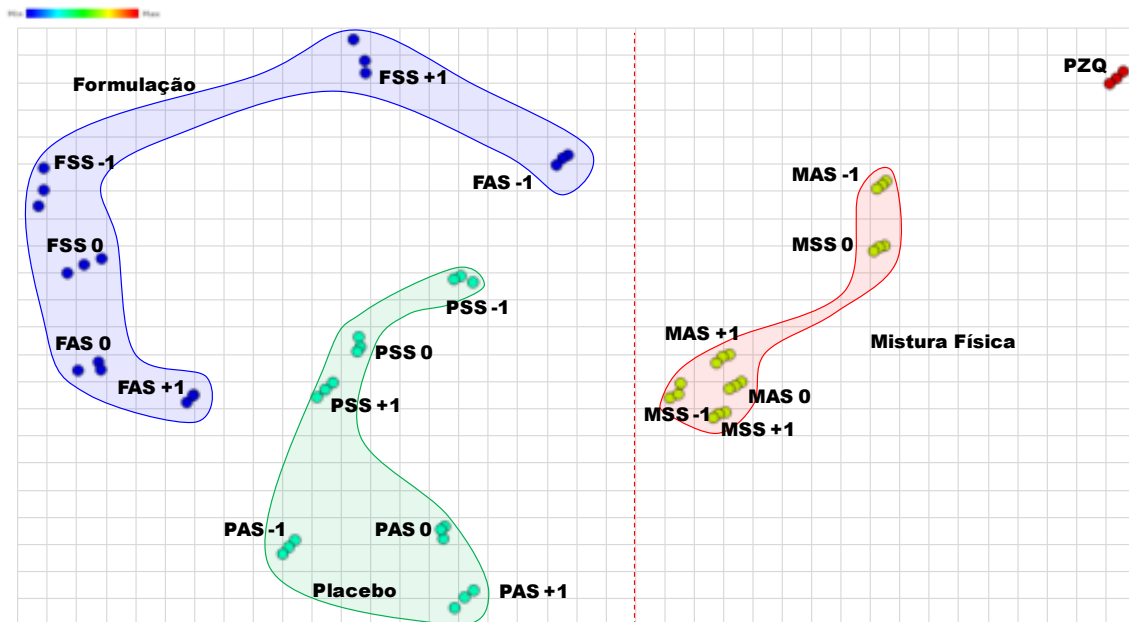


Figura 30. Gráfico IDMAP dos espectros de capacitância utilizando as 5 unidades sensoriais medidos no fármaco na sua forma livre e nas soluções de cada uma das formulações, seus respectivos placebos e misturas físicas, contendo diferentes quantidades dos flavorizantes sacarina e sacarose.

Utilizando um algoritmo de seleção de frequência e com base nas informações de paralelas coordenadas, uma nova análise foi realizada num intervalo de frequência de 1 Hz a 2,5 kHz, e conforme mostrado na Figura 31, o valor de CS aumenta para 0.5368.

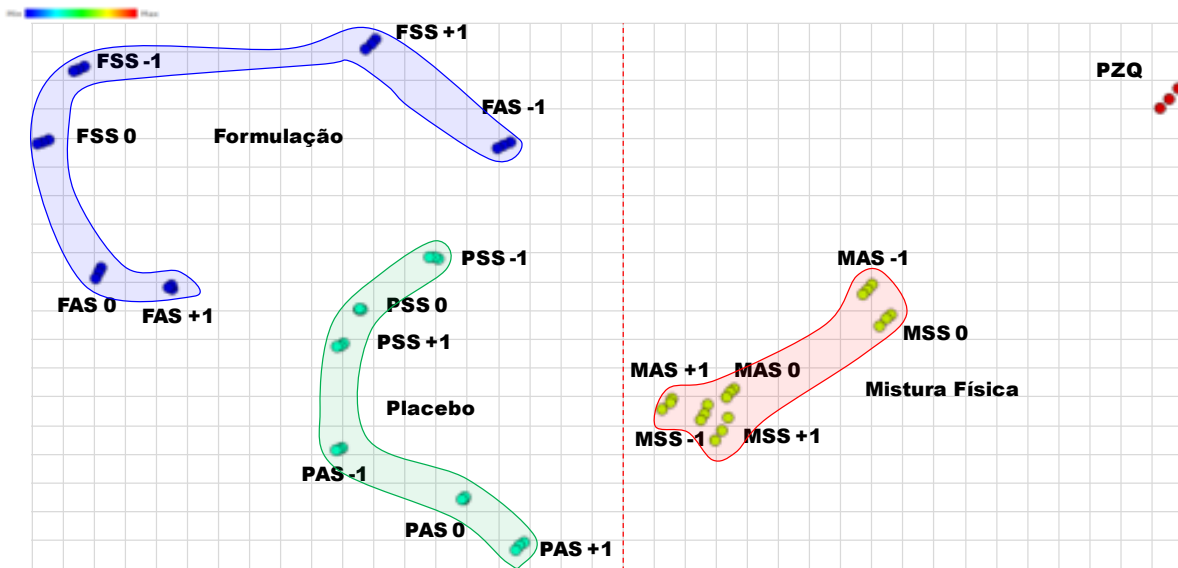


Figura 31. Gráfico IDMAP dos espectros de capacitância utilizando as 5 unidades sensoriais medidos no fármaco na sua forma livre e nas soluções de cada uma das formulações, seus respectivos placebos e misturas físicas, contendo diferentes quantidades dos flavorizantes sacarina e sacarose.

Com o objetivo de otimizar a análise dos dados, foi também empregado a técnica de análise de componentes principais (*Principal Componente Analysis, PCA*) que proporcionou um aumento no valor de CS para 0,5716 e, na Figura 32, pode-se observar de forma mais nítida que tanto o grupo das formulações e placebo, localizadas no quadrante direito do gráfico estão distantes da solução do fármaco (PZQ) e das misturas físicas, localizados na porção esquerda do gráfico. Isto comprova a eficiência no mascaramento do sabor desagradável do PZQ, uma vez que as formulações propostas apresentaram resposta frente aos sensores da língua eletrônica na mesma região dos respectivos placebos.



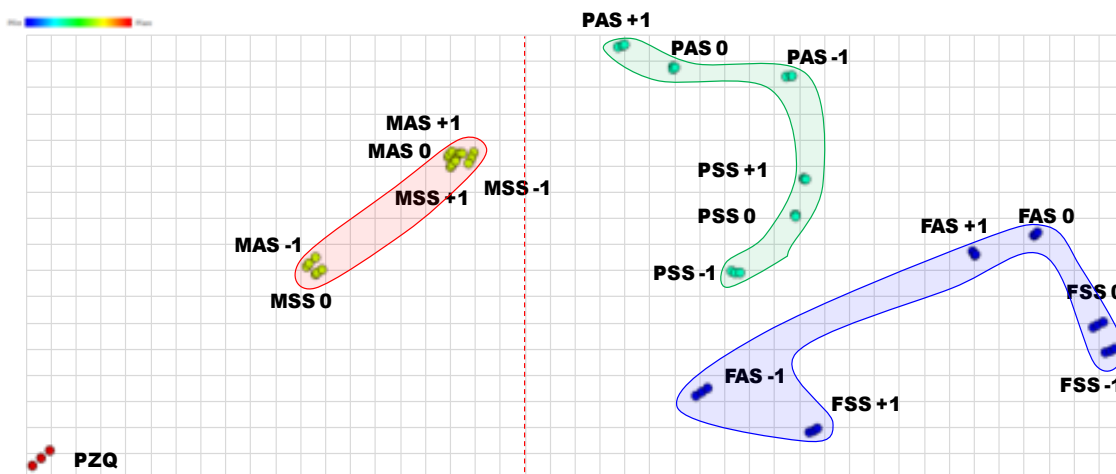


Figura 32. Gráfico PCA dos espectros de capacitância utilizando as 5 unidades sensoriais medidos nas soluções de formulação, placebo e mistura física contendo diferentes quantidades dos flavorizantes sacarina, sacarose e aspartame.

