

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PESQUISA E DESENVOLVIMENTO
DE FÁRMACOS E MEDICAMENTOS

**SISTEMA MULTIPARTICULADO MAGNÉTICO:
DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO *IN VIVO* ATRAVÉS DA
BIOSUSCEPTOMETRIA AC**

GISELLE FARIA OLIVEIRA

ARARAQUARA - SP
2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PESQUISA E DESENVOLVIMENTO
DE FÁRMACOS E MEDICAMENTOS

**SISTEMA MULTIPARTICULADO MAGNÉTICO:
DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO *IN VIVO* ATRAVÉS DA
BIOSUSCEPTOMETRIA AC**

GISELLE FARIA OLIVEIRA

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

ORIENTADOR: Prof. Dr. Raul Cesar Evangelista

ARARAQUARA - SP
2010

Ficha Catalográfica

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

- O48s** Oliveira, Giselle Faria
Sistema multiparticulado magnético: desenvolvimento e avaliação In Vivo através da biosusceptometria AC / Giselle Faria Oliveira. – Araraquara, 2010. 139 f.
- Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas.
Orientador: Raul Cesar Evangelista
- . 1. Sistema multiparticulado magnético. 2. Biosusceptometria AC. 3. Liberação de fármacos. 4. Quitosana. 5. Tecnologia farmacêutica. 6. Acetofalato de celulose. I. Evangelista, Raul Cesar, orient. II. Título.

615.1

CAPES: 40300005

GISELLE FARIA OLIVEIRA

Título da Tese:

**“SISTEMA MULTIPARTICULADO MAGNÉTICO:
DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO *IN VIVO* ATRAVÉS DA
BIOSUSCEPTOMETRIA AC”**

**TESE APRESENTADA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
DOUTOR**

Comissão Examinadora

- 1) Prof. Dr. Raul Cesar Evangelista**
- 2) Prof^a.Dr^a. Ana Dorís de Castro**
- 3) Prof^a.Dr^a. Cristina Helena dos Reis Serra**
- 4) Prof. Jose Ricardo de Arruda Mirando**
- 5) Prof. Osvaldo de Freitas**

Aprovado em 25 de fevereiro de 2010

Eu aprendi...

...que ignorar os fatos não os altera;

Eu aprendi...

...que quando você planeja se nivelar com alguém, apenas esta permitindo que essa pessoa continue a magoar você;

Eu aprendi...

...que o AMOR, e não o TEMPO, é que cura todas as feridas;

Eu aprendi...

...que ninguém é perfeito até que você se apaixone por essa pessoa;

Eu aprendi...

...que a vida é dura, mas eu sou mais ainda;

Eu aprendi...

...que as oportunidades nunca são perdidas; alguém vai aproveitar as que você perdeu.

Eu aprendi...

...que quando o ancoradouro se torna amargo a felicidade vai aportar em outro lugar;

Eu aprendi...

...que não posso escolher como me sinto, mas posso escolher o que fazer a respeito;

Eu aprendi...

...que todos querem viver no topo da montanha, mas toda felicidade e crescimento ocorre quando você esta escalando-a;

Eu aprendi...

...que quanto menos tempo tenho, mais coisas consigo fazer.

WILLIAM SHAKESPEARE

Agradecimentos Especiais

Às pessoas especiais que a vida me concedeu:

Ao meu marido André, que mais uma vez me apoiou, incentivou e principalmente teve paciência para que tudo pudesse ser concluído.

O amor, é difícil para os indecisos. É assustador para os medrosos. Avassalador para os apaixonados! Os vencedores no amor são os fortes. Os que sabem o que querem e querem o que têm! Sonhar um sonho a dois, e nunca desistir da busca de ser feliz, é para poucos!!

Aos meus filhos, Felipe e Ana Luiza, que são o que faz tudo valer à pena.

"Ser mãe é se inundar de gratidão por tudo que se recebe e se aprende com o filho, pelo crescimento que ele proporciona, pela alegria profunda que ele dá."

Aos meus avôs Olga e Armando (em memória), pelo apoio, carinho, por sempre acreditarem e torcerem por mim e principalmente por terem sido os pilares da minha vida.

Aos meus pais, Luiz Antônio e Olga, pelo carinho, por terem despertado em mim o interesse pela pesquisa científica, e principalmente, pelo apoio incondicional e incentivo em todos os momentos da minha vida.

"Os nossos pais amam-nos porque somos seus filhos, é um fato inalterável. Nos momentos de sucesso, isso pode parecer irrelevante, mas nas ocasiões de fracasso, oferecem um consolo e uma segurança que não se encontram em qualquer outro lugar." (Bertrand Russell)

Aos meus irmãos, Ricardo e Alexandre, pelo carinho, apoio, amizade e companheirismo.

Aos meus sogros, Vera e Eduardo, pelo carinho, amizade, compreensão e por todos estes anos de convivência.

Agradecimentos

A elaboração deste trabalho envolveu a colaboração de muitas pessoas sem as quais a sua realização seria praticamente impossível. Entre elas quero agradecer especialmente:

Ao Prof. Dr. Raul, pela oportunidade de crescimento, por acreditar que eu conseguiria mesmo diante de todos os problemas, pela amizade, incentivo e apoio.

A todos os professores do Laboratório de Farmacotécnica, Maria Palmira Daflon Gremião, Ana Dóris de Castro, Anselmo Gomes de Oliveira pelo apoio incentivo, ensinamentos, amizade e também principalmente por acreditarem em mim.

Ao Prof. José Ricardo de Arruda Miranda, pelo apoio e incentivo para que este projeto pudesse ser realizado.

A todos os alunos do laboratório de Biofísica do Instituto de Biociências do Campus de Botucatu – UNESP, por me receberem de maneira tão acolhedora.

Aos voluntários que possibilitaram que este trabalho fosse realizado o meu muito obrigado pela disposição, paciência e colaboração.

A Luciana Aparecida Corá, neste momento nem ao menos sei o que dizer pra lhe agradecer por tudo. Por me acolher em sua casa e tornar minha estadia extremamente prazerosa. Por me incentivar, ensinar. Aprendi com você mais do que você possa imaginar. Você com certeza é uma pessoa muito especial. Espero que nossos caminhos continuem se cruzando!

A Madeleine e Uilian, muito obrigado por tudo, me sinto privilegiada por ter conhecido pessoas como vocês!

Aos técnicos e funcionários do Departamento de Fármacos e Medicamentos, em especial a Margarete, Fátima, Angélica e Queila, pelo auxílio, apoio e amizade.

Aos meus colegas e amigos do Laboratório de Farmacotécnica em especial a Beatriz, Priscileila, Gustavo, Cristina F., Fernanda K., Fernanda C., Hilris, Charlene, Graziele, Flávia, Ana Luiza, Kelly, Charlene, Gabriela (Gabi), Mariana (Barbi), Ana Carla, Eliane e a todos os outros nomes que no momento posso ter esquecido, meu muito obrigado!

A Beatriz e Priscileila pelo apoio, incentivo, amizade, carinho, horas de risos e lamúrias.

“Muita gente entra e sai de nossa vida ao longo dos anos. Mas só os verdadeiros amigos ficam marcados em nosso coração.”

A todos os funcionários da portaria especialmente á Olívia e Tiana.

A todos os funcionários da biblioteca da faculdade, em especial ao Moacir, Maria Irani, Max e Ana pelo apoio, orientação e paciência.

A todas as meninas da secretaria de pós-graduação, pelo apoio, incentivo e auxílio nas horas de aflição.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho durante todos estes anos, meu muitíssimo obrigado!

RESUMO

Neste estudo foi desenvolvido um sistema multiparticulado magnético (SMM) à base de quitosana (QS), pectina (PC) e acetofalato de celulose (CAP), pelo método da coacervação complexa. O sistema contém um glicocorticóide, a triancinolona (TC), e, como material magnético, a ferrita (F). Em estudos anteriores, este SMM mostrou-se promissor para conduzir a liberação modificada de fármacos para a região colônica. Segundo análises *in vitro*, ele associou a liberação pH-dependente à liberação enzimática, típica do ambiente colônico. Entretanto, devido à complexidade do trato gastrointestinal (TGI), torna-se essencial que formas farmacêuticas desenvolvidas para liberação alvo-específica sejam avaliadas *in vivo*, para que se possa estabelecer uma correlação *in vitro/in vivo* adequada. Baseado nesses fatos, o objetivo deste trabalho foi o monitoramento do trânsito gastrointestinal (TG) do sistema proposto até sua chegada ao cólon, através de uma técnica não invasiva, livre de radiação, a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC), que pudesse avaliar o trânsito gastrointestinal (TG) do SMM em voluntários saudáveis em jejum e no estado alimentado. Foram também realizadas análises do perfil de liberação *in vivo* da TC. Os resultados obtidos mostraram que o sistema desenvolvido foi capaz de produzir campo magnético de intensidade suficiente para ser detectado e que a BAC foi capaz de monitorar o trânsito gastrointestinal do SMM até sua chegada ao cólon. O estado pós-prandial influenciou significativamente o esvaziamento gástrico, sendo o tempo médio de 107,5 min $\pm$ 43,37 min no estado de jejum e de 260min $\pm$ 67,64 min no estado alimentado. Além do esvaziamento gástrico mais demorado no estado alimentado, o trânsito pelo intestino delgado e a chegada ao cólon também foram influenciados pelo estado pós-prandial. Não foi possível estabelecer correlação entre o perfil de fármaco liberado nas análises *in vivo* com aquelas realizadas *in vitro*.

Palavras-chave: trânsito gastrointestinal, sistema multiparticulado magnético, BAC, liberação colônica de fármacos, quitosana, pectina, acetofalato de celulose.

ABSTRACT

In this study a magnetic multiparticulate system (MMS) based on chitosan (CS), pectin (PC) and cellulose acetophthalate (CAP) was developed by means of a complex coacervation method. The system contains a glucocorticoid, triamcinolone (TC), and ferrite (F) as magnetic material. In earlier studies, this MMS showed to be a promising system for modified drug release to target the colonic region. As *in vitro* analyses proved, it was able to associate pH-dependent and enzymatic controlled, typical from the colonic environment, drug releases. However, due to the complexity of the gastrointestinal tract (GIT), it is essential that pharmaceutical dosage forms developed to perform target specific drug release may be evaluated also *in vivo*, in order to establish an adequate *in vitro/in vivo* correlation. Based on these issues, the aim of this work was the monitoring of the gastrointestinal transit (GT) of the proposed system until it reaches the colon, by means of a non-invasive, radiation free technique, namely the Alternate Current Biosusceptometry (ACB), which could evaluate the MMS transit in healthy volunteers both in fasting and fed states. Analyses of the *in vivo* TC release profile were also carried out. The results showed that the developed system was able to generate magnetic field strong enough to be detected and that ACB was efficient to monitoring the MMS transit until its arrival in the colon. The postprandial state influenced significantly the gastric emptying, being $260.0 \text{ min} \pm 67.64 \text{ min}$ the mean time for the fed state and $107.5 \text{ min} \pm 43.37 \text{ min}$ for the fasting state. Additionally to a longer gastric emptying time, the transit within the small intestine and the arrival in the colon were also influenced by the postprandial state. It was not possible to establish a valid *in vivo/in vitro* correlation between the drug released profiles.

Keywords: gastrointestinal transit, magnetic multiparticulate system, BAC, colonic drug release, chitosan, pectin, cellulose acetate phtalate.

LISTA DE ABREVIATURAS

BAC – Biosusceptometria AC

CAP – acetoftalato de celulose

CAPTC100 – complexo polieletrólítico formado por PC:QS:CAP:TC-100mg

CAPTC200 – complexo polieletrólítico formado por PC:QS:CAP:TC-200mg

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta eficiência

CMM – Complexo mielétrico motor

CV – Coeficiente de variação

DP – Desvio padrão

F - Ferrita

FCAPTC100 – complexo polieletrólítico formado por F:PC:QS:CAP:TC-100mg

FCAPTC200 – complexo polieletrólítico formado por F:PC:QS:CAP:TC-200mg

IV - infravermelho

LD - limite de detecção

LQ - limite de quantificação

PC – Pectina

PC:QS – complexo polieletrólítico formado por PC e QS utilizadas como controle

PC:QS:TC - complexo polieletrólítico formado por PC, QS e TC utilizadas como controle

QN - Quitina

QS – Quitosana

R – Recuperação

SMM – Sistema multiparticulado magnético

TC – Triancinolona

TCC - Tempo de chegada ao cólon

TG - Trânsito gastrintestinal

TGI – Trato gastrintestinal

TRG – Tempo de retenção gástrica

TTI - Tempo de trânsito intestinal

UFC/mL – unidades formadoras de colônia

UV – ultravioleta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Diagrama do TGI.....	23
Figura 2	Motilidade gastrointestinal no período interdigestivo.....	25
Figura 3	Estrutura molecular da Quitosana.....	43
Figura 4	Estrutura química de unidades da PC.....	47
Figura 5	Representação da ligação de cálcio às seqüências de poligalacturonato da cadeia da PC.....	48
Figura 6	Estrutura molecular do acetoftalato de celulose (CAP).....	51
Figura 7	Sensor magnético constituído por dois pares de bobinas de indução.....	57
Figura 8	Esquema de funcionamento do sensor magnético.....	58
Figura 9	Estrutura molecular da TC.....	62
Figura 10	Etapas do procedimento analítico para TC.....	74
Figura 11	Esquema da grade de pontos em torno da projeção gástrica e região colônica.....	79
Figura 12	Partículas com e sem a incorporação de Ferrita, antes do processo de liofilização.....	84
Figura 13	Fotomicrografias das partículas com e sem a incorporação de Ferrita.....	85
Figura 14	Fotomicrografias eletrônicas de varredura do sistema multiparticulado.....	87
Figura 15	Distribuição do tamanho de partículas (a) CAPTC100 e (b) CAPTC200, (n=220).....	88
Figura 16	Distribuição do tamanho de partículas dos lotes (a): FCAPTC100 e (b): FCAPTC200, respectivamente.....	89
Figura 17	Dispersão dos diâmetros das partículas obtidas.....	91
Figura 18	Curva analítica de TC em metanol, obtida por CLAE em 242 nm...	92
Figura 19	Curva analítica de TC em plasma, obtida por CLAE em 242 nm.....	93
Figura 20	Cromatogramas (a) plasma antes de ser adicionado a TC e (b) plasma contendo 10 µg.mL ⁻¹ de TC.....	94
Figura 21	Espectro na região do infravermelho das partículas.....	99

Figura 22	Imagens magnéticas das cápsulas no estômago de um voluntário.....	104
Figura 23	Perfil do TGI do sistema multiparticulado magnético obtido através de mapeamento com voluntário em jejum de 12h.....	105
Figura 24	Tempo de retenção gástrica (TRG) dos voluntários em jejum (12h).....	107
Figura 25	Tempo de retenção gástrica em diferentes sessões de mapeamento em um mesmo voluntário.....	109
Figura 26	Imagens magnéticas das cápsulas no cólon humano.....	110
Figura 27	Perfil de trânsito do sistema multiparticulado magnético no estado pós-prandial.....	112
Figura 28	Diferenças entre o tempo de retenção gástrica nos voluntários em jejum e no pós prandial.....	113
Figura 29	Curva de concentração plasmática <i>versus</i> tempo de TC após administração de dose única do fármaco livre.....	115
Figura 30	Perfil de liberação de TC á partir do sistema multiparticulado magnético em dois diferentes voluntários no estado pós prandial...	119
Figura 31	Perfil de trânsito no estado pós-prandial correlacionado com o perfil de liberação de TC de um voluntário em uma mesma análise.....	120

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Valores de pH do intestino delgado de seres humanos saudáveis, nos estados de jejum e após alimentação.....	29
Tabela 2	Composição dos fluidos do TGI.....	32
Tabela 3	Características anatômicas e fisiológicas do TGI.....	36
Tabela 4	Composição dos lotes de cápsulas PC:QS controle preparados..	83
Tabela 5	Efeito da adição de ferrita e do aumento de TC no tamanho das partículas.....	89
Tabela 6	Resultados do teste de precisão (CV) e exatidão (recuperação) do método CLAE para a determinação de TC em plasma.....	95
Tabela 7	Resultados de análises intra e interensaios para os testes de precisão (repetibilidade) e exatidão (recuperação) da TC em plasma.....	95
Tabela 8	Resultados obtidos para os limites de detecção e quantificação da TC em plasma.....	96
Tabela 9	Teor e eficiência de encapsulação dos lotes.....	97
Tabela 10	Tempo de Trânsito Gastrointestinal do sistema multiparticulado magnético.....	106
Tabela 11	Valores de TRG, TTI e TCC no pós-prandial de cada voluntário..	114
Tabela 12	Concentração de TC livre em função do tempo.....	116
Tabela 13	Parâmetros cinéticos da TC livre administrada por via oral em dose única de 80 mg.....	117

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Resumo das estratégias de liberação cólon específica.....	37
Quadro 2	Limites de pH de polímeros gastrorresistentes mais usados...	50

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

I. INTRODUÇÃO.....	19
II. FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	23
1. Trato gastrointestinal.....	23
1.1. Esvaziamento gástrico.....	24
1.2. Motilidade Intestinal e colônica.....	27
1.3. Valores de pH nas diferentes regiões do TGI.....	28
1.4. Volume de fluido.....	29
1.5. Composição dos fluidos.....	31
2. Direcionamento de fármacos ao cólon.....	33
3. Polissacarídeos Biodegradáveis.....	40
3.1. Quitosana.....	43
3.2. Pectina.....	46
4. Polímeros Gastrorresistentes.....	49
4.1. Acetoftalato de celulose (CAP).....	51
5. Sistemas Multiparticulados como formas farmacêuticas orais.....	52
6. Biosusceptometria AC.....	55

7. Fármaco modelo Triancinolona (TC).....	60
III. OBJETIVOS.....	64
IV. MATERIAIS.....	65
1.1. Materias-Primas.....	64
1.2. Equipamentos Analíticos.....	66
V. MÉTODOS.....	67
1. Preparação do sistema multiparticulado magnético.....	67
2. CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS MAGNÉTICAS.....	67
2.1 Análise granulométrica.....	68
2.2. Análise morfológica.....	68
3. ANÁLISE QUANTITATIVA DA TRIANCINOLONA (TC).....	68
3.1. Validação da metodologia analítica quantitativa para TC.....	69
3.1.1. Especificidade e Seletividade.....	70
3.1.2. Linearidade e Alcance.....	70
3.1.3. Precisão.....	71
3.1.4. Exatidão.....	71
3.1.5. Limite de detecção e de quantificação.....	72
3.1.6. Robustez.....	73
3.2. Preparação da curva analítica de TC.....	73
3.3. Preparação das amostras de plasma para a quantificação de TC.....	74
3.4. Análise do teor e eficiência de encapsulação.....	75
4. ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO IV..	77
5. ANÁLISE <i>IN VIVO</i> POR BIOSUSCEPTOMETRIA AC.....	77
5.1. Mapeamento <i>in vivo</i> das multipartículas magnéticas.....	78

5.2. Análise dos dados da BAC.....	79
6. MAGNETOFARMACOCINÉTICA.....	81
VI. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	83
1. PREPARAÇÃO DAS PARTÍCULAS.....	83
2. CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS.....	84
2.1. Características morfológicas.....	84
2.2. Análise granulométrica.....	88
3. ANÁLISE QUANTITATIVA DA TRIANCINOLONA	93
3.1. Validação da metodologia analítica.....	93
3.2. Teor e eficiência de encapsulação.....	97
4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO IV.....	98
5. ANÁLISES <i>IN VIVO</i> POR BIOSUSCEPTOMETRIA AC.....	102
5.1. Avaliação do TGI em estado prandial controlado (jejum).....	103
5.2. Avaliação do TGI no estado pós-prandial.....	111
6. MAGNETOFARMACOCINÉTICA.....	114
6.1. Determinação da farmacocinética da TC livre.....	115
6.2. Perfil de liberação <i>in vivo</i> da TC.....	118
VII. CONCLUSÃO.....	124
VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	126

I. INTRODUÇÃO

A criação de novos sistemas de liberação de fármacos tem tido um notável crescimento nos últimos anos. Durante esse período, a indústria farmoquímica se destacou no uso e no aproveitamento de matérias-primas de baixo custo e fácil acesso para o desenvolvimento de novos materiais poliméricos, o que permitiu o uso de várias técnicas para a encapsulação de muitos compostos em sistemas de multipartículas, como microesferas e microcápsulas, nanoesferas e nanocápsulas, com o intuito de proteger, estabilizar, mascarar os sabores indesejáveis ou modificar as propriedades de liberação.

Os sistemas de multipartículas têm suscitado um grande interesse nas formulações orais por apresentarem muitas vantagens, tais como administração em dose única, menor variação do tempo de trânsito no TGI e a possibilidade de mistura de fármacos com diferentes propriedades de liberação.

Com o desenvolvimento desses sistemas de liberação modificada, a terapia oral tornou-se mais efetiva, com inúmeros benefícios aos pacientes. Entre eles, foi possível diminuir a frequência de administração, a incidência de toxicidade e efeitos colaterais indesejados, além de permitir o uso de baixas doses e a manutenção do fármaco na sua forma intacta até que ele alcance a região alvo para liberação (ROUGE; BURI; DOELKER, 1996; LEVY, 1998; SINHA; KUMRIA, 2003).

Entretanto, esta idéia de simplicidade que, aparentemente, a via de administração oral possa ter não é real, pois as formas farmacêuticas administradas por esta via estão sujeitas não só à ação dos diferentes valores de pH característicos de cada porção do TGI, mas também a volume, composição de

fluidos, tempo de trânsito, principalmente do esvaziamento gástrico e diferenças anatômicas intra e interindividuais. Por estes motivos, atestar a eficácia de sistemas de liberação modificada apenas baseado em análises *in vitro* e transpô-la para uma situação *in vivo* nem sempre leva a correlações *in vitro/in vivo* compatíveis com a situação biológica.

Com esta finalidade, métodos capazes de avaliar *in vivo* desde as formas farmacêuticas convencionais até os mais sofisticados sistemas de liberação de fármacos no TGI humano são empregados e, atualmente, consistem em ferramentas essenciais na pesquisa farmacêutica e farmacológica (WILDING; COUPE; DAVIS, 2001).

Para que o estudo *in vivo* propicie uma correta interpretação dos dados obtidos sem a presença de artefatos que possam mascarar ou dificultar as análises, o método empregado deve apresentar algumas características que, essencialmente, o torne inócuo ao organismo.

Sendo assim, a técnica considerada ideal, para um estudo *in vivo*, deve ser não invasiva para não interferir com a fisiologia normal do órgão e não causar desconforto ao paciente e/ou voluntário, além de ser segura, desprovida de efeitos prejudiciais, confiável e de baixo custo (CORÁ et al., 2005). Dentre as várias metodologias, a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC), vem se destacando como uma técnica biomagnética promissora e com potencial para avaliar diversos parâmetros relacionados ao TGI, enfocando principalmente a motilidade (MIRANDA et al., 1997; MORAES et al., 2003; CORÁ et al., 2005).

A BAC é uma metodologia que utiliza bobinas de indução para registrar a variação de fluxo magnético obtida a partir da resposta de um material magnético (ferrita – MeFe_2O_4) ingerido. A ferrita é um material ferromagnético com a

composição geral MeFe_2O_4 , onde Me representa uma transição de metais divalentes como o manganês (Mn). A ferrita foi descrita como um material de contraste que apresenta uma boa mistura com as secreções gastrintestinais (GI) e ausência de toxicidade ou efeitos sobre o aparelho digestivo (BELIKOV; KUREGYAN, 2001; FREI et al., 1968).

Este material tem como propriedade elevada susceptibilidade magnética, que proporciona uma alta resposta com a aplicação de um campo magnético alternado no meio biológico. Os sinais de resposta originados são detectados e analisados por técnicas de processamento digital de sinais (MIRANDA et al., 1997, MORAES et al., 2003; CORÁ et al., 2008).

As principais características da BAC são baixo custo, portabilidade, alta relação sinal/ruído, sensibilidade suficiente para estudos de motilidade gastrintestinal, além de não ser invasiva. O contínuo aperfeiçoamento da BAC permitiu aumentar gradualmente a sensibilidade e, mais recentemente, implementar um novo arranjo instrumental com um sistema multi-sensores, o que proporcionou uma melhor resolução espacial, permitindo a aquisição de sinais magnéticos *in vivo* em diferentes pontos distribuídos na superfície abdominal, além de mapear a distribuição destes sinais no decorrer do tempo (AMERICO, 2003; CHUBAC, 2003; CORÁ et al., 2008).

Recentemente, nosso grupo de pesquisa aperfeiçoou um sistema multiparticulado à base de quitosana (QS) e pectina (PC), com a incorporação de polímeros gastrorresistentes, acetofalato de celulose (CAP) e ftalato de hidroxipropilmetil celulose (FHPMC), promovendo assim, segundo análise *in vitro*, maior proteção gástrica e entérica, o que tornou o sistema seletivo à degradação

enzimática da região colônica, fato este que possibilitou um maior controle da liberação do fármaco.

Nos testes de dissolução *in vitro*, as partículas contendo CAP não apresentaram liberação de fármaco em meio gástrico, liberando menos que 20% em meio entérico simulado durante 6 horas de ensaio (OLIVEIRA, 2005).

Muito embora os testes de dissolução *in vitro*, como dito anteriormente, simulem as propriedades relativas ao trânsito gastrointestinal (TG), contribuindo, assim, para caracterizar o comportamento destes sistemas nos fluidos gastrintestinais, devido à complexidade do TGI e às variáveis fisiológicas torna-se necessário a realização de estudos *in vivo*, para que estes sistemas sejam avaliados em uma situação biológica real.

O sistema multiparticulado proposto para liberação colônica é complexo e está sujeito a mudanças graduais e progressivas a partir do estômago até o íleo terminal. Por outro lado, a técnica BAC mostra-se adequada para avaliar o comportamento de formas farmacêuticas sólidas no TGI humano. Assim, a proposta deste trabalho foi o desenvolvimento de um sistema multiparticulado magnético cólon específico que teve seu TG avaliado *in vivo* através da técnica de BAC, no estado de jejum (J) e pós-prandial (PP), associado ao monitoramento do perfil de liberação *in vivo* da triancinolona (TC).

II. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1. O TRATO GASTRINTESTINAL (TGI)

O TGI consiste em um tubo muscular, com aproximadamente 6 m de comprimento e de diâmetro variável. Estende-se da boca até o ânus e apresenta quatro regiões anatômicas principais: esôfago, estômago, intestino delgado e intestino grosso ou cólon. (Figura 01).

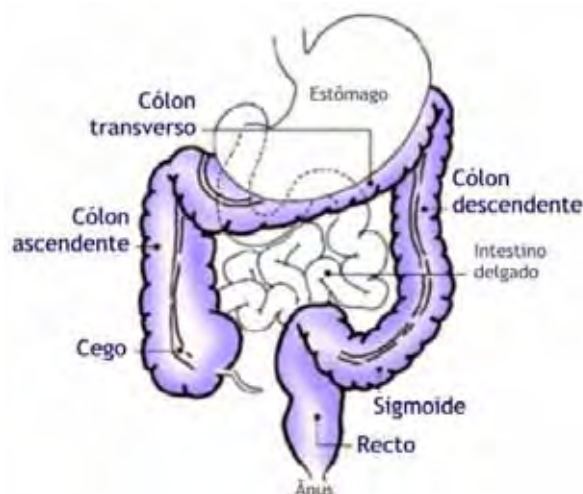


Figura 01. Diagrama do TGI, destacando o cólon e o reto (SPED, 2003).

A liberação, absorção e biodisponibilidade dos fármacos, a partir de formas farmacêuticas sólidas são influenciados pela motilidade do TGI nas formas farmacêuticas sólidas tem importantes conseqüências na liberação, absorção e biodisponibilidade dos fármacos. Por isso, o conhecimento dos parâmetros e das variáveis fisiológicas que podem influenciar o desempenho de uma forma

farmacêutica *in vivo* é fundamental para o desenvolvimento de produtos com maior eficácia terapêutica e menor incidência de efeitos colaterais.

1.1. Esvaziamento gástrico

O estômago é a região mais dilatada do TGI e está situado entre a parte terminal do esôfago e o intestino delgado. Tem capacidade de cerca de 1,5 L, apesar de, em jejum, não conter mais do que 50 mL de fluido, e é dividido em quatro regiões anatômicas: fundo; corpo; antro e piloro (QUIGLEY, 2000).

O tempo que uma forma farmacêutica leva para atravessar o estômago é geralmente denominado tempo de residência gástrica, tempo de esvaziamento gástrico. Os tempos de residência gástrica normais variam, geralmente, de 5 min a 2 h, embora tempos muito maiores, superiores a 12 h, tenham sido registrados, sobretudo no caso de formas unitárias de tamanho grande. Terminado o período digestivo (jejum), inicia-se um padrão de motilidade interdigestiva, denominado Complexo Mioelétrico Migratório (CMM), que é caracterizado por uma atividade mecânica intensa e irregular, com quatro fases consecutivas e duração média de 84 a 112 min (HASLER, 1995; GIELKENS et al., 1998) (Fig. 2).

