

Departamento de Física e Biofísica

Laboratório de Biomagnetismo



Iniciação Científica

**Análise de processos biofarmacêuticos em comprimidos
magnéticos empregando a Biosuceptometria AC**

Orientador: Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda

Graduando: Deivid William Pires

Botucatu – SP

2013

IB/UNESP – Instituto de Biociências

Departamento de Física e Biofísica – Rubião Júnior, s/nº CP 510

Botucatu/SP – 18618-000 - Fone/fax: (14) 3811-6254/6346

e-mail: biofisica@ibb.unesp.br – site: www.ibb.unesp.br



Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
Campus de Botucatu



Deivid William Pires

**Análise de processos biofarmacêuticos em comprimidos
magnéticos empregando a Biosuceptometria AC**

Monografia apresentada ao Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Bacharel em Física Médica.

Orientador: Prof^o Dr. José Ricardo de Arruda Miranda

Botucatu
2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Pires, Deivid William.

Análise de processos biofarmacêuticos em comprimidos magnéticos
empregando a Biosuceptometria AC / Deivid William Pires. - Botucatu, 2013

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Física Médica) - Universidade
Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: José Ricardo de Arruda Miranda

Capes: 20903006

1. Biosuceptometria de Corrente Alternada. 2. Comprimidos (Medicina) -
Desintegração. 3. Medicamentos. 4. Absorção. 5. Capsulas (Farmacia).

Palavras-chave: Biosuceptometria AC; Comprimidos revestidos; Metronidazol.

Resumo

Ao administrar um fármaco, devem ser considerados fatores como a forma farmacêutica apropriada, a via de administração com maior eficiência e o que será mais bem aceita pelo paciente. Formas farmacêuticas sólidas (FFS), tais como comprimidos, representam a principal escolha, pois são fáceis de preparar, armazenar, transportar e são bem aceitas pelos pacientes. Porém, a absorção dos fármacos administrados em comprimidos depende do processo de desintegração, ou seja, um processo tempo-dependente que ocorre sob a ação de um desintegrante que promove a fragmentação da forma farmacêutica em partículas passíveis de serem dissolvidas e absorvidas. Para uma liberação efetiva do ativo, uns dos critérios relacionados à formulação como a escolha dos excipientes e o tipo de revestimento devem ser considerados. O revestimento com polímeros é utilizado para melhorar a estabilidade do fármaco, mascarar sabor ou para promover a liberação em locais específicos de acordo com a variação do pH. A técnica considerada como “padrão ouro” para monitorar FFS no trato gastrointestinal do homem é a cintilografia, entretanto, métodos alternativos com base na detecção de campo magnético merecem destaque. A técnica de Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) tem evoluído, apresentando como vantagem ser um método não-invasivo e livre de radiação ionizante. A BAC utiliza bobinas de indução para registrar a variação temporal do fluxo magnético a partir da resposta de um material magnético ingerido, aplicando-se um campo magnético alternado no meio biológico.

O objetivo deste estudo é empregar a BAC para avaliar *in vitro* a influência de três diferentes polímeros de revestimento em diversos parâmetros farmacotécnicos e no processo de desintegração de comprimidos.

Sumário

.....	1
1.Introdução	6
2. Objetivos.....	8
3. Materiais e métodos.....	9
3.1. Caracterização das FFS	9
3.1.1. Determinação do pico de absorção máxima do fármaco na região do ultravioleta (UV).....	9
3.1.2. Curva analítica para quantificação do fármaco por espectroscopia UV.....	9
3.1.3. Comprimidos magnéticos	10
3.1.4. Ensaios farmacotécnicos dos comprimidos magnéticos.....	11
3.2. Ensaios <i>in vitro</i> dos comprimidos revestidos	12
3.2.1. Revestimento	12
3.2.2. Ensaios magnéticos <i>in vitro</i>	13
3.2.3. Dissolução	15
2.3. Análise de dados.....	15
3. Resultados e Discussão.....	16
3.1. Caracterização da FFS	16
3.2. Ensaio de dissolução.....	21
3.3. Medidas Magnéticas	24
4. Conclusão	27
5. Referências	28

1.Introdução

Ao administrar um fármaco, devem ser considerados fatores como a forma farmacêutica apropriada, a via de administração adequada e qual será bem aceita pelo paciente (ANSEL et al., 2000).

Formas farmacêuticas sólidas (FFS) são muito utilizadas devido a uma série de fatores, como facilidade para fabricação, armazenamento e transporte; por serem mais estáveis e, geralmente, bem aceitas pelos pacientes e permitem o estabelecimento de esquemas terapêuticos fáceis de serem cumpridos (SASTRY et al., 2000). No entanto, a absorção dos fármacos contidos em FFS depende de uma sucessão de processos, tais como: (i) desintegração, ou seja, um processo tempo-dependente que ocorre sob ação de um desintegrante e promove a fragmentação da forma farmacêutica em partículas passíveis de serem dissolvidas e absorvidas, (ii) dissolução do fármaco no fluido gastrointestinal, (iii) absorção do fármaco através das membranas celulares para a circulação sistêmica e, finalmente, ao seu local de ação (MELIA & DAVIS, 1989; PERIOLI, 2012). Se estes processos forem lentos ou incompletos, a biodisponibilidade do fármaco será comprometida, tornando indispensável o emprego de diversas análises durante o desenvolvimento da formulação.

Os comprimidos devem ser preparados para que o fármaco seja liberado imediatamente no trato gastrintestinal (TGI), de forma contínua ou controlada, em determinados segmentos do TGI. Um dos artifícios disponíveis consiste no revestimento com películas poliméricas que são utilizadas para melhorar a estabilidade do fármaco, mascarar sabor e odor e, ainda, promover a liberação em locais específicos de acordo com a variação do pH ao longo do TGI, atribuindo uma melhor qualidade técnica ao produto (CORÁ et al., 2008; McCONNELLI et al., 2008).

Nos últimos anos, o conceito da correlação *in vitro-in vivo* (CIVIV) vem sendo aplicado no desenvolvimento de novas formulações para o aprimoramento das formulações existentes. A CIVIV é uma ferramenta matemática que relaciona os dados da dissolução (*in vitro*) e dados farmacocinéticos (*in vivo*) (EMAMI, 2006), no intuito de prever o comportamento da FFS *in vivo*, a partir de avaliações *in vitro*. Utiliza como base a classificação biofarmacêutica para estabelecer uma relação racional entre as características biológicas e as características da forma farmacêutica. Nesse sentido, é imprescindível um vínculo entre ensaios de dissolução *in vitro* e ensaios farmacocinéticos *in vivo* (Qiu, 2009), visto que os estudos *in vitro* não podem ser

diretamente extrapolados para o ambiente *in vivo* devido à variabilidade das condições fisiológicas do TGI (GHIMIRE et al., 2010).

Nesse contexto, avaliar a função motora do TGI torna-se relevante na medida em que os parâmetros fisiológicos tais como a motilidade gastrointestinal, o estado prandial, o esvaziamento gástrico, o trânsito intestinal e a variação do pH ao longo do TGI, podem interferir significativamente com a absorção dos fármacos. Diversas técnicas foram propostas para avaliar a atividade motora do TGI, sendo algumas consideradas o “padrão-ouro” para avaliar a motilidade gastrointestinal (SMOUT & MUNDT, 2009). No entanto, a exposição à radiação ionizante, como nas radiografias contrastadas empregando marcadores radio-opacos, ou na cintilografia, ou ainda o fato de serem métodos invasivos, como a manometria, implica em limitações e desconforto ao paciente.

Como opções a estas limitações técnicas foram desenvolvidos métodos alternativos com base na detecção de campo magnético, chamados de métodos biomagnéticos (WEITSCHIES et al., 2005; CORÁ et al., 2005a). Os métodos biomagnéticos aplicados a farmacotécnica são relativamente novos e não-invasivos, além de obter uma abordagem clínica, fisiológica e farmacêutica de pesquisa (CORÁ et al., 2006a). Dentre os métodos de maior relevância para a pesquisa farmacêutica, estão em destaque os Dispositivos Supercondutores de Interferência Quântica (SQUID), os sensores magnetorresistivos (AMR) e a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC).

