



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

Luiz Gustavo Rubi de Souza

A Ressonância Magnética no estudo
da desintegração de comprimidos
marcados com açaí (*Euterpe oleracea*)

Botucatu
2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

CÂMPUS DE BOTUCATU

A RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NO ESTUDO DA DESINTEGRAÇÃO DE COMPRIMIDOS MARCADOS

COM AÇAÍ (*Euterpe Olerácea*)

LUIZ GUSTAVO RUBI DE SOUZA

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de PG em Biologia Geral e Aplicada

BOTUCATU - SP

2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Souza, Luiz Gustavo Rubi de.

A ressonância magnética no estudo da desintegração de comprimidos marcados com Açai (*Enterpe olerácea*) / Luiz Gustavo Rubi de Souza. – Botucatu : [s.n.], 2008. 48p.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Botucatu, 2008

Orientador: José Ricardo de Arruda Miranda

Assunto CAPES: 40101118

1. Sistema gastrintestinal - Diagnóstico por imagem 2. Ressonância magnética

CDD 616.3307545

Palavras-chave: Comprimidos; Contraste; Desintegração; Ressonância magnética; Trato gastrintestinal

AGRADEÇO

A DEUS

A MINHA FAMÍLIA

- ✓ MEUS PAIS: José Carlos e Wanda: pela presença constante, formação e por toda ajuda durante este trabalho. Vocês me trouxeram até aqui, sem vocês nada disso seria possível.
- ✓ A MINHA ESPOSA: Lígia Maria: que sempre esteve ao meu lado nos momentos mais difíceis, transmitindo confiança e tranquilidade. Sem dúvida alguma você é uma daquelas pessoas que engrandece quem esta a seu lado, e por isso agradeço a Deus todos os dias por esse privilégio.
- ✓ MEUS IRMÃOS - Paulo Henrique, Leandro e minha cunhada Camila: pela ajuda e companhia.
- ✓ TARCÍSIO e ENI - pela ajuda constante durante este período.

A MEUS ORIENTADORES

- ✓ **Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda:** pela orientação objetiva e competente. Aprendi muito durante a nossa convivência.
- ✓ Prof. Dr. José Morceli: pela co-orientação.
- ✓ Dr^a. Luciana Aparecida Cora: pela co-orientação (embora informal) e dedicação durante a pesquisa.

AOS COLEGAS DE LABORATÓRIO

- ✓ Paulo Roberto da Fonseca Filho, por toda ajuda e constante bom humor.
- ✓ Giovana de Sousa Evangelista, pela colaboração com o experimento.

Aos demais integrantes do Laboratório de Biomagnetismo, com os quais tive o privilégio de trabalhar: Uilian de Andreis, Fabiano C. Paixão, Leandro Bolognesi, Madileine F. Américo, Murilo Stelzer, Márjorie Ietsugu, Rozemeire G. Marques.

A ANIDRO DO BRASIL – Grupo Centroflora (Botucatu, SP): pelo açaí em pó cedido ao experimento.

AO RESIDENTE THIAGO QUINTANILHA: pela colaboração como radiologista e voluntário.

A FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU, em especial ao setor de Ressonância Magnética e seus funcionários: pela parceria no experimento.

AS AGÊNCIAS DE FOMENTO: CAPES, FAPESP e CNPq\PIBIC.

A TODOS OS VOLUNTÁRIOS QUE COLABORARAM COM A PESQUISA.

Resumo

Rubi de Souza, L.G. **A ressonância magnética no estudo da desintegração de comprimidos marcados com açaí (*Euterpe oleracea*)**. 2008. 48p. Dissertação de Mestrado – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Avaliar formas farmacêuticas sólidas *in vivo* fornece um entendimento mais profundo quando um efeito sistêmico ou local é desejado. Geralmente, estes estudos são realizados por meio da cintilografia e técnicas biomagnéticas. A Ressonância Magnética (RM) vem sendo aplicada em tecnologia farmacêutica sendo que estes estudos são realizados com comprimidos marcados por partículas de óxido de ferro ou por gadolínio em pó. Este estudo propõe a utilização da RM para monitorar o processo de desintegração *in vitro* e *in vivo* de comprimidos contendo açaí (*Euterpe oleracea*) como agente de contraste natural. O açaí é uma fruta presente em abundância na região norte do Brasil com a propriedade de atuar como agente de contraste oral em imagens obtidas por RM. Comprimidos obtidos com diferentes desintegrantes (croscarmelose sódica, crospovidona e mistura efervescente) foram marcados com açaí e revestidos com uma solução de polímero pH-independente. As formas farmacêuticas foram avaliadas *in vitro* e *in vivo* em um equipamento de RM de 0,5 T. Os resultados mostraram que o açaí é um forte agente de contraste e pode ser empregado em estudos farmacêuticos. Foi possível definir a imagem do comprimido e quantificar o processo de desintegração. Não foram encontradas diferenças ($p > 0,7$) no tempo de desintegração avaliado *in vitro* nas medidas empregando-se comprimidos de crospovidona (14 ± 1 min) e croscarmelose (15 ± 1 min). No entanto, comparando-se com os comprimidos efervescentes (6 ± 1 min), o tempo de desintegração foi significativamente diferente ($p < 0,01$). Foi possível obter as imagens ponderadas em T1 dos comprimidos no estômago humano com qualidade razoável. O tempo de desintegração dos comprimidos *in vivo* foi 14 ± 1 min. Este estudo mostrou que a RM é uma técnica capaz de monitorar o processo de desintegração de comprimidos *in vitro* e *in vivo*. Sintetizando, a associação entre a RM que possui como características alta resolução e não-invasividade, com um agente de contraste natural como o açaí pode contribuir para estabelecer a RM como um método alternativo para a pesquisa farmacêutica.

Palavras-chave: Ressonância Magnética, agente de contraste oral, desintegração, forma farmacêutica sólida.

Abstract

Rubi de Souza, L.G. **Magnetic resonance to study the disintegration of tablets labeled with açai (*Euterpe oleraceae*)**. 2008. 48p. Dissertação de Mestrado – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

The performance of pharmaceutical dosage forms must be fully investigated *in vivo* to provide more reliable information when a local or systemic effect is desirable. Generally, *in vivo* investigation on the behavior of dosage forms has been made by using gamma-scintigraphy and biomagnetic techniques. Magnetic resonance (MR) methods have become established tools in the drug discovery and development process. Most of MR studies have been made with tablets labeled with iron oxide particles or dry gadolinium chelates (Gd-DOTA) powder. The aim of this study was to evaluate the disintegration process of tablets labeled with açai (*Euterpe oleraceae*) *in vitro* and in human stomach. Açai is a typical fruit from Amazonia, and has been recognized for its functional properties for use as oral contrast agent for MR. Tablets obtained from different disintegrants (croscarmellose sodium, crospovidone and an effervescent blend) were labeled with açai and were coated by using pH-independent polymer solution. The dosage forms have been evaluated *in vitro* and *in vivo* in a 0.5 T magnetic resonance system. The results showed that açai may be employed as a useful contrast agent which for pharmaceutical purposes. It was able to define the image of the tablets and to quantify the disintegration process. The disintegration time evaluated *in vitro* for tablets obtained from crospovidone (14 ± 1 min) and croscarmellose (15 ± 1 min) it was not significantly different ($p>0.7$). However, in comparison with tablets obtained with effervescent blend (6 ± 1 min), the disintegration time was significantly different ($p<0.01$). It was possible to obtain images of the tablets in human stomach in T1 weighting with reasonable quality. The disintegration time of tablets made from croscarmellose sodium obtained from *in vivo* measurements was 14 ± 1 min. This study showed that MR technique was able to monitor the disintegration process of tablets through images in T1 weighting upon *in vitro* and *in vivo*. In summary, the association between the MR technique due to its high resolution and its noninvasiveness, and an oral contrast agent as açai may contribute to establish the MR as an alternative method for pharmaceutical research.

Key words: Magnetic resonance, oral contrast agent, disintegration, solid dosage forms.

Lista de figuras

Figura 1: Frascos com diferentes diluições de açaí em pó especial (0%de gordura)	17
Figura 2: Disposição dos frascos no recipiente	17
Figura 3: Esquema representando uma medida de desintegração <i>in vitro</i>	21
Figura 4: Esquema representando o posicionamento dos cortes em uma medida de desintegração <i>in vitro</i>	21
Figura 5: Utilização da ROI em uma medida feita com açaí especial e ponderada em FSE T ₂ TR 4000ms - TE 117ms	23
Figura 6: Quantificação das medidas de desintegração <i>in vitro</i> ; a) área do comprimido; b) intensidade de sinal sobre todo o béquer	24
Figura 7: Medida de contraste demonstrando as diluições de pó de açaí especial na sequência SE T ₁ com TR 650 – TE 15ms	25
Figura 8: Medida de contraste com pó de açaí especial na sequência FSE T ₂ TR 4000ms – TE 117ms	26
Figura 9: Intensidade de sinal (ua) em função da concentração de pó de açaí especial diluído em água (g/10mL) na sequência SE T ₁ TR 650ms – TE 15ms	27
Figura 10: Intensidade de sinal em função da concentração de pó de açaí especial diluído em água (g/10mL) na sequência FSE T ₂ TR 4000ms– TE117 ms	27
Figura 11: Intensidade de sinal em função da concentração de pó de açaí comum diluído em água (g/10ml) na sequência SE T ₁ TR 650ms –TE 15ms	28
Figura 12: Intensidade de sinal em função da concentração de pó de açaí comum diluído em água (g/10ml) na sequência FSE T ₂ TR 4000ms – TE 117ms	29
Figura 13: Imagens e representação gráfica de uma medida de desintegração <i>in vitro</i> ponderada SE T ₁ TR 650ms – TE 15ms	30
Figura 14: Representação gráfica da média da variação da área dos comprimidos com croscarmelose nas medidas <i>in vitro</i> (SE T ₁ TR 650ms – TE 15ms)	31

Figura 15: Representação gráfica da média de variação da intensidade de sinal no interior dos recipientes utilizados nas medidas <i>in vitro</i> (SE T ₁ TR 650ms – TE 15ms) utilizando comprimidos de croscarmelose. As barras verticais demonstram o erro padrão entre a intensidade de sinal nos diferentes instantes das medidas.....	32
Figura 16: Sequência de imagens em FSE T ₂ TR 4000ms – TE 117ms	33
Figura 17: Média dos resultados obtidos pela área em relação ao tempo em minutos em medidas com comprimidos de crospovidona	33
Figura 18: Média dos resultados obtidos pela intensidade de sinal em relação ao tempo em minutos em medidas com comprimidos de crospovidona ..	34
Figura 19: Média dos resultados obtidos pela área em comprimidos efervescentes..	35
Figura 20: Média dos resultados obtidos pela intensidade de sinal em comprimidos efervescentes	35
Figura 21: a) Imagens de placebo ponderadas em T ₁ ; b) imagens de placebo ponderadas em T ₂ . Três instantes diferentes do processo de desintegração	37
Figura 22: Representação gráfica da média da área dos comprimidos nas medidas <i>in vivo</i> (SE T ₁ TR 650ms – TE 15ms). As barras verticais demonstram o erro padrão entre a área dos comprimidos nos correspondentes instantes das medidas	38
Figura 23: Imagens demonstrando a evolução de uma medida <i>in vivo</i> (SE T ₁ TR 650ms – TE 15ms), onde é possível observar a diminuição da área do comprimido (ponta das setas) em função do tempo	39

Lista de tabelas

Tabela I: Avaliação dos valores de TR e TE em sequências de pulso SE ponderadas em T ₁ . Em vermelho indica o par que apresentou melhor contraste	18
Tabela II: Avaliação dos valores de TR e TE em sequências de pulso FSE ponderadas em T ₂ . Em vermelho indica o par que apresentou melhor contraste	18
Tabela III: Resultado geral obtido para todos os comprimidos e quantificações.....	36

Sumário

Lista de figuras
Lista de tabelas
Resumo
Abstract

1 Introdução	09
2 Objetivos	13
3 Materiais e métodos	14
3.1 Ressonância Magnética	14
3.2 Medidas de contraste	16
3.3 Medidas de desintegração <i>in vitro</i>	19
3.4 Medidas de desintegração <i>in vivo</i>	22
3.5 Análise dos dados	23
3.5.1 Quantificação da intensidade do sinal	23
3.5.2 Quantificação da desintegração <i>in vivo</i>	24
4 Resultados.....	25
4.1 Medidas de contraste	25
4.1.1 Açai em pó.....	25
4.2 Medidas de desintegração <i>in vitro</i>	30
4.2.1 Quantificações dos comprimidos de croscarmelose	30
4.2.2 Quantificações das medidas com crospovidona	33
4.2.3 Quantificações das medidas com comprimidos efervescentes	34
4.3 Medidas de desintegração <i>in vivo</i>	37
5 Discussão	40
6 Conclusão	45
7 Referências bibliográficas	46

1. Introdução

O desenvolvimento de um novo produto farmacêutico fundamenta-se na obtenção da máxima atividade farmacológica com o mínimo de efeitos adversos. Por isso, alguns fatores como a forma farmacêutica e a via de administração devem ser considerados visando uma terapia mais eficiente.^{1,2}

A via oral é muito comum para a administração de fármacos por ser segura, conveniente e bem aceita pelo paciente, sendo cápsulas e comprimidos as formas farmacêuticas sólidas mais utilizadas.^{2,3} Quando um fármaco é administrado pela via oral, sua absorção é regulada pelos fatores biofarmacêuticos, pelas condições fisiológicas, como taxas de esvaziamento gástrico, trânsito e pH gastrintestinal, além do fluxo sanguíneo e concentração no local da absorção.¹

