



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

SYMÓN JONATAN SANTIAGO PAULINO

**DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS
À BASE DE LPSF/GQ-238 PARA O TRATAMENTO ESQUISTOSSOMICIDA.**

Recife

2019

SYMON JONATAN SANTIAGO PAULINO

**DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS
À BASE DE LPSF/GQ-238 PARA O TRATAMENTO ESQUISTOSSOMICIDA.**

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

Área de concentração: Produção e Controle de Medicamentos.

Orientadora: Prof^a Dr^a Rosali Maria Ferreira da Silva

Coorientadora: Prof^a Dr^a Maria do Carmo Alves de Lima

Recife

2019

Catálogo na fonte:
bibliotecário: Aécio Oberdam, CRB4:1895

P328d Paulino, Symon Jonatan Santiago.
Desenvolvimento tecnológico de formas farmacêuticas sólidas a base de LPSF/GQ-238 para o tratamento esquistossomídeo / Symon Jonatan Santiago Paulino. – Recife: o autor, 2019.
66 f.; il.; 30 cm.

Orientadora: Rosali Maria Ferreira da Silva.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.
Inclui referências.

1. Doenças negligenciadas. 2. Esquistossomose. 3. Solubilidade. I. Silva, Rosali Maria Ferreira da (orientadora). II. Título.

615.1 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS 2019 - 098)

SYMON JONATAN SANTIAGO PAULINO

**DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS
À BASE DE LPSF/GQ-238 PARA O TRATAMENTO ESQUISTOSSOMICIDA.**

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

APROVADO: 27 de fevereiro de 2019.

BANCA EXAMINARORA

Prof. Dra. Rosali Maria Ferreira da Silva
Universidade Federal de Pernambuco
Orientadora

Prof. Dra. Beate Saegesser Santos
Universidade Federal de Pernambuco
Examinador Interno

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

AGRADECIMENTOS

Sou grato aos meus pais, **Cicero Paulino** e **Solange Santiago**, pelo apoio em todos os momentos da minha vida. Sempre estiveram ao meu lado e se esforçaram, muito, para que eu e meus irmãos conseguíssemos desenvolver nossos objetivos. Me deram educação, compreensão, amor, carinho e dedico cada coisa que conquisto a esses dois.

Aos meus irmãos **Savio Ramon** e **Caio Swame**, pelo suporte e atenção, mesmo estando longe. Sempre me incentivando a seguir em frente e me divertindo em momentos mais difíceis.

A minha noiva **Maria Luiza**, por cada momento de carinho, apoio, zelo e amor. Por ser meu porto seguro e minha melhor amiga. E a sua família que me acolheu e tanto cuida de mim, especialmente a Sra. **Sheyla Azevedo**.

Aos meus companheiros de laboratório **Thâmara Luna**, **Thiago Douberin**, **Adriana Yun**, **Emerson de Oliveira**, **Joanellys Silva**, **Camila Gomes** e **Aline Silva**, pelas risadas, experiências trocadas, e por sempre me ajudarem em todas as etapas desse projeto.

Agradeço à minha orientadora, **Prof^a Dr^a Rosali Silva**, pela confiança, cuidado e ensino que me deu durante toda a realização desse trabalho, por estar presente ao meu lado sempre que necessário e por sempre puxar minha orelha quando necessário.

A minha coorientadora **Prof^a Dr^a Maria do Carmo, Nena**, por todos os momentos de atenção e orientação. Desde o primeiro momento mostrou que apesar de rígida, zela por seus alunos como uma mãe, e se preocupa muito com o desenvolvimento pessoal, espiritual e profissional de cada um. Me fez crescer em cada palavra.

Ao meu companheiro de projeto, **Lucas Santos**, por ter passado metade do caminho junto comigo. Juntos aprendemos, errando e acertando várias vezes.

Ao **Prof. Dr. Pedro Rolim**, e demais integrantes do **Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM** que, de forma direta ou indireta, contribuíram para que esse trabalho fosse possível. Em especial a **Paulo**, **Talita** e **Marcelo Montenegro**, que contribuíram de forma direta na realização de análises.

Ao **Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami – LIKA**, ao **Departamento de Química Fundamental – DQF**, ao **Departamento de Física – DF** e ao **Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos – LPSF** por cederem equipamentos e instalações para a realização de análises.

RESUMO

A esquistossomose é uma doença endêmica no Brasil. Para o controle e a contenção da doença, é importante ampliar as opções de tratamento. Derivados tiazolidínicos têm se mostrado como importantes alternativas para o tratamento. Estudos *in vitro* demonstraram excelente atividade esquistossomicida para o LPSF/GQ-238. A molécula, no entanto, apresenta baixa solubilidade em água. Esse estudo concentrou esforços no incremento da solubilidade aquosa, do LPSF/GQ-238, através da obtenção de dispersões sólidas. Foram preparadas dispersões sólidas utilizando Soluplus®, polietilenoglicol (PEG) e polivinilpirrolidona (PVP K-30) como carreadores, e que foram obtidas pela técnica do solvente. As análises de compatibilidade *in silico* demonstraram resultados positivos para todos os polímeros pesquisados, apresentando uma maior afinidade pelo PVP-K30, apresentando níveis energéticos de maior valor de estabilidade. Esses novos produtos intermediários foram caracterizados por ensaios de solubilidade, microscopia eletrônica de varredura (MEV), difração de raios-x (DRX), calorimetria diferencial exploratória (DSC), e espectroscopia Raman. Os testes de solubilidade, demonstraram que, quanto maior a proporção de polímero utilizada no preparo da dispersão, maior a solubilidade apresentada. A observação da morfologia pelas análises de MEV, elucidou, que a nova entidade química (NEQ) apresenta uma estrutura característica, de agulhas conectadas, que foi modificada durante o processo de dispersão sólida. O enovelamento dessa estrutura pelo polímero foi observado em todas as dispersões analisadas. As escamas observadas nas estruturas das dispersões demonstram os sucessivos enovelamentos que ocorreram. Quanto maior a proporção do polímero, maior o número de enovelamentos ocorridos, o que pode explicar a maior solubilidade observada nessas preparações. O perfil de difração de raios-x da NEQ revela a presença de picos intensos, apresentando um padrão cristalino. O polímero, por outro lado, apresenta natureza não cristalina, evidenciada pela ausência de picos. Todas as dispersões analisadas não apresentaram os picos característicos da NEQ, evidenciando o comportamento amorfo dos produtos formados. O perfil de degradação térmica da NEQ, apresenta pico endotérmico característico de estrutura cristalina. Esse pico não foi observado em nenhuma das dispersões obtidas, evidenciando a obtenção de um novo estado sólido. A espectroscopia Raman demonstrou que os picos apresentados no intervalo de

número de onda 200-400 (cm^{-1}) pela NEQ, foram perdidos quando em relação a todas as dispersões analisadas, demonstrando uma ligeira alteração na estrutura da molécula quando na dispersão, provavelmente devido à formação de ligações de hidrogênio com o polímero. O estudo *in vitro* evidenciou a melhora significativa quanto a atividade do NEQ frente ao verme adulto e aos esquistossômulos. As capsulas e comprimidos obtidos a partir das dispersões responderam positivamente quando submetidos a testes farmacopeicos. Portanto, as dispersões sólidas obtidas, se mostraram físico-quimicamente e biologicamente, viáveis para a produção de formulações farmacêuticas sólidas para o tratamento esquistossomicida.

Palavras-chave: Doenças Negligenciadas. Esquistossomose. Solubilidade.

ABSTRACT

Schistosomiasis is an endemic disease in Brazil. For control and containment of the disease, it is important to broaden the treatment options. Thiazolidine derivatives have been shown to be important alternatives to treatment. *In vitro* studies demonstrated excellent schistosomicidal activity for LPSF / GQ-238. The molecule, however, has low solubility in water. This study focused on increasing the aqueous solubility of LPSF / GQ-238 by obtaining solid dispersions. Solid dispersions were prepared using Soluplus®, polyethylene glycol (PEG) and polyvinylpyrrolidone (PVP K-30) as carriers, and which were obtained by the solvent technique. *In silico* compatibility analyzes demonstrated positive results for all the polymers surveyed, showing a higher affinity for PVP-K30, presenting higher energy levels of stability. These new intermediates were characterized by solubility tests, scanning electron microscopy (SEM), X-ray diffraction (XRD), differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetry (TG), and Raman spectroscopy. The solubility tests showed that, if more polymer is used, to prepare the dispersions, increases its solubility. The observation of the morphology by the SEM analysis, elucidated, that the new chemical entity (NCE) has a characteristic structure, of connected needles, that was modified during the solid dispersion process. The involvement of the structure by the polymer was observed in all analyzed dispersions. The scales observed in the structures of the dispersions demonstrate the successive involvements that occurred. The greater the proportion of the polymer, the greater the number of involvement occurred, which may explain the better solubility observed in these preparations. The X-ray diffraction profile of the NCE reveals the presence of intense peaks, presenting a crystalline pattern. The polymer, on the other hand, has a non-crystalline nature, evidenced by the absence of peaks. All the analyzed dispersions did not present the characteristic peaks of the NCE, evidencing the less crystalline behavior of the products formed. The thermal degradation profile of the NCE presents characteristic endothermic peak of crystalline structure. This peak was not observed in any of the obtained dispersions, evidencing the obtaining of a new solid state. Raman spectroscopy has shown that the peaks presented in the range 200-400 (cm⁻¹) by the NCE, were lost when in relation to all dispersions analyzed, demonstrating a slight change in the structure of the molecule when in the dispersion, probably because of the formation of hydrogen bonds with the polymer. The *in vitro* study

evidenced the significant improvement in the activity of the NCE in relation to the adult worm and the schistosomulos. The capsules and tablets obtained from the dispersions responded positively when subjected to pharmacopoeial tests. Therefore, the solid dispersions obtained, were shown physically-chemically and biologically, viable for the production of solid pharmaceutical formulations for the schistosomicidal treatment.

Keywords: Neglected Diseases. Schistosomiasis. Solubility.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Formas evolutivas de <i>S. mansoni</i>	21
Figura 2	Estrutura química do LPSF/GQ-238.....	25
Figura 3	Rota sintética do LPSF/GQ-238.....	30
Figura 4	Espectro infravermelho do LPSF/GQ-238.....	42
Figura 5	Espectro infravermelho do PEG livre e da mistura física (1:1) entre PEG e o LPSF/GQ-238.....	42
Figura 6	Espectro infravermelho do PVP K-30 livre e da mistura física (1:1) entre PVP K-30 e o LPSF/GQ-238.....	43
Figura 7	Espectro infravermelho do Soluplus® livre e da mistura física (1:1) entre PEG e o LPSF/GQ-238.....	43
Figura 8	Geometria otimizada obtida para os complexos PEG ... GQ-238 (I) e PVP ... GQ-238 (II), utilizando os resultados dos cálculos B3LYP / 6-31 ++ G (d, p).....	45
Figura 9	1) LPSF / GQ-238 ampliado 2520 vezes; 2) PVP K-30 ampliado 540 vezes.....	46
Figura 10	Dispersões sólidas em diferentes concentrações de LPSF/GQ-238: 1) 45,45%, ampliada 2520 vezes; 2) 41,6%, ampliada 5100 vezes; 3) 38,4%, ampliada 2850 vezes; 4) 35,7%, ampliada 5100 vezes.....	47
Figura 11	1) Dispersão sólida na concentração de 20% LPSF / GQ-238, ampliada 1010 vezes; 2) Dispersão sólida na concentração de 10% LPSF / GQ-238, ampliada 5100 vezes.....	48
Figura 12	Difratograma do LPSF/GQ-238.....	48
Figura 13	Difratograma do LPSF/GQ-238, realizado por Andrade (2016).....	49
Figura 14	LPSF / GQ-238, PVP-K30 e Mistura Física do NEQ e Polímero.....	49
Figura 15	Difratogramas das dispersões sólidas a 45,45% e 41,6% de LPSF / GQ-238.....	50

Figura 16	Difratogramas das dispersões sólidas a 38,4% e 35,7% do LPSF / GQ-238.....	50
Figura 17	LPSF / GQ-238, mistura física (50% GQ-238 e 50% PVP-K30), dispersão sólida a 20% de LPSF / GQ-238.....	51
Figura 18	Curva DSC do LPSF/GQ-238, PVP-K30 e dispersões sólidas (variando entre 10% e 90% de PVP K-30).....	52
Figura 19	Curva TG do LPSF/GQ-238, PVP-K30 e dispersões sólidas em diferentes proporções (variando entre 50% de polímero e 90% de polímero).....	53
Figura 20	Espectro Raman LPSF/GQ-238, Dispersão Sólida à 20% e PVP K-30.....	54
Figura 20	Peso médio formulação 1.....	57
Figura 21	Peso médio formulação 2.....	57
Figura 22	Peso médio formulação 3.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Proporções LPSF/GQ – 238 / PVP - K30. Porcentagem de LPSF/GQ – 238 em cada uma das dispersões.....;	32
Tabela 2	Excipientes utilizados e respectivas funções.....	38
Tabela 3	Formulações das cápsulas.....	38
Tabela 4	Formulação do comprimido.....	39
Tabela 5	Ponto de Fusão do LPSF/GQ-238.....	41
Tabela 6	Teste de solubilidade das dispersões sólidas à base de LPSF/GQ-238).....	46
Tabela 7	Motilidade em scores dos vermes adultos após incubação frente ao LPSF/GQ-238.....	55
Tabela 8	Motilidade em scores dos vermes adultos após incubação frente ao Dispersão a 20% de LPSF/GQ-238.....	55
Tabela 9	Motilidade em scores dos Esquistossômulos após incubação frente ao LPSF/GQ-238.....,	56
Tabela 10	Motilidade em scores dos Esquistossômulos após incubação frente ao Dispersão a 20% de LPSF/GQ-238.....	56
Tabela 11	Media de dureza, desvio padrão, coeficiente de variação e peso médio das amostras A, B e C.....	58
Tabela 12	Resultado do teste de Friabilidade expresso em peso total inicial e final (de 20 comprimidos) e as porcentagens relacionadas ao valor de peso total inicial.....	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATR	<i>Attenuated Total Reflectance</i> – Reflexão Total Atenuada
Aum	Aumento
DRX	Difração de Raios-X
DS	Dispersão Sólida
DSC	<i>Differential Scanning Calorimetry</i> – Calorimetria Diferencial Exploratória
DTN	Doença Tropical Negligenciada
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
HPMCAS	Hidroxipropilmetilcelulose Acetilsuccinato
IV	Infravermelho
LPSF	Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MF	Mistura Física
MM	Massa Molar
NEQ	Nova Entidade Química
OMS	Organização Mundial da Saúde
PEG	Polietilenoglicol
PVP	Polivinilpirrolidona
PVP/VA	Polivinilpirrolidona Vinilacetato
PZQ	Praziquantel
TG	Termogravimetria
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
WHO	<i>World Health Organization</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

μg	Micrograma
μm	Micromol
mL	Mililitro
-1	Elevado a menos um
%	Porcentagem
mg	Miligrama
kg	Quilograma
cm	Centímetro
kJ	Kilojoule
®	Marca Registrada
g	Grama
mol	Molar
MM	Massa Molar
$\pm$	Mais ou Menos
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
p/p	Concentração Peso por Peso
min	Minutos
kV	Quilovolts
$^{\circ}$	Grau
x	Vezes
θ	Teta
Kgf	Quilograma-força
ΔE	Variação de Energia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
1.1	Objetivo Geral	19
1.2	Objetivos Específicos.....	19
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	20
2.1	Doenças Tropicais Negligenciadas.....	20
2.2	Esquistossomose.....	20
2.2.1	<i>A doença.....</i>	20
2.2.2	<i>Ciclo Biológico do Parasita.....</i>	21
2.2.3	<i>Diagnóstico.....</i>	22
2.2.4	<i>Tratamento.....</i>	22
2.2.5	<i>Resistência ao Praziquantel.....</i>	23
2.3	Novas Alternativa Terapêuticas.....	21
2.4	Estudos de Caracterização.....	26
2.4.1	<i>Estudos Térmicos.....</i>	26
2.4.2	<i>Difração de Raios-X (DRX).....</i>	27
2.4.3	<i>Espectroscopia Raman.....</i>	27
2.5	Uso de Formas Farmacêuticas Sólidas.....	27
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1	Matérias-Primas.....	29
3.2	Síntese do LPSF/GQ-238.....	29
3.2.1	<i>Síntese da tiazolidina-2,4-diona.....</i>	29
3.2.2	<i>Síntese do derivado 3-(2,6-diflúor-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-175).....</i>	30
3.2.3	<i>Síntese do derivado 3-(2,6-diflúor-benzil)-5-(5-bromo-1H-indol-3-ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-238).....</i>	30
3.3	Estudos de Compatibilidade entre a NEQ e o Polímero.....	31
3.4	Escolha dos solventes.....	31

3.5	Obtenção das Dispersões Sólidas.....	31
3.6	Estudos de Solubilidade.....	32
3.7	Modelagem Molecular (Estudo <i>In Silico</i>).....	32
3.8	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	33
3.9	Difração de Raio-X.....	33
3.10	Estudos Térmicos.....	33
3.10.1	<i>Termogravimetria (TG).....</i>	34
3.10.1	<i>Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC).....</i>	34
3.11	Espectroscopia Raman.....	34
3.12	Estudo In Vitro.....	35
3.12.1	<i>Infecção de Caramujo, Obtenção de Cercárias e Infecção de Camundongos com Schistosoma mansoni (cepa BH).....</i>	35
3.12.2	<i>Avaliação da susceptibilidade in vitro dos esquistossômulos com 3 horas de idade.....</i>	36
3.12.3	<i>Avaliação da susceptibilidade in vitro dos vermes adultos macho com 50 dias frente a GQ-238 e a Dispersão.....</i>	36
3.12.4	<i>CrITÉrios de avaliação.....</i>	37
3.13	Desenvolvimento das Cápsulas e comprimidos.....	37
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
4.1	Síntese do LPSF/GQ-238.....	41
4.2	Escolha dos Carreadores.....	41
4.3	Estudos de Compatibilidade entre a NEQ e o Polímero.....	42
4.4	Escolha do Método e Teste dos Solventes.....	44
4.5	Modelagem Molecular (teste <i>in silico</i>).....	44
4.6	Obtenção das Dispersões Sólidas e Teste de Solubilidade.....	45
4.7	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	46
4.8	Difração de Raios-X.....	48

4.9	Estudos térmicos.....	51
4.10	Espectroscopia Raman.....	53
4.11	Estudo <i>in vivo</i>	54
4.11.1	<i>Vermes adultos machos</i>	54
4.11.2	<i>Esquistossômulos</i>	55
4.12	Manipulação e Controle de Qualidade das Cápsulas e Comprimidos.....	56
5	CONCLUSÃO.....	60
	REFERÊNCIAS.....	62

1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença causada por seis espécies de trematodas do gênero *Schistosoma*: *S. guineensis*, *S. haematobium*, *S. intercalatum*, *S. japonicum*, *S. mansoni* e *S. mekongi*. No mundo, as formas mais infectantes são *S. haematobium* e *S. mansoni* (WHO, 2016). Das seis espécies que parasitam o homem, apenas *S. mansoni* está presente na América Latina. No Brasil, a esquistossomose é endêmica em vasta extensão do território, acometendo milhões de pessoas e provocando um número preocupante de formas graves e óbitos (BRASIL, 2014).