A BAC surgiu de maneira inovadora no campo de aplicação da pesquisa farmacêutica, tornando-se um método alternativo (Corá et al., 2008) e de notável evolução. Também como uma opção para estudos visando a motilidade gastrointestinal e associações entre avaliação motora do TGI e parâmetros de importância em farmacotécnica (Baffa et al., 1995; Corá et al., 2005b; Romeiro et al., 2006; Américo et al., 2007; Miranda et al., 2010). Esta técnica apresenta como vantagens ser um método não-invasivo e livre de radiação ionizante, além de não requerer ambiente magneticamente blindado e possui um custo de implantação relativamente baixo, comparativamente aos métodos vigentes (Américo et al., 2009; Corá et al., 2011).

Essa técnica utiliza um conjunto de bobinas de indução para registrar a variação temporal do fluxo magnético obtida pela resposta de um material de elevada

susceptibilidade magnética (Baffa et al., 2005) e, por isso, produz uma resposta intensa quando um campo magnético é aplicado ao meio biológico (CORÁ et al., 2010).

Um novo arranjo instrumental da técnica composto por um sistema de multi-sensores permitiu a aquisição de sinais magnéticos em diferentes pontos para caracterizar o processo de desintegração de comprimidos *in vitro* e *in vivo* (CORÁ et al., 2003). Além disso, foi possível monitorar o tempo de trânsito gastrointestinal de comprimidos (CORÁ et al., 2006a) e cápsulas (CORÁ et al., 2006b), bem como diversos processos relacionados com a liberação e efeitos de fármacos. Assim os resultados obtidos foram satisfatórios e enfatizaram a importância do estudo do comportamento das formas farmacêuticas no TGI humano especialmente com a técnica BAC (CORÁ et al., 2010).

Com o auxílio da FAPESP, através de um projeto temático (processo 2010/07639-9), foi possível readequar as instalações e equipar o laboratório de biomagnetismo do IBB-UNESP com todas as condições necessárias para o desenvolvimento da presente proposta.

Diante do exposto, esse projeto propõe uma abordagem inédita com objetivo de utilizar o sistema BAC com multisensores para avaliar *in vitro* os processos de dissolução de revestimento e desintegração de comprimidos magnéticos e variações frente à força de compressão na desintegração visando estabelecer uma relação entre os processos magnéticos com os parâmetros farmacocinéticos *in vitro*.

2. Objetivos

Este projeto foi desenvolvido no Laboratório de Biomagnetismo do Departamento de Física e Biofísica do Instituto de Biociências de Botucatu e possui os seguintes objetivos:

Gerais:

- Avaliar a influência da força de compressão sobre os tempos de desintegração de FFS magnéticas *in vitro*;
- Avaliar o tempo de dissolução de revestimento e tempo de desintegração de FFS magnéticas *in vitro*;
- Obter uma relação entre variáveis magnéticas e farmacocinéticas – magnetofarmacocinética;

Específicos

In vitro

- obter comprimidos contendo metronidazol como fármaco modelo e marcador magnético, revesti-los com polímeros para liberação imediata (gástrica): Opadry[®] TM, Eudragit[®] E100 e Kollicoat[®] IR;
- utilizar o método magnético (Biosusceptometria AC) para avaliar o processo de desintegração de comprimidos revestidos *in vitro* e quantificar o tempo de dissolução do revestimento (TDR) e o tempo de desintegração (TD);
- efetuar ensaio de dissolução em aparato oficial e obter o perfil de dissolução do metronidazol (MT);

3. Materiais e métodos

3.1. Caracterização das FFS

3.1.1. Determinação do pico de absorção máxima do fármaco na região do ultravioleta (UV)

Foram realizadas análises do MT por espectrofotometria na região do UV em pH ácido, simulando o fluido gástrico, para determinação do pico de absorção máxima do fármaco. Para tanto, uma solução diluída de MT em HCl 0,1 N pH 1,2 foi obtida e analisada na região do UV (200 e 400 nm) e o pico de absorção máxima foi registrado.

3.1.2. Curva analítica para quantificação do fármaco por espectroscopia UV

Para a obtenção da curva analítica de MT em solução ácida de HCl 0,1N pH 1,2 partiu-se de uma solução estoque (solução mãe) com concentração de 150 µg/mL, na qual foi tomadas alíquotas para o preparo de diluições na faixa de concentração entre 5 µg/mL e 100 µg/mL. Todas as porções foram transferidas para balão volumétrico de 10 mL e o volume foi completado com a solução ácida. Este procedimento foi repetido três vezes. As leituras de MT em solução de HCl 0,1N pH1,2 foram realizadas em espectrofotômetro de UV em 277 nm. Os resultados foram plotados num gráfico de

absorbância *versus* concentração.

3.1.3. Comprimidos magnéticos

Comprimidos magnéticos de 1000 mg foram obtidos por compressão direta variando a força de compressão entre 10 a 50 kN. Os comprimidos foram preparados constituídos de ferrita, como marcador magnético, o fármaco, MT, amido glicolato de sódio (AGS) como desintegrante, celulose microcristalina (CM) como diluente e estearato de magnésio (EM) como lubrificante. Duas formulações foram preparadas e comprimidas com diferentes forças de compressão (de 10, 20, 30, 40 e 50 kN) e estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1: Formulações dos comprimidos (em mg).

<i>Comprimido</i>	<i>Ferrita</i>	<i>MT</i>	<i>AGS</i>	<i>CM</i>	<i>EM</i>
C1	500	100	20,0	375	5,0
C2	500	100	40,0	355	5,0

A ferrita é o material magnético que confere a característica de marcador magnético, pois possui uma alta susceptibilidade magnética, inerte e não é absorvida pelo organismo (CORÁ, 2006b; CORÁ *et al.*, 2011). O MT é um fármaco antimicrobiano que, de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), pertence à classe I, apresentando altas solubilidade e permeabilidade (LIDENBERG *et al.*, 2004). Quando administrado por via oral, é absorvido no estômago e nas regiões iniciais do intestino delgado. Essas características foram essenciais para a escolha desse fármaco como marcador farmacocinético neste projeto, que visa à liberação imediata do fármaco.

Os desintegrantes são necessários para desagregar comprimidos em partículas primárias de pó, visando aumentar a área superficial exposta aos fluidos gastrintestinais.

O amido glicolato de sódio é um agente desintegrante amplamente utilizado na formulação de comprimidos e sua quantidade usual varia de 2 a 6 %. A força de compressão utilizada na fabricação do comprimido pode afetar a sua desintegração. De modo geral, quanto maior a força de compressão, maior é o tempo de desintegração.

3.1.4. Ensaio farmacotécnicos dos comprimidos magnéticos

Os comprimidos obtidos por diferentes forças de compressão foram submetidos à análise de suas características físicas conforme preconizado pela Farmacopéia Brasileira (2010).

a) Peso Médio

O peso médio dos comprimidos foi realizado mediante a pesagem individual de 12 comprimidos de cada amostra. Esse teste foi realizado para verificar a homogeneidade dos comprimidos de cada formulação, podendo-se tolerar não mais que duas unidades fora do limite de variação de $\pm 5\%$.

b) Dureza

Dureza ou resistência à quebra determina o quão duros são os comprimidos, de modo a resistir à fratura durante processos de revestimento, embalagem, transporte, armazenagem e manipulação. No entanto, devem ter características suficientes para dissolver ou desintegrar depois de administrados. A dureza mínima aceitável é de 45 N ou 4,5 Kgf e o ensaio foi realizado em sextuplicata.

c) Friabilidade

O teste de friabilidade permite determinar a resistência dos comprimidos à abrasão, quando submetidos à ação mecânica de aparelhagem específica. A friabilidade foi determinada através da pesagem de 10 comprimidos submetidos à ação de um sistema rotacional de 25 rpm por 4 minutos. Após remover qualquer resíduo de pó dos comprimidos, eles foram novamente pesados. A diferença entre o peso inicial e o final

representa a friabilidade, medida em função da porcentagem de pó perdido que deve ser menor que 1,0%.

d) Desintegração

O teste de desintegração permite verificar se os comprimidos desintegram dentro do limite de tempo especificado, quando seis unidades do lote são submetidas à ação de aparelhagem específica. A desintegração deve ocorrer para que o fármaco se apresente totalmente disponível para dissolução e posterior absorção no trato gastrointestinal.