No entanto, para que o princípio ativo contido em uma forma farmacêutica sólida seja absorvido é necessário que ocorra a desintegração, ou seja, um processo tempo-dependente que acontece sob ação de um desintegrante e promove a fragmentação da forma farmacêutica em partículas passíveis de serem dissolvidas pelo fluido gastrintestinal e absorvidas pela mucosa.³

A desintegração é um processo extremamente importante, sendo influenciada por diversos parâmetros relacionados à forma farmacêutica, como a composição, compressão e o revestimento, e também aos fatores fisiológicos, como variações do pH e motilidade gastrintestinal.⁴⁻⁶ É importante ressaltar que o processo de desintegração é avaliado *in vitro* através de metodologias propostas em Farmacopéias. Entretanto, estudos *in vivo* são necessários, pois podem acrescentar outras informações sobre o comportamento das formas farmacêuticas sólidas perante a natureza complexa do trato gastrintestinal humano.³

Devido a essa necessidade, a Cintilografia consagrou-se como a técnica-padrão para avaliar o comportamento *in vivo* de formas farmacêuticas desde as mais convencionais até os mais sofisticados sistemas de liberação de drogas no trato gastrintestinal humano. Porém esta técnica possui como desvantagem a exposição do voluntário e/ou paciente à radiação ionizante por um período de tempo prolongado, além de dificuldades na obtenção e formulação de radiofármacos específicos empregados nesses estudos.⁷

Novas abordagens aos estudos com formas farmacêuticas sólidas *in vivo* vem sendo implementadas com o desenvolvimento de métodos cada vez menos invasivos e inócuos ao

indivíduo, capazes de avaliar a interação das mesmas com diferentes parâmetros fisiológicos.⁸

Nesse sentido, as técnicas biomagnéticas foram desenvolvidas para estudar propriedades dos sistemas biológicos e se destacam por serem não invasivas e livres de radiação ionizante. Para detectar os campos magnéticos associados com a atividade biológica ou para monitorar formas farmacêuticas magneticamente marcadas *in vivo*, geralmente emprega-se o SQUID (*Superconducting Quantum Interference Device*).^{8,9} Porém, este equipamento possui um alto custo operacional e requer um ambiente magneticamente blindado, o que inviabiliza sua utilização em larga escala.

A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC), por sua vez, é uma técnica biomagnética que vem sendo refinada e demonstrou acurácia para estudar motilidade do trato gastrintestinal.¹⁰ Além disso, despontou como uma técnica alternativa na pesquisa farmacêutica e foi empregada em diversos estudos para avaliar comprimidos e cápsulas *in vitro* e no trato gastrintestinal humano.¹⁰⁻¹³ A BAC utiliza bobinas de indução para registrar variações de fluxo magnético obtido a partir da resposta de um material ferromagnético (ferrita) ingerido, através da aplicação de um campo magnético alternado no meio biológico.

Outra importante técnica de imagem já consagrada e promissora para estudos aplicados à tecnologia farmacêutica é a Ressonância Magnética (RM), que se destaca das demais por apresentar excelente resolução espacial e capacidade de mapear detalhes de contraste em diferentes tecidos. Estas características favorecem estudos envolvendo formas farmacêuticas com o trato gastrintestinal humano, proporcionando uma visualização *in vivo* mais nítida não apenas da forma farmacêutica, mas também da região anatômica onde esta se encontra, proporcionando mais detalhes entre a forma farmacêutica e a região de absorção.¹⁴

Entretanto, o potencial desta técnica ainda não foi amplamente explorado nesta área e há poucos estudos que, na maioria das vezes, avaliaram *in vitro* comprimidos constituídos por polímeros hidrofílicos.¹⁵⁻²¹ Em relação aos estudos *in vivo*, Steingoetter et. al.^{16,17} avaliaram a performance intragástrica de comprimidos gastro-retentivos *in vitro* e *in vivo* utilizando formas farmacêuticas de liberação lenta que apresentavam em sua composição partículas de magnetita (F_3O_4) (atuando como meio de contraste negativo em T_1) e gadolínio pulverizado.^{16, 17} Os agentes de contraste são utilizados para provocar realce de contraste entre diferentes estruturas presentes nas imagens e são classificados em artificiais e naturais.

Em Ressonância Magnética, o meio de contraste artificial mais utilizado é o gadolínio, um oligoelemento metálico (lantânico trivalente) ideal por possuir sete elétrons não pareados.²²

Tal elemento também é um íon metálico, e possui um alto tempo de retenção no organismo. Sendo assim, é necessária a utilização de substâncias com afinidade por íons metálicos que se liguem à molécula de gadolínio com o intuito de torná-la inócua ao organismo humano ou minimizar seus efeitos e tempo de retenção.²² Essas substâncias são designadas como quelatos e fixam alguns locais disponíveis do íon metálico. Um quelato comumente usado é o ácido triaminopentacético (DPTA). O DPTA fixa oito dos nove locais de ligação do íon gadolínio, deixando o nono livre para a aproximação das moléculas de água ao centro paramagnético. Pela fixação do oligoelemento metálico iônico gadolínio pelo quelato DPTA, é formado o Gd-DPTA (gadopentano). Este é um meio de contraste hidrossolúvel relativamente seguro para RM. A molécula de gadopentano tem duas cargas negativas que tem de ser contrabalançadas em solução por dois íons meglumina positivamente carregados, tornando-a iônica.²²

Outro meio de contraste é o Gd-HP-DO3A (gadoteridol), em que as cargas foram balanceadas para produzir um meio de contraste não iônico. A estrutura do ligante HP-DO3A difere daquela do DPTA por ser macrolítica, proporcionando maior estabilidade e menor tendência à liberação do átomo tóxico do gadolínio. Alguns quelatos disponíveis incluem Gd-DPTA-BMA (gadodiamida), derivado não iônico do Gd-DPTA, e Gd-DOTA, molécula macrolítica iônica.²²

Quando utilizados na dose adequada, os efeitos colaterais dos quelatos de gadolínio são mínimos em relação àqueles dos contrastes iodados, entretanto já houve relatos de reações anafiláticas relacionadas à introdução de gadolínio no corpo. Além disso, em algumas situações que incluem distúrbios hematológicos, gravidez, período de lactação, distúrbios respiratórios, asma e história de alergia anterior, é necessário cautela na administração deste elemento.²²

Em sentido contrário, os agentes de contraste naturais, administrados por via oral, possuem grandes vantagens e potencial de aplicação. Dentre essas vantagens incluem-se, principalmente, o baixo custo destes produtos em relação aos meios de contraste comercializados e as mínimas reações adversas.²³⁻²⁷

Os produtos naturais já avaliados como meio de contraste em RM foram: amora-preta (*Rubus spp*), blueberry (*Vaccinium sp.*), beterraba (*Beta vulgaris*), ameixa (*Prunus domestica*), abacaxi (*Ananas comosus*), maçã (*Malus domestica*), uva (*vitis sp.*), extrato de

erva-mate (*Ilex paraguayensis*) e açai (*Euterpe olerácea*).²³⁻²⁷ Em relação aos primeiros, Espinosa et al.²⁴ compararam as concentrações de cobre, zinco e manganês, e discutiram a possibilidade de tais elementos atribuírem um caráter paramagnético aos mesmos, aumentando assim o potencial destes produtos como meio de contraste oral. Neste estudo a amora-preta obteve destaque, apresentando um importante realce positivo nas imagens *in vitro* e *in vivo* quando ponderadas em T₁ e negativo quando ponderadas em T₂. Entretanto tal realce pode ser limitado de acordo com o tempo de exposição ao meio ácido, o que a torna um meio de contraste pH-dependente.²⁴

O extrato de erva-mate (*Ilex paraguayensis*) possui alta concentração de manganês, e provavelmente devido a isso, também demonstrou *in vitro* e *in vivo* potencial como contraste oral em imagens do trato gastrintestinal. Como a amora-preta, o padrão do contraste apresentado foi compatível com as características dos demais produtos naturais previamente avaliados, ou seja, sinal hiperintenso em T₁ e hipointenso em T₂.²⁵

Córdova-Fraga et al.²⁶, compararam *in vitro* o contraste apresentado por solução de sulfato ferroso, solução de manganês, cobre e ferro associados, água, gadolínio e açai (*Euterpe Olerácea*). Os resultados mostraram que o açai produziu um contraste de intensidade compatível ao apresentado pelo gadolínio, o que reforça a tese de que diversos compostos paramagnéticos presentes em alta concentração nesta fruta confira-a um caráter paramagnético, apesar da susceptibilidade da fruta não apresentar paramagnetismo. No mesmo experimento *in vivo*, o açai demonstrou a mesma característica no estômago humano, sendo visualizado claramente por apresentar sinal hiperintenso nas imagens quando ponderadas em T₁ e hipointenso em T₂.²⁶

Dentre os produtos naturais avaliados e que demonstraram contraste satisfatório em imagens do trato gastrintestinal, o açai (*Euterpe Olerácea*) é o mais comumente encontrado no Brasil, e possui alta concentração de ferro, cobre e manganês, que podem contribuir para um maior contraste na imagem.²⁴⁻²⁷

Neste sentido, para obter novas abordagens em estudos de formas farmacêuticas sólidas no trato gastrintestinal humano, o presente estudo tem como objetivo explorar as vantagens apresentadas pela RM empregando-a no estudo da desintegração de comprimidos, utilizando o açai como meio de contraste.

2. Objetivos

Este trabalho teve como objetivo principal empregar a Ressonância Magnética (RM) para avaliar o processo de desintegração de comprimidos, associando uma técnica de imagem não invasiva e livre de radiação ionizante à utilização de um produto natural de baixo custo, visando:

- Avaliar e quantificar *in vitro*, o processo de desintegração em três classes diferentes de comprimidos contendo açaí como agente de contraste por meio das imagens obtidas por RM;
- Avaliar e quantificar o processo de desintegração no estômago humano de comprimidos confeccionados a base do superdesintegrante croscarmelose e açaí como agente de contraste natural;

No intuito de otimizar a qualidade da imagem, objetivou-se:

- Estabelecer a quantidade de açaí que otimize o contraste e quais os melhores parâmetros para seqüências de pulsos que proporcionem qualidade de imagens razoáveis e seguras para avaliar a desintegração em um equipamento de RM com campo de 0,5 Tesla.

3. Materiais e métodos

3.1 – Ressonância Magnética

A RMN está baseada na medida da magnetização resultante devido a núcleos que possuem momento de dipolo magnético (momento angular ou rotação - *spin*) não nulo. Esses se caracterizam por sua tendência de alinhar-se a um campo magnético externo aplicado. Apesar de outros núcleos (F^{19} , P^{13} e C) apresentarem essa propriedade, o hidrogênio é o núcleo ativo mais usado em RM devido a sua alta abundância isotrópica e alta concentração no tecido biológico, além de seu próton solitário lhe proporcionar um momento magnético relativamente grande.²⁸

A aplicação do campo magnético externo (B) em uma substância contendo núcleos de hidrogênio, como a água, induz nos *spins* um movimento denominado precessão. Este movimento tem seu eixo alinhado de acordo com a orientação de B , e no caso do hidrogênio, existem duas configurações possíveis: *spins* paralelos ao campo (configuração paralela) ou *spins* antiparalelos ao campo (configuração antiparalela).²⁹ Em termos de energia, o campo externo provoca a “abertura dos estados degenerados”, isto é, a separação em dois distintos níveis de energia (paralelo - menos energético ou fundamental e antiparalelo - excitado).²⁹

Em termos clássicos, na presença do campo externo B , os *spins* precessionam na frequência de Larmor, $\omega = \gamma B$. A razão giromagnética, γ , é característica de cada núcleo. A aplicação de um pulso de radiofrequência (RF), geralmente perpendicular à direção de magnetização, provoca uma forte absorção de energia pelos *spins* como fruto da ressonância. Em termos energéticos, a RF produz uma transição entre o nível paralelo e antiparalelo, com consequente absorção de energia pelo tecido.²⁸

Após o pulso de RF, o sistema retorna para a configuração inicial (transição ou volta entre estados antiparalelos para paralelo). Esse processo envolve a troca de energia entre o sistema de prótons e o meio através da emissão de fótons de RF, detectados pelas bobinas externas e processados para a caracterização da imagem. Esse processo de volta ao estado de menor energia (redirecionamento ao campo externo) recebe o nome de relaxação e possui dois tempos característicos: T_1 e T_2 .²⁹

T_1 é o tempo de relaxação *spin*-rede ou tempo de relaxação longitudinal e envolve as interações entre o sistema de *spin* e a rede associada a ele. T_1 é o tempo necessário para

recuperar aproximadamente 63% da magnetização original (M_0). Já o tempo de relaxação T_2 reflete a troca de energia entre os próprios *spins*, sendo denominado tempo de relaxação *spin-spin* ou transversal. T_2 é definido como o período necessário para que a magnetização no plano x-y seja igual a 37% de M_0 após a absorção ressonante. É dependente da homogeneidade do campo externo e do campo local.²⁸ Imperfeições na homogeneidade do campo resultam no aparecimento de pequenas perturbações locais, contribuindo para a diminuição de T_2 . Por esta razão, define-se o tempo de relaxação T_2^* , que reflete as variações de dois processos independentes da não-homogeneidade do campo e flutuações locais devido à vizinhança.²⁸

Cada tecido apresenta tempos de relaxação (T_1 e T_2) bem característicos, propriedade que é explorada para se obter maior contraste nas imagens de RM. Desta forma, na geração de imagens são medidas as propriedades físicas características (T_1 e T_2) dos diferentes tecidos, além da densidade de prótons de hidrogênio. Desse modo, imediatamente após a indução por um pulso de rádio - frequência, a amplitude do sinal decai segundo o processo de relaxação transversal. Esse padrão de decaimento da magnetização na bobina receptora é conhecido como FID (*free induction decay*) composto, sendo o sinal medido no plano transversal x-y proveniente de toda a amostra. É através do FID que a imagem é processada.²⁹

Porém, para que o FID contenha todas as informações necessárias para a formação da imagem, é necessário que seja codificado, isto é, criar uma relação entre intensidade de cada pixel, I_n (FID individual), e sua respectiva posição, ($I_n(x,y)$). Isto é realizado através da aplicação de sequências de pulsos específicas associadas a gradientes de campo magnético empregados para a codificação da posição espacial de cada elemento de volume e da seleção da secção transversal a ser imageada. Dentre as sequências existentes, as que são conhecidas como eco de *spins* (*Spin Echo*) ou sequências de Hahn, consistem na aplicação de dois pulsos: um de $\pi/2$ e outro de π , que propiciam a separação dos tempos de relaxação T_2 e T_2^* . A rotação induzida no vetor magnetização depende, então, da intensidade do campo e do tempo (t') de aplicação do campo de RF.²⁸

Os principais componentes de uma sequência de pulso são os tempos de repetição (TR) e de eco (TE). O TR é o tempo existente entre a aplicação de dois pulsos de RF. É medido em milissegundos (ms) e determina o grau de relaxamento que pode ocorrer entre o término da aplicação de um pulso de RF e a aplicação do pulso seguinte. Já o TE é o tempo

que vai da aplicação do pulso de RF ao pico máximo de sinal induzido na bobina receptora, e determina o grau de declínio da magnetização transversa. Os TR e TE influem fortemente na qualidade da imagem e são explorados no sentido de produzir contraste entre elementos distintos.²⁹

Neste trabalho todas as medidas foram realizadas no setor de Ressonância Magnética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – FMB, UNESP, que dispõe de um equipamento de Ressonância Magnética Nuclear de 0,5 T (Signa Contour, GE).