O número reduzido de quimioterápicos eficazes disponíveis limita o tratamento medicamentoso da esquistossomose. Ampliar as opções terapêuticas, apresentando novas alternativas, com fármacos mais eficientes, menos onerosos e com menos efeitos adversos, é uma eficiente estratégia de combate à enfermidade. Derivados imidazólicos, oxidiazóis e análogos estruturais têm norteado as buscas por novas drogas nos últimos anos (SILVA, 2012).

As tiazolidinas têm propriedades similares às imidazolidinas, inibindo o crescimento do parasito. Dentre os compostos tiazolidínicos com promissora atividade antiparasitária, o 3-(2,6-difluor-benzil)-5-(5-bromo-1H-indol-3-ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-238) apresentou excelente atividade, matando 100% dos parasitos em 24 horas na dose de 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (OLIVEIRA, 2015; ANDRADE, 2016).

O LPSF/GQ-238 apresenta, no entanto, baixa hidrofília. Segundo O'Driscoll e Griffin (2008), esse é um problema comum, pois, mais de 40% das novas entidades químicas (NEQs) desenvolvidas possuem baixa solubilidade em água, o que dificulta a absorção e reduz a biodisponibilidade oral. Este é um dos problemas mais difíceis a serem resolvidos em tecnologia farmacêutica, pois, “a alta solubilidade nos fluidos corporais é uma condição *sine qua non* para a eficiência terapêutica de uma droga” (MAHIEU et al., 2012).

A forma mais comum, e talvez a mais antiga, de melhorar a biodisponibilidade e aumentar a solubilidade de certas moléculas é através da formação de uma dispersão sólida. A diminuição do tamanho das partículas e o estado amorfo não-cristalino da droga são os principais responsáveis pelo aumento da solubilidade

nessa técnica (BIKIARIS et al., 2005). De acordo com Lakshman et al. (2008), o estado amorfo de uma partícula, pode ter uma solubilidade 10 a 1600 vezes maior que seu estado cristalino.

Diversos processos tecnológicos podem ser aplicados para se obter uma dispersão sólida. O termo “dispersão sólida” se refere à dispersão de uma ou mais substâncias ativas em um carreador inerte, que pode ser único, ou uma matriz sólida formada por vários carreadores (LIMA et al., 2008; PATEL et al., 2008). Essa matriz é, em geral, polimérica, sendo de origem sintética, como a polivinilpirrolidona (PVP) e o polietilenoglicol (PEG), ou natural, como a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) (ALVES, 2010).

Seis métodos de obtenção de dispersões sólidas são relatados na literatura: fusão, solvente, fusão-solvente, maxalagem, fluido supercrítico e *spray drying*. Dentre esses, os quatro primeiros são os mais utilizados (PATEL et al., 2008; ALVES, 2010).

Nesse estudo foi utilizado o método de obtenção de dispersões sólidas por solvente, visando incrementar a solubilidade do LPSF/GQ-238 através do método das dispersões sólidas. A obtenção dessas dispersões abriu caminho para a elaboração de formas farmacêuticas orais.

Entre as formas farmacêuticas orais, sólidas, mais utilizadas estão os comprimidos e as cápsulas, por sua versatilidade e facilidade de adesão ao tratamento. As cápsulas são preparações, que possuem vantagens tais como: facilidade e versatilidade de produção, custo baixo, fácil administração e possui boa aceitabilidade em relação ao uso pelo paciente (BRASIL, 2012). As capsulas duras de gelatina são as mais utilizadas no setor da manipulação.

O comprimido é o tipo mais comum de apresentação de medicamentos e possuiu uma boa aceitação popular. A compressão direta é o método de obtenção de comprimidos mais fácil, pois utiliza apenas duas operações: a mistura dos pós e a compressão. Com isso proporciona um custo trabalhista menor, menor tempo de processamento e menor consumo de energia, sendo o processo mais econômico (SANTOS, 2012).

1.1 Objetivo Geral

Desenvolver de dispersões sólidas, visando o incremento da solubilidade de LPSF/GQ-238 para tratamento esquistossomicida e produzir formas farmacêuticas sólidas a partir dela.

1.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar, em maior escala, o LPSF/GQ-238;
- Caracterizar físico-quimicamente o LPSF/GQ-238.
- Realizar o estudo de compatibilidade entre LPSF/GQ-238 e os polímeros: Soluplus®, polietilenoglicol (PEG) e polivinilpirrolidona (PVP K-30);
- Obter dispersões sólidas à base de LPSF/GQ-238 pela técnica do solvente;
- Caracterizar físico-quimicamente as dispersões sólidas.
- Realizar estudo *in vitro*, para verificar o desempenho entre o LPSF/GQ-238 e sua melhor dispersão.
- Obter formas farmacêuticas sólidas a partir da dispersão sólida com melhor resultado (PVP K-30 a 80%).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Doenças Tropicais Negligenciadas

As Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) constituem um importante problema de saúde pública em nações em desenvolvimento. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), essas doenças têm como característica comum a alta prevalência em população afetadas pela pobreza, enfraquecendo assim, ainda mais essas populações. Além disso, essas doenças têm um importante impacto sobre a morbidade e a mortalidade, e carecem de novas pesquisas para o desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico e medicamentos (WHO, 2010).

Entre as 17 DTNs listadas pela OMS, a esquistossomose é considerada uma das mais importantes em termos de morbidade e mortalidade sendo endêmica em 70 países e afetando mais de 250 milhões de pessoas ao redor do mundo (GOUVEIA, 2018).

2.2 Esquistossomose

2.2.1 A doença

A esquistossomose, é uma helmintose causada por parasitas do gênero *Schistossoma*. É originária das bacias dos rios Nilo, na África, e Yangtze, na Ásia. Foi identificada pela primeira vez em 1852, por Theodor Bilharz, no Cairo. Por isso, é muitas vezes também chamada de bilharziose (BRASIL, 2014).

O gênero *Schistossoma* é dividido em seis espécies: *S. japonicum*, *S. haematobium*, *S. mansoni*, *S. intercalatum*, *S. mekongi*, *S. malayensis*. Com o aumento do fluxo migratório e a globalização, a partir do desenvolvimento dos meios de transporte, essas espécies foram disseminadas pelo mundo. Na América do Sul, o comércio de escravos é apontado como o principal fator para a entrada de *S. mansoni*, única espécie encontrada no continente. (BRASIL, 2014)

A esquistossomose mansônica é endêmica na África, no Oriente Médio e nas Américas. Nas Américas, as principais regiões afetadas são as ilhas do Caribe, a

Venezuela e o Brasil. No Brasil, 19 dos 26 estados apresentam ocorrência da doença. As áreas mais afetadas são aquelas que apresentam maiores índices de pobreza, saneamento básico precário e baixa escolaridade da população (LIMA, 2017).

2.2.2 Ciclo Biológico do Parasita

Schistosoma mansoni (Figura 1) é um trematoda cujo hospedeiro intermediário é o caramujo do gênero *Biomphalaria*, um gastrópode aquático. O contato humano com a água contaminada pode levar à infecção. Uma breve exposição, de apenas 5 minutos, é suficiente para que a cercária (forma larval do parasita) penetre a pele humana, formando a dermatite, que aparecerá 24 horas após, como o primeiro sinal da infecção (SIQUEIRA, 2017).

Figura 1 – Formas de *S. Mansoni*.



(A) Ovos de *S. mansoni*. (B) Cercária. (C) Verme adulto.

Fonte: [http:// parasite.org.au](http://parasite.org.au)

Uma vez tendo penetrado, por via transdérmica, o organismo humano, a cercária se torna esquistossomula e migra, via artéria pulmonar, para os pulmões. Ao deixar os pulmões, entra novamente na circulação venosa, onde fica por várias semanas, crescendo e se desenvolvendo. Ao atingir a forma adulta, instala-se nas veias mesentéricas do plexo terminal do intestino grosso, onde se reproduz e põe seus ovos, cerca de 5-7 semanas após a infecção, drenando sangue da parede do cólon intestinal, onde pode viver por décadas (GOUVEIA, 2018).

Os ovos depositados pelas fêmeas, atravessam a parede dos vasos até chegarem ao lúmen intestinal, de onde são eliminados do corpo através das fezes. Ao entrarem em contato com a água, os ovos eclodem, liberando os miracídios, que se instalarão no caramujo e se desenvolverão na forma esporocística do parasita.

Após duas gerações de esporocistos (I e II), as cercárias são formadas, e liberadas novamente na água, completando o ciclo (SIQUEIRA, 2017; GOUVEIA, 2018).

Alguns ovos, no entanto, não são excretados, e ficam presos no organismo humano, o que pode levar à cronicidade da doença. A instalação dos ovos nos tecidos pode levar a uma resposta inflamatória granulomatosa. Obstruções da veia porta podem levar à hipertensão portal e consequente fibrose hepática e a hepatoesplenomegalia (BROWN, 2011).

2.2.3 Diagnóstico

O diagnóstico da doença é dado ao encontrar ovos do parasita nas fezes através de exame parasitológico.

Exames sorológicos também podem ser realizados, a fim de encontrar anticorpos para os antígenos dos ovos nos fluidos biológicos. No entanto, a sorologia ainda é de uso limitado em países endêmicos, sendo útil para diagnóstico de infecções de baixa intensidade em migrantes ou viajantes residentes em áreas não-endêmicas.

Podem ser utilizadas ainda técnicas de imagem como ultrassom, tomografia computadorizada e ressonância magnética. Tais técnicas permitem a localização e a mensuração da extensão da infecção. Outros achados não específicos incluem eosinofilia (relacionada ao estágio, intensidade e duração da infecção), trombocitopenia (devido ao agravamento esplênico) e anemia (devido à perda crônica de sangue) (WHO, 2010; ELBAZ, 2013; SIQUEIRA, 2017).

2.2.4 Tratamento

Até os anos 1970, a eliminação do caramujo era a principal estratégia de combate à esquistossomose. No entanto, a utilização de niclosamida nas águas para matar o molusco levava ao amarelamento da mesma e à morte de peixes e outros organismos. Os efeitos são de curta duração e alguns poucos caramujos sobreviventes são suficientes para repovoar sítios já tratados. Hoje, é consenso de que apenas em situações especiais, de alta infestação, essa medida seja adotada como auxiliar à quimioterapia e às outras medidas (CIOLI, 2014).

Para o controle da esquistossomose, hoje, a Organização Mundial da Saúde recomenda a ação combinada da medicação preventiva, a intensificação da gestão de casos, o acesso a água potável e saneamento básico, programas educativos para higiene e controle do caramujo vetor (WHO, 2017).

O praziquantel (PZQ) é a droga de escolha para a realização da quimioterapia. Trata-se de um derivado pirazino-isoquinolínico efetivo contra todas as espécies de *Schistosoma* e que apresenta efeitos colaterais suaves e passageiros. Possui um centro quiral na molécula, o que faz com que assuma duas conformações enantioméricas. Apenas o R-PZQ possui atividade anti-helmíntica, enquanto o S-PZQ é inativo. O medicamento, no entanto, é comercializado na sua forma racêmica, o que faz com que metade da dose do praziquantel seja, na verdade, farmacologicamente inativa. Esse fator contribui para o grande tamanho do comprimido, uma vez que a dose terá de ser dobrada para apresentar completa efetividade. Isso pode dificultar a administração em alguns pacientes, como crianças por exemplo. A molécula é pouco solúvel e é rapidamente metabolizada; além disso, é ineficaz contra as formas jovens do parasita, atuando apenas em organismos maduros (GOUVEIA, 2018).

O tratamento padrão é feito com uma dose de 50 mg/kg de peso para adultos e 60 mg/kg de peso para crianças. A eficácia do tratamento é mensurada pela excreção de ovos do parasita quatro semanas após a administração do PZQ, e varia em torno de 60-90% de cura, ou seja, de ausência de ovos nas fezes. Mesmo nos casos em que não há cura, é observada uma redução de 80-95% no número de ovos excretados (CIOLI, 2014).

2.2.5 Resistência ao Praziquantel

Apesar da eficácia do praziquantel na redução da morbidade e de ser seguro, operacionalmente viável e de baixo custo, existe uma emergente preocupação em relação à resistência, devido ao uso massivo e exclusivo desse fármaco por décadas e, muitas vezes, de forma repetida pelo mesmo indivíduo (CIOLI, 2014).

O primeiro caso de resistência ao praziquantel foi reportado em 1994 no Senegal, quando um intenso surto atingiu a região. Taxas de cura extremamente

baixas (18%) foram observadas e, mesmo com o aumento da dose de 40 mg/kg para 60 mg/kg, não houve aumento significativo nos resultados (STELMA, 1995).

Estudos demonstraram que ovos obtidos de alguns pacientes egípcios, que foram tratados, porém não foram curados, deram origem a *Schistossomas* menos susceptíveis ao praziquantel. Essa resistência parece ser transmitida para as gerações subsequentes (ISMAIL, 1996; FALLON, 1998). Outros estudos demonstraram que houve, de fato, uma redução da susceptibilidade ao PZQ, sugerindo a real possibilidade de resistência (MELMAN, 2009).

2.3 Novas Alternativas Terapêuticas

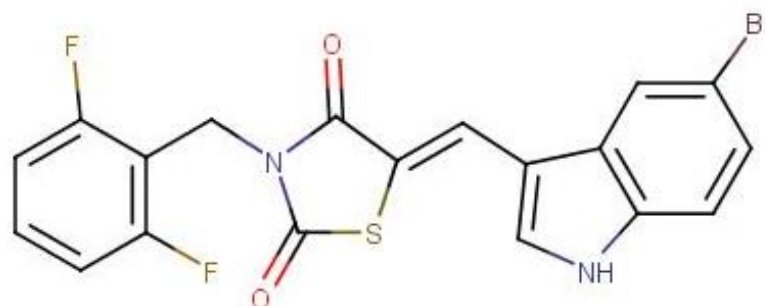
Os estudos demonstram que novas pesquisas para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas e de outras estratégias de controle da esquistossomose se mostram necessárias. Os compostos derivados da tiazolidinas (TZD) têm se mostrado promissores, com potenciais atividades antimicrobiana e antiparasitária.

Silva (2010) estudando a atividade antiparasitária *in vitro* do LPSF/SF-25, obteve 86% de eficácia na morte dos parasitas, utilizando uma dose de 80µg.mL⁻¹, com uma exposição de 6 dias.

Outros dois derivados TZD foram estudados por Luis (2012), o LPSF/GQ-52 e o LPSF/TA-02. Ele observou que, ambos os compostos diminuiram a motilidade dos parasitos em todas as concentrações, no entanto, a taxa de mortalidade apresentada foi baixa.

Oliveira (2013) observou que a inserção do bromo no núcleo indólico aumentou a taxa de mortalidade dos parasitos, e que o LPSF/GQ-238 apresentou a melhor atividade, matando 100% dos parasitas com uma exposição de apenas 24 horas numa dose de 100µg.mL⁻¹.

Figura 2 – Estrutura Química do LPSF/GQ-238.



Fonte: Dados da pesquisa

Apesar dos resultados promissores do LPSF/GQ-238 (Figura 2), a molécula segue o padrão de baixa solubilidade observado na maioria das NEQs. A solubilidade é uma característica fundamental para um fármaco, principalmente para o desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas, que necessitam ser solubilizadas, para então serem absorvidas pelo organismo. No entanto, a dificuldade de descobrir, ou sintetizar novas moléculas com alta solubilidade, levou a indústria farmacêutica a lançar mão de métodos de incremento de solubilidade; como redução do tamanho de partícula, desenvolvimento de dispersões sólidas, co-cristais e co-solvente (ANDRADE, 2016).

Uma dispersão sólida é constituída por, no mínimo, dois componentes sólidos dispersos um no outro, em geral, uma matriz, ou um carreador, e um fármaco hidrofóbico. O fármaco, no estado amorfo, onde apresenta maior solubilidade, estará disperso no carreador, que servirá como barreira e como estabilizante, dificultando a junção das moléculas e sua consequente cristalização (COSTA, 2016).