O teste de desintegração *in vitro* foi realizado num aparelho que consiste num sistema de cestas e tubos onde os comprimidos foram inseridos e movimentados verticalmente com frequência constante e percurso específico dentro de um recipiente contendo o meio gástrico simulado a $37^{\circ}\text{C} \pm 1,0$.

e) Dissolução

O ensaio de dissolução do fármaco foi realizado para verificação do perfil de liberação *in vitro* do MT em meio gástrico simulado. Os ensaios foram realizados utilizando Estação de Dissolução, com a temperatura do banho foi mantida a $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Os ensaios foram realizados em aparato USP II (pás), sob velocidade de agitação de 50 rpm. Durante o ensaio, alíquotas de 3,0 mL foram coletadas em intervalos de tempo pré-estabelecidos e a reposição com o mesmo volume de meio foi realizada imediatamente. Os ensaios foram realizados em triplicata e as alíquotas foram coletadas em tempos pré-estabelecidos (num total de 1 h 30 min de análise), filtradas, diluídas e a concentração do fármaco liberado foi determinado em espectrofotômetro de UV ($\lambda = 277 \text{ nm}$).

3.2. Ensaios *in vitro* dos comprimidos revestidos

3.2.1. Revestimento

Os comprimidos foram revestidos em uma única etapa utilizando um sistema para revestimento constituído por compressor de ar SCHUZ[®] MS 2.3, Mini drageadeira

LEMAC[®] com dosador automático DosaMini 200 e insuflador integrado. O processo de revestimento foi realizado sob as seguintes condições: pressão de ar, 1,5 mg/cm²; temperatura interna do recipiente, 40–60°C; velocidade de rotação, 20 rpm. As soluções foram aplicadas em 145 g de comprimidos placebo (100 unidades). Nessa etapa, foram utilizados os polímeros Opadry[®] TM (Colorcon); Eudragit[®] E100 (Rohm) e Kollicoat[®] IR (BASF) seguindo as normas técnicas de cada empresa.

3.2.2. Ensaios magnéticos in vitro

3.2.2.1. Fundamentos da Biosusceptometria AC (BAC)

A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) consiste em bobinas de indução que aplicam um campo magnético de corrente alternada em um meio biológico e, através de bobinas de detecção mede-se a variação do campo magnético proveniente da interação entre o primeiro campo induzido e o meio (MIRANDA et al., 2003; CORÁ et al., 2008). A instrumentação, ilustrada na figura 1, é composta por um par de bobinas de excitação e um par de bobinas de detecção separadas por uma linha de base fixa que está coaxialmente disposto numa configuração gradiométrica (subtração) de primeira ordem (AMÉRICO., 2009).

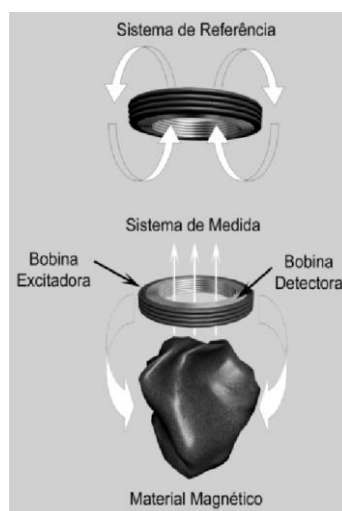


Figura 1: Configuração do sistema BAC (Lu, 2005).

Esta concepção foi utilizada no desenvolvimento de um sistema de BAC com multisensores, cuja finalidade foi aumentar a resolução espacial e a sensibilidade para aplicações farmacêuticas (CORÁ et al., 2003; CORÁ et al., 2006a). A diferença entre o sistema multisensores (Figura 2) e o citado anteriormente é que o novo arranjo utiliza

apenas um par de bobinas de excitação e sete pares de bobinas de detecção utilizadas para aquisição dos sinais em pontos distintos (CORÁ et al., 2003).

O sistema funciona como um transformador duplo de fluxo magnético com núcleo de ar, sendo que o par (excitação/detecção) próximo ao material magnético atua como medida e o outro, como referência (AMÉRICO et al., 2009). A presença de um material magnético causa um desbalanceamento no fluxo magnético que é monitorado por meio de amplificadores lock-in (Stanford Research Systems, Inc., USA); digitalizados por uma placa A/D de 16 bits (PCIMIO- 16XE-10, National Instruments Inc., Austin, TX, USA) e armazenados como ASCII para análise (CORÁ et al., 2008).

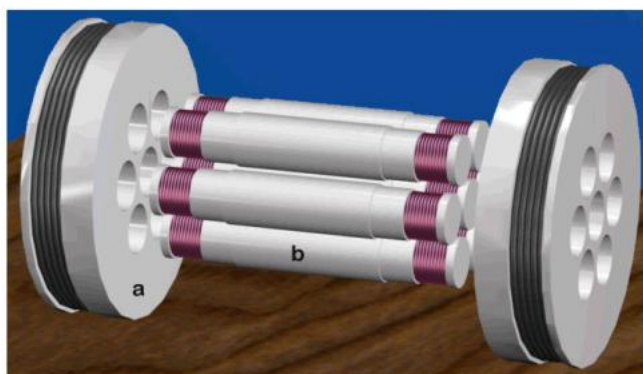


Figura 2: Sistema de Biosusceptometria AC com multisensores mostrando o par de bobinas de excitação (a) e os sete pares de bobinas de detecção (b).

3.2.2.2. Medidas magnéticas *in vitro*

As medidas foram realizadas utilizando um recipiente de vidro contendo 900 ml de uma solução pH 1,2 e uma guia para inserção do comprimido, será acoplado um sistema de BAC com multisensores. O processo de desintegração foi monitorado em tempo real, sendo os sinais magnéticos coletados e analisados, seguindo o modelo proposto por Corá et al. (2005b).

Após o processamento digital, os sinais foram utilizados para quantificar o tempo de dissolução do revestimento (TDR) que representam um período sem modificação nos valores da intensidade e, tempo de desintegração (TD) que se refere ao período relacionado com significativa modificação dos sinais, consequente ao espalhamento da ferrita no meio.

Um comprimido revestido foi inserido por um guia no vidro recipiente colocado em frente do sistema BAC multisensor conforme esquema na figura 3. O processo de

desintegração foi monitorado em tempo real por sete sensores magnéticos, porém para este ensaio a BAC multisensor será de sete canais e o n=6 comprimidos revestidos.

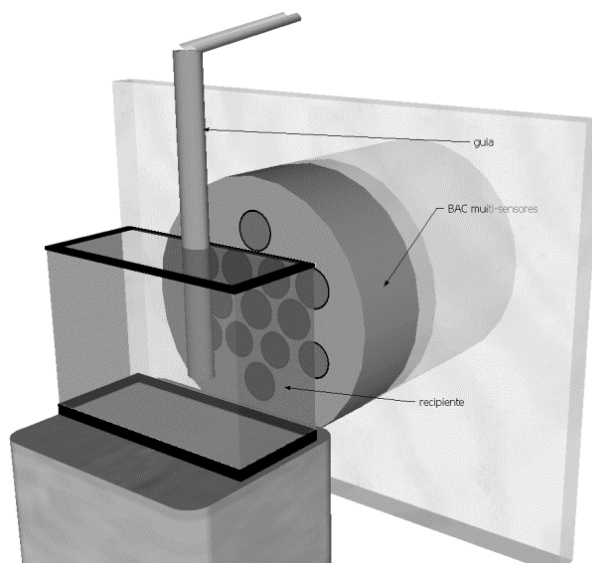


Figura 3: Aparato magnético montado para medida de desintegração da FFS.

3.2.3. Dissolução

O ensaio de dissolução do fármaco foi realizado para verificação do perfil de liberação *in vitro* do MT em meio gástrico simulado. Os ensaios foram realizados utilizando Estação de Dissolução, com a temperatura do banho foi mantida a $37 \pm 0,5$ °C.