3.2 Medidas de Contraste

Estas medidas foram realizadas com dois objetivos distintos. O primeiro foi definir qual tipo de açaí (*Euterpe olerácea*) em pó seria utilizado na obtenção dos comprimidos, pois o estudo dispunha de dois produtos diferentes, o especial (0% de gordura) e o comum (com gordura), ambos cedidos pela Anidro do Brasil – Grupo Centroflora (Botucatu, SP).

Foram utilizados frascos de vidro numerados (figura 1) e um recipiente retangular também de vidro com capacidade para 5 litros, dividido em quatro compartimentos iguais (figura 2).

As seguintes concentrações com os dois tipos de açaí em pó foram avaliadas: 0.05g/10ml, 0.1 g/10ml, 0.15 g/10ml, 0.2 g/10ml, 0.3 g/10ml, 0.4 g/10ml, 0.5 g/10ml, 0.6 g/10ml, 0.7 g/10ml, 0.8 g/10ml, 0.9 g/10ml, 1.0 g/10ml, 1.5 g/10ml e 2,0 g/10ml.

Além das diluições de açaí, foram avaliados dois frascos como controle, um com água e outro com ácido gadotérico.



Figura 1 – Frascos com diferentes diluições de açai em pó especial (0%de gordura).



Figura 2 – Disposição dos frascos no recipiente.

O segundo objetivo foi escolher as sequências de pulso mais apropriadas para o estudo. Em relação as sequências de pulso, após uma análise visual prévia frente as várias sequências empregadas (*Gradiente echo* T_1 , *spin echo* T_1 e T_2 , *fast spin echo* T_2), dois tipos foram selecionadas para avaliação devido ao tempo mais curto de execução e a melhor relação sinal ruído (parâmetro diretamente relacionado à qualidade das imagens): SE (*spin echo*) T_1 e FSE (*fast spin echo*) T_2 . Em ambas as sequências foram realizadas 11 medidas com diferentes valores de TR (tempo de repetição) e TE (tempo de eco), para encontrar o par adequado ao experimento (Tabela 1 e Tabela 2), ou seja, os melhores parâmetros que

forneçam o melhor contraste proporcionado pelo açaí. Os valores de campo de visão (21 cm), NEX (2) e matriz (192 x 160) foram mantidos por não interferirem no padrão do contraste.

Tabela I – Avaliação dos valores de TR e TE em sequências de pulso SE ponderadas em T₁. Em vermelho indica o par que apresentou melhor contraste.

Medida	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
TR MS	100	200	200	300	400	400	400	550	650	700	800
TE ms	15	15	10	15	15	20	40	15	15	15	15

Tabela II – Avaliação dos valores de TR e TE em sequências de pulso FSE ponderadas em T₂. Em vermelho indica o par que apresentou melhor contraste.

Medida	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
TR MS	2000	2000	2000	2500	3000	3000	3500	4000	4000	4500	5000
TE MS	90	100	110	115	115	117	117	117	120	120	110

Outro “parâmetro” analisado frente a qualidade da imagem foi em relação as bobinas de radiofrequência. Empregaram-se dois tipos: **HEAD** - bobina de volume do tipo “gaiola” comumente utilizada na aquisição de imagens intracranianas e **QD BODY-FLEX II** – bobina de superfície do tipo flexível utilizada em exames onde a anatomia examinada possua um diâmetro superior a 30 centímetros, como tórax e abdome.

O recipiente contendo os frascos com as diluições de açaí foi preenchido por água e posicionado dentro das bobinas de radiofrequência avaliadas, sendo em seguida levado ao isocentro do magneto onde as imagens foram obtidas.

Dentre as bobinas de radiofrequência avaliadas, a HEAD foi superior a QD BODY FLEX II em todas as avaliações *in vitro*, o que se justifica devido a HEAD ser uma bobina de volume do tipo “gaiola”, o que confere as imagens um de sinal menos intenso, no entanto, mais homogêneo quando comparada as bobinas de superfície como a QD BODY FLEX II. Essa homogeneidade é importante, pois permite que sejam efetuadas imagens com fatias mais finas e CDV menor.

Por isso, as medidas de contraste e de desintegração *in vitro* foram realizadas na bobina HEAD. Entretanto devido as limitações de espaço, não foi possível posicionar a região abdominal dos voluntários no interior da mesma, sendo necessária a utilização da QD BODY FLEX II nas medidas *in vivo*. Isso explica as alterações de CDV e espessura das fatias nestas medidas.

3.3 – Medidas de desintegração *in vitro*

Nesta etapa as medidas foram efetuadas de acordo com os parâmetros obtidos nas medidas de contraste. Foram avaliadas três classes de comprimido, cada lote contendo dez comprimidos obtidos por compressão direta em matriz oblonga de 20 mm de comprimento e prensa manual, aplicando-se força de compressão de 5 kN. Esses comprimidos foram revestidos por uma solução de polímero pH - independente (Opadry TM, Colorcon do Brasil Ltda.).

A diferença entre as três classes está no tipo de desintegrante empregado: croscarmelose, crospovidona, e efervescente. Os comprimidos eram compostos de:

- **0.50 g** de açaí especial a 0% de gordura
- **0.30 g** croscarmelose sódica ou crospovidona ou efervescente
- **15 g** celulose microcristalina (aglutinante)
- **0,05 g** estearato de magnésio

Um comprimido (placebo) foi utilizado como controle, sendo elaborado sem açai em pó de acordo com a formulação a seguir:

- **0.70 g** croscarmelose sódica (desintegrante)
- **0.15 g** celulose microcristalina (aglutinante)
- **0,05 g** estearato de magnésio

Nestas medidas foi utilizado um recipiente de vidro semelhante ao das medidas de contraste, diferindo-se apenas pela ausência das divisões internas, a fim de viabilizar a introdução de béquer com capacidade para 200 ml em seu interior, onde foram introduzidos os comprimidos para avaliação da desintegração. Em cada medida foi avaliado um comprimido de acordo com o procedimento descrito abaixo e demonstrado na figura 3:

- Ao recipiente de medida foram adicionados 3 litros de água aquecida (37° C) e um suporte para o béquer com 200 ml de água (37° C), para viabilizar a dissolução da camada de revestimento, onde os comprimidos foram introduzidos (um por vez) para a realização das medidas.
- Foram adquiridas imagens empregando a sequência escolhida a partir dos resultados obtidos pelo procedimento descrito no item 3.2 (medida de contraste). A sequência de pulso foi a SE T1 (TR 650ms – TE 15 ms). Para cada comprimido foram realizadas 8 medidas com 12 cortes de 5 mm de espessura, a fim de avaliar o processo de desintegração (figura 4).

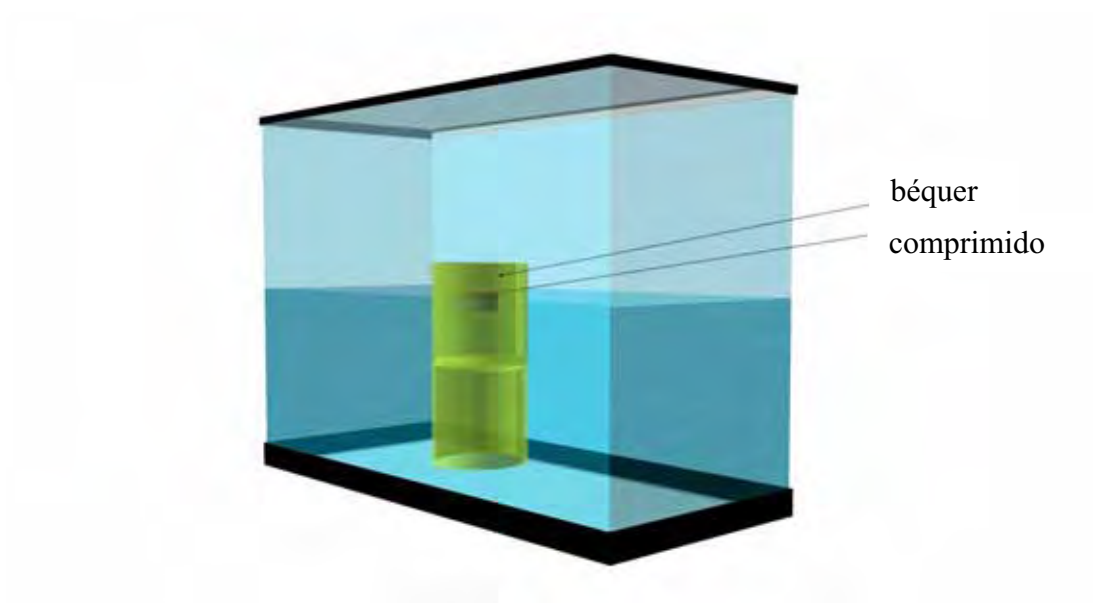


Figura 3 – Esquema representando uma medida de desintegração *in vitro*

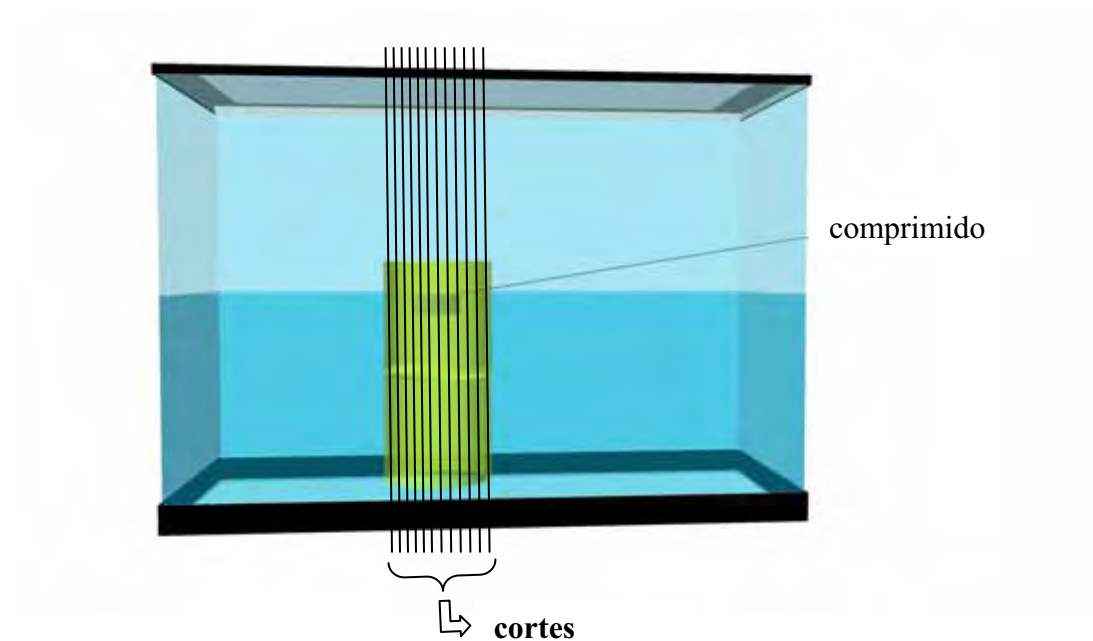


Figura 4 – Esquema representando o posicionamento dos cortes em uma medida desintegração *in vitro*.

3.4 - Medidas de desintegração *in vivo*.

Estas medidas foram realizadas com a colaboração de oito voluntários saudáveis de ambos os sexos, com idade entre 18 e 30 anos que estavam em jejum prévio de 4 h. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu e realizado mediante assinatura de um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, que continha todas as informações a respeito do estudo.

Para tais medidas foi realizado um delineamento experimental detalhado a seguir:

- 30 minutos antes do início das medidas foi ministrada nos voluntários uma dose 10mg (1 comprimido) de Buscopan[®] (butilbrometo de escopolamina). Em seguida, os voluntários que estavam em jejum prévio de 4 h, ingeriram 400 ml de água com o objetivo de distender o estômago e facilitar a visualização dos comprimidos em seu interior.
- Depois disso, os voluntários foram posicionados no equipamento de RM no interior da bobina de superfície *BODY FLEX II* (que os envolveu na região abdominal superior).
- Já posicionados no equipamento, os voluntários ingeriram os comprimidos e uma série de sequências foi aplicada.