Conforme podemos observar, na Figura 32, a posição dos resultados obtidos para todas as formulações contendo os dois edulcorantes, em comparação com a posição do PZQ, nosso grupo controle de amargor, pode se afirmar que existe uma grande diferença de posição no gráfico, ambos estão em sentidos opostos. Sendo assim, quanto maior à distância para o praziquantel menos amargor a formulação apresenta.

De acordo com este raciocínio podemos avaliar as diferenças no sabor apresentado por cada formulação, dentro de cada um dos grupos de edulcorantes utilizados e assim determinar qual a formulação apresenta um sabor mais aceitável. Para o grupo preparado com o aspartame pode-se observar que a FAS(-1) demonstrou um amargor um pouco maior que as demais, uma vez que se encontra em uma região mais próxima a do PZQ na forma livre. Com relação as demais formulações, FAS(0) e FAS(+1), não existe uma diferença muito grande de posicionamento no gráfico, o que sugere que a quantidade adicionada de edulcorante na FAS(0) pode ser considerada ideal para a melhoria da palatabilidade da formulação.

Com relação às formulações em que adicionou-se o edulcorante sacarina sódica pode-se observar que a formulação FSS(+1) está numa posição mais próxima das amostras do PZQ em relação as demais formulações. Isso pode ser devido ao fato que em uma concentração acima do considerado ideal a sacarina apresenta um certo amargor. Para as formulações FSS(0) e FSS(-1), também não

ocorre uma diferença muito grande nos seus posicionamentos. Assim, podemos considerar estas duas formulações como apresentando características satisfatórias de sabor.

---

## 6 CONCLUSÕES

---

O presente trabalho apresentou com sucesso a possibilidade de obtenção de micropartículas poliméricas, tanto microcápsulas como microesferas contendo praziquantel, obtidas a partir da proposta de modificação da técnica de deposição interfacial do polímero pré-formado do solvente, seguido de secagem por spray-drying.

De acordo com os resultados de taxa de associação obtidos, podemos observar um resultado considerável de ligação do fármaco aos sistemas microparticulados propostos, tanto para as microcápsulas como para as microesferas, formadas pelo polímero L30D 55, principalmente quando analisados na forma de pós, com valores superiores a 90%. Este estudo também permitiu descartar a continuidade do trabalho com micropartículas formadas pelo polímero RL 100, devido às baixas taxas de associação apresentadas, portanto não sendo considerados promissores para o mascaramento de sabor do ativo.

Na avaliação das suspensões contendo as micropartículas, as determinações de diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta demonstraram que, obtivemos partículas de tamanho micrométrico, com pequena variação entre as formulações propostas, possivelmente devido à própria técnica utilizada; já o span (que mede a uniformidade do tamanho) ficou próximo a 2 para todas as formulações, demonstrando a uniformidade das partículas quando em suspensão; e na avaliação do potencial zeta ficou claro que a carga elétrica presente nas estruturas está relacionada ao tipo de polímero empregado. Para o polímero E100, catiônico, as micropartículas apresentam carga positiva, já para o polímero L30D-55, aniônico, as partículas apresentaram carga negativa.

Após a secagem e obtenção dos pós, avaliamos as características de redispersão dos mesmos. Para quase todas as formulações, quando o pó foi disperso em meio adequado, passados 10 minutos, observou-se a desaglomeração das partículas, mostrando a capacidade destas formulações em voltarem ao seu estado inicial e assim proporcionarem mais tempo em suspensão. A exceção ficou por conta da formulação ME L30D (2), a qual não apresentou redução do tamanho de suas partículas, já estando completamente ressuspensa no momento inicial da

---

preparação, isso pode estar relacionado à rápida capacidade de dispersão do pó quando em suspensão.

A microscopia eletrônica de varredura demonstrou tanto para as microcápsulas formadas pelo polímero E100 como pelo L30D-55, o formato esférico bem definido, sem presença de rugosidades em sua superfície. Em alguns casos, evidenciou a presença de cristais de fármaco não encapsulado. Para as microesferas formadas por ambos polímeros, podemos observar o formato bicôncavo das partículas, possivelmente devido à ausência do núcleo oleoso. A pouca presença e em alguns casos a ausência de cristais do fármaco comprova visualmente que tanto para as microcápsulas como para as microesferas o fármaco não se encontra na forma de cristais livres, o que é considerado ideal, uma vez que este fármaco livre ocasiona o gosto amargo.

Com o objetivo de caracterizar de forma mais consistente esses sistemas microparticulados e de melhor entender a sua estrutura organizacional, a análise de calorimetria exploratória diferencial nos permitiu visualizar a ausência do pico endotérmico nas duas formulações avaliadas (MC E100-1 e MC L30D 55-4) característico dos cristais de PZQ, o que corrobora com a teoria de que o fármaco está associado, englobado, pelo sistema polimérico.

Os termogramas obtidos na análise de DSC nos mostram claramente a ausência de fármaco no estado cristalino na superfície das micropartículas avaliadas, quando as formulações foram comparadas com o próprio fármaco e o seu respectivo polímero. Estas informações são mais um indicativo que o fármaco se encontra no interior das microcápsulas, evitando assim o seu contato direto com as papilas gustativas.

De acordo com os perfis de liberação *in vitro*, podemos concluir inicialmente que as microcápsulas formadas, tanto pelo polímero E100 como pelo L30D55, apresentaram uma liberação limitada do fármaco, quando em presença de meio de dissolução formado por tampão pH 6,8 e HCl 0,1N, respectivamente. Isto é uma condição ideal uma vez que o produto deve ser redisperso em meio aquoso para ser administrado.

Os ensaios de dissolução também comprovaram a capacidade dos sistemas poliméricos liberarem o fármaco de forma adequada em presença de meio de

dissolução com pH controlado. Todas as formulações propostas apresentaram dissoluções satisfatórias do PZQ, quando empregando pH 6,8 para os sistemas contendo o polímero L30D55 e meio ácido para os sistemas empregando o polímero E100, garantindo a disponibilidade *in vivo* do ativo após a administração oral.

Após a realização destes ensaios de caracterização dos sistemas microparticulados, selecionou-se a MC L30D (4) para ser incorporada a forma farmacêutica pó para suspensão oral, um produto de fácil administração principalmente ao público infantil. Diferentes propostas de formulação foram realizadas variando-se qualitativamente e quantitativamente os componentes da formulação, afim de assegurar o completo mascaramento do sabor do fármaco.

A caracterização das diferentes formulações propostas demonstrou que todas apresentaram pH na faixa ideal, levemente ácido, o que mantém a estrutura das microcápsulas uma vez em suspensão, por até 1 hora. A avaliação do tempo de sedimentação demonstrou que as formulações apresentam baixa velocidade de sedimentação e fácil redispersão do sedimentado após agitação, o que ocasiona boa homogeneidade do produto, diminuindo assim o risco de erros de dose na hora da administração do medicamento. O teor de cada formulação também se apresentou-se de acordo com o proposto, apresentando valores ideais para administração do fármaco em doses que possam ser ajustadas de acordo com a massa corpórea de cada indivíduo.

A avaliação do mascaramento do sabor utilizando o mecanismo da língua eletrônica demonstrou a capacidade satisfatória de todas as formulações propostas em mascarar o sabor desagradável do PZQ.



---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

AFTABROUCHAD, C.; DOELKER, E. Preparation methods for biodegradable microparticles loaded with water-soluble drugs. **STP Pharma Sci.** v. 2, p. 365-380, 1992.

ALI, B. H. A short review of some pharmacological, therapeutic and toxicological properties of praziquantel in man and animals. **Pak. J. Pharm. Sci.**, v. 19, n. 2, p. 170-175, 2006.