Os ensaios foram realizados em aparato UPS II (pás), sob velocidade de agitação de 50 rpm. Durante o ensaio, alíquotas de 1,0 mL foram coletadas em intervalos de tempo preestabelecidos e a reposição com o mesmo volume de meio foi realizada imediatamente.

Os ensaios foram realizados com um n=6 e as alíquotas foram coletadas em tempos preestabelecidos (num total de 2 h 30min de análise), diluídas e a concentração do fármaco liberado foi determinado em espectrofotômetro de UV ($\lambda = 277$ nm).

2.3. Análise de dados

Os sinais magnéticos coletados foram processadas e analisadas empregando-se o MatLab® (Mathworks, Inc., Natick, MA, EUA), para obter-se o sinal magnético de intensidade em função do tempo, assim foi possível distinguir as fases de dissolução do revestimento, início e fim da desintegração e distribuição da ferrita no meio.

Os parâmetros que foram avaliados no processo de desintegração *in vitro* foram o tempo de dissolução do revestimento (TDR), representado pela diferença entre o

instante da chegada do comprimido na solução e o início da desintegração, e o tempo de desintegração (TD) determinado pela diferença fim da desintegração e início da desintegração.

Uma importante relação que se pretende estabelecer neste projeto é uma relação entre medida biomagnética e suas relações com os parâmetros farmacocinéticos *in vitro*. Neste sentido, objetiva-se relacionar os parâmetros da desintegração obtidos a partir de dados magnéticos, com os farmacotécnicos denominada magnetofarmacocinética.

3. Resultados e Discussão

3.1. Caracterização da FFS

O espectro de absorção do MT em meio gástrico simulado, HCl 0,1N pH 1,2, foi obtido por espectrofotometria na região do UV e o pico de absorção máxima foi em 277 nm (Figura 4), que foi selecionado para a realização das análises quantitativas do fármaco para obtenção da curva analítica.

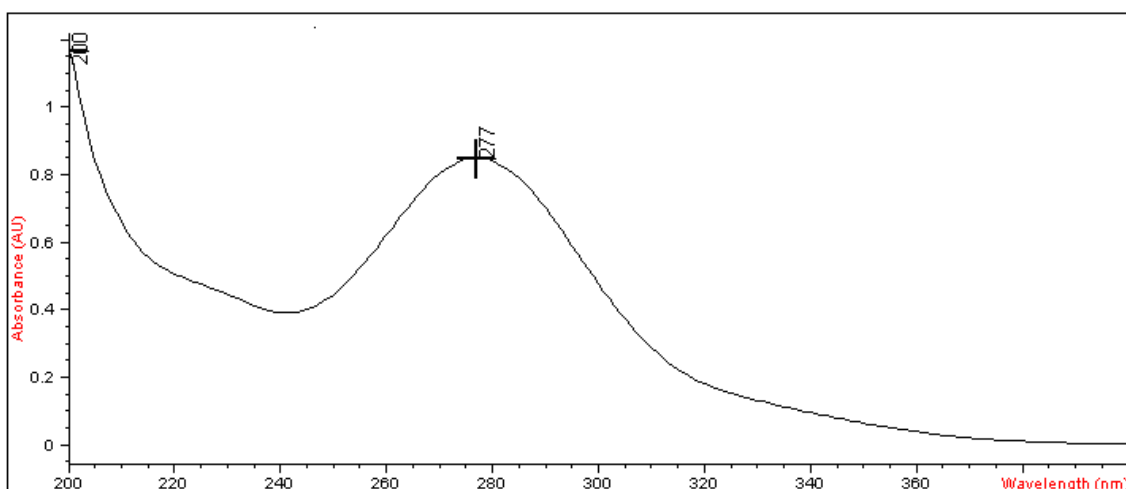


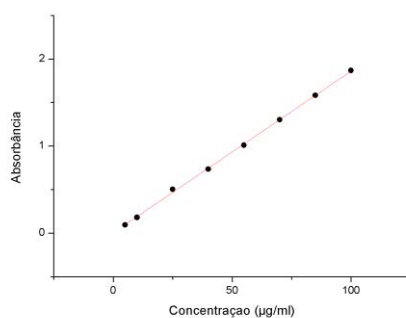
Figura 4: Espectro de absorção do MT em solução ácida de HCl 0,1N pH1,2.

Conforme o espectro de absorção do fármaco, este apresentou absorção máxima em 277 nm com pico de absorção bem definido. Os resultados de absorbância das diluições preparadas para obtenção da curva analítica do fármaco em solução ácida estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2: Análise espectrofotométrica de MT em HCl 0,1N pH 1,2 na região do UV.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbância			Média	dp	CV (%)
	n1	n2	n3			
5	0,105	0,087	0,092	0,095	0,0093	9,8150
10	0,182	0,178	0,183	0,181	0,0026	1,4617
25	0,487	0,457	0,468	0,470	0,0152	3,2245
40	0,723	0,729	0,754	0,735	0,0164	2,2360
55	1,012	0,998	1,019	1,010	0,0107	1,0590
70	1,281	1,298	1,326	1,302	0,0227	1,7457
85	1,568	1,572	1,607	1,582	0,0215	1,3559
100	1,840	1,879	1,886	1,868	0,0248	1,3266

Os dados de absorbância média *versus* concentração do MT foram plotados num gráfico de correlação para obtenção da curva analítica do fármaco em meio gástrico simulado, conforme ilustrado na Figura 5, onde *Abs* corresponde à absorbância, *C* à concentração do fármaco, e os valores são os coeficientes angular e a linear, respectivamente.

**Figura 5:** Curva analítica do MT em solução ácida de HCl 0,1N pH1,2.

O coeficiente de correlação, R^2 , foi de 0,99928, indicando boa correlação entre as variáveis. Assim, com a curva analítica é possível quantificar a concentração do MT em uma solução HCl 0,1N pH1,2, dentro da faixa de concentração estudada.

A regressão linear forneceu a equação de reta (Eq. 1):

$$Abs = 0,03686 \times C + 0,08274 \quad (\text{Eq. 1})$$

Os resultados dos ensaios farmacotécnicos realizados com os comprimidos estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Análise de peso médio, dureza, friabilidade e desintegração dos comprimidos.

<i>Força</i> <i>(kN)</i>	<i>Amostra</i>	<i>Peso Médio</i> <i>(mg)</i>	<i>Dureza</i> <i>(N)</i>	<i>Friabilidade</i> <i>(%)</i>	<i>Desintegração</i> <i>(min)</i>
10	C1	1,005 ± 3,1%	69,0	0,29	6min 10s
	C2	1,001 ± 2,9%	68,5	0,20	2min 01s
20	C1	0,999 ± 0,2%	121,3	0,20	3min 23s
	C2	1,005 ± 0,5%	132,0	0,10	4min 36s
30	C1	1,003 ± 0,3%	140,3	0,03	>30min
	C2	1,007 ± 0,7%	140,7	0,03	22min 17s
40	C1	1,003 ± 0,5%	140,7	0,03	>30min
	C2	1,006 ± 0,5%	140,8	0,03	>30min
50	C1	1,005 ± 0,5%	141,0	0,03	>30min
	C2	1,008 ± 1,1%	140,8	0,01	>30min

Todos os comprimidos apresentaram peso médio dentro do limite permitido de variação de 5%, independente da força de compressão aplicada. Nos ensaios de dureza e friabilidade, foi observado que a dureza e a friabilidade dos comprimidos não alterou, nas amostras comprimidas com forças de compressão acima de 30 kN, indicando que a dureza máxima foi atingida. Quanto à friabilidade dos comprimidos, todas as amostras se apresentaram dentro do nível aceitável, menor que 1,0%, e também mantiveram o mesmo padrão nos comprimidos preparados com forças de compressão maiores que 30 kN.

O processo de desintegração é resultado da interação entre fatores que resultam na fragmentação da forma farmacêutica sólida. Assim, a forma farmacêutica absorve o fluido com o qual está em contato que, por sua vez, promove o

desenvolvimento de uma força responsável pela sua expansão. O processo de desintegração, uma vez iniciado, não pode ser interrompido e culmina na completa fragmentação da forma farmacêutica em partículas passíveis de serem dissolvidas e absorvidas pela mucosa do trato gastrointestinal.