Assim como nas medidas *in vitro*, estas também foram efetuadas em sequências de pulso SE T1 (TR 650ms – TE 15 ms), entretanto como a bobina de radiofrequência utilizada não foi a mesma, o tempo gasto em cada medida foi de 4 minutos, pois alguns parâmetros foram alterados no intuito de manter uma relação sinal ruído satisfatória. Para cada comprimido foram realizadas 8 aquisições de 4 minutos de duração. Cada sequência continha 10 cortes. Por inspeção visual foram selecionados os cortes que continham imagem do comprimido para análise do processo de desintegração.

3.5 - Análise dos Dados

3.5.1 – Quantificação da intensidade do sinal

A intensidade de sinal apresentada pelas diluições nas diferentes medidas foi quantificada com o auxílio de uma ferramenta denominada ROI (*Region of interest* – região de interesse) presente no software do equipamento de RM utilizado e que confere valores numéricos de intensidade do sinal nas áreas selecionadas (figura 5).



Figura 5 – Utilização da ROI em uma medida feita com açá especial e ponderada em FSE T₂ TR 4000ms - TE 117ms.

O processo de desintegração dos comprimidos *in vitro* foi quantificado de duas maneiras. A primeira, de acordo com a diminuição da área dos comprimidos, aferida por uma ROI sobre a imagem do comprimido (Figura 6a).

O tempo de desintegração foi obtido pelo T_{1/2}, que consiste na diminuição de 50% da área da primeira quantificação dos comprimidos. A análise estatística foi realizada pela média e erro padrão dos valores obtidos.

A segunda quantificação foi realizada pela média da intensidade de sinal apresentada nas medidas realizadas com uma ROI sobre a imagem referente ao béquer inteiro em cada um dos 12 cortes presentes nas medidas (figura 6b). Em cada medida, as imagens com sinal mais intenso foram selecionadas, para que por meio destas fossem obtidos os valores de média, erro padrão e T₅₀.

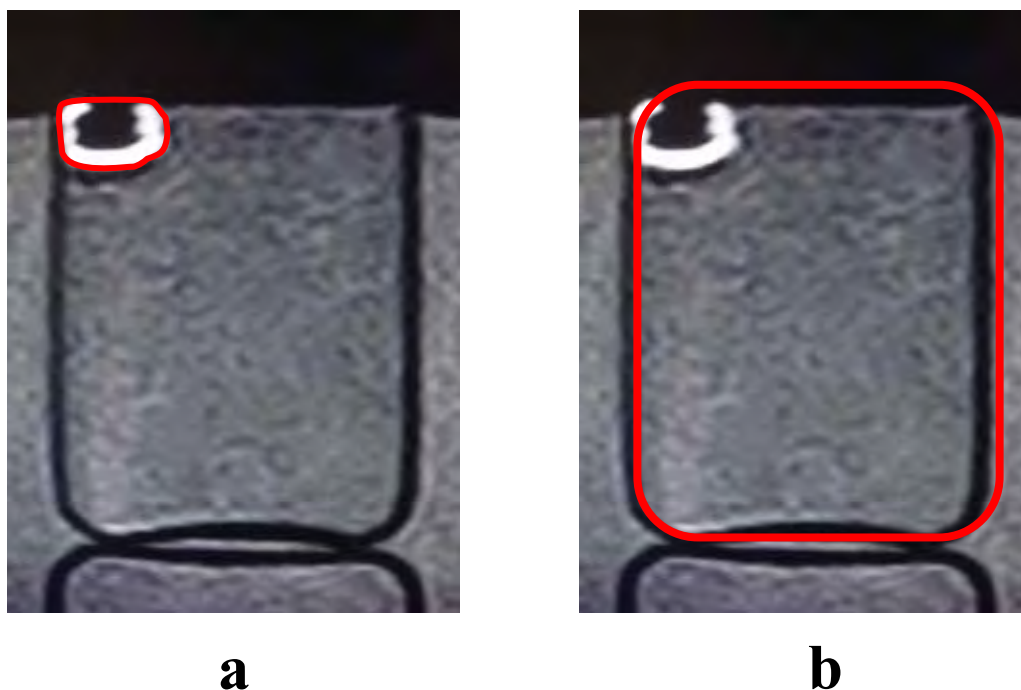


Figura 6 – Quantificação das medidas de desintegração *in vitro*; a) área do comprimido, b) intensidade de sinal sobre todo o béquer.

3.5.2 – Quantificação da desintegração *in vivo*

O processo de desintegração dos comprimidos *in vivo* foi quantificado apenas pela diminuição da área dos mesmos, conforme realizado nas medidas *in vitro*. O tempo de desintegração foi dado pelo $T_{1/2}$, e a análise estatística também foi realizada pela média e erro padrão.

4. Resultados

4.1 – Medidas de Contraste

4.1.1 - Açai em pó

A figura 7 ilustra uma imagem na seqüência T1 dos fantasmas com diferentes concentrações de açai especial sem gordura. Observa-se que o contraste aumenta com o aumento da concentração. Um fantoma de água e outro de gadolínio também estão ilustrados para efeito de comparação.

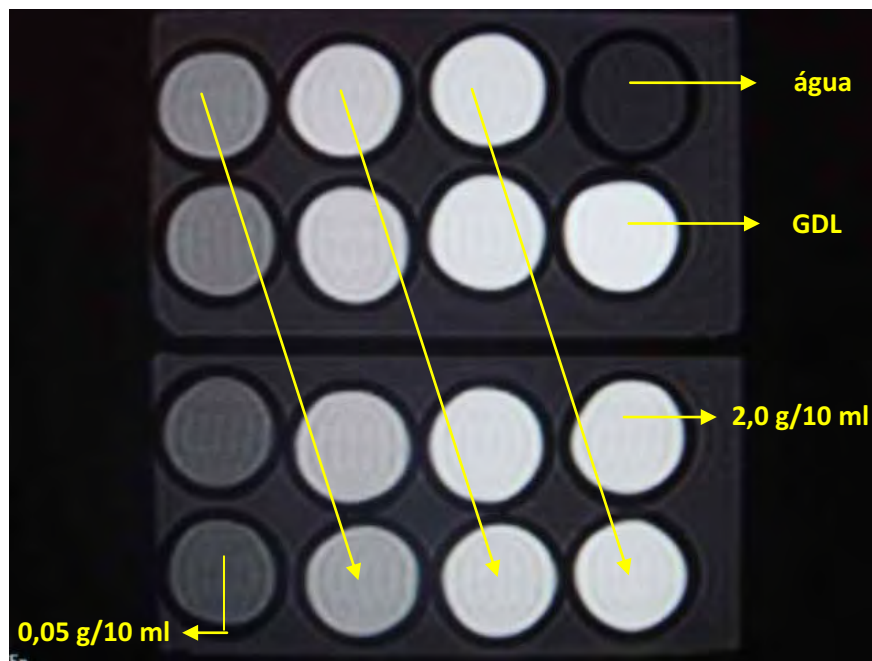


Figura 7 – Medida de contraste demonstrando as diluições de pó de açai especial na seqüência SE T₁ com TR 650ms – TE 15ms.

A figura 8 ilustra imagens dos mesmos fantasmas obtidos na seqüência T2. Nota-se que com o aumento da concentração de açaí provoca uma diminuição da intensidade do sinal de RM.



Figura 8 – Medida de contraste com pó de açaí especial na seqüência FSE T₂ TR 4000ms – TE 117ms.

A partir das figuras 7 e 8, a intensidade dos sinais devido a cada fantoma foi quantificada (ROI no centro de cada fantoma) frente à concentração do açaí. As figuras 9 e 10 ilustram este comportamento para T₁ e T₂, respectivamente.

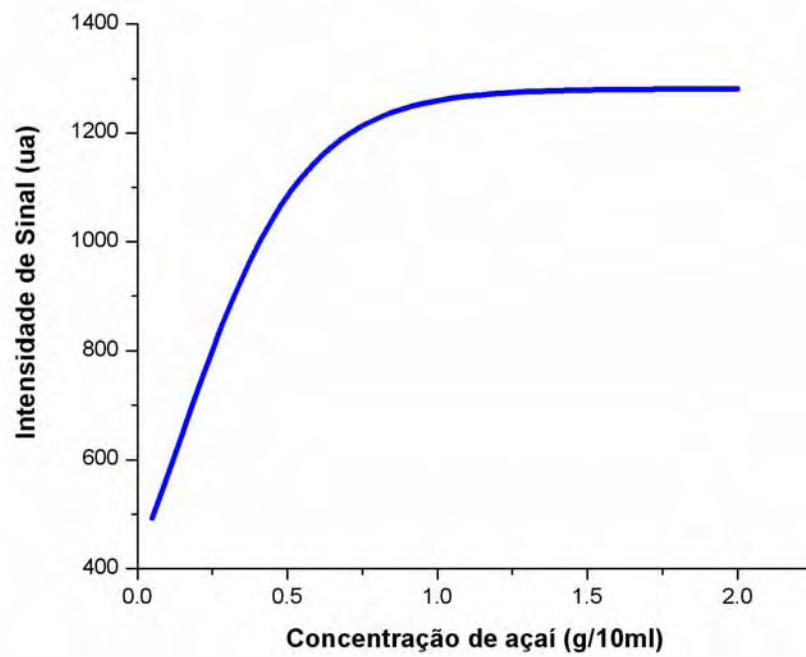


Figura 9 – Intensidade de sinal (ua) em função da concentração de pó de açaí especial diluído em água (g/10mL) na seqüência SE T_1 TR 650ms – TE 15ms.

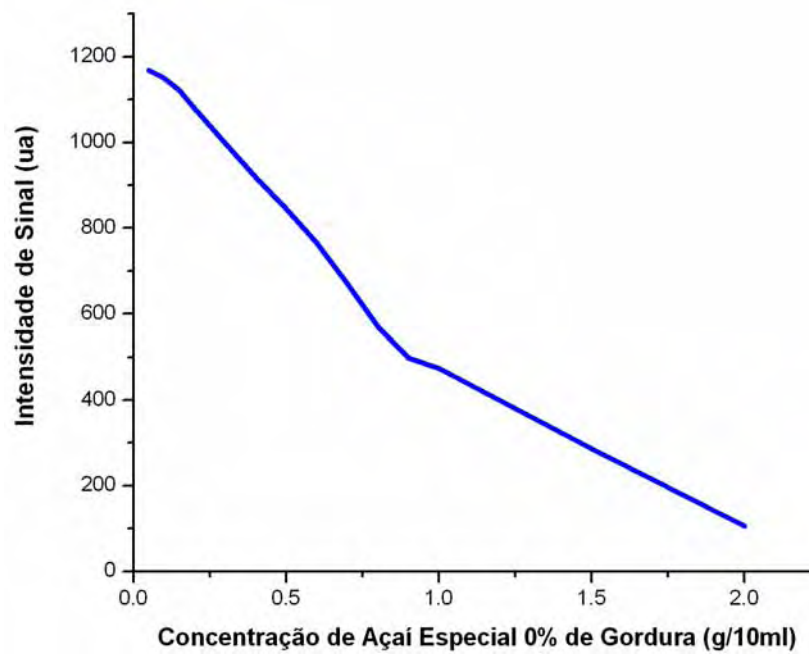


Figura 10 – Intensidade de sinal em função da concentração de pó de açaí especial diluído em água (g/10mL) na seqüência FSE T_2 TR 4000ms – TE 117ms.

O mesmo procedimento de quantificação foi realizado sobre as imagens em T1 e T2 obtidas para fantasmas com açaí comum com gordura e são ilustradas nas figuras 11 e 12, respectivamente.

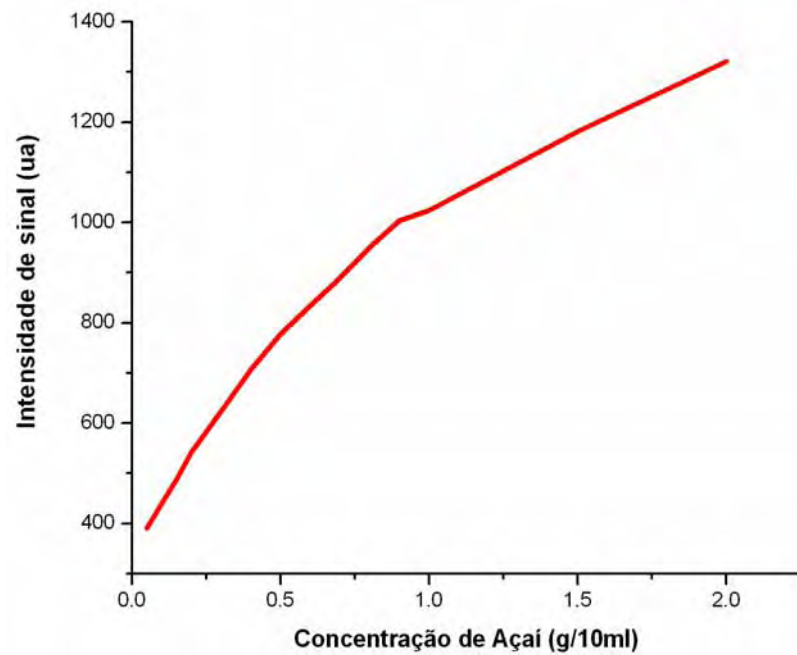


Figura 11 - Intensidade de sinal em função da concentração de pó de açaí comum diluído em água (g/10ml) na seqüência SE T₁ TR 650 ms- TE 15ms.

