



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS BASEADAS EM
MONOGLICERÍDEOS PARA MELHORIA DA SOLUBILIDADE DO BENZNIDAZOL**

BRUNA MATTOS DOS SANTOS

Florianópolis
Março/2022

Bruna Mattos dos Santos

**PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS BASEADAS EM
MONOGLICERÍDEOS PARA MELHORIA DA SOLUBILIDADE DO BENZNIDAZOL**

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio II (QMC 5512)

Prof. Dr. Alexandre Luis Parize

Me. Rodrigo Henrique Saatkamp

Florianópolis
Março/2022

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à minha mãe, que certamente sem ela nada disso seria possível. E também ao meu pai, minha irmã, meus avós e todos os familiares que de alguma forma me auxiliaram e incentivaram nessa caminhada. A presença de vocês, mesmo que de longe, foi essencial para que eu pudesse chegar até aqui!

Gostaria de agradecer também ao meu orientador, professor Alexandre e ao Rodrigo, por todos os ensinamentos, paciência e apoio, principalmente nesses últimos meses. Apesar da pandemia, que prejudicou muito o trabalho, aprendi muito com vocês. Ao pessoal do Polimat também, pela acolhida, suporte e ajudas, principalmente à Giu.

Não poderia deixar de agradecer a todos os meus amigos, tanto os de Curitiba (principalmente ao grupo 50 tons), como os que fiz em Floripa, vocês são para a vida! Agradeço por todos os momentos compartilhados, desde um almoço no ru, quanto as idas em festas, praias, trilhas, acampamentos e tantas outras coisas vivenciadas em tão pouco tempo. Obrigada por terem feito parte de uma fase tão importante e por sempre estarem presente, me apoiando em todos os momentos. Em especial à Laura e à Fernanda, o suporte de vocês nessa reta final foi muito importante.

E por último, meus agradecimentos a todos os professores e técnicos que passaram por mim ao longo desses anos, agradeço por compartilharem os seus conhecimentos e contribuírem para uma universidade pública, gratuita e de qualidade!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	10
3. OBJETIVOS.....	21
3.1. Objetivo Geral:	21
3.2. Objetivos Específicos:.....	21
4. METODOLOGIA	22
4.1. Materiais:	22
4.2. Métodos:	22
4.2.1. Metodologia de preparo das formulações entre GML e GMS com BNZ	22
4.3. Caracterizações dos sistemas obtidos	23
4.3.1. Calorimetria de varredura diferencial (DSC)	23
4.3.2. Difração de raios-X (DRX)	23
4.3.3. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	24
.....	
4.3.4. Microscopia óptica de luz polarizada (PLOM).....	24
4.3.5. Microscopia eletrônica de varredura (SEM)	24
4.3.6. Espectrofotometria UV-vis.....	25
4.3.7. Solubilidade do BNZ e das melhores misturas em solução tampão de	
saliva simulada	25
4.4. Segurança no laboratório e tratamento de resíduos	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
7. REFERÊNCIAS.....	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição da Doença de Chagas no mundo.....	11
Figura 2. Ciclo de vida de <i>T. cruzi</i> mostrando os diferentes estágios de desenvolvimento do protozoário nos hospedeiros invertebrados (triatominas) e vertebrados (mamíferos).....	13
Figura 3. Estrutura molecular do Nifurtimox.....	14
Figura 4. Estrutura molecular do Benznidazol.	15
Figura 5. Estrutura molecular do glicerol monolaurato.....	19
Figura 6. Estrutura molecular do glicerol monoestearato.....	20
Figura 7. Curvas de DSC das amostras como recebidas, de BNZ, BNZ macerado, GML e GMS, realizadas a uma taxa de 10 °C min ⁻¹ na faixa de temperatura de -5 a 250 °C.....	26
Figura 8. Curvas de DSC dos MG's (a) BL e (b) BE com o aumento da quantidade de BNZ (%m/m) na dispersão sólida.....	28
Figura 9. Variação da temperatura de fusão do BNZ e dos MGs <i>versus</i> a proporção mássica de BNZ nos sistemas BL (a) e BE (b)..	30
Figura 10. Diagrama de triângulo de Tamman mostrando a entalpia de fusão do GML (quadrados azuis), GMS (quadrados vermelhos) e do BNZ (quadrados pretos) <i>versus</i> a porcentagem em massa do BNZ incorporado em (a) BL e (b) BE.....	32
Figura 11. Porcentagem de solubilidade do BNZ nos MG's, (a) BL, (b) BE.	33
Figura 12. Difratoograma de difração de raios-X de BNZ, GML, GMS e das misturas sólidas....	34
Figura 13. Espectros de FTIR obtidos via KBr para (a) BNZ, GML e misturas sólidas, (b) ampliação da região de 1750 a 1650 cm ⁻¹ e (c) ampliação da região de 1400 a 1300 cm ⁻¹	36
Figura 14. Espectros de FTIR obtidos via KBr para (a) BNZ, GMS e misturas sólidas, (b) ampliação da região de 1750 a 1700 cm ⁻¹ e (c) ampliação da região de 1400 a 1300 cm ⁻¹	37
Figura 15. Interações intermoleculares entre os grupos OH do ácido carboxílico (a) e do monoglicerol (b) com o N das aminas aromáticas.....	378
Figura 16. Curvas de DSC e micrografias de PLOM das amostras BE20 (a) e (b), GMS (c) e (d), BL30 (e) e (f), GML (g) e (h) e BNZ (i) e (j), respectivamente.	40
Figura 17. Microscopias eletrônicas de varredura para BNZ como recebido (a) e BNZ macerado (b), GML como recebido com ampliação de 100 (c) e 1000 vezes (d) e GMS como recebido com ampliação de 100 (e) e 1000 vezes (f).	42
Figura 18. Microscopias eletrônicas de varredura para as melhores misturas, sendo BL30 com ampliação de 500 (a) e 3000 vezes (b) e BE20 com ampliação de 500 (c) e 3000 vezes (d). ...	44
Figura 19. Microscopias eletrônicas de varredura para diversas misturas, todas com ampliação de 1000 vezes, sendo (a) BL10, (b) BE05, (c) BL30, (d) BE20, (e) BL70 e (f) BE60.	45
Figura 20. Perfil de solubilidade em mg mL ⁻¹ das amostras de BNZ, BNZ macerado, BL30 e BE20.....	47
Figura 21. Amostras de solubilidade do BL30 (esquerda) e BE20 (direita).	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantidade em massa e siglas das amostras de BNZ com os MG's.	22
Tabela 2. Temperaturas de cristalização para BNZ, GML, BL30, GMS e BE20.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS

BE - Misturas de Benznidazol e Glicerol monoestearato (m/m)

BL - Misturas de Benznidazol e Glicerol monolaurato (m/m)

BNZ - Benznidazol

DC - Doença de Chagas

DRX - Difração de raios-X

DSC - Calorimetria de Varredura Diferencial

FTIR - Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

GML - Glicerol monolaurato

GMS - Glicerol monoestearato

LAFEPE - Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco

log P - Coeficiente de partição

MGs - Monoglicerídeos

OMS - Organização Mundial da Saúde

PLOM - Microscopia Óptica de Luz Polarizada

SEM - Microscopia eletrônica de varredura

T. cruzi - *Trypanosoma cruzi*

TGI - Trato gastrointestinal

RESUMO

A Doença de Chagas é causada pelo *Trypanosoma cruzi*, um protozoário flagelado e é caracterizada por uma doença tropical, de terceiro mundo, enquadrada na classe das doenças negligenciadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS). O contágio se dá pela via oral, através da ingestão de alimentos como açaí e cana de açúcar, contaminados com o parasita, de forma vetorial - pelo inseto denominado barbeiro - e há também casos de contaminação por transfusão sanguínea, transplante de órgãos e de mãe para filho durante a gravidez. Atualmente o Benznidazol é o fármaco utilizado como primeira opção de tratamento, por ser o mais tolerado pelos pacientes. Porém, apesar de ter uma ótima taxa de cura na fase aguda da doença, a sua eficácia na fase crônica se torna menor e devido ao seu perfil toxicológico, que resulta em um elevado número de efeitos colaterais severos, causa o abandono do tratamento de aproximadamente 20% dos pacientes. Assim, em virtude da baixa solubilidade do BNZ, este estudo visa a busca de novas formulações que melhorem a solubilidade do fármaco e possibilitem novas vias de administração, com a diminuição dos efeitos colaterais. Neste sentido, foram preparadas dispersões sólidas baseadas em glicerol monolaurato e glicerol monoestearato, contendo Benznidazol, nas quais as formulações BL30 e BE20 foram consideradas as melhores, pois são as quais o fármaco encontra-se disperso nos monoglicerídeos. Para caracterizar as misturas utilizaram-se Calorimetria de Varredura Diferencial, Difração de raios-X, Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier, Microscopia Óptica de Luz Polarizada e Microscopia eletrônica de varredura, que evidenciaram maiores interações do fármaco com o GML, já que obteve-se mais quantidade de fármaco em uma menor temperatura de fusão. Em testes de solubilidade observa-se que as dispersões sólidas produzidas com GML apresentam um incremento na solubilidade em relação ao BNZ puro e macerado.

Palavras-chave: Benznidazol; Dispersões sólidas; Doença de Chagas; Monoglicerídeos; Solubilidade.

1. INTRODUÇÃO

A Doença de Chagas é causada pelo *Trypanosoma cruzi*, que é um protozoário flagelado, e é endêmica desde a região sul da Argentina e Chile até o norte do México. Desde a sua descoberta em 1909 pelo médico sanitariano Carlos Chagas, a doença foi identificada em outros países do mundo. Ela está distribuída por todo o território nacional, sendo que as regiões norte e nordeste são as de maior concentração de infectados. O contágio se dá pela via oral, através da ingestão de alimentos como açaí e caldo de cana contaminados com as fezes do parasita, assim como pela picada do inseto e o contato das fezes com regiões mucosas ou feridas. Também ocorre a contaminação por transfusão sanguínea, transplante de órgãos e de mãe para filho durante a gravidez.

Atualmente existem apenas dois fármacos usados no tratamento da Doença de Chagas, Nifurtimox e Benznidazol. Apesar de terem uma ótima taxa de cura na fase aguda da doença, a sua eficácia na fase crônica é reduzida, e somado a isso, há uma série de efeitos adversos causados durante o tratamento que levam à descontinuação do mesmo. O Benznidazol é, entre os dois, o mais tolerado pelos pacientes, sendo a primeira opção de tratamento.

Porém, cerca de 20% dos pacientes diagnosticados abandonam o tratamento com o Benznidazol, devido às várias reações adversas que este fármaco acarreta ao organismo, principalmente ao trato gastrointestinal, sendo a ingestão oral a causa da maioria deles. Entretanto, este tratamento é único, de uma doença incurável e sem perspectiva de criação de uma vacina. Portanto, por se tratar de um fármaco de baixa solubilidade - o que o torna um limitador chave para o desenvolvimento de uma formulação farmacêutica -, é interessante a busca por tecnologias, que possam ser aplicadas em rotas alternativas, para que auxiliem no aumento da solubilidade e da biodisponibilidade do fármaco na diminuição da dosagem e dos efeitos colaterais. Uma estratégia é o uso de dispersões sólidas como uma alternativa para o enriquecimento de matrizes poliméricas mucoadesivas para liberação do Benznidazol na mucosa bucal.

Deste modo, o presente trabalho visa estabelecer o preparo de novas metodologias para o desenvolvimento de dispersões sólidas baseadas em glicerol monolaurato e

glicerol monoestearato, contendo Benznidazol, para futura inserção em sistemas poliméricos mucoadesivos, viabilizando a liberação transbucal do fármaco, para melhora no tratamento de doenças negligenciadas, como a Doença de Chagas.

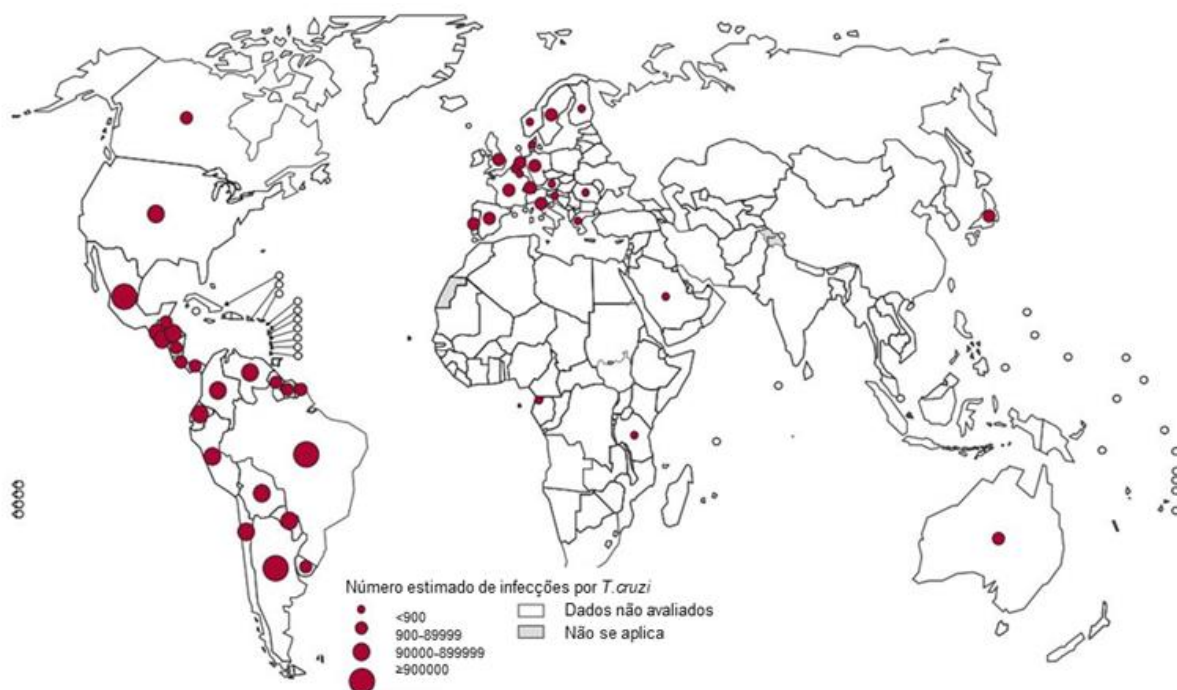
2. REVISÃO DA LITERATURA

A Doença de Chagas (DC) é uma doença tropical, de terceiro mundo, enquadrada na classe das doenças negligenciadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Em torno de 21 países da América Latina somam um montante entre 6 e 7 milhões de pessoas que estão infectadas com a doença, resultando uma média de 14.000 mortes anuais e estima-se que 70 milhões de pessoas no mundo estão suscetíveis à contração da doença.¹ No Brasil, os dados são imprecisos, mas o Ministério da Saúde estima algo entre 1,9 e 4,6 milhões de pessoas infectadas, sendo cerca de 6.000 pessoas que morrem anualmente devido às complicações crônicas da doença. DC mata, todos os anos, mais pessoas na região do que qualquer outra doença parasitária.^{2,3}

DC é causada pelo parasita *Trypanosoma Cruzi*, descrito pela primeira vez pelo médico sanitário Carlos Chagas. A transmissão para os humanos e mamíferos ocorre de forma vetorial - pelas fezes do inseto denominado barbeiro - e não vetorial - através de transfusões de sangue, vias congênitas e orais, transfusões de órgãos e contaminações laboratoriais.⁴ Após sua descoberta, a DC permaneceu por muitas décadas como uma doença exclusivamente rural, associada aos aspectos sociais de pobreza, na América Latina.⁵ Também é considerada “silenciosa” por atingir principalmente a população carente que vive em moradias precárias, sem voz política e sem acesso ao sistema básico de saúde.³

A área endêmica clássica da DC varia da região norte do México, para a parte sul da Argentina e Chile, compreendendo 21 países.⁵ Por muito tempo, a DC foi uma infecção restrita à América Latina, porém, nas últimas décadas, o problema se espalhou para outros continentes, devido à migração de indivíduos cronicamente infectados e assintomáticos. Há casos registrados em países da América do Norte (Canadá e Estados Unidos), Europa (principalmente Espanha) e Região do Pacífico Ocidental (Austrália, Nova Zelândia e Japão),^{3,6,7} como visto na **Figura 1**.