As amostras preparadas com força de compressão de 20 kN apresentaram resultado contrário ao esperado, uma vez que os comprimidos contendo maior quantidade de agente desintegrante gastaram um tempo maior para a completa desintegração do que as amostras contendo menor proporção de AGS. Esse fato indica algum erro durante o processo de obtenção dos comprimidos.

No ensaio de desintegração foi estabelecido um critério de tempo máximo de avaliação dos comprimidos não revestidos de 30 minutos, porém com a análise dos resultados verificou-se que esse tempo não foi suficiente para a completa desintegração dos comprimidos, indicando que os ensaios de desintegração devem ser refeitos.

No experimento, os comprimidos obtidos com força de compressão igual ou maior que 30 kN desintegraram num tempo acima de 30 min. Nas amostras da formulação C1, obtidas com força de compressão de 30 kN, foi visualmente observado que após o tempo de 30 min os comprimidos mantiveram cerca de 50% de seu volume intactos, enquanto que os comprimidos preparados com forças de 40 kN e 50 kN permaneceram praticamente 100% intactos durante o mesmo período de tempo.

Nas amostras da formulação C2 preparadas com força de compressão de 30 kN, os comprimidos desintegraram-se completamente em 30 min, porém os comprimidos preparados a 40 kN apresentaram grânulos que não desintegraram totalmente durante o tempo delimitado. Comprimidos preparados com força de 50 kN mantiveram cerca de 50% do seu volume inicial ao final dos 30 min.

As Figuras 6 e 7 representam a liberação *in vitro* do MT das diferentes formulações, C1 e C2 respectivamente, em meio gástrico simulado.

Os comprimidos de formulação C1 apresentaram diferentes perfis de liberação do fármaco. Nos comprimidos preparados com força de compressão de 20 kN, o fármaco foi liberado mais rapidamente, inclusive os preparados com menor força. Assim como no ensaio de desintegração, esse fato indica que pode ter ocorrido algum erro durante a obtenção dos comprimidos deste lote, possivelmente durante a mistura de pós, etapa prévia a compressão, uma vez que o teste de dureza mostrou os resultados esperados. A Figura 6 mostra que as amostras preparadas com forças de compressão de 10 e 30 kN e de 40 e 50 kN apresentaram perfis semelhantes, indicando que não houve

diferenças no perfil de dissolução do fármaco dos comprimidos preparados com essas forças de compressão, quando o agente desintegrante foi utilizado em 2 %.

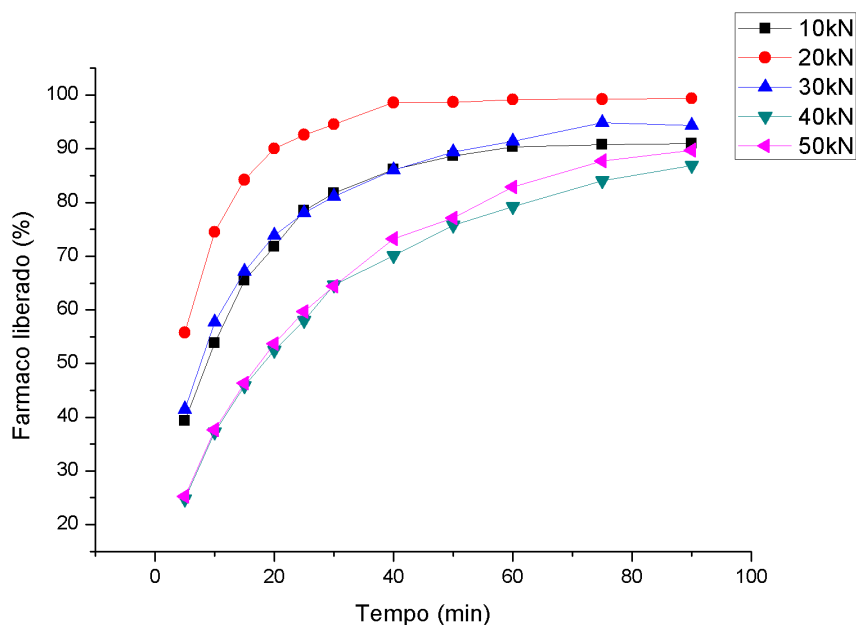


Figura 6: Liberação *in vitro* do MT em meio gástrico simulado dos comprimidos da formulação C1.

Os comprimidos preparados segundo a formulação C2, que contém 4 % do agente desintegrante (Fig. 7), apresentaram perfis semelhantes de liberação do fármaco, porém a quantidade de MT liberada não foi proporcional à dureza dos comprimidos, com exceção dos comprimidos preparados com força de compressão de 50 kN, no qual o fármaco foi liberado mais lentamente. No entanto, no ponto final do experimento todos os comprimidos liberaram 95 % do MT. Este resultado indica que a presença de 4 % de desintegrante aliada à compressão realizada com forças de compressão inferiores a 50 kN não afetaram a dissolução do fármaco.

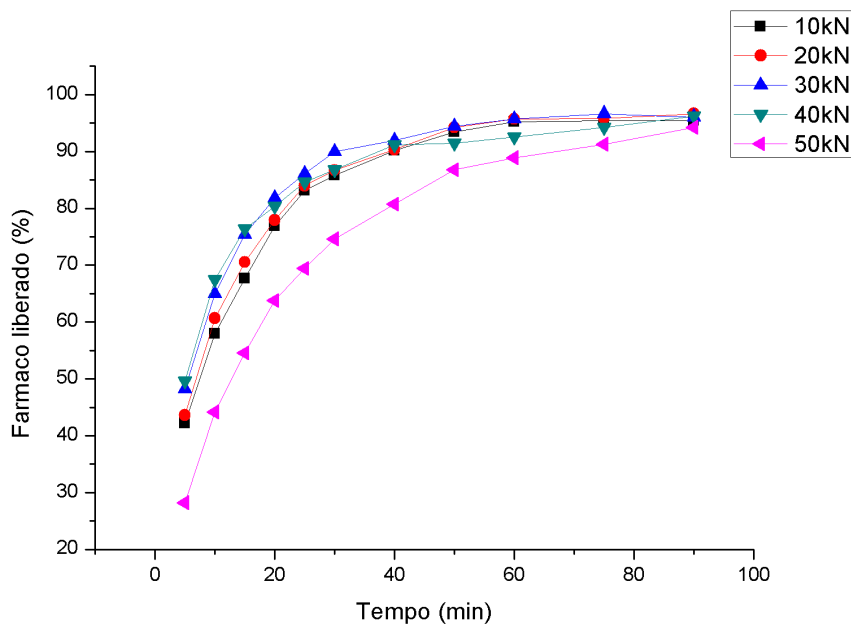


Figura 7: Liberação *in vitro* do MT em meio gástrico simulado dos comprimidos da formulação C2.

Os resultados mostraram que os comprimidos formulados com 2 % de desintegrante apresentaram diferenças em relação à desintegração e liberação do fármaco de modo proporcional à força de compressão aplicada. Com exceção da formulação preparada a 20 kN que mostrou resultado contrario ao esperado, indicando algum erro durante o processo de obtenção dos comprimidos. Já as amostras dos comprimidos preparados com 4 % de desintegrante mostraram resultados semelhantes nos ensaios de desintegração e dissolução, indicando que a força de compressão não afetou o tempo de liberação do fármaco, com exceção dos comprimidos preparados com 50 kN de força, que apresentaram um perfil de liberação cerca de 10 % mais lento, em relação aos demais comprimidos. Porém, ao final do tempo do experimento, todos os comprimidos liberaram 95 % do fármaco, independente da força de compressão aplicada.

Para as demais etapas foi estipulado a formulação C2 com 30 kN de força de compressão. O porquê desta escolha esta explicada com mais detalhes na conclusão.

3.2. Ensaio de dissolução

Após a avaliação da melhor formulação para os demais testes, verificou que a formulação C2 é a mais indicada. Os comprimidos passaram pelo processo de

revestimento com os três tipos de polímeros seguindo as normas técnicas de cada fabricante.