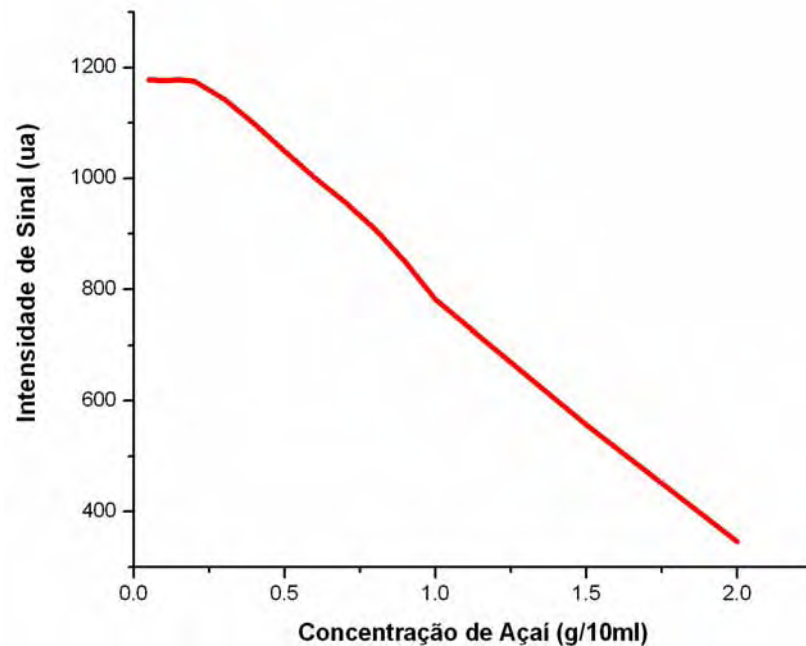


Figura 12 - Intensidade de sinal em função da concentração de pó de açaí comum diluído em água (g/10ml) na seqüência FSE T_2 TR 4000ms – TE 117ms.

Os dados representados nas figuras acima mostram um comportamento semelhante para os dois tipos de açaí avaliados. Porém, principalmente T1, a amplitude do contraste é maior para o açaí sem gordura, especialmente para baixas concentrações e em T2 esse comportamento se inverte, isto é, existe uma queda mais forte no sinal com o aumento da concentração, determinando um maior contraste.

Outro ponto importante que esses resultados fornecem é quanto a quantidade de açaí que deve ser empregada na confecção dos comprimidos. Considerando que numa preparação da forma farmacêutica, a massa do agente de contraste deve ser a mais baixa possível, e que ao mesmo tempo forneça um contraste que melhore a relação sinal/ruído, a comparação entre as figuras 9 e 11 e 10 e 12 fornecem importante informação para a tomada de decisão. Desta forma, escolheu-se confeccionar comprimidos com 0,5 g de açaí, aceitável para os padrões farmacotécnicos e em termos de qualidade da imagem. Diante desses resultados, o açaí sem gordura foi empregado em todas as medidas com comprimido.

4.2 – Medidas de desintegração *in vitro*

4.2.1 – Quantificações dos comprimidos de croscarmelose:

A figura 13 ilustra um exemplo de quantificação pela área em uma imagem ponderada em T_1 , onde se observa que com o processo de desintegração o comprimido diminui de tamanho e conseqüentemente a medida da área representa este processo. Nota-se também o reforço no contraste fornecido pelo açai em contato com a água. O gráfico representa o valor da área nos três instantes distintos correspondentes.

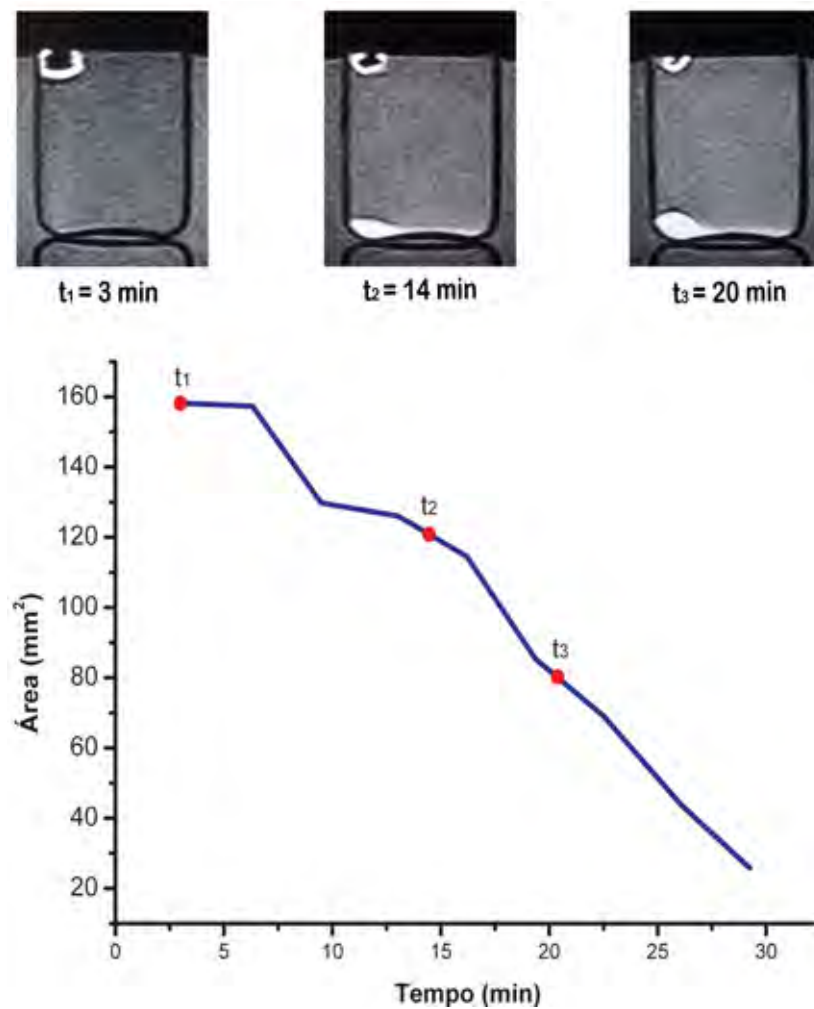


Figura 13: Imagens e representação gráfica de uma medida de desintegração *in vitro* ponderada SE T_1 TR 650ms – TE 15ms.

A quantificação geral para cada comprimido do tempo de desintegração ($T_{1/2}$) obtidos através da quantificação pela área sobre as imagens em T_1 foi 15 ± 0.3 minutos. A figura 14 ilustra o comportamento médio para todos os comprimidos. Observa-se que o erro aumenta para pequenas áreas, indicando uma maior variabilidade do processo de quantificação e da própria desintegração.

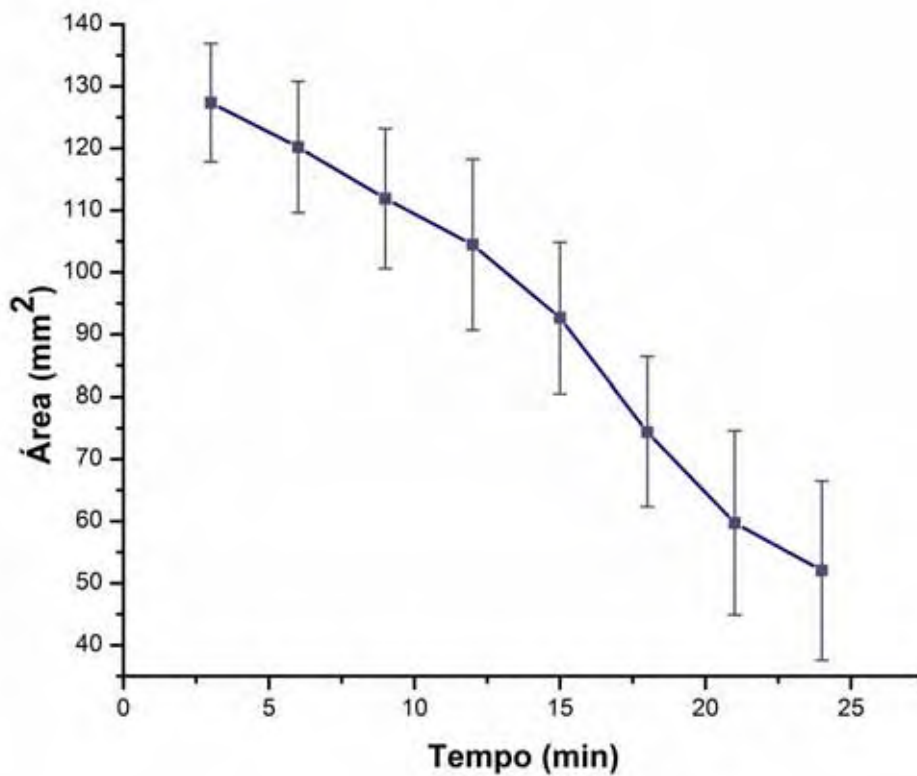


Figura 14 – Representação gráfica da média da variação da área dos comprimidos com croscarmelose nas medidas *in vitro* (SE T_1 TR 650ms – TE 15ms). As barras verticais demonstram o erro padrão entre a área dos comprimidos nos mesmos instantes das medidas.

A figura 15 ilustra os valores médios (com respectivos erros padrão) obtidos para todos os comprimidos quantificados pelo contraste medido sobre cada imagem, tomando a intensidade do sinal de RM em todo o recipiente.

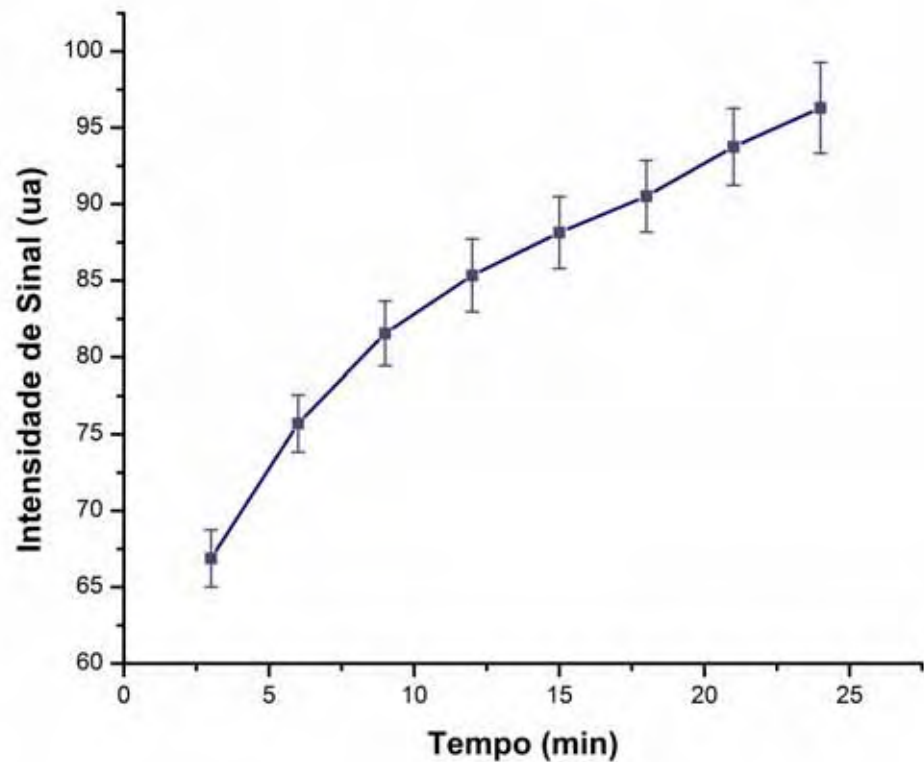


Figura 15 – Representação gráfica da média de variação da intensidade de sinal no interior dos recipientes utilizados nas medidas *in vitro* (SE T_1 TR 650ms – TE 15ms) utilizando comprimidos de croscarmelose. As barras verticais demonstram o erro padrão entre a intensidade de sinal nos diferentes instantes das medidas.

A quantificação pelo contraste foi realizada em termos do tempo de aumento de 50% na variação do contraste T_{50} . O valor médio para os comprimidos de croscarmelose foi de 9 ± 0.3 minutos.

Foram realizadas medidas com comprimidos em seqüência ponderadas em T_2 . A figura 16 ilustra um exemplo de seqüência de imagens onde se observa que nesta seqüência também é possível visualizar o processo de desintegração através da diminuição do tamanho da forma farmacêutica e do reforço negativo do açaí sobre a água. Porém, quando comparado as medidas em T_1 existe um menor contraste e resolução do comprimido, principalmente em torno da borda. Isto pode ser melhor avaliado na comparação com a figura 13 (modo T_1). Desta forma, as imagens ponderadas em T_2 apresentam qualidade inferior às obtidas por T_1 . Por este motivo, todas as quantificações foram realizadas apenas em T_1 .

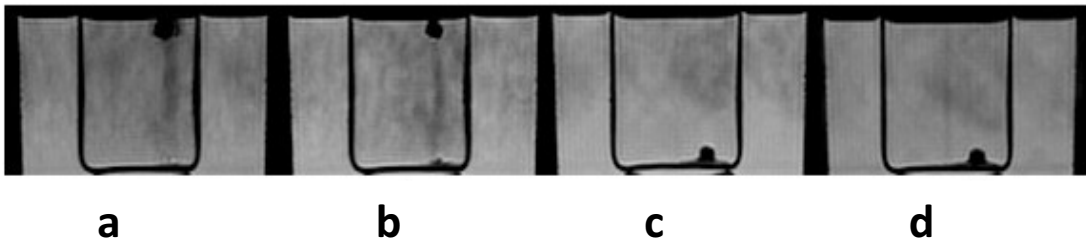


Figura 16 - Sequência de imagens em FSE T_2 TR 4000ms – TE 117ms.