Figura 1. Distribuição da Doença de Chagas no mundo.



Fonte: Adaptado de Avaria, 2021.⁴²

Em países não endêmicos pode ocorrer a transmissão de *T. cruzi* de forma não vetorial, que é através de transfusões de sangue e de transplantes de órgãos de doadores infectados, bem como a transmissão congênita de mãe para filho durante a gravidez.⁸ Uma outra rota de transmissão é através da infecção oral, ocorrendo pelo consumo de alimentos contaminados, como açaí ou caldo de cana, nos quais os barbeiros, contendo o parasita, são acidentalmente triturados durante o preparo dos sucos.^{3,9}

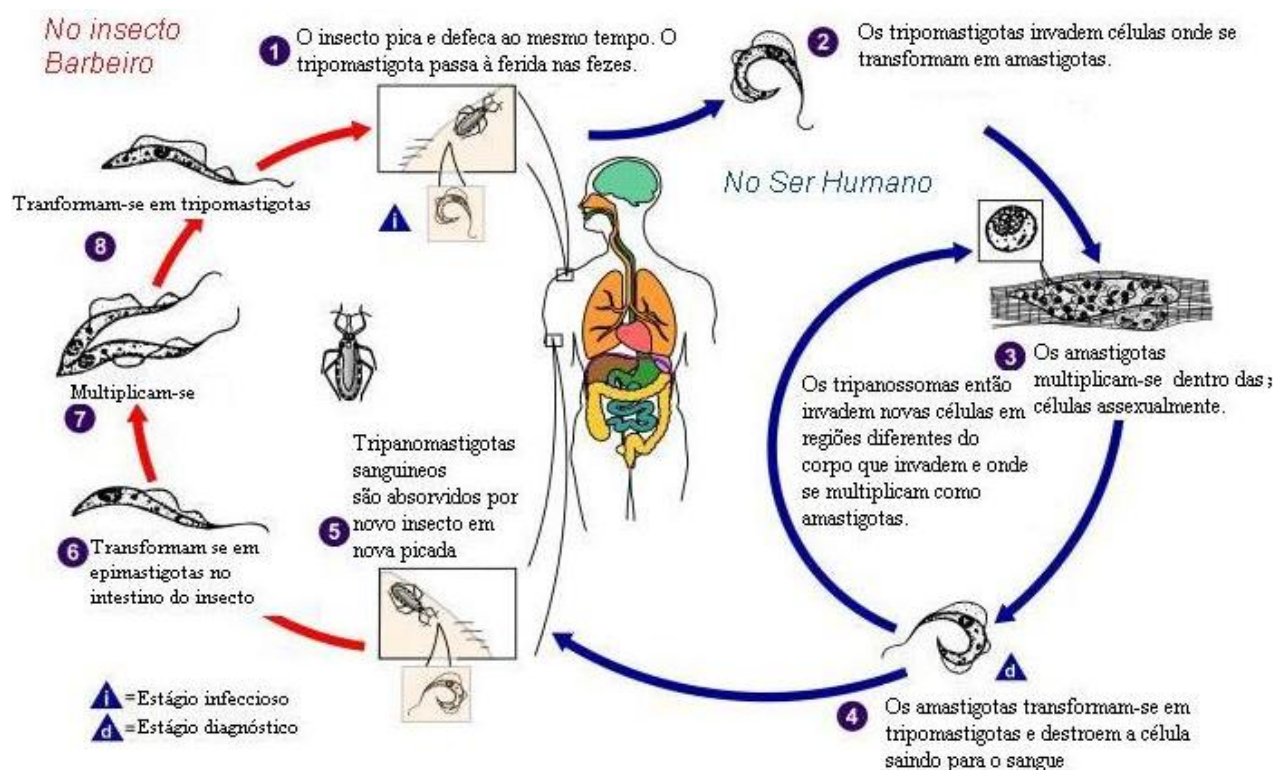
Nas últimas décadas, a transmissão oral ganhou relevância epidemiológica, e agora é considerada uma das rotas mais importantes de infecção no Brasil.^{10,11} Registros mostram que número crescente de casos tem sido associado a esta rota em todo o país desde 2005, embora a transmissão oral tenha sido relatada na região Amazônica desde a década de 1960. Historicamente, o maior número de casos associados à transmissão oral tem sido relatado na região Norte do Brasil.^{12,13} Os focos da DC mais agudos na região Amazônica foram atribuíveis à transmissão oral,^{11,14-17} enquanto a transmissão

vetorial foi a segunda principal rota de infecção, sendo predominantemente ligada à exposição ocupacional.

Vale ressaltar que o estado do Pará é responsável por 81% dos casos decorrentes de transmissão oral na região Norte, com maiores proporções de casos ocorridos entre agosto e fevereiro, após a safra de açaí e bacaba.¹² O consumo de alimentos contaminados por formas metacíclicas de *T. cruzi* tem incentivado a adoção de práticas sanitárias, como pasteurizar o suco de açaí (82,5 °C por 1 min) e frutas branqueantes (70 ± 1 °C para 10 s) de áreas endêmicas, o que foi demonstrado para eliminar eficientemente *T. cruzi* em matrizes alimentares.¹⁸

Já a transmissão de forma vetorial para humanos, como na **Figura 2**, acontece quando o inseto pica e defeca ao mesmo tempo, e ao coçar a ferida, facilita a entrada das fezes com os tripomastigotas no sistema sanguíneo, sendo essa primeira etapa chamada de estágio infeccioso. Após os tripomastigotas invadirem as células, eles se transformam em amastigotas. Os amastigotas multiplicam-se dentro das células assexualmente, transformando-se em tripomastigotas, destruindo as células e saindo para o sangue - essa etapa é chamada de estágio diagnóstico. Assim, eles invadem novas células em regiões diferentes do corpo e se multiplicam.

Figura 2. Ciclo de vida de *T. cruzi* mostrando os diferentes estágios de desenvolvimento do protozoário nos hospedeiros invertebrados (triatominas) e vertebrados (mamíferos).



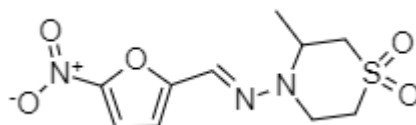
Fonte: Adaptado de De Souza, 2010.¹⁹

A DC tem três fases, a aguda, a crônica indeterminada e a crônica sintomática. A fase aguda ocorre durante as primeiras semanas ou meses desde a infecção, e nela pode não haver sintomas ou apenas uma febre moderada, fadiga, dor no corpo e edema nas pálpebras, além do inchaço no local da picada do barbeiro. Após a fase aguda, os pacientes entram em uma fase crônica indeterminada, que pode durar anos ou décadas. Os parasitas continuam presentes nos tecidos dos órgãos, apesar da total ausência de sintomas, portanto ainda pode-se haver a transmissão da doença. A reativação da DC a partir dessa forma assintomática pode ocorrer em pacientes com HIV ou aqueles que recebem medicamentos imunossupressores.²⁰ Já a fase crônica sintomática dura o resto da vida do paciente, podendo acarretar em cardiopatias ou danos ao sistema neurológico e digestório.²¹

Até o momento, existem apenas dois agentes terapêuticos aplicados ao tratamento da DC. Pois, embora tenha sido feito, nos últimos anos, algum progresso focado no processo de descoberta de fármacos, o custo significativo desses projetos e a falta de garantias de que eles podem dar algum retorno de seu investimento, desestimulou as empresas farmacêuticas de investir em programas de pesquisa e desenvolvimento contra a DC.⁹ No entanto, devido ao perfil toxicológico dos fármacos, que resultam em um elevado número de efeitos colaterais severos, é causado o abandono do tratamento de aproximadamente 20% dos pacientes.^{4,22}

Um dos fármacos é o Nifurtimox (**Figura 3**), fabricado como Lampit®. Está disponível apenas como comprimidos de 120 mg prescritos em doses de 8-10 mg/(dia kg) por 90-120 dias.²³ Sua produção foi interrompida em 1997, mas devido a alguns ensaios clínicos em combinação com outros compostos ativos, para tratar a doença do sono Africana, a produção foi reiniciada em 2000.²⁴

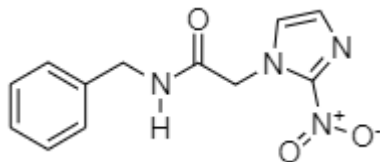
Figura 3. Estrutura molecular do Nifurtimox.



Fonte: Elaborado pela autora.

O outro é o Benznidazol (BNZ) (**Figura 4**), fabricado como Rochagan® (Brasil) ou Radanil® (Argentina). Está disponível como uma apresentação única de comprimidos de 100 mg e a dosagem usual é de 5-7 mg/(dia kg) durante 30-60 dias.²⁵ Além disso, um tratamento de profilaxia - como uma dose de 5 mg/kg três vezes por semana - é recomendado para pacientes crônicos com o vírus da imunodeficiência humana.²⁶

Figura 4. Estrutura molecular do Benznidazol.



Fonte: Elaborado pela autora.

Em um estudo de 2011²⁴ consta que ambos os agentes anti parasitas são usados na fase aguda com taxas de cura de até 80% após 2 meses de tratamento. Esses medicamentos são considerados menos eficazes na fase crônica, pois reduzem significativamente a parasitemia, mas não há melhora da cardiomiopatia.²⁷ Infelizmente, uma das principais desvantagens desses compostos ativos é a alta taxa de efeitos adversos. Os pacientes tratados com Nifurtimox podem sofrer de distúrbios digestivos graves, enquanto Benznidazol pode produzir dermatite com erupções cutâneas, mialgias, por polineuropatia, polineurite e distúrbios da medula óssea.²⁸ Porém, o Benznidazol é melhor tolerado do que o Nifurtimox e, portanto, é considerado o tratamento de primeira escolha.

O BNZ é utilizado no tratamento da DC desde meados dos anos 70. Atualmente, os únicos produtores de BNZ são o *Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco* (LAFEPE) e a indústria farmacêutica argentina ELEA.^{29,30} A estrutura do BNZ denominado pela IUPAC como 2-nitro-*N*-(fenilmetil)-1H-imidazol-1-acetamida, apresenta a forma molecular $C_{12}H_{12}N_4O_3$ e massa molecular $260,25 \text{ g mol}^{-1}$. Apresenta-se como um pó cristalino, levemente amarelado, inodoro, insípido e estável, com ponto de fusão entre 188 e 190 °C.³¹ Estudos reportam a sua baixa solubilidade em água ($0,4 \text{ mg mL}^{-1}$), moderada em acetona ($30,55 \text{ mg mL}^{-1}$) e acetonitrila ($24,74 \text{ mg mL}^{-1}$) e um aumento na solubilidade pela adição de propileno glicol e diversos surfactantes.^{31,32}

O coeficiente de partição ($\log P$) é um parâmetro frequentemente usado como medida quantitativa da lipofilicidade de compostos bioativos. O valor do $\log P$ de um composto pode ser interpretado como sendo a somatória de dois termos: um relacionado com volume (estéricos) e o outro com interações intermoleculares (tais como: interações

dipolo-dipolo, ligações de hidrogênio e efeito hidrofóbico). A investigação da natureza e grandeza destes termos pode contribuir para uma compreensão do comportamento farmacocinético de drogas candidatas a fármacos.³³ Sendo o valor de $\log P$ para o BNZ em torno de 0,7, dependendo do solvente. Embora pode-se considerar este valor relativamente alto, ainda não garante uma imediata permeação da molécula, que só ocorreria com substâncias com $\log P$ superiores a 1,7.³⁴ Portanto, sabendo que o tradicional sistema de classificação biofarmacêutica divide os fármacos em 4 categorias, segundo suas características de solubilidade e de permeabilidade³⁵ e considerando esta medida de permeabilidade e a reduzida solubilidade aquosa do BNZ, pode-se incluir este antichagásico no grupo IV da classificação biofarmacêutica, ou seja, um fármaco de baixa permeabilidade e de baixa solubilidade.³¹

Os efeitos colaterais mais reportados na literatura, pela utilização de BNZ no tratamento são: hipersensibilidade gástrica, dermatológica, neurológica e cardíaca.³⁶ Geralmente são identificadas por: anorexia, fraqueza, dores de cabeça, distúrbio do sono, dores estomacais, polineurite, depressão da medula óssea,³⁷ problemas cardíacos,³⁸ entre outros.^{22,39} A sua estrutura molecular apresenta um grupo nitro e um imidazol, que são os principais responsáveis pelo mecanismo de eliminação do parasita no organismo. De maneira análoga, são estes mesmos grupos que provocam e desencadeiam a diversa gama de efeitos colaterais nos pacientes em tratamento.⁴⁰

Estudos apontam que o mecanismo de ação do BNZ e análogos ocorre a partir da biorredução do grupo nitro, tanto pela via aeróbica, quanto pela anaeróbica. A formação de radicais livres leva a uma desestabilização celular, aumentando a permeabilidade do composto e em paralelo, um aumento no estresse oxidativo devido a elevada concentração de radicais livres. A formação dos radicais livres é importante para o combate do parasita, mas em contrapartida, são extremamente nocivos ao paciente infectado.⁴⁰ Portanto, dentre os efeitos adversos ao tratamento, faz-se necessário a realização de estudos em torno de novas formas e vias de administração deste fármaco.

A baixa solubilidade do BNZ em água é um limitador significativo tanto na adsorção e difusão do fármaco, como na busca de novas formulações farmacológicas. O aumento da solubilidade do BNZ resulta na alteração da farmacocinética, na qual pode

levar a uma maior dissolução e biodisponibilidade do fármaco no organismo, podendo potencializar sua efetividade e reduzir os efeitos colaterais.⁴¹ Neste sentido, a confecção de uma formulação farmacêutica de administração transbucal que se mostra interessante, devido a possibilidade de aumento da solubilidade do BNZ, é com a presença de dispersões sólidas, pois elimina o processo de dissolução do fármaco no sistema digestivo e, conseqüentemente, seus efeitos colaterais específicos desta região.⁴²

Experiências nos últimos 20 a 30 anos indicam que as dispersões sólidas são uma abordagem muito frutífera para melhorar a taxa de liberação, solubilidade e biodisponibilidade oral de fármacos pouco solúveis, sendo estas na qual o fármaco está disperso em uma matriz biologicamente inócua. Elas são obtidas através da dispersão de um componente farmacologicamente ativo (fármaco) em um carreador ou matriz no estado sólido. Este processo permite melhorias na solubilidade, estabilidade, taxa de dissolução, permeabilidade do fármaco através das membranas absortivas e a modulação da ação terapêutica.⁴³

As dispersões produzem uma significativa redução no tamanho da partícula para uma molécula quase uniforme. Como o carreador se dissolve, o fármaco estará no meio de dissolução na forma de partículas muito pequenas (micropartículas), propiciando uma dissolução e absorção mais rápida.^{44,45}

Os principais métodos de preparação de dispersões sólidas são: maceração, maceração com adição de solvente, evaporação do solvente e derretimento/resfriamento.⁴⁶

A maceração com almofariz e pistilo é um método mecânico amplamente utilizado para obter dispersões sólidas. A maceração com adição de solvente é outra técnica bem conhecida, na qual cada composto é macerado usando almofariz e pistilo e uma pequena quantidade de solvente orgânico é adicionado como catalisador e/ou lubrificante. A maceração com adição de solvente tem as vantagens de tempo reduzido e reação atômica eficiente, sobre a maceração simples.^{46,47}

Embora comum, o método de evaporação do solvente tem algumas desvantagens, como o uso de solventes orgânicos e a quantidade de solvente necessária para realizar tal processo em uma escala comercial representa um alto custo

de produção e é demorado. Também, tanto o tipo e a taxa de evaporação têm implicações sobre a microestrutura do sólido resultante, que pode, portanto, alterar o desempenho do produto.⁴⁶ Por último, o método de derretimento/resfriamento consiste no derretimento simultâneo de um fármaco e de um portador, seguido de resfriamento do líquido homogêneo resultante até a solidificação. A aplicação desta técnica requer a mistura dos dois componentes e o aquecimento acima da temperatura de fusão do componente de fusão mais alto. A temperatura em que o início da degradação térmica ocorre em relação à temperatura de fusão deve ser levado em conta, especialmente no caso de fármacos e portadores termicamente lábeis.^{46,48}

Portanto, as técnicas mais utilizadas para preparar dispersões sólidas são clássicas e simples. Mais uma vantagem das dispersões sólidas sobre outras abordagens é que o aumento da solubilidade e a taxa de liberação que pode ser alcançada são muitas vezes muito maiores (até em ordens de magnitude). Isso poderia potencialmente levar a um aumento na biodisponibilidade, sendo assim, a dose administrada poderia ser reduzida.⁴³

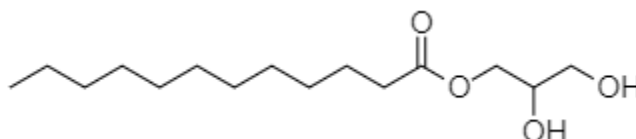
Desse modo, é interessante o uso de dispersões sólidas para incrementar a liberação oral, já que esta é a rota de administração de medicamentos mais aceita entre as várias vias de entrega, devido às suas vantagens: fácil autoadministração, alta conformidade do paciente e viabilidade para pacientes ambulatoriais.⁴⁹ Porém, as barreiras químicas e enzimáticas no trato gastrointestinal (TGI) dificultam a eficácia da liberação de medicamentos orais. Outra desvantagem desta via de administração são os efeitos colaterais adversos ao trato digestivo, de fármacos nocivos para este sistema, como o BNZ, por exemplo.