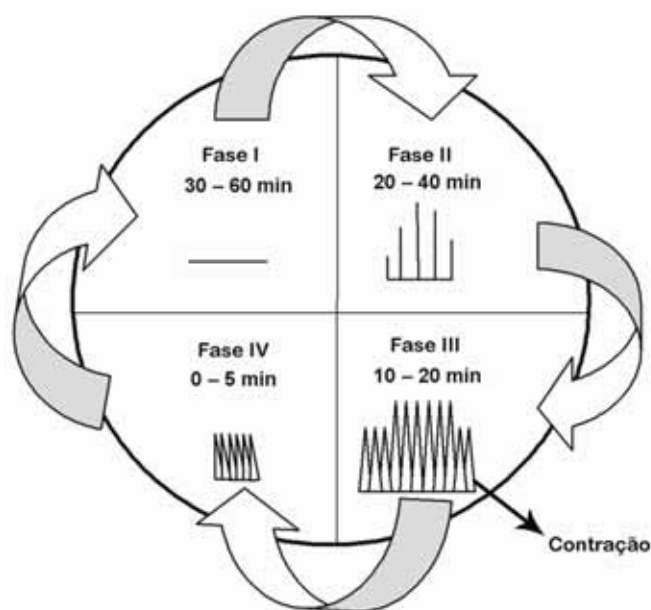


Figura 2. Motilidade gastrointestinal no período interdigestivo – Complexo Motor Migratório (CMM) (Modificado de Chawla et al., 2003).

Após a ingestão de alimentos (período pós-prandial), são observados dois padrões de atividade diferenciados: as porções proximais do estômago relaxam para receber o alimento e as contrações graduais dessa região movimentam o conteúdo gástrico para as regiões mais distais. A peristalse, contrações do estômago distal, serve para fazer a mistura e a desagregação das partículas dos alimentos, bem como movimentar o conteúdo na direção do esfíncter pilórico (QUIGLEY, 2000).

O esfíncter pilórico atua regulando a passagem do material estomacal para o duodeno. Ele permite que líquidos e pequenas partículas passem, enquanto que outros materiais sofrem retropulsão para o antro estomacal, sendo capturados pela próxima onda peristáltica e sofrendo uma redução de tamanho anterior ao seu esvaziamento (COUPE et al., 1991).

O esfíncter pilórico, portanto, é uma estrutura capaz de dificultar a passagem de grandes partículas sólidas (HASLER, 1995; QUIGLEY, 2000). Geralmente, o que se observa é que estas partículas, incluindo-se as formas farmacêuticas sólidas convencionais, não são esvaziadas do estômago durante o período de atividade digestiva (COUPE et al., 1991).

A fase I, conforme ilustrado na figura 2 é um período de 30 a 60 min de relativa inatividade, durante o qual ocorrem apenas contrações esporádicas. O aumento no número de contrações acontece na Fase II, a qual tem um período de duração similar ao da fase I. A Fase III apresenta um período de 10 a 20 minutos de contrações intensas, rítmicas e oclusivas, que se propagam do antro gástrico até o piloro, fazendo com que o piloro se abra na base, removendo assim qualquer material residual presente no estômago (RAO; SHULZE-DELRIEU, 1993).

Durante esta fase ocorre o esvaziamento gástrico de grandes partículas sólidas e dos restos alimentares não digeridos. A fase IV consiste em um período de transição entre a atividade vigorosa da fase III e a inatividade da fase I. As ondas contráteis do CMM propagam-se distalmente, a partir do estômago até o íleo terminal, e são interrompidas com a ingestão de alimento (GIELKENS et al., 1998).

Portanto, o estado prandial é um dos fatores que podem influenciar a motilidade e o esvaziamento do conteúdo gástrico, devendo ser considerado na administração oral de fármacos contidos em formas farmacêuticas sólidas (COUPE et al., 1991; EWE et al., 1991; CECIL et al., 1999; SINGH, 1999).

Além disso, como parte do processo fisiológico da digestão, o conteúdo gástrico recebe uma força máxima do movimento peristáltico, especialmente na

região distal. Isto significa que uma forma farmacêutica sólida estará submetida à ação mecânica da parede gástrica que poderá provocar sua ruptura (KAMBA et al., 2003). A força mecânica destrutiva que a parede gástrica aplica sobre as formas farmacêuticas sólidas interfere com a desintegração e, conseqüentemente, com a dissolução do fármaco.

1.2 Motilidade Intestinal e colônica

Estudos verificaram que o tempo de trânsito de uma forma farmacêutica é um parâmetro importante para a liberação de fármacos e constataram que o tempo de trânsito de uma forma farmacêutica sólida através do intestino delgado é mais consistente, isto é, varia menos do que em relação ao tempo de esvaziamento gástrico (COUPE et al., 1991; DAVIS et al., 1986a; DAVIS; HARDY; FARA, 1986b; KHOSLA; FEELY; DAVIS, 1989).

Assim como ocorre no estômago, a motilidade intestinal exhibe padrões distintos durante o jejum e o período pós-prandial. No jejum, a atividade motora é cíclica e definida pelo CMM, sendo interrompida com a ingestão do alimento (BASILISCO; PHILLIPS, 1993; THOMSON et al., 2003).

Entretanto, geralmente, o trânsito da maioria das formas farmacêuticas através do intestino delgado é relativamente constante, até mesmo quando são administradas com alimento. O tempo de trânsito médio, tanto de *pellets* como de comprimidos, é de 3 a 4h (FRIEND, 1998; RUBINSTEIN, 1995).

Similarmente ao que acontece em outros segmentos do TGI, a motilidade colônica também é modulada pelo estado prandial (O'BRIEN; PHILLIPS, 1996). No que concerne a motilidade, o cólon apresenta uma motilidade propulsiva forte

e prolongada, além de um potencial de forças destrutivas que aumentam da região proximal para a distal (CHOURASIA; JAIN, 2003; SHAMEEN et al., 1995).

O trânsito colônico mostra-se significativamente variável, sendo influenciado por fatores, como a dieta e determinadas doenças (FREXINOS; DELVAUX, 1993), além do tipo de forma farmacêutica. Em relação à forma farmacêutica, é vantajoso formular sistemas multiparticulados em detrimento de comprimidos, quando o alvo para liberação de fármacos for o cólon, devido à lentidão de trânsito destes sistemas (ASGHAR; CHANDRAN, 2006; FREIRE et al., 2006B WILDING et al., 2001).

1.3. Valores de pH nas diferentes regiões do TGI

O pH dos fluidos varia consideravelmente ao longo do TGI. O fluido gástrico é muito ácido, apresentando, normalmente, pH na faixa de 1 a 3,5 em pessoas saudáveis e em jejum. Após a ingestão de alimentos, o suco gástrico é tamponado para um pH menos ácido, dependendo da composição do alimento. Os valores usuais de pH gástrico, observados após a ingestão de alimentos, encontram-se na faixa de 3 a 7. Dependendo da quantidade de alimento ingerido, o pH gástrico retorna aos valores de acidez, próprios do estado em jejum, após 2 a 3 h. Dessa maneira, somente as formas farmacêuticas ingeridas com, ou imediatamente após, os alimentos é que encontram esses valores elevados de pH (EVANS, 2000).

O pH intestinal apresenta valores maiores que o pH gástrico, devido à neutralização do ácido gástrico pelo bicarbonato secretado pelo pâncreas dentro do intestino delgado. Observa-se um aumento gradual do pH ao longo do intestino

delgado, do duodeno até o íleo. A tabela 1 resume alguns valores relatados na literatura para o pH do intestino no estado de jejum e após a ingestão de alimentos (GRAY; DRESSSMAN, 1996; CORÀ, 2004).

Tabela 1. Valores de pH do intestino delgado de seres humanos saudáveis, nos estados de jejum e após alimentação (Fonte: GRAY; DRESSMAN, 1996).

Local	pH em jejum	pH após alimentação
Duodeno médio e distal	4,9 – 6,4	5,1 – 5,4
Jejuno	4,4 – 6,6	5,2 – 6,2
Íleo	6,5 – 7,4	6,8 – 7,5 ~ 8,0

O pH diminui novamente no cólon, à medida que as enzimas bacterianas, as quais estão localizadas na região colônica, desdobram os carboidratos não digeridos em ácidos graxos de cadeias curtas, os quais levam o pH do cólon para, aproximadamente, 6,5 (CORÁ, 2004).

1.4. Volume de Fluido

Gotch e colaboradores (1957) mediram o volume de fluido *pos mortem* (Tabela 2) e o total de água presente no cólon foi medido por Cummings e colaboradores (1990). Estes autores relatam valores médios de 118 mL no estômago, 212 mL no intestino delgado e 187 mL no intestino grosso

(CUMMINGS et al., 1990; GOTCH et al., 1957). Embora os fluidos gastrintestinais sejam essenciais para os processos de desintegração, dispersão, dissolução e absorção das formas farmacêuticas orais, na maior parte das vezes são ignorados pela literatura, não sendo levados em conta em análises *in vitro* em projetos de desenvolvimento de sistemas de liberação modificada.

Nos últimos anos, Schiller e colaboradores quantificaram o líquido livre, isto é, quantidade de água não vinculada à digestão, na região intestinal, usando ressonância magnética, e constataram que o teor de água livre no lúmen intestinal não está homogeneamente distribuído e que, na verdade, existem bolsões de líquidos (SCHILLER et al., 2005).

Baseado nesta informação, o processo de desintegração de um sistema de liberação estaria relacionado ao fato da forma farmacêutica estar ou não em um destes bolsões. Uma grande variação foi demonstrada, como, por exemplo, que um sistema de liberação modificada pode ser exposto a qualquer volume entre 1 a 100 mL de água livre na região colônica (SCHILLER et al., 2005).

1.5. Composição dos fluidos

O volume total de fluido não é o único fator influente no processo de dissolução; deve-se considerar também a composição do fluido em questão.

A composição dos fluidos gastrintestinais é complexa, dinâmica e flutuante (Tabela 2), o que contrasta com as simples soluções ácidas e soluções tampão fosfato preconizadas pelas farmacopéias para as análises *in vitro* de liberação de fármacos.

Tem sido documentado que as taxas de dissolução para fármacos ionizáveis, (AUNINS et al., 1985; MOONEY et al., 1981; OZTURK et al., 1988; RAMTOOLA; CORRIGAN, 1989) veiculados em formas farmacêuticas com revestimentos entéricos (OZTURK et al., 1988) são influenciadas pela composição e capacidade tampão dos fluidos.

Tabela 2. Composição dos fluidos do TGI

Estômago			Intestino Delgado	Intestino Grosso		
			Duodeno	Jejuno	Íleo	Cólon proximal Cólon distal
Volume de fluido total (mL)	PM	118 ± 82 ¹	212 ± 110 ¹⁺			187 ²⁻
Volume de Fluido livre (mL ³)	PP J	45 ± 18	54 ± 41* 105 ± 72*			11 ± 26 ⁷ 13 ± 12
Tensão superficial (mNM ⁻¹)		35 - 45 ⁴ 33,6 ± 5,9 ⁵	32,3 ⁶	28,7 ± 1 ⁷		
Concentração de sais biliares (mM)	PP J	0,06 ⁸ 0,2 ± 0,2 ¹⁰	11,2 ⁶ 1,57-5,1 ¹¹	8 ± 0,1 ⁷ 2 ± 0,2 ⁷ 2,9 ± 2,9 ¹⁰ 0,8 - 5,5 ¹¹	2 - 10 ⁹	
Taxa de fluxo Biliar (μLmin ⁻¹ Kg ⁻¹) ¹²			1,5 - 1,5			
Produção de ácido (mEq/h) ¹³	BM	1 - 5 6 - 40				
Fosfolipídeos (mM) ⁵	PP J			3 ± 0,3 0,2 ± 0,07		
pH ¹⁴		1,0 - 2,5		6,6 ± 0,5	7,5 ± 0,5	6,4 ± 0,6 7,0 ± 0,7
Níveis de bactérias (CFU/g) ^{14,15}		1 x 10 ³	1 x 10 ^{4#}		1 x 10 ⁰ - 10 ⁷	1 x 10 ¹¹ - 10 ^{12~}
Potencial redox (mV) ¹⁶			-65,6 ± 89,7		-196,5 ± 96,8 40 ^{19,20}	-415 ± 73 -380 ± 110
Bicarbonato (mM)			6,7 ¹⁷	6 ^{19,20} 8,2 ²¹	40 ^{19,20} 30 ²¹	30 ²²
Fosfato (mM)						
Potássio (mM)		13,4 ± 3,0 ¹⁰		5,4 ± 2,1 ¹⁰	4,9 ± 1,5 ²¹	4,7 ± 1,0 ²³
Sódio (mM)		68 ± 29 ¹⁰		142 ± 13 ¹⁰	140 ± 6 ²¹	0,6 ± 0,3 ²³
Cloro (mM)		102 ± 28 ¹⁰		126 ± 19 ¹⁰	125 ± 12 ²¹	0,3 ± 0,1 ²³
Cálcio (mM)		0,6 ± 0,2 ¹⁰		0,5 ± 0,3 ¹⁰	4,2 ²³	21 ± 5,2 ²³
Magnésio (mM)					2,8 ²³	7 ± 1,1 ²³
Força iônica (mM)		0,1 ± 0,025 ¹⁰		0,139 ± 0,014 ¹⁰		
Capacidade tamponante (mmol/L/unid. pH)	PP J	14 - 28 ⁶ 7 - 186	18 - 30 ⁶ 5,6 ; 4-13 ¹⁰	2,4 - 2,8 ⁶ 2,97 ²⁴		
Ácidos graxos de cadeia curta (mmol) ²⁵	PM				13 ± 6	131 ± 9 80 ± 11
Amilasa (U/mL)	Inter – digestivo Pós prandial inicial Pós prandial tardio		100 – 150 ^{26,27*} 150 – 300 ^{27-29*} 150 – 300 ^{27-29*}			2 – 565 U/g material fecal (amilase bacterial) ³¹
Lipase (U/mL)	Inter – digestivo Pós prandial inicial Pós prandial tardio		100 – 400 ^{27,28,30*} 400 – 1500 ^{27,28,30*} 400 – 1000 ^{27,28,30*}			
Tripsina (U/mL)	Inter – digestivo Pós prandial inicial Pós prandial tardio	20 – 50 ²⁷⁻²⁹ 60 – 100 ^{26-29,32*} 500 – 1500 ^{27-29,32*}				
Volume de gás (mL) ³³		36 ± 12	43*			182 ± 26~

Notas: PM = pós morte, BM = basal máximo; PP = pós prandial; - indica que o dado não foi encontrado; * valor que representa todo o intestino delgado, ou nenhuma diferenciação foi feita no estudo; ~ indica os valores para todo o cólon; # representa os valores para o duodeno e jejuno; + este cálculo foi relatado em relação a uma referência de 206 mL, mas os resultados dos cálculos mostram uma média de 212 mL.

¹Gotch et al. (1957); ²Cummings et al. (1990); ³Schiller et al. (2005); ⁴Efentakis and Dressman (1998); ⁵Pedersen et al. (2000); ⁶Kalantzi et al. (2006a); ⁷Persson et al. (2005); ⁸Rhodes et al. (1969); ⁹Northfield and McColl (1973); ¹⁰Lindahl et al. (1997); ¹¹Perez de la Cruz Moreno et al. (2006); ¹²Martinez et al. (2002); ¹³Selen (1991); ¹⁴Evans et al. (1988); ¹⁵Simon and Gorbach (1984); ¹⁶Bernhardt and Knoke (1997); ¹⁷Stirrup et al. (1990); ¹⁸Repishti et al. (2001); ¹⁹Phillips and Summerskill (1966); ²⁰Phillips and Summerskill (1967); ²¹Banwell et al. (1971); ²²Wrong et al. (1965); ²³Phillips and Giller (1973); ²⁴Fadda and Basit (2007); ²⁵Cummings et al. (1987); ²⁶Holtmann et al. (1996); ²⁷Keller and Layer (2005); ²⁸Bozkurt et al. (1988); ²⁹Braganza et al. (1978); ³⁰Keller et al. (1997); ³¹MacFarlane and Englyst (1986); ³²DiMagno et al. (1977); ³³Mearin et al. (2006).

2. DIRECIONAMENTO DE FÁRMACOS PARA O CÓLON

Atualmente, a liberação específica de fármacos no cólon é considerada uma importante alternativa para o tratamento de graves doenças colônicas, como a doença de Crohn, colite ulcerativa, carcinomas e infecções. Por este motivo, sistemas que levem à absorção específica na região colônica oferecem interessantes possibilidades para o tratamento não somente destas doenças crônicas do cólon, mas também de doenças susceptíveis ao ritmo diurno, tais como asma, artrite, inflamação (ASFHORD; FELL, 1994).

A liberação colônica de fármacos, historicamente, está associada à administração local de derivados salicilados no intestino grosso para o tratamento de doenças intestinais inflamatórias, principalmente da colite ulcerativa.

Em contraposição à liberação no intestino delgado, a liberação direcionada para o intestino grosso parece, a princípio, sem sentido, quando se pensa na pequena área de absorção à disposição e nas fortes propriedades de barreira desse compartimento inferior do intestino.

Entretanto, o cólon é rico em vasta microbiota, cuja atividade enzimática pode ser utilizada como ferramenta para a hidrólise da matriz polimérica liberando desta maneira o fármaco. A atividade enzimática proteolítica é menor do que a do estômago ou do intestino delgado, evitando desta maneira a hidrólise de fármacos peptídicos nessa região. A lentidão do trânsito colônico prolonga o tempo de retenção das formas farmacêuticas, propiciando uma excelente oportunidade para a absorção de fármacos com ação sistêmica ou específica na mucosa (KINGET et al., 1998; CORÁ et al., 2005).

Segundo Kinget e colaboradores (1998), alguns fatores que afetam a absorção de fármaco no cólon são:

- a) características físico-químicas do fármaco, como o pKa e o grau de ionização;
- b) tempo de residência colônica;
- c) degradação pelas enzimas bacterianas;
- d) ligação seletiva ou não-seletiva à mucosa;
- e) ação fisiológica local do fármaco;
- f) presença ou não de enfermidade no cólon e
- g) uso de substâncias promotoras de absorção, inibidores enzimáticos ou bioadesivos.

O desenvolvimento de formas farmacêuticas específicas para o intestino grosso deve ser visto como um desafio tecnológico, já que estes sistemas de liberação são complexos e estão submetidos às mudanças graduais e progressivas a partir do estômago até o íleo terminal, porque o medicamento deve passar intacto pelo estômago e pelo intestino delgado, liberando o fármaco somente no intestino grosso (CHOURASIA; JAIN, 2003).

Para a liberação colônica de fármacos, além de se levar em conta a composição dos fluidos, o volume dos fluidos e a variação de pH ao longo do TGI, devem ser considerados, também, o tempo de esvaziamento gástrico, o tempo de trânsito no intestino delgado e quais os fatores que podem modificar estes parâmetros (CORÁ et al., 2005).

Antes de alcançar o cólon, as formas farmacêuticas devem passar pelo estômago e por mais de 6m do intestino delgado. O pH do trato gastrointestinal

aumenta gradativamente do estômago (pH 1,5-3,0) ao íleo (pH 7,0-8,0) (Tabela 3).

Em virtude da localização distante do cólon no TGI, o sistema de liberação cólon específico deve evitar a liberação do fármaco no estômago e intestino delgado e permitir a liberação na região colônica. Isso requer um elemento desencadeante no sistema capaz de responder às mudanças fisiológicas do cólon.

De uma maneira geral, as mudanças fisiológicas ao longo do TGI podem ser caracterizadas pela redução na atividade enzimática, motilidade, conteúdo fluido e aumento do pH. Essas mudanças graduais nos parâmetros fisiológicos não são suficientes para que os elementos desencadeantes promovam uma mudança repentina no desempenho de um sistema de liberação culminando na liberação cólon específica. No entanto, a presença da microbiota específica do cólon e um aumento do pH são as exceções exploradas como componentes desencadeantes dessa liberação (YANG et al., 2002).

Tabela 3. Características anatômicas e fisiológicas do TGI

Característica das diferentes regiões do trato gastrointestinal	
Região	comprimento (cm)
Trato gastrointestinal inteiro	500-700
Intestino delgado:	
Duodeno	20-30
Jejuno	150-250
Íleo	200-350
Intestino grosso:	
Cécum	6-7
Cólon ascendente	20
Cólon transverso	45
Cólon descendente	30
Cólon sigmóide	40
Reto	12
Canal anal	3
	Diâmetro interno (cm)
Intestino delgado	3-4
Intestino grosso	6
	pH
Estômago:	
Em jejum	1,5-3,9
Pós-prandial	2,0-5,0
Intestino delgado:	
Duodeno (em jejum)	~6,1
Duodeno (alimentado)	~5,4
Íleo	~7,0-8,0
Intestino grosso:	
Cécum e cólon	5,5-7,0
Reto	~7,0

Fonte: VANDAMME et al., 2002.

Cinco estratégias têm sido propostas para direcionar a liberação para o cólon: pró-fármacos, sistemas pH e tempo dependentes, sistemas baseados na

pressão intraluminal e sistemas ativados pela microflora (LEOPOLD, 1999; GUPTA et al., 2001a; SINHA; KUMRIA, 2001; SINHA; KUMRIA, 2002; SINHA et al., 2004). Um resumo dessas estratégias, do mecanismo desencadeante da liberação correspondente e das características inerentes está descrito no Quadro 1 (YANG et al., 2002).

Quadro 1. Resumo das estratégias de liberação cólon específica

Estratégia	Mecanismo desencadeante da liberação	Comentários
Pró-fármacos	Quebra da ligação entre o fármaco e o carreador via redução e hidrólise efetuadas por enzimas oriundas das bactérias do cólon. Enzimas típicas incluem: azoredutase, glicosidade e glucuronidase.	Pró-fármaco possui especificidade local. Entretanto, será considerado como nova entidade química no aspecto regulatório. Até agora essa abordagem tem sido principalmente voltada para o tratamento de doenças inflamatórias do cólon.
Sistemas pH dependentes	Combinação de polímeros de solubilidade dependente do pH capaz de liberar o fármaco devido às mudanças de pH ao longo do trato gastrointestinal.	A liberação do fármaco em local específico é imprevisível, devido à variação inter e intra individual e a semelhança do pH entre o intestino delgado e o cólon.
Sistemas Tempo dependentes	O início da liberação do fármaco está alinhado com o posicionamento do sistema no cólon, o qual foi formulado baseado na simulação do tempo de trânsito pelo TGI superior.	Embora o tempo de trânsito no intestino delgado seja mais constante, a alta variação do tempo de retenção gástrica torna difícil a previsão do local exato de liberação do fármaco por esse sistema. Deve-se considerar ainda que seu desempenho possa ser significativamente afetado por condições fisiopatológicas associadas ao trato gastrointestinal, as quais alteram o tempo de trânsito.

Sistemas ativados pela microflora	Fermentação de polissacarídeos pelas bactérias anaeróbicas do cólon. Os polissacarídeos têm sido incorporados no revestimento ou utilizados como componentes dos sistemas de liberação	Essa estratégia é altamente promissora porque os polissacarídeos não amiláceos somente podem ser degradados no cólon. Deve ser destacado que a degradação enzimática de matrizes polissacarídicas é um processo lento. Geralmente são necessárias mais de 12h para que ocorra a degradação completa.
Sistemas baseados na pressão intraluminal da região colônica	Baseia-se na presença de ondas peristálticas vigorosas que aí ocorrem e que conduzem a um aumento da pressão intraluminal. As formulações designadas de PCDC® ("Pressure control colon delivery capsule"), consistem em cápsulas cuja liberação específica no cólon é controlada pela pressão.	O conhecimento sobre esta fase de pressão aumentada é muito limitado, no que respeita à sua reprodutibilidade e duração. Na realidade, pensa-se que as maiores ondas peristálticas surgem, apenas, uma a duas vezes por dia de acordo com um ritmo circadiano pelo que a reprodutibilidade destes sistemas pode constituir uma séria limitação ao seu uso (Yang, Chu, Fix, 2001).

Fonte: Adaptado de YANG et al., 2002.

A microbiota é cada vez mais reconhecida como principal desencadeante da liberação do fármaco de sistemas cólon específicos, uma vez que o aumento repentino da população bacteriana e das correspondentes atividades enzimáticas no cólon representa um evento não contínuo, independente do tempo de trânsito, no TGI. Da mesma forma, esses sistemas degradáveis pela microflora não apresentam os mesmos inconvenientes que o sistema pH dependente e, assim, exibem um maior grau de especificidade em relação ao cólon (SINHA; KUMRIA, 2001; YANG et al., 2002).

As enzimas colônicas são capazes de decompor uma variedade de polissacarídeos presentes na dieta, que não são afetados pelo estômago ou pelo

intestino delgado. Estes polissacarídeos atóxicos e biodegradáveis têm a capacidade de carrear fármacos especificamente para o cólon (KUMRIA, 2001; SEMDÉ et al., 2000).

Rubinstein e colaboradores. (1993) demonstraram a eficácia da PC, do pectinato de cálcio e do sulfato de condroitina como carreadores para vetorização de fármacos para o cólon. Formulações contendo PC foram analisadas, usando-se enzimas pectinolíticas e estudos de gama cintilografia *in vivo*, sendo constatado que, ao alcançarem o cólon ascendente, estas formas farmacêuticas tiveram seu revestimento degradado por ação enzimática (KRISHNAIAH et al., 1998; SEMDÉ et al., 2000; MACLEOD; FELL; COLLET, 1999).

Uma das formas de se desenvolver um sistema cólon específico, cujo mecanismo desencadeante da liberação seja a microbiota, está baseada no uso de polissacarídeos (VANDAMME et al., 2002). Polissacarídeos naturais permanecem indigestos no estômago e no intestino delgado e só são degradados pela vasta microflora anaeróbica do cólon (SINHA et al., 2004). Formas farmacêuticas baseadas no uso desses polímeros parecem ser promissoras. Primeiramente, pela sua ausência de toxicidade e de seus produtos de degradação. Depois, a microbiota não apresenta muitas modificações e permanece qualitativamente similar de um indivíduo para o outro.

Vários materiais de revestimento, objetivando a liberação colônica, vêm sendo desenvolvidos, devido à necessidade de novos polímeros para uso farmacêutico. Polímeros acrílicos apresentando intumescimento e propriedades de dissolução pH-dependentes, como o Eudragit® S, são comuns no delineamento de sistemas de liberação de fármacos para o cólon. Polímeros que

formam uma barreira protetora fina de hidrogel, como a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), também podem ser usados para essa finalidade (RUBINSTEIN, 1995).

Os sistemas com revestimentos gastrorresistentes são os mais utilizados para a liberação colônica e constituem a maioria das formulações comerciais disponíveis. Entretanto, a grande desvantagem destes sistemas é que uma grande quantidade de fármaco pode ser liberada no intestino delgado antes de alcançar o cólon, isto porque a diferença de pH entre o intestino delgado e o cólon não é muito pronunciada, sendo, portanto, estes sistemas de liberação incapazes de, sozinhos, terem controle sobre a liberação do fármaco (SINHA; KUMRIA, 2003).

Sistemas multiparticulados são os que apresentam melhor distribuição no cólon, em razão do menor tamanho de suas partículas, levando a uma melhor absorção do fármaco e, portanto, maior eficiência no tratamento da doença (FERNÁNDEZ-HERVÁS; FELL, 1998). Devido à maior superfície de contato destes sistemas à degradação enzimática bacteriana, a liberação do fármaco ocorrerá mais rapidamente. Tais sistemas atravessam a junção íleo-cecal de forma mais reprodutível do que as formas unitárias, como os comprimidos. Uma vez que o trânsito colônico de partículas pequenas é mais lento, a administração oral de fármacos em sistemas multiparticulados pode aumentar seu tempo de residência no cólon (KAKOULIDES; SMART; TSIBOUKLIS, 1998).

3. POLISSACARÍDEOS BIODEGRADÁVEIS

Os polímeros degradáveis por bactérias utilizados nos sistemas de liberação cólon específicos protegem o fármaco de ambientes como o estômago e

o intestino delgado e são capazes de carregá-lo até o cólon. Ao alcançar o cólon esses polímeros são assimilados pelos microrganismos ou degradados por enzimas ou têm sua cadeia polimérica hidrolisada, fatos que os conduzem à redução do peso molecular e, assim, perda da força mecânica. Desse modo, tornam-se incapazes de reter o fármaco por mais tempo (SINHA, KUMRIA, 2001).

Tais polímeros biodegradáveis têm sido empregados (a) como uma conexão para formar pró-fármacos, (b) como material de revestimento ou (c) como um meio para envolver o fármaco em suas matrizes ou hidrogéis (SINHA, KUMRIA, 2001; VANDAMME et al., 2002).

Polímeros naturais, isto é, polissacarídeos, das mais diversas origens: de alga (ex.: alginatos), de planta (ex.: pectina, goma guar), de microrganismos (ex.: dextrana, goma xantana), de animais (quitosana, condroitina), são considerados bons carreadores de fármacos para o cólon, pois atuam como substratos para bactérias ali presentes, além de apresentarem propriedades de intumescimento, formação de filme, biocompatibilidade e biodegradação (SINHA, KUMRIA, 2001).

A sugestão do uso de polissacarídeos no direcionamento de sistemas de liberação de fármacos está baseada na abundância dos mesmos, por ser facilmente encontrados, terem custo baixo e serem disponíveis em uma ampla variedade de estruturas e, conseqüentemente, de propriedades. Podem ser facilmente modificados química e bioquimicamente, são altamente estáveis, seguros, não tóxicos, hidrofílicos, formam gel, além de serem biodegradáveis (BHARDWAJ et al., 2000; SINHA, KUMRIA, 2001; SINHA et al., 2004).

Problema relacionado ao uso dos polissacarídeos corresponde à sua elevada hidrossolubilidade, a qual pode ser modificada. No entanto, não deve ser

esquecido que a biodegradação desses polímeros deve ser mantida (SINHA , KUMRIA, 2001).

Entre os polissacarídeos que apresentam potencial para liberação colônica citados na literatura estão: a quitosana, a pectina, a ciclodextrina, a dextrana, a goma guar, a inulina e a amilose. (BHARDWAJ et al., 2000; SEMDÉ et al., 2000; et al., 2000; SINHA, KUMRIA, 2001).