4.2.2 - Quantificações das medidas com crosprovidona

Para este tipo de comprimido foram realizadas medidas sobre seqüência de imagens ponderadas em T_1 e quantificado a área e a intensidade (contraste) do sinal de RM. A figura 17 mostra a média dos resultados obtidos pela área. O tempo de desintegração médio ($T_{1/2}$) para os comprimidos de crosprovidona foi de 13.5 ± 1.1 minutos.

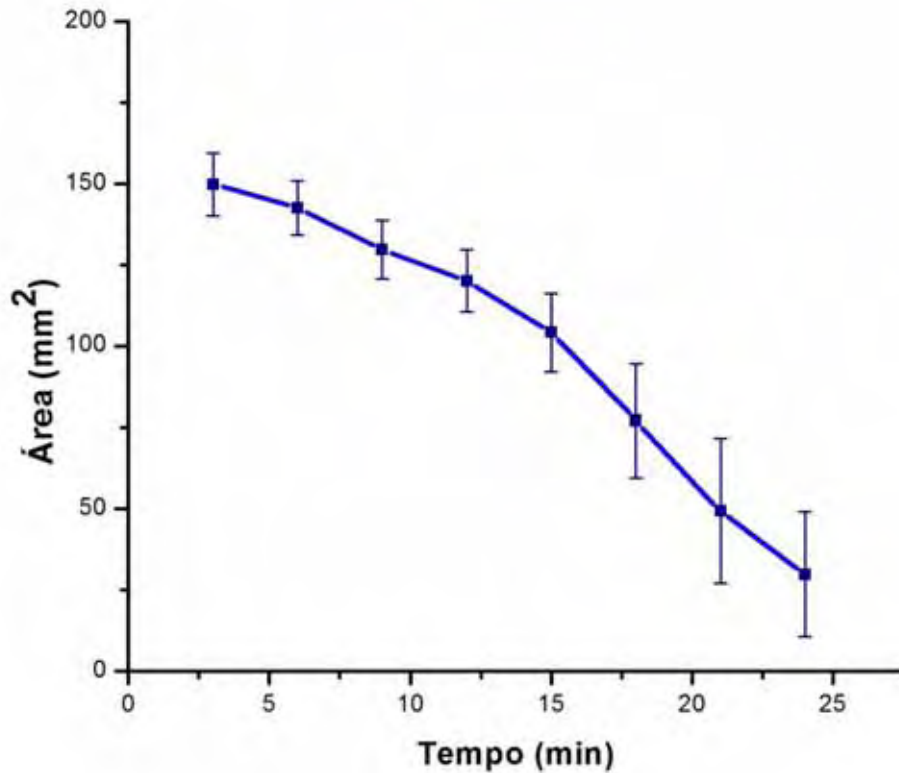


Figura 17: Média dos resultados obtidos pela área em relação ao tempo em minutos em medidas com comprimidos de crosprovidona.

A figura 18 ilustra o resultado médio para a quantificação pela intensidade. O tempo médio para o T_{50} foi de 9 ± 0.3 minutos.

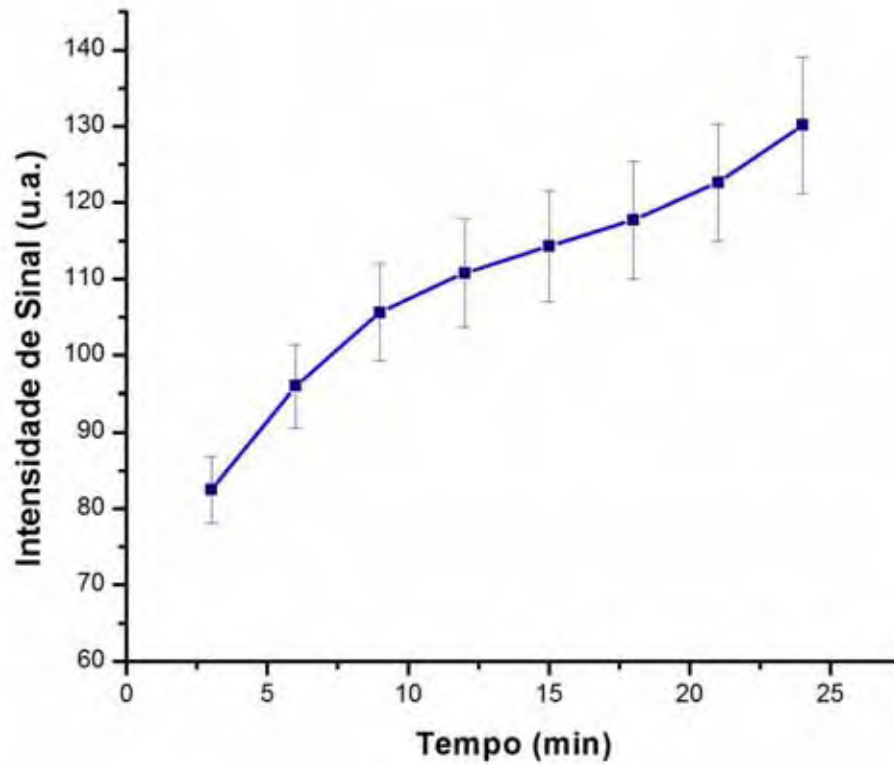


Figura 18 – Média dos resultados obtidos pela intensidade de sinal em relação ao tempo em minutos em medidas com comprimidos de crospovidona.

4.2.3- Quantificação das medidas com comprimidos efervescentes

Para este tipo de comprimido foram realizadas medidas sobre as seqüências de imagens ponderadas em T_1 e quantificado a área e a intensidade (contraste) do sinal de RM. A figura 19 mostra a média dos resultados obtidos pela área. O tempo de desintegração médio ($T_{1/2}$) para os comprimidos efervescentes foi de 5.7 ± 0.17 minutos.

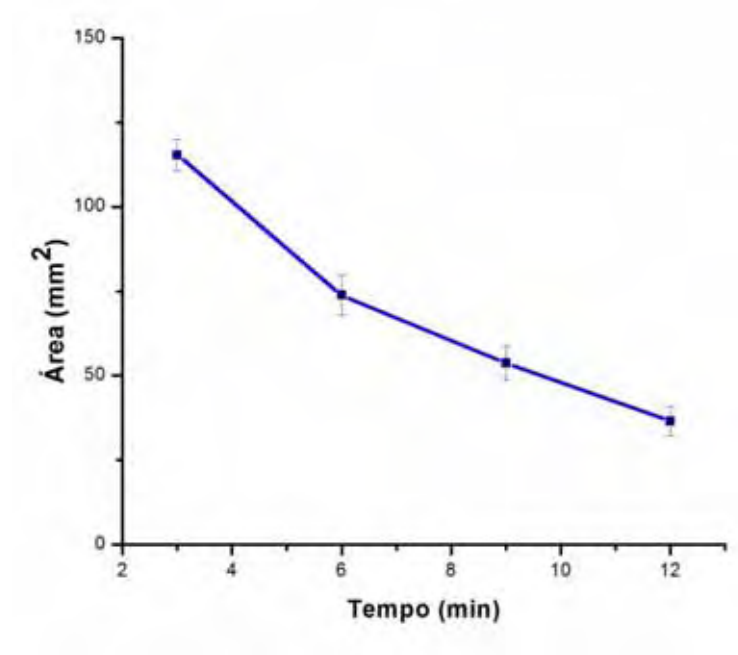


Figura 19 - Média dos resultados obtidos pela área em comprimidos efervescentes.

A figura 20 ilustra o resultado médio para a quantificação pela intensidade. O tempo médio para o T_{50} foi de 5.25 ± 11 minutos.

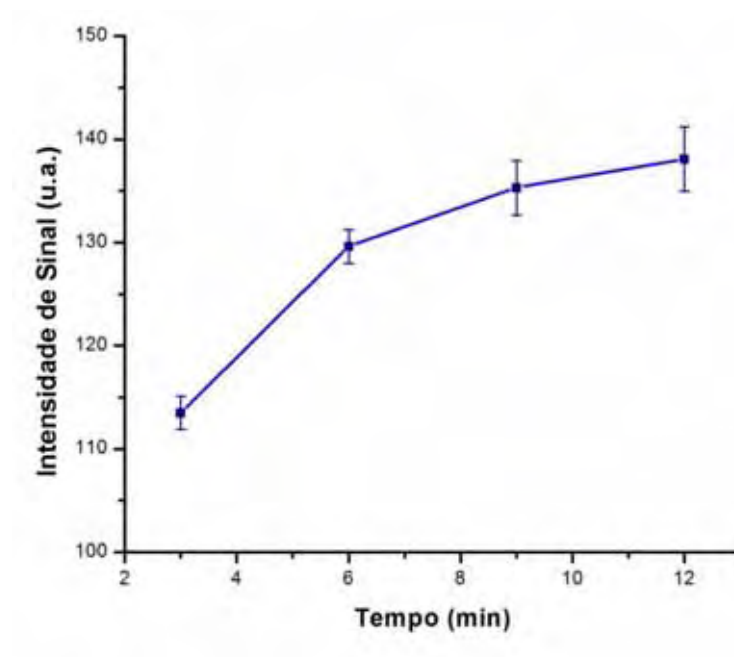


Figura 20 – Média dos resultados obtidos pela intensidade de sinal em comprimidos efervescentes.

A tabela III ilustra o resultado geral obtido para todos os comprimidos e quantificações. Observa-se que houve uma diferença significativa entre os tempos de desintegração $T_{1/2}$ para os comprimidos de mistura efervescente e croscarmelose ou crospovidona ($p < 0,01$). Porém não existe diferença significativa entre os dois superdesintegrantes croscarmelose e crospovidona ($p > 0,7$). Nota-se uma maior regularidade para os comprimidos de croscarmelose (menor erro padrão).

Tabela III - Resultado geral obtido para todos os comprimidos e quantificações.

Comprimido	$T_{1/2}$	T_{50}	$T_{1/2}$	T_{50}	$T_{1/2}$	T_{50}
	Crospovidona min.	Crospovidona min.	Croscarmelose min.	Croscarmelose min.	Efervescente min.	Efervescente min.
1	9.5	12	10.5	9	6	5.5
2	15	9	16	10	6	5
3	13	11	14	9	6	5
4	12	8	16	9	6	5.5
5	15	8	15	7.5	5.5	5
6	17	8	15	9	5	5.25
Média	13.5	9	15	9	5.7	5.25
Erro Padrão	1.1	0.7	0.3	0.3	0.17	0.11

No intuito de eliminar qualquer sinal proveniente do açaí, foram realizadas medidas “placebo”, isto é, medidas de controle em comprimidos sem açaí. As figuras 21-a e 21-b ilustram exemplos de imagem na ponderação T_1 e T_2 , respectivamente.

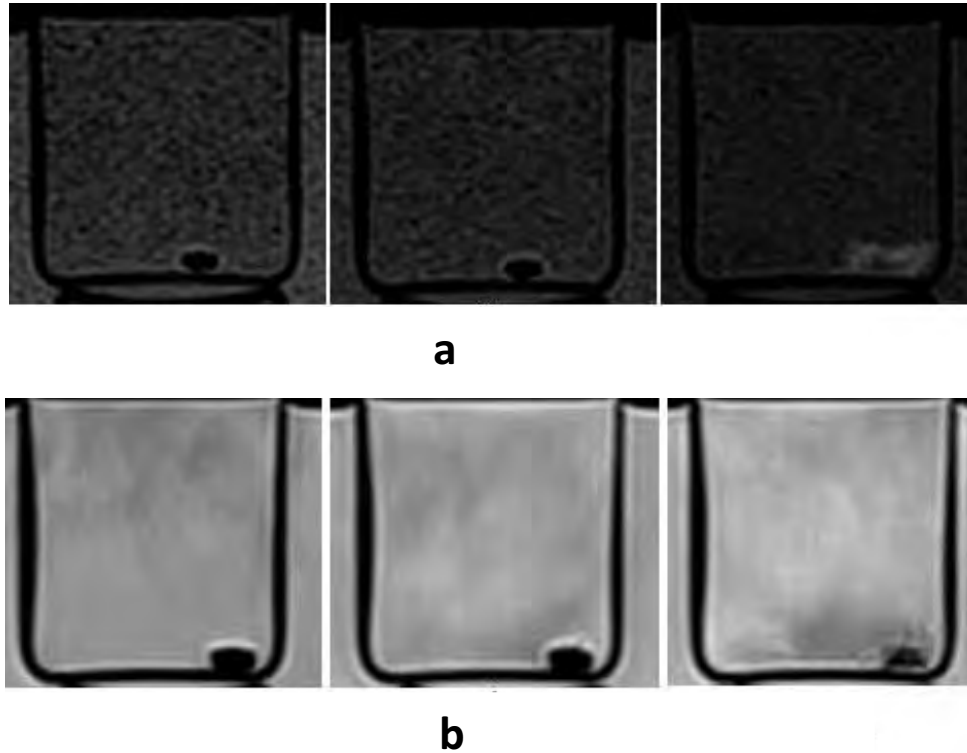


Figura 21 - a) Imagens de placebo ponderadas em T_1 ; b) imagens de placebo ponderadas em T_2 . Três instantes diferentes do processo de desintegração.

4.3 – Medidas de desintegração *in vivo*

Nas medidas *in vivo*, a quantificação foi realizada pela área, pois em termos de intensidade os resultados não são significativos, isto é, não houve mudança nos valores da intensidade (contraste). A figura 22 ilustra a curva de desintegração média para todos os voluntários.