Todos os comprimidos foram submetido ao teste de dissolução (aparato USP 2: meio ácido (HCl; 0,1 N; pH 1,2) a 50 rpm) com coletas nos mesmo intervalos de tempo da etapa anterior e posteriormente as amostras foram analisadas no espectrofotômetro UV com $\lambda=277$ nm. As concentrações de cada amostra foram calculadas através da curva analítica encontrada na etapa anterior (Eq. 1) a partir das absorbâncias adquiridas.

Na figura 8 temos as medidas até 2h 30min para visualizar a diferença entre os perfis dos comprimidos com e sem revestimentos. Podemos notar que o perfil de dissolução dos comprimidos sem revestimentos esta deslocado para esquerda com relação à curva dos comprimidos com revestimento. Isso indica que o revestimento atrasa a dissolução do fármaco se comparado com o mesmo intervalo de tempo dos comprimidos com revestimento. No entanto, ao comparar os perfis dos comprimidos revestidos, todos apresentaram perfis de dissolução semelhantes.

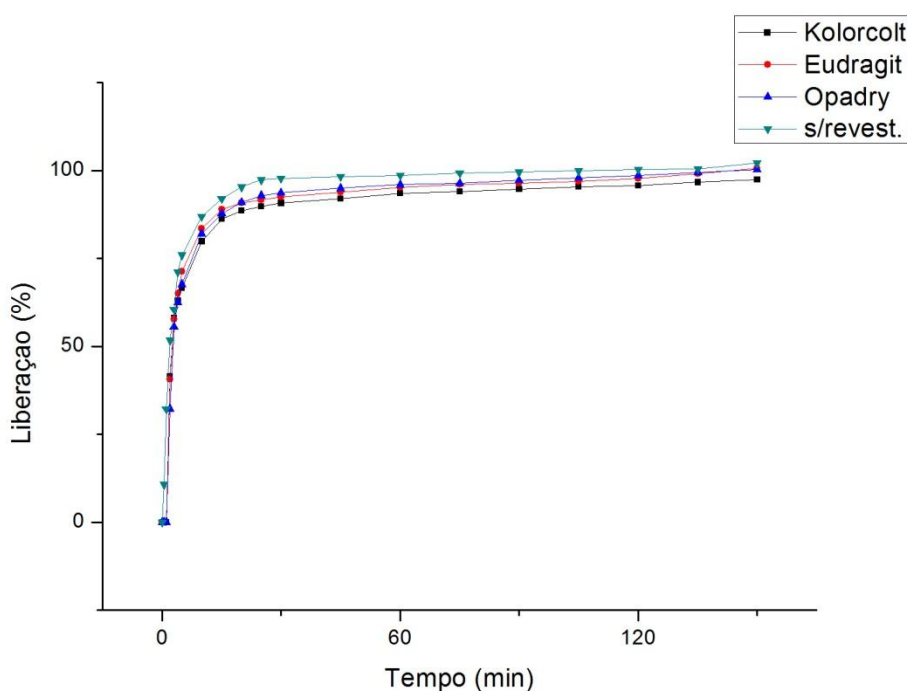


Figura 8: Liberação *in vitro* do MT em meio gástrico simulado dos comprimidos sem revestimento e revestidos com três tipos de polímeros diferentes.

Para quantificar se existe diferença no perfil de dissolução no ensaio no dissolutor foram calculados os fatores de diferença (f_d ou f_1) e de similaridade (f_s ou f_2) proposto por Moore e Flanner (1996) sendo estes cálculos efetuados nos primeiros

cinco minutos onde ocorrem as mudanças significativas nos perfis de dissolução. Na tabela 4 temos os fatores de diferença e de similaridade entre os comprimidos sem revestimento (**Srev**) e os comprimidos revestidos com Eudragit® E100 (**Eud**), Kollicoat® IR (**Koll**) e Opadry® TM (**Opa**).

Valores de f_1 entre 0 e 15 indica semelhança entre dois perfis pois este fator aproxima o erro percentual das duas curvas em questão. Dois perfis serão considerados semelhantes caso o valor de f_2 não for inferior a 50.

Tabela 4: Fatores de diferença e de similaridade comparando as FFS sem revestimento e as FFS com diferentes tipos de revestimentos.

Tempo (min)	Fatores de diferença			Fatores de similaridade		
	Srev x Eud	Srev x Koll	Srev x Opa	Srev x Eu	Srev x Koll	Srev x Opa
0	12,61	4,03	3,13	99,08	99,88	99,93
0,5	81,85	81,21	81,02	45,82	45,99	46,04
1	87,28	91,93	91,06	25,01	23,88	24,09
2	1,92	10,59	22,68	91,71	61,15	50,68
3	9,82	4,60	0,91	59,66	75,21	96,79
4	20,02	25,28	25,47	37,85	32,79	32,63
5	15,56	23,47	22,78	42,86	33,97	34,61

Podemos verificar que os fatores de diferença são maiores até o tempo de 1min e a partir de 2 min estes fatores são menores. O mesmo é confirmado com os fatores de similaridade na qual até 1 min os valores são menores que 50 e após 2 min este valor aumenta indicando que a dissolução se torna semelhante após 2 min.

O revestimento atrasa a liberação do fármaco nos primeiro minutos do processo de dissolução, porém nos tempos seguintes o revestimento foi totalmente dissolvido e a FFS começa o processo de desintegração, liberando assim o fármaco para o meio.

Para avaliar se existe diferença na dissolução dos diferentes revestimentos foram calculados os fatores de diferença e de similaridade entre os perfis de dissolução dos comprimidos revestidos. Na tabela 5 temos os resultados comparando os revestimentos um em relação ao outro.

Tabela 5: Fatores de diferença e de similaridade comparando as FFS com diferentes tipos de revestimentos.

Fatores de diferença				Fatores de similaridade		
Tempo (min)	Eu x Koll	Eu x Opa	Koll x Opa	Eu x Koll	Eu x Opa	Koll x Opa
0	8,07	16,14	7,47	99,62	98,54	99,62
0,5	3,54	4,56	0,98	99,90	99,84	99,99
1	36,53	29,75	10,67	85,42	88,53	98,99
2	8,83	21,17	13,53	65,35	46,75	58,33
3	4,75	9,77	5,27	72,74	57,78	71,64
4	6,59	6,82	0,25	66,37	65,65	99,72
5	9,36	8,55	0,90	57,40	59,33	96,56

Os fatores de diferença indicam uma diferença entre os perfis do Eudragit® E100 em relação aos outros dois polímeros e semelhanças entre os polímeros Kollicoat® IR e Opadry® TM antes de 2 min do processo de dissolução. Isso também é verdade ao analisar os fatores de similaridade entre o Eudragit® E100 e o Kollicoat® IR.

O Eudragit® E100 é um polímero de revestimento pH dependente, na qual o processo de dissolução deste revestimento só ocorre em pH ácido. Já os polímeros Kollicoat® IR e Opadry® TM são polímeros de dissolução independente de pH.

Os resultados indicam coerência mostrando uma semelhança nos perfis entre os polímeros Kollicoat® IR e Opadry® TM. Já o perfil do polímero Eudragit® E100 apresenta perfil diferente entre os demais revestimentos.

3.3. Medidas Magnéticas

O próximo passo é avaliar as propriedades físicas do processo de desintegração do fármaco, já que não é possível observar no ensaio de dissolução, pois ela oferece informações do processo físico-químico do processo de desintegração. Para avaliar as propriedades físicas *in vitro* do processo de desintegração, os comprimidos revestidos foram submetidos ao teste com a BAC. Os principais parâmetros de interesse para avaliar o processo de desintegração são: tempo de dissolução do revestimento (TDR) e tempo de desintegração (TD) da FFS.

Na figura 9 ilustra a posição que os comprimidos foram inseridos para o teste com a BAC. Os comprimidos foram posicionados entre dos sensores 1 e 5 no sentido vertical, e entre os sensores 4 e 6 no sentido horizontal. Ter a informação da posição do comprimido no sistema BAC é importante para a interpretação dos sinais adquiridos.

