

DEIVID WILLIAM PIRES

**Influência do Omeprazol sobre Processos de Dissolução e
Desintegração Gástrica de Comprimidos pH-dependente**

Tese de Doutorado

BOTUCATU-SP

2020

Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia
Distrito de Rubião Júnior s/n CEP 18618-970 Cx Postal 510 Botucatu-SP Brasil
Tel (14) 3880-0780 posgraduacao@ibb.unesp.br



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Botucatu

DEIVID WILLIAM PIRES

**Influência do Omeprazol sobre Processos de Dissolução e
Desintegração Gástrica de Comprimidos pH-dependente**

Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Farmacologia e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Titular José Ricardo de Arruda Miranda

Co-Orientador: Prof^a Dr^a. Luciana Aparecida Corá

**BOTUCATU – SP
2020**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Pires, Deivid William.

Influência do omeprazol sobre processos de dissolução e
desintegração gástrica de comprimidos pH-dependente / Deivid
William Pires. - Botucatu, 2020

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de
Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: José Ricardo de Arruda Miranda

Coorientador: Luciana Aparecida Corá

Capes: 20900007

1. Biosusceptometria de Corrente Alternada. 2. Comprimidos
com revestimento entérico. 3. Farmacocinética. 4. Inibidores da
bomba de prótons.

Palavras-chave: Biosusceptometria AC; Comprimido revestido;
Eudragit E-100; Inibidor de Bomba de Próton; Magnetofarmacocinética.

Deivid William Pires

**Influência do Omeprazol sobre Processos de Dissolução e Desintegração
Gástrica de Comprimidos pH-dependente**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor em Farmacologia e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Titular José Ricardo de Arruda Miranda

Co-Orientadora: Prof^a Dr^a Luciana Aparecida Corá

Comissão examinadora

Prof. Titular José Ricardo de Arruda Miranda

Universidade: Instituto de Biociências de Botucatu-UNESP

Prof. Titular Luiz C. Di Stasi

Universidade: Instituto de Biociências de Botucatu-UNESP

Prof^a. Adj. Dr^a Clélia Akiko Hiruma Lima

Universidade: Instituto de Biociências de Botucatu-UNESP

Prof^a. Dr^a Cristina Helena dos Reis Serra

Universidade: Faculdade de Ciências Farmacêuticas (USP)

Prof^a. Dr^a Priscileila Colerato Ferrari

Universidade: Universidade Estadual de Ponta Grossa

Botucatu, _____ de _____ de _____.

A mulher que decidir ser tudo a ela

Nathalia de Lima Silva

E a minha amada Família

Itamar Pires

Jacinta Fernandes Pires

Deise Cristina Pires

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Titular José Ricardo de Arruda Miranda, pela orientação que me incentivou no caminho do conhecimento científico e formação acadêmica, pelo respeito profissional e por sua grande amizade.

Ao Prof^ª. Dr^ª. Luciana Aparecida Corá, pela co-orientação durante este período de doutorado, que me ajudou com todo conhecimento técnico e científico, profissional.

Ao Instituto de Biociências de Botucatu e em especial ao Programa de Pós-graduação de Farmacologia e Biotecnologia, que me ofereceram o espaço e toda formação acadêmico e científico.

Ao Laboratório de Biomagnetismo e Laboratório de Física Aplicada ao Radiodiagnóstico, assim como toda a equipe que me ofereceu o espaço físico e ajuda durante este período de desenvolvimento de minha pesquisa e formação acadêmica.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES)- Código de Financiamento 001.

E um agradecimento especial a Nathalia de Lima Silva, grande amiga, noiva, e futura esposa, que me acompanhou durante todo este período de formação, me dando força e inspiração para ir até o fim.

“Um pouco de ciência nos afasta de Deus. Muito, nos aproxima.”