O desenvolvimento de dispersões sólidas do LPSF/GQ-238 se mostra, portanto, como uma alternativa para viabilizar a solubilidade desse promissor candidato a fármaco.

2.4 Estudos de Caracterização

Para comprovar que a dispersão sólida foi formada, transmutando o estado cristalino primário da molécula insolúvel, em um estado amorfo solúvel, diversas técnicas têm sido utilizadas por pesquisadores e pela indústria farmacêutica.

Dentre essas técnicas, destacam-se os estudos térmicos, difração de raios-x, microscopia eletrônica de varredura e estudos espectroscópicos.

2.4.1 Estudos Térmicos

As análises térmicas são técnicas bastante consolidadas no estudo e no desenvolvimento de um novo medicamento, sendo importantes, na fase inicial de pesquisa química, na elucidação das características inerentes aos compostos. Elas medem propriedades físico-químicas em função da temperatura e do tempo, enquanto, sob atmosfera inerte, a amostra é submetida a um programa controlado de temperatura (ANDRADE, 2016).

As principais técnicas de análise térmica utilizadas na indústria farmacêutica são a Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) e a Termogravimetria (TG) para desenvolvimento de formulações, identificação de polimorfismos, avaliação de estabilidade, além de controle de qualidade (LAVOR, 2014).

A TG é uma técnica cujo princípio se baseia na variação da massa da amostra em função do tempo, avaliando assim a degradação do composto provocada pela temperatura. Uma termobalança de alta precisão no interior de um forno é utilizada para medir essa variação gravimétrica. A perda da massa é representada pela inflexão da curva da TG, onde é associada a uma reação térmica (PLANTE et al., 2009; BAPTISTA, 2015).

A DSC mede a variação de fluxo de calor de uma amostra quando ela sofre uma variação de temperatura devido a um evento exotérmico ou endotérmico, ou seja, contabiliza a variação da entalpia em um evento térmico. Essa diferença pode ocorrer devido a reações químicas, mudança de estado ou transições cristalinas. (OLIVEIRA et al., 2011)

2.4.2 Difração de Raios-X (DRX)

A difração de raios-x tem se mostrado uma técnica adequada para caracterizar misturas com múltiplos componentes incluindo dispersões sólidas.

Uma combinação de raios-x e análise térmica permanece sendo o padrão ouro para determinar se um material está em seu estado amorfo. Numa análise de DRX, um material não-cristalino se apresenta como um halo amorfo, enquanto um cristal irá difratar raios-x, produzindo picos agudos que ocorrem em ângulos específicos e característicos. Essa informação deve ser acompanhada por uma única temperatura de transição vítrea e a ausência de eventos de fusão endotérmicos durante a análise térmica (PALERMO et al., 2012).

2.4.3 Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é baseada no fenômeno de espalhamento Raman e oferece informações complementares, quanto aos grupos funcionais, bem como distintas vantagens em amostragem e especificidade em comparação com outras técnicas espectroscópicas como o infravermelho (NEWMAN, 2015).

Raman tem cada vez sido mais implementada em diferentes estágios da descoberta e no desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos. Isso inclui identificação química, biologia molecular, pesquisa e diagnóstico, pré-formulação, triagem de forma sólida, bioanálise, análise de formulação no desenvolvimento de fármacos de fase tardia, análise de processos, controle de qualidade, qualificação de matérias-primas e identificação de falsificação (PAUDEL et al., 2015).

Uma única medição de varredura típica de Raman pode coletar dados espectrais na faixa de 4000 a 40 cm^{-1} , o que inclui a região típica de identificação (4000 a 400 cm^{-1}) e a região de baixa frequência, ou IV distante (400 a 40 cm^{-1}). Isso cobre algumas faixas de vibração importantes que são relevantes para a identificação de diferentes formas de estado sólido (HÉDOUX et al., 2009).

2.5 Uso de formas farmacêuticas sólidas

As formas farmacêuticas sólidas têm destaque quando se trata de tratamento por via oral, fazendo com que seu uso seja comum na prática clínica, devida fácil

adesão ao tratamento. Entre as mais utilizadas estão os grânulos, pós, comprimidos e cápsulas (DEBOTTON et al., 2016).

Os comprimidos e cápsulas, são hoje, as formas farmacêuticas orais mais amplamente utilizadas, com boa aceitação tanto do ponto de vista clínico quanto do paciente (MARQUES, 2008; BARBOSA, 2017)

Os comprimidos são formas farmacêuticas sólidas que podem conter uma dose única de um ou mais princípios ativos, com ou sem excipientes, obtida pela compressão de volumes uniformes de partículas. Pode ser de uma ampla variedade de tamanhos, formatos, apresentar marcações na superfície e ser revestido ou não (BRASIL, 2010).

A cápsula é a forma farmacêutica sólida em que o princípio ativo e os excipientes estão contidos em um invólucro solúvel duro ou mole, de formatos e tamanhos variados, usualmente, contendo uma dose única do princípio ativo. Normalmente é formada de gelatina, mas pode, também, ser de amido ou de outras substâncias (Brasil, 2010)

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Matérias-primas

Uma maior quantidade de amostra de LPSF/GQ-238 foi sintetizada no Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos, da Universidade Federal de Pernambuco (LPSF-UFPE).

Os polímeros utilizados foram Soluplus[®] (BASF[®]), PVP-K30 (ISO do Brasil[®]) e PEG 8000 (USP[®]).

3.2 Síntese do LPSF/GQ-238

A síntese do LPSF/GQ-238 foi realizada seguindo o que foi descrito por Oliveira (2013).

Essa síntese foi realizada em três etapas, descritas a seguir e ilustradas na figura 3.

3.2.1 Síntese da tiazolidina-2,4-diona

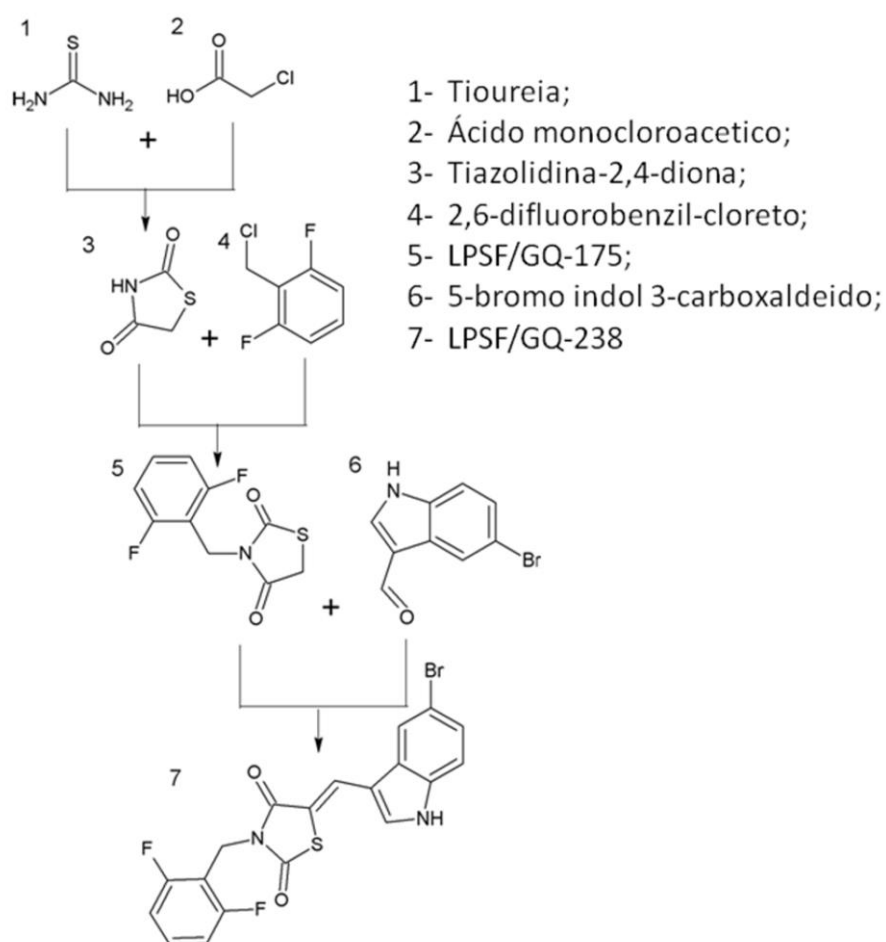
Em um balão de fundo redondo, com capacidade de 250 mL, foram adicionados 5 g (0,06568 mol) de Tioureia (MM 76,12 g.mol⁻¹) e 6,20 g (0,06568 mol) de ácido monocloroacético (MM 94,49 g.mol⁻¹), previamente solubilizado em água à quente e deixado sob agitação e refluxo por 40 horas à temperatura de 90 ± 5°C. Ao final da reação, o produto foi deixado à temperatura ambiente, para a formação dos cristais (precipitação). Em seguida a amostra foi secada à temperatura ambiente (±27° ~ 2°).

3.2.2 Síntese do derivado 3-(2,6-difluór-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-175)

Em um balão de fundo redondo, com capacidade de 250 mL foram adicionados 1 g (0,00854 mol) de tiazolidina-2,4-diona (MM 117 g.mol⁻¹) e 0,34188 g (0,00854 mol) de hidróxido de sódio (MM 40 g.mol⁻¹), previamente solubilizados numa mistura etanol/água 6:4 (20 mL), e deixado sob agitação por 15 minutos à temperatura ambiente. Ao sal de sódio de tiazolidina-2,4-diona formado, adicionou-

se, aos poucos, quantidade equimolar do 2,6-difluorobenzil-cloreto (MM 162,56 g.mol⁻¹). A reação foi mantida em refluxo por 42 horas à temperatura entre 60-70°C. Ao final da reação, o produto esperado formou um precipitado naturalmente com a retirada do calor, sendo filtrado e seco à temperatura ambiente. Para atestar a pureza do composto, foi realizada análise por cromatografia em camada delgada.

Figura 3 – Rota sintética do LPSF/GQ-238.



Fonte: ANDRADE, 2016

3.2.3 Síntese do derivado 3-(2,6-difluór-benzil)-5-(5-bromo-1H-indol-3-ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-238)

Em um balão de fundo redondo, com capacidade de 250 mL, foram adicionados 4,6059 g (0,02055 mol) do 5-bromo indol 3-carboxaldeído (224,05 g.mol⁻¹) e 5 g (0,02055 mol) do LPSF/GQ-175 (243,22 g.mol⁻¹) na presença de 2 mL de etilamonilformato como catalisador e 30 mL de etanol absoluto como solvente. A

mistura reacional foi mantida em refluxo por aproximadamente 40 minutos sob agitação a 60-70°C. O produto foi então filtrado e purificado com sucessivas lavagens em etanol absoluto, e seco à temperatura ambiente.

Após a síntese foi avaliado o ponto de fusão em fusiômetro para teste de pureza.

3.3 Estudos de Compatibilidade entre a NEQ e o Polímero

Foram realizadas análises de compatibilidade entre a Nova Entidade Química (NEQ) e cada um dos polímeros, através de espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR), utilizando o equipamento PerkinElmer® (*Spectrum 400*), com dispositivo de reflectância total atenuada (ATR) (*Miracle ATR, Pike Technologies Spectroscopic Creativity*) com cristal de selênio. As amostras da NEQ, dos polímeros e das misturas físicas entre cada um deles foram analisadas, sendo transferidas diretamente para o compartimento do dispositivo de ATR.

3.4 Escolha dos solventes

O desafio de determinar solventes que solubilizassem tanto a molécula hidrofóbica, quanto o polímero hidrofílico, foi vencido testando-se cinco diferentes solventes. Acetona, acetonitrila, clorofórmio, éter etílico e água foram testados a fim de determinar quais desses solventes, e em quais proporções eles seriam utilizados.

3.5 Obtenção das Dispersões Sólidas

As dispersões sólidas do LPSF/GQ-238 em Soluplus®, PEG e PVP K-30 foram preparadas pela técnica do solvente. O LPSF/GQ-238 e o polímero, nas proporções de 1:1; 1:1,2; 1:1,4; 1:1,6; 1:1,7; 1:1,8; 1:1,9; 1:2; 1:4; 1:8 e 1:9 (p/p), foram separadamente solubilizados em quantidades mínimas da mistura de solventes escolhida. Posteriormente, a solução contendo o LPSF/GQ-238 foi vertida sobre a solução contendo o polímero e, essa mistura, foi homogeneizada por 15 minutos utilizando ultrassom. Houve remoção dos solventes, por evaporação, sob temperatura controlada ($60^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$), por 45 minutos, houve uma precipitação conjunta do LPSF/GQ-238 e do polímero. Em seguida, o produto seco foi

pulverizado, misturado em gral de porcelana com o auxílio de um pistilo e sob resfriamento utilizando nitrogênio líquido.

O produto foi armazenado em frascos hermeticamente fechados em dessecador. Durante as análises as dispersões utilizadas foram convertidas de proporção (p/p) para porcentagem (%), como representado na tabela 1.

Tabela 1 – Proporções LPSF/GQ – 238 / PVP - K30. Porcentagem de LPSF/GQ – 238 em cada uma das dispersões.

Proporção (p/p)	Porcentagem de LPSF/GQ-238 (%)
1:1	50,00
1:1,2	45,45
1:1,4	41,66
1:1,6	38,46
1:1,7	37,03
1:1,8	35,71
1:1,9	34,48
1:2	33,33
1:4	20,00
1:8	11,11
1:9	10,00

Fonte: Dados da pesquisa.

3.6 Estudos de Solubilidade

Foram realizados ensaios de solubilidade aquosa para todas as dispersões obtidas, utilizando-se padrões e métodos preconizados pela Farmacopeia Brasileira 5ª Edição (BRASIL, 2010).

3.7 Modelagem Molecular (estudo *in silico*)

A geometria otimizada dos complexos PVP ... GQ-238 e PEG ... GQ-238 foi obtida usando os cálculos B3LYP / 6-31 ++ G (d, p) realizados com o Spartan Tutorial and User's Guide, (2016). Os valores de energia intermolecular ΔE foram determinados como a seguinte equação:

$$\Delta E = E(\text{complexo}) - [E(\text{monômero}) + E(\text{GQ} - 238)]$$

Onde $E(\text{complexo})$ é a energia monomérica ... GQ-238 no complexo, $E(\text{monômero})$ refere-se ao monômero polimérico e $E(\text{GQ-238})$ refere-se à molécula GQ-238 isolada.

A estabilidade do complexo como um todo foi tradicionalmente corrigida considerando a Energia de Ponto Zero (EPZ) e o Erro de Sobreposição do Conjunto de Base (ESCB) pelo método do contrapeso (Boys & Bernardi, 1970). Utilizaram-se monômeros em vez de polímeros devido à dificuldade intrínseca de ter em conta todos os graus de liberdade de todos os polímeros nos cálculos quânticos aqui empregados.

3.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens foram obtidas no setor de microscopia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (Lika).

A avaliação da morfologia do LPSF/GQ-238, do polímero e das dispersões obtidas foram realizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando um microscópio (ZEISS®, LEO 1430), após serem fixadas em fita de dupla face de carbono e metalizadas com ouro por 1,5 min (Metalizador EMITECH®, k550x). As imagens foram obtidas em uma câmara com tensão de excitação de 10000 kV.

3.9 Difração de Raio-X

Os testes foram realizados no departamento de Física da Universidade Federal de Pernambuco.

Foram obtidos difratogramas do LPSF/GQ-238, do polímero utilizado (PVP K-30) e das dispersões sólidas no difratômetro SHIMADZU® (XRD-7000), equipado com ânodo de cobre. Foi utilizado intervalo de ângulo de 5-40° e uma velocidade de varredura de 0,02° por segundo.

3.10 Estudos Térmicos

Foram realizados estudos térmicos de caracterização dos produtos isolados e das dispersões sólidas obtidas, por meio das técnicas de Termogravimetria (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), em atmosfera de nitrogênio. Os estudos térmicos foram realizados no Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM – UFPE)

3.10.1 Termogravimetria

A análise termogravimétrica foi realizada em uma termobalança (Shimadzu®, modelo TGA-50) utilizando cadinho, num intervalo de temperatura de 5-350°C, nas razões de aquecimento de 10, 20 e 40°C.min⁻¹. Os experimentos foram feitos em uma atmosfera inerte com fluxo de 50 mL.min⁻¹, e 5 mg de amostra.

3.10.2 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

Foi realizada em um calorímetro diferencial de varredura (Shimadzu®, modelo DSC-50) usando um cadinho fechado de alumínio. O equipamento foi calibrado utilizando índio (156,6 ± 0,3 °C) como padrão. Os experimentos foram realizados elevando-se a temperatura 5-350°C nas razões de aquecimento de 2, 5, 10, 20 e 40°C.min⁻¹, em fluxo de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹, e 3 mg de amostra.

3.11 Espectroscopia Raman

As análises de espectroscopia Raman foram realizadas em um microscópio Raman confocal (SENTERRA, Bruker, Alemanha) equipado com três lasers de excitação (532 nm, 633 nm e 785 nm) e uma plataforma motorizada com movimentos nos eixos xyz, pertencente ao Instituto de Criminalística de

Pernambuco. Foi utilizado o feixe de 785 nm com potência de 100 mW, objetiva de 20x, resolução espectral de 3-5 cm^{-1} , faixa espectral de 60 a 2622 cm^{-1} . Foram testados três tempos de aquisição: 5, 15 e 30 segundos. O tempo de 5s foi testado com 3 coadições. O tempo de 15s, foi testado com 1 e com 3 coadições e o de 30s, foi testado com apenas 1 coadição. O LPSF / GQ-238 por ser uma NEQ não está presente em bancos de dados, e é necessário conhecer o seu padrão a cada novo teste que é realizado, no caso da espectroscopia Raman foi essencial para obter um espectro com menos ruído.