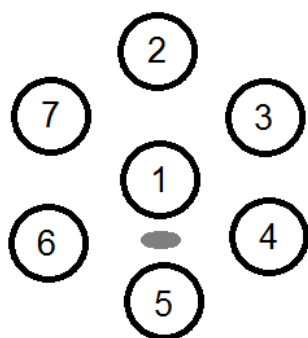


Figura 9: Diagrama ilustrativo do posicionamento do comprimido no sistema de medida BAC. O comprimido é a elipse cinza.

Na figura 10 podemos avaliar o comportamento da FFS durante os processos de dissolução do revestimento e desintegração da FFS através da intensidade do sinal magnético em função do tempo.

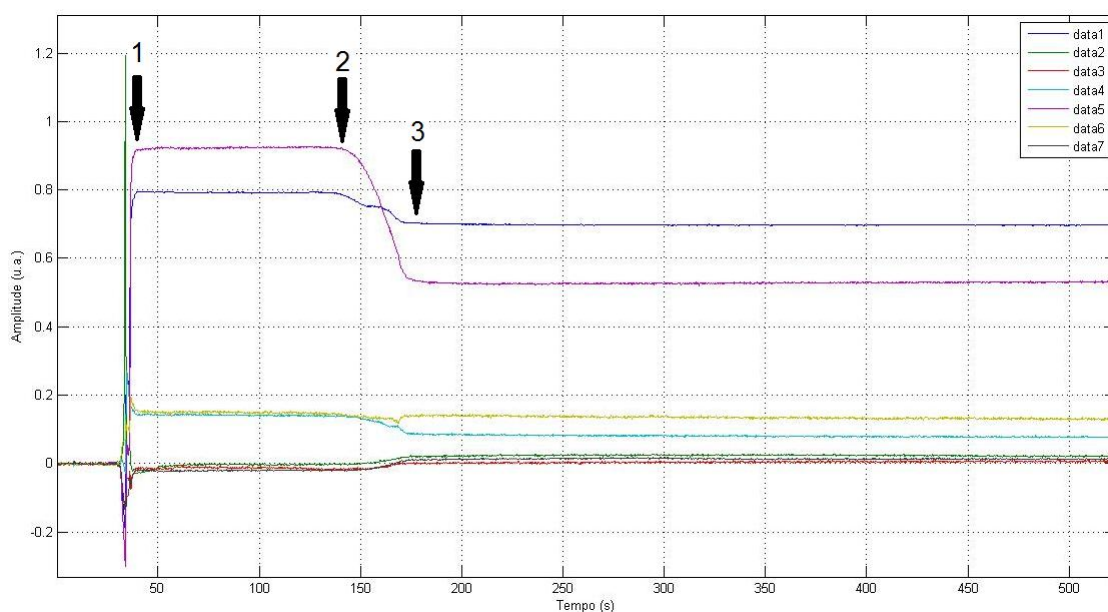


Figura 10: Sinal adquirido do comprimido revestidos avaliado no sistema BAC em função do tempo (s). As setas indicam o início e o final dos processos de dissolução do revestimento e desintegração da FFS.

No início existe um período basal na qual a intensidade do sinal é nula, pois o comprimido não está dentro do sistema. No tempo que há um pico da intensidade é o instante que a FFS entra no sistema de medida. A seta 1 indica o início da dissolução do

revestimento, pois a partir deste tempo até o local indicado com a seta 2 o sinal de todos os canais são constantes. Isso acontece porque o revestimento impede que a solução ácida entre em contato com o desintegrante que promove o processo de desintegração da FFS. Então o comprimido revestido é uma fonte pontual de sinal. Neste instante os canais 1 e 5 tem a maior intensidade porque o comprimido está localizado entre estes canais, porém o canal 1 está mais intenso pois a FFS está mais próxima dele do que o canal 5.

Os sinais de intensidade intermediária e iguais são os canais 4 e 6 indicando que a FFS está localizada entre estes canais, e exatamente no meio deles. Os canais 2, 3 e 7 têm as menores intensidades, já que a FFS está localizada mais distante destes.

A partir do instante indicado pela seta 2, notamos uma mudança da intensidade do sinal magnético em todos os canais. Nos canais 1, 4, 5 e 6 a intensidade do sinal magnético diminui (mais expressivo nos canais 1 e 5, já que o comprimido está localizada mais próximo) indicando que a FFS iniciou um processo de desintegração. A intensidade do sinal magnético dos canais 2, 3 e 7 aumenta, indicando que a FFS está ganhando volume, portanto, aproximando destes canais.

O processo de desintegração finaliza a partir do tempo indicado na seta 3, na qual os tempos posteriores a intensidade do sinal magnético é constante e não tem alteração dentro do sistema. Assim é possível analisar o comportamento do processo de dissolução de revestimento, calculado pela diferença dos tempos na seta 1 e 2, na qual é bem evidente o sinal constante e desintegração a partir da diferença do tempo entre as setas 2 e 3 na qual o sinal sobre mudança até um estado que o sinal fica constante, indicando o final do processo de desintegração.

O TDR e TD de cada polímero de revestimento com suas variações estão na tabela 6. Estes valores são tempos médios acompanhados com seus respectivos desvios médios.

Tabela 6: Valores de TDR e TD dos diferentes tipos de polímeros.

Polímero	TDR(s)	TD(s)
Eudragit	77 ± 11 (b)	36 ± 11 (a)
Kollicoat	36 ± 4 (a)	27 ± 2 (a)
Opadry	39 ± 5 (a)	38 ± 7 (a)
	p < 0,01**	p > 0,05ns

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < 0,01)
ns não significativo (p >= 0,05)

O valor de TDR do Eudragit® E100 teve um valor superior em relação aos demais polímeros. Isto era esperado, pois no ensaio do dissolutor pode-se observar a diferença entre os perfis de dissolução. Já comparando o TRD dos polímeros Kollicoat® IR e Opadry® TM foram muito próximos mostrando que as características destes polímeros de revestimento são semelhantes.

Sabe-se que o polímero de revestimento Eudragit® E100 é pH dependente e necessita de uma reação de interação com o meio para sofrer o processo de dissolução. Devido a esta interação com o meio é de se esperar que o TDR deste polímero seja maior, e diferente com relação aos demais polímeros que não são pH dependentes.

Em relação aos valores encontrados de TD pode-se observar uma semelhança nos valores de todos os comprimidos revestidos. Isto é esperado, porque todos os comprimidos são da mesma formulação C2. Após a completa dissolução do revestimento o desintegrante entra em ação e o processo de desintegração é o mesmo para todas as FFS.

Para avaliar a significância das diferenças foi realizada uma análise estatística t-student. Uma diferença estatística significativa ($p < 0,01$) foi encontrada entre o Eudragit® E100 com os outros dois polímeros. No TD não obteve diferença estatística significativa indicando que o processo de desintegração é o mesmo para todos os comprimidos.

4. Conclusão

Comprimidos magnéticos de metronidazol foram satisfatoriamente obtidos e caracterizados quanto ao perfil farmacotécnico, com boas propriedades de peso médio, dureza, friabilidade e desintegração. A formulação selecionada para revestimento e posteriormente utilizada nos teste no dissolutor e BAC, foram com 4% de desintegrante e força de compressão de 30kN, pois apresentaram desintegração mais rápida e o perfil de dissolução do fármaco mais satisfatório.

Os resultados dos testes de dissolução e sistema BAC tiveram resultados coerentes conforme esperado pois foram capazes de identificar o comportamento dos comprimidos revestidos; nota-se que o revestimento atrasa a oferta do fármaco na solução ácida, ou seja, interfere no processo de desintegração do comprimido.

O ensaio de dissolução mostrou-se eficaz, pois foi possível distinguir diferença entre os perfis de dissolução do Eudragit® E100 em relação aos demais polímeros. E os perfis de liberação do Kollicoat® IR e Opadry® TM foram semelhantes e com diferenças sem significância.