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

ANAND, V., SAHARAN, V., KATARIA, M., KUKKAR, V., CHOUDHURY, P. The latest trends in the taste assessment of pharmaceuticals. **Drug Discov. Today.** v. 12, p. 257-265, 2007.

ANDREWS, P., THOMAS, H., POHLKE, R., SEUBERT, J. Praziquantel. **Med. Res.** v. 3, p.147–200, 1983.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de Vigilância Epidemiológica. Esquistossomose Mansônica, p.23-24, 2005.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira, volume 1. 5ª ed. Brasília, 2010b.

AOKI, P. H. B., ALESSIO, P. RIUL, A., DE SAJA SAEZ, J. A., CONSTANTINO, C.J.L. Coupling Surface-Enhanced Resonance Raman Scattering and Electronic Tongue as Characterization Tools to Investigate Biological Membrane Mimetic Systems. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 9, p. 3537-3546, 2010.

ARAÚJO, N., MATTOS, A.C.A., COELHO, P.M.Z., KATZ, N. Association of oxaminiquine, praziquantel and lovastatin association in the experimental schistosomiasis mansoni. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 103, n.5, p. 450-454, 2008.

ARSHADY, R. Preparation of biodegradable microspheres and microcapsules. Part 2. Polyactides and related polyesters. **J. Controlled Release.** v. 17, p. 1- 21, 1991.

---

BARTOSHUK, L.M. Comparing sensory experiences across individuals: recent psychophysical advances illuminate genetic variation in taste perception. **Chem. Senses**. v. 25, p. 471–492, 2000.

BATYCKY, R. P., HANES, J., LANGER, R. E., EDWARDS, D. A. A theoretical model of erosion and macromolecular drug release from biodegrading microspheres. **Journal of Pharmaceutical Science**. v.86, n.1, p. 464-477, 1997.

BECKET, G.; SCHEP, L.J.; TAN, M.Y. Improvement of the in vivo dissolution of praziquantel by complexation with  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -ciclodextrins. **International Journal Pharmaceutics**, v. 179, p. 65-71, 1999.

BENITA, S. Microencapsulation Methods and Industrial Applications. 10 ed. New York. Marcel Dekker, p. 35 – 72, 2006.

BENOIT, J.P., MARCHAIS, H., VELDE, V.V.; Biodegradable microspheres: Advanced in production technology. In BENITA, S. **Microencapsulation: Methods and Industrial Applications**: 10 ed. New York. Marcel Dekker, p. 35 – 72, 2006.

BHARDWAJ, S. B., SHUKLA, A. J., COLLINS, C. C. Effect of varying drug loading on particle size distribution and drug release kinetics of verapamil hydrochloride microspheres prepared with cellulose esters. **Journal of Microencapsulation**. v.12, n.1, p.71-81, 1995.

BIRNBAUM, D.T., BRANNON-PEPPAS, L. Microparticle drug delivery systems. In: Brown DM, editor. Drug delivery systems in cancer therapy. Totowa: Humana Press Inc. p.117–136, 2003.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Cadernos de atenção básica**. Vigilância em Saúde. 2ª ed. Brasília. Secretaria de Atenção à Saúde Departamento de Atenção Básica 2008.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de vigilância epidemiológica**. Normas e manuais técnicos. 7ª ed. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde 2009.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Diretrizes técnicas do Programa de Controle da Esquistossomose**. 3 ed. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Plano nacional de saúde**. Brasília: Secretaria-Executiva Subsecretaria de Planejamento e Orçamento 2011.



BRAZEL, S.C., PEPPAS, N.A. Modeling of drug release from swellable polymers. **Eur J Pharm Biopharm.** v. 49, p.47–48, 2000.

BREITKREUTZ, J., EL-SALEH, F., KIERA, C., KLEINEBUDDE, P., WIEDEY, W. Pediatric drug formulations of sodium benzoate: II. Coated granules with a lipophilic binder. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.** v.56, p. 255-260, 2003.

BROADHEAD, J., EDMOND ROUAN, S.R., RHODES, C.T. The Spray Drying of Pharmaceuticals. **Drug Development and Industrial Pharmacy.** New York, v.18, n. 11 e 12, p.1169 – 1206, 1992.

BURGESS, D. J.; HICKEY, A. J. Microsphere technology and applications. In: SWARBRICK, J.; BOYLAN, J. C., eds. *Encyclopedia of Pharmaceutical technology.* New York: Marcel Dekker, v. 10, p. 1-29, 1994.

CAFREY, C.R. Chemotherapy of schistosomiasis: present and future. **Current Opinion Chemical Biology.** v.11, p. 433-439, 2007.

CAMPOS, I., ALCAÑIZ, M., MASOT, R., SOTO, J., MARTÍNEZ-MÁÑEZ, R., VIVANCOS, J.L. A method of pulse array design for voltammetric electronic tongues. **Sensors and Actuators B-Chemical,** v. 161, n. 1, p. 556-563, 2012.

CASTRO, N., MEDINA, R., SOTELO, J., JUNG, H. Bioavailability of praziquantel increases with concomitant administration of food. **Antimicrob. Agents Chemother.** v. 44, p. 2903-2904, 2000.

CHITSULO, L., ENGELS, D., MONTRESOR, A., SAVIOLI, L., The global status of schistosomiasis and its control. **Acta Tropica.** V. 77, p.41-51, 2000.

CHORNY, M., FISHBEIN, I., DANENBERG, H.D., GOLOMB, G. Lipophilic drug loaded nanospheres prepared by nanoprecipitation: effect of formulations variables on size, drug recovery and release kinetics, **Journal of Controlled Release.** v.83, p.389-400, 2002.

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

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

CIOSEK, P., WROBLEWSKI, W. Sensor arrays for liquid sensing - electronic tongue systems. **Analyst**, v. 132, n. 10, p. 963-978, 2007.

COURA-FILHO, P., ROCHA, R.S., FARAH, M.W., SILVA, G.C., KATZ, N. Identification of factors and groups at risk of infection with *Schistosoma mansoni*: a strategy for the implementation of control measures? **Rev. Inst. Med. trop.** v.36, n.3, 1994.

COUTINHO, A. Tratamento das esquistossomose mansônica: aspectos atuais. **Rev. Ass. Med. Brasil.** p. 23-27, 1977.

DANTAS, C.A.R. Fabricação de microcanais para integração de uma “língua eletrônica” em um sistema lab-on-a-chip. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Materiais/POSMAT) - Universidade Estadual Paulista, Sorocaba, 2009.

DA SILVA, L. C., CHIEFFI, P. P., CARRILHO, F. J. Schistosomiasis mansoni -- clinical features. **Gastroenterol Hepatol.**, v. 28(1), p. 30-39, 2005.

DAYAN, A.D. Albendazole, mebendazole and praziquantel. Review of non-clinical toxicity and pharmacokinetic. **Acta tropica**, v.86, p. 141-159, 2003.

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

DEEPAK, S., DINESH, K., MANKARAN, S., GURMEET, S., SINGH, R.M. Taste masking technologies: A novel approach for the improvement for organoleptic property of pharmaceutical active substance. *International Research Journal of Pharmacy*. v.3, n.4, 2012.

DOLLERY, C. T. Praziquantel. In: *Therapeutic Drugs*. Churchill Livingstone, Edinburgh, 2<sup>a</sup> ed., vol. 2, p. 184-188, 1999.

DOS SANTOS, D.S., RIUL A., MALMEGRIM, R.R., FONSECA, F.J., OLIVEIRA JR. N.O., MATTOSO, L. H. C. A layer-by-layer film of chitosan in a taste sensor application. **Macromolecular Bioscience**, v. 3, n. 10, p. 591-595, 2003.