3.12 Estudo *in vitro* para avaliação esquistossomicida da dispersão sólida.

3.12.1 Infecção de Caramujo, Obtenção de Cercárias e Infecção de Camundongos com *Schistosoma mansoni* (cepa BH).

As análises foram realizadas no Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) no setor de Imunologia e esquistossomose experimental, e foi utilizada a dispersão com melhor resultado de solubilidade (20% de GQ-238).

Fezes de camundongos infectados foram coletadas e tratadas de acordo com a técnica de sedimentação espontânea ou Hoffman. Em seguida, o sedimento foi exposto à iluminação e a temperatura de 28°C até que pudesse haver eclosão dos miracídios de *Schistosoma mansoni*. Os miracídios foram postos em contato com caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata*, permanecendo expostos à luz e ao calor por no mínimo 2 horas. Após a infecção, os moluscos foram postos em aquários e livres de exposição luminosa (STANDEN, 1952). Após trinta dias, os moluscos infectados foram novamente expostos à luminosidade, para a eliminação das cercárias. Após 1 hora, de exposição, foi obtido, a suspensão cercariana.

Os camundongos previamente anestesiados com Xilasina e Ketamina foram infectados por via per cutânea com uma fração da suspensão cercariana contendo em média de 120 cercárias. Os animais permaneceram em contato com a suspensão por aproximadamente 30 minutos sob luminosidade para a penetração das cercárias. Recuperados do processo anestésico, os animais foram devolvidos para suas respectivas gaiolas (MANNECK et al, 2010).

3.12.2 Avaliação da susceptibilidade *in vitro* dos esquistossômulos com 3 horas de idade

Após 30 dias de infecção, os caramujos *Biomphalaria glabrata* foram expostos a luminosidade artificial por pelo menos 1 hora para obtenção das cercárias. A suspensão cercariana foi submetida a ação mecânica para transformação das cercárias em esquistossômulos, conforme Ramalho-Pinto (1974). Em seguida, os esquistossômulos foram lavados em meio RPMI-1640 acrescido de HEPES 20mM pH = 7,5, suplementado com penicilina (100UI/ml), estreptomicina (100µg/mL) e soro bovino fetal a 10% e transferidos para placas de 24 poços contendo o mesmo meio e incubados em estufa a 37°C em atmosfera úmida contendo 5% de CO₂. A estimativa do número de esquistossômulo foi de 50 por poço.

Após 3 horas da obtenção dos esquistossômulos, a GQ-238 e a Dispersão foram adicionadas aos poços nas concentrações que nortearem em 200-12.5µM. Em seguida, as placas foram novamente incubadas em estufa sob as mesmas condições. Foram realizadas duplicatas para cada concentração avaliada. Os poços contendo DMSO a 1,6% e apenas meio RPMI-1640 suplementado foram utilizados como controles negativos. Os poços contendo o praziquantel (200µM) foram utilizados como controles positivos (MANNECK et al, 2010).

3.12.3 Avaliação da susceptibilidade *in vitro* dos vermes adultos macho com 50 dias frente a GQ-238 e a Dispersão a 20% de GQ-238.

No 50º dia os camundongos infectados foram eutanasiados por deslocamento cervical. Por meio da perfusão do sistema porta-hepático os vermes foram recuperados e lavados em meio RPMI-1640 acrescido de HEPES 20mM pH = 7,5 suplementado com penicilina (100UI/ml), estreptomicina (100µg/mL) e soro bovino fetal a 10%. Em seguida, os vermes adultos machos foram transferidos para placas de 24 poços contendo o mesmo meio incubados em estufa a 37°C em atmosfera úmida contendo 5% de CO₂. Para o ensaio foram adicionados 5 vermes por poço (MANNECK et al, 2010).

Após o período de 2 horas de adaptação ao meio, foram adicionados nas placas contendo os vermes adultos machos a GQ-238 e dispersão em concentrações que variaram de 200-12.5µM. Em seguida, as placas foram novamente incubadas em estufa sob as mesmas condições. Foram realizadas quadruplicatas para cada concentração avaliada. Os poços contendo DMSO a 1,6% e apenas meio RPMI-1640 suplementado foram utilizados como controles negativos. Os poços contendo o praziquantel (10µM) foram utilizados como controles positivos.

3.12.4 Critérios de avaliação

O monitoramento dos esquistossômulos foi estabelecido dentro do intervalo de 24 horas, sendo avaliados após 3, 6, 12 e 24 horas de exposição aos fármacos, já os vermes adultos machos foram monitorados durante 5 dias a cada 24 horas. Com auxílio do microscópio invertido, os parâmetros avaliados foram atividade motora, alterações de tegumento e taxa de mortalidade. Foram considerados mortos os vermes que não apresentaram nenhum movimento durante 2 minutos de observação (MANNECK et al, 2010).

A motilidade foi classificada utilizando o sistema de pontuação em uma escala de 0-3. Sendo score 3, vermes que apresentam movimentos típicos, exibindo peristaltismo dos órgãos internos, ventosas em movimento, aderindo ao fundo ou lados da placa de cultura; descrições típicas de vermes do controle negativo; score 2, movimentos reduzidos em todo o corpo, peristaltismo dos órgãos internos e ventosas; score 1, movimentos apenas nas extremidades ou em apenas uma das extremidades (região anterior e / ou posterior), com ausência de peristaltismo dos órgãos internos e não aderência das ventosas; score 0, ausência completa de movimentos e tegumento com ou sem alterações de coloração.

3.13 Desenvolvimento das formas farmacêuticas sólidas.

Com a dispersão sólida que obteve os melhores resultados (LPSF/GQ-238 1:8 PVP K-30) em todos os testes realizados foram preparadas três formulações de cápsulas gelatinosas e de comprimidos. Os excipientes utilizados e as funções por eles desempenhadas nas formulações estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Excipientes utilizados e respectivas funções.

Excipiente	Função
Celulose Microcristalina 250	Diluyente
Lactose Monohidratada	Diluyente
Estearato de magnésio	Lubrificante
Talco	Lubrificante

Fonte: Dados da pesquisa.

As formulações das cápsulas estão descritas na Tabela 3. As proporções utilizadas para cada excipiente seguiram o que foi descrito por Silva (2010).

Tabela 3 – Formulações das cápsulas.

Formulação 1		Formulação 2		Formulação 3	
Dispersão	3,0%	Dispersão	3,0%	Dispersão	3,0%
Celulose Microcristalina 250	96,0%	Lactose Monohidratada	96,0%	Celulose Microcristalina 250	48,0%
Estearato de magnésio	0,7%	Estearato de magnésio	0,7%	Lactose Monohidratada	48,0%
Talco	0,3%	Talco	0,3%	Estearato de magnésio	0,7%
				Talco	0,3%

Fonte: Dados da pesquisa.

Foram feitos testes de desintegração e peso médio para o controle de qualidade das cápsulas produzidas, seguindo as metodologias descritivas na farmacopeia Brasileira 5ª edição (Brasil, 2010).

As formulações dos comprimidos estão descritas na Tabela 4. As proporções utilizadas para cada excipiente seguiram o que foi descrito por Silva (2010).

Tabela 4 – Formulação do comprimido.

Componentes	Proporção (%)	Por unidade (mg)
LPSF/GQ-238	1,000	1,500
Celulose	48,917	73,375
Lactose	48,917	73,375
Estearato de Magnésio	0,666	1,000
Talco	0,500	0,750
Total	100	150

Fontes: Dados da pesquisa.

Foram feitos testes de friabilidade e dureza para o controle de qualidade dos comprimidos produzidos, seguindo a metodologia descrita pela farmacopeia Brasileira 5ª edição (Brasil, 2010).

O teste de dureza se aplica, principalmente, a comprimidos não revestidos, permitindo determinar a resistência do comprimido ao esmagamento ou à ruptura sob pressão radial, através de um aparelho denominado durômetro. A análise foi realizada conforme descrita na Farmacopéia Brasileira 5ª edição (Brasil, 2010), onde 10 comprimidos, foram submetidos, individualmente, à ação de um aparelho que mede a força, aplicada diametralmente, necessária para esmagá-lo. O resultado foi expresso como a média dos valores obtidos nas determinações. Este teste, de acordo com a especificação supracitada, é somente informativo.

A friabilidade é realizada no Friabilômetro, aparelho que consiste em um cilindro rotativo, que gira em torno de seu eixo a uma velocidade de 25 rotações por minuto. O teste determina a resistência dos comprimidos à abrasão, quando submetidos à ação mecânica e se aplica, unicamente, a comprimidos não revestidos. O teste consistiu em pesar, com exatidão, um número determinado de comprimidos, submetê-los à ação do aparelho e retirá-los depois de efetuadas 100 rotações. Para comprimidos com peso médio igual ou inferior a 0,6500g, deve-se utilizar 20 comprimidos. Para comprimidos com peso médio superior a 0,6500g, utilizar 10 comprimidos.

Os comprimidos foram pesados e introduzidos no aparelho. Ajustou-se a velocidade para 25 rotações por minuto e o tempo do aparelho para 4 minutos. Decorrido o prazo, removeu-se qualquer resíduo de pó da superfície dos comprimidos e pesou-se novamente. De acordo com a Farmacopéia Brasileira.

(2010), nenhum comprimido pode apresentar-se, ao final do teste, quebrado, lascado, rachado ou partido. São considerados aceitáveis os comprimidos com perda igual ou superior a 1,5% do seu peso. Se o resultado for duvidoso ou se a perda for superior ao limite especificado, repetir o teste por mais duas vezes, considerando-se, na avaliação, o resultado médio das três determinações.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese do LPSF/GQ-238

A síntese do LPSF/GQ-238 ocorreu no Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos (LPSF – UFPE), como descrito por Oliveira et al. (2015), tendo um rendimento final de 87,4%. A sua faixa de fusão foi realizada em triplicata, não apresentando variação, durante a fusão, maior que 1°C, o que caracteriza uma boa pureza. A média entre os valores obtidos foi de 267,63°C a 268,16°C, os resultados obtidos estão representados na tabela 4.

Tabela 5 – Ponto de Fusão do LPSF/GQ-238.

Teste	Início (°C)	Final (°C)
1	267,7	268,2
2	267,7	268,3
3	267,5	268,0

Fonte: Dados da Pesquisa.

4.2 Escolha dos Carreadores

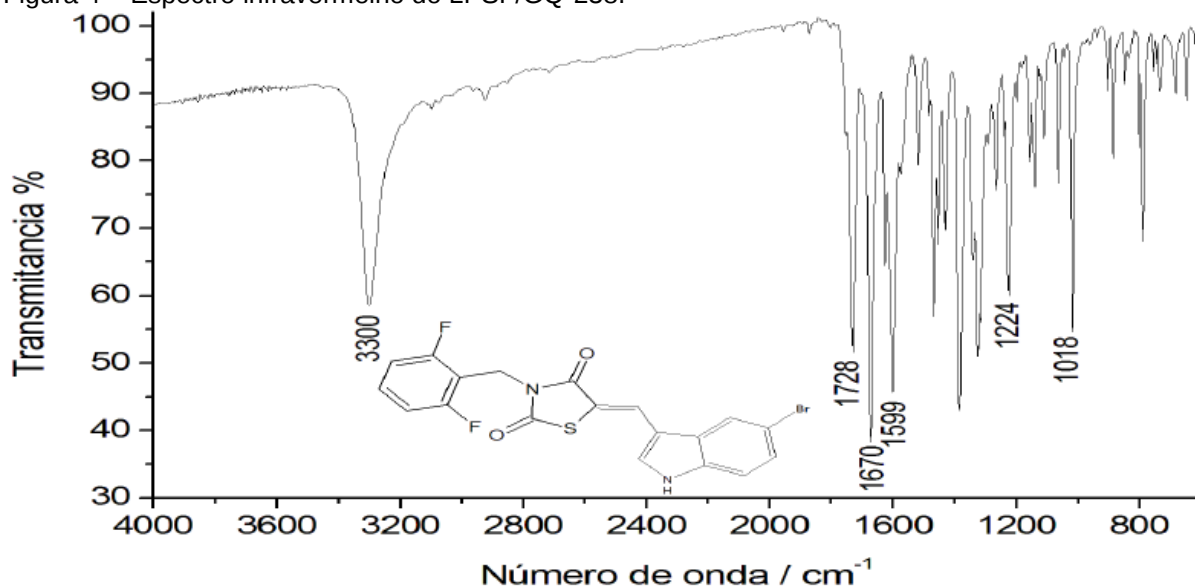
Uma dispersão sólida amorfa é caracterizada por um sistema em que uma substância farmacologicamente ativa está molecularmente dispersa de forma irregular em um carreador amorfo (VILHELMSSEN et al., 2005).

Os polímeros hidrofílicos têm sido utilizados como carreadores para melhorar a solubilidade e o grau de dissolução de fármacos pouco hidrossolúveis desde a década de 1970 (ALVES et al., 2012). Muitos polímeros hidrofílicos têm sido citados na literatura como bons carreadores, a exemplo da polivinilpirrolidona (PVP), polietilenoglicol (PEG), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), soluplus®, polivinilpirrolidona vinilacetato (PVPVA) e hidroxipropilmetilcelulose acetilsuccinato HPMCAS (VASCONCELOS et al., 2016). Devido a disponibilidade no laboratório utilizou-se apenas três polímeros nesse estudo: PVP K-30, PEG 8000 e Soluplus®, corroborando os estudos de Alves et al. (2012) e Costa (2016).

4.3 Estudos de Compatibilidade entre a NEQ e o Polímero

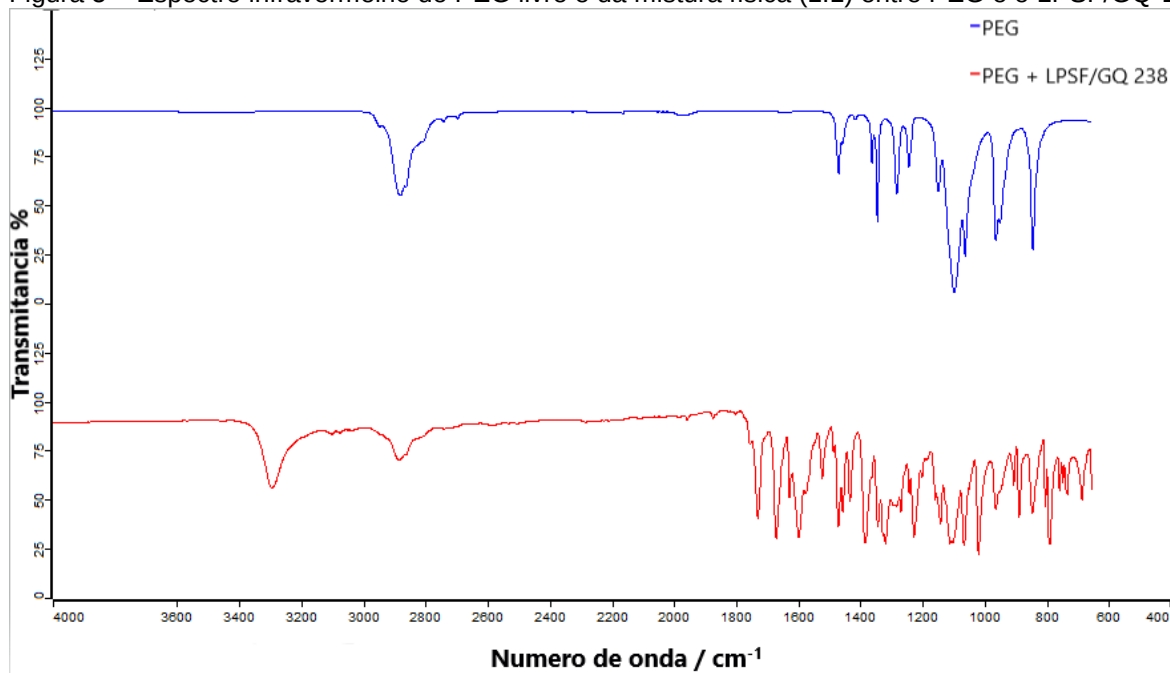
O teste de espectrofotometria FTIR demonstrou que os espectros das misturas físicas (p/p a 50%), correspondem à sobreposição das bandas do LPSF/GQ-238 e dos polímeros, indicando que, não ocorreu interação entre eles. Desta forma, todos os polímeros apresentam compatibilidade física com a Nova Entidade Química (NEQ). É possível verificar esses dados nas Figuras 4, 5, 6 e 7.

Figura 4 – Espectro infravermelho do LPSF/GQ-238.