Polímeros produzidos naturalmente, como celulose, amido, QS, PC e AL, representam materiais biodegradáveis, com baixa toxicidade e de baixo custo. Eles vêm sendo muito usados como excipientes em muitas formulações farmacêuticas há várias décadas (BERNKOP-SCHNÜRCH, 2000).

A possibilidade de decomposição enzimática destes polímeros por ação das enzimas colônicas, principalmente pelas glicosidases, torna possível a sua aplicação como suporte para formas farmacêuticas de liberação colônica de fármacos (CHOURASIA; JAIN, 2003; SINHA; KUMRIA, 2003).

3.1. Quitosana (QS)

A QS (Figura 03) é um polissacarídeo obtido da reação de desacetilação da quitina em soluções alcalinas (DENKBAS et al., 2002; CHANG; LIN, 2000). Durante a reação de desacetilação, os grupamentos acetamido ($-\text{NHCOCH}_3$) da QN são transformados, em graus variados, em grupos amina ($-\text{NH}_2$), dando origem à QS (KIMURA, 2001).

As propriedades físicas e químicas da QN e de seus derivados N-desacetilados (QS) são muito diferentes. O grau de desacetilação (GD) e a massa molecular são importantes características que podem influenciar o desempenho da quitosana em muitas de suas aplicações (CANELLA; GARCIA, 2001).

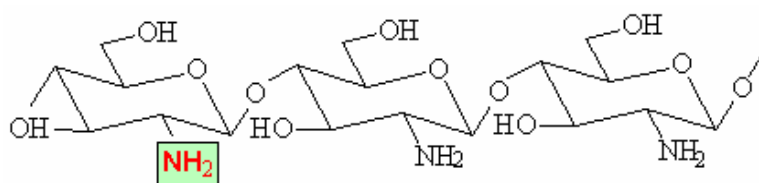


Figura 3. Estrutura molecular da Quitosana.

A QN é praticamente insolúvel em água, ácidos diluídos, álcalis concentrados e na maioria dos solventes orgânicos (KIMURA, 2001; SANTOS et al., 2003).

A QS é insolúvel em água e solúvel na maior parte dos ácidos orgânicos, como ácido acético, fórmico, cítrico, além de ácidos inorgânicos, como ácido

clorídrico diluído, resultando soluções viscosas (MATHUR; NARANG, 1990; SANTOS et al., 2003).

A solubilidade da QS está relacionada com a quantidade de grupos amino protonados ($-NH_3^+$) na cadeia polimérica. Quanto maior a quantidade destes grupos, maior a repulsão eletrostática entre as cadeias e também maior a solvatação em água (SANTOS et al., 2003).

A QS comporta-se como um polieletrólito catiônico moderadamente básico ($pK_a = 6,3$), formando sal com ácidos (PETER, 1995), propriedade que a torna mais adequada que a celulose, a qual, para exibir propriedades de troca iônica, precisa ser convertida em derivados contendo grupamentos químicos apropriados. Além disso, a presença de grupos amino primários na QS oferece maiores possibilidades de modificações, tais como N-acilação e N-alquilação (RATHKE; HUDSON, 1994; ZHAO et al., 2003) e complexação com outros polieletrólitos, como alginato, pectina (PC), dextrana e outros (GAMZAZADE; NASIBOV, 2002).

É um polímero hidrofílico não tóxico (DL: dose letal em ratos 16g/kg), biodegradável, biocompatível, bioativo e possui propriedades bactericidas (DENKBAS et al., 2002; KAS, 1997; CHANG; LIN, 2000; PINEDO; DELGADO; DELLAMARY, 2001; KHOR; LIM, 2003; CERVERA et al., 2004)

Algumas propriedades biológicas tais como atividades antimicrobianas e cicatrizantes, têm sido atribuídas aos fragmentos (oligossacarídeos) resultantes da degradação enzimática da QS.

Atualmente a QS está despertando muito interesse para aplicações médicas e farmacêuticas. As principais razões para esta atenção crescente são certamente suas interessantes propriedades intrínsecas, como a

biocompatibilidade, que permite seu uso em várias aplicações médicas. Além disso, a QS é metabolizada por certas enzimas, especialmente a lisozima, sendo, por isso, considerada biodegradável (BERGER et al., 2004).

Algumas das aplicações da QS na área de biomateriais são: manufatura de lentes de contato, membranas artificiais, pele artificial, engenharia de tecidos, aplicações ortopédicas e periodontais e veiculação de fármacos e DNA.

A QS tem se mostrado promissora na preparação de sistemas carreadores para liberação colônica de fármacos (SHIMONO et al., 2002), sendo degradada pelas enzimas glicosídicas presentes no cólon. Essas enzimas são responsáveis pela hidrólise de di-, oligo- e polissacarídeos e são secretadas por bactérias anaeróbicas no cólon humano, predominantemente *Bacteroides* e *Bifidobacteria*.

Zhang e Neau (2002) estudaram a degradação enzimática de amostras de QS através de testes com enzima comercial e enzimas presentes no conteúdo fecal de ratos. Os resultados mostraram que as amostras de QS foram degradadas pelos dois tipos de meios enzimáticos utilizados e que a degradação é dependente da massa molecular e do grau de desacetilação do polímero.

Partículas de QS, incluindo não só micropartículas e microesferas, mas também os chamados beads, podem ser preparadas por diversos métodos, tais como geleificação ionotrópica, extrusão-esferonização, evaporação de solvente, emulsão múltipla, spray-drying e coacervação-precipitação, podendo ser usadas também para o revestimento de microcápsulas (LUCINDA-SILVA, 2003).

Estudos avaliando a liberação colônica *in vitro* de uma proteína-modelo, albumina de soro bovino-isotiocianato de fluoresceína, incorporada em sistemas multiparticulados de QS preparados por geleificação ionotrópica com tripolifosfato, mostraram que as partículas foram completamente degradadas por enzimas

presentes no conteúdo cecal de ratos, resultando na liberação rápida da proteína (ZHANG; NEAU, 2002).

3.2. Pectina (PC)

A pectina é o componente mais importante na união das paredes celulares das plantas e frutas. É um polissacarídeo natural extraído da parede celular de plantas superiores. Sua principal fonte é o bagaço da maçã e as cascas de frutas cítricas. A composição varia com a fonte e condições de extração, localização e outros fatores ambientais. São polímeros predominantemente lineares, formados principalmente por resíduos de ácido α -(1,4)-d-galacturônico interrompidos por resíduos 1,2 l-raminose (Figura 4) (RUBINSTEIN et al., 1993; THAKUR; SINGH; HANDA, 1997; AHRABI, et al., 2000; CHOURASIA; JAIN, 2003).

O grau de esterificação (DE), que é expresso como porcentagem dos grupos carboxílicos esterificados, é um importante dado para classificar a PC. A PC com baixo grau de metoxilação (com DE < 50%) forma géis rígidos pela interação com íons cálcio ou cátions bivalentes, que reticulam as cadeias do ácido galacturônico (Figura 05) (SRIAMORNSAK; NUNTHANID, 1999; FRIEND, 2005).

Estudos *in vitro* demonstraram que o uso da pectina com alto grau de metoxilas, quando aplicada como camada de revestimento de comprimidos destinados à liberação colônica, foi capaz de proteger a forma farmacêutica durante ensaios simulando o meio gastrintestinal, permanecendo susceptível ao ataque enzimático (CHOURASIA; JAIN, 2003).

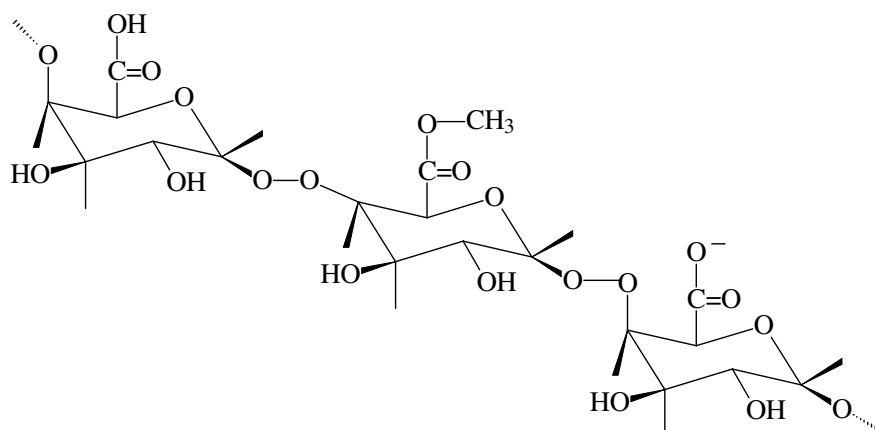


Figura 4. Estrutura química de unidades da PC

Entretanto, estudos *in vivo* demonstraram que era preciso a formação de uma camada de revestimento espessa para proteger a forma farmacêutica. Por isso, houve a necessidade do desenvolvimento de alguns derivados de PC menos solúveis em água, mas que permanecessem com a capacidade de serem degradados pela flora colônica (CHOURASIA; JAIN, 2003).

Na PC obtida de fontes naturais a metoxilação dos grupos carboxílicos pode chegar a 60%, sendo conhecida como PC de alto grau de metoxilação. A PC de baixo grau de metoxilação é obtida por desesterificação parcial via métodos enzimáticos ou químicos, este último empregando soluções ácidas ou alcalinas (THAKUR; SINGH; HANDA, 1997).

A desesterificação alcalina, utilizando solução alcoólica de amônia, leva à formação de PC de baixo teor de metoxilas contendo grupos amídicos e são denominadas PC amidadas, sendo preferencialmente utilizadas quando se deseja a formação de gel com íon cálcio ou poliíons (LUCINDA-SILVA, 2003)

As PCs amidadas são mais tolerantes a variações de pH e a níveis de cálcio do que as PCs convencionais, tornando-as, assim, mais interessantes para serem utilizadas em sistemas de liberação colônica (SINHA; KUMRIA, 2003).

O pH básico favorece a geleificação de PCs de baixo grau de metoxilação, visto que os grupos carboxílicos livres foram complexados com íons cálcio presentes no meio (Figura 5). A característica física do gel é consequência da formação de uma estrutura tridimensional, resultante da reticulação (DEBON; TESTER, 2001; THAKUR; SINGH; HANDA, 1997).

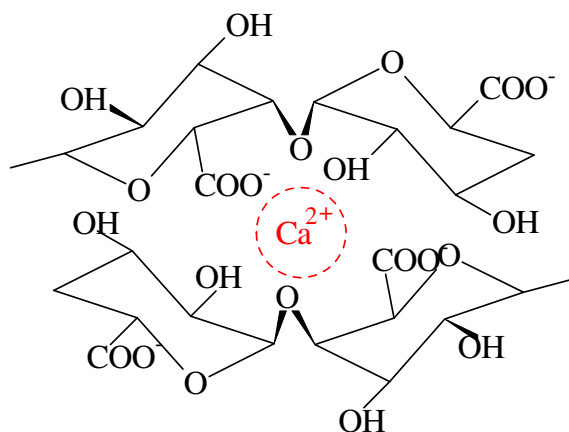


Figura 5. Representação da ligação de cálcio às seqüências de poligalacturonato da cadeia da PC (DEBON; TESTER, 2001).

Por causa de suas propriedades de formação de filme, os derivados da PC pouco solúveis em água, tais como pectinato de cálcio ou PC amidada, são usados para revestimento por compressão. A penetração do fluido intestinal no revestimento de PC modificada pode ser alcançada por geleificação e a degradação polimérica depende do seu grau de hidratação (LUCINDA-SILVA, 2003).

Leopold (1999), visando obter menor espessura de revestimento, descreveu um complexo interpolimérico, consistindo de PC:QS (1:10) com uma solubilidade muito baixa em água.

Hidrogéis de pectinato de cálcio são estáveis em pH baixo, porém intumescem em soluções levemente básicas. O pectinato de cálcio tem sido avaliado como revestimento hidrofílico insolúvel para liberação sustentada pelo processo de geleificação ionotrópica. Testes realizados com beads de gel de pectinato de cálcio utilizados como carreadores para indometacina e preparados pelo método de gelificação ionotrópica mostraram que a liberação do fármaco foi influenciada pelo tipo de PC, pelo agente reticulante usado e pelo teor de fármaco (SRIAMORNSAK; NUNTHANID, 1999).

Fernández-Hervás e Fell (1998) revestiram comprimidos de 3 mm de diâmetro com uma mistura de PC:QS por meio de uma segunda compressão. Os comprimidos foram avaliados *in vitro* na presença ou não de enzimas pectinolíticas. Os autores observaram que o revestimento dos comprimidos com a mistura de QS-PC proporcionou maior proteção do fármaco no TGI superior do que o revestimento contendo somente PC.

4. POLÍMEROS GASTRORRESISTENTES

Polímeros utilizados para o direcionamento ao cólon devem ser capazes de suportar baixos valores de pH do estômago e da parte proximal do intestino delgado, sendo capazes de se desintegrar somente em pH neutro e levemente alcalino da junção ileocecal (CHOURASIA, JAIN, 2003).

Os sistemas pH-dependentes aproveitam-se do aumento progressivo de pH do trato gastrintestinal a partir do estômago, intestino delgado, local da digestão, aumentado no íleo distal e possibilitam retardamento da liberação e maior proteção do princípio ativo dos fluidos gástricos (FRIEND, 2005). Os limiares de pH de polímeros gastrorresistentes estão descritos no Quadro 2.

Quadro 2. Limiares de pH de polímeros gastrorresistentes mais usados

Polímeros	Limiar de pH
EudragitR L100	6,0
EudragitR S100	7,0
EudragitR L-30D	5,6
EudragitR FS 30D	6,8
EudragitR L100-55	5,5
Polivinilacetato ftalato	5,0
Ftalato de hidroxipropilmetil celulose	4,5-4,8
Ftalato de hidroxipropilmetil celulose 50	5,2
Ftalato de hidroxipropilmetil celulose 55	5,4
Acetotrimeliato de celulose	4,8
Acetoftalato de celulose	6,0

Portanto, revestimentos gastrorresistentes não somente protegem o medicamento do meio gástrico, permitindo um direcionamento para o intestino delgado, como podem, ainda, dependendo do seu pH de dissolução e da

espessura da camada de revestimento aplicada, passar também pelo intestino delgado, dissolvendo-se totalmente no cólon (CIFTCl; GROVES, 1996).

4.1. Acetofталato de celulose (CAP)

O CAP é um derivado da celulose no qual metade dos grupos hidroxila está acetilada e 25% deles estão esterificados com um de dois grupos ácidos, sendo um deles o ácido ftálico. O outro grupo ácido é livre (Figura 6).

É produzido através da reação de esterificação parcial do acetato de celulose com o anidrido ftálico na presença de uma base orgânica terciária, assim como a piridina, ou um ácido forte, tal como o ácido sulfúrico (WYATT, 1991; DOELKER, 1993; ROWE et al., 2003).

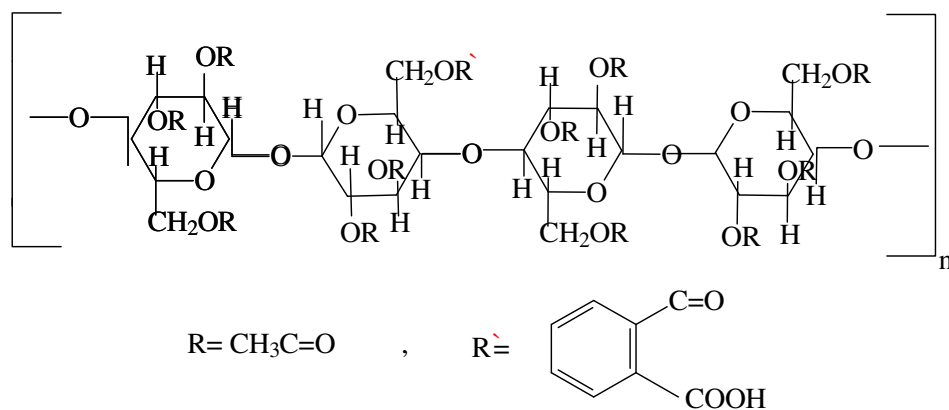


Figura 6. Estrutura molecular do acetofталato de celulose (CAP)

O CAP também é um derivado de celulose, muito usado como revestimento gastrorresistente de matrizes, comprimidos ou cápsulas, formando filme resistente ao contato prolongado com o meio muito ácido do fluido gástrico,

mas solubilizando no intestino. Sua complexação com outros polímeros torna-o mais efetivo do que quando aplicado sozinho (ROWE et al., 2003).

O CAP é muito utilizado pela indústria farmacêutica para formulações destinadas à via oral, por não causar efeitos colaterais e por não ser tóxico (DOELKER, 1993).

A adição de plastificantes aumenta sua resistência à água e, dessa maneira, torna-o mais eficiente do que quando usado sozinho (ROWE et al., 2003).

Recentemente, descobriu-se a atividade antimicrobiana do CAP, e muitos estudos *in vitro* e *in vivo* têm sido realizados, principalmente para as formulações destinadas ao uso tópico no tratamento de doenças sexualmente transmissíveis (NEURATH et al., 2001).

5. SISTEMAS MULTIPARTICULADOS COMO FORMAS FARMACÊUTICAS ORAIS DE LIBERAÇÃO MODIFICADA

Os sistemas de liberação controlada de fármacos para uso oral podem ser divididos, basicamente, em dois grandes grupos: formas farmacêuticas unitárias, onde a dose não está dividida (ex.: comprimidos ou cápsulas) ou formas farmacêuticas multiparticuladas, em que a dose está dividida em várias subunidades de liberação (pellets, grânulos ou micropartículas/nanopartículas) (BODMEIER, 1987; GANDHI et al., 1999).

Resumidamente, os sistemas multiparticulados podem ser definidos como formas farmacêuticas sólidas de uso oral constituídas de uma multiplicidade de pequenas e discretas unidades, cada uma exibindo características

farmacotécnicas planejadas para propiciar a liberação controlada do fármaco (GANDHI et al., 1999).

Essas subunidades, por sua vez, podem ser veiculadas em cápsulas gelatinosas duras ou em comprimidos (nesse caso, geralmente associadas a excipientes e submetidas à compressão), que desintegram rapidamente após a administração, liberando as subunidades no TGI (COLLET; MORETON, 2005; DE BRABANDER et al., 2000; EFENTAKIS et al., 2000, GANDHI et al., 1999).

Embora perfis de liberação similares possam ser alcançados a partir de formas farmacêuticas unitárias ou multiparticuladas, essas últimas têm despertado grande interesse por oferecem várias vantagens, principalmente devido às melhorias na biodisponibilidade e na segurança da liberação do fármaco (BODMEIER, 1997; CHARMAN; CHARMAN, 2002; GANDHI et al., 1999; KRATZ et al., 2001; TORRADO; AUGSBURGUER, 1994; WAGNER et al., 1999).

Na verdade, os sistemas multiparticulados apresentam uma série de vantagens tecnológicas e biofarmacotécnicas sobre as formas farmacêuticas unitárias (CHARMAN; CHARMAN, 2002). Dentre as vantagens tecnológicas, pode-se citar a possibilidade de revestimento de cada uma destas subunidades, por apresentarem a forma ideal para tal (GANDHI et al., 1999), possibilidade de incorporação de substâncias incompatíveis em uma mesma forma farmacêutica (EFENTAKIS et al., 2000) e maior facilidade na obtenção de diferentes dosagens, já que podem ser constituídos por associações de subunidades contendo o fármaco e subunidades inertes (PEZZINI et al., 2007).

Embora as vantagens tecnológicas sejam atraentes, o maior destaque é dado aos sistemas multiparticulados devido aos benefícios biofarmacêuticos que apresentam, como, por exemplo, menor risco de irritação da mucosa do TGI, já

que, após a administração, esses sistemas se dispersam ao longo de uma região mais ampla, evitando a liberação elevada do fármaco em uma área reduzida, como ocorre com os sistemas unitários. Esse comportamento reduz o risco de lesão da mucosa por fármacos irritantes (GANDHI et al., 1999; SANTOS et al., 2004).

O esvaziamento gástrico mais previsível e a menor variação na absorção são outras vantagens, já que o perfil de biodisponibilidade de fármacos a partir de formas farmacêuticas de liberação prolongada é influenciado pelo tempo de trânsito no TGI, que, por sua vez, pode sofrer modificações de acordo com tempo de esvaziamento gástrico (KRÄMER; BLUME, 1994).

O trânsito dos sistemas multiparticulados do estômago para o intestino delgado é mais previsível e menos dependente do tempo de esvaziamento gástrico, pois o tamanho reduzido das partículas permite a passagem pelo piloro, sem retenção no estômago em decorrência do processo digestivo, como acontece com as formas farmacêuticas unitárias. Como consequência, variações intra e inter individual na absorção do fármaco são menos frequentemente observadas (ASGHAR; CHANDRAN, 2006; GANDHI et al., 1999; KRÄMER; BLUME, 1994).

Os sistemas multiparticulados apresentam ainda, menores riscos de “dose dumping”, ou seja, a probabilidade de ocorrência de liberação rápida do fármaco a partir de um sistema de liberação prolongada, em função de uma falha na estrutura do produto. Como, nestes sistemas, a dose se encontra dividida em muitas subunidades, é bastante improvável que o problema ocorra em todas elas, causando uma liberação significativamente maior que a desejada (GANDHI et al., 1999).

As vantagens apresentadas colaboram, também, para que os sistemas multiparticulados sejam utilizados preferencialmente para obtenção de sistemas cólon-específicos, já que, além de atingirem essa região mais rapidamente, devem ficar aí retidas por maior período de tempo (ASGHAR; CHANDRAN, 2006).

6. BIOSUSCEPTOMETRIA AC

O desenvolvimento de métodos não invasivos, capazes de caracterizar o comportamento de formas farmacêuticas *in vivo* é fundamental, já que nenhum dos diferentes métodos farmacopéicos descritos, são capazes de simular um meio tão complexo quanto o TGI humano.

A técnica considerada como padrão para o monitoramento de formas farmacêuticas sólidas no TGI humano é a Cintilografia (WILDING et al., 2001). Ela nos fornece informações sobre o trânsito gastrointestinal de comprimidos, cápsulas, sistemas de liberação controlada de fármacos sendo, também, associada à farmacocinética para avaliar o perfil de liberação de fármacos (BRUNNER et al., 2003; KENYON et al., 1997; WILDING et al., 2000).

Resumidamente, essa técnica envolve a marcação da forma farmacêutica com um radionuclídeo que emite radiação gama, sendo seu acompanhamento realizado pela gama-câmara (WILDING et al., 2001). Além da radiação ionizante, outras desvantagens da Cintilografia incluem a complicada preparação e o custo dos radiofármacos utilizados nessas formulações e a impossibilidade de fornecer a localização anatômica precisa da forma farmacêutica.

A implementação de métodos fundamentados no Biomagnetismo para monitorar de maneira não invasiva formas farmacêuticas sólidas constitui, atualmente, uma alternativa à medicina nuclear para a pesquisa farmacêutica (CORÁ et al., 2008a). Esses sensores magnéticos são capazes de medir os campos magnéticos resultantes da atividade elétrica associada aos movimentos dos íons ou dos materiais magnéticos em resposta a um campo magnético aplicado externamente (WILLIAMSON; KAUFMAN, 1981). Os materiais magnéticos, quando empregados em medidas biomédicas, são agrupados em traçadores ou marcadores magnéticos, de acordo com a sua forma de apresentação.

Os traçadores magnéticos são definidos como partículas do material magnético dispersas em um meio, enquanto nos marcadores as partículas estão contidas em uma forma farmacêutica sólida (AMÉRICO et al., 2008). Geralmente, as ferritas e magnetitas são materiais magnéticos muito utilizados por serem inertes e inócuos ao indivíduo (BAHADUR ;GIRI, 2003).

Dentre as técnicas que utilizam esses princípios, destacam-se: os Dispositivos Supercondutores de Interferência Quântica (SQUID), os Sensores Anisotrópicos Magneto-resistivos (AMR) e a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC).

A BAC é constituída por um conjunto de sensores que apresentam dois pares de bobinas de indução separadas por uma linha de base fixa, sendo cada par de bobinas composto por uma bobina de excitação e uma bobina de detecção (Fig. 7).

Esse sistema constituído por um único sensor foi utilizado para monitorar traçadores magnéticos no trato gastrointestinal e determinar o tempo de trânsito

orocecal (BAFFA et al., 1995), o esvaziamento gástrico (MIRANDA et al., 1992), a atividade de contração gástrica em humanos (MIRANDA et al., 1997) e em cães (MORAES et al., 2003), o tempo de trânsito esofágico (DAGHASTANLI et al., 1998) e faringiano (MIQUELIN et al., 2001).

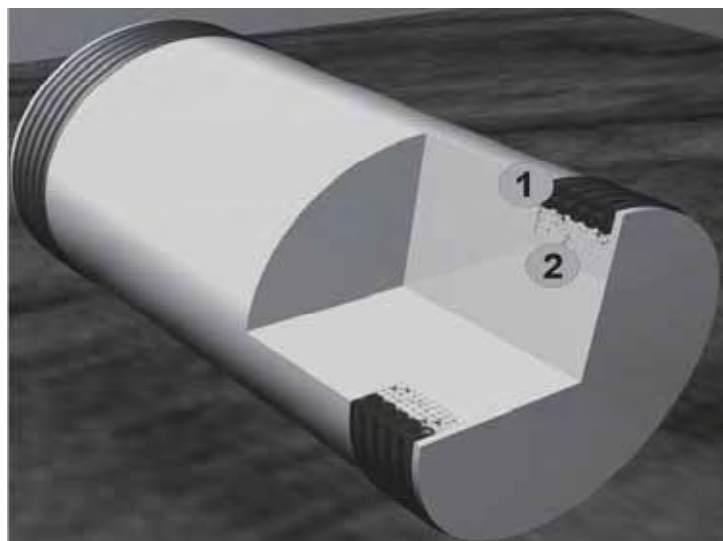


Figura 7. Sensor magnético constituído por dois pares de bobinas de indução. (1) bobina de excitação externa e (2) bobina de detecção interna.

O sensor é montado como um transformador duplo de fluxo magnético, com núcleo de ar, sendo que o par de bobinas (excitação/ detecção) localizado mais distante do material magnético atua como transformador de referência e o par mais próximo do material como transformador de medida (Fig. 8).

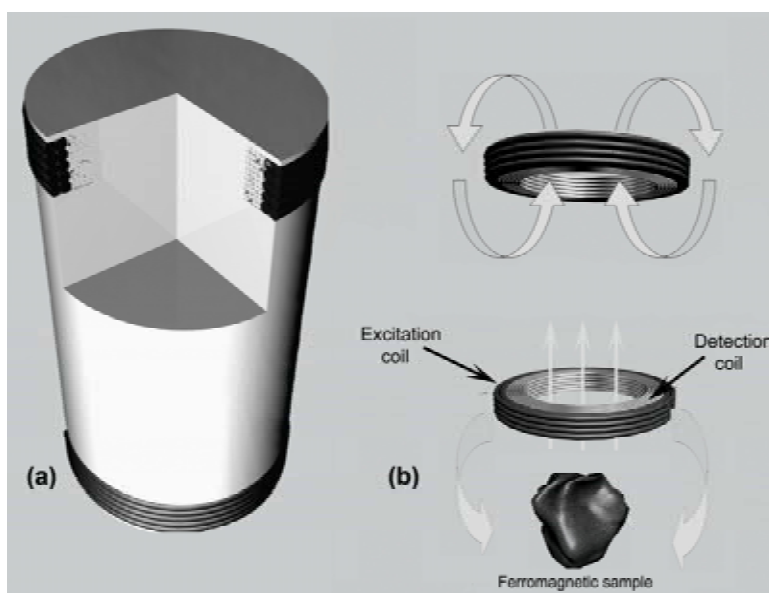


Figura 8. Esquema de funcionamento do sensor magnético. A bobina de excitação induz fluxo magnético na bobina de detecção que ao ser aproximada do material magnético promove um desbalanceamento no fluxo magnético entre as bobinas, permitindo seu monitoramento.

A bobina de excitação induz fluxo magnético na bobina de detecção e, ao aproximar esse par do material magnético, ocorre um desbalanceamento na voltagem. Desse modo, a diferença de fluxo magnético entre as bobinas de detecção pode ser monitorada. O sinal detectado depende da área das bobinas de detecção, do número de voltas, da frequência de excitação, da intensidade do campo magnético aplicado, da quantidade de material magnético e da distância entre o sensor e o material.

O constante aperfeiçoamento desse método permitiu desenvolver também um sistema com multisensores, cuja finalidade foi aumentar a resolução espacial e a sensibilidade para aplicações farmacêuticas (CORÁ, 2008b). Esse sistema possui um par de bobinas de excitação e sete pares de bobinas de detecção para aquisição dos sinais em pontos distintos (CORÁ et al., 2005) e foi fundamental para avaliar diferentes processos farmacêuticos em comprimidos e cápsulas (CORÁ et al., 2003, 2006a, 2006b, 2008c), além de possibilitar uma análise mais acurada dos parâmetros motores do trato gastrointestinal humano (ROMEIRO et al., 2006; AMÉRICO et al., 2007).

Os sinais registrados pela BAC são representados por matrizes temporais e utilizando-se ferramentas matemáticas, é possível obter imagens seqüenciais provenientes de intervalos de tempo predefinidos (3 segundos cada um). Uma vez calculadas, essas seqüências de imagens são submetidas ao processamento digital para subtração de background, ajustes de brilho e contraste e segmentação. Por meio da segmentação das imagens é possível quantificar, em número de pixels, a variação temporal da área da imagem magnética no decorrer do processo, possibilitando a análise de processos como a desintegração e o espalhamento de material magnético em uma determinada região do TGI.