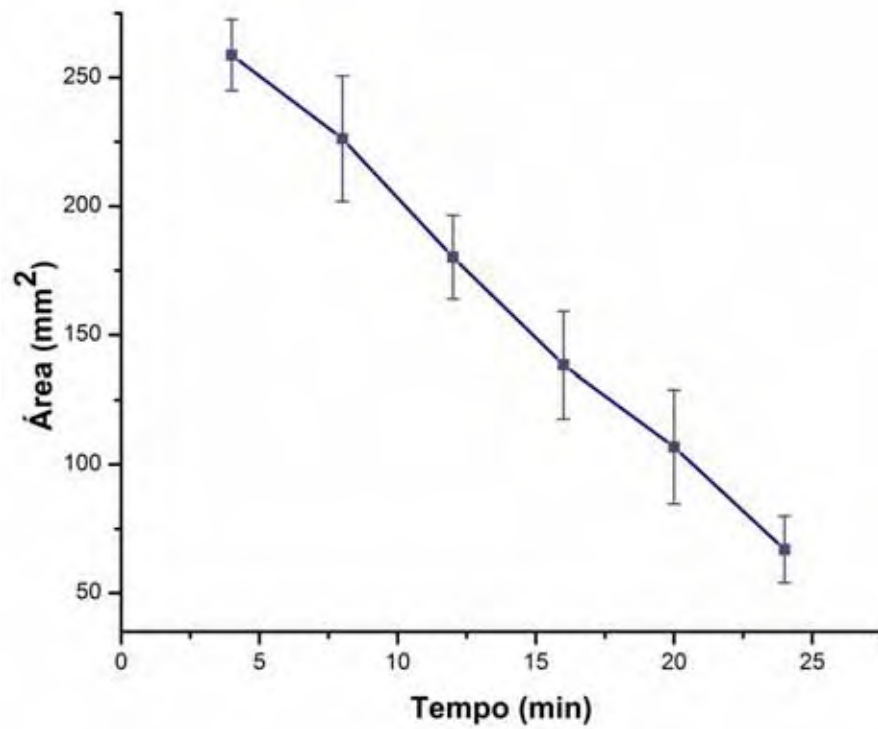
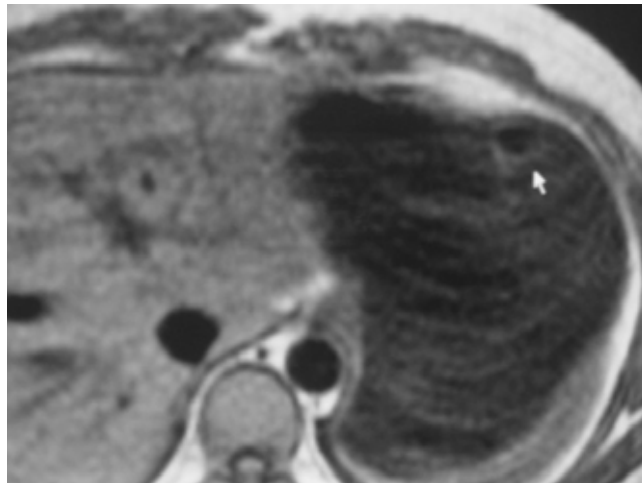
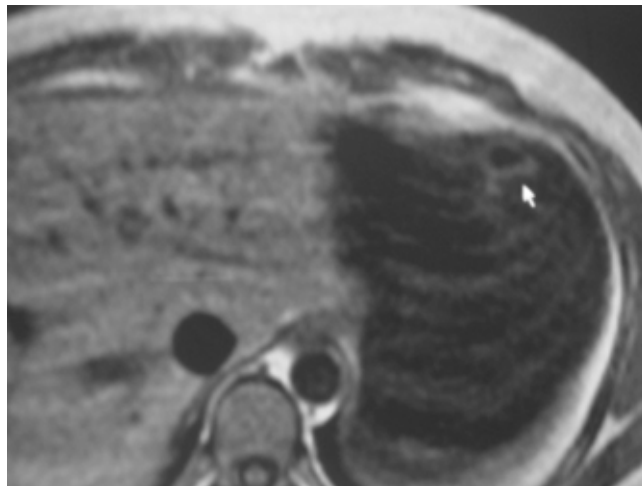


Figura 22 – Representação gráfica da média da área dos comprimidos nas medidas *in vivo* (SE T_1 TR 650 – TE 15). As barras verticais demonstram o erro padrão entre a área dos comprimidos nos correspondentes instantes das medidas.

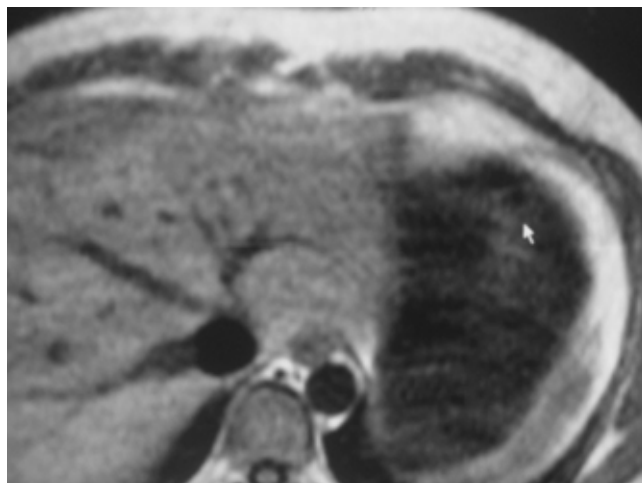
O resultado geral para o tempo de desintegração $T_{1/2}$ obtido para todos os voluntários foi de 14 ± 1 minuto. A figura 23 apresenta um exemplo de sequência de imagem onde nota-se o comprimido em diferentes etapas do processo de desintegração.



4 minutos



10 minutos



16 minutos

Figura 23 - Imagens demonstrando a evolução de uma medida *in vivo* (SE T₁ TR 650ms – TE 15ms), onde é possível observar a diminuição da área do comprimido (ponta das setas) em função do tempo.

5. Discussão

Atualmente diversos produtos naturais são estudados como meio de contraste em Ressonância Magnética (RM). Espinosa et al.²⁴ estudaram os seguintes produtos: amora-preta (*Rubus spp*), blueberry (*Vaccinium sp.*), beterraba (*Beta vulgaris*), ameixa (*Prunus domestica*), abacaxi (*Ananas comosus*), maçã (*Malus domestica*), uva (*vitis sp.*) e relataram que as concentrações de metais (ferro, cobre e manganês) estão relacionadas com a eficiência dos mesmos como meio de contraste, conferindo as amostras características paramagnéticas, apesar de serem diamagnéticas. Destaque para a amora-preta, que apresentou um importante realce positivo nas imagens *in vitro* e *in vivo* quando ponderadas em T1 e negativo quando ponderadas em T2 e ao mesmo tempo, apresentou maior conteúdo em ferro quando comparada as demais amostras.²⁴

Da mesma forma, Nestle et al.²⁵ demonstraram *in vitro* e *in vivo* o potencial do extrato de erva mate (*Ilex paraguayensis*) como agente de contraste oral para RM, atribuindo este potencial a presença de manganês.²⁵

Os meios de contrastes sintéticos produzidos a partir de soluções contendo íons metálicos como gadolínio, manganês, cobre e ferro geralmente levam a efeitos colaterais quando administrados por via oral.²⁷ As maiores vantagens dos produtos naturais utilizados como contraste oral quando comparados aos contrastes artificiais referem-se à baixa toxicidade, melhor palatabilidade e baixo custo.^{25, 27}

Possuindo todas essas vantagens, o açaí (*Euterpe oleracea*) uma fruta tropical típica da Amazônia, também foi relatado como um importante meio de contraste. Para isso, Córdova-Fraga et al.²⁶ estudaram a polpa de açaí (que possui grande quantidade de cobre, ferro, manganês e aproximadamente 60% de água), sugerindo que o suco de açaí possui, *in vitro*, intensidade de sinal compatível a uma solução com gadolínio e a uma solução composta por ferro, manganês e cobre. Neste estudo, os autores discutem que a polpa desta fruta, como a maioria dos compostos orgânicos e inorgânicos, é diamagnética, principalmente pelo seu percentual em água. Comparando com a susceptibilidade da água, que é $\chi = -9.90 \times 10^{-3}$, o açaí apresenta valores em torno de $\chi = -4,85 \times 10^{-6}$.²⁶ Isso confere uma característica menos diamagnética (em tendência para o paramagnetismo). Existe uma necessidade mais profunda de investigação sobre quais parâmetros são os responsáveis por esta característica, no entanto, alguns autores²⁴⁻²⁷ indicam que a presença de grande concentração de íons metálicos na amostra possa ser a principal responsável por esta

propriedade. Deste modo, quando empregado como agente de contraste em RM o açaí fornece, em contato com a água, um sinal hiperintenso em T_1 e hipointenso em T_2 .

Por outro lado, aplicação da RM em estudos com formas farmacêuticas sólidas (FFS) é recente e apresenta grande potencial para análise de diferentes parâmetros das FFS tanto *in vivo* quanto *in vitro*. Para a melhor visualização da FFS emprega-se o gadolínio em pó como agente de contraste artificial. Do ponto de vista farmacotécnico, como a biodisponibilidade do princípio ativo depende do local e do processo de desintegração¹⁻⁶, a RM pode contribuir fortemente para um melhor entendimento desses processos. Salienta-se que a localização da FFS frente a anatomia do TGI e simultânea visualização temporal contribuem para o grande potencial desta técnica de imagem.

Nesse sentido, alguns estudos demonstram apenas a viabilidade da visualização de formas farmacêuticas sólidas por RM,^{16,17} enquanto que outros avaliaram o processo de intumescimento de matrizes (polímeros hidrofílicos).^{15,18-21} Kremser et al.³⁰ avaliaram em ratos o tempo e local de liberação do princípio ativo de comprimidos e cápsulas mucoadesivo também constituídos por polímeros. Neste estudo o autor utilizou como agente de contraste gadolínio em pó (dry Gd-DTPA) nas formulações avaliadas.³⁰

O processo de desintegração de comprimidos é pouco estudado por RM. Nesse sentido, a associação com agente de contraste natural e FFS avaliadas por RM torna-se um estudo inovador, com grande potencial para diferentes aplicações.

No presente estudo, os resultados das medidas de contraste com açaí em pó comum e açaí em pó especial (0% de gordura) mostraram que ambos possuem características semelhantes. Entretanto, o açaí em pó especial apresentou um contraste mais evidente em todas as ponderações avaliadas, sendo mais intenso o sinal nas aquisições ponderadas em T_1 e menos intenso nas aquisições ponderadas em T_2 .

Os parâmetros técnicos avaliados no experimento exploraram não somente a qualidade nas imagens, mas também o tempo de execução visando obter uma boa relação custo benefício entre os dois fatores. Por isso, foram selecionadas sequências ponderadas em SE (*spin echo*) e FSE (*fast spin echo*), pois estas apresentam a melhor relação sinal ruído, resultando em imagens com boa resolução espacial, em se tratando de um equipamento de 0,5 T. As variáveis diretamente relacionadas à resolução das imagens foram mantidas em valores intermediários (matriz 192x160, CDV 21 *in vitro*/ 30 *in vivo*, NEX 2 e espessura das fatias 5mm *in vitro*/6 mm *in vivo*), pois se estes fossem ajustados

próximos aos limites máximos, as limitações do equipamento utilizado elevariam o tempo das medidas, inviabilizando o experimento.

Em relação aos tempos de repetição e eco em T_1 (TR 650 e TE 15) e T_2 (TR 4000 e TE 117), os valores foram selecionados apenas de acordo com a intensidade de sinal quantificada nas medidas de contraste. A diferença entre os tempos de execução dos demais valores avaliados para estes dois parâmetros não afetam o tempo de execução da sequência.

A escolha da quantidade de açai utilizada nas formulações também foi definida de acordo com os resultados das medidas de contraste, que demonstraram que este diminui sua razão de crescimento a partir de 500 mg. A força de compressão aplicada foi relativamente baixa (5 kN) para que quando inseridos em meio líquido os mesmos flutuassem, facilitando sua visualização *in vitro* e *in vivo*.

Neste estudo se propôs utilizar a RM para avaliar o tempo de desintegração de três diferentes formulações de comprimidos marcados com açai. Sendo que destas três, uma foi elaborada com uma mistura efervescente atuando como desintegrante. As outras duas foram elaboradas com superdesintegrantes mais comumente utilizados (croscarmelose e crospovidona). Esses produtos auxiliaram o processo de desintegração tornando-o mais eficiente, o que os torna importantes excipientes na obtenção de comprimidos. Atuam por diferentes mecanismos, incluindo a expansão das partículas e efeitos de capilaridade (croscarmelose e crospovidona), interações partícula-partícula e desintegração por camadas.
4,5,6

Os resultados das medidas de desintegração *in vitro* permitiram uma visualização nítida dos comprimidos caracterizada pela presença de um halo de sinal hiperintenso ao redor dos mesmos nas seqüências SE T_1 (figuras 6 e 13) e um núcleo sem sinal tanto em T_1 quanto em T_2 . Isso ocorreu devido ao contato do açai com a água de açai. Nas medidas de controle (placebo – figura 21), este reforço não aparece, demonstrando que o açai trabalha como agente de contraste. Esta característica também foi observada nas medidas em ponderação FSE T_2 , entretanto nesta seqüência o açai promove contraste negativo nas imagens, caracterizado por áreas de hiposinal, porém de qualidade e intensidade relativa menor que a apresentada em T_1 .

Em todas as formulações avaliadas na ponderação SE T_1 , o padrão apresentado foi muito semelhante. Nota-se no início do processo de desintegração um aumento de intensidade ao redor do comprimido em função do acoplamento açai e água. Com o processo de desintegração ocorrendo, o açai se difunde na água e também deposita no fundo

do recipiente. Isto promove um aumento do contraste em todo o recipiente e com simultâneo sinal hiperintenso no fundo do recipiente.