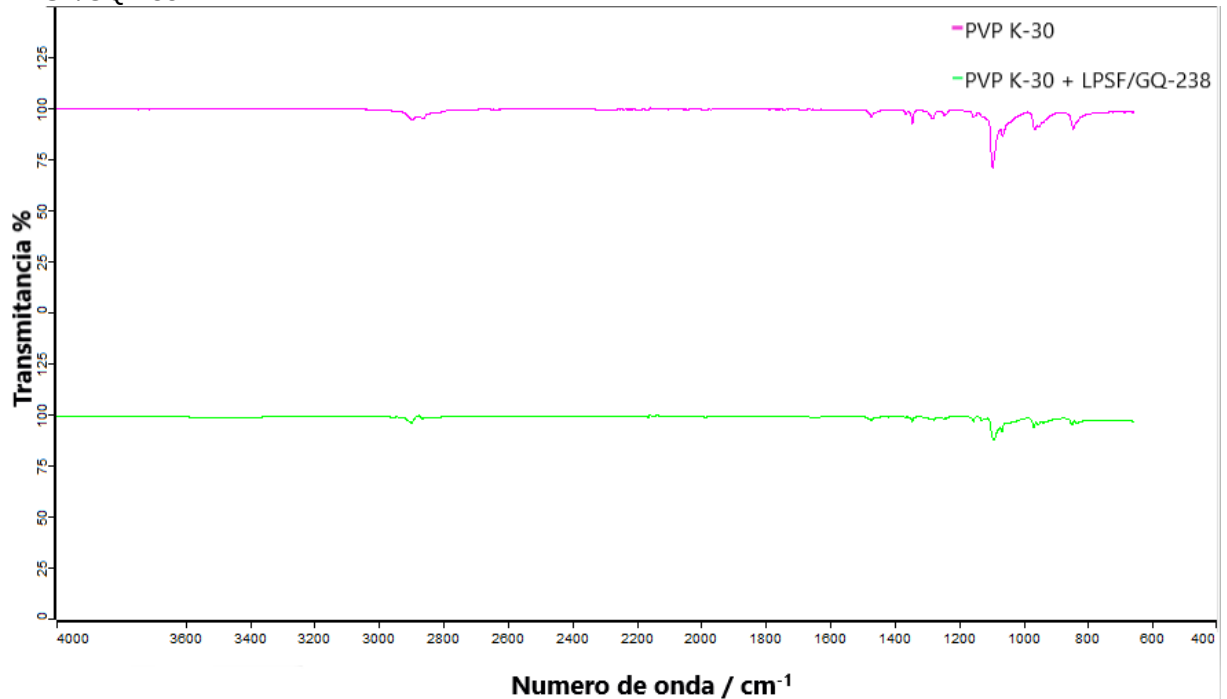
Fonte: Andrade (2016)

Figura 5 – Espectro infravermelho do PEG livre e da mistura física (1:1) entre PEG e o LPSF/GQ-238.



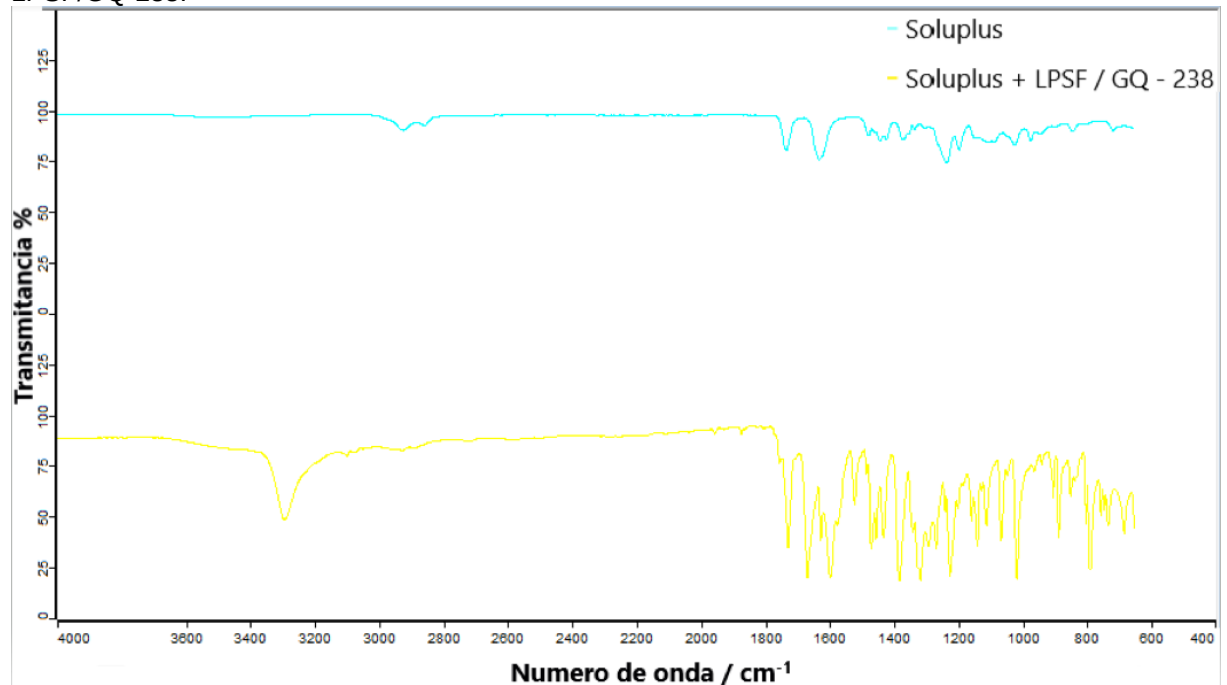
Fonte: Dados da Pesquisa.

Figura 6 – Espectro infravermelho do PVP K-30 livre e da mistura física (1:1) entre PVP K-30 e o LPSF/GQ-238.



Fonte: dados da Pesquisa.

Figura 7 – Espectro infravermelho do Soluplus® livre e da mistura física (1:1) entre PEG e o LPSF/GQ-238.



Fonte: Dados da Pesquisa.

4.4 Escolha do Método e Teste dos Solventes

O método do solvente foi escolhido dentre os diversos métodos, de obtenção de dispersões sólidas, por ser um dos mais descritos na literatura, além do baixo custo, facilidade de execução e aplicação industrial (ALVES et al., 2012; PAUDEL et al., 2013; VASCONCELOS et al., 2016).

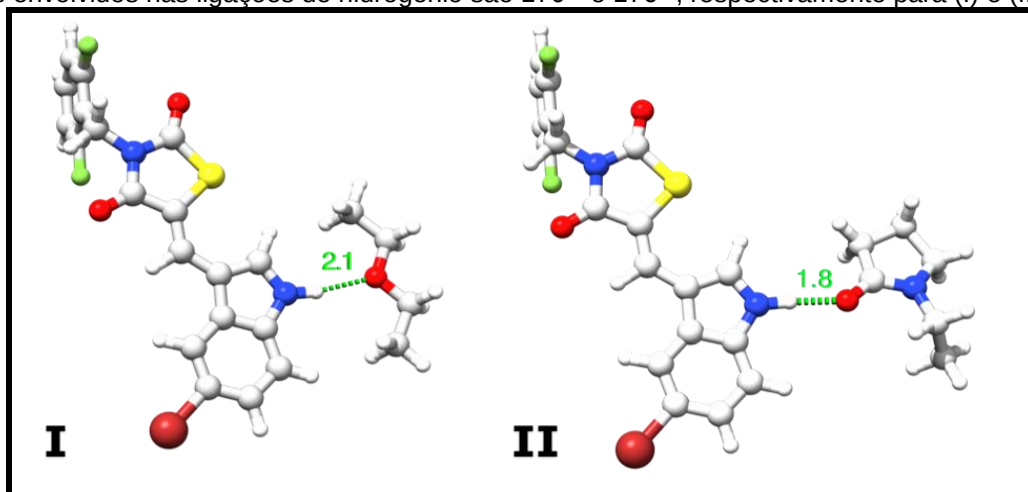
Dos cinco solventes testados, a acetona e o clorofórmio solubilizaram de forma mais eficiente tanto os polímeros, quanto o LPSF/GQ-238. A melhor proporção encontrada foi acetona 2:1 clorofórmio (V/V).

4.5 Modelagem Molecular (teste *in silico*)

De acordo com os resultados da modelagem molecular, as energias intermoleculares ΔE calculadas para os complexos PEG ... GQ-238 e PVP ... GQ-238 são -23.065 e -44.815 kJ mol⁻¹, respectivamente, demonstrando a maior estabilidade da interação entre a molécula GQ-238 e o monômero PVP. Este complexo exibe quase o dobro de estabilidade que o monômero PEG e também possui uma ligação de hidrogênio mais curta (1,8 Å), em comparação com 2,1 Å para o PEG. A Figura 8 ilustra as geometrias otimizadas obtidas para os complexos PEG ... GQ-238 (I) e PVP ... GQ-238 (II). A forte ligação de hidrogênio estabelecida entre a fração indol de GQ-328 e os monômeros de PVP e PEG representa a interação principal e justifica esta abordagem teórica.

Esse resultado foi mais um indicativo de que a dispersão teria uma maior probabilidade de sucesso se fosse realizada com o PVP K-30.

Figura 8 – Geometria otimizada obtida para os complexos PEG ... GQ-238 (I) e PVP ... GQ-238 (II), utilizando os resultados dos cálculos B3LYP / 6-31 ++ G (d, p). As linhas tracejadas representam as ligações de hidrogênio, com 2,1 e 1,8 Å para (I) e (II), respectivamente. Os ângulos N-H ... O entre os átomos envolvidos nas ligações de hidrogênio são 170 ° e 176 °, respectivamente para (I) e (II).



Fonte: Dados da pesquisa

4.6 Obtenção das Dispersões Sólidas e Teste de Solubilidade

Foram obtidos filmes uniformes quando da secagem do solvente, para as dispersões que utilizaram PVP-K30 como carreador, provando assim, a miscibilidade entre a NEQ e o polímero. O mesmo não aconteceu para as dispersões que utilizaram PEG 8000 ou Soluplus® como carreador. Houve uma possível formação de cristais em algumas regiões do filme, essa é uma característica da NEQ, demonstrando assim, uma falha na miscibilidade desses polímeros e o LPSF/GQ-238.

O teste de solubilidade aquosa realizado para as dispersões obtidas demonstrou que todas as proporções utilizadas de PEG 8000 e Soluplus® apresentaram-se incapazes de aumentar a solubilidade do LPSF/GQ-238 isolado, uma vez que, para todas as proporções, o resultado obtido foi de praticamente insolúvel ou insolúvel.

Esses resultados demonstram, portanto, que o método do solvente não é adequado para a utilização de PEG 8000 e Soluplus® como carreadores, dado a não formação de um filme homogêneo quando da preparação das dispersões. Fato corroborado pelos testes de solubilidade realizados para ambos. Andrade (2016) também observou resultados semelhantes para o Soluplus®.

Utilizou-se, para todos os testes de solubilidade realizados, os critérios farmacopeicos, sendo o solvente utilizado a água. O teste de solubilidade realizado para as dispersões obtidas utilizando-se o PVP K-30 como carreador obtiveram resultados mais promissores, conforme demonstrados no Tabela 5.

Tabela 6 – Teste de solubilidade das dispersões sólidas à base de LPSF/GQ-238).

Dispersão sólida (% GQ-238)	Resultado do teste de solubilidade
50,00	Muito pouco solúvel
38,46	Muito pouco solúvel
37,03	Pouco solúvel
35,71	Pouco solúvel
34,48	Pouco solúvel
20,00	Ligeiramente solúvel
10,00	Ligeiramente solúvel

Muito pouco solúvel: de 1000 a 10000 partes de solvente; Pouco solúvel: de 100 a 1000 partes de solvente; Ligeiramente solúvel: de 30 a 100 partes de solvente.

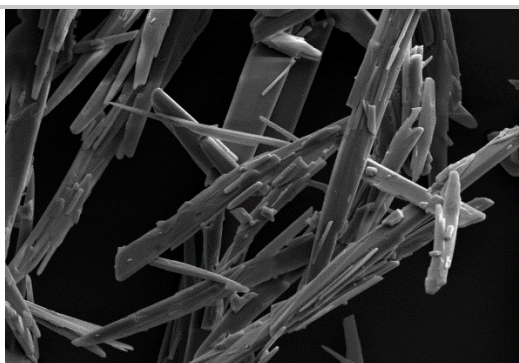
Conforme demonstrado, as dispersões sólidas que utilizaram maior proporção de polímero foram as que obtiveram os melhores resultados de solubilidade, fato também observado por Andrade (2016) em ensaios de dissolução.

4.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

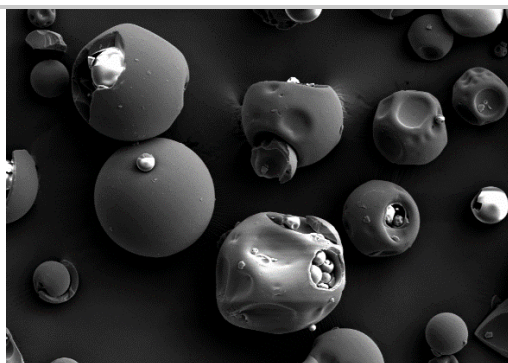
A análise de MEV objetiva detalhar a microestrutura das dispersões formadas (com o PVP K-30 e LPSF/GQ - 238), bem como dos produtos isolados. Através dela é possível observar a perda da estrutura cristalina e a formação de um novo estado físico pelas dispersões (COSTA, 2016). As eletromicrografias dos produtos de dispersão, bem como dos compostos isolados são representados nas figuras 9, 10 e 11.

Figure 9 – 1) LPSF / GQ-238 ampliado 2520 vezes; 2) PVP K-30 ampliado 540 vezes.

1) LPSF/GQ-238: Ampliado 2520x



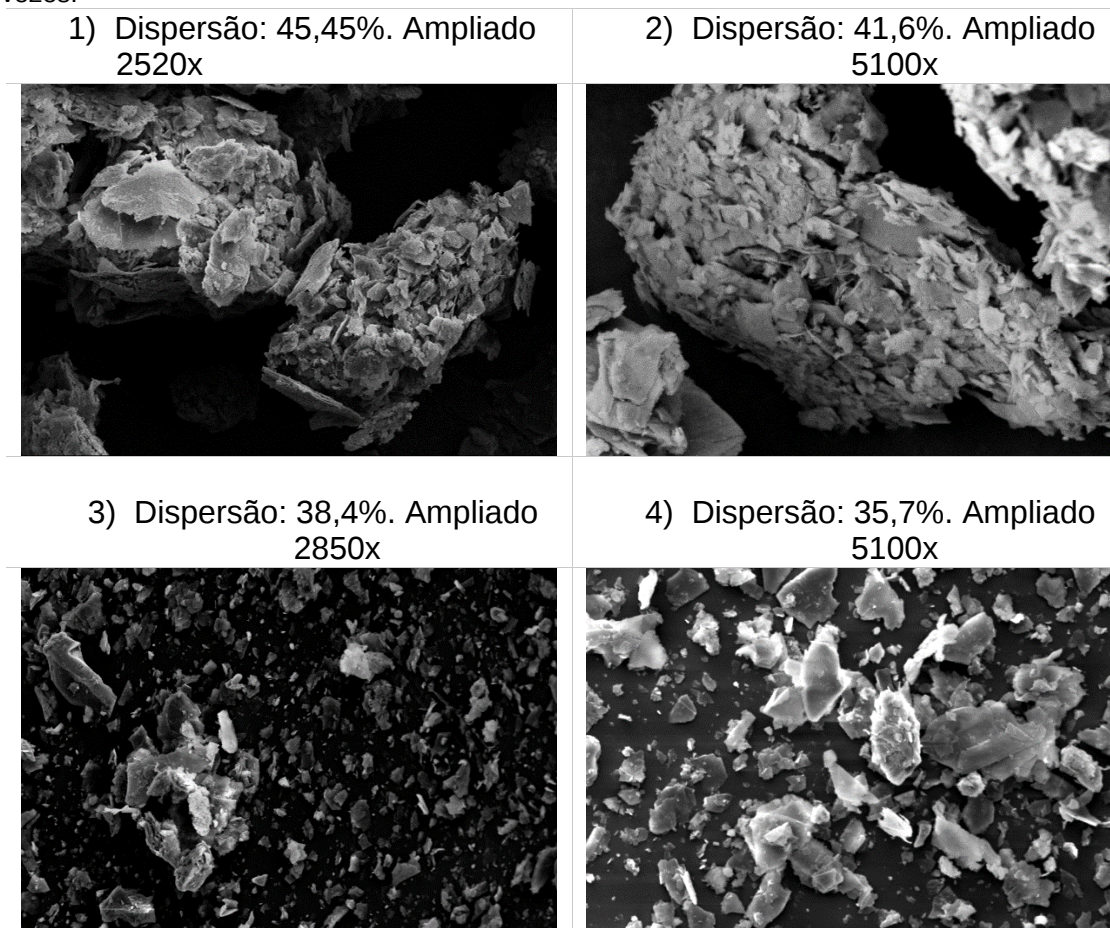
2) PVP K-30: Ampliado 540x



Fonte: Dados da Pesquisa.

O LPSF / GQ-238 apresenta-se como cristais irregulares do tipo agulha, enquanto o PVP K-30 é caracterizado por partículas esféricas de superfície lisa.

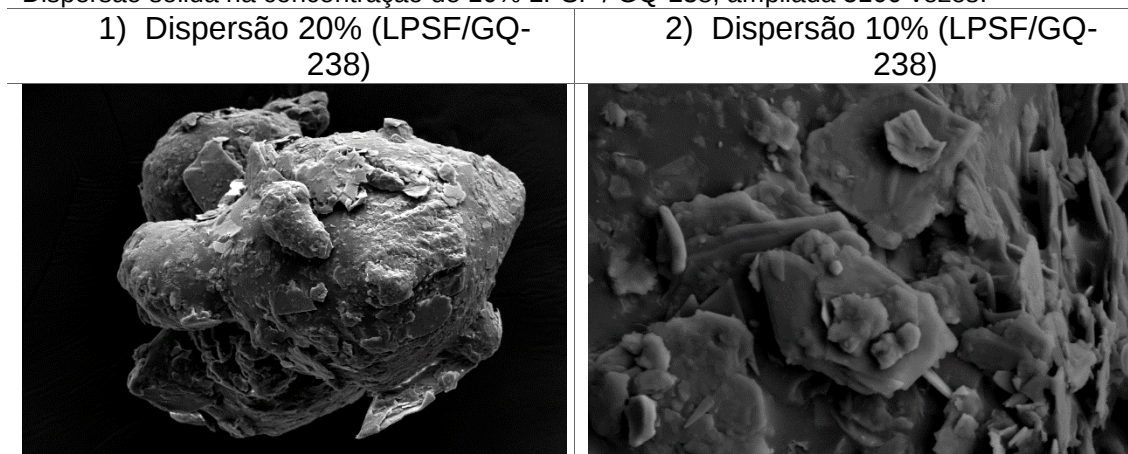
Figura 10 – Dispersões sólidas em diferentes concentrações de LPSF/GQ-238: 1) 45,45%, ampliada 2520 vezes; 2) 41,6%, ampliada 5100 vezes; 3) 38,4%, ampliada 2850 vezes; 4) 35,7%, ampliada 5100 vezes.