EBY, G., A. Taste-Masked Zinc Acetate Compositions for Oral Absorption. US Patent 5,095,035, March 10, 1992.

- EERIKÄINEN, H., PELTONEN, L., RAULA, J., HIRVONEN, J., KAUPPINEN, E.I. Nanoparticles coating ketoprofen and acrylic polymers prepared by an aerosol flow reactor method. **AAPS PharmSciTech.** v. 5, n. 4, p. 1-19, 2004.
- FELDER, C.B., BLANCO-PRIETO, M.J., HEIZMANN, J., MERKLE, H.P., GANDER, B. Ultrasonic atomization and subsequent polymer desolvation for peptide and protein microencapsulation into biodegradable polyesters. **J Microencapsulation.** v. 20, p. 553–567, 2003.
- FENWICK, A., SAVIOLI, L., ENGELS, D., BERGQUIST, N, R., MATTHEW, H. TODD. **Drugs for the control of parasitic diseases: current status and development in schistosomiasis.** Trends in Parasitology v.19, n.11, p.509 – 513, 2003.
- FERREIRA, A.A.A., PRATES, E.C., FERNANDES, J.P.S., FERRANI, M. Avaliação do efeito da participação de comprimidos de furosemida sobre a uniformidade da dose. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada.** v.32, n.1, p.47-53, 2011.
- FESSI H., PUISIEUX F., DEVISSAGUET J-P., AMMOURY N., BENITA S. Nanocapsule formation by interfacial deposition following solvent displacement. **Int J Pharm.** v. 55:R1-R4, 1989.
- GIORGI, M., MEUCCI, V., VACCARO, E., MENGOZZI, G., GIUSIANI, M., SOLDANI, G. Effects of liquid and freeze-dried grapefruit juice on the pharmacokinetics of praziquantel and its metabolite 4'-hydroxy praziquantel in beagle dogs. **Pharmacol. Res.**, v. 47, p. 87-92, 2003.
- GIUNCHEDI, P., CONTE, U. Spray-drying as a preparation method of microparticulate drug delivery systems: overview. **STP Pharma. Sci.**, Paris, v. 5, p. 276-290, 1995.
- GONZÁLEZ-ESQUIVEL, D., RIVERA, J., CASTRO. N., YEPEZ-MULIA, L., JUNG COOK, H. In vitro characterization of some biopharmaceutical properties of praziquantel. **International Journal of Pharmaceutics.** v. 295, p. 93-99, 2005.
- GREENBERG, R.M. Are Ca<sup>2+</sup> channels targets of praziquantel action? **Int. J. Parasitol.**, v.35, p.1-9, 2005.

- GIUNCHEDI, P., CONTE, U. Spray-drying as a preparation method of microparticulate drug delivery systems: overview. **STP Pharma Sci.**v. 5, p. 276-290, 1995.
- GUTCHO, M.H. Chemical technology review. New Jersey: Noys Data Corporation, Microcapsules and other capsules. N.135, 1979.
- HAZNEDAR S, DORTUE B. Preparation and *in vitro* evaluation of eudragit microspheres containing acetazolamide. **Int J Pharm.** v. 269, p.131–140, 2004.
- HEURTAULT, B., SAULNIER, P., PECH, B., PROUST, J. E., BENOIT, J. P. Physicochemical stability of colloidal lipid particles. **Biomaterials**, v. 24, p. 4283–4300, 2003.
- HOMEIDA, M., LEAHY, W., COPELAND, S., ALI, M. M., HARRON, D. W. Pharmacokinetic interaction between praziquantel and albendazole in Sudanese men. **Ann Trop Med Parasitol.** v. 88, p. 551–559, 1994.
- HOTEZ, P. J., BOTTAZZI, M. E., FRANCO-PAREDES, C., AULT, S. K., PERIAGO, M. R. The neglected tropical diseases of Latin America and the Caribbean: a review of disease burden and distribution and a roadmap for control and elimination. **PLoS Negl Trop Dis.** v.2(9), p. 300-305, 2008.
- HSIEH, D. Controlled release systems: past, present and future. In: Hsieh D, editor. **Controlled release systems: fabrication technology.** v.1. Florida: CRC Press, p. 1–17, 1998.
- IBIKOUNLÉ, M.; MOUAHID, G.; KAKITI, N.G.; MASSOUGBOGJI, A.; MONÉ, H. Freshwater snail diversity in Benin (West Africa) whit a focus human Schistosomiasis, **Acta Tropica**, v. 111 (1), p. 28-34, 2009.
- ISHIKAWA, T., WATANABE, Y., UTOGUCHI, N., MATSUMOTO, M. Preparation and evaluation of tablets rapidly disintegrating in saliva containing bitter taste masked granules by direct compression method. **Chem. Pharm. Bull.** v. 47, 1451–1454, 1999.
- ISMAIL, M., METWALLY, A., FARGHALY, A., BRUCE, J., TAO, L.F., BENNET, J.L. Characterization of isolates of schistossoma mansoni from Egyptian villagers that tolerate high doses of praziquantel. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.55, p. 212-218, 1996.

ITOI, K., TABATA, C.Y., IKE, O., SHIMIZU, Y., KUWABARA, M., KYO, M. *In vivo* suppressive effects of copoly(glycolic/l-lactic acid) microspheres containing CDDP on murine tumor cells. **J Control Rel.** v.42, 175–184, 1996.

JAFARI, E. Preparation, Characterization and Dissolution of Solid Dispersion of Diclofenac Sodium Using Eudragit E-100. **Journal of Applied Pharmaceutical Science.** v. 3, n.8, p.167-170, 2013.

JAGER, E., VENTURINI, C.G., POLETTO, F.S., COLOME, L.M., POHLMANN, J.P.U., BERNARDI, A., BATTASTINI, A.M.O., GUTERRES, S.S., POHLMANN, A.R. Sustained release from lipid-core nanocapsules by varying the core viscosity and the particle surface area. **J. Biomed. Nanotechnol.**, v.5, p.130–140, 2009.

JAŃCZYK, M., KUTYŁA, A., SOLLOHUB, K., WOSICKA, H., CAL, K., CIOSEK, P. Electronic tongue for the detection of taste-masking microencapsulation of active pharmaceutical substances. **Bioelectrochemistry.** v. 80, p. 94-98, 2010.

JEZIORSKI, M.C., GREENBERG, R.M., Voltage-gated calcium channel subunits from pltyhelminths: potential role in praziquantel action. **Int. J. Parasitol.** v. 36, p.625-632, 2006.

JOSHI, M. Role of eudragit in targeted drug delivery. **International Journal of Current Pharmaceutical Research.** v. 5(2), p. 58-62, 2013.

JUNG, H., MEDINA, R., CASTRO, N., CORONA, T., SOTELO, J. Pharmacokinetic study of praziquantel administered alone and in combination with cimetidine in a single-day therapeutic regimen. **Antimicrob. Agents Chemother.** v. 41, p.1256–1259, 1997.

JYOTHI, N. V., PRASANNA, S, M., PRABHA, S., RAMAIAH, P., SEETHA, S. G., SAKARKAR, S. N., Microencapsulation Techniques, Factors Influencing Encapsulation Efficiency. **Journal of Microencapsulation.** v. 27, n.3, p.187-197, 2010.

KATSURAGI, Y., KASHIWAYANAGI, M. Specific inhibitor for bitter taste inhibition of taste nerve responses and human taste sensation to bitter stimuli. **Brain. Res. Protocols.** v. 1, p. 292 – 298, 1997.

KAS, H. S., ONER, L. Microencapsulation using coacervation/phase separation: an overview of the technique and applications. In: WISE, D. L., ed. **Handbook of**

**Pharmaceutical controlled release technology.** New York: Marcel-Dekker, p. 301-328, 2000.

KHIDR, S. H., NIAZY, M., EL-SAYED, Y. M. Development and in vitro evaluation sustained release meclofenamic acid microspheres. **J. Microencapsulation.** v. 15, n. 2, p. 153-62, 1998.