Para avaliar o processo de desintegração o principal parâmetro escolhido foi a área sobre a FFS. Com uma imagem bem delimitada em decorrência do reforço no contraste promovido pelo açai, a quantificação segura pela área fornece uma avaliação direta deste processo, pois a desintegração coloca em disponibilidade os excipientes em contato com a água e com isso a área é modificada. Desta forma, em semelhança a outros trabalhos empregando cintilografia e técnicas biomagnéticas,⁷⁻¹³ o tempo de desintegração, $T_{1/2}$, foi definido em função da curva de decaimento da área no tempo. Por outro lado, a quantificação por intensidade, mais fortemente dependente do açai como agente de contraste, depende não apenas do processo de desintegração como também da difusão do açai na água.

Desta forma, optou-se por definir outro parâmetro, T_{50} , que fornece informação da desintegração, mas não é unicamente dependente deste processo. A quantificação pela intensidade mostra que, em todas as três FFS avaliadas, existe um período inicial em que o contraste aumenta fortemente com conseqüente diminuição da taxa de crescimento, tendendo a atingir um valor de saturação. Este comportamento e uma simples escolha de T_{50} (tempo para atingir a metade do aumento em contraste) favorecem a uma diminuição média deste parâmetro quando comparado ao $T_{1/2}$ dentro de cada classe de comprimido. Um tratamento destes sinais através da modelagem por função exponencial pode fornecer melhores resultados e aumentar a correlação entre estes dados.

Comparando o tempo de desintegração $T_{1/2}$ e o T_{50} obtidos para os três diferentes comprimidos, observa-se que não existe diferença significativa entre os comprimidos com croscarmelose e crosprovidona ($p=0,94$, $p=0,76$ para $T_{1/2}$ e o T_{50} , respectivamente). Porém, na comparação de ambos com o comprimido efervescente, foi observado uma forte diferença nos parâmetros $T_{1/2}$ ($p<0,01$) e o T_{50} ($p<0,05$), indicando que para este tipo de comprimido a desintegração ocorre de forma mais rápida. Dados semelhantes em experimentação em animais, utilizando Gd-DTPA como agente de contraste, foram obtidos por Kremser et al.³⁰

Para a quantificação das medidas *in vivo* foi empregado o método da variação da área. A quantificação pela intensidade (contraste) não forneceu uma relação sinal/ruído satisfatória, isto é, não foi observado aumento significativo de contraste provocado pelo açai em todo o conteúdo gástrico. O tempo de desintegração obtido nessas medidas foi em média

5 minutos menor que para os mesmos tipos de comprimidos nas medidas *in vitro*. Esta diferença reforça a idéia de que o processo de desintegração é afetado pela motilidade do órgão, pH e temperatura, mesmo com o emprego de butilbrometo de escopolamina (Buscopan[®]), utilizado para minimizar artefato de movimento.

6. Conclusão

Este estudo foi realizado em um equipamento de 0,5 T, o qual possui fortes limitações principalmente em relação ao tempo de aquisição das imagens, importante para o estudo de processo dependente do tempo, como a desintegração. Considerando que existe uma relação inversa entre resolução temporal e espacial, o emprego de sequência mais rápida compromete a qualidade da imagem e com isso a avaliação da desintegração. No entanto, os resultados obtidos demonstram que o emprego do açaí como agente de contraste natural em FFS é uma alternativa viável, de baixo custo, apresenta fácil manipulação e sem prejuízo a saúde, podendo ser utilizado em medidas *in vitro* e *in vivo*. Desta forma, este estudo possibilitou:

- Escolher o melhor produto (açaí desidratado com e sem gordura) para emprego como agente de contraste em RM;
- Demonstrar que nestas condições, o açaí proporcionou melhores imagens ponderadas em T_1 do que em T_2 ;
- Caracterizar o processo de desintegração *in vitro*, principalmente através da medida do $T_{1/2}$, em comprimidos contendo três diferentes desintegrantes: croscarmelose, crospovidona e mistura efervescente;
- Visualizar e quantificar o processo de desintegração de comprimidos contendo o desintegrante croscarmelose e açaí sem gordura;

Assim, a associação de açaí como agente de contraste natural em RM (técnica de imagem não-invasiva e desprovida de radiação ionizante) para analisar comprimidos é uma alternativa original e segura. Como consequência deste estudo, novas abordagens podem ser realizadas utilizando diferentes FFS ou comparações entre diferentes formulações sólidas. Além disto, o emprego de equipamento com alto campo pode proporcionar melhor resolução temporal e espacial, fornecendo melhores condições e precisão para analisar FFS de liberação controlada associando a região anatômica com a absorção do princípio ativo.

7. Referências bibliográficas

- 1 - WILKINSON, G.R. Farmacocinética: Dinâmica da Absorção, da Distribuição e da Eliminação dos Fármacos, In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRO, L.E. Goodman and Gilman's as bases farmacológicas da terapêutica. 9ed. Rio de Janeiro: *Mc Graw-hill*, 1996. 3-24p.
- 2 - JIVRAJ, M.; MARTINI, L.G.; THOMSON, C.M. An overview of the different excipients useful for the direct compression of tablets. *Pharm. Sci. Tech. Today*, v.3(2), p.58-63, 2000.
- 3 - MELIA, C.D.; DAVIS, S.S. Review article: mechanisms of drug release from tablets and capsules. In: Disintegration. *Aliment. Pharmacol. Therap.*, v.3, p.223-232, 1989.
- 4 - COLOMBO, P. et al. Disintegrating force and tablet properties. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, v. 7, p.135-153, 1981.
- 5 - CAMELLA, C. et al. Disintegrants in solid dosage forms. *Drug. Develop. Ind. Pharm.*, v. 16, p. 2561-2577, 1990.
- 6 - LIN, K.-H.; LIN, S.-Y.; LI, M.-J. Compression forces and amount of outer coating layer affecting the time-controlled disintegration of the compression-coated tablets prepared by direct compression with micronized ethylcellulose. *J. Pharm. Sci.*, v. 90, p. 2005-2009, 2001.
- 7 - WILDING, I.R.; COUPE, A.J.; DAVIS, S.S. The role of g-scintigraphy in oral drug delivery. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, v.46, p.103-124, 2001.
- 8 - HU, Z.; MAWATARI, S.; SHIBATA, N.; TAKADA, K.; YOSHIKAWA, H.; ARAKAWA, A.; YOSHIDA, Y. Application of a Biomagnetic Measurement System (BMS) to the evaluation of gastrointestinal transit of intestinal pressure-controlled colon delivery capsules (PCDCs) in human subjects. *Pharm. Res.*, v.17(2), p.160-167, 2000.
- 9 - WEITSCHIES, W.T.; KOSCH, O.; MFNNIKES, H.; TRAHM, L. Magnetic marker monitoring: an application of biomagnetic measurement instrumentation and principles for the determination of the gastrointestinal behavior of magnetically marked solid dosage forms. *Adv. Drug Deliv. Reviews*, v.57, p.1210-1222, 2005
- 10 - CORÁ, L.A.; AMÉRICO, M.F.; OLIVEIRA, R.B.; BAFFA, O.; MORAES, D.R.; ROMEIRO, D.F.G.; MIRANDA, J.R.A. Disintegration of magnetic tablets in human stomach evaluated by alternate current biosusceptometry. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v.56, p. 413-420, 2003.
- 11 - CORÁ, L.A.; ROMEIRO, F.G.; STELZERA, M.; AMÉRICO, M.F.; OLIVEIRA, R.B.; BAFFA, O.; MIRANDA, J.R.A. AC biosusceptometry in the study of drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v.57, p.1223-1241, 2005.

- 12 - CORÁ, L.A.; ROMEIRO, F.G.; AMÉRICO, M.F.; OLIVEIRA, R.B.; BAFFA, O.; STELZER, M.; MIRANDA, J.R.A. Gastrointestinal transit and disintegration of enteric coated magnetic tablets assessed by ac biosusceptometry. *Eur. J. Pharm. Sci.*, v.27, p.1-8, 2006.
- 13 - CORÁ, L.A.; ANDREIS, U.; ROMEIRO, F.G.; AMÉRICO, M.F.; OLIVEIRA, R.B.; BAFFA, O.; MIRANDA, J.R.A. Magnétic images of the disintegration processo of tablets in the human stomach by ac biosusceptometry. *Phys. Med. Biol.*, v.50, p.5523-5534, 2005.
- 14 - SCHMID, M.R.; HANY, T.F.; KNESPLOVA, L.; SCHLUMTF, R.; DEBATIN, J.F. 3D MR gastrography: exoscopic and endoscopic analysis of the stomach. *Eur. Radiol.* v.9, p.73-77, 1999.
- 15 - KWIECINSKI, S.; WEYCHERT, M.; JASINSKI, A.; KULINORUSKI, P.; WAWER, I.; SISIERADZKI, E. Tablet disintegration monitored by magnetic resonance imaging. *Appl. Magn. Reson.*, v.22, p.23-29, 2002.
- 16 - STEINGÖETTER, A.; KUNZ, P.; WEISHAUPT, D.; MADER, K.; LENGSELD, H.; THUMSHIRN, M.; BOESIGER, P.; FRIED, M.; SCHWIZER, W. . Magnetic Resonance Imaging for the *in vivo* Evaluation of gastric-retentive Tablets. *Pharm. Res*, v. 20, n.12, 2003a.
- 17 - STEINGÖETTER, A.; KUNZ, P.; WEISHAUPT, D.; MADER, K.; LENGSELD, H.; THUMSHIRN, M.; BOESIGER, P.; FRIED, M.; SCHWIZER, W. Analysis of the meal-dependent intragastric performance of a gastric-retentive tablet assessed by magnetic resonance imaging. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, v.18, p.713-720, 2003b.
- 18 – BAILE W. E.; MALVEAU C.; ZHU X. X.; MARCHESSAU R. H. . NMR Imaging of high-Amylose Starch Tablets. 1. Swelling and Water Uptake. *Biomacromolecules*, v.3, p.214-218, 2002.
- 19 – THÉRIEN-AUBIN H.; BAILE W. E.; ZHU X. X.; MARCHESSAU R. H. . Imaging of High-Amylose Starch Tablets. 3. Initial Difusion and Temperature Efects. *Biomacromolecules*, v.6, p.3367-3372, 2005.
- 20 – MELIA C. D.; RAJABI-SIAHBOOMI A. R.; BOWTELL R. W. . Magnetic Resonance Imaging of controlled release pharmaceutical dosage forms. *Pharm. Sci. Tech. Today*, V.1, N.1, P. 32-39, 1998.
- 21 - RICHARDSON, J.C.; BOWTELL, R.W.; MADER, K.; MELIA, C.D. Pharmaceutical applications of magnetic resonance imaging (MRI). *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v.57, p.1191-1209, 2005.
- 22 – WESTBROOK, C.; KAUT, C. *Ressonância Magnética Prática*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2000. 252p.
- 23 - KARANTANAS, A. H.; PAPANIKOLAOU, N.; KALEF-EZRA, J.; CHALLA, A.; GOURTSOYIANNIS, N. Blueberry juice used per os in upper abdominal MR imaging: composition and initial clinical data. *Eur. Radiol.*, v.10, p.909-913, 2000.

- 24 - ESPINOSA, M. G.; SOSA, M.; LEON-RODRIGUEZ, L.M. de.; CORDOVA, T.; BERNAL-ALVARADO, J.; AVILA-RODRIGUES, M.; REYES-AGUILERA, J.A.; ORTIZ, J.J.; BARRIOS, F.A. Blackberry (*Rubus spp.*): a pH-dependent oral contrast medium for gastrointestinal tract images by magnetic resonance imaging. *Magn. Reson. Imag.*, v.24, p. 195-200, 2006.
- 25 – NESTLE, N.; PAULS, S.; WUNDERLICH, A.. Oral Magnetic Resonance Imaging Contrast Agent Based in *Ilex Paraguayensis* Herbal Extract. *Magn. Reson. Imag.*,v.55, p. 923-929, 2006.
- 26 - CORDOVA-FRAGA, T.; ARAUJO, D.B. de .; SANCHEZ, T.A.; ELIAS, Jr.J.; CARNEIRO, A.A.O.; BRANDT-OLIVEIRA,R.; SOSA, M. BAFFA, O. Euterpe Olerácea (açai) as an alternative oral contrast agent in MRI of the gastrointestinal system: preliminary results. *Magn. Reson. Imag.* , v.22, p. 389-393, 2004.
- 27 - ARRUDA-SANCHES, T.; TRONCON, L. E. A.; BRANDT-OLIVEIRA, R.; ELIAS Jr., J.; COLNAGO, L. A.; ARAUJO, D. B.; BAFFA, O. Preliminary Results from Clinical Application of a Natural Oral Contrast Agent in Magnétic Resonance Imaging (MRI) of the Gastrointestinal (GI) Sistem. *Proceedings of the 2005 IEEE, EGINEERING IN MEDICINE AND BIOLOGY 27th Annual Conference*, Shangai, China, September 1-4, p. 1382-1384, 2005.
- 28 - SPRAWILS,P. *Physical Principles of Medical Imaging*. 1 ed. United States of America: Aspen. p. 381-425. 1987.
- 29 – MITCHELL, D.G.; COHEN, S.C. *MRI Principles*.2 ed. United States of America: Saunders. 2004. 400p.
- 30 – KREMSER, C; ALBRECHT, K; GREINDL, M; WOLF, C; DEBBAGE, P, BERNKOP-SCHNÜRCH, A. In vivo determination of the time and location of mucoadhesive drug delivery systems disintegration in the gastrointestinal tract. *Science Direct, Magnetic Resonance Imaging*. v.26, p.638-643,2008.