7. FÁRMACO MODELO TRIANCINOLONA (TC)

Independente da via de administração utilizada, todo fármaco, para ter ação terapêutica eficaz, deve apresentar solubilidade em água, mesmo que limitada. Por este motivo, substâncias relativamente insolúveis em água podem apresentar uma absorção incompleta, tornando recomendável o uso de sais solúveis ou de outros derivados químicos. Alternativas que podem ser utilizadas são a micronização, complexação ou técnicas de dispersão sólida. A solubilidade e, especialmente, o grau de saturação no veículo, também podem ser importantes na absorção do fármaco já dissolvido em uma forma farmacêutica, uma vez que pode ocorrer a precipitação do fármaco no TGI, alterando a sua biodisponibilidade (AULTON, 1988).

A solubilidade de fármacos no TGI também pode ser melhorada por meio da dissolução micelar. A capacidade dos sais biliares de aumentar a solubilidade de fármacos depende, especialmente, da lipofilia do fármaco (NAYLOR, 1995).

Uma característica comum entre os corticoesteróides é a baixa solubilidade em água. Este fator limita o uso destes fármacos apesar de sua comprovada eficácia. Os corticoesteróides exercem efeitos sobre todas as células, influenciando o metabolismo protéico, lipídico e glucídico, o balanço hidroeletrolítico, as funções cardiovascular, renal, da musculatura esquelética, do sistema nervoso e de praticamente todos os tecidos e órgãos. Desempenham um papel importante na homeostasia dos estímulos nódicos internos e externos (BOSCH et al., 2004).

Os glicocorticóides possuem a propriedade terapêutica de diminuir significativamente a resposta inflamatória e suprimir a imunidade. O mecanismo

exato é complexo e não totalmente compreendido. Contudo sabe-se que a diminuição e a inibição dos linfócitos e macrófagos periféricos têm participação no processo (HARPER, 1997).

Os glicocorticóides podem ser administrados com outros fármacos para prevenir rejeição de órgãos transplantados e para o tratamento de certos tipos de neoplasias, como leucemias e linfomas (BOSCH et al., 2004).

A triancinolona (TC) é um glicocorticóide (Fig. 9) que pode ser utilizado como um álcool livre ou esterificado, geralmente na posição C17. Apresenta-se como um pó branco ou quase branco, praticamente insolúvel em água, solúvel em metanol, praticamente insolúvel em diclorometano, apresentando faixa de fusão entre 269-271 °C e λ_{max} 238 nm (MERCK INDEX, 2001).

A TC e seus derivados, tais como acetonida (TCA), acetato (TA), hexacetonida (THC), diacetato (TD), benetonida (TB) de triancinolona são corticosteróides, derivados naturalmente da prednisona e da prednisolona (DAMIANI et al., 2001). Estes são antiinflamatórios e imunossupressores muito utilizados para o tratamento de várias enfermidades, tais como artrites, osteoartrites, dermatites de contato e atópica, inflamações orais, lesões e úlceras, bursites, quelóides, desordens da pele, tais como psoríase e eczema, doenças relacionadas aos rins, olhos, anemia hemolítica, desordens intestinais, como colite ulcerativa e doença de Crohn, asma e alergias (BOSCH et al., 2004).

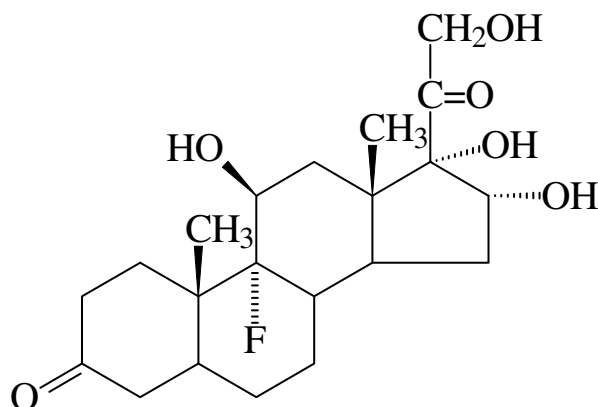


Figura 9. Estrutura molecular da TC.

As propriedades antiinflamatórias de doses farmacológicas de glicocorticóides foram testadas na colite ulcerativa logo após o uso de sulfasalazina. Inicialmente, a aplicação retal de cortisona foi tida como benéfica e a potência dos esteróides superou a sulfasalazina na colite ativa, incluindo melhora clínica, endoscópica e patológica, quando administrada por via tópica, oral ou parenteral (HANAUER, 1993).

A dose terapêutica da TC é praticamente desprovida da ação mineralocorticóide, não provoca distúrbios psíquicos e nem os outros efeitos colaterais da hidrocortisona, porém estas ações variam conforme o paciente (MARTINDALE, 1999).

Quanto aos efeitos colaterais, estes são semelhantes aos dos glicocorticóides. Dentre os componentes da ação intermediária, é o que possui meia vida mais longa (cerca de 5 horas) (DAMIANI et al., 2001).

A TC apresenta solubilidade de 80 mg/L em água. Seu metabolismo ocorre nas células hepáticas e em outras células, com excreção pela urina. Quase todos os metabólitos são excretados em 72 horas (MORENO; MATOS; FEVEREIRO, 2001).

Quando administrada pela via oral, como qualquer outro glicocorticoide, a TC é rápida e completamente absorvida pelo TGI e liga-se às globulinas e à albumina sérica, em forma inativa. Pertence na classificação farmacológica a classe II, ou seja, fármaco de baixa solubilidade e alta permeabilidade. É rapidamente convertida no fígado. Por ser uma molécula lipofílica pequena, penetra nas células por difusão simples. Atinge o efeito máximo após administração oral em 1 a 2 horas e sua ação dura 1,25 a 1,5 dias.

III. OBJETIVOS

Objetivos específicos:

Desenvolvimento de sistema multiparticulado magnético a base de quitosana:pectina:acetoftalato de celulose e avaliação *in vivo* através da técnica de biosusceptometria de corrente alternada.

Estratégias para obtenção dos objetivos:

- Obtenção de sistema multiparticulado magnético a partir da complexação de quitosana:pectina:acetoftalato de celulose:ferrita, através da técnica de coacervação complexa.
- Caracterização das partículas;
- Determinação das propriedades granulométricas e morfológicas;
- Determinação de possíveis interferências do material magnético (ferrita) na complexação das partículas obtidas realizadas por espectroscopia de absorção na região do infravermelho;
- Determinação do teor e da eficiência de encapsulação dos sistemas
- Avaliação *in vivo* do perfil de trânsito do sistema multiparticulado magnético utilizando a técnica de biosusceptometria AC em jejum;
- Avaliação *in vivo* do perfil de trânsito do sistema multiparticulado magnético utilizando a técnica de biosusceptometria AC no estado pós-prandial
- Determinação do perfil de liberação do fármaco *in vivo*.

IV MATERIAIS

1. MATÉRIAS-PRIMAS

Quitosana – Galena;

Acetofalato de celulose – Sigma;

Pectina amidada (baixo teor de metoxilas)- CPKelco ;

Triancinolona – Galena;

Ácido acético glacial p.a – SYNTH;

Ácido clorídrico p.a – MERCK;

Cloreto de cálcio anidro para dessecador – SYNTH;

Hidróxido de sódio – SYNTH;

Fosfato de potássio monobásico p.a – MERCK;

Acetonitrila grau HPLC - MERCK;

Metanol grau HPLC – MERCK;

Ferrita (MeFe_2O_4)

Demais reagentes de grau analítico.

2. EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS

Aagitador magnético -SELECTA Multimatic[®] 9S;
Balança analítica -OHAUS[®] - mod. AS 200S e AP250D;
Espectrofotômetro de Infravermelho – Shimadzu[®] 8300;
Espectrofotômetro de UV/VIS – HITACH[®] - mod. U-2000;
Estereoscópio – LEICA - mod. MZ APO;
Liofilizador - EDWARDS[®] - mod. Modulyo Pirani 10;
Microscópio eletrônico de varredura – JEOL JSM-T330A;
pH-metro - QUIMIS[®], mod. Q-400M;
Purificador de água Millipore – mod. Milli-Q Plus;
Ultrassom – SONICLEAN[®], mod. SNC 5036 D.M.C.
HPLC Waters[®] modelo alliance 2695;
Detector UV Waters[®] modelo 2487;
Coluna analítica SYMETRY[®] C18 150 x 4,0 mm e 5 µm de tamanho de partículas;
Pré-coluna SYMETRY[®] C18 10 x 4,0 mm e 5 µm de tamanho de partículas;
Filtro de teflon 0,45 µm MILLEX[®];
Filtro de acetato de celulose 0,45 µm MILLEX[®];
Vidraria e outros acessórios.

V MÉTODOS

1. PREPARAÇÃO DO SISTEMA MULTIPARTICULADO MAGNÉTICO

As micropartículas magnéticas foram obtidas pelo método de coacervação complexa, em que colóides de cargas opostas se neutralizam, formando um precipitado insolúvel (PETRAK, 1986). Para tanto, foram utilizadas dispersões de PC (poliânion) e QS (policátion), com as respectivas composições:

Dispersão de PC: PC (1,5%), CAP (0,5%), TC (200mg), FERRITA (1g), ÁGUA (pH 5,0).

Dispersão de QS: QS (0,5%), CLORETO DE CÁLCIO (2%), SOL. ÁCIDO ACÉTICO 0,1mol/L (pH 4,8).

Em seguida, a dispersão de PC, contendo TC, CAP e ferrita (F), como material magnético, foi gotejada sobre a dispersão de QS, com o auxílio de seringa e agulha, as partículas formadas foram mantidas sob agitação, em agitador mecânico, durante 2h. Após este período as partículas foram lavadas três vezes com água purificada (para retirada dos polieletrólitos em excesso), filtradas, congeladas com nitrogênio líquido e liofilizadas.

2. CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS MAGNÉTICAS

As partículas obtidas foram caracterizadas quanto à granulometria e à morfologia.

2.1. Análise granulométrica

A análise de distribuição granulométrica foi realizada em do estereoscópio Leica MZ APO. O diâmetro de Feret a 0° de 250 partículas foi determinado a partir da detecção da imagem das partículas em programa *Leica Qwin Image Analysis Systems*. As partículas foram colocadas em placa de Petri e as imagens captadas com aumento de 10x.

2.2. Análise morfológica

A morfologia da superfície das partículas obtidas foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura. Nesta análise, as partículas foram fixadas em fita de carbono dupla face sobre suporte metálico e revestidas com ouro coloidal, sob vácuo. Em seguida as fotomicrografias foram obtidas em microscópio eletrônico JEOL JSM-T330A.

3. ANÁLISE QUANTITATIVA DA TRIANCINOLONA (TC)

Para a análise quantitativa do fármaco foi necessário o desenvolvimento de uma metodologia de extração e quantificação de TC para a determinação do nível de concentração de fármaco no plasma *in vivo*, após a administração oral das partículas. Esta análise foi realizada através da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando cromatógrafo Waters®, modelo alliance 2695 com injeção eletrônica, equipado com detector UV Waters® modelo 2485. A fase

móvel utilizada consistiu em uma mistura volumétrica de água (a) e acetonitrila (b), na proporção de 75:25 (a:b), com vazão isocrática de 0,7 mL.min⁻¹. A coluna analítica utilizada foi C18 (150mm x 4,0mm) com diâmetro de partícula de 5 µm protegida com pré-coluna, SYMETRY WATERS®. O volume de injeção utilizado durante os ensaios foi de 100 µL no sistema equilibrado à temperatura de 25 ± 2°C e o comprimento de onda selecionado para a integração dos picos cromatográficos foi de 242 nm.

A metodologia CLAE utilizada foi validada quanto aos parâmetros de especificidade e seletividade, linearidade e alcance, precisão, exatidão e limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ). Todos os ensaios foram realizados de acordo com os critérios estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (ANVISA, 2003a).

3.1. Validação da metodologia analítica quantitativa para TC

A validação de métodos quantitativos de análise constitui uma etapa essencial na pesquisa, desenvolvimento e produção de fármacos e medicamentos e envolve uma série de estudos experimentais e determinação de alguns importantes parâmetros de análise (ICH, 1996; ANVISA, 2003a; ANVISA, 2003b; USP 28, 2005).

Entre os parâmetros analíticos a serem determinados em um processo de validação estão:

- Especificidade;

- Seletividade;
- Linearidade;
- Alcance;
- Precisão;
- Exatidão;
- Limite de detecção (LD);
- Limite de quantificação (LQ);
- Robustez

3.1.1. Especificidade e Seletividade

Capacidade que um método analítico possui de medir exatamente um composto em presença de outros componentes, como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz (ICH, 1996; BP, 2001; ANVISA, 2003a; ANVISA, 2003b; USP 28, 2005).

3.1.2. Linearidade e Alcance

A linearidade é a capacidade de uma metodologia demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado.

O alcance é o intervalo entre os limites de quantificação superior e inferior do método de análise, que apresenta precisão, exatidão e linearidade (ICH, 1996; BP, 2001; ANVISA, 2003a; ANVISA, 2003b; USP 28, 2005).

3.1.3. Precisão

Precisão é a avaliação da proximidade das respostas obtidas, quando uma série de medidas é realizada para uma mesma amostra, em idênticas condições de teste. Esta é considerada em três níveis, verificada por, no mínimo, nove determinações, contemplando o intervalo linear do método, ou seja, três concentrações (baixa, média e alta) em triplicata ou mínimo de seis determinações com 100% da concentração do teste (ICH, 1996; BP, 2001; ANVISA, 2003a; ANVISA, 2003b; USP 28, 2005).

3.1.4. Exatidão

Para a análise quantitativa do fármaco em medicamentos, a exatidão pode ser determinada pelo método da recuperação. A recuperação está relacionada com a exatidão, pois determina a quantidade de fármaco recuperado no processo de preparação da amostra (ANVISA, 2003). O ensaio de recuperação constitui o método mais utilizado para validação de processos analíticos.

A recuperação foi calculada como porcentagem de recuperação da quantidade conhecida de fármaco adicionada à amostra, acrescida dos intervalos de confiança, ou seja, três concentrações, baixa, média e alta em triplicata cada e pode ser expressa pela Equação 1 (ICH, 1996; BP, 2001; ANVISA, 2003a; ANVISA, 2003b; USP 28, 2005).

$$R(\%) = \frac{C}{C_0} \times 100 \quad \text{Equação 1.}$$

Onde:

C = média das concentrações determinadas experimentalmente;

C_0 = concentração teórica inicial

3.1.5. Limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ)

O limite de detecção (LD) é determinado pela menor quantidade de fármaco presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas (ICH, 1996; BP, 2001; ANVISA, 2003a; ANVISA, 2003b; USP 28, 2005).

O LD (Equação 2) foi calculado baseando-se no desvio padrão (s) e na inclinação da curva analítica (α) e expresso como:

$$LD = \frac{S}{\alpha} \times 3 \quad \text{Equação 2.}$$

Onde:

S = Desvio padrão

α = inclinação da curva analítica

O limite de quantificação (LQ) é determinado pela menor quantidade de fármaco em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (ICH, 1996; BP, 2001;

ANVISA, 2003a; ANVISA, 2003b; USP 28, 2005). O LQ (Equação 3.) foi calculado baseando-se no desvio padrão (s) e na inclinação da curva analítica (α).

$$LQ = \frac{s}{\alpha} \times 10 \quad \text{Equação 3.}$$

Onde:

S = desvio padrão

α = inclinação da curva analítica

3.1.6. Robustez

A robustez determina a resistência do método de análise quantitativa e consiste em verificar o efeito da variação de parâmetros operacionais, como a temperatura, pH e vazão da fase móvel, entre outros (ICH, 1996; BP, 2001; ANVISA, 2003a; ANVISA, 2003b; USP 28, 2005).

3.2. Preparação da curva analítica da TC

Para as análises das amostras de plasma, preparou-se uma solução estoque de TC (80 µg/mL) em metanol e a partir dela adicionou-se 500 µL desta solução de fármaco a 250 µL de plasma branco contidos em frascos de Eppendorf obtendo desta maneira diluições nas concentrações de 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 7,5; 10,0; 15,0; 20,0; 40,0 µg/mL.

As soluções obtidas foram agitadas em vórtex por 2 minutos, para completa reconstituição e homogeneização, centrifugadas a 4000 rpm e o sobrenadante (100 μ L) injetado no cromatógrafo.

Foi realizada também a curva analítica do fármaco em metanol nas mesmas concentrações utilizadas na curva em plasma (0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 7,5; 10,0; 15,0; 20,0; 40,0 μ g/mL).

3.3. Preparação das amostras de plasma para a quantificação de TC

A extração da TC das amostras de plasma foi realizada com metanol. Adicionou-se a 250 μ L de plasma 500 μ L de metanol, homogeneizando-se manualmente e, em seguida, em vórtex por 1 minuto. As amostras foram centrifugadas a 4000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante (100 μ L) injetado no cromatógrafo. As etapas desse procedimento estão ilustradas na figura 10.

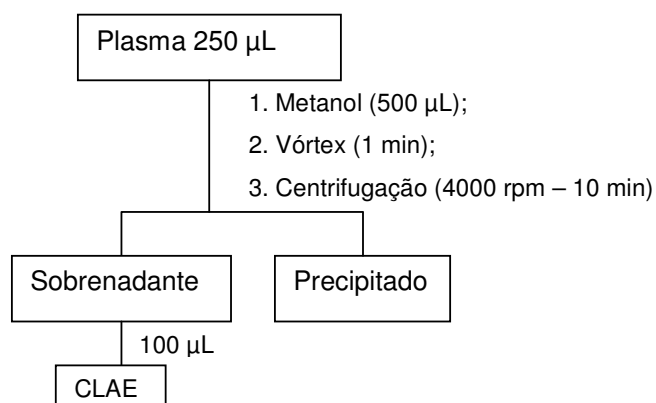


Figura 10. Etapas do procedimento analítico para TC

3.4. Análise do teor e eficiência de encapsulação

O teor de encapsulação do fármaco corresponde à porcentagem que este representa na partícula.

Para determinação do teor de encapsulação 5 mg de partículas foram pesados e adicionados a 100mL de solução tampão 50 mM pH 7,4, e deixadas sob agitação constante em agitador magnético por 4 horas até completo rompimento das partículas.

Após agitação, a amostra foi filtrada em papel de filtro para retirada de eventuais resíduos e a quantificação do fármaco foi realizada em espectrofotômetro UV a 242 nm. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Para a calibração do aparelho foi utilizado, como branco, 5 mg de partículas sem o fármaco, que passaram pelo mesmo processo de extração das partículas contendo fármaco-modelo (TC).

As análises das amostras foram realizadas em triplicata nas condições especificadas e a concentração do fármaco foi determinada utilizando metodologia analítica validada em estudos anteriores (OLIVEIRA, 2005)

O teor de encapsulação do fármaco corresponde à porcentagem que este representa na partícula. Ele foi calculado de acordo com a seguinte expressão (Eq. 4):

$$TE(\%) = \left(\frac{m_{TC}}{m_{am}} \right) \cdot 100 \quad \text{Equação 4.}$$

Onde:

TE = Teor de encapsulação;

m_{TC} = massa de TC quantificada na amostra;

m_{am} = massa de partículas usada na amostra.

A eficiência de encapsulação corresponde à quantidade de fármaco que foi incorporado pelo sistema. A eficiência de encapsulação foi calculada a partir do teor e da massa do lote das partículas analisadas (Eq. 5).

$$EE(\%) = \left(\frac{TE \cdot R}{m_{TC\text{ total}}} \right) \cdot 100 \quad \text{Equação 5.}$$

Onde:

EE = eficiência de encapsulação;

TE = teor de encapsulação;

R = massa do lote que está sendo analisado

$m_{TC\text{ total}}$ = massa total de fármaco usado na preparação do lote que está sendo analisado.

4. ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Para análise dos complexos polieletrólíticos formados entre os polímeros, foram obtidos espectros na região do infravermelho, de cada componente isoladamente PC, QS, CAP, FERRITA (F) e do fármaco TC, da mistura física QS:PC, QS:PC:CAP:TC e F:CAP:TC e dos complexos polieletrólíticos de cada uma destas misturas.

Foram preparadas pastilhas de KBr, com cerca de 10mg de cada substância seca, que foram triturados e mecanicamente compactados com 100mg de KBr. Os discos de KBr contendo as substâncias isoladas, a mistura dos pós e os complexos foram, então, submetidos à análise, no intervalo de 400-2500 cm^{-1} .

5. ANÁLISE *IN VIVO* PELA TÉCNICA DE BIOSUSCEPTOMETRIA AC (BAC)

Este estudo foi realizado no Laboratório de Biomagnetismo, Departamento de Física e Biofísica – Instituto de Biociências de Botucatu (IBB) e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB)- Universidade Estadual Paulista (UNESP) Of. 558/08-CEP.

Participaram deste estudo 4 voluntários saudáveis, (3 mulheres, 1 homem, com idade entre 25 - 35 anos e peso variando de 55 - 75 kg), que não haviam feito uso recente de qualquer medicamento que pudesse afetar, direta ou indiretamente, a motilidade gastrointestinal ou interferir na quantificação do fármaco no plasma.

5.1. Mapeamento *in vivo* das multipartículas magnéticas

O estudo foi realizado em duas fases: na primeira fase, o sistema multiparticulado foi administrado em voluntários com estado prandial controlado (jejum de 12 horas) e, na segunda fase do estudo o sistema multiparticulado foi administrado após os voluntários tomarem um café da manhã padrão (aproximadamente 500 calorias). Estas duas fases do estudo foram realizadas com no mínimo dois meses de intervalo entre elas.

Tanto na fase em jejum quanto na fase pós prandial, antes da ingestão das cápsulas, a aquisição e o registro do sinal basal foram realizados. Neste procedimento de aquisição do sinal basal, os voluntários permaneceram em posição ortostática no sistema de medidas e o sensor foi posicionado na região abdominal.

Após a aquisição do sinal basal, em ambas as fases do estudo, o sistema multiparticulado magnético foi monitorado, durante 8 horas, através de registros magnéticos realizados a cada 15 minutos, com o intuito de gerar a distribuição de intensidade do campo magnético proveniente do sistema multiparticulado magnético. Estes registros tinham como objetivo detectar o momento da saída das partículas do estômago, o tempo de retenção gástrica (TRG), o tempo de trânsito intestinal (TTI) e a chegada à região colônica, tempo de chegada ao cólon (TCC).

Durante todo o estudo, foi utilizado um sensor único do sistema BAC para mapear, ponto a ponto, uma grade 5x5 de pontos com distância de 1,00 cm entre cada ponto, desenhada na região correspondente a projeção gástrica e na região

colônica dos voluntários (Figura 11), observando referências anatômicas como a cicatriz umbilical e o processo xifóide.

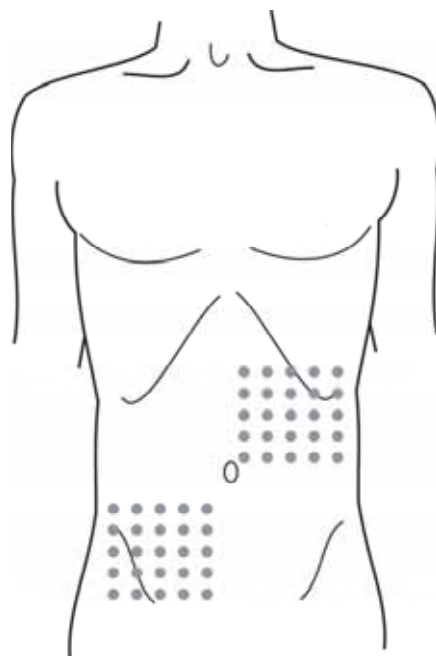


Figura11. Esquema da grade de pontos em torno da projeção gástrica e região colônica.

5.2. Análise dos dados da BAC

Os dados obtidos pela BAC são basicamente matrizes numéricas temporais, isto é, registros temporais magnéticos, amostrados na frequência de aquisição de 10 Hz. Os sinais analógicos adquiridos foram digitalizados por uma placa A/D e arquivados em formato ASCII. A análise qualitativa e quantitativa destes sinais digitalizados foram realizadas totalmente em ambiente MatLab (MATHWORK INC.), que é uma ferramenta valiosa no processamento de sinais e

imagens. Uma imagem é composta por uma matriz, na qual cada elemento, ou pixel, é representado por um valor numérico.

As matrizes que compõem uma imagem médica geralmente são quadradas, caracterizadas por 64x64, 128x128, 256x256 ou 1024x1024 pontos. O tamanho da matriz é importante, pois quanto maior, menores serão os pixels e, conseqüentemente, a imagem resultante apresentará melhor resolução (CORÁ, 2004).

Conforme descrito anteriormente, as imagens magnéticas são formadas a partir da aquisição de sinais representados por matrizes numéricas espaciais.

Esta matriz deve conter um número suficiente de pontos que possibilite a geração da imagem e para isso é necessário que se realize um tratamento matemático e a utilização de rotinas específicas para o processamento digital de imagens.

Para a obtenção das imagens primitivas do sistema multiparticulado magnético neste trabalho, duas abordagens foram necessárias: O método de interpolação dos dados coletados, que consiste na estimativa de valores da matriz, computando uma média entre os pontos fornecidos e aplicação de filtros especiais.

A partir da interpolação desses dados, o processo de formação das imagens ocorreu através da aplicação de funções específicas, incluindo uma filtragem para atenuar o ruído e realçar os contrastes. Este procedimentos são conhecidos por Processamento Digital de Imagens (PDI), sendo todas as rotinas realizadas em ambiente MatLab.

São consideradas neste tipo de análise como “imagens primitivas” aquelas geradas por processamento digital simples ou com pouca interferência lógica sobre a matriz de dados.

6. MAGNETOFARMACOCINÉTICA

O objetivo deste trabalho era, num primeiro momento, monitorar o trânsito do sistema multiparticulado desenvolvido em nossos laboratórios, através da BAC, a fim de verificar o comportamento *in vivo* das partículas, quando sujeitas a todo o ambiente do TGI, e compará-lo ao comportamento obtido nos ensaios de liberação *in vitro* com o mesmo sistema multiparticulado realizado em trabalho anterior (OLIVEIRA, 2005).

Com o intuito de estabelecer uma melhor correlação *in vitro-in vivo* (CIVIV) para o fármaco-modelo (TC) utilizado, caracterizando melhor assim o sistema de liberação colônico de fármacos proposto, houve a necessidade de associar a BAC com análises farmacocinéticas (“magnetofarmacocinética”).

Para tal análise, amostras de sangue seriadas, foram coletadas através de punção venosa, antes da ingestão das partículas e a cada 30 minutos durante todo o tempo de mapeamento das partículas magnéticas.

Para isso, os voluntários tiveram a veia puncionada e mantida através de cateter *Gelko*[®] heparinizado, tendo sido o protocolo deste estudo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB)- Universidade Estadual Paulista (UNESP), Of. 558/08-CEP.

As amostras de sangue coletadas foram transferidas para tubo plástico contendo, como anticoagulante, sal sódico do ácido etileno-diaminotetracético

(EDTA; 1 gota/5 mL sangue), centrifugadas a 4000 rpm por 10 minutos, sendo então o plasma armazenado a -20°C até análise por CLAE, conforme descrito no item 3.1.

VI. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. PREPARAÇÃO DAS PARTÍCULAS

A Tabela 4 apresenta a composição dos lotes do sistema multiparticulado preparados sem a incorporação de ferrita (F) e do sistema multiparticulado magnético contendo ferrita (F). Foram preparados também lotes contendo 100 mg e 200 mg de TC. Esta variação na quantidade de fármaco incorporado ao sistema multiparticulado foi realizada a fim de verificar a alteração na granulometria e morfologia das partículas.

Tabela 4. Composição dos lotes preparados (n=3).

Lotes	CaCl ₂ (%)	PC 1,5% (ml)	QS 0,5% (ml)	CAP 0,5% (ml)	TC (mg)	Ferrita (F) (g)
CAPTC100	2	15	40	5	100	1,0
CAPTC200	2	15	40	5	200	1,0
FCAPTC100	2	15	40	5	100	1,0
FCAPTC200	2	15	40	5	200	1,5

As partículas preparadas apresentaram-se esféricas (Fig. 12), com coloração marrom escuro, devido à incorporação da ferrita (F), e maiores do que as partículas preparadas sem Ferrita (F).

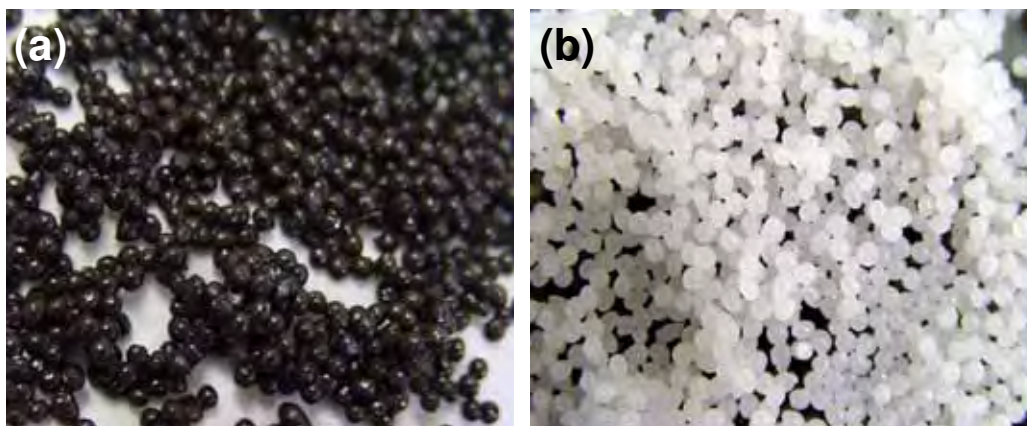


Figura 12. Partículas com F (a) e sem F (b) antes do processo de liofilização.

2. CARACTERIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS

2.1 Características morfológicas

As partículas foram preparadas pelo método de gotejamento, utilizando seringa e agulha, conforme descrito em métodos item 1

MATSUMOTO; KOBAYASHI; TAKASHIMA, (1986), também utilizaram um método de gotejamento para a obtenção de partículas e observaram, inicialmente, que as partículas obtidas apresentavam formato oval e que, através de alterações da distância de gotejamento, ocorria um pequeno intervalo (denominado distância crítica), que era dependente da velocidade de gotejamento e da vibração aplicada, dentro do qual as partículas tornavam-se esféricas.

Portanto, a morfologia das partículas pode ser influenciada por diversos fatores: concentração de polímeros, distância entre a agulha de gotejamento e a solução, diâmetro do orifício ou da agulha de gotejamento, temperatura da solução e velocidade de gotejamento, entre outros (MATSUMOTO; KOBAYASHI; TAKASHIMA, 1986, ZANIBONI, 1995).

A Figura 13 apresenta fotomicrografias das partículas com e sem o marcador magnético (F).

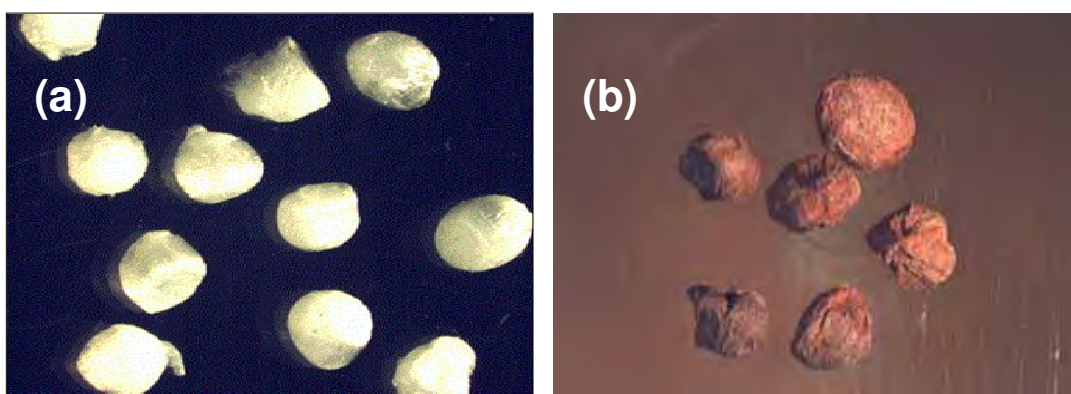


Figura 13. Fotomicrografia do sistema multiparticulado (a): antes da incorporação de F e (b) após a incorporação de F, respectivamente, lotes CAPTC e FCAPTC, sob aumento de 10x.

A figura 14 apresenta as fotomicrografias obtidas através da microscopia eletrônica de varredura, nas quais é possível observar a forma praticamente esférica das partículas, tornando-se mais evidente o aspecto rugoso da superfície e a diferença granulométrica entre as partículas analisadas (CAPTC200 e FCAPTC200).

No maior aumento (500x), foi possível observar que tanto as partículas sem ferrita como aquelas contendo ferrita apresentaram superfície densa, sem espaços intersticiais aparentes, o que sugere que ambos os lotes não apresentaram alterações visuais, mostrando a formação de uma estrutura bem coesa.

A porosidade da superfície de uma partícula aumenta os espaços intersticiais, formando assim canalículos, os quais poderão permitir a entrada dos fluidos biológicos, facilitando a liberação do fármaco.

Numa primeira análise, este aspecto denso das partículas sugere que elas tornem-se mais resistentes aos meios aceptores, promovendo assim um maior controle na liberação do fármaco.

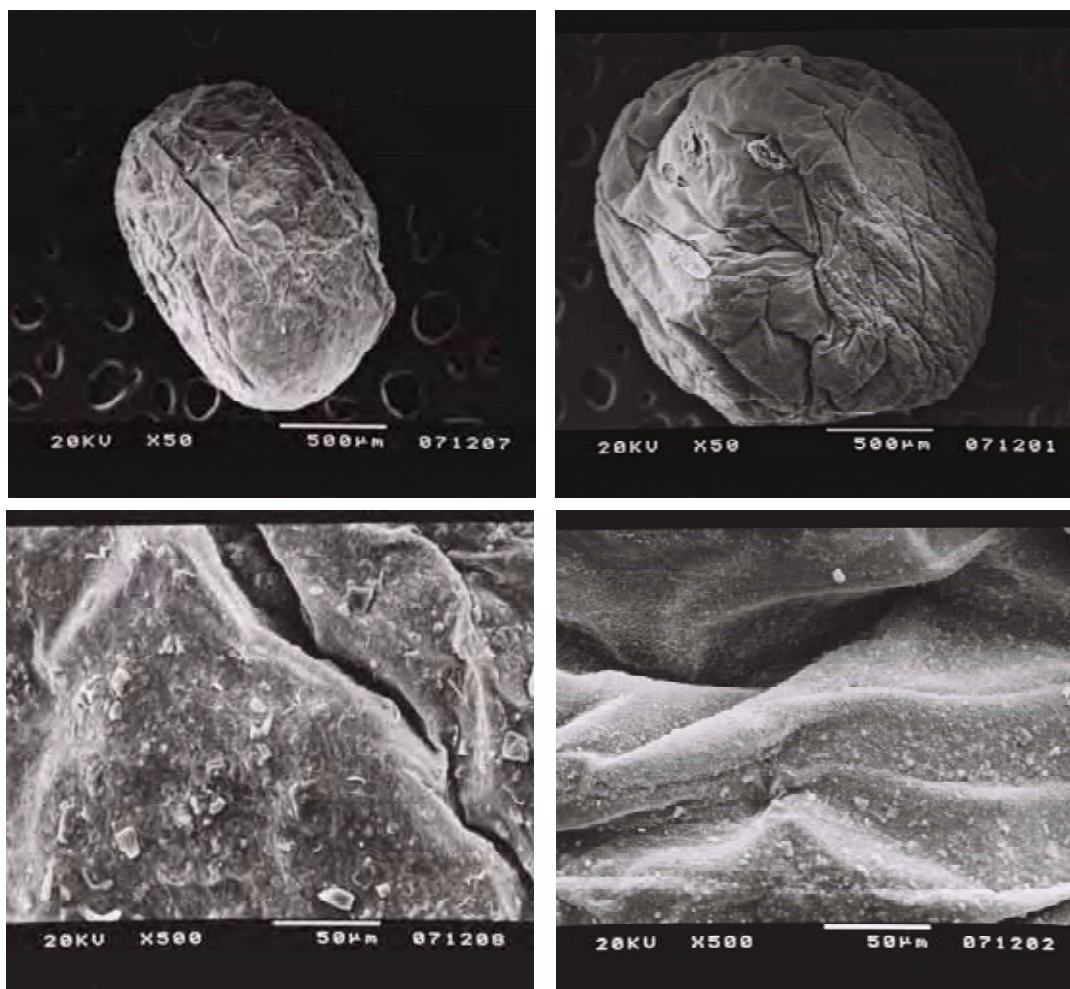


Figura 14. Fotomicrografias do sistema multiparticulado: **A:** CAPTC200, aumento 50x; **B:** FCAPTC200, aumento 50x, **C:** CAPTC200 e **D:** FCAPTC200 aumento de 500x.

2.2. Análise granulométrica

A análise granulométrica foi realizada com o intuito de verificar a interferência da incorporação de F no sistema multiparticulado. A Figura 15 apresenta a distribuição do tamanho de partículas dos sistemas multiparticulados.

O parâmetro utilizado para a determinação do tamanho das partículas foi o diâmetro de Feret, o qual corresponde à distância entre duas linhas paralelas imaginárias, tangentes a uma partícula randomicamente orientada (BARBER, 1993; STANIFORTH, 1988).

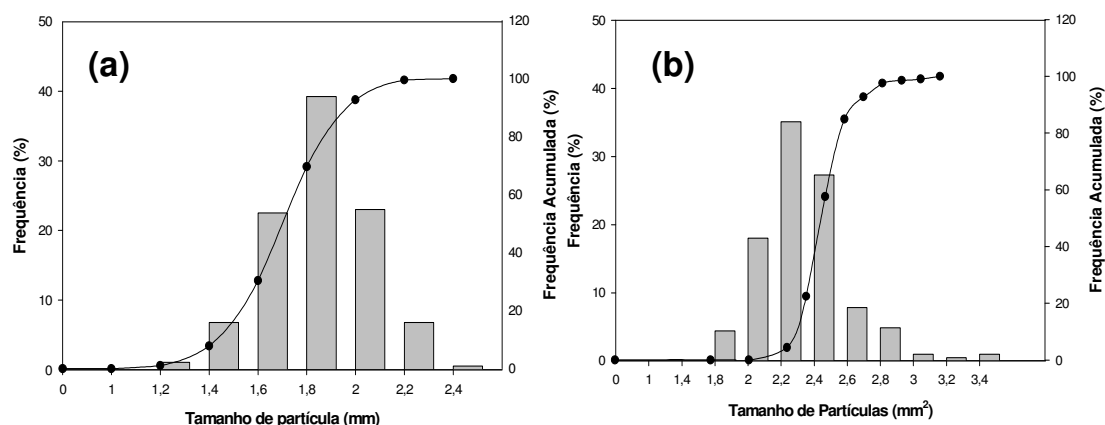


Figura 15. Distribuição do tamanho de partículas (a) CAPTC100 e (b) CAPTC200, (n=220).

A Figura 16 apresenta o resultado da análise granulométrica das formulações contendo F.

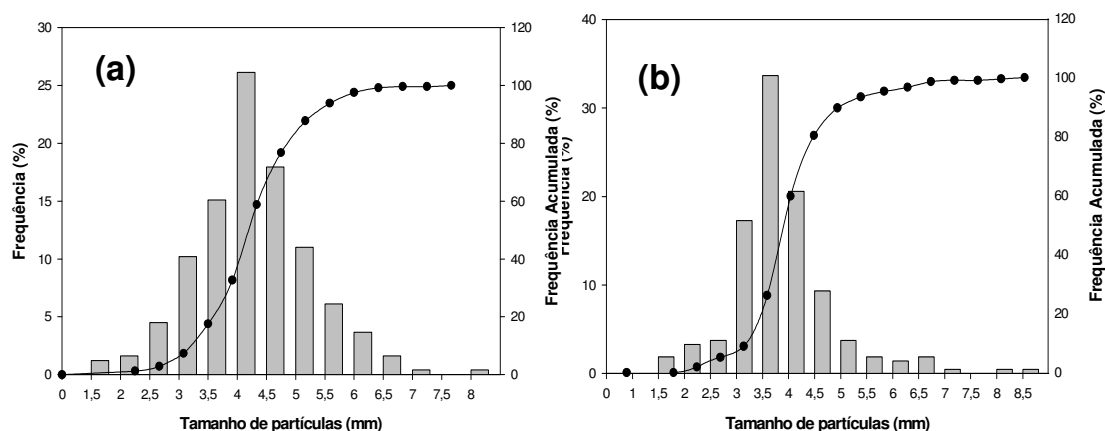


Figura 16. Distribuição do tamanho de partículas dos lotes (a): FCAPTC100 e (b): FCAPTC200, respectivamente.

A análise do tamanho de partículas (Fig. 15 e 16) revelou que o perfil de distribuição normal não foi modificado e que a incorporação de ferrita no sistema multiparticulado alterou o tamanho das partículas obtidas quando comparadas com as partículas sem ferrita (Fig.15).

Estes resultados podem ser observados melhor, através das medidas de tendência central calculadas para as partículas com e sem ferrita (Tabela 5).

Tabela 5 - Efeito da adição de ferrita e do aumento de TC no tamanho das partículas.

Amostras	Diâmetro médio (mm)	Diâmetro mediano (mm)	Diâmetro modal (mm)
CAPTC100	1,88 ± 0,24	1,88	1,84
CAPTC200	2,12 ± 1,84	1,57	0,52
FCAPTC100	4,40 ± 1,15	3,00	3,67
FCAPTC200	3,46 ± 0,99	3,37	3,47

Além da forma e da distribuição de tamanho das partículas, as diferentes amostras apresentaram valores de diâmetro médio, mediano e modal muito semelhantes, quando se faz a comparação entre as amostras CAPTC100 e CAPTC200, e entre as amostras FCAPTC100 e FCAPTC200 entre si.

Após os dados serem submetidos à análise de variância (ANOVA), observou-se diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os valores de diâmetro de Feret 0° para as amostras com e sem material magnético (ferrita), confirmando que as partículas magnéticas tornaram-se significativamente maiores do que as partículas sem a incorporação de ferrita.

Após o teste ANOVA, os dados foram submetidos ao teste de Tukey, que é um procedimento complementar à ANOVA e visa identificar quais as médias que, tomadas duas a duas, diferem significativamente entre si.

Para melhor visualização da diferença granulométrica entre as diferentes formulações, a Figura 17 apresenta a dispersão dos valores dos diâmetros.

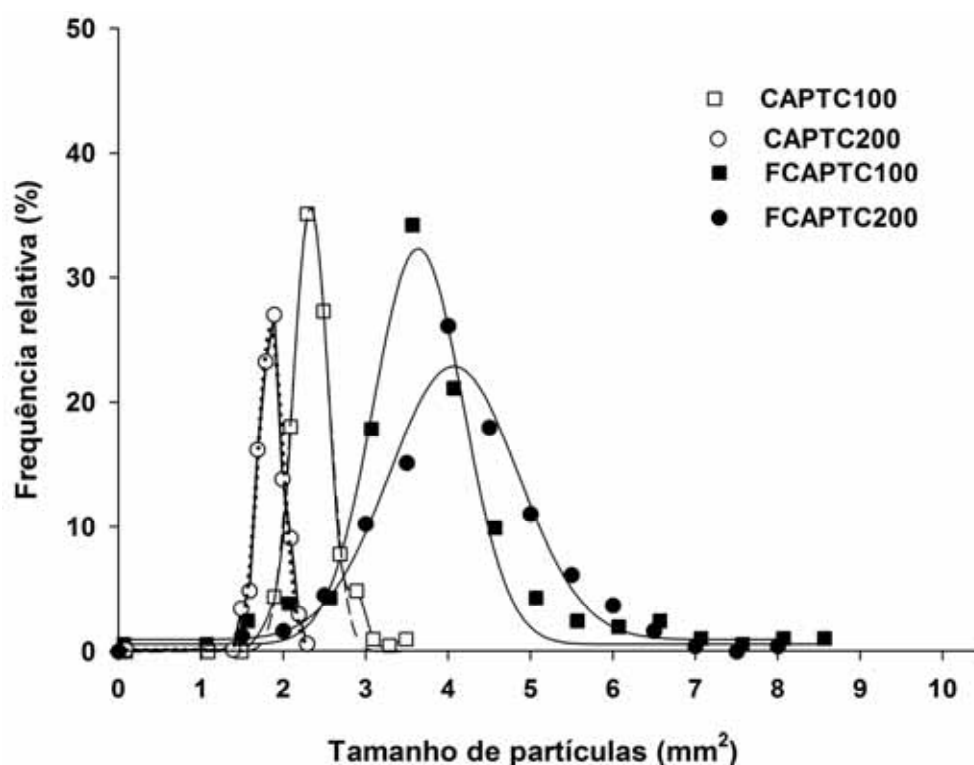


Figura 17. Dispersão dos diâmetros das partículas obtidas.

Após este procedimento estatístico, constatou-se que não há qualquer correlação entre a quantidade de fármaco incorporado ao sistema multiparticulado e a variação do diâmetro médio das partículas, ou seja, as médias não diferiram estatisticamente entre as amostras CAPTC100 e CAPTC200 e entre FCAPTC100 e FCAPTC200.

Já quando as amostras sem o material magnético foram comparadas com as amostras contendo ferrita, as médias diferiram, o que evidencia que a incorporação de ferrita e não a concentração do fármaco é que está relacionada com o aumento do diâmetro médio das partículas.

3. ANÁLISE QUANTITATIVA DA TRIANCINOLONA (TC)

3.1. Validação da metodologia analítica quantitativa para TC

As Figuras 18 e 19 apresentam as curvas analíticas de TC em metanol e em plasma, respectivamente, realizadas pelo método de CLAE conforme descrito em métodos itens 3.1 e 3.2.

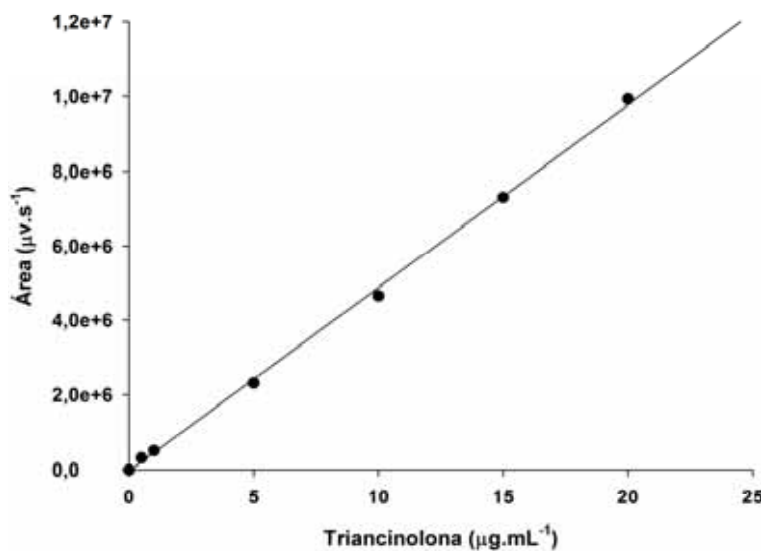


Figura 18. Curva analítica de TC em metanol, obtida por CLAE em 242 nm.

A equação linear representativa obtida para a curva analítica de TC em metanol foi $y=490858x - 34483$, o coeficiente de correlação linear foi 0,996.

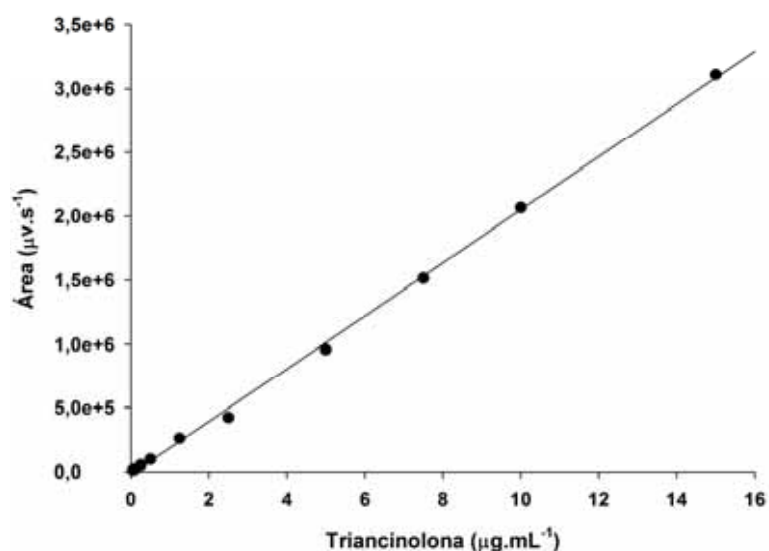


Figura 19. Curva analítica de TC em plasma, obtida por CLAE em 242 nm.

A equação linear representativa obtida para a curva analítica de TC em plasma foi $y=65773x - 41022$, o coeficiente de correlação linear foi 0,994. Ambas as curvas apresentaram valores para o coeficiente de correlação superiores a 0,99, indicando a linearidade do método para a análise quantitativa do fármaco em metanol e no plasma na faixa de concentração investigada.

A figura 20 apresenta os cromatogramas obtidos antes e depois da adição do fármaco.

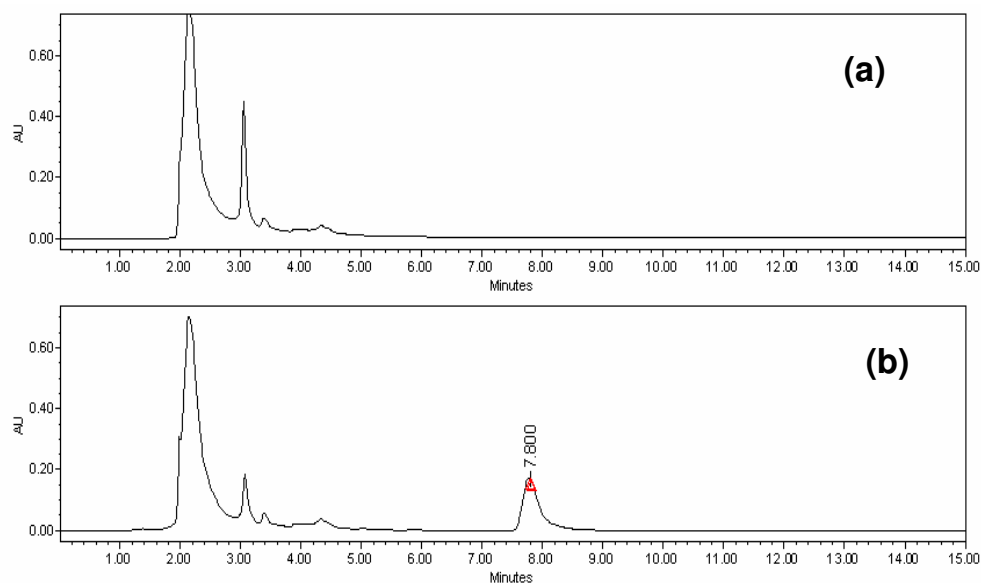


Figura 20. Cromatogramas: (a) plasma antes da adição de TC e (b) plasma contendo 10 µg.mL⁻¹ de TC.

O fármaco apresentou tempo de retenção de aproximadamente 7,5 minutos e não foi identificada qualquer impureza ou componente, tanto do metanol quanto da matriz biológica, que apresentasse sinal próximo desta faixa de tempo, indicando que o método de CLAE pode ser considerado específico e seletivo para a análise quantitativa de TC nas partículas.

Não houve diferenças estatísticas ($p < 0,005$) entre os tempos de retenção identificados na análise de fármaco em metanol, daqueles observados na análise em plasma, o que indica que o método pode ser considerado, quanto a este aspecto, específico e seletivo para a análise quantitativa da TC nas amostras de plasma.

A tabela 6 apresenta os resultados obtidos nos ensaios de exatidão e precisão realizados no mesmo dia.

Tabela 6. Resultados do teste de precisão (CV) e exatidão (recuperação) do método CLAE para a determinação de TC em plasma.

Concentração	Concentração	Exatidão	Precisão
teórica (µg/mL)	analítica (µg/mL)	R (%)	CV (%)
5	5,14 ± 0,09	102,8	1,93
20	19,43 ± 0,40	97,16	2,07
40	39,11 ± 0,62	97,78	1,61

CV = coeficiente de variação; R= recuperação.

Foram realizados também ensaios de precisão e exatidão intra e interensaios, que estão apresentados na tabela 7.

Tabela 7. Resultados de análises intra e interensaios para os testes de precisão (repetibilidade) e exatidão (recuperação) da TC em plasma.

Concentração	Intraensaio		Intraensaio (3 dias)	
	Precisão (CV%)	Exatidão (R%)	Precisão (CV%)	Exatidão (R%)
5	11,74	84,66	14,65	81,22
20	2,74	96,18	7,30	90,18
40	0,88	101,25	1,57	102,25

CV = Coeficiente de variação; R = recuperação.

Os resultados obtidos no ensaio de precisão e exatidão estão de acordo com os estabelecidos pela ANVISA, sendo que o coeficiente de variação (CV) é menor do que 15% e a recuperação está entre 80 a 120 %. A análise das amostras em dias diferentes confirmou a precisão da metodologia empregada para a análise quantitativa de TC em plasma.

Os resultados obtidos para os limites de quantificação (LQ) e detecção (LD) da TC em plasma estão representados na tabela 8.

Tabela 8. Resultados obtidos para os limites de detecção e quantificação da TC em plasma.

Parâmetros		Resultados
Concentração empregada * (µg/mL)	1,25	45837,33 µV.s ⁻¹
	1,50	58222,00 µV.s ⁻¹
	1,75	75625,33 µV.s ⁻¹
Desvio padrão médio (DP)		2651,11 µV.s ⁻¹
Inclinação da curva analítica (a)		65773
Limite de detecção (LD)		0,12 µg/ mL
Limite de quantificação (LQ)		0,40 µg/ mL

Os estudos de validação apresentados comprovam a especificidade, linearidade, precisão e exatidão da metodologia analítica utilizada para a quantificação da TC no plasma.

3.2. Análise quantitativa do teor e eficiência de encapsulação do fármaco

A análise quantitativa do teor de TC incorporada nas partículas magnéticas foi realizada utilizando a metodologia específica e validada, conforme descrito no capítulo IV item 3.3. A Tabela 9 apresenta os resultados do teor e eficiência de encapsulação obtidos.

Tabela 9. Teor e eficiência de encapsulação dos lotes.

Lotes	Eficiência de encapsulação (%)	Teor de Fármaco (%)
CAPTC100	88,77 ± 1,07	28,14 ± 2,55
CAPTC200	89,12 ± 6,88	31,57 ± 1,35
FCAPTC100	108,41 ± 9,26	37,27 ± 2,27
FCAPTC200	80,00 ± 6,80	23,57 ± 1,66

Os resultados do teor e da eficiência de encapsulação foram satisfatórios para todas as formulações analisadas, mostrando uma alta eficiência de incorporação do fármaco na matriz polimérica. Os resultados obtidos mostram que a incorporação do fármaco, de maneira geral, ocorreu de forma reprodutiva, independente da incorporação de ferrita ao sistema multiparticulado.

4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Com o intuito de verificar possíveis interações formadas entre os polímeros PC, QS e CAP com o marcador magnético incorporado (ferrita), foram realizadas a análise dos espectros vibracionais das amostras na região do infravermelho. Para tal análise foram obtidos espectros da mistura física de PC:QS:CAP:TC e dos complexos polieletrólíticos PC:QS:CAP:TC e PC:QS:CAP:TC:F, segundo métodos descritos no item 4.

A QS apresenta bandas características relacionadas ao estiramento C=O dos grupos acetamida, em 1654 cm^{-1} , devido à desacetilação parcial ocorrida em seu processo de purificação (GD é de 78%), e na região de $1610\text{-}1560\text{ cm}^{-1}$, atribuídas à deformação axial dos grupos amino no plano (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

A PC possui íons carboxilatos em sua estrutura molecular, que se caracterizam por duas bandas, uma das quais, entre $1650\text{-}1550\text{ cm}^{-1}$, é intensa, e outra banda, mais fraca, em torno de 1400 cm^{-1} . Essas bandas são atribuídas à deformação axial simétrica dos grupos carboxilatos presentes (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

A Figura 21 mostra os espectros obtidos para a mistura física e dos complexos polieletrólíticos na região do infravermelho.

Quando se compara o espectro da mistura física de PC:QS:CAP:TC (Fig. 14 a) com o do complexo formado por eles (Figura 21 b), diferenças significativas podem ser observadas. Verifica-se que o espectro do complexo não apresenta bandas na região de $1650\text{ e }1350\text{ cm}^{-1}$, que são características dos grupamentos

da QS, o que sugere a neutralização dos grupos amino com a formação do complexo (OLIVEIRA, 2005).