KHOEE, S., YAGHOUBIAN, M., 2008. An investigation into the role of surfactants in controlling particle size of polymeric nanocapsules containing penicillin-G in double emulsion. **Eur. J. Med. Chem.**, doi:10.1016/j.ejmech.2008.09.045.

KOROLKOVAS, A. Dicionário Terapêutico Guanabara, Ed. Guanabara Koogan, p.10-18, 1997/1998.

KRISTMUNDSDÓTTIR, T., GUDMUNDSSON, O. S., INGVARSDÓTTIR, K. Release of diltiazem from eudragit microparticles prepared by spray-drying. **International Journal of Pharmaceutics.** v.137, p. 159 – 165, 1996.

KREUTER, J. Drug targeting with nanoparticles. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics.** v.19(3), p.253-256, 1994.

KYO, M., HYON, S.H., IKADA, Y. Effects of preparation conditions of cisplatin-loaded microspheres on the *in vitro* release. **J Control Rel.** v. 35, p.73–82, 1995.

LAMBERTUCCI, J.R., SERUFO, J.C., Gerspacher, L.R., RAYES, A.A.M., TEIXEIRA, R., NOBRE, V., ANTUNES, C.M.F. Schistosoma mansoni: assessment of morbidity before and after control. **Acta Tropica**, v.77, p. 101-109, 2000.

LAPA, M.S., FERREIRA, E.V.M., JARDIM, C., MARTINS, B.C.S., ARAKAKI, J.S.O, SOUZA, R. Características clínicas de pacientes com hipertensão pulmonar em dois centros de referência em São Paulo. **Rev. Assoc. Med. Bras.** v.52, n.3, p.139-43, 2006.

LEGRAND, P., LESIEUR, S., BOCHOT, A., GREF, R., RAATJES, W., BARRATT, G., VAUTHIER, C. Influence of polymer behavior in organic solution on the production of polylactide nanoparticles by nanoprecipitation. **International Journal of Pharmaceutics.** v. 344, p. 33-43, 2007.

LEONG, K.W., LANGER, R. Polymeric controlled drug delivery, Adv. **Drug Deliv. Rev.** v. 1, p. 199-233, 1988.

- LEOPOLD, G., UNGETHÜM, W., GROLL, E., DIEKMANN, H.W., NOWAK, H., WEGNER, D.H. Clinical pharmacology in normal volunteers of praziquantel, a new drug against schistosomes and cestodes. An example of a complex study covering both tolerance and pharmacokinetics. **Eur J Clin Pharmacol.** v.14, p. 281-291, 1978.
- LINCE, F., MARCHISIO, D.L., BARRESI, A.A. Strategies to control the particle size distribution of poly-epsilon-caprolactone nanoparticles for pharmaceutical applications. **Journal of Colloid and Interface Science.** v. 322, p. 505 – 515, 2008.
- LIM, B.G., CHING, C.B., TAN, R.B.H. Recovery of (-)-praziquantel from racemic mixtures by continuous chromatography and crystallization. **Chemical Engineering Science,** v. 50, n.14, p.2289-2298, 1995.
- LIMA, D.R. Manual de farmacologia clínica, terapêutica e toxicologia. **Doenças infecciosas e parasitárias.** Ed. Medsi, p. 451 – 452 (2), 2002.
- LINHARD, R. Biodegradable polymers for controlled release of drugs. *In*: Rosoff, M. **Controlled release of drugs: Polymers and aggregate systems.** VCH Publisher Inc., p. 53-85, 1988.
- LIU, Y.H., QIAN, M. X., WANG, X. G., JIA, J., WANG, Q. N., JIANG, Y. F., WANG, R. Q., YAN, S. W., CHEN, B. Y., LI, J. S., QIU, Z. Y., SHEN, J. K. Comparative efficacy of praziquantel and its optical isomers in experimental therapy of schistosomiasis japonica in rabbits. **Chin. Med. J.** v. 99, p. 935–940, 1986.
- LORENZO-LAMOSA, M.L., KUNA, M., VILA-JATO, J.L., TORRES, D., ALONSO, M.J. Development of a microencapsulated form of cefuroxime axetil using pH-sensitive acrylic polymers. **J. Microencapsul.** v.14, n. 5, p. 660–616, 1997.
- LOUKAS, A., HOTEZ, P.J. Chemotherapy of Helminth Infections. *In* Goodman and Gilman'S the Pharmacological Basis of Therapeutics. 12<sup>a</sup> ed. McGraw-Hill Education, 2011.
- MALIK, K., ARORA, G., SINGH, I. Taste masked microspheres of ofloxacin: formulation and evaluation of orodispersible tablets. **Sci. Pharm.** 79, p. 653–672, 2011.
- MATSUI, D. Current issues in pediatric medication adherence. **Pediatric Drugs.** v.9, n.5, p. 283-288. 2007.

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

MAUGER, J.W., ROBINSON D.H. Coating technology for taste masking orally administered bitter drugs. U.S. Pat. No 5,728,403 to university of the braska ; 1998.

MEEHAN, E., SAUNDERS, G. TRIBE, K. High performance GPC analysis for reliable polymer characterization. The Applications Books, p.1-2, 2003.

METWALLY, A., BENNETT, J., BOTROS, J., EBEID, F. Impact of drug dosage and brand on bioavailability and efficacy of praziquantel. **Pharmacological Research**. v.31, n.1, p. 53-59, 1995.

MONTRESOR, A., CROMPTON, D. W. T., GYORKOS, T.W., SAVIOLI, L. Helminth control in school-age children; A guide for managers of control programmes, 2002. Disponível em: <http://www.who.int/wormcontrol/documents/en/itoviii.pdf> via the Internet. Acessado em Dezembro de 2014.

MOUSTAFINE, R.L., KABANOVA, T.V., KEMENOVA, V.A., VAN DEN MOOTER, G. Characteristics of interpolyelectrolyte complexes of Eudragit E100 with Eudragit L100. **Journal of Controlled Release**. v. 103, n. 1, p. 191-198, 2005.

MUJUMDAR, A.S., Handbook of industrial drying. Nova Yorque. Taylor and Francis group, 4<sup>a</sup> ed., p. 192-206. 2015.

NAKANO, Y., MAEDA, A., UCHIDA, S., NAMIKI, N. Preparation and evaluation of unpleasant taste-masked pioglitazone orally disintegrating tablets. **Int. J. Pharm.** 446, 160–165, 2013.

NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. Ed. Ateneu, 13a ed. p.173, 2016.

NOGUEIRA DE ASSIS, D., FURTADO, V.C., CARNEIRO, J.M., SPANGLER, M., NASCIMENTO, V. Release profiles and morphological characterization by atomic force microscopic and photon correlation spectroscopy of <sup>99m</sup>Techneium-fluconazole nanocapsules. **Int. J. Pharm.** v. 349, p. 152–160, 2008.

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



O'DONNELL, P., MCGINITY, J. Preparation of microspheres by the solvent evaporation technique. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v.28, p.25-42, 1997.

OGATA, T., KOIDE, A., KINOSHITA, M., OZEKI, T. Taste masking of propiverine hydrochloride by conversion to its free base. *Chem. Pharm. Bull.* v.60, n.8, p.976–984. 2012.

OLIVEIRA, T.F, SOARES, M.S, CUNHA, R.A. Educação e controle da esquistossomose em Sumidouro (RJ, Brasil) avaliação de um jogo no contexto escolar. **Rev. Brasileira de Pesquisa em Educação em Ciências**. v. 8 (3) p. 1-14, 2008.

O'NEIL, M.J. The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, 12 ed. New Jersey: Merck, p. 1324, 1996.