Fonte: Dados da Pesquisa.

As eletromicrografias das dispersões evidenciaram a presença de partículas de tamanho e forma irregulares, onde não foi possível distinguir a forma cristalina de LPSF / GQ-238 ou as partículas esféricas do polímero.

Figura 11 – 1) Dispersão sólida na concentração de 20% LPSF / GQ-238, ampliada 1010 vezes; 2) Dispersão sólida na concentração de 10% LPSF / GQ-238, ampliada 5100 vezes.



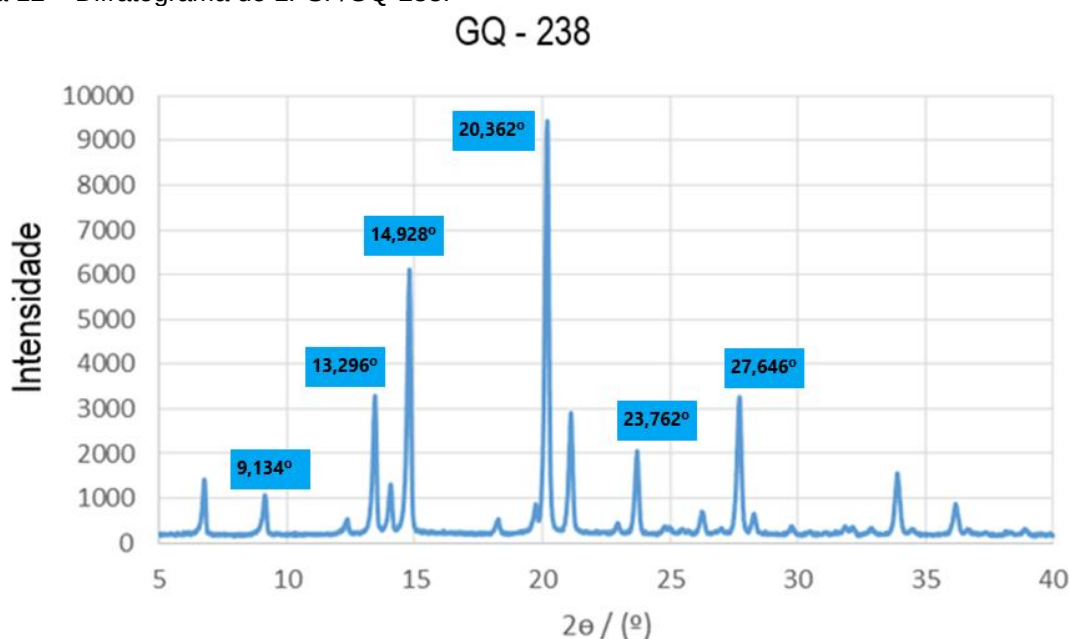
Fonte: Dados da Pesquisa.

A intensa mudança estrutural observada, sugere uma mistura homogênea entre a NEQ e o PVP K-30, que pode evidenciar uma conversão do estado cristalino em um novo estado físico, devido às possíveis interações químicas entre as fases componentes da dispersão.

4.8 Difração de Raios-X

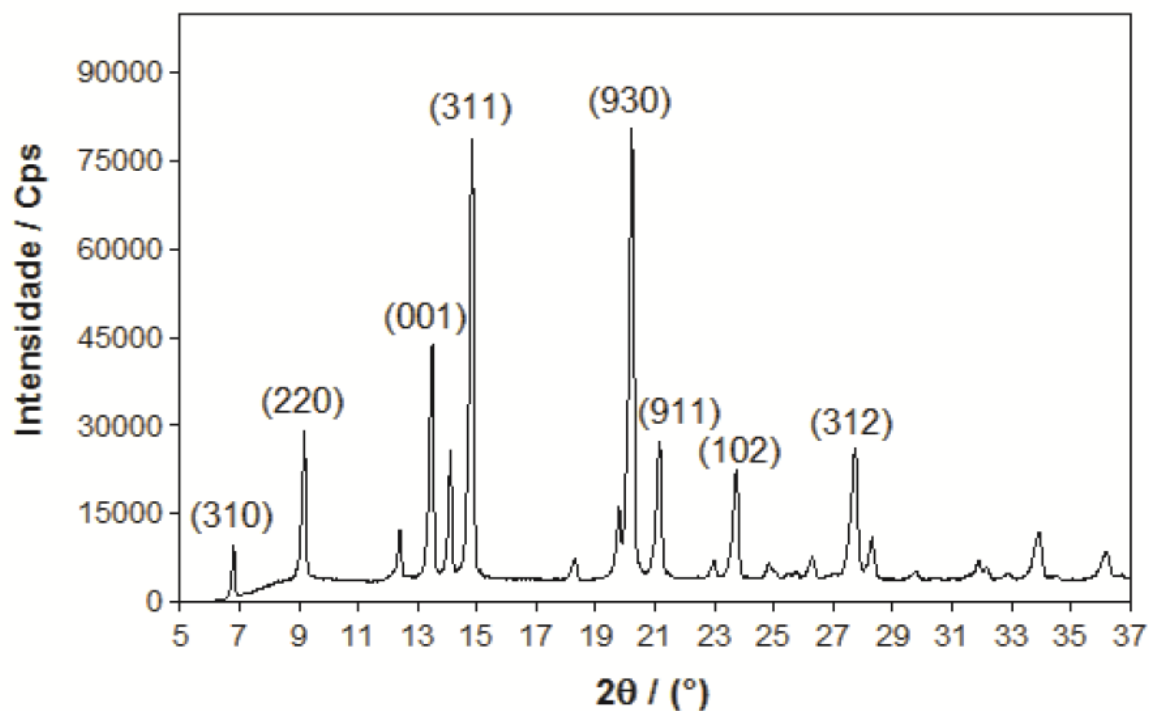
Segundo Andrade (2016), o padrão de difração do LPSF/GQ-238 revela a presença de picos intensos em $2\theta = 9,134^\circ$; $13,296^\circ$; $14,928^\circ$; $20,362^\circ$; $23,762^\circ$ e $27,646^\circ$, conforme demonstrado na Figura 12 e 13.

Figura 12 – Difratoograma do LPSF/GQ-238.



Fonte: Dados da pesquisa.

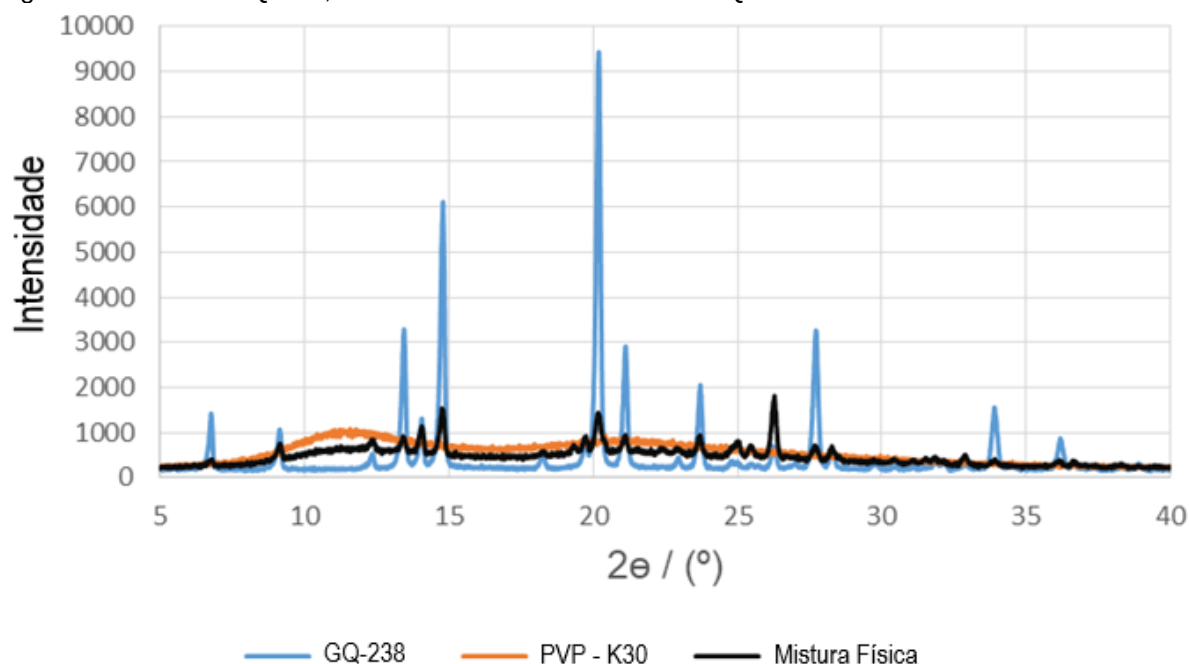
Figura 13 – Difratoograma do LPSF/GQ-238, realizado por Andrade (2016).



Fonte: Andrade (2016)

A Figura 14 mostra o carácter cristalino de LPSF / GQ-238, o carácter não cristalino do polímero PVP-K30 e a redução do estado cristalino durante a mistura física do polímero e a nova entidade química (NEQ).

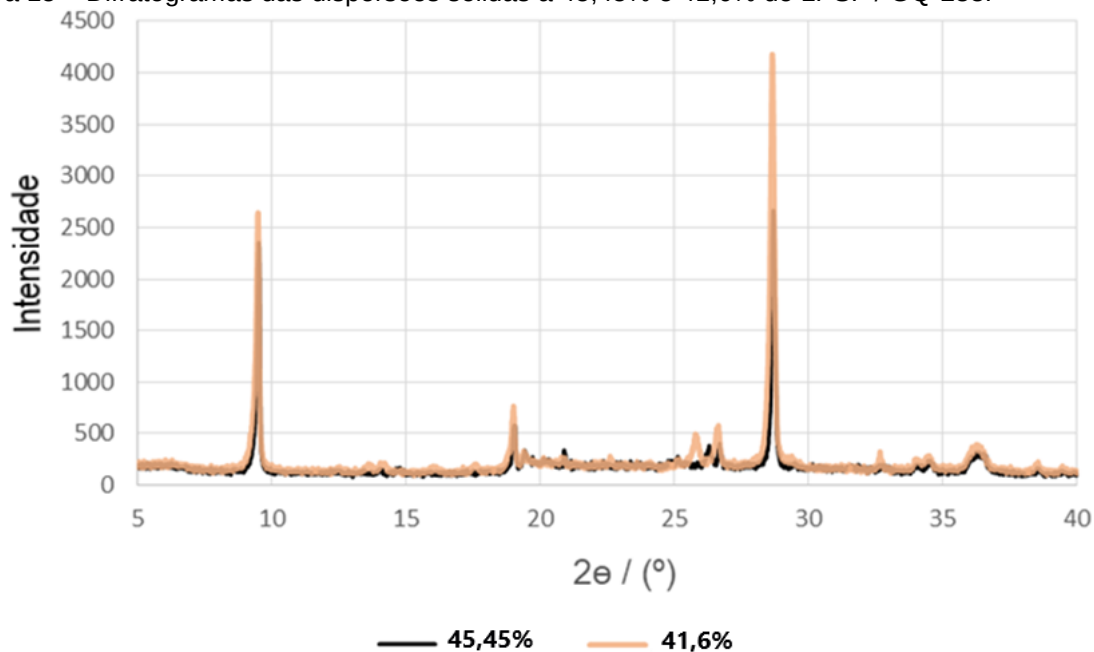
Figura 14 – LPSF / GQ-238, PVP-K30 e Mistura Física do NEQ e Polímero.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Nos difratogramas das dispersões sólidas, não foram observados esses picos característicos da substância cristalina. Além disso, a linha de base apresentou variações durante a análise, apresentando formação de halo característico de substâncias menos cristalinas.

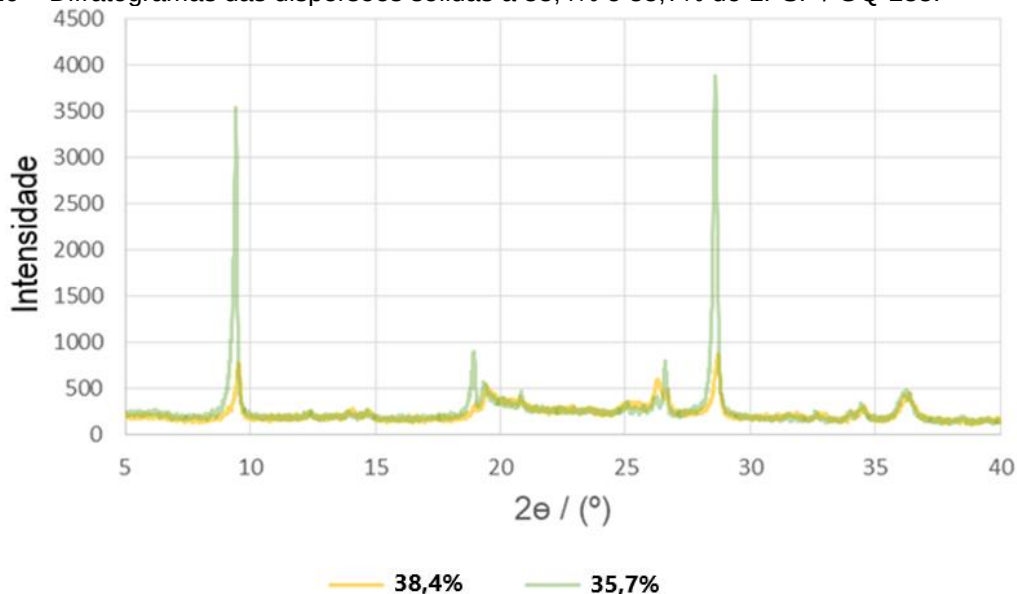
Figura 15 – Difratogramas das dispersões sólidas a 45,45% e 41,6% de LPSF / GQ-238.



Fonte: Dados da pesquisa.

As pequenas alterações nas proporções, visíveis nas Figuras 15 e 16, variam entre 35,7% e 45,45% da concentração de LPSF / GQ-238. Esta modificação foi feita para verificar as modificações na forma cristalina, em pequena escala.

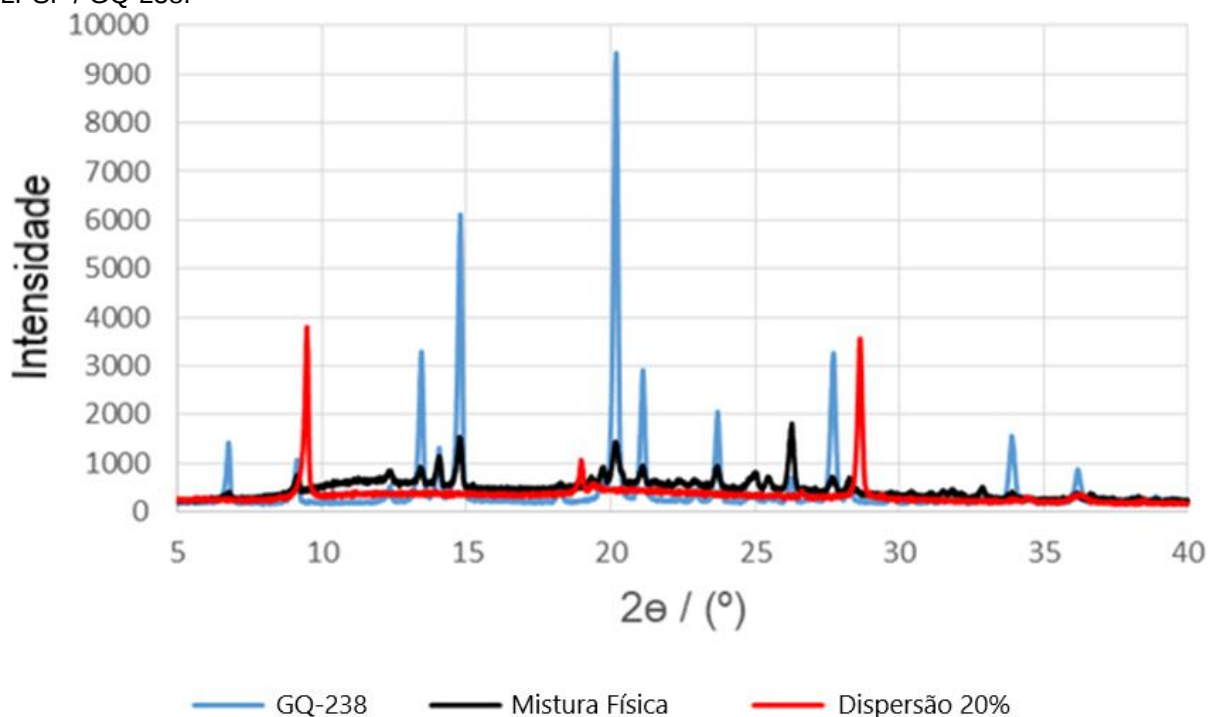
Figura 16 – Difratogramas das dispersões sólidas a 38,4% e 35,7% do LPSF / GQ-238.



Fonte: Dados da Pesquisa.