Os resultados das medidas no sistema com a BAC foram satisfatórios, pois no sinal magnético em função do tempo são evidentes os estágios em que a FFS entra no processo de dissolução do revestimento, desintegração do comprimido e final dos processos. As medidas magnéticas foram capazes de identificar a partir do TDR obtido que o polímero de revestimento Eudragit® E100 foi maior em relação aos demais polímeros, devido a sua característica de pH dependente.

Ao estabelecer uma relação entre medida biomagnética e suas relações com os parâmetros farmacocinéticos *in vitro*, podemos consolidar a BAC como um novo método para avaliação na área farmacêutica, já que a positividade nesta relação trará importantes consequências para a técnica biomagnética no sentido de ser empregada em futuros trabalhos visando aferições da qualidade da forma farmacêutica.

5. Referências

- AMÉRICO, M.F., OLIVEIRA, R.B., ROMEIRO, F.G., BAFFA, O., CORÁ, L.A., MIRANDA, J.R.A. Scintigraphic validation of AC Biosusceptometry to study the gastric motor activity and the intragastric distribution of food in humans. *Neurogastroenterol. Motil.*, v.19, p.804-811, 2007.
- AMÉRICO, M.F.; MIRANDA, J. R.A.; CORÁ, L.A.; ROMEIRO, F.G. Electrical and mechanical effects of hyoscine butylbromide on the human stomach: a non-invasive approach. *Physiol. Meas.*, v. 30, p. 363-370, 2009.
- ANSEL, H.C., POPOVICH, N.G., ALLEN, L.V. Formas farmacêuticas: considerações biofarmacêuticas. *Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos*. São Paulo: Editorial Premier, 2000. 568 p.
- BAFFA, O., OLIVEIRA, R.B., MIRANDA, J.R.A., TRONCON, L.E.A. Analysis and development of AC biosusceptometer for oro-caecal transit time measurements. *Med. Biol. Eng. Comput.*, v.33, p.353-357, 1995.
- BAFFA, O.; CORÁ, L.A.; AMÉRICO, M.F.; FONSECA, P.R.; OLIVEIRA, R.B.; MIRANDA, J.R.A. Magnetic images of pharmaceutical dosage forms in the human

gastrointestinal tract. In: Proceedings of IEEE, Engineering in Medicine and Biology, Shanghai, China, September 1-4, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Relação Nacional de Medicamentos Essenciais – RENAME. Brasília, 2002. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/essencial.htm>. Acesso em: 12 jan. 2002.

CATELLANI, P.L. et al. Tablet water uptake and disintegration force measurements, *Int. J. Pharm.*, v. 51, p. 63-66, 1989.

CORÁ, L.A., AMÉRICO, M.F., OLIVEIRA, R.B., BAFFA, O., MORAES, R., ROMEIRO, F.G., MIRANDA, J.R.A. Disintegration of magnetic tablets in human stomach evaluated by alternate current Biosusceptometry. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v.56, p.413-420, 2003.

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. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v.57, p.1223-1241, 2005a.

CORÁ, L.A., ANDREIS, U., ROMEIRO, F.G., AMÉRICO, M.F., OLIVEIRA, R.B., BAFFA, O., MIRANDA, J.R.A. Magnetic images of the disintegration process of tablets in the human stomach by AC Biosusceptometry. *Phys. Med. Biol.*, v.50, p.5523–5534, 2005b.

CORÁ, L.A., ROMEIRO, F.G., STELZER, M., AMÉRICO, M.F., OLIVEIRA, R.B., BAFFA, O., STELZER, M., MIRANDA, J.R.A. Gastrointestinal transit and disintegration of enteric coated magnetic tablets assessed by AC Biosusceptometry. *Eur. J. Pharm. Sci.*, v.27, p.1-8, 2006a.

CORÁ, L.A., ROMEIRO, F.G., PAIXÃO, F.C., AMÉRICO, M.F., OLIVEIRA, R.B., BAFFA, O., MIRANDA, J.R.A. Enteric coated magnetic HPMC capsules evaluated in

human gastrointestinal tract by AC Biosusceptometry. *Pharm. Res.*, v.23, p.1809-1816, 2006b.

CORÁ; L.A., FONSECA; P.R., AMÉRICO; M.A., 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.; AMÉRICO, M.F.; ROMEIRO, F.G.; OLIVEIRA, R.B.; MIRANDA, J.R.A.; Pharmaceutical applications of AC Biosusceptometry. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.74, p. 67-77, 2010.

DEMIRTÜRK; E., ÖNER; L. In vitro-in vivo correlations. *FABAD J. Pharm. Sci.*, v.28, p.215-224, 2003.

EMAMI, J.; GHASSAMI, N.; AHMADI, F. Development and validation of a new HPLC method for determination of lamotrigine and related compounds in tablet formulations. *Journal of Pharmaceutics and Biomedical Analysis*, v. 40, p. 999-1005, 2006.

GHIMIRE, M.; HODGES, L.A.; BAND, J.; O'MAHONY, B.; MCLNNES, F.J.; MULLEN, A.B.; STEVENS, H.N.E. In-vitro and in-vivo erosion profiles of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) matrix tablets. *Journal of Controlled Release*, v. 147, p. 70-75, 2010.

KEES, F., JEHNICH, D., GROBECKER, H., Simultaneous determination of acetylsalicylic acid and salicylic acid in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, v. 677, p. 172-177, 1996.

KHAN, K. A . The concept of dissolution efficiency. *J. Pharm. Pharmacol.*, v.27, p.48-49, 1975.

McCONNELL, E.L.; SHORT, M.D.; BASIT, A.W. An in vivo comparison of intestinal Ph and bacteria as physiological trigger mechanisms for colonic targeting in man, *J. Control. Release* v. 130, p. 154–160, 2008.

MELIA, C.D.; DAVIS, S.S. Review article: mechanisms of drug release from tablets and capsules .I: disintegration. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, v.3, p.223-232,1989.

MIRANDA, J.R.A. Disintegration of magnetic tablets in human stomach evaluated by alternate current Biosusceptometry. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v.56, p.413–420, 2003.

MIRANDA, J. R.A.; CORÁ, L.A.; AMÉRICO, M. F.; ROMEIRO, F.G. AC Biosusceptometry Technique to Evaluate the Gastrointestinal Transit of Pellets under Influence of Prandial State. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 99, p. 317-324, 2010.

MOORE; J. W., FLANNER; H. H. Mathematical comparison of dissolution profiles. *Pharm. Tech.*, v.20, p.64-74, 1996.

PERIOLI, L.; D'ALBA, G.; PAGANO, C. New oral solid dosage form for furosemide oral administration, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2012.

PIROLA, R., BAREGGI, S.R., De BENEDITTIS, G. Determination of acetylsalicylic acid and salicylic acid in skin and plasma by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, v. 705, p. 309-315, 1998.

QIU, Y. Chapter 17 - In Vitro–In Vivo Correlations: Fundamentals, Development Considerations, and Applications. *Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory and Prattice*, p. 379-406, 2009.

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.

SANDADIS, S.; PANDEY, P.; TURTON, R. In situ, near real-time acquisition of particle motion in rotating pan coating equipment using imaging techniques. Chemical engineering science, v. 59, p. 5807-5817, 2004.

SASTRY, S.V.; NYSHADHAM, J.R.; FIX, J.A. Recent technological advances in oral drug delivery. Pharm. Sci. Tech. Today ,v.3, p.138-145, 2000.

SMOUT, A.J.P.M., MUNDT, M.W. Gastrointestinal motility testing. Best practice & Research Clinical Gastroenterology, v. 23, p. 287-298, 2009.

WEITSCHIES, W.; KOSCH, O.; MÖNNIKES, H.; TRAHMS, L. Magnetic Marker Monitoring: An application of biomagnetic measurement instrumentation and principles for the determination of the gastrointestinal behavior of magnetically marked solid dosage forms. Advanced Drug Delivery Reviews, v. 57, p. 1210-1222, 2005.

YAZDANIAN, M.; BRIGGS, K.; JANKOVSKY, C.; HAWI, A. The “high Solubility” Definition of the Current FDA Guidance on Biopharmaceutical Classification System May Be Too Strict for Acidic Drugs. Pharmaceutical Research, v. 21, p. 293-299, 2003.