Assim, o uso de dispersões sólidas para administração oral do BZN e outros fármacos é uma abordagem promissora para melhorar e controlar a liberação de medicamentos. Pois o estado sólido da dispersão fornece proteção a fármacos quimicamente lábeis e um prolongamento da liberação de medicamentos. Portanto, podem aumentar a taxa de dissolução de moléculas insolúveis no TGI e a sua baixa estabilidade pode ser superada encapsulando os fármacos, tornando um impacto protetor para ataques químicos e enzimáticos no trato gastrointestinal.⁵⁰

Devido às dificuldades advindas da baixa solubilidade do Benznidazol, seus efeitos colaterais e suas principais características físico-químicas, é de interesse a formulação de dispersões sólidas contendo o mesmo. Esta formulação tem como potencial favorecer a mudança de cristalinidade do fármaco e possibilitar uma melhoria da dissolução do BNZ em água, permitindo assim sua incorporação em polímeros solúveis em água. Para tal formulação será utilizado o glicerol monolaurato (GML) e o glicerol monoestearato (GMS), sendo utilizados como possíveis promotores de solubilidade e de permeabilidade no preparo das dispersões.

O glicerol monolaurato (GML) (**Figura 5**) é interessante para incrementar tanto a solubilização do BNZ, quanto a sua permeabilidade na mucosa bucal, pois há diversos estudos reportados na literatura frente ao seu vasto potencial contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, fungos e vírus.^{52,53} E outra característica importante é a sua atividade em membrana, o que leva a um aumento na permeabilidade.⁵⁴

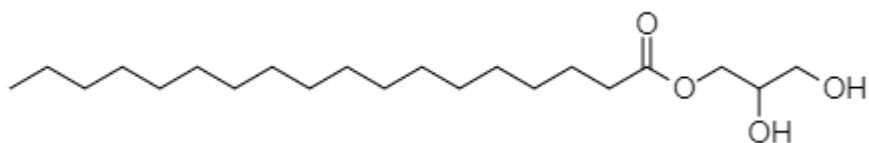
Figura 5. Estrutura molecular do glicerol monolaurato.



Fonte: Elaborado pela autora.

A utilização do glicerol monoestearato como lipídio pode promover ao fármaco menor toxicidade, maior área superficial, liberação controlada e aumento na solubilidade e biocompatibilidade.⁵¹ Também, tanto a cauda hidrofóbica do GMS (**Figura 6**) poderá interagir com o fármaco - já que este possui características hidrofóbicas -, como a cabeça hidrofílica, devido às ligações de hidrogênio.

Figura 6. Estrutura molecular do glicerol monoestearato.



Fonte: Elaborado pela autora.

Assim, a principal proposta deste projeto é a junção das propriedades do Benznidazol, do glicerol monolaurato e do glicerol monoestearato, no preparo de dispersões sólidas, com o intuito de melhorar as propriedades de solubilidade do BNZ. Para posteriormente avaliar as características da adição destas dispersões em matrizes poliméricas, a fim de obter membranas mucoadesivas, que possibilitem a liberação do BNZ por via transbucal.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral:

O objetivo do presente trabalho consiste na formulação de dispersões sólidas baseadas em GML e GMS contendo Benznidazol, com perspectiva do aumento de solubilidade do fármaco e viabilização de um futuro sistema passível de incorporação em uma matriz polimérica mucoadesiva, para liberação transbucal, no tratamento da Doença de Chagas.

3.2. Objetivos Específicos:

- Obter as melhores condições de interação do BNZ com GML e GMS (MGs) utilizando Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC);
- Caracterizar o estado físico das dispersões sólidas desenvolvidas por Difração de raios-X (DRX);
- Estudar a interação entre o BNZ e os MGs por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e DSC;
- Avaliar a cristalinidade do BNZ e dos MGs nas dispersões sólidas através de análises de Microscopia óptica de luz polarizada (PLOM) e Microscopia eletrônica de varredura (SEM);
- Avaliar a eficiência de encapsulação das dispersões sólidas carregadas com BNZ por UV-vis;
- Avaliar a solubilidade do BNZ livre e presente nas dispersões sólidas *in vitro* em tampão de saliva simulada (pH 6,8).

4. METODOLOGIA

4.1. Materiais:

Foram utilizados Benznidazol 99%, fornecido pelo laboratório LAFEPE - Brasil, glicerol monolaurato ($C_{11}H_{23}OCOCH_2CH(OH)CH_2OH$) purificado (Sigma Aldrich) e glicerol monoestearato ($C_{17}H_{35}OCOCH_2CH(OH)CH_2OH$) purificado (Alfa Aesar). Os demais reagentes e solventes foram utilizados com alto grau de pureza.

4.2. Métodos:

4.2.1. Metodologia de preparo das formulações entre GML e GMS com BNZ

Com o intuito de estudar a interação e a solubilidade do fármaco com o glicerol monolaurato e com o glicerol monoestearato, foi pesado quantidade de massa em mg de modo que a soma do fármaco com o monoglicerídeo fosse de 100 mg (**Tabela 1**).

Tabela 1. Quantidade em massa e siglas das amostras de BNZ com os MGs.

BNZ (mg)	GML (mg)	Sigla	GMS (mg)	Sigla
5	95	BL05	95	BE05
10	90	BL10	90	BE10
20	80	BL20	80	BE20
30	70	BL30	70	BE30
40	60	BL40	60	BE40
50	50	BL50	50	BE50
60	40	BL60	40	BE60
70	30	BL70	30	BE70
80	20	BL80	20	BE80
90	10	BL90	10	BE90

Conforme a **Tabela 1**, a primeira proporção foi de 5 mg de BNZ e 95 mg do monoglicerídeo, depois 10 mg de BNZ e 90 mg do monoglicerídeo e assim sucessivamente, até 90 mg de BNZ e 10 mg de monoglicerídeo. Então foi macerado primeiro o BNZ de menor massa com o GML, por 5 minutos, em gral de ágata, armazenando o pó em um Eppendorf. Repetiu-se o procedimento em ordem crescente de quantidade de BNZ, para todas as frações de BNZ com GML e depois iniciou o mesmo procedimento com o GMS. Após a obtenção de todas as misturas, variando as proporções BNZ:MG, as amostras foram analisadas.

4.3. Caracterizações dos sistemas obtidos

4.3.1. Calorimetria de varredura diferencial (DSC)

As curvas de calorimetria diferencial foram obtidas utilizando um calorímetro de varredura diferencial modelo DSC-50 marca Shimadzu, disponível na central de análises do Departamento de Química da UFSC. Os experimentos foram realizados em atmosfera de nitrogênio 50 mL min^{-1} e célula de alumínio, nas condições de temperatura entre -5 a $250 \text{ }^\circ\text{C}$, com uma taxa de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$. A partir das curvas de DSC foi possível obter as temperaturas e entalpias de fusão dos componentes das dispersões. Também foi realizado *quenching cooling* (resfriamento rápido) com algumas amostras, a fim de evidenciar mais de um ponto de fusão presente na própria amostra.

4.3.2. Difração de raios-X (DRX)

Os difratogramas foram obtidos utilizando-se equipamento θ - θ D2 Phaser (Bruker), com uma radiação de cobre $K\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), operando em uma corrente de 10 mA e voltagem de 30 kV, equipado com um detector de cintilação unidimensional LINXEYE. As medidas foram realizadas à temperatura ambiente, em porta-amostras com cavidade, através de varredura angular a 2θ na faixa de 5° a 40° , com *step* angular de $0,091^\circ \text{ s}^{-1}$. A fim de analisar a cristalinidade dos componentes como recebidos e das misturas.

4.3.3. Espectrofotometria no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As amostras obtidas foram maceradas em gral de ágata com KBr grau espectroscópico para obtenção de pastilhas, com proporção em massa de aproximadamente 0,5% de amostra por pastilha. Imediatamente após a produção da pastilha sob lâmpada incandescente, os espectros foram adquiridos no espectrofotômetro modelo IR-Prestige 21 marca Shimadzu, em modo absorbância, na faixa de 700 a 4000 cm^{-1} , com 25 aquisições e resolução espectral de 2 cm^{-1} . As análises de infravermelho foram a fim de caracterizar a presença de interações entre GML e BNZ e GMS e BNZ.

4.3.4. Microscopia óptica de luz polarizada (PLOM)

A microscopia óptica de luz polarizada é um ensaio para rápida observação de domínios cristalinos nos materiais produzidos. As diferenças dos domínios cristalinos são observadas a partir da presença ou ausência de partículas luminosas causadas por birrefringência (diferentes índices de refração para diferentes direções de propagação da luz). Esse ensaio foi realizado depositando partes das formulações no suporte de um microscópio óptico (Motic Microscopes modelo) contendo uma lente polarizadora acoplada a uma câmera e utilizado o *hot stage*, para aquecer as misturas acima dos seus pontos de fusão, sendo possível observar a cristalinidade dos componentes.

4.3.5. Microscopia eletrônica de varredura (SEM)

Foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura, com emissão de campo JEOL JSM – 6701F (SEM) e aplicando uma voltagem de aceleração de 10 kV para verificar a morfologia dos componentes e a presença de BNZ na forma cristalina. Devido à baixa condutividade elétrica das amostras, estas foram depositadas em *stubs* e recobertas com uma camada delgada de ouro utilizando um aparelho metalizador e analisadas com várias magnificações.

4.3.6. Espectrofotometria de UV-vis

Os espectros de UV-vis foram obtidos no espectrofotômetro modelo Nova 1800UV, disponível no Polimat. Em um comprimento de onda de 324 nm e em solução 60/40 de acetonitrila e tampão de saliva simulada em pH 6,8, respectivamente, para a quantificação do BNZ na solubilidade dos componentes no tampão de saliva simulada. Para as seguintes concentrações de BNZ: 0,0073, 0,014, 0,021, 0,027 e 0,034 mg mL⁻¹, obteve-se a respectiva curva de calibração: $y = -0,0112 + 28,245x$ com $R^2 = 0,9965$.

4.3.7. Solubilidade do BNZ e das melhores misturas em solução tampão de saliva simulada

Foram adicionadas quantidades de fármaco, em excesso (250 mg), como recebido, macerado e para ambas as misturas, BL30 e BE20, respeitando a proporção em massa para os gliceróis, e adicionados 10 mL de solução tampão de saliva simulada em pH 6,8, preparada com as respectivas concentrações de cada sal: 125,6 mg/L de NaCl, 963,9 mg/L de KCl, 227,8 mg/L de CaCl₂, 178 mg/L de NH₄Cl, 189,2 mg/L de KSCN, 336,5 mg/L de Na₂SO₄, 200 mg/L de Ureia (CH₄N₂O), 630,8 mg/L de NaHCO₃ e 654,5 mg/L de KH₂PO₄.⁵⁵ Os frascos foram agitados a 37 °C (240 rpm) por 48 h em uma incubadora de *shaker* orbital Novatecnica NT715 (Piracicaba, SP). As alíquotas de cada frasco foram filtradas com membranas de 0,45 µm, diluídas e analisadas utilizando o método de UV-vis descrito anteriormente.

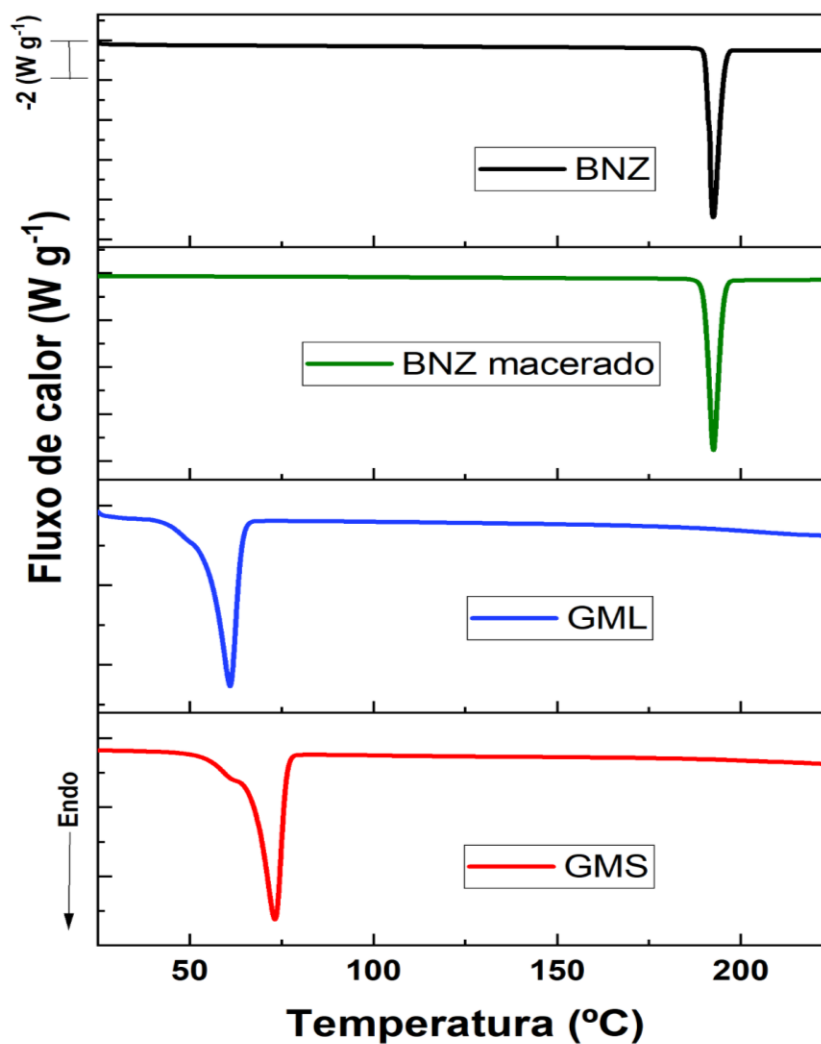
4.4. Segurança no laboratório e tratamento de resíduos

Por se tratar de uma metodologia de preparo simples, onde não houve o uso de solventes, os reagentes utilizados foram descartados nos resíduos sólidos. Os demais reagentes, utensílios e equipamentos utilizados durante o processo não ofereceram nenhum risco significativo, já que foi realizado o manuseio adequado e o uso de EPIs.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo da interação do BNZ com os monoglicerídeos (MGs) em estado sólido foi inicialmente caracterizado por Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC). Esta análise foi conduzida para avaliar as transições térmicas dos componentes como recebidos e também do BNZ macerado, para analisar se há alguma mudança no fármaco, devido ao método utilizado para obter as misturas (**Figura 7**).