A figura 17 mostra uma comparação entre NEQ, mistura física, entre polímero e NEQ (1:1) e dispersão sólida com 20% de LPSF/GQ-238. É possível verificar que os picos cristalinos foram reduzidos, tanto na mistura física como na dispersão sólida.

Figura 17 – LPSF / GQ-238, mistura física (50% GQ-238 e 50% PVP-K30), dispersão sólida a 20% de LPSF / GQ-238.



Fonte: Dados da pesquisa

4.9 Estudos Térmicos

Para caracterização física das dispersões, curvas de TG e DSC foram obtidas tanto para as dispersões sólidas quanto para os componentes isolados, a fim de identificar os eventos térmicos característicos de cada componente e suas relações nas dispersões obtidas.

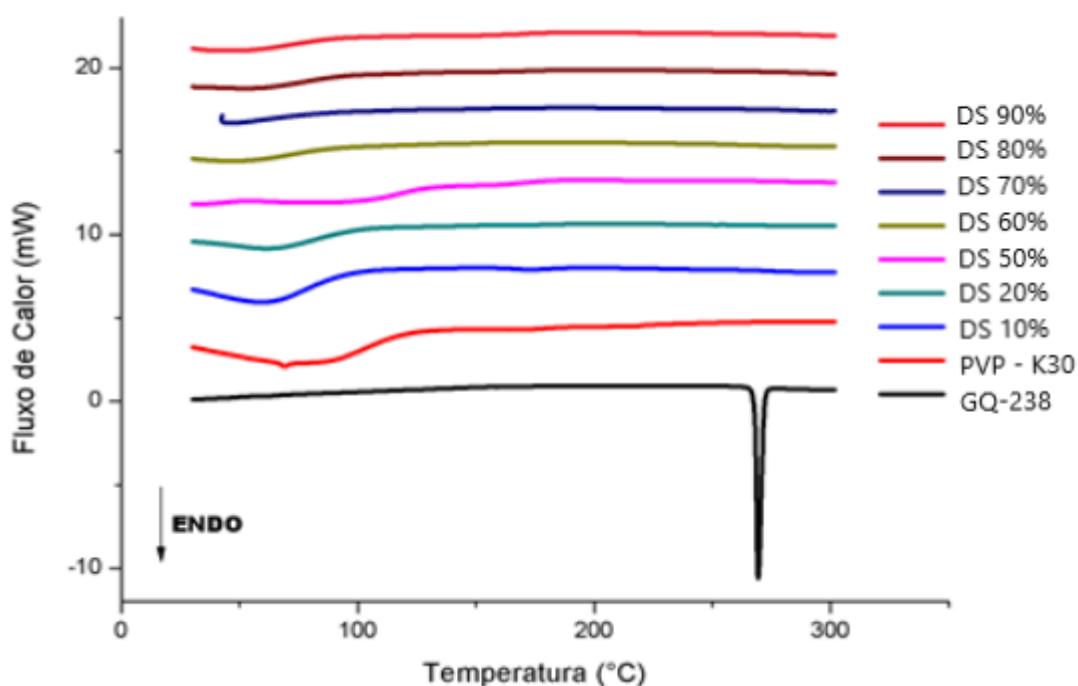
O comportamento térmico do LPSF/GQ-238, foi evidenciado através de um pico endotérmico em 270°C, característico do processo de fusão de sua estrutura cristalina, corroborando o que foi observado nas análises de DRX e MEV. Processo semelhante foi observado por Andrade (2016), que também identificou um único processo endotérmico ocorrendo no intervalo 25-300°C.

O PVP K-30 apresentou uma leve curvatura no sentido endotérmico entre 45 e 125°C, sendo um evento associado à evaporação da água do material. Esses dados corroboram os obtidos por Alves (2010) e Costa (2016).

O pico endotérmico característico do LPSF/GQ-238 não pode ser observado em nenhuma das dispersões obtidas, sugerindo o sucesso na obtenção de um estado amorfo nas dispersões, o que corrobora com os resultados obtidos nas análises de DRX e MEV. Observa-se nas dispersões um padrão calorimétrico semelhante ao observado para o PVP K-30, quando da evaporação da água. Padrão esse que fica ainda mais evidente nas dispersões constituídas com uma maior proporção de polímero. Adicionalmente, podem ser observados os eventos de transição vítrea dos produtos isolados e das dispersões sólidas. As TGs das dispersões sólidas apresentam dois eventos de perda de massa, devido à mistura do polímero e do LPSF/GQ-238.

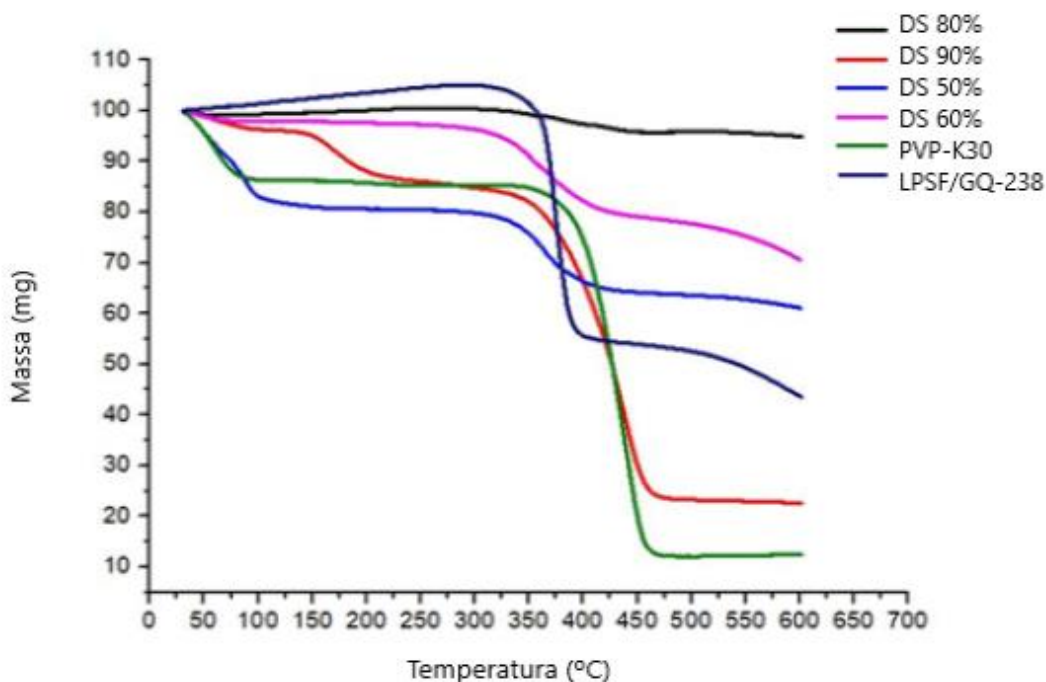
As curvas de DSC e TG, tanto para as dispersões sólidas obtidas, quanto para os produtos isolados estão demonstradas nas figuras 18 e 19.

Figura 18 – Curva DSC do LPSF/GQ-238, PVP-K30 e dispersões sólidas (variando entre 10% e 90% de PVP K-30).



Fonte: Dados da Pesquisa.

Figura 19 – Curva TG do LPSF/GQ-238, PVP-K30 e dispersões sólidas em diferentes proporções (variando entre 50% de polímero e 90% de polímero).



Fonte: Dados da pesquisa.

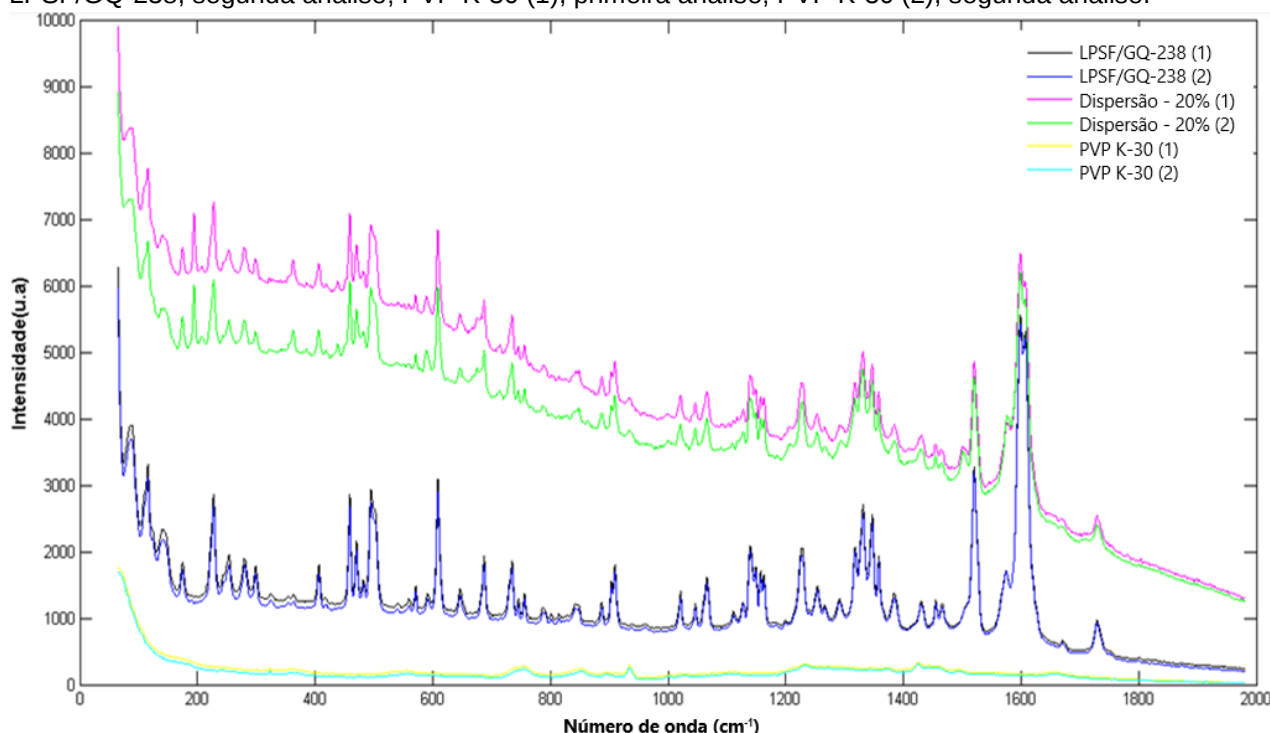
4.10 Espectroscopia Raman

Neste estudo, a análise de Raman foi realizada para comprovar a integridade estrutural da molécula do LPSF/GQ-238 na dispersão sólida.

Conforme pode ser observado na figura 20, as principais bandas do LPSF/GQ-238 foram mantidas nas dispersões, o que evidencia a manutenção da estrutura química da molécula no novo estado físico. Algo que poderia ser mais evidenciado por análises de infravermelho e espectroscopia de ressonância magnética nuclear.

É possível verificar a ausência de picos expressivos no PVP – K30 e sua linha de frequência próxima aos 1000 cm^{-1} .

Figura 20 – Espectro Raman LPSF/GQ-238 (1), primeira amostra; LPSF/GQ-238 (2), nova amostra produzida; Dispersão Sólida à 20% de LPSF/GQ-238, primeira análise; Dispersão Sólida à 20% de LPSF/GQ-238, segunda análise; PVP K-30 (1), primeira análise; PVP K-30 (2), segunda análise.



Fonte: Dados da pesquisa

4.11 Estudo *in vitro*

4.11.1 Vermes adultos machos

Nas primeiras 24 horas, foi possível observar uma melhora expressiva na atividade da dispersão, quando comparado com a NEQ pura, frente ao verme adulto, atingindo o score 0 em quatro das cinco concentrações. Ao chegar nas 48 horas, todas as amostras da dispersão atingem o score 0 enquanto a NEQ pura só alcança o score 0 com 96h, em sua concentração máxima, como é possível observar nas tabelas 7 e 8.

Tabela 7 – Motilidade em scores dos vermes adultos após incubação frente ao LPSF/GQ-238.

Motilidade em scores dos vermes após incubação (%)												
Grupo GQ-238	24h				48h				72h			
	3	2	1	0	3	2	1	0	3	2	1	0
Controle Meio	100				100				100			
Controle DMSO	100				100				100			
Controle PZQ (10µM)			70	30			5	95			100	
200µM		45	55			15	65	20		40	60	
100µM	5	65	30				10	90		80	20	
50µM	100					55	45			45	55	
25µM	100					85	15			60	40	
12.5µM	100					95	5			95	5	

Fonte: Dados da Pesquisa.

É possível verificar que a dispersão sólida aumentou a eficiência em 110,81% quando comparada ao LPSF/GQ-238 na forma livre, frente ao verme adulto.

Tabela 8 – Motilidade em scores dos vermes adultos após incubação frente ao Dispersão a 20% de LPSF/GQ-238.

Motilidade em scores dos vermes após incubação (%)												
Grupo Dispersão	24h				48h				72h			
	3	2	1	0	3	2	1	0	3	2	1	0
Controle Meio	100				100				100			
Controle DMSO	100				100				100			
Controle PZQ (10µM)			70	30			5	95			100	
200µM			100				100				100	
100µM			100				100				100	
50µM			100				100				100	
25µM			10	100			100				100	
12.5µM			90	10			5	100			100	

Fonte: Dados da pesquisa.

4.11.2 Esquistossômulos

Frente aos equistossômulos a dispersão apresenta melhor resultado até o tempo de 6 horas nas 2 concentrações máximas, nas horas seguintes a NEQ só não consegue atingir o score 0 com a amostra de menor concentração, já a dispersão se apresenta mais eficiente acima de 50 µM, contudo o seu score final fica entre 0 e 1 já a NEQ varia entre 0, 1 e 2, dando a dispersão, com menor concentração, uma maior segurança, como é possível verificar nas tabelas 9 e 10.

Tabela 9 – Motilidade em scores dos Esquistossômulos após incubação frente ao LPSF/GQ-238.

Motilidade em scores dos vermes após incubação (%)												
Grupo GQ-238	3h				6h				12h			
	3	2	1	0	3	2	1	0	3	2	1	0
Controle Meio	100				100				100			
Controle DMSO	100				100				100			
Controle PZQ (200µM)		100				100				100		
200µM				100				100				100
100µM		4	20	76			2	98			100	100
50µM		30	30	40		4	6	90			100	100
25µM	60	40					48	52		44	56	100
12.5µM	100				100				100			30 70

Fonte: Dados da pesquisa.

Notou-se um crescimento sutil na eficiência da dispersão quando comparada a NEQ frente ao esquistossômulo, sendo de 1,407%.

Tabela 10 – Motilidade em scores dos Esquistossômulos após incubação frente ao Dispersão a 20% de LPSF/GQ-238.

Motilidade em scores dos vermes após incubação (%)												
Grupo Dispersão	3h				6h				12h			
	3	2	1	0	3	2	1	0	3	2	1	0
Controle Meio	100				100				100			
Controle DMSO	100				100				100			
Controle PZQ (200µM)		100				100				100		100
200µM				100				100			100	100
100µM		8	18	74				100			100	100
50µM		50	18	32		22	8	70		2	98	100
25µM		66	12	22		74		26		74	26	56 44
12.5µM		82		18		82		18		96	4	90 10

Fote: Dados da pesquisa.

4.12 Manipulação e controle de qualidade das cápsulas e comprimidos

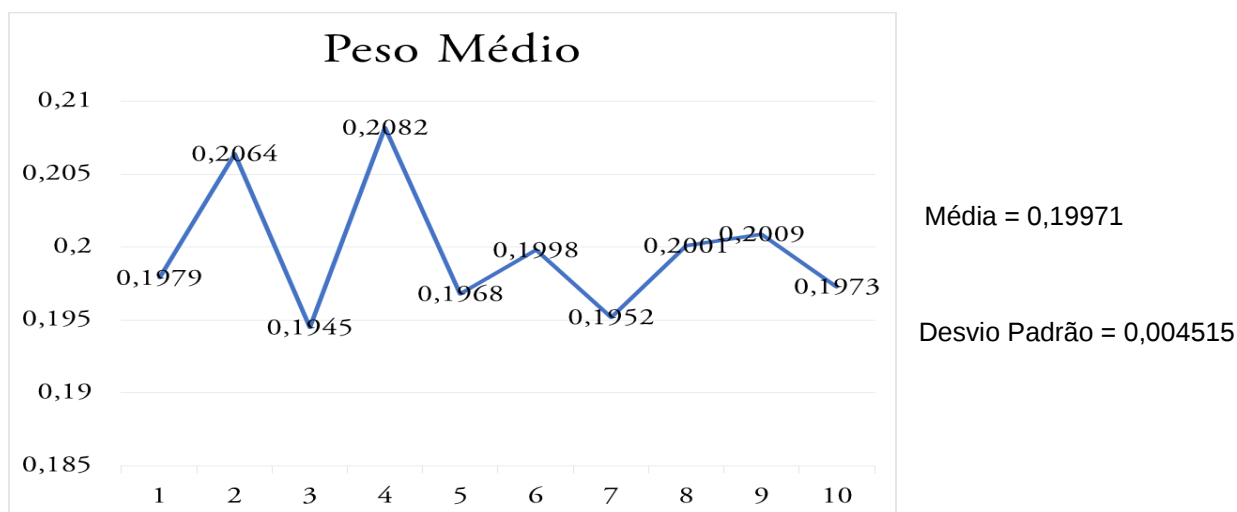
A dispersão sólida na concentração de 20% foi a escolhida para a manipulação das cápsulas e comprimidos, pois foi a que apresentou os melhores resultados nos testes realizados e maior viabilidade técnica para a manipulação.

Todas as cápsulas foram manipuladas utilizando-se uma proporção de dispersão suficiente para uma dose final de 1 mg de LPSF/GQ-238 por cápsula, para comprimidos a dose ficou em 1,5 mg.