Louis Pasteur

Resumo

A via oral de administração de fármacos é a mais utilizada devido a maior aceitação pelo paciente e sua fácil administração. Dentre as estratégias de sistema de liberação de fármacos estão os comprimidos revestidos com polímero pH-dependente, da qual o Eudragit E-100 é um polímero de revestimento protetor solúvel em pH <5, utilizado em formas farmacêuticas sólidas para liberação do fármaco no ambiente gástrico. Para que ocorra a liberação do fármaco é necessário que o comprimido revestido passe por processos que antecedem a absorção, tal como a dissolução do revestimento e desintegração. Sendo assim, se ocorrer mudanças no pH fisiológico o processo de dissolução do revestimento gastrossolúvel pode ser comprometido e consequentemente alterar a biodisponibilidade do fármaco. Diante deste cenário, é de grande importância realizar pesquisas que explorem a influencia do aumento do pH gástrico na biodisponibilidade de um fármaco, contido em comprimido com revestimento pH-dependente administrado concomitantemente. Nesta proposta consiste em empregar a Magnetofarmacocinética (MgPK) para avaliar a influencia da alteração do pH gástrico provocado pelo tratamento com omeprazol no processo de liberação de um fármaco modelo administrado pela via oral em comprimidos revestidos com Eudragit® E-100. Foi produzido um lote de comprimidos magnéticos revestidos com Eudragit® E -100 contendo 500 mg de ferrita e 100 mg de metronidazol. O lote foi avaliado através de testes farmacotécnicos e avaliados segundo o perfil de dissolução. Para os experimentos *in vivo*, cada voluntário foi submetido a duas fases de estudos (placebo e omeprazol), em dias distintos, para avaliar a biodisponibilidade do metronidazol. Os sistemas BAC multissensor e monossensor foram empregados para a avaliação em tempo real *in vivo* o processo de desintegração do comprimido e avaliar os parâmetros de início da desintegração ou tempo de retenção. As curvas do perfil de dissolução do Metronidazol em função do tempo demonstram um deslocamento à direita no eixo do tempo, na medida em que o pH da solução aumenta. Ao analisar os parâmetros farmacotécnicos observa-se que em pH 4,5 e pH 6,0 ocorreu um atraso na dissolução do Metronidazol, mostrando que o aumento do pH interfere nos processos de liberação de comprimidos revestidos com Eudragit® E-100. Nos ensaios *in vitro* com o sistema BAC, na medida em que o pH do meio de dissolução aumenta, o tempo necessário para

dissolver o revestimento aumenta, confirmando que a dissolução do polímero de revestimento utilizado neste estudo é dependente do pH. Nas medidas magnéticas realizadas nos voluntários, foi possível identificar dois perfis distintos: um grupo de participantes ($n = 5$) nos quais não foi possível caracterizar o processo de desintegração no tratamento com omeprazol, e outro grupo ($n = 7$) nos quais o processo foi quantificado. Para os participantes elencados no grupo I ($n=5$), os parâmetros farmacocinéticos obtidos após a administração do omeprazol foram nulos, ou seja, não foi possível obter o perfil de concentração plasmática do metronidazol. Por outro lado, nos participantes elencados no grupo 2 ($n=7$), foi possível obter valores de t_{lag} , t_{max} e Início da Desintegração com diferenças significativas, indicando um possível atraso na liberação do fármaco. A abordagem magnetofarmacocinética (MgPK) empregada neste estudo, de forma inédita, contribui para avaliar criticamente o comportamento de uma forma farmacêutica sólida frente a um meio complexo como o TGI do homem.

Palavra-Chave: Biosusceptometria AC, Comprimido revestido, Eudragit E-100, Inibidor de Bomba de Próton, Magnetofarmacocinética

Abstract

The oral route of drug administration is the most used due to the greater acceptance by the patient and its easy administration. Among the drug delivery system strategies are tablets coated with pH-dependent polymer, which aim to improve the stability of the drug, mask taste and odor. Eudragit E-100 is a protective coating polymer soluble at pH <5, used in solid dosage forms to release the drug into the gastric environment. For the drug to release, it is necessary that the coated tablet undergo processes that precede absorption, such as the dissolution of the coating and disintegration. Therefore, if changes in physiological pH occur, the dissolution process of the gas-soluble coating may be compromised and consequently change the bioavailability of the drug. In view of this scenario, it is of great importance to conduct research that explores the influence of the increase in gastric pH on the bioavailability of a drug, contained in a tablet with a pH-dependent coating administered concomitantly. In this proposal, it consists of using Magnetopharmacokinetics (MgPK) to evaluate the influence of gastric pH changes caused by treatment with omeprazole in the process of releasing a model drug administered orally in tablets coated with Eudragit® E-100. Batch of magnetic tablets coated with Eudragit® E-100 containing 100 mg of metronidazole was produced. The batch was evaluated through pharmacotechnical tests and evaluated according to the dissolution profile. For in vivo experiments, each volunteer underwent two phases of study (placebo and omeprazole), on different days, to assess the bioavailability of metronidazole. The multisensor and monosensor BAC systems were used for the real time in vivo evaluation of the tablet disintegration process and to evaluate the parameters of onset of disintegration or retention time. The batch of magnetic tablets containing ferrite and Metronidazole was approved in all quality control tests. The curves of the dissolution profile of Metronidazole as a function of time show a shift to the right on the time axis, as the pH of the solution increases. When analyzing the pharmacotechnical parameters, it is observed that at pH 4.5 and pH 6.0 there was a delay in the dissolution of Metronidazole, showing that the pH increase interferes in the release processes of the solid pharmaceutical form coated with Eudragit® E-100. In in vitro tests with the BAC system, as the pH of the dissolution medium increases, the time required to dissolve the coating increases, confirming that the dissolution of the coating polymer used in this study is dependent on pH. In the magnetic measurements performed on the volunteers, it was possible to identify two distinct profiles: a group of