Figura 7. Curvas de DSC das amostras como recebidas, de BNZ, BNZ macerado, GML e GMS, realizadas a uma taxa de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ na faixa de temperatura de -5 a $250\text{ }^{\circ}\text{C}$.

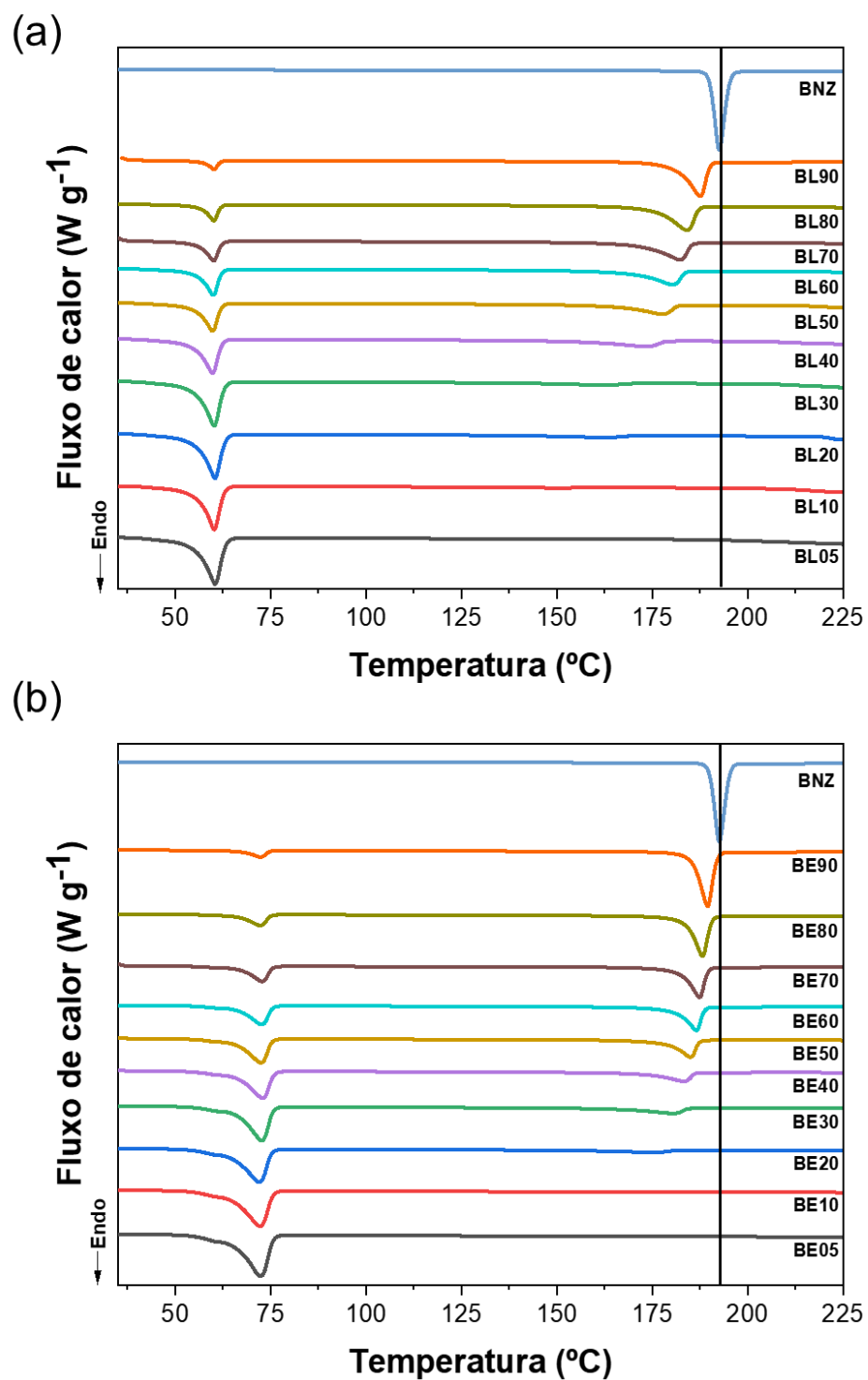


Fonte: Elaborado pela autora.

A partir da **Figura 7**, nota-se que a maceração do BNZ não altera o ponto de fusão (BNZ = 192 °C e BNZ macerado = 192 °C) nem o perfil da curva calorimétrica. Desta forma, verifica-se que apenas a maceração não traz mudanças na estrutura cristalina do BNZ e assim, observa-se a importância da adição de um segundo componente capaz de promover tais alterações, sendo estes, os MGs. Observam-se na **Figura 7**, os pontos de fusão em 58 °C para o GML e em 68 °C para o GMS. Os ombros observados nos picos de ambos os MGs indicam a presença de mais um estado cristalino em cada monoglicerídeo. Estes dados corroboram com os apresentados posteriormente, após a realização do DRX, PLOM e do *quenching cooling* no DSC. Apesar da carência de dados de termogravimetria, é possível indicar que a degradação dos MGs ocorre em elevadas temperaturas, tendo seu início aproximadamente após 150 °C, a partir da qual inicia-se um decaimento constante da curva calorimétrica. Este fenômeno indica a redução da massa no interior da panelinha.

A **Figura 8** apresenta o compilado de todas as curvas de DSC realizadas para as misturas no estado sólido (dispersões sólidas) obtidas pela maceração entre BNZ e GML (BL) (a) e BNZ e GMS (BE) (b) em função do aumento da proporção mássica do BNZ. Esta abordagem foi realizada a fim de encontrar uma proporção ótima entre os componentes e verificar a máxima concentração de BNZ que pode ser efetivamente solubilizada na amostra quando se utilizam os MGs. Em ambas as misturas (BL e BE) é possível verificar a diminuição da temperatura de fusão do BNZ com o aumento da presença do MG. Este comportamento indica interação entre os dois compostos através de interações fracas de van der Waals, em arranjos organizados não aleatórios com maior entropia, também devido ao efeito hidrofóbico e às ligações de hidrogênio, podendo interferir na estrutura cristalina principal do BNZ.⁵⁶

Figura 8. Curvas de DSC dos MGs (a) BL e (b) BE com o aumento da quantidade de BNZ (%m/m) na dispersão sólida.



Fonte: Elaborado pela autora.

Ao analisar a **Figura 8**, percebe-se que houve interação entre os dois componentes da mistura, apesar do método de maceração ser de baixa energia e simples. Em uma mistura física dois eventos de fusão são observados, nas mesmas temperaturas de fusão dos componentes isolados, indicando assim a ausência de qualquer interação entre eles.⁴⁶ Não sendo o que se observa na figura, já que os pontos de fusão das misturas não são os mesmos dos componentes como recebidos, portanto, houve uma interação maior do que apenas uma mistura física. Percebe-se também que sempre há um excesso de monoglicerídeo, mesmo este estando em menor quantidade, indicando que ele não solubiliza totalmente no BNZ.

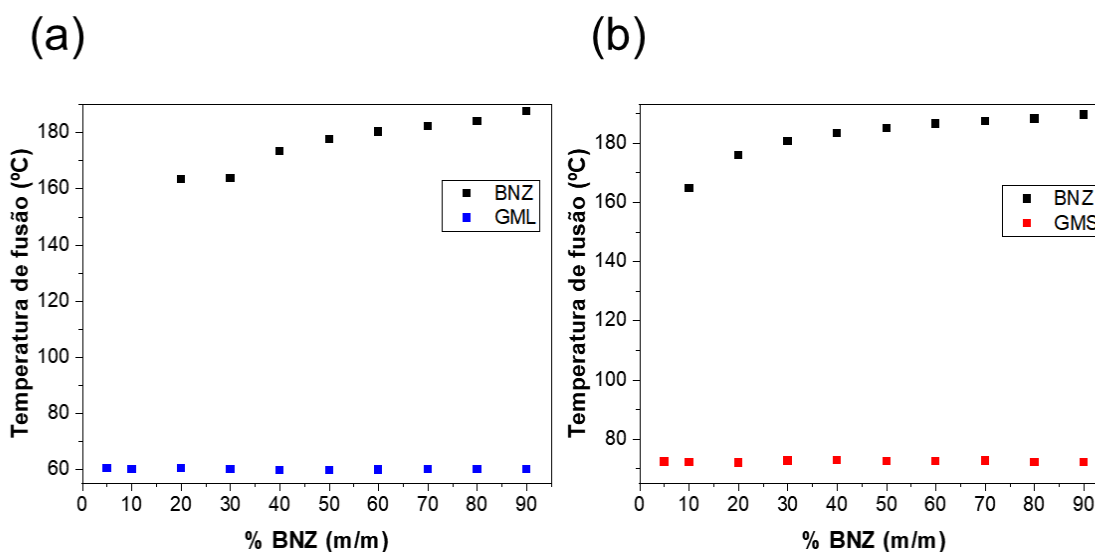
Assim, a partir dos dados da **Figura 8** evidencia-se que a proporção mássica de melhor interação é de 70/30 GML/BNZ (BL30) para quando utilizamos o GML e de 80/20 GMS/BNZ (BE20) para quando utilizamos o GMS. Estas são as proporções limites onde observa-se uma menor presença de um estado cristalino, juntamente da maior proporção de fármaco para cada mistura. Após essas proporções, identifica-se outro ponto de fusão nas misturas, variando de 175 a 190 °C, aproximadamente, conforme o aumento da quantidade de fármaco. Devido ao aumento de massa de BNZ nas misturas, este começa a ficar menos solúvel nos MGs e tende a se organizar de forma cristalina. Sendo assim, quanto mais BNZ presente na mistura, mais aproxima-se do ponto de fusão do fármaco como recebido. Porém, percebe-se que para a última mistura com GML (BL 90) o ponto de fusão é menor do que para a mistura com GMS (BE90), comparado ao BNZ como recebido. Evidenciando que o BNZ apresenta uma maior interação com o GML, já que a proporção de fármaco na melhor mistura é maior e os pontos de fusão são menores, quando comparados ao GMS.

Essa maior interação pode estar associada ao fato de o GML ter uma cadeia carbônica menor. Já que quando se compara os dois MGs, nota-se apenas uma variação estrutural de 6 carbonos. Isto promove ao GML características de sólido gorduroso com ponto de fusão de 58 °C e de sólido seboso com ponto de fusão de 68 °C para o GMS.⁵⁷ Contudo, apesar de ambos serem insolúveis em água e parcialmente solúveis em etanol, as características citadas tornam o GML um sólido mais maleável, indicando uma maior facilidade de manuseio na forma sólida.

Outro fator a ser evidenciado é de que quanto maior a cadeia hidrofóbica de uma molécula anfifílica, maior será o seu caráter hidrofóbico e conseqüentemente maior será a energia necessária para dissociar ou dissolver, a fim de promover a interação com o meio. O que resulta, para o GMS, em uma maior temperatura de fusão e em uma menor interação com o BNZ.

Para comprovar essa maior interação do BNZ com o GML, também foi realizado o plote da variação da temperatura de fusão do fármaco e dos MGs *versus* a proporção mássica de BNZ (**Figura 9**). Percebe-se a formação de um novo estado cristalino do BNZ a uma temperatura de fusão em aproximadamente 162 °C. Portanto, nota-se que a mistura com o GML se mostra mais atraente, pois há a formação deste estado cristalino com maior quantidade de fármaco, comparado ao GMS, na mesma temperatura. Verifica-se então que a inserção do GML melhora as características do fármaco, fornecendo um menor ponto de fusão.

Figura 9. Variação da temperatura de fusão do BNZ e dos MGs *versus* a proporção mássica de BNZ nos sistemas BL (a) e BE (b).



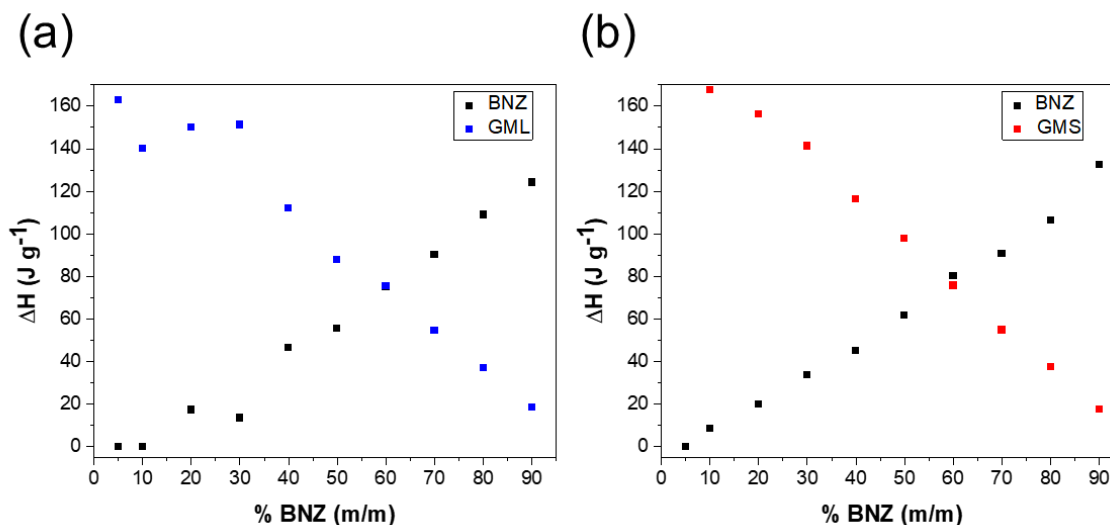
Fonte: Elaborado pela autora.

Percebe-se que não constam os dados de 5 e 10 mg de BNZ para o sistema BL, pois nessas quantidades de fármaco não há ponto de fusão evidente, sendo assim, não sendo possível obter as temperaturas de fusão. O mesmo acontece para o sistema BE, porém apenas na proporção de 5 mg de BNZ.

A partir das análises de DSC, é possível conhecer as entalpias de fusão, obtidas a partir das áreas dos picos das temperaturas de fusão do BNZ e dos MGs. Considerando que as curvas dos componentes como recebidos exibem apenas um evento endotérmico estreito, os $\Delta_{fus}H$ são iguais a 154, 144, 182 e 226 J g⁻¹ para o BNZ, BNZ macerado, GML e GMS respectivamente.

Já para as misturas, a fim de observar a variação da entalpia de fusão com a % m/m de BNZ, construiu-se o diagrama de triângulo de Tamman (**Figura 10**). Portanto, a partir dos valores da entalpia de fusão (ΔH) dos monoglicerídeos, nota-se que estes tendem a zero para a composição correspondente à mistura com mais fármaco (BL90 e BE90). Sendo assim, os valores de ΔH de fusão dos MGs diminui linearmente com o aumento da quantidade de BNZ no sistema. Sabe-se também que as misturas com menos BNZ fundem mais rápido, devido a menor presença de BNZ cristalino e maior quantidade de MGs para solubilizar o mesmo.

Figura 10. Diagrama de triângulo de Tamman mostrando a entalpia de fusão do GML (quadrados azuis), GMS (quadrados vermelhos) e do BNZ (quadrados pretos) *versus* a porcentagem em massa do BNZ incorporado em (a) BL e (b) BE.