OZER A.Y., HINCAL A.A. Studies on the masking of unpleasant taste of beclamide: microencapsulation and tableting. **J Microencapsul.** v. 7, n.3, p.327-39, 1990.

PALMIERI, J.F., MULLER, R.H. Pellets as carriers of solid lipid nanoparticles (SLN) for oral administration of drugs. **Pharmazie. Berlin**, v.54, n.7, p. 506 – 509, 1999.

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

PATEL, A., AMRIT, S. Formulation Taste Making-From Bitter to better: The latest masking techniques can yield more palatable drugs. **Pharm Formulation and Quality**. v.35, p.2-9, 2009.

PAULOVICH, F. V., MORAES, M. L., MAKI, R. M., FERREIRA, M., OLIVEIRA JR, O. N., OLIVEIRA, M. C. F. Information Visualization Techniques for Sensing and Biosensing. **Analyst**. v.136, p.1344-1350, 2011.

PLASARI, E., GRISONI, P., VILLERMAUX, J. Influence of process parameters on the precipitation of organic nanoparticles by drowing-out. **Chemical Engineering Research & Design**. v.75, p.237-244, 1997.

PRIOR, S., GAMAZO, C., IRACHE, J.M., MERKLE, H.P., GANDER,B. Gentamicin encapsulation in PLA/PLGA microspheres in view of treating Brucella infections. **International Journal of Pharmaceutics**. v.196, p.115–125, 2000.

QUINTEROS, D.A., RIGO, V.R., KAIRUZ, J., OLIVEIRA, M.E., MANZO, R.H., ALLEMANDI, D.A. Interaction between a cationic polymethacrylate (Eudragit E100) and anionic drugs. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 33, n.1, p. 72-79, 2008.

RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M. Farmacologia. Fármacos Anti-helmínticos. 4 ed. Ed. Guanabara Koogan, p. 624, 2001.

RATTES, A. L. R., OLIVEIRA, W. P. Spray-drying as a method for microparticulate modified release systems preparation. **Proceedings of the 14h international drying symposium**. v. B, p. 1112 – 1119, 2004.

RÉ, M. I. Microencapsulação: Em busca de produtos inteligentes. **Ciência Hoje**. v. 27(162), p. 24-29, 2000.

REICH, M. R., GOVINDARAJ, R. J., DUMBAUGH, K.; YANG, B., BRINKMANN, A., EL-SAHARTY, S., MAST, C., NORRIS, J. International strategies for tropical disease treatments: experiences with praziquantel. **Takemi Program in International Health**. Harvard School, p. 1-104, 1995.

REICH, M.R., GOVINDARAJ, R. Dilemmas in drug development for tropical diseases. Experience with praziquantel. **Health Policy**. v.44, p. 1-18, 1998.

RIUL, A. A Ciência Imitando o Corpo Humano. **Revista Physicae**. v.3, p.7-8, 2002.

RIUL, A., MALMEGRIM, R.R., FONSECA, F.J., MATTOSO, L.H.C. An artificial taste sensor based on conducting polymers. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 18, n. 11, p. 1365-1369, 2003.

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

ROGER, E., LAGARCE, F., GARCION, E., BENOIT, J. P. Biopharmaceutical parameters to consider in order to alter the fate of nanocarriers after oral delivery. **Nanomedicine**, v. 5, n. 2, p. 287-306, 2010.

ROLLEMBERG, C.V.V., SANTOS, C.M.B, SILVA. M.M.B.L., ACACIA MARIA, DE ALMEIDA, R.P., DE JESUS, A.R. Aspectos epidemiológicos e distribuição geográfica da esquistossomose e geo-helmintos, no Estado de Sergipe, de acordo com os dados do Programa de Controle da Esquistossomose. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.44, n.1, p. 91-96, 2011

- ROSZKOWSKI, P., MAURIN, J.K., CZARNOCKI, Z. Enantioselective synthesis of (R)-(-)praziquantel (PZQ). **Tetrahedron Asymmetry**, p.1415, 2006.
- SCHER, H.B. In: MIYAMOTO, J., KEARNY, P.C. Pesticide chemistry— Human welfare and environment. v. 4, **Oxford: Pergamon press**, p. 295–300, 1983.
- SETHIA, S., SQUILLANTE, E. Solid dispersion: revival with grater possibilities and applications in oral drug delivery. **Critical Reviews and characterization of therapeutic drug carrier systems**, v.20, p.215-257, 2003.
- SEUBERT, J., POHLKE, R., LOEBICH, F., **Experientia**, v. 33, p. 1036, 1977.
- SHARMA, S., LEWIS, S. Taste masking technologies: a review. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. v. 2, n. 2, p.6-13, 2010.
- SHAOHONG, L., KUMAGAI, T., QINGHUA, A., XIAOLAN, Y., OHMAE, H., YABU, Y., SIWEN, L., LIYONG, W., MARUYAMA, H., OHTA, N. Evaluation of the anthelmintic effects of artesunate against experimental *Schistosoma mansoni* infection in mice using different treatment protocols. **Parasitology International**, v. 55, n.1, p.63-68, 2006.
- SHARMA, S., LEWIS, S. Taste masking technologies: a review. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. v. 2, n. 2, 2010.
- SHEKHAR, K. C. Schistosomiasis drug therapy and treatment consideration. **Drugs**, v.42, n.3, p.379-405, 1991.
- SHIMIZU, H., SONO, S., SHIOYA, S., SUGA, K. in: *Biochemical Engineering for 2001*. Springer-Verlag. p. 195-197, 1992.
- SHUHUA, X. Development of antischistosomal drugs in China, with particular consideration to praziquantel and the artemisinins. **Acta Trop.**, v. 96, p. 153-167, 2005.
- SINHA, V.R., TREHAN, A. Biodegradable microspheres for protein delivery. **J Control Rel.** v. 90, p. 261–280, 2003.
- SIQUEIRA J.R., CASELI, L., CRESPILOHO, F.N., ZUCOLOTTO, V., OLIVEIRA, O.N. Immobilization of biomolecules on nanostructured films for biosensing. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 25, n. 6, p. 1254-1263, 2010.

SOHI, H., SULTANA, Y., KHAR, R.K. Taste Masking Technologies in oral pharmaceuticals, recent development and approaches. **Drug Dev Ind Pharm.** v.30(5), p.429-448, 2004.

SOLLOHUB, K., JANCZYK, M., KUTYLA, A., WOSICKA, H., CIOSEK, P., CAL, K. Taste masking of roxithromycin by spray drying technique. **Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research**, v. 68, n. 4, p. 601-604, 2011.

SOTELO, J., JUNG, H. Pharmacokinetic optimisation of the treatment of neurocysticercosis. **Clin. Pharmacokinet.** v. 34, p.503-515, 1998.

SPENLEHAUER, G., VERT, M., BENOIT, J.P., CHABOT, F., VEILLARD, M. Biodegradable cisplatin microspheres prepared by the solvent evaporation method: morphology and release characteristics. **J Control Rel.** v. 7, p.217–229, 1988.

STEINER, K., GARBE, A., DIEKMANN, H. W., NOVAK, H. The fate of praziquantel in the organism. I: Pharmacokinetics in animals. **Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokinet.** v. 1, p. 85–95, 1976.

STORPIRITIS, S., GONÇALVES, J.E., CHIANN, C., GAI, M.N., Ciências Farmacêuticas – Biofarmacotécnica. Rio de Janeiro. GuanabaraKoogan, p.66-68, 2009.

SUGAO, H., YAMAZAKE, S., SHIOZAWA, H., YANO, K. Taste masking of bitter drug powder without loss of bioavailability by heat treatment of waxcoating microparticles. **J. Pharm. Sci.** v. 87, n.1, p. 96–100, 1998.

SWARBRIK, J.; BOYLAN, S.C. Flavors and flavors modifier. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. Vol. 6. New York: Marcel Dekker Inc.; 1990. P. 117 – 137.