Os testes de peso médio e desintegração, foram realizados para todas as formulações obtidas, de acordo com os parâmetros preconizados pela Farmacopeia Brasileira 5ª Edição (BRASIL, 2010).

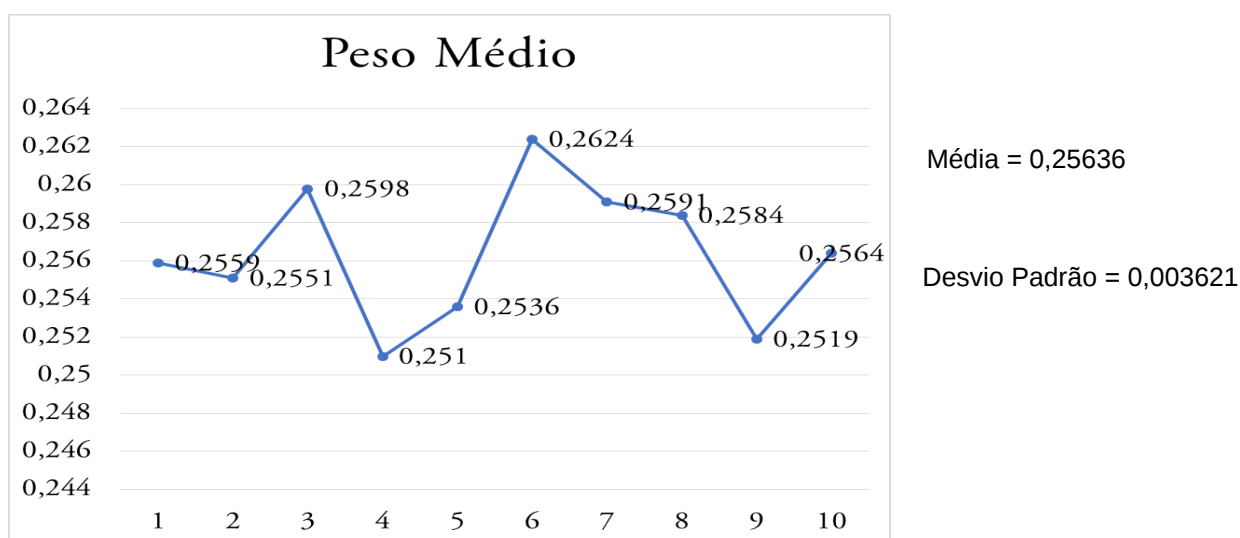
Os valores dos pesos médios para as três formulações estão representados nas figuras abaixo.

Figura 21 – Peso médio formulação 1.



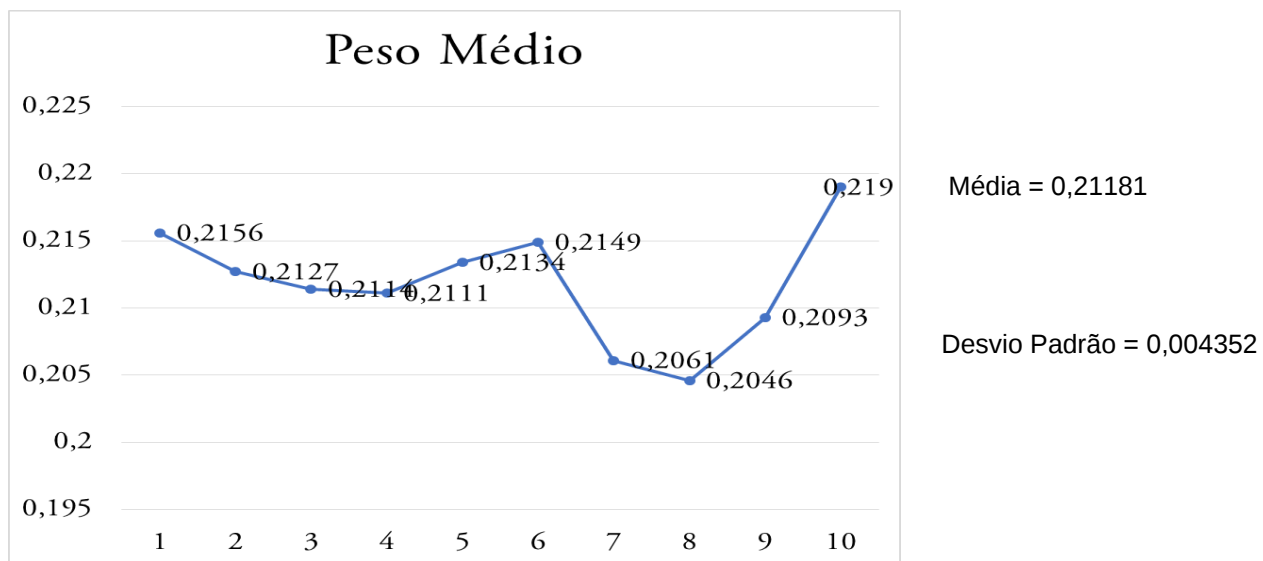
Fonte: Dados da Pesquisa.

Figura 22 – Peso médio formulação 2.



Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 23 – Peso médio formulação 3.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Conforme pode ser observado, para todas as formulações o critério farmacopeico foi atendido, não havendo variação maior que 5% em nenhum dos casos.

Também foram realizados testes de tempo de desintegração para as três formulações, obtendo-se um valor de 2,30 min para a formulação 1, e de 1,30 min para as formulações 2 e 3. Todas, mais uma vez, atendem ao critério farmacopeico de um tempo de desintegração menor que 45 min, para cápsulas duras.

De acordo com a Farmacopéia Brasileira (2010), o resultado da dureza é expresso como a média dos valores obtidos nas determinações. Como se pode observar na Tabela 11, as amostras. Segundo Lehir (1997) o comprimido deve apresentar dureza adequada para evitar interferências no tempo de desintegração e no teste de dissolução.

Tabela 11 – Media de dureza, desvio padrão, coeficiente de variação e peso médio das amostras A, B e C.

Amostra	A	B	C
Dureza Média (Kgf)	8,6	8,5	8,5
Desvio Padrão	0,485	0,331	0,494
Coeficiente de Variação	0,056	0,038	0,058
Peso Médio (g)	152,0	150,0	150,5

Fonte: Da pesquisa.

Para o teste de Friabilidade, são considerados aceitáveis os comprimidos com perda igual ou inferior a 1,5% do seu peso (F. Bras. 5ª ed., 2010). Todos os comprimidos analisados estão dentro dos limites estabelecidos. Como pode ser observado na tabela 12, tendo uma variação de apenas 0,542%.

Tabela 12 – Resultado do teste de Friabilidade expresso em peso total inicial e final (de 20 comprimidos) e as porcentagens relacionadas ao valor de peso total inicial.

Peso Inicial (g)	Peso Final (g)
30,119	29,956
100%	99,458%
	Variação de 0,542%

Fonte: Da pesquisa.

5 CONCLUSÃO

A síntese em maior escala do LPSF/GQ-238 apresentou bom rendimento e elevada pureza, conforme demonstraram os ensaios de ponto de fusão e Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC), apresentando características muito próximas às descritas por Oliveira et al. (2015).

Todos os polímeros testados apresentaram compatibilidade com o LPSF/GQ-238, não alterando sua estrutura química, conforme testes de infravermelho realizados para as misturas físicas e Raman realizado para as dispersões sólidas.

A atividade *in silico* evidenciou que a ligação entre o LPSF/GQ-238 e o PVP - K 30 é mais estável que a entre a NEQ e o PEG 8000, o que deu mais embasamento para que os estudos seguissem com o PVP – K 30.

Das dispersões sólidas obtidas, observou-se a inviabilidade da técnica do solvente para utilização de polietilenoglicol (PEG) 8000 e Soluplus® como carreadores. No entanto, a polivinilpirrolidona (PVP) K-30 apresentou resultados satisfatórios.

As caracterizações das dispersões sólidas demonstraram o incremento de solubilidade através do enovelamento da nova entidade química (NEQ) pelo polímero, conforme observado nas análises de microscopia eletrônica de varredura, modificando a estrutura cristalina da molécula em um novo estado físico, observado nas análises de difração de raios-x, pela redução de planos cristalinos. A perda de propriedades físicas do LPSF/GQ-238 nas dispersões foi observada nas análises térmicas, evidenciando a mudança de estado. Apesar disso, a estrutura química foi mantida, mesmo nas dispersões, conforme sugeriram as análises de Raman.

Com o estudo *in vitro* observou-se que, com o uso de dispersões sólidas, as atividades vermífugas sobre o esquistossoma adulto melhorou em todas as proporções, e que a atividade frente aos esquistossômulos teve uma melhora menos expressiva, mas suficiente para melhorar as menores proporções testadas ao nível máximo de score.

Com o desenvolvimento das capsulas e comprimidos a partir das dispersões foi possível verificar que a dispersão se adequa bem as formas farmacêuticas e não

interferiu de forma negativa em nenhum dos testes realizados. Evidenciando que é uma boa opção, futura, para o tratamento esquistossomicida por via oral.

As perspectivas para o estudo, seguem em realizar o teste de dissolução das formas farmacêuticas sólidas, validar os testes de doseamento e dissolução, realizar o estudo de estabilidade acelerada e de longa duração de acordo com a RE nº 1 de 2005 e fazer a atividade *in vivo* das melhores formulações.

REFERÊNCIAS

- ALVES, L. D. S. et al. Avanços, propriedades e aplicações de dispersões sólidas no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 33, p. 17-25, 2012.
- ALVES, L. D. S. **Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral efavirenz**. Dissertação de mestrado. 131p. Universidade Federal de Pernambuco. 2010.
- ANDRADE, F.H.D. **Estudos de caracterização de um novo agente esquistossomicida e tripanossomicida (LPSF/GQ-238)**. Tese de Doutorado. 118p. Universidade Federal de Pernambuco. 2016.
- BAPTISTA, E. B. **Estudo de estabilidade e eficácia de formulação tópica fitoterápica para tratamento de dermatofitose animal**. Tese de Doutorado. 171p. Universidade Federal de Juiz de Fora. 2015.
- BARBOSA, P. A. E. **Avaliação da funcionalidade dos excipientes de cápsulas de furosemida manipuladas nas farmácias de Manaus/AM**. Dissertação de Mestrado. 83p. Universidade Federal do Amazonas.
- BIKIARIS, D. et al. Physicochemical studies on solid dispersions of poorly water-soluble drugs Evaluation of capabilities and limitations of thermal analysis techniques. **Thermochimica Acta**, v. 439, p. 58-67, 2005.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. v. 1. 5. ed., p. 57, Brasília, 2010.
- BRASIL. **Formulário nacional da farmacopeia brasileira**. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2.ed. Brasília: Anvisa, 2012.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Vigilância da Esquistossomose Mansonii**: diretrizes técnicas / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, 4. ed., Brasília: Ministério da Saúde, p. 144, 2014.
- BROWN, M. Schistosomiasis. **Clinical Medicine**. v. 11, n. 5, p. 479-482, 2011.

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

COSTA, S. P. M. **Obtenção de sistemas poliméricos microparticulados para o aumento da velocidade de dissolução do efavirenz na terapia anti-HIV**. Tese de doutorado. 152p. Universidade Federal de Pernambuco. 2016.

DEBOTTON, N.; DAHAN, A., Applications of Polymers as Pharmaceutical Excipients in Solid Oral Dosage Forms. **Medicinal Research Reviews**, 2016.

ELBAZ, T.; ESMAT, G. Hepatic and Intestinal Schistosomiasis: Review. **Journal of Advanced Research**. v. 4, p. 445–452, 2013.

FALLON, P.G. Schistosome resistance to praziquantel. **Drug Resistance Updates**. v. 1, p. 236-241, 1998.

GOUVEIA, M. J. et al. Drug Repurposing for Schistosomiasis: Combinations of Drugs or Biomolecules. **Pharmaceuticals**. v. 11, n. 15, p. 1-34, Feb. 2018.

HÉDOUX, A. et al. Using the low-frequency Raman spectroscopy to analyze the crystallization of amorphous indomethacin, **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 38, p. 156-164, 2009.

ISMAIL, M. et al. Characterization of isolates of *Schistosoma mansoni* from Egyptian villagers that tolerate high doses of praziquantel. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 55, p. 214-218, 1996.

LAKSHMAN, J.P. et al. Application of melt extrusion in the development of a physically and chemically stable high-energy amorphous solid dispersion of a poorly water-soluble drug. **Molecular Pharmacology**. v. 5, n. 6, p.994-1002, 2008.

LAVOR, E. P. et al. Application of thermal analysis to the study of antituberculosis drugs–excipient compatibility. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, n. 3, p. 2303-2309, 2014.

LEHIR, A. Noções de farmácia galenica. 6º Ed. **Organização Andrei**, 1997, p.113-115.

LIMA, A. N. et al. Alternative Technologies to Improve Solubility of Poorly Water Soluble Drugs. **Latin American Journal of Pharmacy**. v. 27, n. 5, p. 789-97, 2008.

LIMA, C. W. R. et al. Ectopic forms of schistosomiasis mansoni in the second macroregion of Alagoas: case series report and review of the literature. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 50, n. 6, p. 812-818, 2017.

LUIS, A.F. **Estudos epidemiológicos imunogenéticos e pesquisa de fármacos esquistossomicidas e antifibróticos**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Pernambuco. 2012.

MANNECK, T.; HAGGENMÜER, Y.; KEISER, J.; Morphological effects and tegumental alterations induced by mefloquine on schistosomula and adult flukes of *Schistosoma mansoni*. **Parasitology** v.137 p.85–98, 2010

MAHIEU, A. et al. A new protocol to determine the solubility of drugs into polymer matrixes. **Molecular Pharmacology**. v. 10, n. 2, p. 560–566, 2012.

MARQUES, O., **Desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas orais de Uncaria tomentosa com atividade antioxidante**. Dissertação (Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas), 210f. p. 210, 2008

MELMAN, S.D. et al. Reduced Susceptibility to Praziquantel among Naturally Occurring Kenyan Isolates of *Schistosoma mansoni*. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 3, p. 1-10, 2009.

NEWMAN, A. (Ed.) **Pharmaceutical Amorphous Solid Dispersions**. 1st. ed., New Jersey: John Wiley & Sons, 2015.

O'DRISCOLL, C.M. et al. Biopharmaceutical challenges associated with drugs with low aqueous solubility: the potential impact of lipid-based formulations. **Advanced Drug Delivery**. Rev. 60, 617–624, 2008.

OLIVEIRA, J.F. **Síntese e avaliação da atividade esquistossomicida de novos derivados indólicos-tiazolidínicos-3,5-dissubstituídos**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2013.

OLIVEIRA J. F. et al. Synthesis and Evaluation of the Schistosomicidal and Trypanocidal Properties of Thioxo-Imidazolidines and Thiazolidin-2, 4-Diones, **British Journal of Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 6, p. 386-400, 2015.

OLIVEIRA, M. A. et al. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224-1230, 2011.

PALERMO, R. N.; ANDERSON, C. A.; DRENNEN III, J. K. Review: use of thermal, diffraction, and vibrational analytical methods to determine mechanisms of solid dispersion stability. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, v. 7, n. 1, p. 2-12, 2012.

PATEL, R. P. et al. Physicochemical Characterization and Dissolution Study of Solid Dispersions of Furosemide with Polyethylene Glycol 6000 and Polyvinylpyrrolidone K-30. **Dissolution Technologies**, p. 17-25, 2008.

PAUDEL, A. et al. Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 453, p. 253-284, 2013

PAUDEL, A. et al. Raman spectroscopy in pharmaceutical product design. **Advanced Drug Delivery**. v. 89, p. 3-15, 2015.

PLANTE, A. F.; FERNÁNDEZ, J. M.; LEIFELD, J. Application of thermal analysis techniques in soil science. **Geoderma**, v. 153, n. 1, p. 1-10, 2009.

RAMALHO-PINTO, F.J.; GAZZINELLI, G.; HOWELLS, R.E.; MOTA-SANTOS, T.A.; FIGUEIREDO, E.A.; PELLEGRINO J. *Schistosoma mansoni*. A defined system for the step-wise transformation of the cercaria to schistosomule in vitro. *Experimental Parasitology* v. 36 p. 360-372, 1974.

ROWE, R.C.; SHESKEY, P.J.; QUINN, M. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6^o ed. 2009

SANTOS, D. P. G. Obtenção e caracterização de comprimidos de captopril 50mg via compressão direta. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Paraíba. 2012.

SILVA, A.L. **Potencial terapêutico de novos fármacos na avaliação da atividade esquistossomocida**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2010.

SILVA, K. E. R. et al. Alternativas terapêuticas no combate à esquistossomose mansônica. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 1, p. 9-16, 2012.

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

STANDEN, O. D. **Experimental infection of Australorbis glabratus with Schistosoma mansoni. I. — Individual and mass infection of snails, and the relationship of infection to temperature and season**. Ann. trop. Med. Parasitol., 46:48-52, 1952.

STELMA, F. F. et al. **Efficacy and sideeffects of praziquantel in an epidemic focus of Schistosoma mansoni**. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. v. 53, p. 167-170, 1995.

VASCONCELOS, T. et al. Amorphous solid dispersions: Rational selection of a manufacturing process. **Advanced Drug Delivery**. Rev. 100, p. 85-101, 2016.

WHO. **First WHO report on neglected tropical diseases**: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. 2010.

WHO. **Schistosomiasis and soil-transmitted helminthiases**: number of people treated in 2015, Wkly Epidemiol. Rec. 91, 2016.

WHO. **Integrating neglected tropical diseases in global health and development**: Fourth WHO report on neglected tropical diseases. 2017.