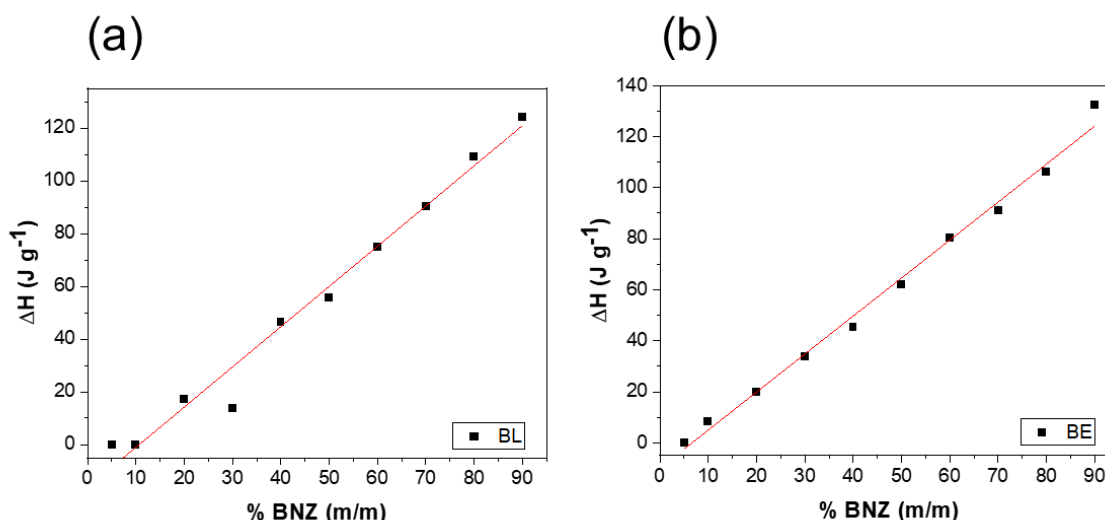
Fonte: Elaborado pela autora.

Sabe-se que o diagrama de triângulo de Tamman é geralmente utilizado para caracterizar misturas eutéticas. Porém neste caso, apesar dos componentes se cruzarem na proporção de 60% (m/m) de BNZ - evidenciando que eles necessitam da mesma energia para fundir -, estes não possuem a mesma temperatura de fusão neste ponto, como visto na **Figura 9**. Portanto, não se observa a caracterização de uma mistura eutética, já que esta só seria evidenciada com a mesma energia e temperatura de fusão pelos componentes.

Contudo, utiliza-se do diagrama para obter a porcentagem de solubilidade do BNZ nos sistemas BL e BE, plotando os dados de entalpia de fusão apenas do BNZ em cada sistema com as respectivas porcentagens em massa (**Figura 11**). Desta forma, a solubilidade máxima do BNZ é determinada pela extrapolação da entalpia de fusão deste componente em função da sua composição mássica.⁵⁸ Conforme a **Figura 11**, obteve-se uma equação da reta de $y = -16,26293 + 1,52488x$ para o BL e de $y = -9,85776 + 1,48912x$ para o BE. Assim, ao igualar o y a zero e isolar o x, obtém-se a solubilidade do

BNZ em estado sólido nos MGs, sendo de 10,67 e 6,62% m/m em BL e BE, respectivamente, evidenciando que a solubilidade do BNZ em GML é de fato maior.

Figura 11. Porcentagem de solubilidade do BNZ nos MGs, (a) BL, (b) BE.



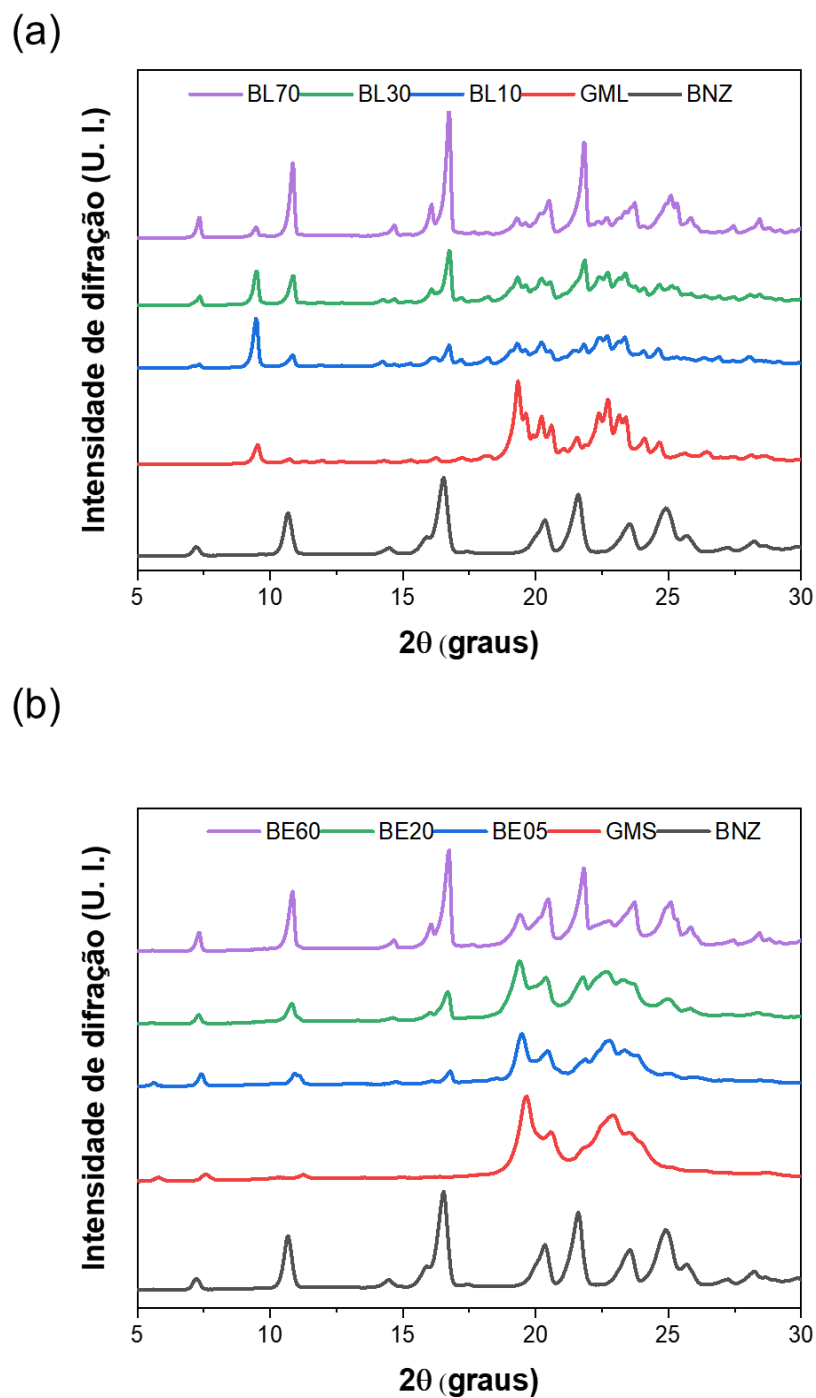
Fonte: Elaborado pela autora.

Apesar da extrapolação da reta ter indicado as misturas BL10 e BE05 como solúveis, considerou-se utilizar as formulações BL30 e BE20, já que é o limite onde se evidencia a formação de um evento de fusão em uma temperatura reduzida na qual a proporção mássica do fármaco é maior. Estas amostras serão utilizadas para as análises subsequentes, mas para evidenciar algumas características importantes do sistema, formulações com menor e maior quantidade de BNZ também serão analisadas, a fim de comparação.

As análises de Difração de raios-X foram realizadas com intuito de analisar a cristalinidade dos componentes como recebidos e das misturas, como destacadas anteriormente. De acordo com a **Figura 12**, observa-se que o BNZ apresenta picos cristalinos característicos, confirmando a forma cristalina do fármaco, com cristais bem

definidos, resultados também confirmados através das imagens de SEM (**Figura 15**). Os picos de difração mais intensos do BNZ aparecem em torno de 11° , 17° e 22° .⁵⁹

Figura 12. Difratoograma de difração de raios-X de BNZ, GML, GMS e das misturas sólidas.



Fonte: Elaborado pela autora.

Observa-se a partir da **Figura 12**, para os MGs, as duas regiões cristalinas, corroborando com os dados da **Figura 14**. Apesar de não conseguir diferenciar qual delas é, os picos de difração mais intensos aparecem em torno de $9,5^\circ$, 19° e 23° para o GML.⁶⁰ Já para o GMS, tem-se sinais não tão intensos em $5,8^\circ$, $7,6^\circ$ e 11° e mais intensos em $19,7^\circ$ e 23° . Não é possível identificar qual fase está presente, mas sabe-se que há a mistura da α e β .⁶¹

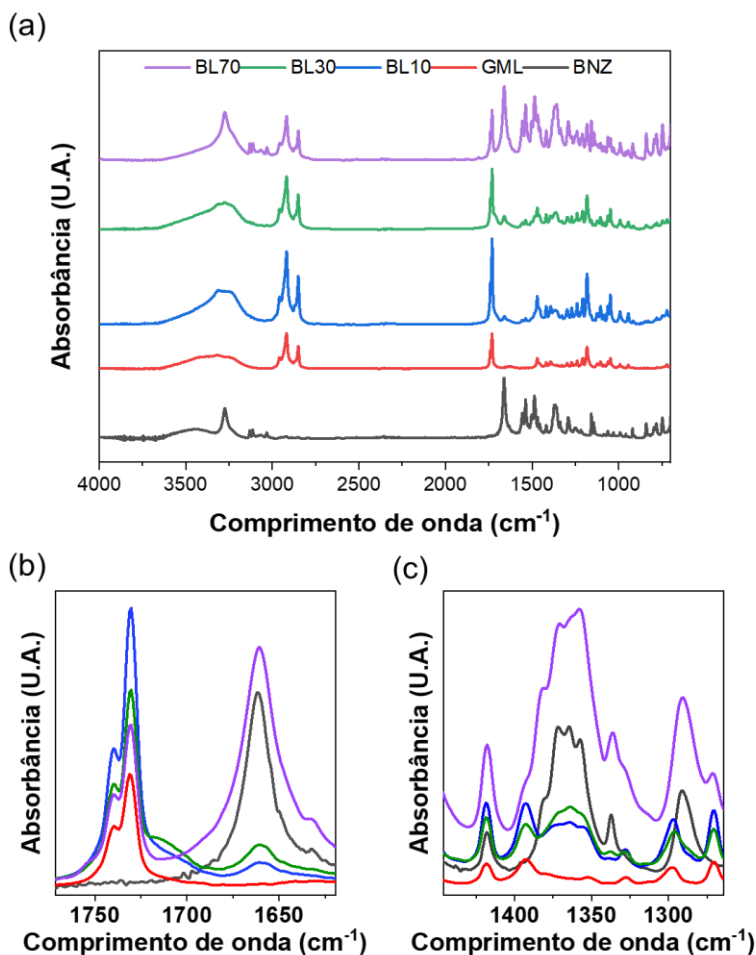
Para as misturas, na **Figura 12** (a), evidencia-se que houve uma boa compatibilização para as dispersões contendo menor quantidade de BNZ, já que a intensidade dos picos característicos tanto do fármaco como do GML estão bem menos intensos, indicando uma boa interação. Contudo, a intensidade do pico de $9,5^\circ$ para o BL10 e BL30 indicam a existência de uma pequena porção da estrutura cristalina do GML.⁶⁰ Já para a mistura com maior quantidade de BNZ, observa-se o surgimento de regiões cristalinas (presença dos picos) característicos do fármaco. Este fato deve-se ao que já foi exposto anteriormente, onde ao se passar do limite de solubilidade do BNZ nos MGs, este se mantém em parte na mistura de forma cristalina. Já para a **Figura 12** (b), nota-se que para as dispersões contendo menor quantidade de BNZ, as regiões são similares às do GMS como recebido e a com maior quantidade de BNZ, se assemelha ao fármaco como recebido. O que se evidencia novamente a melhor interação do BNZ com o GML, do que com o GMS.

Cabe ressaltar que para as amostras com menor quantidade de fármaco, as regiões cristalinas que são observadas podem também ser advindas da espera da análise de DRX. O BNZ é um fármaco que apresenta difícil solubilização e ao esperar alguns dias para que o DRX fosse realizado, este pode se orientar dentro das amostras e se apresentar em partes cristalino. Para estudos subsequentes, é válido aumentar a energia de mistura por um método que favoreça melhor a interação, como moinho de bolas e/ou os já citados anteriormente: maceração com adição de solvente, evaporação do solvente e derretimento/resfriamento⁴⁶ e caracterizar logo em seguida.

Análises de infravermelho foram realizadas para averiguar a presença da interação intramolecular entre os grupos do fármaco com os dos MGs. Analisando as

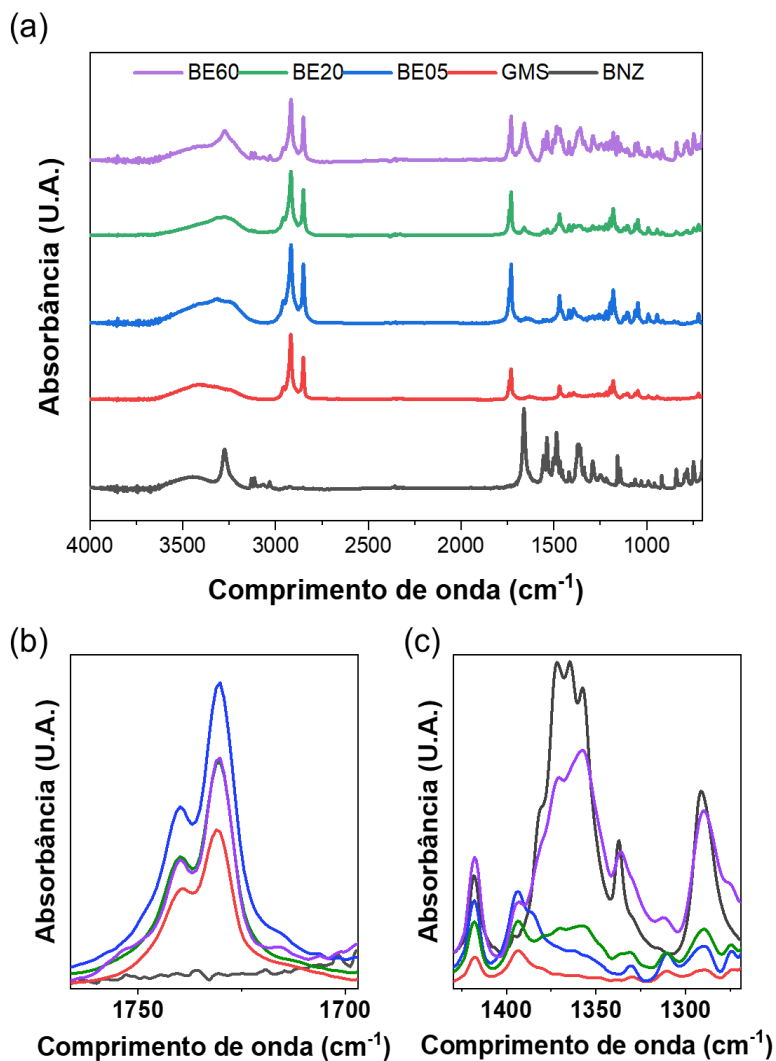
Figuras 13 e 14, para o BNZ, as bandas de maior relevância são: banda de absorção em 3274 cm^{-1} referente às vibrações de alongamento da ligação N-H de amida secundária. As bandas de absorção na faixa de $3130, 3112, 3067$ e 3032 cm^{-1} são devido à deformação axial da ligação C-H de grupos aromáticos. O estiramento característico da absorção da carbonila (C=O) presente na amida secundária foi observado em 1660 cm^{-1} . Os estiramentos da ligação N-O de compostos covalentes, presentes no grupo NO_2 , foram identificados na faixa de 1660 a 1500 cm^{-1} . Também o alongamento da ligação C-C de anel aromático em $1500, 1486$ e 1418 cm^{-1} . O alongamento da ligação C-N em 1364 e 1336 cm^{-1} é referente às aminas aromáticas.⁶²⁻⁶⁴ As ligações C-H de anel aromático também aparecem entre 900 e 675 cm^{-1} .⁶⁵

Figura 13. Espectros de FTIR obtidos via KBr para (a) BNZ, GML e misturas sólidas, (b) ampliação da região de 1750 a 1650 cm^{-1} e (c) ampliação da região de 1400 a 1300 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 14. Espectros de FTIR obtidos via KBr para (a) BNZ, GMS e misturas sólidas, (b) ampliação da região de 1750 a 1700 cm^{-1} e (c) ampliação da região de 1400 a 1300 cm^{-1} .