TAKAGI, S.; TOKA, K. Detections of suppression of bitterness by sweet substance using a multichannel taste sensor. **J Pharm Sci.** v. 87. p. 552 – 555. 1998.

TAYLOR, M. Global trends in schistosomiasis control. **Bulletin of the World Health Organization**, v.86, p.738, 2006.

THIBODEAU, G.A.. PATTON, K.T., Anthony's text book of anatomy and physiology. 18<sup>th</sup> Edition: Mosby Elsevier Health Science; p. 378-379, 2006.

THIES, C. A survey of microencapsulation process. In BENITA, S. *Microencapsulation: Methods and Industrial Applications*: 10 ed. New York. Marcel Dekker, p. 35 – 72, 1996.

TOKO, K. Taste sensor with global selectivity. **Materials Science & Engineering C-Biomimetic Materials Sensors and Systems**, v. 4, n. 2, p. 69-82, 1996.

UTZINGER, J., SHUHUA, X., KEISER, J., MINGGAN, C., JIANG, Z., TANNER, M. Current progress in the development and use of artemether for chemoprophylaxis of major human schistosome parasites. **Curr. Med. Chem.**, v. 8, p. 1841-1859, 2001.

VALENCIA, C.I., CATTO, B.A., WEBSTER, L.T.J.R., BARCELON, E., OFENDO-REYES, R. Concentration time course of praziquantel in Filipinos with mild *Schistosoma japonicum* infection. v. 25, p. 409-414, 1994.

VAN SANTEN, E., BARENDSD.M., FRIJLINK, H.W. Braking of scored tablets: a review. **European Journal Pharmaceutical and Biopharmaceutics**, v. 53, p. 139-145, 2002.

VENNERVALD, B.J. et al. Regression of hepatosplenomegaly in Kenyan school-aged children after praziquantel treatment and three years of greatly reduced exposure to *Schistosoma mansoni*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, Londres, v.99, p.150-160, 2005.

VERRUE, C.C., MEHUYS, E., BOUSSERY, K., REMON, J.P., PSTROVIC, M. Tablet-splitting: a common yet not so innocent practice. **Journal of Advanced Nursing**. v. 67, n.1, p.26-32, 2011.

VILA JATO, J. L. **Tecnologia farmacéutica**: Aspectos fundamentais de los sistemas farmacêuticos y operaciones básicas. v. 1. Ed. Sintesis Editorial, Madri, Espanha, 1999.

VOLPATI, D., ALESSIO, P., ZANFOLIM,A.A., STORTI, F.C., JOB, A.E., FERREIRA, M., RIULJR, A., OLIVEIRAJR,N.O., CONSTANTINO, C.J.L. Exploiting distinct molecular architectures of ultrathin films made with iron phthalocyanine for sensing. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 112, n. 48, p. 15275-15282, 2008.

VOLPATI, D. Toward the optimization of an e-tongue system using information visualization: a case study with perylene tetracarboxylic derivative films in the sensing units. **Langmuir**, v. 28, n. 1, p. 1029-1040, 2012.

ZANETTI, B. G. Desenvolvimento de microesferas de carbamazepina visando ao prolongamento da liberação do fármaco. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, 100 p. 2001.

WADHWA, J., PURI, S. Taste Masking: A Novel Approach for Bitter and Obnoxious Drugs. *International Journal of Bio-Technology and Research*. v.1, n.1, p.47 – 60, 2011.

WANG, C., YE, W., ZHENG, Y., LIU, X., TONG, Z. Fabrication of drug-loaded biodegradable microcapsules for controlled release by combination of solvent evaporation and layer-by-layer self-assembly. *Int. J. Pharm.* v. 338, p.165-173, 2007.

WATSON, M., Praziquantel. *Journal of Exotic Pet Medicine*, v.18, n.3, p.229-231, 2009.

WEUTS, I., KEMPEN, D., VERRECK, G., PEETERS, J., BREWSTER, M., BLATON, N., MOOTER, G.V. Salt formation in solid dispersions consisting of polyacrylic acid as a carrier and three basic model compounds resulting in very high glass transition temperatures and constant dissolution properties upon storage. *Eur. J. Pharm.* v. 25, p. 387-393, 2005.

WHO. World Health Organization. Prevention and control of schistosomiasis and soiltransmitted helminthiasis. Acessado em: Junho de 2012. Disponível em: [http://www.who.int/wormcontrol/documents/joint\\_statements/en/ppc\\_unicef\\_finalreport.pdf](http://www.who.int/wormcontrol/documents/joint_statements/en/ppc_unicef_finalreport.pdf)

WHO – World Health Organization. Preventive chemotherapy in human helminthiasis, p.1-56, 2006.

WHO Model Lists of Essential Medicines. Disponível em: <http://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/en/> via Internet. Acessado em Dezembro de 2015.

WHO, Programmes and projects, Schistosomiasis Strategy. Disponível em: <http://www.who.int/schistosomiasis/strategy/en/> via Internet. Acessado em Dezembro de 2015.

WHO, Schistosomiasis. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/en/> via Internet. Acessado em Julho de 2016.

WILLIAM, S., SABRA, A., RAMZY, F., MOUSA, M., DEMERDASH, Z., BENNET, DAY, J.L., BOTROS, S. Stability and reproductive fitness of schistosoma mansoni isolates with decreased sensitivity to praziquantel. **International Journal of parasitology**, v.31, p. 1093-1100, 2001.

WILSON, D., DEL VALLE, M., ALEGRET, S., VALDERRAMA, C., FLORIDO, A. Potentiometric electronic tongue-flow injection analysis system for the monitoring of heavy metal biosorption processes. **Talanta**, v. 93, p. 285-292, 2012.

WINQUIST, F.; WIDE, P.; LUNDSTROM, I. An electronic tongue based on voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, v. 357, n. 1-2, p. 21-31, 1997.

WINQUIST, F. Monitoring of freshness of milk by an electronic tongue on the basis of voltammetry. **Measurement Science & Technology**, v. 9, n. 12, p. 1937-1946, 1998.

WINQUIST, F., HOLMIN, S., KRANTZ-RÜLCKER, C., WIDE, B., LUNDSTRÖM, I. A hybrid electronic tongue. **Analytica Chimica Acta**, v. 406, n. 2, p. 147-157, 2000.

WINQUIST, F., HOLMIN, S., KRANTZ-RÜLCKER, C., WIDE, P., LUNDSTRÖM, I. A hybrid electronic tongue. **Analytica Chimica Acta**, v. 406, n. 2, p. 147-157, 2000.

WINQUIST, F., KRANTZ-RÜLCKER, C., LUNDSTRÖM, I. Electronic Tongues. **MRS Bull.** v. 29, p. 726–731, 2004.

WOELFLE, M., SEERDEN, J.P., GOOIJER, J., POUWER, K., OLLIARO, P., TODD, M.H. Resolution of praziquantel. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.5, n.9, p.1-7, 2011.

WOERTZ, K., TISSEN, C., KLEINEBUDDE, P., BREITKREUTZ, J. Development of a taste masked generic ibuprofen suspension: top–down approach guided by electronic tongue measurements. **J. Pharm. Sci.** v. 100, p. 4460–4470, 2011a.

WRIGHT, W. H. A consideration of economic impact of schistosomiasis. **Bull World Health Organ.** v. 47, n. 5, p. 559-565, 1972.

WU, M. H., WEI, C. C., XU, Z., YUAN, H. C., LIAN, W. N., YANG, Q. J., CHEN, M., JIANG, Q. W., WANG, C. Z., ZHANG, S. J. Comparison of the therapeutic efficacy and side effects of a single dose of levopraziquantel with mixed isomer praziquantel in 278 cases of schistosomiasis japonica. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 45, p. 345–349, 1991.