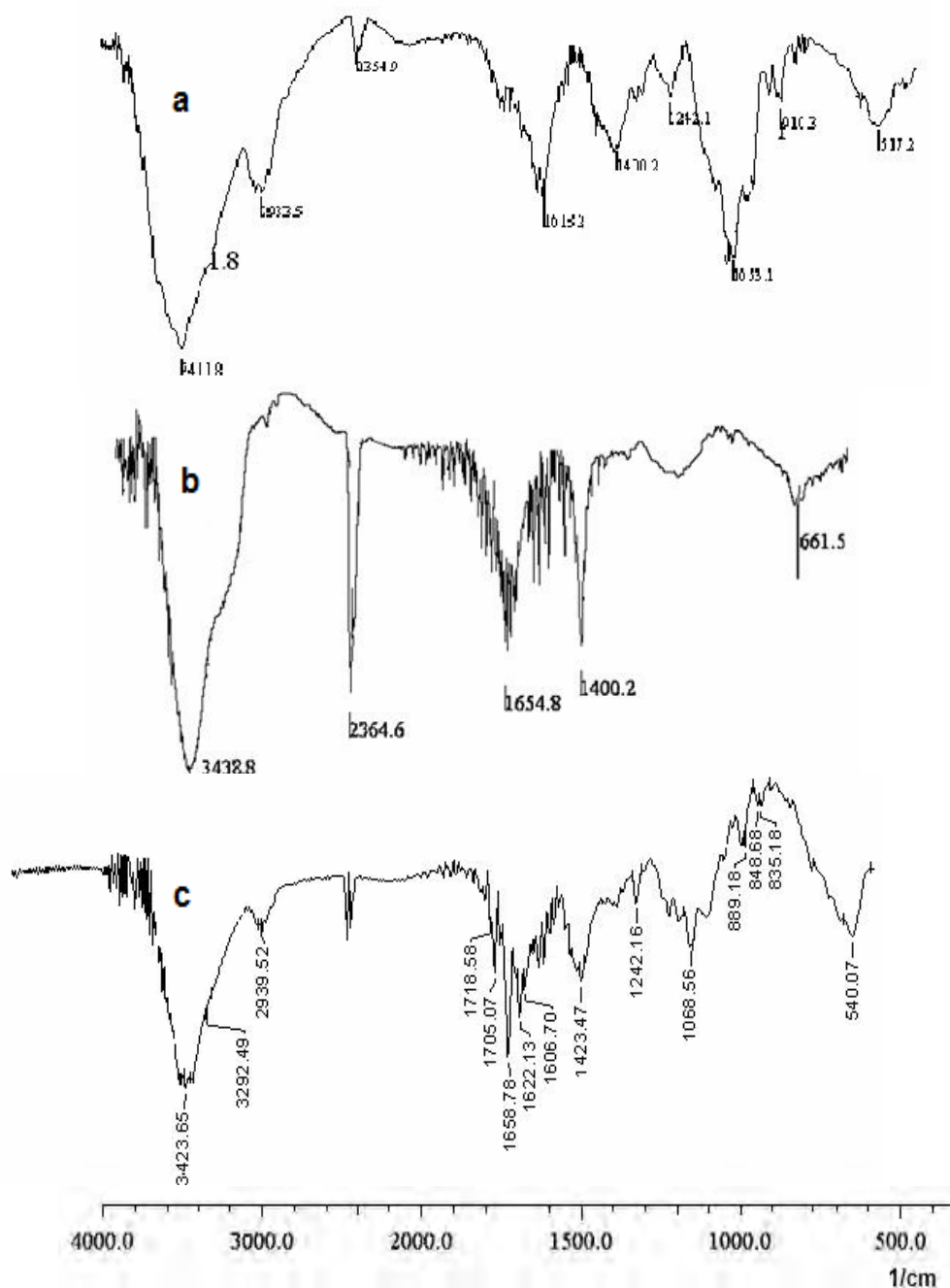


Figura 21. Espectro na região do infravermelho de (a): mistura física PC:QS:CAP:TC, (b): complexo polieletrólítico PC:QS:CAP:TC e (c) complexo polieletrólítico PC:QS:CAP:TC:F, respectivamente.

Entretanto, a alteração que mais se destaca é na região entre 1200-1000 cm^{-1} , região que praticamente desaparece de todos os espectros do complexo polieletrólítico.

Esta região apresenta bandas no espectro da mistura física (PC:QS), no espectro da PC, com intensidade média e no espectro da QS com baixa intensidade. Essas bandas referem-se às chamadas “vibrações de deformação axial de C-O” dos ésteres ocorrendo entre 1300 e 1000 cm^{-1} (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000) e estão presentes na molécula de PC. O desaparecimento destas bandas pode estar relacionado com a complexação da PC com o cálcio na chamada estrutura de “caixa de ovo”.

Os espectros do complexo polieletrólítico formado por PC:QS:CAP:TC, apresentado na Figura 21-b, apresenta um pico pronunciado em 2364 cm^{-1} , fato este não ocorrido no espectros da mistura física (Fig.21-a). Esse pico foi atribuído à formação de sais de amina primárias ($-\text{NH}_3^+$), que são representados na região do infravermelho por bandas múltiplas de combinação de intensidade apreciável na região de 2800 e 2200 cm^{-1} , sendo mais intensa a banda de frequência mais baixa (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

É importante ressaltar que o grupamento amina da QS encontra-se protonado ($-\text{NH}_3^+$) na faixa de pH utilizado para a preparação das partículas (pH 4,8), ou seja, já se encontra na forma de sais de amina primária e, portanto, a intensificação desta banda não está relacionada à formação de sais de amina, mas, provavelmente, à mudança no eixo de simetria da ligação. Isto pode ter ocorrido devido à ligação de alguns grupamentos $-\text{NH}_3^+$, da QS, aos grupamentos $-\text{COO}^-$ do polímero gastrorresistente adicionado.

O espectro obtido com o complexo polieletrólítico formado pelas partículas contendo ferrita (Fig. 21-c) não foi conclusivo em relação a qualquer alteração significativa que pudesse estar relacionada com a interferência da ferrita na complexação dos polímeros PC:QS:CAP. O material magnético não apresenta bandas características pois não absorve na região do infravermelho. Os metais absorvem a partir de 400 cm^{-1} .

A diminuição da intensidade das bandas em 2364 cm^{-1} e entre 1300 e 1000 cm^{-1} pode estar relacionada com uma possível diminuição da complexação dos polímeros, mas a análise de infravermelho sozinha não é suficiente para atestar esta alteração. Por este motivo, análises de calorimetria exploratória diferencial estão sendo efetuadas, na tentativa de elucidar uma possível interferência do material magnético na estrutura do sistema multiparticulado para liberação colônica de fármacos desenvolvido.

5. ANÁLISES *IN VIVO* POR BIOSUSCEPTOMETRIA AC

A motilidade do TGI é caracterizada pela presença de dois padrões de atividade distintos, identificados durante o jejum e durante o período pós-prandial. No jejum, a atividade motora é cíclica e recorrente, com ondas contráteis intensas e de alta amplitude, enquanto que no período pós-prandial caracteriza-se por uma atividade contrátil de frequência variável de acordo com a região do TGI (QUIGLEY, 1996).

Por esse motivo, caracterizar os parâmetros relacionados ao trânsito gastrointestinal de formas farmacêuticas sólidas é de extrema importância para a compreensão dos processos envolvidos na liberação do fármaco e para uma melhor correlação *in vitro/in vivo*.

Neste item serão apresentados os resultados que caracterizam o comportamento do sistema multiparticulado magnético estudado no TGI humano.

As sessões de mapeamento permitiram o monitoramento e a aquisição dos sinais magnéticos que caracterizaram a chegada das partículas ao cólon.

As partículas foram acondicionadas em cápsulas de gelatina duras nº 0. Cada voluntário ingeriu quatro cápsulas com aproximadamente 600 mg de partículas, contendo o equivalente a 80 mg de TC, com 200 mL de água.

Com os mapeamentos realizados através da técnica BAC com sensor único foram avaliados:

a) Tempo de retenção gástrica (TRG):

Define-se o intervalo de tempo durante o qual as formas farmacêuticas permanecem retidas no estômago, até serem liberadas para o duodeno, como o

Tempo de Retenção Gástrica (TRG). O TRG é extremamente influenciado por parâmetros fisiológicos e pelas características das formas farmacêuticas. O TRG foi calculado no intervalo de tempo entre a chegada e a saída destas formulações no estômago.

b) Tempo de trânsito intestinal (TTI):

O Tempo de Trânsito Intestinal (TTI) é o tempo compreendido entre a saída da formulação do estômago até a chegada na região colônica, ou seja, assinala o tempo necessário para que as partículas magnéticas alcancem a região colônica.

c) Tempo de chegada ao cólon (TCC):

O tempo de chegada à região colônica é a soma do tempo de retenção gástrica (TRG) com o tempo de trânsito intestinal (TTI).

O estudo, conforme descrito em métodos no item 5.5.1, foi realizado em duas fases distintas, sendo na primeira fase avaliado o TGI no estado prandial controlado, ou seja, jejum de 12 horas, e na segunda fase o TGI foi avaliado no estado pós-prandial.

5.1. Avaliação do TGI em estado prandial controlado (jejum)

Participaram desta fase quatro voluntários submetidos a jejum de 12 horas, que foi mantido durante todo o tempo da análise, perfazendo um tempo de jejum de aproximadamente 20 horas.

Os voluntários ingeriram as cápsulas após a aquisição do sinal basal, conforme descrito em métodos item 5.5. A figura 22 apresenta a sequência das imagens magnéticas na região gástrica de um dos voluntários.

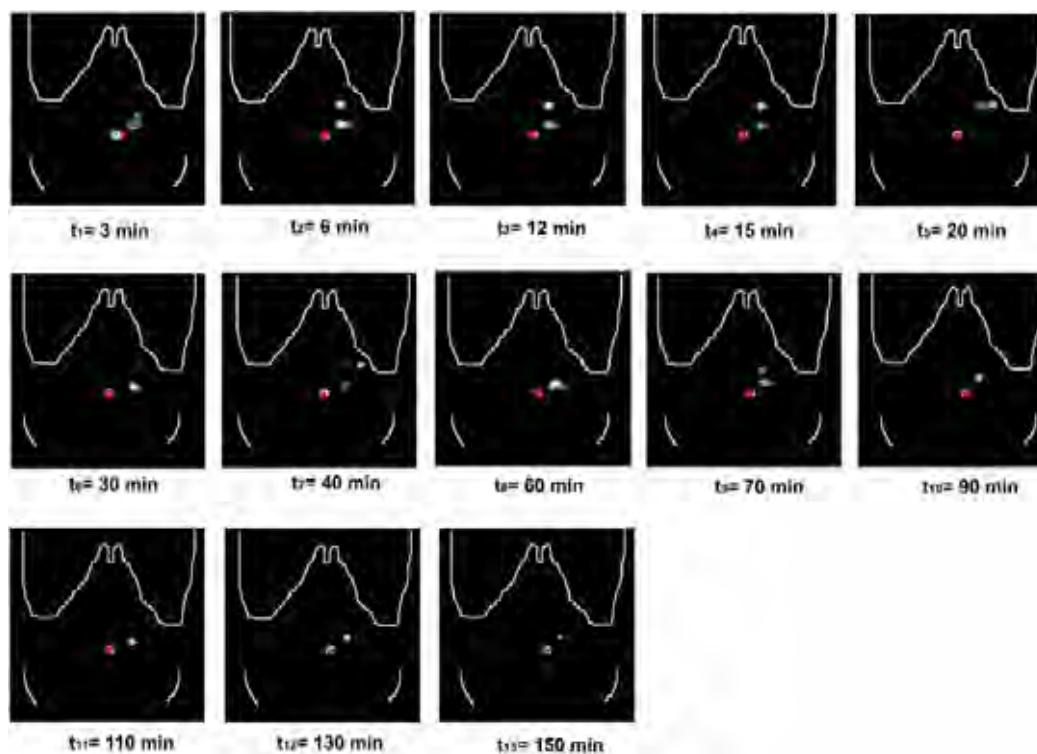


Figura 22. Imagens magnéticas das cápsulas no estômago de um voluntário. O ponto vermelho representa a localização da cicatriz umbilical.

Conforme representado na figura 22, foram realizadas 13 medidas até o início do esvaziamento gástrico. Após 150 minutos de mapeamento não foi localizado mais nenhum sinal magnético. Foram 150 minutos de tempo de retenção gástrica (TRG).

No mapeamento do trânsito do sistema multiparticulado magnético foram quantificados o tempo de retenção gástrica (TRG) e o tempo de trânsito intestinal (TTI) até a chegada a região colônica (TCC).

A figura 23 apresenta a representação gráfica do TRG, TTI e TCC em uma medida com voluntário.

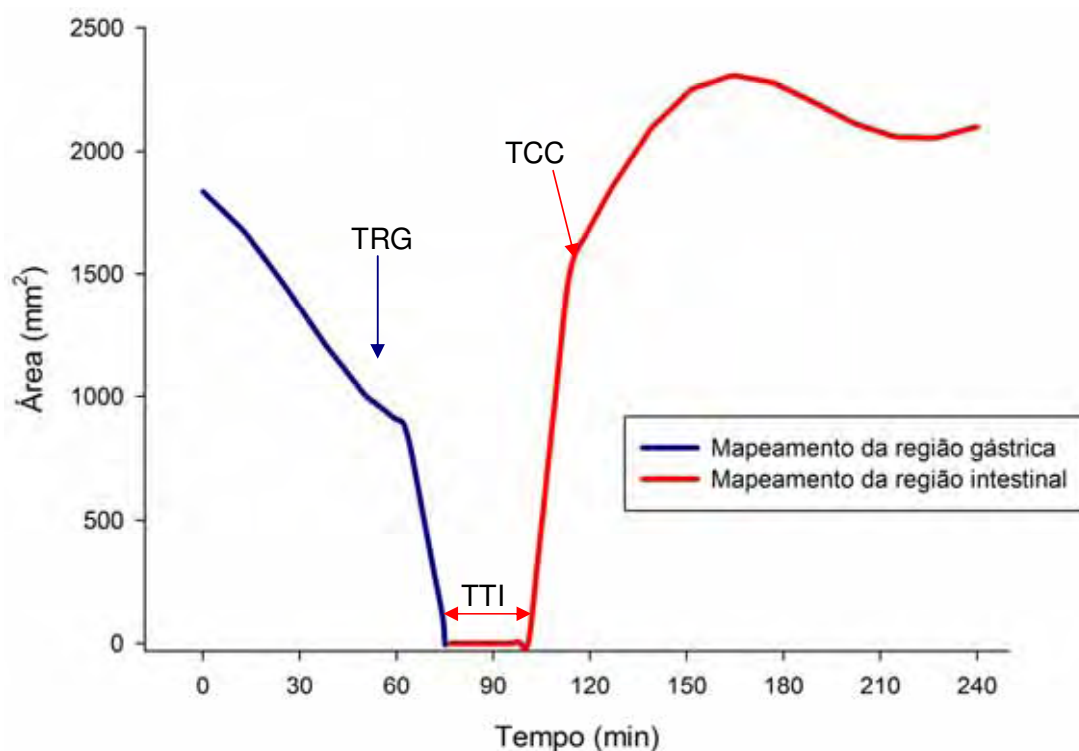


Figura 23. Perfil do TGI do sistema multiparticulado magnético obtido através de mapeamento com voluntário em jejum de 12h.

A tabela 10 apresenta os resultados do tempo de retenção gástrica (TRG), tempo de trânsito intestinal (TTI) e tempo de chegada ao cólon (TCC) de voluntários que tiveram o trânsito gastrintestinal mapeado durante aproximadamente 8 horas.

O valor médio do TRG do sistema multiparticulado magnético foi de 107,5 min $\pm$ 43,37 min (n=4), mostrando uma significativa variabilidade entre os

voluntários analisados. O TTI mostrou-se mais constante entre os voluntários, sendo que o valor médio para o TTI foi de 61,66 min $\pm$ 14,33 min (n=4).

Tabela 10. Tempo de Trânsito Gastrintestinal do sistema multiparticulado magnético

Voluntários	Tempo (min)		
	TRG	TTI	TCC
1	75	80	155
2	60	45	105
3	170	60	230
4	125	—	125
Média	107,50	61,66	153,75
DP	43,37	14,33	47,50

Mediante os resultados apresentados, comprova-se que o esvaziamento gástrico é um fator determinante para o tempo de chegada das partículas ao cólon, já que o TTI mostrou-se mais constante, com pouca variabilidade interindividual.

As características físicas da forma farmacêutica, como a densidade e o tamanho, a ingestão de alimentos ou a administração concomitante de fármacos que afetem a motilidade, além de fatores biológicos, como idade, postura, índice de massa corporal, atividade física e algumas doenças, constituem os principais

fatores que alteram o esvaziamento gástrico (DAVIS et al., 1986; DRESSMAN et al., 1993; KUO et al., 2008).

É importante lembrar que, durante a atividade interdigestiva, a atividade motora gástrica apresenta “ondas de limpeza” que são caracterizadas por intensa atividade de contração gástrica. Esta atividade pode ser considerada uma das possíveis causas da variação dos TRG interindividuais, considerando-se que poderia estar ocorrendo no momento do mapeamento, particularmente nos voluntários 1 e 2.

A figura 24 apresenta a variação do tempo de retenção gástrica entre os voluntários analisados.

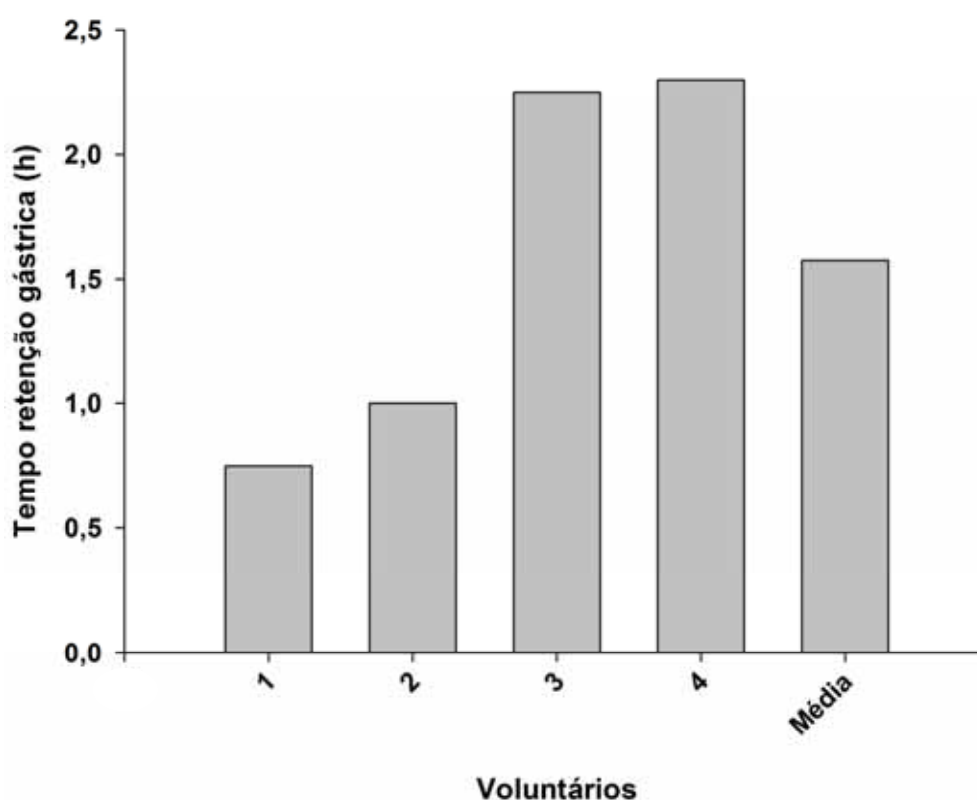


Figura 24. Tempo de retenção gástrica (TRG) dos voluntários em jejum (12h).

Estudos mostram que partículas grandes, incluindo formas farmacêuticas sólidas convencionais, não são esvaziadas do estômago durante o período de atividade digestiva. Terminado o período digestivo, tem início um período regido por um padrão de motilidade interdigestiva, denominado Complexo Mielétrico Migratório (CMM), que é caracterizado por uma atividade mecânica intensa e irregular, com três fases consecutivas (Fase I, II e III) e duração média de 84 a 112 minutos (COUPE et al., 1991; HASLER, 1995; MCCONNELL et al., 2008).

Um comprimido com revestimento gastrorresistente pode permanecer retido no estômago durante todo o período digestivo, sendo que seu esvaziamento ocorrerá apenas durante a fase III do CMM. Por outro lado, sistemas multiparticulados podem ser esvaziados do estômago gradualmente, independente do CMM (QUIGLEY, 2000).

A fim de verificar a variabilidade intraindividual, um mesmo voluntário submeteu-se a mais dois mapeamentos do sistema multiparticulado magnético e os resultados do tempo de retenção gástrica são apresentados na figura 25.

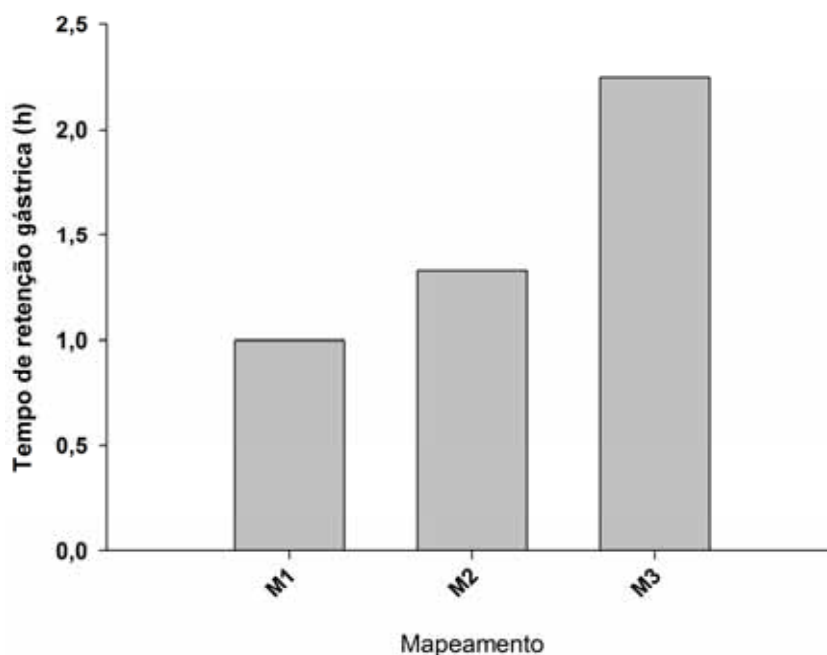


Figura 25. Tempo de retenção gástrica em diferentes dias de análises em um mesmo voluntário.

Pode-se verificar que existe variabilidade no TRG não só interindividual, mas também intraindividual. Os mapeamentos foram realizados com no mínimo um mês de diferença entre cada um, para assegurar que não houvesse interferência entre eles.

Esta variação, mesmo que em um mesmo indivíduo, pode ocorrer devido às diferenças entre o padrão de motilidade durante o jejum ou da fase do CMM no momento do estudo, o que indica que não há qualquer interferência da técnica de mapeamento utilizada (CORÁ et al., 2008). Qualquer partícula sólida ingerida deixa o estômago pela ação das contrações da fase III do CMM.

A figura 26 apresenta imagens do sistema multiparticulado magnético na região colônica de um voluntário.

Durante os mapeamentos, o monitoramento e a aquisição dos sinais magnéticos permitiu caracterizar a chegada do sistema multiparticulado magnético à região colônica.

Na sequência de imagens, o instante $t_1 = 0$ min mostra a chegada do sistema multiparticulado ao cólon e a partir do instante $t_2 = 30$ min ocorre o aumento da intensidade do sinal, sendo que, aparentemente, nenhum processo de desintegração foi observado, já que não há espalhamento do material magnético.

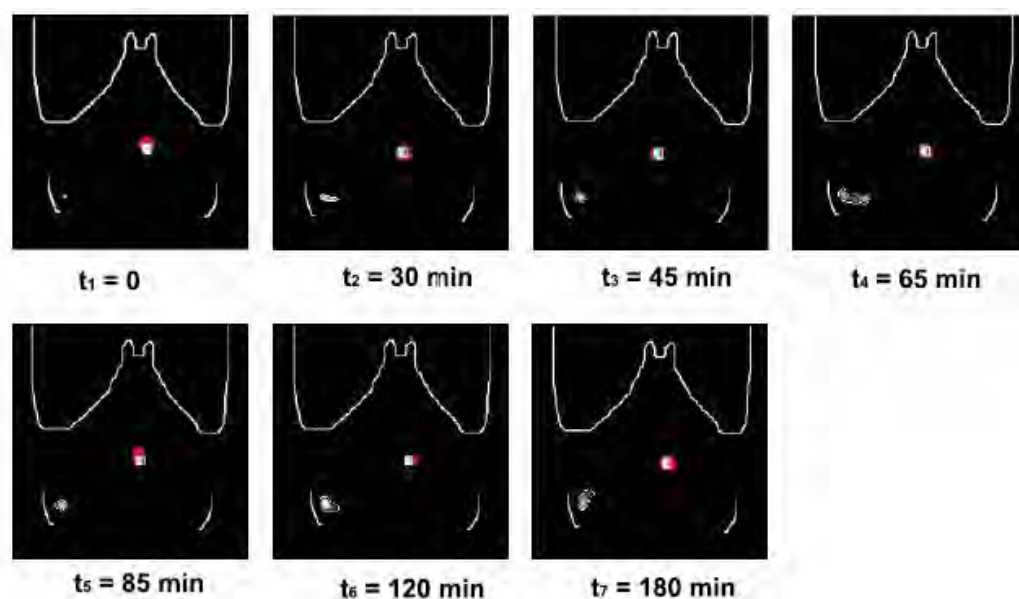


Figura 26. Imagens magnéticas das cápsulas no cólon humano.

5.2. Avaliação do TGI no estado pós-prandial

Como o estado prandial é um dos fatores que podem influenciar a motilidade e o esvaziamento do conteúdo gástrico, é importante considerá-lo na administração oral de sistemas de liberação modificada de fármacos, uma vez que, este parâmetro pode ser responsável por diferenças entre as correlações *in vitro/in vivo* do perfil de liberação de fármacos. Portanto, a fim de verificar as alterações no perfil de trânsito gastrointestinal, o sistema multiparticulado em estudo foi analisado também no estado pós-prandial.

A principal função da atividade motora gástrica é promover o esvaziamento do conteúdo estomacal. Entretanto, a motilidade apresenta dois padrões distintos, identificados segundo o estado prandial (QUIGLEY, 1996). No estado pós-prandial, a atividade de contração é rítmica e possui uma frequência dominante

em torno de 3 contrações por minuto. Essa atividade mecânica é responsável pelos estágios que antecedem a digestão do alimento ingerido, ou seja, promove a fragmentação das partículas, a mistura com as secreções e a propulsão, a partir da região antro-pilórica, até o duodeno (GIELKENS et al., 1998).

A figura 27 apresenta o perfil de trânsito do sistema multiparticulado magnético em um voluntário no estado pós-prandial.

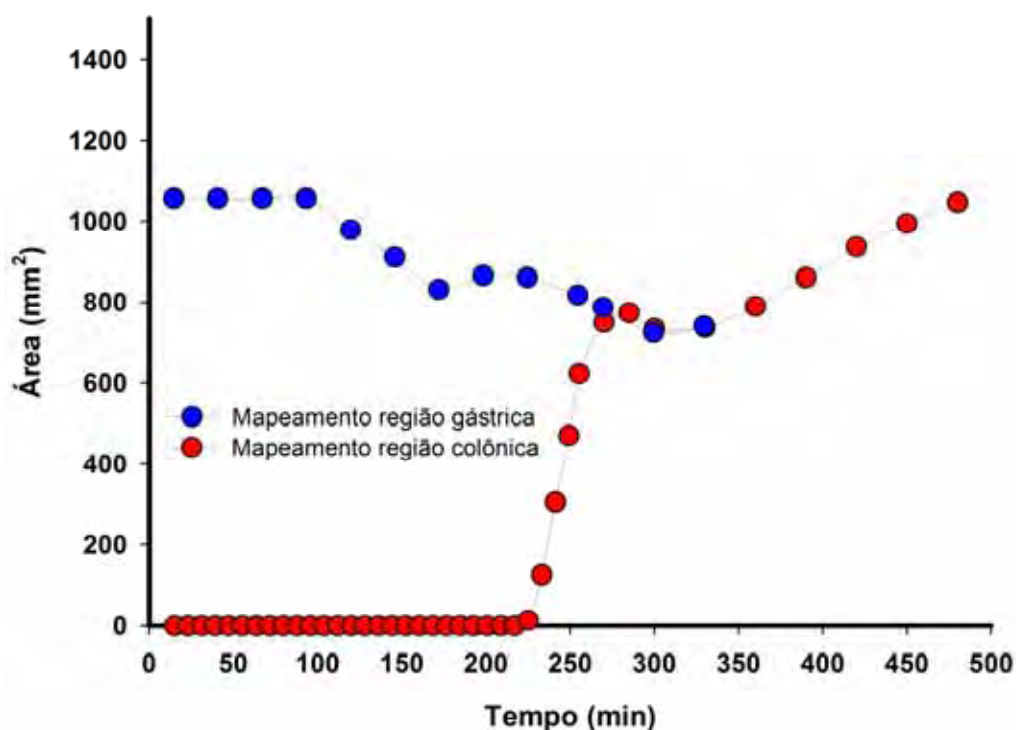


Figura 27. Perfil de trânsito do sistema multiparticulado magnético de um voluntário no estado pós-prandial.

Fica evidente, pela interpretação da figura 27, que o estado pós-prandial altera o comportamento de trânsito do sistema multiparticulado e que algumas partículas chegam ao cólon antes do conjunto de partículas ser totalmente

esvaziado da região gástrica. Nos estudos em jejum, a aquisição de sinal magnético na região colônica foi registrada após o esvaziamento total do conteúdo gástrico. O parâmetro que sofreu maior influência do estado prandial foi, certamente, o tempo de retenção gástrica.

A figura 28 apresenta as diferenças no tempo de retenção gástrica no estado de jejum e pós-prandial nos voluntários analisados.

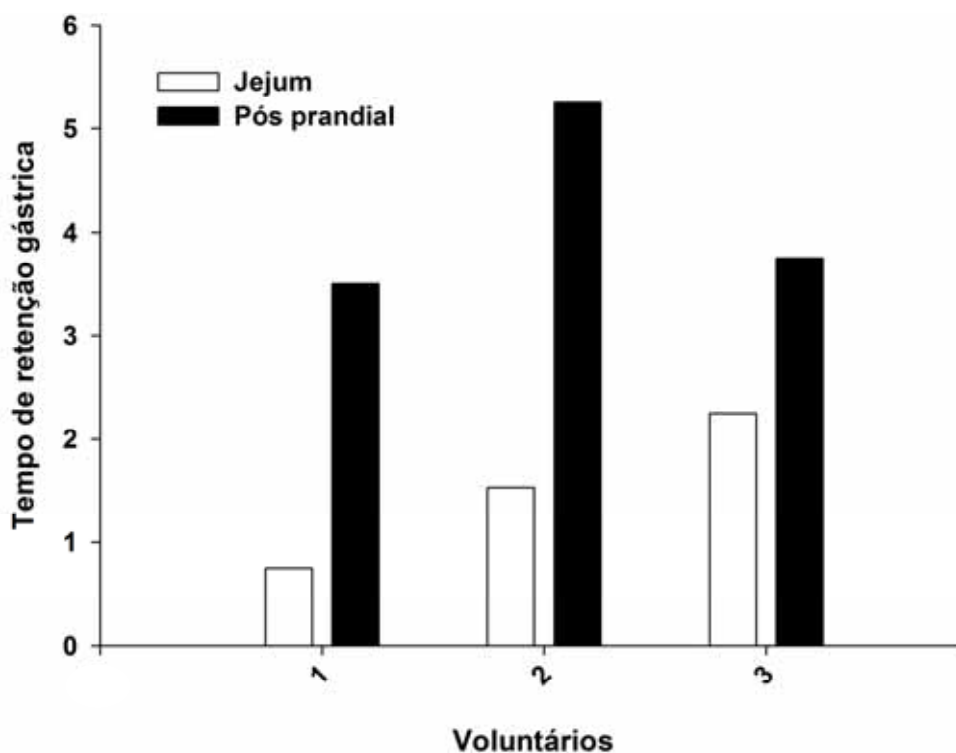


Figura 28. Diferenças entre o tempo de retenção gástrica nos voluntários em jejum e no pós-prandial .