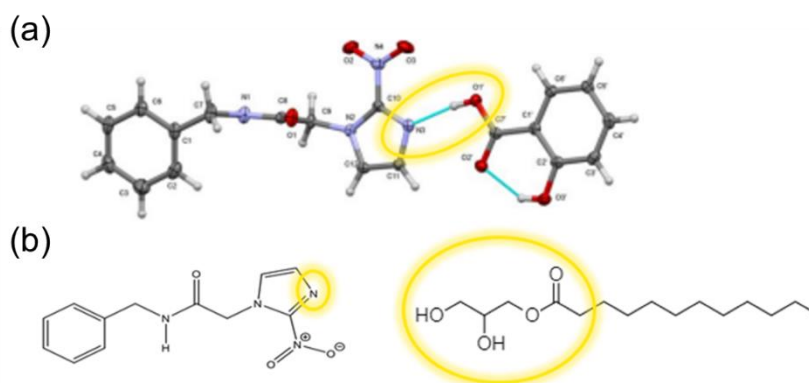
Fonte: Elaborado pela autora.

Para os monoglicerídeos, em ambas as figuras, nota-se que os espectros são similares, diferenciando apenas na banda de OH, que no GML é em 3320 cm^{-1} e no GMS é em 3421 cm^{-1} . Uma possível razão para essa diferença é de que como o comprimento de onda está em cm^{-1} , este é diretamente proporcional à energia. Sendo assim, como explicado anteriormente, o GMS possui uma maior interação com ele mesmo, tendo os seus movimentos vibracionais mais limitados, assim requer de mais energia, e conseqüentemente, possui um maior comprimento de onda. Diferente do GML, que interage mais com os outros componentes do que com ele mesmo, tendo um menor

comprimento de onda. O alongamento C-H de cadeias carbônicas alifáticas é em 2960-2850 cm^{-1} . Já a banda característica referente ao éster é em 1730 cm^{-1} e o alongamento C-O em álcoois é em 1260-1000 cm^{-1} .^{65,66}

Para as misturas, nota-se que no sistema BL, para as de menor quantidade de fármaco, há a formação de um ombro na região de 1700 cm^{-1} (**Figura 13** (b)), referente ao deslocamento do éster dos MGs, sendo mais intenso na mistura BL30. Na região de 1350 cm^{-1} percebe-se que houve mudança no formato da banda para as misturas BL10 e BL30 (**Figura 13** (c)), sendo essa referente à ligação C-N de aminas aromáticas. No estudo de Bezerra *et al.*⁶⁷ mostra-se uma forte interação entre o OH do ácido carboxílico e do ácido salicílico com o N do imidazol do BNZ, conforme a **Figura 15** (a). Desta forma, para as mudanças ocorridas nas **Figuras 13 e 14**, sugere-se que a interação do OH do monoglicerol com o BNZ pode ser evidenciada pela mudança nas bandas do éster e das aminas aromáticas, como visto na **Figura 15** (b). Outro ponto a ser ressaltado é a ausência de interação do glicerol com o N-H e com a carbonila da amida, pois não se observou o deslocamento dessas bandas, corroborando com o resultado do estudo anterior, de que existe uma forte interação intermolecular no BNZ, sendo esta entre o N-H com o oxigênio da carbonila, de uma segunda molécula de BNZ.

Figura 15. Interações intermoleculares entre os grupos OH do ácido carboxílico (a) e do monoglicerol (b) com o N das aminas aromáticas.



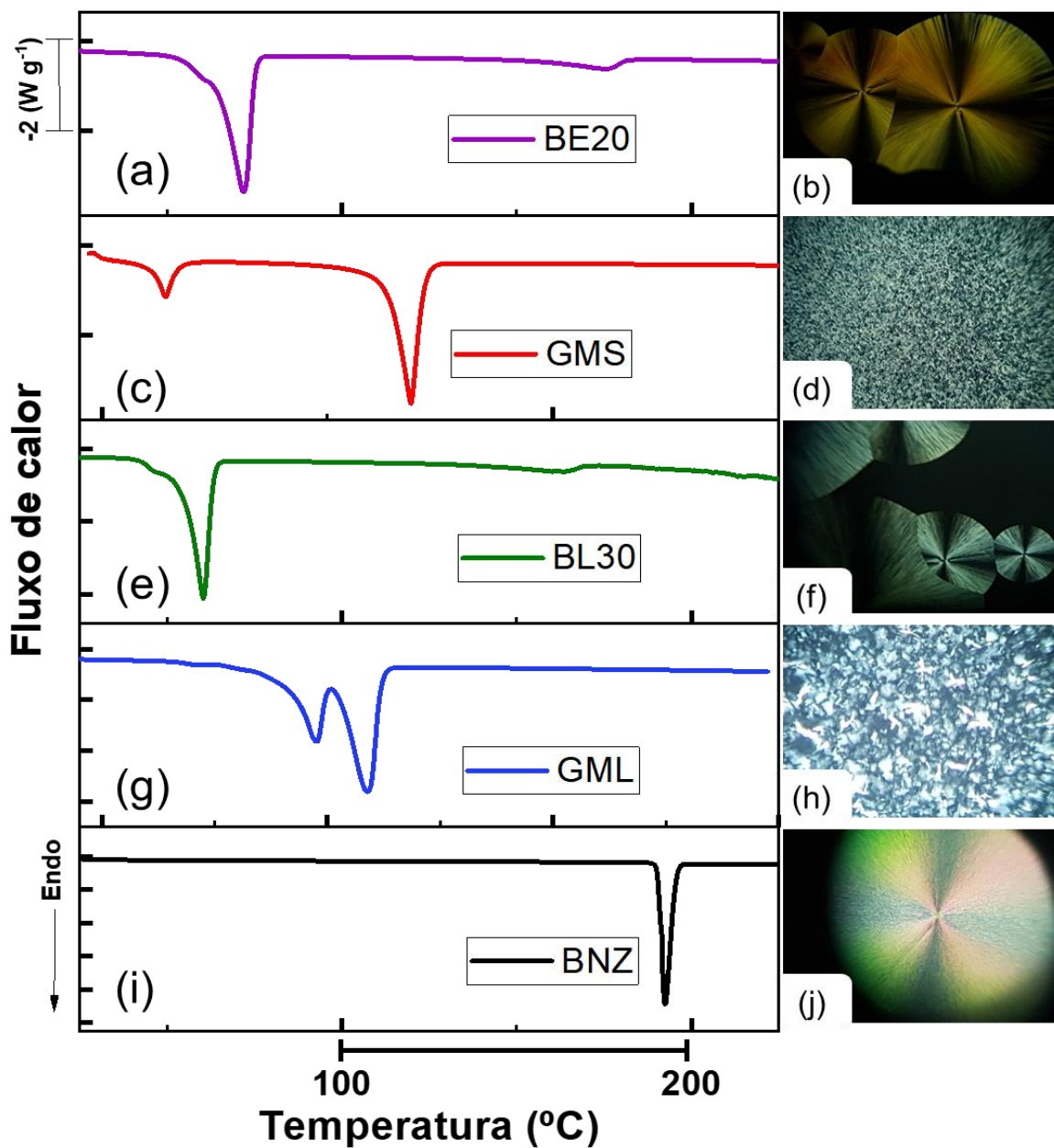
Fonte: Adaptado de Bezerra, 2020.⁶⁷

Para o sistema BE, percebe-se as mesmas interações, com a formação de um ombro na região de 1700 cm^{-1} (**Figura 14 (b)**), referente ao deslocamento do éster dos MGs, porém sendo mais intenso na mistura BE05. Na região de 1350 cm^{-1} também percebe-se que houve mudança no formato da banda para as misturas (**Figura 14 (c)**), sendo essa referente à ligação C-N de amins aromáticas. Utiliza-se da mesma justificativa para as interações (**Figura 15**), porém devido a todas as outras considerações já feitas, sabe-se que o BNZ interage melhor com o GML do que com o GMS.

Também foram realizadas análises de Microscopia Óptica de Luz Polarizada no intuito de observar a cristalinidade dos componentes. Para isso, foi utilizado o *hot stage*, para aquecer as amostras acima da temperatura de fusão do fármaco (até $230\text{ }^{\circ}\text{C}$, aproximadamente) e em seguida o sistema resfriou naturalmente, onde capturaram-se as imagens. Para os MGs como recebidos foi realizado o mesmo procedimento, mas até a temperatura de $90\text{ }^{\circ}\text{C}$, aproximadamente, para que estes não se degradassem.

Ao realizar as imagens de PLOM, confirma-se que os MGs têm dois estados cristalinos, devido às regiões mais e menos brilhantes, sendo mais evidenciado para o GML. Devido a isso, foi realizada a corrida no DSC com *quenching cooling*, para que ficasse evidente os dois pontos de fusão, conforme a **Figura 16**. Estes dados corroboram com os encontrados na análise de DSC, para cada MG, onde se observa um ombro, indicando que possui dois eventos de fusão (**Figura 7**). Para as misturas com BNZ, não foi realizado o resfriamento, para que os MGs presentes não se degradassem. Porém percebe-se um ombro nas misturas, referente aos dois estados cristalinos dos MGs e um segundo ponto de fusão, referente à cristalinidade do BNZ.

Figura 16. Curvas de DSC e micrografias de PLOM das amostras BE20 (a) e (b), GMS (c) e (d), BL30 (e) e (f), GML (g) e (h) e BNZ (i) e (j), respectivamente.



Fonte: Elaborado pela autora.

Também percebe-se que o BNZ se recristaliza em formato de esferulito, o qual para o fármaco como recebido tem todas as regiões claras, já que este é cristalino. Porém, no processo de recristalização para as misturas é possível notar uma maior quantidade de esferulitos, assim como identifica-se regiões escuras, indicando ausência

de BNZ e MGs cristalinos. Isto reafirma a interação entre os componentes da mistura, na qual o fármaco encontra-se disperso no monoglicerídeo, perdendo parte da sua cristalinidade.²⁹ Percebe-se também que apesar dos MGs estarem em maior quantidade nas misturas, não se nota a presença destes na **Figura 16** (b) e (f), sendo mais um indício da interação entre os componentes.

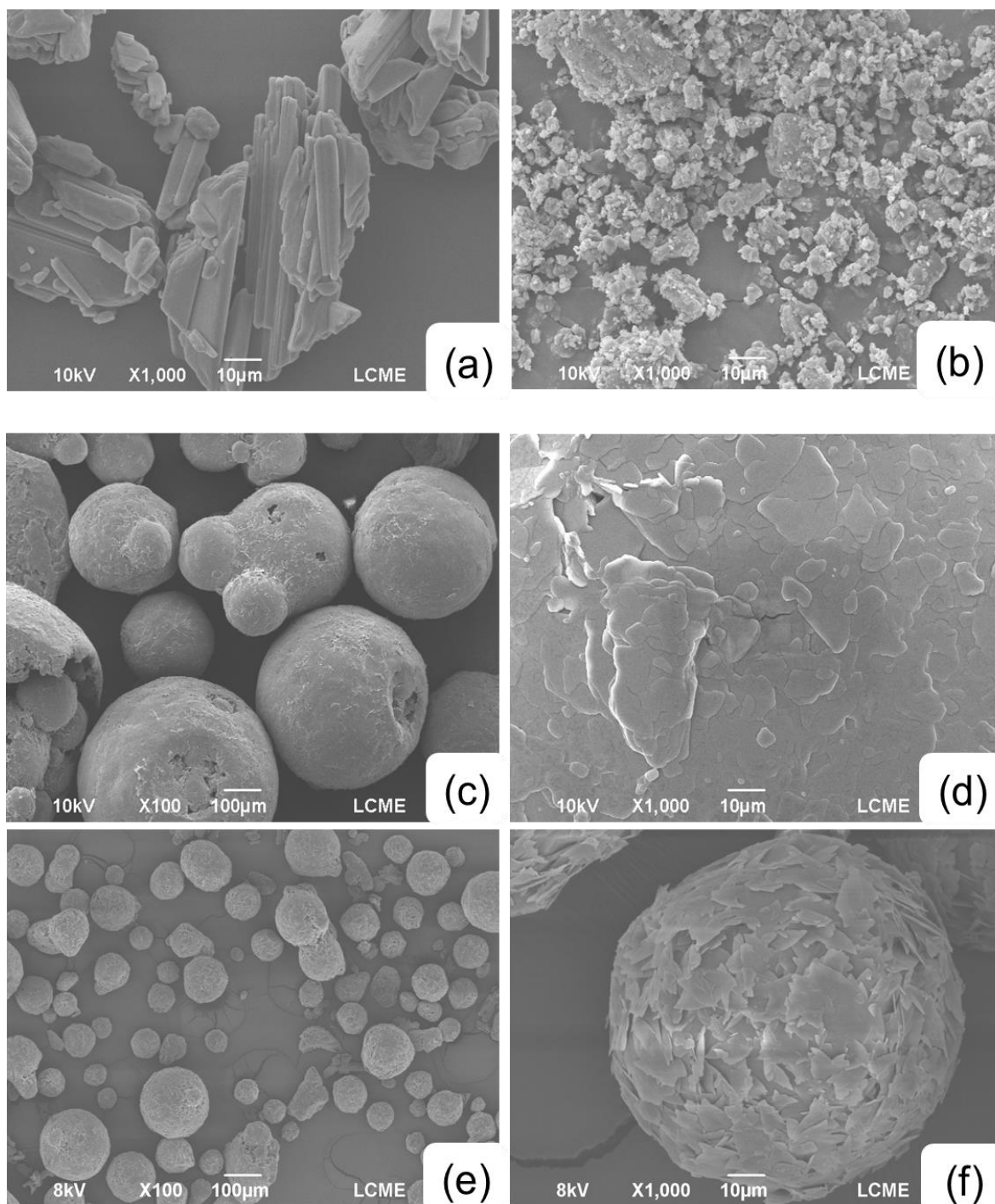
A partir das temperaturas de fusão dos componentes, evidenciadas na **Tabela 2**, nota-se que o BNZ tem apenas uma temperatura de fusão, mas para os MGs como recebidos e para as melhores misturas, existem duas. Contudo, ao ser adicionado nas dispersões sólidas, a estrutura cristalina do MG e do BNZ é modificada, resultando em eventos de fusão diferentes dos encontrados para os componentes como recebidos. Nota-se isso pelo fato de os picos de fusão das misturas serem em temperaturas menores do que as dos componentes como recebidos, como visto na **Figura 16** e na **Tabela 2**, indicando interação entre eles.

Tabela 2. Temperaturas de cristalização para BNZ, GML, BL30, GMS e BE20.

Amostra	Tm₁ (°C)	Tm₂ (°C)
BE20	71	175
GMS	14	68
BL30	60	163
GML	47	58
BNZ	192	-

Análises de Microscopia Eletrônica de Varredura foram realizadas para avaliar as características morfológicas das dispersões geradas, bem como avaliar as características do fármaco na amostra final (**Figura 17**).

Figura 17. Microscopias eletrônicas de varredura para BNZ como recebido (a) e BNZ macerado (b), GML como recebido com ampliação de 100 (c) e 1000 vezes (d) e GMS como recebido com ampliação de 100 (e) e 1000 vezes (f).