XIAO, S. H., CATTO, B. A. Comparative in vitro and in vivo activity of racemic praziquantel and its levorotated isomer on *Schistosoma mansoni*. **J. Infect. Dis.** v. 159, p. 589–592, 1989.

YAMAGATA, Y., MISAKI, M., KUROKAWA, T., TAIRA, K. & TAKADA, S. Preparation of a copoly(dl-lactic/glicolic acid)-zinc oxide complex and its utilization to microcapsules containing recombinat human g.rowth hormone. **International Journal of Pharmaceutics.** v. 251, p.133-141, 2003.

YAJIMA, T. Particle design for taste masking using a spray congealing technique. **Chem. Pharm. Bull.** v. 44, p. 187–191, 1996.

YEO, Y., BAEK, N., PARK, K. Microencapsulation methods for delivery of protein drugs. **Biotechnol Bioprocess Eng.** v.6, p.213–230, 2001.

YOJIMA T., NOGATA A. Particle design for taste masking using spray-congealing technique. **Chem Pharm. Bull.** v. 44, p.187-191, 1996.



---

## ANEXOS

---

Análises de distribuição do tamanho de partícula, teor e taxa de associação para os lotes de micropartículas produzidas em maior escala, a fim de serem usadas no preparo da forma farmacêutica final.

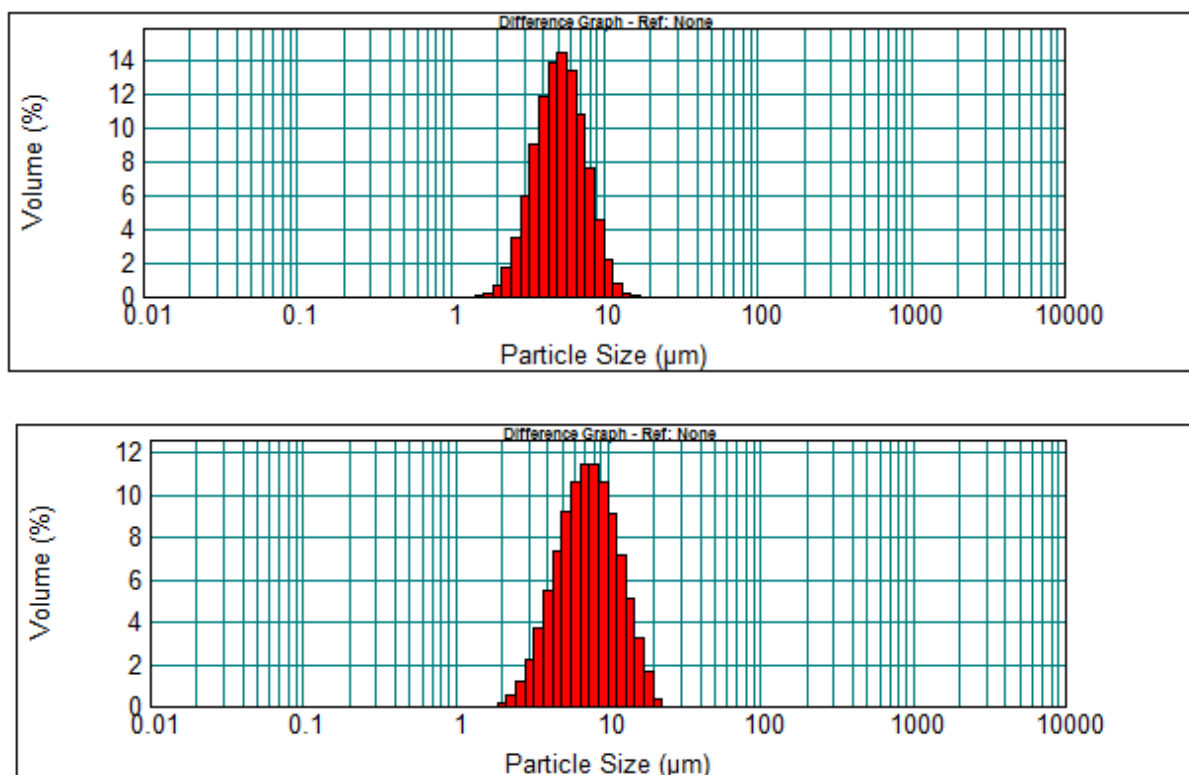


Figura 33. Gráfico de distribuição do tamanho de partícula ( $\mu\text{m}$ ) em relação ao volume (%) para dois lotes produzidos em maior escala, usados no preparo da forma farmacêutica pó para suspensão oral.

Tabela 38. Avaliação do teor e da taxa de associação do pó obtido após secagem.

---

Formulação MC L30D (4)		
Microcápsulas	Teor (mg/g)	TA (%)
Lote (1)	125,55	96,3 $\pm$ 3,5
Lote (2)	123,95	94,4 $\pm$ 3,9

---

**Descrição completa, com as características de cada um dos excipientes usados no preparo das formulações pó para ressuspensão oral.**

- *Lauril Sulfato de Sódio*: agente surfactante aniônico utilizado em uma grande variedade de formulações farmacêuticas e cosméticas. Age como detergente e agente molhante, eficaz tanto em condições ácidas como alcalinas. Em forma farmacêutica pó para suspensão oral atua como agente molhante, facilitando a interação do meio aquoso com o pó e assim facilitando a redispersibilidade do sólido.
- *Goma Xantana*: suas principais indicações são como agente geleificante, de suspensão e doador de viscosidade para suspensões. Não apresenta toxicidade, é compatível com a maioria dos outros ingredientes farmacêuticos e tem boa estabilidade e propriedades de viscosidade ao longo de uma grande faixa de pH e temperatura. Vem sendo utilizada como um agente de suspensão para suspensões convencionais e de liberação prolongada. Quando presente em um pó para suspensão atua como agente doador de viscosidade para o meio aquoso, influenciando diretamente no tempo de sedimentação, uma vez que mantém por mais tempo a fase sólida em suspensão.
- *Ácido Cítrico*: agente de acidificação; antioxidante; agente de tamponamento e agente quelante. Utilizado em formulações farmacêuticas e produtos alimentares, principalmente para ajustar o pH das soluções, além de atuar como intensificador de sabor e conservante.
- *Ácido Maleico*: utilizado na indústria farmacêutica como agente acidulante e tamponante.
- *Sacarose*: agente de revestimento; auxiliar de granulação; agente de suspensão e edulcorante. Pode atuar como aglutinante em comprimidos; diluente em comprimidos e cápsulas; agente terapêutico e agente doador de viscosidade em formas farmacêuticas líquidas. Na forma de xarope de sacarose também é amplamente utilizado como veículo em formas de dosagem líquidas orais para melhorar a palatabilidade ou para aumentar a viscosidade.
- *Sacarina*: atua em formulações farmacêuticas de uso oral principalmente como edulcorante, adoçante. Sacarina é um agente edulcorante intenso,

utilizado em bebidas, alimentos e produtos de higiene bucal, tais como cremes dentais e enxaguantes bucais. Em formulações farmacêuticas orais, é usado a uma concentração de 0,02-0,5% p/p. Seu poder adoçante é cerca de 300-600 vezes maior do que a sacarose.

- *Aspartame*: usado como um agente edulcorante intenso em bebidas, produtos alimentícios e em preparações farmacêuticas incluindo comprimidos, misturas em pó e preparados vitamínicos. Ela reforça os sistemas de sabor e pode ser utilizado para mascarar algumas características de sabor desagradável; seu poder adoçante é de aproximadamente 180-200 vezes maior do que a sacarose. Ao contrário de alguns outros edulcorantes intensos, o aspartame é metabolizado e, conseqüentemente, tem algum valor nutritivo: 1 g fornece cerca de 17 kJ (4 kcal). No entanto, na prática, a pequena quantidade de aspartame consumida fornecer um mínimo efeito nutritivo.