A tabela 11 apresenta os valores do tempo de retenção gástrica (TRG), tempo de trânsito intestinal (TTI) e tempo de chegada à região colônica (TCC).

Tabela 11. Valores de TRG, TTI e TCC no pós-prandial de cada voluntário.

Voluntários	TRG (min)	TTI (min)	TCC (min)
1	330	ND	330
2	255	ND	255
3	195	15	210
Média	260	15	265
DP	67,64	—	60,62

*ND = não detectado.

O tempo médio obtido para o esvaziamento gástrico do sistema multiparticulado magnético nas análises no estado pós-prandial foi de 260 min $\pm$ 67,64 min (n=3), o que mostra uma grande variabilidade entre os voluntários nas mesmas condições de estudo.

6. MAGNETOFARMACOCINÉTICA

Para melhor caracterizar e confirmar os resultados obtidos com os mapeamentos do sistema multiparticulado magnético *in vivo*, que sugerem a chegada das partículas intactas à região colônica, o perfil de liberação do fármaco foi avaliado. Para tal, amostras de sangue dos voluntários foram coletadas a cada 30 minutos durante todo o mapeamento, seguindo metodologia descrita no item 6.

6.1. Determinação da farmacocinética da TC livre

Com o intuito de estabelecer uma comparação entre o perfil de liberação *in vivo* da TC a partir do sistema multiparticulado magnético desenvolvido e o perfil de liberação *in vivo* do fármaco livre, a farmacocinética da TC foi investigada, baseada na relação concentração plasmática x tempo, construída a partir de amostras de sangue coletadas em 6 tempos diferentes (1, 2, 3, 4, 6 e 12h). Para este procedimento, foram pesados 80 mg de TC base que foram acondicionados em uma cápsula gelatinosa dura n° 0. O voluntário, em jejum, ingeriu a cápsula com o auxílio de 200 mL de água.

A figura 29 apresenta a relação concentração plasmática da TC em função do tempo em um voluntário que recebeu 80 mg do fármaco em dose única.

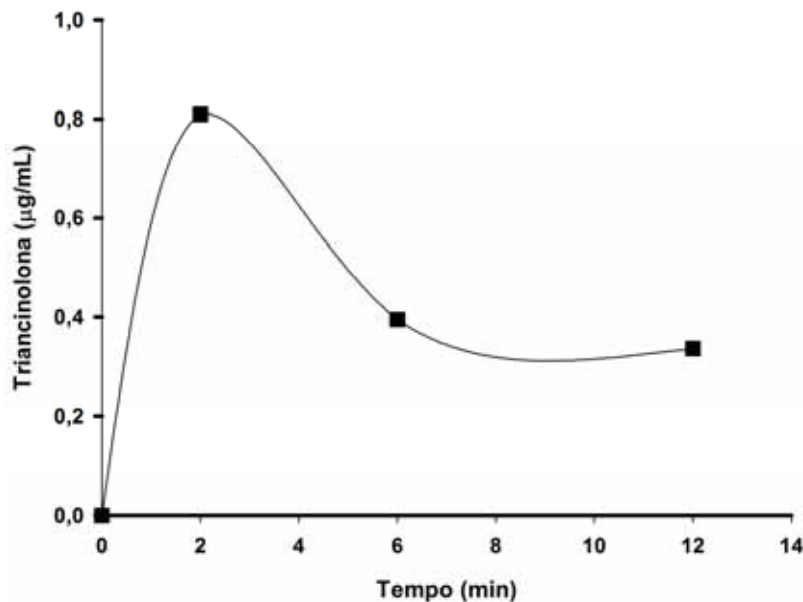


Figura 29. Curva de concentração plasmática *versus* tempo de TC após administração de dose única do fármaco livre.

Este estudo permitiu a aquisição de uma série de parâmetros farmacocinéticos, tais como C_{max} (concentração plasmática máxima), t_{max} (tempo para a ocorrência de C_{max}), ASC (área sob a curva), k_a (constante de absorção), K_{el} (constante de eliminação) e $t_{1/2}$ (meia-vida).

O nível plasmático de TC livre após a administração oral em dose única ficou acima do limite de detecção do método analítico, que é de 0,12 µg/mL. Isto demonstra que o fármaco livre é absorvido, resultando em concentrações superiores a 0,12 µg/mL.

Tabela 12. Concentração de TC livre em função do tempo

Tempo (h)	Concentração Plasmática (µg/mL)
1	ND
2	0,812
4	ND
6	0,395
12	0,335

ND= não determinado.

A tabela 13 apresenta os parâmetros farmacocinéticos da TC livre administrada por via oral em dose única de 80 mg.

Tabela 13. Parâmetros cinéticos da TC livre administrada por via oral em dose única de 80 mg.

Parâmetro	Valor
C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0,812
t_{max} (h)	2
$ASC_{0-\infty}^{ss}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$)	8,221
Vd (L/kg)	2,80
Cl_T (L/kg.h)	0,23
$T_{1/2}$ β (h)	8,280
β (h^{-1})	0,0837

C_{max} : concentração plasmática máxima; t_{max} : Tempo em que a concentração plasmática é máxima, ASC : área sob a curva; Vd : volume de distribuição; Cl : clearance, $t_{1/2}$: meia vida; β : constante de eliminação.

De acordo com os resultados apresentados na tabela 13, nota-se que a TC tem um alto volume de distribuição ($Vd = 145,6$ L), o que indica uma ampla distribuição tecidual. O volume de distribuição (Vd) descreve a relação entre a quantidade de fármaco existente em todo o organismo e a quantidade existente no plasma. Altos valores de Vd indicam uma ampla distribuição para os tecidos. Como a TC tem característica lipofílica, a captação tecidual é extensa e, portanto, grandes volumes de distribuição são comuns.

A concentração plasmática máxima foi de $0,812 \mu\text{g}/\text{mL}$, encontrada após 2 horas da administração.

Os resultados mostram que a metodologia analítica desenvolvida para a quantificação de TC em plasma foi capaz de quantificar a TC nas análises *in vivo*.

6.2. Perfil de liberação *in vivo* da TC

Nas análises *in vitro* do sistema multiparticulado para liberação colônica de fármacos, realizadas por nosso grupo de pesquisa em trabalhos anteriores, as partículas mostraram-se resistentes ao meio gástrico e liberaram menos que 20% de TC em meio entérico simulado durante 6 horas de ensaio, liberando o restante de fármaco somente na região colônica (OLIVEIRA, 2005).

Os resultados obtidos nas análises *in vivo* sugerem que as partículas, assim como nas análises *in vitro*, mantêm-se inalteradas durante seu percurso pela parte superior do TGI e alcançam a região colônica aparentemente intactas. Não houve liberação de fármaco nas amostras de sangue analisadas dos voluntários em jejum. No estudo relativo à segunda fase, ou seja, com os voluntários alimentados (pós-prandial), somente em um voluntário pôde ser detectada liberação da TC após 6,5 horas de ensaio e após duas horas da chegada das partículas ao cólon.

Fallinborg e colaboradores (1939) realizaram um estudo com 39 voluntários saudáveis e demonstraram uma enorme variabilidade nos valores de pH interindividuais, que pode chegar a mais de duas unidades de pH para um mesmo local. Além disto, o pH do intestino delgado proximal, cujo valor é geralmente

estabelecido como 6,8, mostrou um valor médio de pH de 5,5 no duodeno (BRATTEN, JONES, 2006).

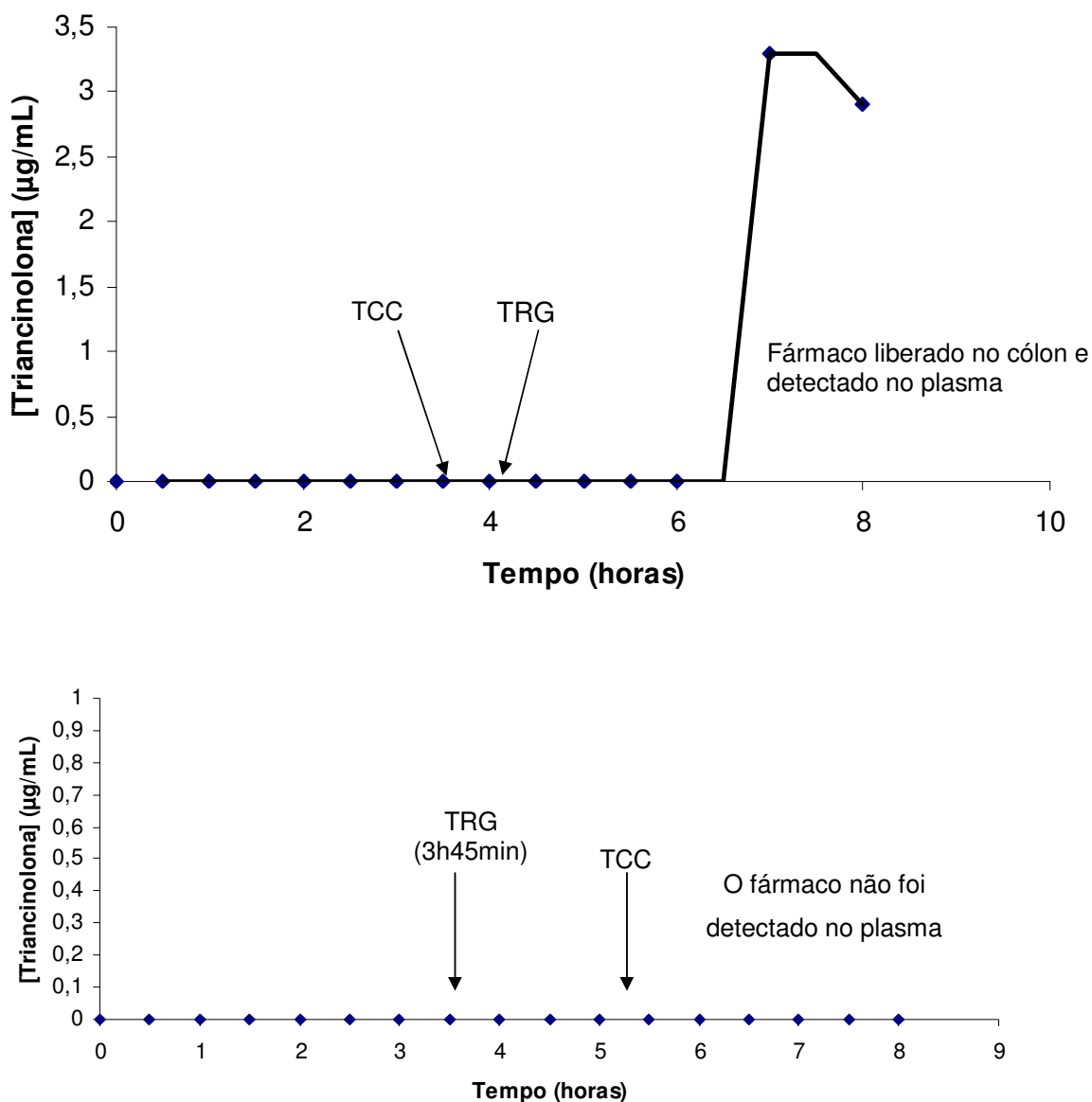


Figura 30. Perfil de liberação de TC a partir do sistema multiparticulado magnético em dois diferentes voluntários no estado pós-prandial .

A figura 31 apresenta o perfil de trânsito dos sistemas multiparticulados no estado pós-prandial correlacionado com a liberação da triancinolona obtida neste voluntário

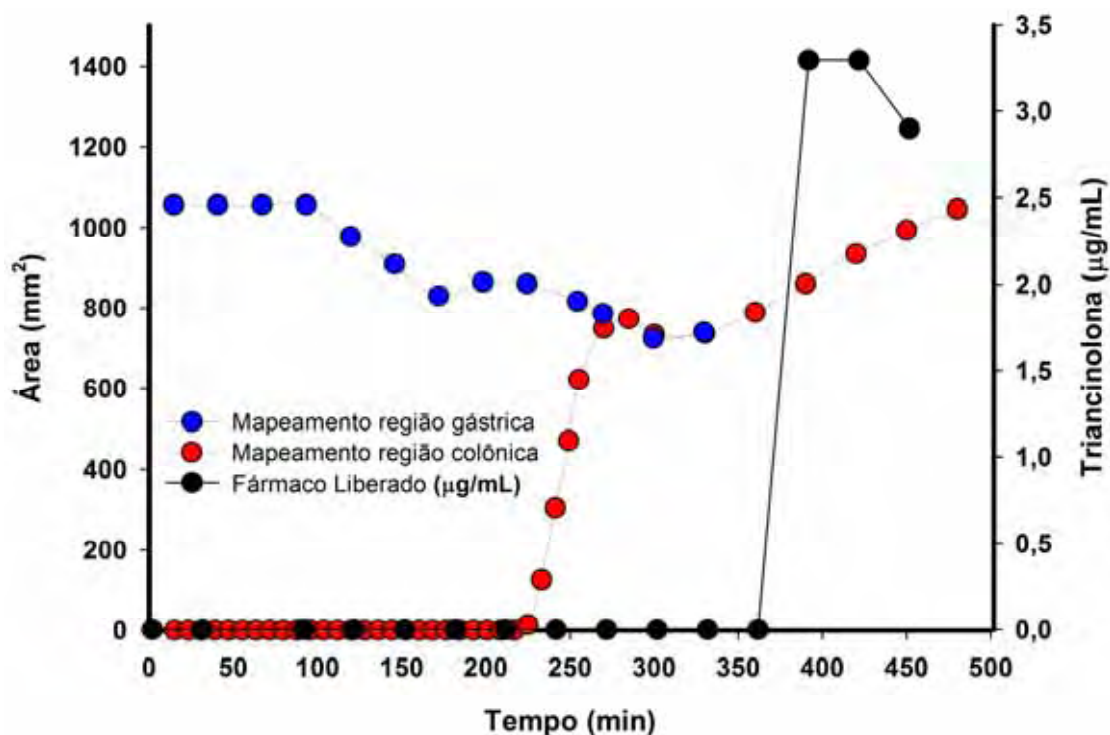


Figura 31. Perfil de trânsito no estado pós-prandial correlacionado com o perfil de liberação de TC de um voluntário em uma mesma análise.

Com a interpolação dos resultados obtidos de perfil de trânsito e da liberação da TC (figura 31) na análise de mapeamento do sistema multiparticulado no estado pós-prandial, observa-se que não houve esvaziamento gástrico total das partículas. Tal fato fica evidente, pois quando já havia sinal magnético sendo detectado na região colônica (em torno de 240 min), ainda havia sinal sendo detectado na região gástrica.

Portanto, o estado pós-prandial aumenta o tempo de residência das partículas na região gástrica, o que promoveu seu maior contato com o meio gástrico.

Esta mudança no comportamento de esvaziamento gástrico, observado

nas análises em jejum e nas realizadas no estado pós-prandial, com certeza influencia diretamente o processo de liberação do fármaco a partir do sistema multiparticulado em estudo.

Além da alteração significativa no tempo de retenção gástrica nos diferentes estados prandiais, alguns estudos relataram importantes diferenças intraindividuais em valores de pH medidos com uma semana de intervalo em um mesmo voluntário mantido sob as mesmas condições (MCCONNELL et. al, 2008).

O volume de fluido também é um fator importante e essencial para os processos de desintegração, dissolução e absorção de fármacos administrados por via oral. Schiller e colaboradores (2005) quantificaram o fluido livre no intestino, isto é, água não vinculada à digestão, utilizando imagens de ressonância magnética, e verificaram que a quantidade de água no lúmen intestinal não está homogeneamente distribuída e, de fato, existem “bolsas” de fluido. Por este motivo, a desintegração de um sistema de liberação colônica está condicionada ao fato da forma farmacêutica encontrar ou não uma destas “bolsas” de fluido. Neste estudo, verificou-se encontraram grande variabilidade interindividual e constatou-se que um sistema de liberação modificado pode ser exposto a cerca de 1 a 100 mL de água livre ao chegar à região colônica.

Além dos fatores fisiológicos já discutidos, o fato de não ter sido detectada liberação de TC na maioria dos voluntários pode estar relacionado também com o tipo de sistema de liberação desenvolvido, que alia a liberação por degradação enzimática à liberação pH-dependente.

O sistema para liberação colônica proposto é um sistema intumescível, com intumescimento pH-dependente, que envolve a protonação dos grupos

amina da quitosana (QS) em baixos valores de pH e a desprotonação dos grupos carboxílicos da pectina (PC) em valores de pH alto.

Em pH 1,2, que é o valor de pH utilizado para a simulação do meio gástrico nos ensaios de dissolução *in vitro*, os grupos amina da QS e os grupos carboxílicos da PC estão protonados. Devido ao efeito dominante da protonação dos grupos carboxílicos da PC, a rede polimérica não intumescce e as partículas apresentam baixa taxa de intumescimento (YU et al., 2009).

A interação entre PC e QS é pH-dependente e o complexo formado entre os polímeros torna-se mais resistente em valores de pH na faixa de 4,5-5,0.

A incorporação do polímero gastrorresistente, acetofalato de celulose (CAP), aumenta a resistência do sistema multiparticulado. Isso se deve às características de solubilidade deste polímero, que se torna desprotonado em $\text{pH} > 6$, dificultando, assim, a difusão do meio de dissolução para o interior da partícula. Tal comportamento limita a ionização, habitual neste pH, tanto dos grupos amino da QS quanto dos grupos carboxílicos da PC, favorecendo o intumescimento da partícula (OLIVEIRA, 2005).

O que rege a liberação do fármaco neste tipo de sistema é o processo de difusão, resultado da difusão do penetrante (fluidos biológicos) e da difusão do fármaco. É importante salientar que a quantidade de água absorvida pelo polímero é função de sua hidrofília, da estrutura de rede formada e do número de grupos ionizáveis presentes na estrutura polimérica (GEHRKE; LEE, 1990).

Os resultados obtidos para o perfil de liberação da TC, tanto na fase 1 como na fase 2 deste estudo, vêm comprovar que a variabilidade interindividual, não somente em relação ao tempo de trânsito de uma forma farmacêutica, deve ser levada em consideração no desenvolvimento de uma forma farmacêutica para

liberação modificada. Outros fatores fisiológicos, como composição e quantidade dos fluidos, motilidade, valores de pH, diferenças anatômicas, etc., que em um estudo *in vitro* são geralmente menosprezados, devem também ser avaliados.

Isso mostra que estudos *in vivo* são fundamentais para a melhor compreensão dos mecanismos que podem interferir na liberação de um fármaco a partir de um sistema de liberação, garantindo, assim, que seu desempenho seja adequado.

VII. CONCLUSÃO

- ✓ Foi possível a obtenção de sistema multiparticulado magnético para a liberação colônica de fármacos
- ✓ As partículas produzidas apresentaram alta eficiência de encapsulação. As análises granulométricas e morfológicas mostraram que o método de coacervação complexa produziu partículas uniformes e praticamente esféricas, mesmo após a adição do material magnético.
- ✓ O estudo de validação mostrou que a metodologia de CLAE proposta para a análise quantitativa de triancinolona em plasma é simples, rápida, precisa e exata para os objetivos pretendidos.
- ✓ O sistema multiparticulado magnético desenvolvido foi capaz de gerar imagens magnéticas que permitiram acompanhar o trânsito das partículas até a chegada ao cólon.
- ✓ A metodologia de BAC com sensor único foi eficiente para o monitoramento do sistema multiparticulado no trato gastrointestinal. Foi possível determinar o TRG, o TTI e o TCC do sistema multiparticulado magnético.
- ✓ Os resultados confirmaram a importância da utilização de técnicas não invasivas como a BAC para a caracterização do comportamento *in vivo* de sistemas de liberação desenvolvidos.
- ✓ Através das análises *in vivo* ficou comprovada a influência do estado prandial no trânsito do sistema multiparticulado, sendo que a maior alteração foi no TRG das partículas nas análises realizados com os voluntários no estado pós prandial.

- ✓ Os estudos *in vivo* realizados comprovaram a complexidade do trato gastrintestinal, que apresenta inúmeras variabilidades fisiológicas, e a grande variação interindividual, mostrando a falta de correlação dos resultados de liberação *in vitro* com os obtidos *in vivo*.

VIII REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução – RDC n° 210, de agosto de 2003b.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). *Resolução- RE n° 899, de maio de 2003*. D.O.U. 02/06/2003a.

AHRABI, S.F.; MADSEN, G.; DYRSTAD, K.; SANDE, S.A.; GRAFFNER, C. Development of pectin matrix tablets for colonic delivery of model drug ropivacaine. **Eur. J. Pharm. Sci.**, v.10, p.43-52, 2000.

AMÉRICO, M., F. **Distribuição intragástrica de uma refeição com pequeno volume avaliada por cintilografia e biomagnetismo**. 2003. 88p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

AMÉRICO, M.F. et al. Scintigraphic validation of AC Biosusceptometry to study the and disease. *Gut* 54 (Suppl. 6), vi1–28, 2005.

ASGHAR, L.F.A.; CHANDRAN, S. Multiparticulate formulation approach to colon specific drug delivery: current perspectives. **J. Pharm. Pharm. Sci.**, 9, 327-338, 2006.

ASHFORD, M. O trato gastrointestinal: fisiologia e absorção de fármacos. In: AULTON, M.E. (Eds). *Delineamento de formas farmacêuticas*. Porto Alegre: Artmed, 2005, v.2, p.229-244.

ASHFORD, M.; FELL, J.T. Targeting drugs to the colon: delivery systems for oral administration. *Journal of Drug Targeting*, 2 (3), p. 241-257, 1994.

AULTON, M. Secagem. In: AULTON, M. (Ed). **Delineamento de formas farmacêuticas**. São Paulo: Artmed, 2005. 677p.

AUNINS, J. G.; SOUTHARD, M. Z.; MYERS, R.A.; HIMMELSTEIN, K.J.; STELLA, V.J. Dissolution of carboxylic acids. III. The effect of polyionizable buffers. *J. Pharm. Sci.* 74, 1305-1316, 1985.

BAFFA, O., OLIVEIRA, R.B., MIRANDA, J.R.A., TRONCON, L.E.A. Analysis and development of an AC Biosusceptometer for oro-caecal transit time measurements.

BAHADUR, D., GIRI, J. Biomaterials and magnetism. *Sadhana*, v.28, p.639–656, 2003.

BANWELL, J.G., GORBACH, S.L., PIERCE, N.F., MITRA, R., MONDAL, A. Acute undifferentiated human diarrhea in the tropics. II. Alterations in intestinal fluid and electrolyte movements. *J. Clin. Invest.* 50, 890–900, 1971.

BARBER, T. A. Particle population analysis. In:_____. **Pharmaceutical particulate matter**: analysis and control. Buffalo Grove: Interpharma, 1993, p.266-303.

BASILISCO, G.; PHILLIPS, S.F. The small bowel and the ileocaecal region. In: KUMAR, D.; WINGATE, D. (Eds.). *An illustrated guide to gastrointestinal motility*. London: Churchill Livingstone, 1993, p.410-426.

BELIKOV, V. G.; KUREGYAN, A. G. Generation and medic biological application of magnetic fields and carriers (review) *Pharm. Chem. J.* **35**:88-95, 2001

BERGER, J., REIST, M., MAYER, J.M., FELT, O., PEPPAS, N.A., GURNY, R. Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications, *Eur. J. Pharm. Bioph*, v.57, p.19-34, 2004.

BERNHARDT, H., KNOKE, M. Mycological aspects of gastrointestinal microflora.

BERNKOP-SCHNÜRCH, A. Chitosan and its derivatives: potencial excipients for peroral peptide delivery systems. *Int. J. Pharm.*, v.194, p.1-13, 2000.

BHARDWAJ, T.R.; KANWAR, M.; LAL, R.; GUPTA, A. Natural gums and modified natural gums as sustained-release carriers. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 26, n. 10, p. 1025-1038, 2000. Biosusceptometry. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v.69, p.372-379, 2008.

BODMEIER, R. Tableting of coated pellets. **Eur. J. Pharm.Biopharm.**, 43, 1-8, 1997.

BOSCH, S. W.; LANGE, B. O.; NEUBERT, M.; PAZ, G. Corticosteroid, immune suppression, and psychosis. *Curr. Psychic. Rep.*, v. 93, p. 221801, 2004

BOZKURT, T., ADLER, G., KOOP, I., ARNOLD, R. Effect of atropine on intestinal phase of pancreatic secretion in man. *Digestion* 41, 108–115, 1988.

BP. **BRITISH Pharmacopeia 2001**. London: The Stationery Office, 2001. v.1, p. 1649.

BRAGANZA, J.M., HERMAN, K., HINE, P., KAY, G., Sandle, G.I. Pancreatic enzymes in human duodenal juice—a comparison of responses in secretin pancreozymin and Lundh Borgstrom tests. *Gut* 19, 358–366, 1978.

Bratten, J., Jones, M.P., 2006. Evaluation of duodenal acid exposure in healthy subjects using a radiotelemetry pH monitoring system. *Gastroenterol. Clin. North. Am.* 130, A624

BRUNNER, M., GREINWALD, R., KLETTER, K., KVATERNIK, H., CORRADO, M.E.,

CANELLA, K.M.N.C.; GARCIA, R.B., Caracterização de Quitosana por cromatografia de permeação em gel-influência do método de preparação e do solvente, *Quím. Nova*, v.24, n.1, p.13-17, 2001.

CECIL, J.E.; FRANCIS, J.; READ, W. Comparison of the effects of a high-fat and high carbohydrate soup delivered orally and intagastrically on gastric emptying, appetite, and eating behaviour. *Physiol. Behav.*, v.67, p.299-306, 1999.

CERVERA, M.F.; HEINÄMÄKI, J.; KROGARS, K.; JÖRGRNSEN, A.C.; KARJALAINEN, M.; COLARTE, A.I.; YLIRUUSI, J. Solid-state and mechanical properties of aqueous chitosan-amylose starch films plasticized with polyols. *AAPS. Pharm. Sci. Tech*, v.5, n.1, p.1-6, 2004.

CHANG, K.L.B.; LIN, J. Swelling behavior and the release of protein from chitosan-pectin composite particles. *Carb. Polym.*, v.43, p.163-169, 2000.

CHARMAN, S.A.; CHARMAN, W.N. Oral modified release delivery systems. In: RATHBONE, M.J.; HADGRAFT, J.; ROBERTS, M.S., eds. **Modified release drug delivery technology**. Nova York: Marcel Dekker, cap.1, p.1-10, 2002.

CHAWLA, G., GUPTA, P., KORADIA, V., BANSAL, A.K. A means to address regional variability in intestinal drug absorption. *Pharm. Technol.*, v.27, p.50-68, 2003.

CHOURASIA, M.K.; JAIN, S.K. Pharmaceutical approaches to colon target drug delivery systems. *J. Pharm. Pharmac. Sci.*, v.6, n.1, p.33-66, 2003.

CHUBAC, F. A. N. F. **Desenvolvimento de um sistema susceptométrico multi-sensor para aquisição de imagens magnéticas**. 2003. 84p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

CIFTCI, K.; GROVES, M.J. Delivery of antitumor compounds to the rat colon: *in vitro* and *in vivo* evaluation. *Int. J. Pharm.*, v.145, p.157-164, 1996.

COLLETT, J.; MORETON, C. Formas farmacêuticas perorais de liberação modificada. In: AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. cap. 20, p.299-313.

CORÁ, L.A. **A biosusceptometria AC aplicada à tecnologia farmacêutica**. 2008. 84p. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

CORÁ, L.A. et al. Biomagnetic approaches applied to drug delivery studies. In:

CORÁ, L.A. et al. Enteric coated magnetic HPMC capsules evaluated in human gastrointestinal tract by AC Biosusceptometry. *Pharm. Res.*, v.23, p.1809-1816, 2006b.

CORÁ, L.A. et al. Gastrointestinal transit and disintegration of enteric coated magnetic tablets assessed by AC Biosusceptometry. *Eur. J. Pharm. Sci.*, v.27, p.1-8, 2006a.

CORÁ, L.A. Formas Farmacêuticas Magnéticas avaliadas no Trato gastrintestinal humano por Biosusceptometria AC. Botucatu, 2004. 117p. Tese (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2004.

CORÁ, L.A., FONSECA, P.R., AMÉRICO, M.F., OLIVEIRA, R.B., BAFFA, O., MIRANDA, J.R.A. Influence of compression forces on tablets disintegration by AC Biosusceptometry. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v.69, p.372-379, 2008.

CORÁ, L.A.; ROMEIRO, F.G.; STELZER, M., AMÉRICO, M.F.; OLIVEIRA, R.B. ; BAFFA, O.; MIRANDA, J.R.A. AC biosusceptometry in the study of drug delivery. Review Article. *Adv. Drug Delivery. Rev.*, n.8, v.57, p.1223-1241, 2005.