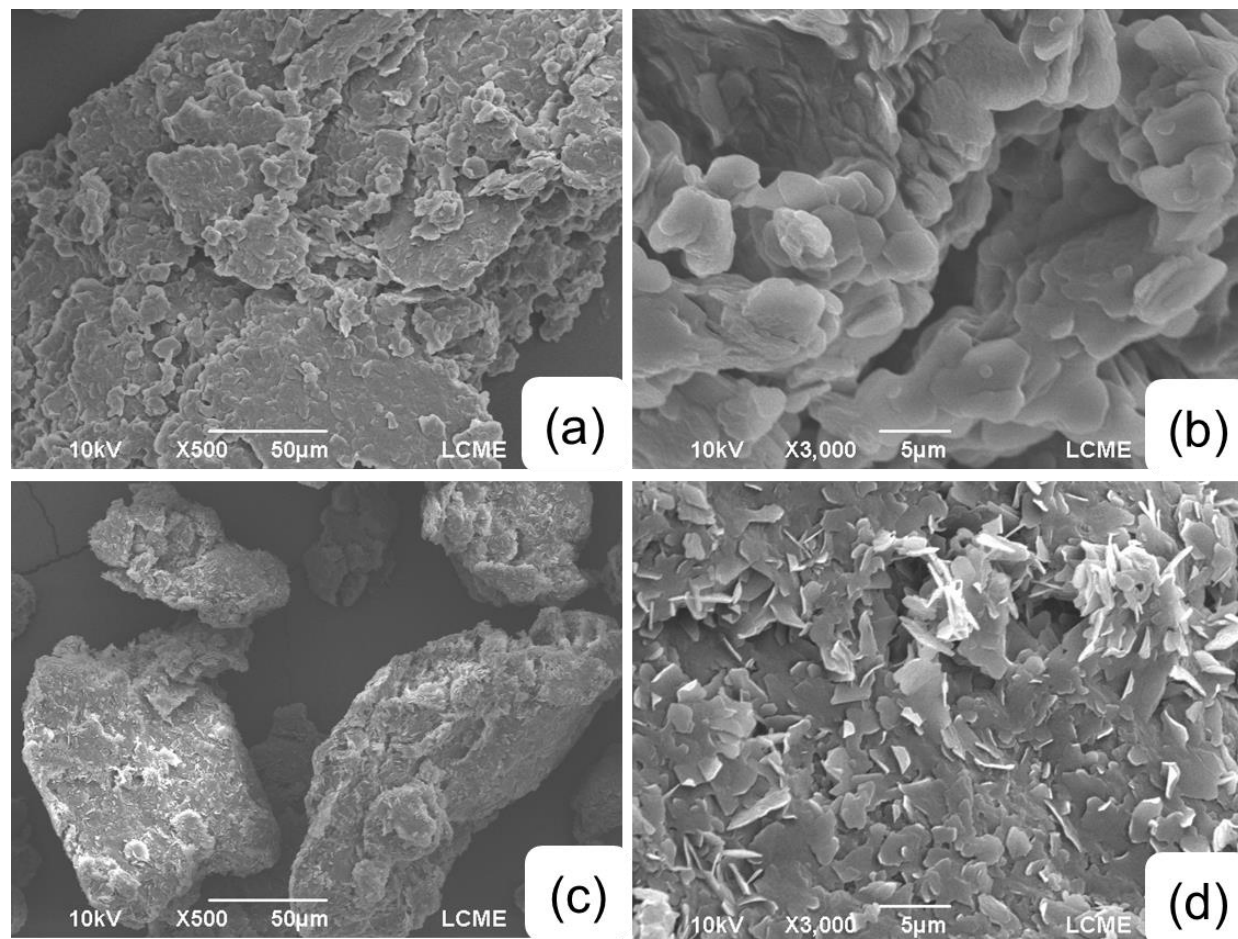
Fonte: Elaborado pela autora.

Para o Benznidazol, observa-se que o fármaco se orienta em uma estrutura cristalina na forma prismática, de diferentes tamanhos,⁶⁸ como visto na **Figura 17 (a)**. Já para o BNZ que foi submetido ao processo de maceração (**Figura 17 (b)**), percebe-se que os tamanhos das partículas diminuíram. Esta observação corrobora com os dados de DSC, onde um menor valor de ΔH para a fusão do fármaco é encontrado. Para que o processo de maceração fosse mais efetivo, uma sugestão é que este processo fosse realizado em um moinho de bolas. Pois usando de maior atrito e força física no processo da mistura, a diminuição dos cristais é favorecida e consegue-se maior compatibilização da amostra.

Para o GML (**Figura 17 (c) e (d)**), percebe-se que este apresenta-se no formato esférico, com evidências de pequenos aglomerados e um aspecto superficial mais uniforme. Já para o GMS (**Figura 17 (e) e (f)**), as lamelas não estão tão uniformes e “lisas”, como no GML. A partir da análise visual dos materiais, sugere-se que o GML é um sólido mais maleável, com uma maior facilidade de manuseio na forma sólida.

Para as melhores misturas (**Figura 18**), nota-se que para o BL30, em ambas as ampliações, o GML interage melhor com o fármaco, já que este muda mais facilmente a sua forma, ao comparar com o GML como recebido, indicando que o BNZ está disperso. No entanto, não se observa o mesmo para o BE20, já que, principalmente na ampliação de 3000 vezes (**Figura 18 (d)**), este tende a ficar na sua forma de como recebido, com as lamelas bem evidentes, não interagindo totalmente. Esses resultados comprovam, provavelmente, o fato de que como o GMS possui uma maior cadeia carbônica e conseqüentemente, um maior efeito hidrofóbico, as cadeias não se separam efetivamente.

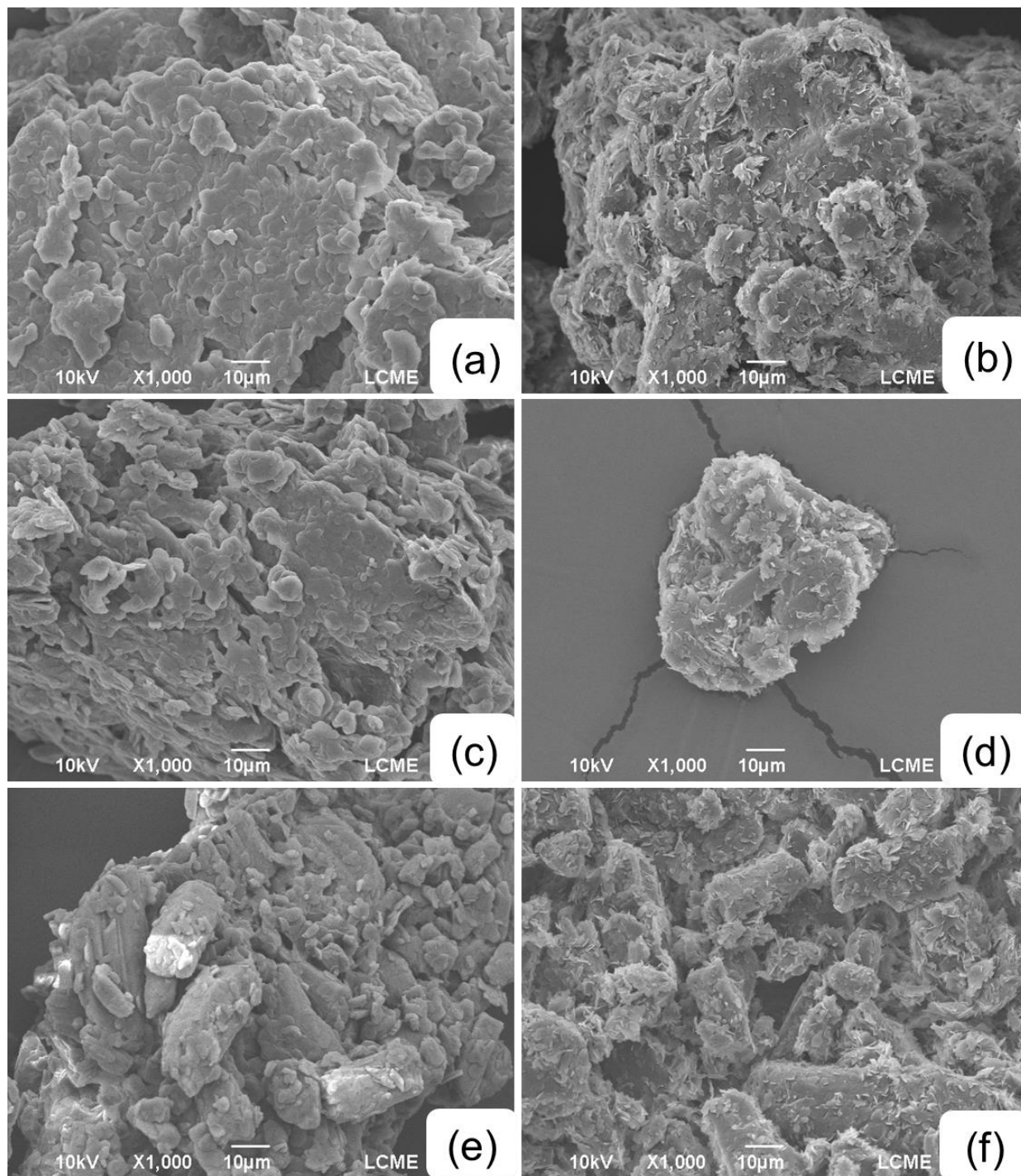
Figura 18. Microscopias eletrônicas de varredura para as melhores misturas, sendo BL30 com ampliação de 500 (a) e 3000 vezes (b) e BE20 com ampliação de 500 (c) e 3000 vezes (d).



Fonte: Elaborado pela autora.

Com o intuito de ver as diferenças nas misturas, foram analisadas dispersões de diferentes proporções mássicas de BNZ, além das selecionadas anteriormente, sendo todas avaliadas na ampliação de 1000 vezes, conforme a **Figura 19**.

Figura 19. Microscopias eletrônicas de varredura para diversas misturas, todas com ampliação de 1000 vezes, sendo (a) BL10, (b) BE05, (c) BL30, (d) BE20, (e) BL70 e (f) BE60.



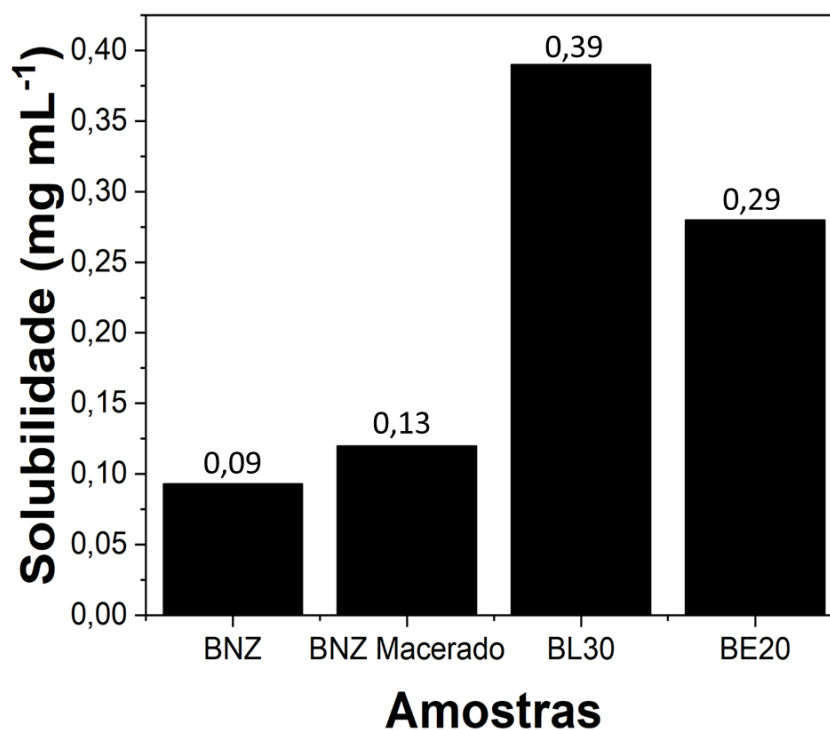
Fonte: Elaborado pela autora.

Percebe-se que para as misturas com menos fármaco (**Figura 19** (a) BL10 e (b) BE05), o aspecto majoritário é dos MGs, sendo mais “pastoso”. Já conforme aumenta-se a quantidade de BNZ, percebe-se o formato cristalino do fármaco mais presente. Portanto, as micrografias obtidas pelo SEM suportam os dados obtidos em todas as outras técnicas, já que quanto menor a quantidade de fármaco utilizado na dispersão formada, observa-se as características dos MGs e o fármaco apresenta-se mais solúvel. Já quanto maior a quantidade de fármaco na dispersão, este é observado de modo a apresentar sua característica cristalina na amostra, sendo menos solúvel nos MGs. A partir das micrografias analisadas, evidencia-se que a interação do BNZ com o GML é mais efetiva do que com o GMS, como já descrito anteriormente.

O ensaio de solubilidade foi realizado com o intuito de analisar a solubilidade dos componentes no tampão de saliva simulada em pH 6,8, utilizando metodologia analítica de UV-vis para a quantificação do BNZ. Os dados obtidos a partir da dissolução da amostra em tampão a 37 °C foram analisados usando a curva de calibração obtida ($y = -0,0112 + 28,245x$ com $R^2 = 0,9965$).

A partir da **Figura 20**, observa-se os perfis de solubilidade para as amostras, na qual fica evidenciado que a dispersão entre GML e BNZ tem a maior solubilização. Também percebe-se que a solubilidade do BNZ macerado é maior do que como recebido, pois como indicado pelo SEM (menor tamanho de partícula) e pelo ΔH reduzido, conclui-se que é necessário menos energia para dissolução, já que possui uma maior área superficial.

Figura 20. Perfil de solubilidade em mg mL^{-1} das amostras de BNZ, BNZ macerado, BL30 e BE20.



Fonte: Elaborado pela autora.

Isto somado à maior solubilidade, comprovam que o processo de maceração é efetivo, já que este ajuda a melhorar as características do fármaco. Já ao comparar as misturas, comprova-se efetivamente a maior solubilidade do BNZ em GML, sendo esta bem maior do que em GMS, corroborando com os dados supracitados e discutidos.

Também percebe-se pela **Figura 21**, que a amostra BL30 ao final do estudo de solubilidade, após estar em contato com tampão a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, apresenta aspecto de gel opaco. Este fato corrobora com as características deste monoglicerídeo, indicando que o GML pode se dispersar na solução tampão favorecendo a solubilização do BNZ.

Figura 21. Amostras de solubilidade do BL30 (esquerda) e BE20 (direita).



Fonte: Elaborado pela autora.

Já o tubo que contém a dispersão produzida com o GMS aparece como um sistema com baixa solubilidade da amostra e sem qualquer indício de formação de um gel, em virtude do GMS apresentar menor solubilidade em água. O que caracteriza, novamente, uma melhor interação do BNZ com o GML do que com o GMS.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observa-se que a Doença de Chagas é uma doença negligenciada e que aflige regiões em que o saneamento básico e questões de higiene são precárias. Além disso, a falta de cuidado no manuseio com algumas formulações alimentares (tais como caldo de cana e açaí) podem ser uma forma de contaminação cruzada da doença. O tratamento se baseia na utilização do Benznidazol, fármaco atualmente desenvolvido pelo LAFEPE (Laboratório Farmacêutico de Pernambuco), adquirido pelo Ministério da Saúde e distribuído pelo SUS a toda população. Porém, pelo BNZ se tratar de uma molécula pouco solúvel, alternativas para o desenvolvimento da formulação e de novas vias de aplicação são de interesse farmacotécnico. Neste estudo, foi realizado o preparo de dispersões sólidas baseadas em glicerol monolaurato e glicerol monoestearato, contendo Benznidazol, com intuito de melhoria na solubilidade do fármaco.

A partir das caracterizações obtidas, com base nos dados de DSC, considerou-se as misturas BL30 e BE20 como sendo as quais o BNZ encontra-se disperso nos MGs. Adicionalmente, foi evidenciado que o aumento de massa de BNZ nas misturas faz com que este comece a se apresentar menos solúvel nos MGs e tende a se organizar na forma cristalina. A partir das análises de DRX e FTIR, sugere-se que ocorra interação dos componentes presentes em cada dispersão, pelas mudanças de eventos de fusão e bandas de absorção, indicando que as amostras não tem característica de uma mistura física apenas.

As micrografias de PLOM revelaram que o BNZ não está totalmente cristalino nas misturas, já que as regiões escuras nos esferulitos indicam a sua perda de cristalinidade quando junto dos monoglicerídeos, sinalizando que estes modificam a cristalinidade do fármaco. E é possível observar também para os MGs como recebidos as duas fases cristalinas, pelas regiões mais e menos brilhantes. As micrografias obtidas pelo SEM também indicam que quanto menor a quantidade de fármaco utilizado na dispersão formada, mais esse apresenta-se solúvel nos MGs. Já quanto maior a quantidade de fármaco na dispersão, este é observado de modo a apresentar sua característica cristalina na amostra, sendo menos solúvel nos MGs. Por último, o ensaio de solubilidade

em tampão de saliva simulada mostra uma maior solubilidade do BNZ quando macerado, comparado com o recebido e também uma maior solubilidade do BNZ com o GML. Assim, conclui-se que o método de dispersões sólidas com maceração e com a inserção do GML é eficaz para melhorar as características físico-químicas do fármaco.

7. REFERÊNCIAS

¹SANTOS, Fabiana LA *et al.* A study of photostability and compatibility of the anti-chagas drug Benznidazole with pharmaceutical excipients. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 41, n. 1, p. 63-69, 2015.

²Doença de Chagas. Dndial.org. Disponível em: <<https://www.dndial.org/doencas/doenca-chagas/>>. Acesso em: 18 Jun. 2021.

³A “silenciosa” doença de Chagas faz 7 milhões de vítimas no mundo. Exame.com. Disponível em: <<https://exame.com/ciencia/a-silenciosa-doenca-de-chagas-faz-7-milhoes-de-vitimas-no-mundo/>>. Acesso em: 18 Jun. 2021.

⁴PAUCAR, Rocio; MORENO-VIGURI, Elsa; PÉREZ-SILANES, Silvia. Challenges in Chagas disease drug discovery: a review. **Current medicinal chemistry**, v. 23, n. 28, p. 3154-3170, 2016.

⁵PEREZ-MOLINA, J. A. Molina I.(2018a). **Chagas disease cardiomyopathy treatment remains a challenge-Authors’ reply. Lancet**, v. 391, p. 2209-2210.

⁶GASCON, Joaquim; BERN, Caryn; PINAZO, María-Jesús. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. **Acta tropica**, v. 115, n. 1-2, p. 22-27, 2010.

⁷JACKSON, Yves; PINTO, Angie; PETT, Sarah. Chagas disease in Australia and New Zealand: risks and needs for public health interventions. **Tropical Medicine & International Health**, v. 19, n. 2, p. 212-218, 2014.

⁸LIDANI, Kárita Cláudia Freitas *et al.* Chagas disease: from discovery to a worldwide health problem. **Frontiers in public health**, v. 7, p. 166, 2019.

⁹SALOMON, Claudio J. First century of chagas’ disease: An overview on novel approaches to nifurtimox and benznidazole delivery systems. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 101, n. 3, p. 888-894, 2012.

¹⁰BELLO CORASSA, Rafael *et al.* Evolution of Chagas’ disease in Brazil. Epidemiological perspective and challenges for the future: a critical review. **Perspectives in Public Health**, v. 137, n. 5, p. 289-295, 2017.

¹¹COURA, José Rodrigues. The main sceneries of Chagas disease transmission. The vectors, blood and oral transmissions-A comprehensive review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 3, p. 277-282, 2015.

¹²NÓBREGA, Aglaêr A. *et al.* Oral transmission of Chagas disease by consumption of açai palm fruit, Brazil. **Emerging infectious diseases**, v. 15, n. 4, p. 653, 2009.

¹³PEREIRA, Karen Signori *et al.* Chagas' disease as a foodborne illness. **Journal of food protection**, v. 72, n. 2, p. 441-446, 2009.

¹⁴VALENTE, Sebastião Aldo da Silva *et al.* Analysis of an acute Chagas disease outbreak in the Brazilian Amazon: human cases, triatomines, reservoir mammals and parasites. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 3, p. 291-297, 2009.

¹⁵VALENTE, Sebastião Aldo da Silva; VALENTE, Vera da Costa; FRAIHA NETO, Habib. Considerations on the epidemiology and transmission of Chagas disease in the Brazilian Amazon. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 395-398, 1999.

¹⁶PINTO, Ana Yecê das Neves *et al.* Fase aguda da doença de Chagas na Amazônia brasileira: estudo de 233 casos do Pará, Amapá e Maranhão observados entre 1988 e 2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, p. 602-614, 2008.

¹⁷SOUZA-LIMA, Rita de Cassia de *et al.* Outbreak of acute Chagas disease associated with oral transmission in the Rio Negro region, Brazilian Amazon. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, p. 510-514, 2013.

¹⁸DE OLIVEIRA, Ana Caroline; SOCCOL, Vanete Thomaz; ROGEZ, Hervé. Prevention methods of foodborne Chagas disease: Disinfection, heat treatment and quality control by RT-PCR. **International journal of food microbiology**, v. 301, p. 34-40, 2019.

¹⁹DE SOUZA, Wanderley; DE CARVALHO, Tecia Maria Ulisses; BARRIAS, Emile Santos. Ultrastructure of *Trypanosoma cruzi* and its interaction with host cells. In: **American Trypanosomiasis**. Elsevier, 2010. p. 393-432.

²⁰American Trypanosomiasis. Cdc.gov. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamerican/index.html>>. Acesso em: 20 Jun. 2021.

²¹SOSA-ESTANI, Sergio; SEGURA, Elsa Leonor. Etiological treatment in patients infected by *Trypanosoma cruzi*: experiences in Argentina. **Current opinion in infectious diseases**, v. 19, n. 6, p. 583-587, 2006.

²²JUNIOR, Policarpo Ademar Sales *et al.* Experimental and clinical treatment of Chagas disease: a review. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 97, n. 5, p. 1289-1303, 2017.

²³CHIRAC, Pierre; TORREELE, Els. Global framework on essential health R&D. **Lancet (London, England)**, v. 367, n. 9522, p. 1560-1561, 2006.

²⁴JANNIN, Jean; VILLA, Luis. An overview of Chagas disease treatment. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, p. 95-98, 2007.

²⁵VIOTTI, Rodolfo *et al.* Side effects of benznidazole as treatment in chronic Chagas disease: fears and realities. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 7, n. 2, p. 157-163, 2009.

²⁶SNYDMAN, David R.; WALKER, Melanie; ZUNT, Joseph R. Parasitic central nervous system infections in immunocompromised hosts. **Clinical Infectious Diseases**, v. 40, n. 7, p. 1005-1015, 2005.

²⁷MORILLO, Carlos A. *et al.* Randomized trial of benznidazole for chronic Chagas' cardiomyopathy. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 14, p. 1295-1306, 2015.

²⁸CASTRO, José A.; DEMECCA, María Montalto; BARTEL, Laura C. Toxic side effects of drugs used to treat Chagas' disease (American trypanosomiasis). **Human & experimental toxicology**, v. 25, n. 8, p. 471-479, 2006.

²⁹HONORATO, Sara Braga *et al.* Novel polymorphs of the anti-*Trypanosoma cruzi* drug benznidazole. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 118, p. 389-394, 2014.

³⁰DIAS, João Carlos Pinto *et al.* II Consenso Brasileiro em doença de Chagas, 2015. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, p. 7-86, 2016.

³¹MAXIMIANO, Flávia Pires *et al.* Physicochemical characterization of antichagasic benzimidazole. **Química Nova**, v. 33, n. 8, p. 1714-1719, 2010.

³²LAMAS, María C. *et al.* Development of parenteral formulations and evaluation of the biological activity of the trypanocide drug benzimidazole. **International journal of pharmaceuticals**, v. 307, n. 2, p. 239-243, 2006.

³³DO AMARAL, A. T. *et al.* Physicochemical parameters involved in the lethal toxicity of N, N-[(dimethylamino) ethyl]-4-substituted benzoate hydrochlorides: a QSAR study. **European journal of medicinal chemistry**, v. 32, n. 5, p. 433-443, 1997.

³⁴KASIM, Nehal A. *et al.* Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. **Molecular pharmaceuticals**, v. 1, n. 1, p. 85-96, 2004.

³⁵AMIDON, Gordon L. *et al.* A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical research**, v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.

³⁶MOLINA, I. *et al.* Toxic profile of benzimidazole in patients with chronic Chagas disease: risk factors and comparison of the product from two different manufacturers. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 59, n. 10, p. 6125-6131, 2015.

³⁷PONTES, Vânia Maria Oliveira de *et al.* Reações adversas em pacientes com doença de Chagas tratados com benzonidazol, no Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 2, p. 182-187, 2010.

³⁸WIENS, Matthew O. *et al.* Systematic review and meta-analysis of the pharmacokinetics of benzimidazole in the treatment of Chagas disease. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 60, n. 12, p. 7035-7042, 2016.

³⁹FERREIRA, Ariela Mota *et al.* Reações adversas ao benzonidazol no tratamento da Doença de Chagas: revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados e controlados. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 27, p. 354-362, 2019.

⁴⁰PALACE-BERL, Fanny. **Planejamento, síntese e avaliação da atividade anti-T. cruzi de derivados furfurilidênicos com estruturas azometínica e oxadiazolínica**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

⁴¹DE MOURA FERRAZ, Leslie Raphael *et al.* Technological innovation strategies for the specific treatment of Chagas disease based on Benzimidazole. **Acta tropica**, v. 185, p. 127-132, 2018.

⁴²AVARIA, Andrea *et al.* Population movements, borders, and Chagas disease. **Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro**, v. 116, p. e210151, 2021.

⁴³LEUNER, Christian; DRESSMAN, Jennifer. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. **European journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, n. 1, p. 47-60, 2000.

⁴⁴TRAPANI, Giuseppe *et al.* Physicochemical characterization and in vivo properties of Zolpidem in solid dispersions with polyethylene glycol 4000 and 6000. **International journal of pharmaceutics**, v. 184, n. 1, p. 121-130, 1999.

⁴⁵BIKIARIS, Dimitrios *et al.* Physicochemical studies on solid dispersions of poorly water-soluble drugs: evaluation of capabilities and limitations of thermal analysis techniques. **Thermochemica acta**, v. 439, n. 1-2, p. 58-67, 2005.

⁴⁶BAZZO, Giovana Carolina; PEZZINI, Bianca Ramos; STULZER, Hellen Karine. Eutectic mixtures as an approach to enhance solubility, dissolution rate and oral bioavailability of poorly water-soluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 588, p. 119741, 2020.

⁴⁷PATEL, Rajeshri D.; RAVAL, Mihir K.; SHETH, Navin R. Formation of Diacerein-fumaric acid eutectic as a multi-component system for the functionality enhancement. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 58, p. 101562, 2020.

⁴⁸MOORE, Michael D.; WILDFONG, Peter LD. Aqueous solubility enhancement through engineering of binary solid composites: pharmaceutical applications. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, v. 4, n. 1, p. 36-49, 2009.

⁴⁹CHOONARA, Bibi F. *et al.* A review of advanced oral drug delivery technologies facilitating the protection and absorption of protein and peptide molecules. **Biotechnology advances**, v. 32, n. 7, p. 1269-1282, 2014.

⁵⁰LIN, Chih-Hung *et al.* Recent advances in oral delivery of drugs and bioactive natural products using solid lipid nanoparticles as the carriers. **Journal of food and drug analysis**, v. 25, n. 2, p. 219-234, 2017.

⁵¹MISHRA, Vijay *et al.* Solid lipid nanoparticles: Emerging colloidal nano drug delivery systems. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 4, p. 191, 2018.

⁵²LIEBERMAN, Shari; ENIG, Mary G.; PREUSS, Harry G. A review of monolaurin and lauric acid: natural virucidal and bactericidal agents. **Alternative & Complementary Therapies**, v. 12, n. 6, p. 310-314, 2006.

⁵³SCHLIEVERT, Patrick M. *et al.* Glycerol monolaurate contributes to the antimicrobial and anti-inflammatory activity of human milk. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2019.

- ⁵⁴ZHANG, Michael S.; SANDOUK, Aline; HOUTMAN, Jon CD. Glycerol Monolaurate (GML) inhibits human T cell signaling and function by disrupting lipid dynamics. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-13, 2016.
- ⁵⁵PYTKO-POLONCZYK, J. *et al.* Artificial saliva and its use in biological experiments. **J Physiol Pharmacol**, v. 68, n. 6, p. 807-813, 2017.
- ⁵⁶GOUD, N. Rajesh *et al.* Fast dissolving eutectic compositions of curcumin. **International journal of pharmaceutics**, v. 439, n. 1-2, p. 63-72, 2012.
- ⁵⁷MIAO, Song; LIN, Duanquan. Monoglycerides: Categories, structures, properties, preparations, and applications in the food industry. 2019.
- ⁵⁸KAROLEWICZ, Bożena *et al.* Pluronic F127 as a suitable carrier for preparing the imatinib base solid dispersions and its potential in development of a modified release dosage forms. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 130, n. 1, p. 383-390, 2017.
- ⁵⁹LIMA, Ádley Antonini Neves de. **Avaliação dos aspectos físico-químicos do antichagásico Benznidazol, diferentes sistemas carreadores e formas farmacêuticas, através de técnicas analíticas e de imagens**. 2012. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.
- ⁶⁰ZHANG, Xinyan *et al.* Fabrication and characterization of fast dissolving glycerol monolaurate microemulsion encapsulated gelatin nanofibers with antimicrobial activity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, n. 13, p. 5660-5670, 2021.
- ⁶¹KUHRT, N. H.; BROXHOLM, R. A.; BLUM, W. P. Conjoined crystals. I. composition and physical properties. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 40, n. 12, p. 725-730, 1963.
- ⁶²SILVA, Flávia Lidiane Oliveira da. Carreadores lipídicos nanoestruturados contendo benznidazol como estratégia para aumentar a eficácia no tratamento da doença de Chagas. 2019.
- ⁶³SOARES-SOBRINHO, José Lamartine *et al.* A preformulation study of a new medicine for Chagas disease treatment: physicochemical characterization, thermal stability, and compatibility of benznidazole. **Aaps Pharmscitech**, v. 11, n. 3, p. 1391-1396, 2010.
- ⁶⁴DE MELO, Polyanne N. *et al.* Designing and monitoring microstructural properties of oligosaccharide/co-solvent ternary complex particles to improve benznidazole dissolution. **Journal of Materials Science**, v. 53, n. 4, p. 2472-2483, 2018.

⁶⁵SILVERSTEIN, Robert M.; BASSLER, G. Clayton. Spectrometric identification of organic compounds. **Journal of Chemical Education**, v. 39, n. 11, p. 546, 1962.

⁶⁶GLAVCHEVA-LALEVA, Z. *et al.* Obtaining of Modifiers for Reduced Friction by Esterification of Waste Glycerol from Biodiesel Production and Sylfat 2. **Chemical Engineering and Science**, v. 3, n. 1, p. 1-6, 2015.

⁶⁷BEZERRA, Beatriz Pinheiro *et al.* Cocrystal polymorphs and solvates of the anti-trypanosoma cruzi drug benznidazole with improved dissolution performance. **Crystal Growth & Design**, v. 20, n. 7, p. 4707-4718, 2020.

⁶⁸PALMEIRO-ROLDÁN, Ricardo *et al.* Development of novel benznidazole formulations: physicochemical characterization and in vivo evaluation on parasitemia reduction in Chagas disease. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 472, n. 1-2, p. 110-117, 2014.