COUPE, A.J., DAVIS, S.S., WILDING, I.R. 1991. Variation in gastrointestinal transit of pharmaceutical dosage forms in healthy subjects. *Pharm. Res.* 8, 360-364.

COUPE, A.J.; DAVIS, S.S.; EVANS, D.F.; WILDING, I.R. Correlation of the gastric emptying of nondisintegrating tablets with gastrointestinal motility. *Pharm. Res.*, v.8, p.1281-1285, 1991.

CUMMINGS, J. H.; BANWELL, J.G.; SEGAL, I.; COLEMAN, N.; ENGLYST, H. N.; MACFARLANE, G. T.; The amount and composition of large bowel contents in man. *Gastroenterology*, 98, 1990.

Cummings, J.H., Pomare, E.W., Branch, W.J., Naylor, C.P., Macfarlane, G.T. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut* 28, 1221–1227, 1987.

DAGHASTANLI, N.A. et al. Oesophageal transit time evaluated by biomagnetic method. *Physiol. Meas.*, v.19, p.413-420, 1998.

DAMIANI, D.; KUPERMAN, H.; DICHTCHEKENIAN, V.; DELLA MANNA, T.; SETIAN, N. Análise crítica da altura de crianças em uso de glicocorticóides. *Pediatria*, v.1, p.71-82, 2001.

Davis, S.S., Hardy, J.G., Fara, J.W. 1986a. Transit of pharmaceutical dosage forms through the small intestine. *Gut*. 27, 886-892.

DAVIS, S.S.; HARDY, J.G.; FARA, J.W. Transit of pharmaceutical dosage forms through the small intestine. *Gut*, v.27, p.886-892, 1986.

DE BRABANDER, C.; VERVAET, C.; FIERMANS, L.; REMON, J.P. Matrix mini-tablets based on starch: microcrystalline wax mixtures. *Int. J. Pharm.*, 199, 195-203, 2000.

- DEBON, S.J.J.; TESTER, R.F. In vitro binding of calcium, iron and zinc by non-starch polysaccharides. *Food Chem.*, v.73, p.401-410, 2001.
- DENKBAS, E.B.; KILIÇAY, E.; BIRLIKSEVEN, C.; ÖRZTÜRK, E. Magnetic chitosan microspheres: preparation and characterization. *Reactive & Functional Polym.*, v.50, p.225-232, 2002.
- DIMAGNO, E.P., MALAGELADA, J.R., GO, V.L., MOERTEL, C.G. FATE of orally ingested enzymes in pancreatic insufficiency. Comparison of two dosage schedules. *N. Engl. J. Med.* 296, 1318–1322, 1977.
- DOEKLER, E. Cellulose derivatives. *Adv. Polym. Sci.*, v.107, p. 199-265, 1993.
- DRESSMAN, J.B.; BASS, P.; RITSCHER, W.A.; FRIEND, D.R.; RUBINSTEIN, A. Gastrointestinal parameters that influence oral medications. *J. Pharm. Sci.*, v.82, n.9, p.857-872, 1993.
- EFENTAKIS, M.; KOUTLIS, A.; VLACHOU, M. Development and evaluation of oral multiple-unit and single-unit hydrophilic controlled-release systems. **AAPS Pharm. Sci. Tech.**, 1, 4, 2000.
- EICHLER, H.G., MÜLLER, M. Gastrointestinal transit and release of 5-aminosalicylic
- EVANS, A.M. Influence of dietary components on the gastrointestinal metabolism and transport of drugs. *Ther. Drug Monit.*, v.22, p.131-136, 2000.
- Evans, D.F., Pye, G., Bramley, R., Clark, A.G., Dyson, T.J., Hardcastle, J.D.. Measurement of gastrointestinal pH profiles in normal ambulant human subjects.
- EVANS, D.F.; PYE, G.; BRAMLEY, R.; CLARK, A.G.; DYSON, T.J.; HARDCASTLE, J.D. Measurement of gastrointestinal pH profiles in normal ambulant human subjects. *Gut.*, v.29, p.1035-1041, 1998.
- EWE, K.; PRESS, A.G.; BOLLEN, S., SCHUHN, I. Gastric emptying of indigestible tablets in relation to composition and time of ingestion of meals studied by metal detector. *Dig. Dis. Sci.*, v.36, p.146-152, 1991.
- Fadda, H., Basit, A.W.. Drug solubility in human jejunal fluids and physiologically relevant media: relative importance of buffer composition and intestinal surfacts. *AAPS J.* 9, T2033, 2007.
- FALLINGBORG, J.; CHRISTENSEN, L.A.; ASCANIUS, B. Very low intraluminal colonic pH in patients with active ulcerative colitis. *Dig. Dis. Sci.*, v.38, p.1989-1993, 1993.
- FARMACOPÉIA brasileira. 4 ed. São Paulo: Atheneu editora, 1988.

FERNÁNDEZ-HERVÁS, M.J.; FELL, J.T. Pectin/chitosan mixtures as coating for colon-specific drug delivery: an *in vitro* evaluation. *Int. J. Pharm.*, v.169, p.115-119, 1998.

FREI, E. H.; GUNDERS, E; M.; Pajewsky, W. J.; Alkan, Eshcher. Ferrites as contrast material for medical diagnosis. *J. Appl. Phys.* **39**:99-101, 1968

FREIRE, A.C., PODCZECK, F., SOUSA, J., VEIGA, F. Liberação específica de fármacos para administração no cólon por via oral. II- Tipos de sistemas utilizados. *Rev. Bras.Cienc. Farm.*, v.42, p.337-355, 2006.

FREXINOS, F., DELVAUX, M. Colonic motility. In: KUMAR, D., WINGATE, D. (Eds.). **An Illustrated Guide to Gastrointestinal Motility**. London: Churchill Livingstone, 427– 448, 1993.

FRIEND, D.R. Issues in oral administration of locally acting glucocorticosteroids for treatment of inflammatory bowel disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, v.12, n.7, p.591-603, 1998.

FRIEND, D.R. New oral delivery systems for treatment of inflammatory bowel disease. *Adv. Drug Delivery Rev.*, v.57, p.247-265, Monmouth Junction, 2005.

GAMZAZADE, A.I.; NASIBOV, S.M. Formation properties of polyelectrolyte complexes of chitosan hydrochloride and sodium dextran sulfate. *Carbohydr. Polym.*, v.50, p.339-343, 2002.

GANDHI, R.; CHAMAN, L.K.; PANCHAGNULA, R. Extrusion and spheronization in the development of oral controlled-release dosage forms. **PSTT**, 2, 160-170, 1999.

GEHRKE, S.H.; LEE, P.I. Hydrogels for drug delivery systems. In: TYLE, P. **Specialized Drug Delivery Systems**. Manufacturing and production technology. New York: Marcel Dekker, 1990, p. 333-392. (Drugs and the Pharmaceutical Science, v. 41).

GIELKENS, H.A.J.; NIEUWENHUIZEN, A.; BIEMOND, I.; LAMERS, C.B.H.W.; MASCLEE, A.A.M.. Interdigestive antraduodenal motility and gastric acid secretion. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, v.12, p.27-33, 1998.

GOTCH, F.; NADELL, J.; EDELMAN, I.S. Gastrintestinal water and electrolytes. IV. The equilibration of deuterium oxide (D₂O) in gastrointestinal contents and the proportion of total body water (T.B.W) in the gastrointestinal tract. *J. Clin. Invest.* **36**, 289-296, 1957.

GRAY, V.; DRESSMAN, J. Simulated intestinal fluid TS- change to pH 6.8. *Pharmacopeial Forum*, v.22, p.1943-1945, 1996.

GUPTA, V. K.; BECKERT, T. E.; PRICE, J.C. A novel pH- and time-based multi-unit potential colonic drug delivery system. I. Development. *International Journal of Pharmaceutics*, v, 213, p. 83-91, 2001.

HANAUER, S.B. Medical therapy of ulceratives colitis. *The Lancet*, v.342, n.8868, p.412-417, 1993.

HARPAER, H.A. Manual de química fisiológica. 4. ed. Rio de Janeiro: Atheneu/Guanabara-Koogan, 1997.

HASLER, W.L. The physiology of gastric motility and gastric emptying. In: YAMADA, T. (Ed). *Textbook of gastroenterology*. Philadelphia: J.B. Lippincott, p.181-206, 1995.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF THE CHINESE REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICAL FOR HUMAN USE. ICH Harmonised Tripartite Guideline. *Validation of Analytical Procedures: Methodology* Q2B. 1996. p.1-12. Disponível em: <http://www.ich.org/MediaServer.jserv?@ID=4188C&MODE=GLB>. Acesso em: 03 maio 2005.

KAKOULIDES, E.P.; SMART, J.D.; TSIBOUKLIS, J. Azocross-linked poly(acrylic acid) for colonic delivery and adhesion specificity: *in vitro* degradation and preliminary *ex vivo* bioadhesion studies. *J. Contr. Release*, v.54, p.95-109, 1998.

Kalantzi, L., Goumas, K., Kalioras, V., Abrahamsson, B., Dressman, J.B., Reppas, C. Characterization of the human upper gastrointestinal contents under conditions simulating bioavailability/bioequivalence studies. *Pharm. Res.* 23, 165–176, 2006a.

KAMBA, M.; SETA, Y.; TAKEDA, N.; HAMAURA, T.; KUSAI, A.; NAKANE, H.; NISHIMURA, K. Measurement of agitation force in dissolution test and mechanical destructive force in disintegration test. *Int. J. Pharm.*, v.250, p.99-109, 2003.

KAS, H.S. Chitosan: properties, preparations and application to microparticulate systems. *J. Microen.*, v.14, p.689-711, 1997.

Keller, J., LAYER, P. Human pancreatic exocrine response to nutrients in health

Keller, J., Runzi, M., Goebell, H., LAYER, P. Duodenal and ileal nutrient deliveries regulate human intestinal motor and pancreatic responses to a meal. *Am. J. Physiol.* 272, G632–G637, 1997.

KENYON, C.J.; NARDI, R.V.; WONG, D.; HOOPER, G.; WILDING, I.R.; FRIEND, D.R. Colonic delivery of dexametason: a pharmacoscintigraphic evaluation. *Alimen. Pharmacol. Ther.*, v.11, n.1, p.205-213, 1997.

KHOR, E.; LIM, L.Y. Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials*, v.24, p.2339-2349, 2003.

KHOSLA, R.; FEELY, L.C.; DAVIS, S.S. Gastrintestinal transit of non disintegrating tablets in fed subjects. *Int. J. Pharm.*, v.53, p.107-117, 1989.

- KIMURA, I.Y. Remoção de corantes reativos contendo grupos vinilsufona e triazina por adsorção e coagulação/floculação com quitosana, Florianópolis, 2001, Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química, UFSC, Florianópolis, 2001.
- KINGET, R.; KALALA, W.; VERVOORT, L.; MOOTER, G.V.D. Colonic drug targeting. *J. Drug. Target.*, v.6, n.2, p.129-149, 1998.
- KRÄMER, J.; BLUME, H. Biopharmaceutical aspects of multiparticulates. In: GHEBRE-SELLASSIE, I. ed. **Multiparticle oral drug delivery**. New York: Marcel Dekker, cap.12, p.332, 1994.
- KRATZ, C.P.; MAYORGA, P.E.; PETROVICK, P.R. Formas Farmacêuticas Monolíticas como Sistemas Multiparticulados. **Caderno de Farmácia**, 17, 19 - 26, 2001.
- KRISHNAIAH, Y.S.R.; SATYANARAYANA, S.; RAMA PRASAD, Y.V.; NARASIMHA RAO, S. evaluation of guar gum as a compression coat for drug targeting to colon. *Int. J. Pharm.*, v.171, p.137-146, 1998.
- KUO, B., McCALLUM, R.W., KOCH, K.L., SITRIN, M.D., WO–, J.M., CHEY, W.D., HASLER, W.L., LACKNER, J.M., KATZ, L.A., SEMLER, J.R., WILDING, G.E., PARKMAN, H.P. Comparison of gastric emptying of a nondigestible capsule to a radio-labelled meal in healthy and gastroparetic subjects. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, v.27, p.186-196, 2008
- LEOPOLD, C.S. Coated dosage forms for colon-specific drug delivery. *PSTT*, v.2, n.5, p.197-204, 1999.
- LEVY, G. Impact of pharmacodynamic variability on drug delivery. *Adv. Drug Delivery Rev.*, v.33, p.201-206, 1988.
- LORENZO-LAMOSA, M. L.; REMUÑÁN-LOPEZ, C.; VILA-JATO, J.L.; ALONSO, M.J. Design of microencapsulated chitosan microespheres for colonic drug delivery. *J. Control. Release*, v.52, p.109-118, 1998.
- LUCINDA-SILVA, R. M. Sistemas multiparticulados à base de quitosana para liberação colônica de fármacos. Araraquara, 2003. 185p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2003.
- MacFarlane, G.T., Englyst, H.N. Starch utilization by the human large intestinal microflora. *J. Appl. Bacteriol.* 60, 195–201, 1986.
- MACLEOD, G.S.; FELL, J.T.; COLLET, J.H. An in vivo investigation into the potencial for bimodal drug release from pectin/chitosan/HPMC-coated tablets. *Int. J. Pharm.*, v.188, p.11-18, 1999.

MAO, H. Q.; KDAIYALA, I.; LEONG, K.W.; ZHAO, Z.; DANG, W. Biodegradable polymers: poly (phosphoester)S. In: **Encyclopaedia of Controlled Drug Delivery**, New York: Mathowitz E. 1999. v.1, p. 45-60.

MARTINDALE, K. The complete drug reference, XXXII, Pharmaceutical. London: Parfitt ed. Press, 1999. 1050p.

Martinez, M., Amidon, G., Clarke, L., Jones, W.W., Mitra, A., Riviere, J. Applying the biopharmaceutics classification system to veterinary pharmaceutical products. Part II. Physiological considerations. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54, 825–850, 2002.

MATHUR, N.K., NARANG, K.C. Versatile polyssacharides from marine animals. *J. Chem. Educ.*, v.67, n.11, p.938, 1990.

MATSUMOTO, S.; KOBAYASHI, H.; TAKASHIMA, Y. Production of monodispersed capsules. *Journal of Microencapsul.*, v.3, p. 25-31, 1986.

MCCONNELL, E. L.; FADDA, H. M.; BASIT, A. W. Gut instincts: Explorations in intestinal physiology and drug delivery. *Int. J. Pharm.*, v.364, p.213-226, 2008.

MEARIN, F., PERELLO, A., PERONA, M., BALBOA, A., PAGES, M., HERNANDEZ, D., CASTELLS, A. What is the correlation between the bloating sensation and the amountdistribution of intestinal gas in patients with functional abdominal bloating? *Digestive DiseaseWeek. Abstract*, T1275, 2006.

MERCK INDEX: an encyclopeia of chemical, drugs, and biologicals. 13th ed. Rahway: Merck, 2001.

MIQUELIN, C.A. et al. Pharyngeal clearance and pharyngeal transit time determined by a biomagnetic method in normal humans. *Dysphagia*, v.16, n.4, p.308-312, 2001.

MIRANDA, J. R. A. **Estudos biomagnéticos em fisiologia gástrica**. 1995. 71p. Tese (Doutorado) – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

MIRANDA, J.R.A, OLIVEIRA, R.B., SOUSA, P.L., BRAGA, F.J.H., BAFFA, O. A novel biomagnetic method to study antral contractions. *Phys. Med. Biol.*, v.42, p.1791-1799,1997.

MIRANDA, J.R.A., BAFFA, O., OLIVEIRA, R.B., MATSUDA, N.M. An AC Biosusceptometer to study gastric emptying. *Med. Phys.*, v.19, p.445-448, 1992.

MOONEY, K.G.; MINTUN, M.A.; HIMMELSTEIN, K.J. STELLA, V.J. Dissolution kinetics of carboxylic acids. II. Effect of buffers. *J. Pharm. Sci.* 70, 22-32, 1981.

MORAES, R.; et al. Measurement of gastric contraction activity in dogs by means of AC biosusceptometry. **Physiol. Meas.**, v. 24, p. 337-345, 2003.

MORENO, R.; MATOS, R.; FEVEREIRO, T. Outcome prediction in intensive care. solvinga the paradox journal intensive care medicine. Rev. Port.med. Intensive, v.6, p. 1238-1432, 2001

NAYLOR, L. J. Dissolution of steroids in bile salt and lecitin solutions, with references to bile salt concentrations in the GI tract.Eur. j. J. Pharm. Biopharm., n. 41, p. 346-353, 1995.

NEURATH, A.R.; STRICK, N.; LI, YY.; DEBANATH, A.K. Cellulose acetate phthalate, a comom pharmaceutical excipient, inactivates HIV-1 and blocks the coreceptor binding site on the virus envelope glycoprotein gp 120. *BMC Infect. Dis.*, v.1, n.17, p., 2001

NORTHFIELD, T.C., Mccoll, I. Postprandial concentrations of free and conjugated bile acids downthe length of the normal human small intestine. Gut 14, 513–518, 1973.

O'BRIEN, M.D.; PHILLIPS, S.F. Colonic motility in health and disease. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, v.25, p.147-162, 1996.

OLIVEIRA, A.G., SCARPA, M.V., BUENO, J.H.F., EVANGELISTA, R.C. Micro e nanocápsulas: Um eficiente sistema, com dimensões reduzidas para liberação controlada e direcionamento de fármacos encapsulados. *Ver. Ciênc. Farm.*, v.14, p.37-49, 1992.

OLIVEIRA, G. F. **Incorporação de polímeros gastrorresistentes a sistema multiparticulado a base de quitosana.** 158f. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.

OZTURK, S.S; PALSSON, B.O.; DRESSMAN, J. B. Dissolution of ionizable drugs in buffered and unbuffered solutions. *Pharm. Res.* 5, 272-282, 1988.

PEDERSEN, B.L., MULLERTZ, A., BRONSTED, H., KRISTENSEN, H.G. A comparison of the solubility of danazol in human and simulated gastrointestinal fluids. *Pharm. Res.* 17, 891–894, 2000.

Perez de la Cruz Moreno, M., Oth, M., Deferme, S., Lammert, F., Tack, J., Dressman, J., Augustijns, P. Characterization of fasted-state human intestinal fluids collected from duodenum and jejunum. *J. Pharm. Pharmacol.* 58, 1079–1089, 2006.

PERSSON, E.M., GUSTAFSSON, A.S., CARLSSON, A.S., NILSSON, R.G., KNUTSON, L., FORSELL, P., HANISCH, G., LENNERNAS, H., ABRAHAMSSON, B. The effects of food on the dissolution of poorly soluble drugs inhumanand in model small intestinal fluids. *Pharm. Res.* 22, 2141–2151, , 2005.

PETER, M.G. Applications and environmental aspects of chitin and chitosan. *J.M.S. Pure Appl. Chem.*, v.A32, p.629-640, 1995.

- PETRAK, K. Polyelectrolyte complexes in biomedical applications - review. *J. Bioact. Compat. Polym.*, v.1, p.202-219, 1986.
- PEZZINI, B.R.; SILVA, M.A.S.; FERRAZ, H.G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, 43, 491-502, 2007.
- PHILLIPS, S.F., SUMMERSKILL, W.H. Occlusion of the jejunum for intestinal perfusion in man. *Mayo Clin. Proc.* 41, 224–231, 1966.
- PHILLIPS, S.F., SUMMERSKILL, W.H. Water and electrolyte transport during maintenance of isotonicity in human jejunum and ileum. *J. Lab. Clin. Med.* 70, 686–698, 1967.
- PHILLIPS, S.F., GILLER, J., 1973. The contribution of the colon to electrolyte and water conservation in man. *J. Lab. Clin. Med.* 81, 733–746.
- PINEDO, U. G.; DELGADO, E. C.; DELLAMARY, F.L. et al. Utilización de prótesis de Quitosana y silicona en la regeneración del nervio ciático axotomizado de ratas. *Arch. Neurocién.*, v. 64, n.4, p.184-193, 2001.
- QUIGLEY, E. M. M. Gastroduodenal Motility. *Curr. Opin. Gastroen.*, v.16, p.479-488, 2000.
- QUIGLEY, EMM. Gastric and small intestinal motility in health and disease. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, v.25, 113– 145, 1996.
- RAMTOOLA, Z.; CORRIGAN, O.I. Influence of buffering capacity of the medium on the dissolution of drug-exciipient mixtures. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 15, 2359-2374, 1989.
- RAO, S.S.C.; SCHULZE-DELRIEU, K. The stomach, pylorus and duodenum. IN : KUMAR, D.; WINGATE, D.(Eds.). *An illustrated guide to gastrointestinal motility*. London: Churchill Livingstone, 1993, p.373-392.
- RATHKE, T. D., HUDSON, S. M. Review of chitin and chitosan as fiber and filmes formers. *J. Macromol. Sci. - Rev. Macromol. Chem. Phys.*, v.C34, 375-437, 1994.
- REPISHTI, M., HOGAN, D.L., PRATHA, V., DAVYDOVA, L., DONOWITZ, M., TSE, C.M., ISENBERG, J.I. Human duodenal mucosal brush border Na⁺/H⁺ exchangers NHE2 and NHE3 alter net bicarbonate movement. *Am. J. Physiol.-Gastrointest. Liver Physiol.* 281, G159–G163, 2001.
- RHODES, J., BARNARDO, D.E., PHILLIPS, S.F., ROVELSTAD, R.A., HOFMANN, A.F. Increased reflux of bile into the stomach in patients with gastric ulcer. *Gastroenterology* 57, 241–252, 1969.
- ROMEIRO, F.G., CORÁ, L.A., ANDREIS, U., AMÉRICO, M.F., OLIVEIRA, R.B., BAFFA, O., MIRANDA, J.R.A. A novel biomagnetic approach to study

caecocolonic motility in humans. *Neurogastroenterol. Motil.*, v.18, p.1078-1083, 2006.

ROUGE, N.; BURI, P.; DOELKER, E. Drug absorption sites in the gastrointestinal tract and dosage forms for site-specific delivery. *Int. J. Pharm.*, v.136, p.117-139, 1996.

ROWE, R. C. Molecular weight studies on hydroxy propyl methylcellulose phthalate (HP 55). *Acta. Pharm. Technol.*, v.28, n.2, p.127-130, 1982.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P.J.; WELLER, P.J. (Ed.). *Handbook of pharmaceutical excipients*. 4th. ed. London: The Pharmaceutical Press, 2003. p. 120-122, 301-305.

RUBINSTEIN, A. Approaches and opportunities in colon-specific drug delivery. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, v.12, n.273, p.101-149, 1995.

RUBINSTEIN, A.; RADAI, R.; EZRA, M.; PATHAK, S.; ROKEM, J.S. In vitro evaluation of calcium pectinate: a potencial colon-specific drug delivery carrier. *Pharm. Res.*, v.10, n.2, p.258-263, 1993.

SANTOS, H.M.M.; VEIGA, F.J.B.; PINA, M.E.T.; SOUSA, J.M.S. Obtenção de pellets por extrusão e esferonização farmacêutica. Parte I. Avaliação das variáveis tecnológicas e de formulação. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, 40, 455-470, 2004.

SANTOS, J. E.; SOARES, J. P.; DOCKAL, E. R.; CAMPANA, S. P. F.; CAVALHEIRO, E. T. G. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. *Polim. Ciência e Tecnologia*, v.13, n.4, p.242-249, 2003.

SCHILLER, C. FROHLICH, C.P.; GEISSMAN, T.; SIEGMUND, W.; MONNIKES, H.; HOSTEN, N.; WEITSCHEN, W. Intestinal fluid volumes and transit of dosage forms assessed by magnetic resonance imaging. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 22, 971-979, 2005.

SEMDÉ, R.; AMIGHI, K.; DEVLEESCHOUWER, M.J.; MOËS, A.J. Effect of pectinolytic enzymes on the theophylline release from pellets coated with water insoluble polymers containing pectin HM or calcium pectinate. *Int. J. Pharm.*, v.197, p.169-179, 2000.

SHAMEEN, M.; KATORI, N.; AOYAGI, N.; KOJIMA, S. Oral solid controlled release dosage forms: role of GI-mechanical destructive forces and colonic release in drug absorption under fasted and fed conditions in humans. *Pharm. Res.*, v.12, p.1049-1054, 1995.

SHIMONO, N.; TAKATORI, T.; UEDA, M.; MORI, M.; HIGASHI, Y.; NAKAMURA, Y. Chitosan dispersed system for colon-specific drug delivery. *Int. J. Pharm.*, v.245, p. 45-54, 2002.

SIEW, L.F.; BASIT, A.W.; NEWTON, J.M. The properties of amylose-ethylcellulose films from organic-based solvents as potential coatings for colônica

drug delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, n. 11, p. 133-139, 2000.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2000.

Simon, G.L., Gorbach, S.L. Intestinal flora in health and disease. *Gastroenterology* 86, 174–193, 1984.

SINGH, B. N. Effects of food on clinical pharmacokinetics. *Clin. Pharmacokinet.*, v.37, p.213-255, 1999.

SINHA, V. R.; KUMRIA, R. Microbially triggered drug delivery to the colon. *Eur. J. Pharm. Sci.*, v.18, p.3-18, Índia, 2003.

SINHA, V. R.; MITTAL, B. R.; BHUTANI, K. K.; KUMRIA, R. Colonic drug delivery of 5-fluorouracil: *in vitro* evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 269, p. 102-108, 2004.

SINHA, V.R.; KUMRIA, R. Polysaccharides in colon-specific drug delivery. *Int. J. Pharm.*, v.224, p.19-38, 2001.

Soc. Med. 58, 1007–1009, 1965.

SOCIEDADE PORTUGUESA DE ENDOSCOPIA DIGESTIVA – SPED. Disponível em: <<http://www.sped.pt/banco.php>>. Acesso em 10 jun 2003.

SRIAMORNSAK, P.; NUNTHANID, J. Calcium pectinate gel beads for controlled release drug delivery: II. Effect of formulation and processing variables on drug release. *J. Microencapsul.*, v.16, p.303-313, 1999.

STANIFORTH, J. N. Análise do tamanho de partícula. In: AUTON, M. E., **Delineamento de formas farmacêuticas**. 8 ed., Porto Alegre: Artmed, 2005. p.163-176.

STIRRUP, V., LEDINGHAM, S.J., THOMAS, M., PYE, G., EVANS, D.F. REDOX potential measurement in the gastrointestinal-tract in man. *Gut* 31, A1171, 1990.

THAKUR, B.R.; SINGH, R.K.; HANDA, A.K. Chemistry and uses of pectin – a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nut.*, v.37, n.1, p.47-73, 1997.

THE UNITED STATE PHARMACOPEIAL CONVENTION. 25th ed. Rockville: United State Pharmacopeial Convention, 2001.

THOMSON, A. B. R.; DROZDOWSKI, L.; IORDACHE, C.; THOMSON, B.K.A.; VERMEIRE, S.; CLANDININ, M.T.; WILD, G. Small bowel Review: normal physiology 2. *Dig. Dis. Sci.*, N.8, v.48, p.1565-1581, 2003.

TORRADO, J.J.; AUGSBURGER, L.L. Effect of Different Excipients on the Tableting of Coated Particles. *Int. J. Pharm.*, 106, 149-155, 1994.

USP 28. **United State Pharmacopeia**, 28th ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2005.

VANDAMME, T. F.; LENOURRY, A.; CHARRUEAU, C.; CHAUMEIL, J-C. The use of polysaccharides to target drugs to the colon. *Carbohydrate polymers*, v. 48, p. 219-231, 2002.

WAGNER, J.G. Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics. Hamilton: *Drug Intelligence publications*, 1971, p.371.

WAGNER, K.G.; KRUME, M.; SCHMIDT, P.C. Investigation of the Pellet-Distribution in Single Tablets Via Image Analysis. **Eur. J.Pharm.Bioph.**, 47, 79-85, 1999.

WILDING, I. R.; COUPE, A.J.; DAVIS, S.S. The role of γ -scintigraphy in oral drug delivery. **Adv. Drug Delv. Rev.**, v. 46, p. 103-124, 2001.

WILLIAMSON, S.J., KAUFMAN, L. Biomagnetism. *J. Magn. Magn. Mater.*, v.22, p.129-201, 1981.

Wrong, O., Metcalfe, A.M., Gibson, A. The electrolyte content faeces. *Proc. R.*

WYATT, D.M. Cellulose esters as direct compression matrices. *Manuf. Chem.*, n.12, v.62, p.20-23, 1991.

YANG, L.; CHU, J.-S.; FIX, J. A. Colon-specific drug delivery: new approaches and in vitro/in vivo evaluation. *Int. J. Pharm.*, v.235, p.1-15, 2002.

YU, C-Y; YIN, B-C.; ZHANG, W.; CHENG, S-X.; ZHANG, X-Z.; ZHUO, R-Z. Composite microparticle drug delivery systems based on chitosan, alginate and pectin with improved pH-sensitive drug release property.

ZANIBONI, H.C. Preparation and characterization of enteric multiparticulate floating and non-floating beads. Tese de doutorado. Manchester. UK 1995.

ZHANG, H; NEAU, S. H. In vitro degradation of chitosan by bacterial enzymes from rat cecal and colonic contents. *Biomaterials*, v.23, p.2761-2766, 2002.

ZHAO, L.; MITOMO, H.; NAGASAWA, N.; YOSHI, F.; KUME, T. Radiation synthesis and characteristic of the hydrogels based on carboxymethylated chitin derivatives. *Carbohydrate Polym.*, v.51, p.169-175, 2003.