participants ($n = 5$) in whom it was not possible to characterize the disintegration process in the treatment with omeprazole, and another group ($n = 7$) in which the process has been quantified. For the participants listed in group I ($n = 5$), the pharmacokinetic parameters obtained after the administration of omeprazole were null, that, it was not possible to obtain the plasma concentration profile of metronidazole. On the other hand, in the participants listed in group 2 ($n = 7$), it was possible to obtain values of t_{lag} , t_{max} and start of disintegration with significant differences, indicating a possible delay in the release of the drug. The magnetopharmacokinetic approach (MgPK) used in this study, in an unprecedented way, contributes to critically evaluate the behavior of a solid pharmaceutical form in face of a complex environment such as the human TGI.

Keyword: AC Biosusceptometry, Coated tablet, Eudragit E-100, Proton Pump Inhibitor, Magnetopharmacokinetics

Sumário

1.	Introdução	14
2.	Objetivos.....	19
2.1.	Geral	19
2.2.	Específicos	19
3.	Materiais e Métodos	20
3.1.	Materiais	20
3.2.	Equipamentos	21
3.3.	Comprimidos Magnéticos Revestidos	22
3.4.	Ensaio in vitro	24
3.4.1.	Desintegração	24
3.4.2.	Dissolução.....	24
3.5.	Medidas magnéticas.....	25
3.5.1.	Ensaio <i>in vitro</i>	25
3.5.2.	Ensaio <i>in vivo</i>	26
3.5.3.	Ensaio de biodisponibilidade	28
3.6.	Análise dos dados	29
4.	Resultados e Discussão.....	32
4.1.	Comprimidos Magnéticos e Ensaio Farmacotécnicos de Controle de Qualidade	32
4.2.	Processo de Revestimento dos Comprimidos Magnéticos	34
4.3.	Estudo do Perfil de Dissolução (Aparato USP II) em diferentes valores de pH	35
4.3.1.	Pico de absorção máxima do Metronidazol na região do ultravioleta	35
4.3.2.	Curva de Calibração do Metronidazol em soluções de diferentes pHs	36
4.3.3.	Perfil de Dissolução do Metronidazol em Soluções de Diferentes pH.....	38
4.4.	Medidas Magnéticas in vitro	42
4.5.	Ensaio in vivo - Efeito do Tratamento por Omeprazol na Biodisponibilidade.....	49
4.6.	Análise Magnetofarmacocinética.....	55
4.6.1.	Monitoramento com Sistema BAC Multissensor e Monossensor	55
4.6.2.	Magnetofarmacocinética do Tratamento com Placebo	63
4.6.3.	Magnetofarmacocinética do Tratamento com Omeprazol.....	65
5.	Conclusão	67
6.	Referências	68
	Anexos.....	74

Anexo 1	75
Comprimidos Magnéticos.....	75
Anexo 2	81
Testes Farmacotécnicos	81
Anexo 3	89
Revestimento.....	89
Anexo 4	94
Preparo das soluções tampão de dissolução	94
Anexo 5	97
Método de Análise das Curvas de Dissolução	97
Anexo 6	99
Ensaio in vivo.....	99
Anexo 7	104
Estudo Farmacocinético da Biodisponibilidade do Metronidazol	104
Anexo 8	107
Princípios Básicos da Suseptibilidade Magnética	107

1. Introdução

A máxima atividade farmacológica, alinhada com o mínimo efeito adverso, são os principais objetivos pretendidos durante o tratamento de uma doença. Neste contexto, o alvo da indústria farmacêutica tem sido o desenvolvimento de novas formulações visando a uma terapia efetiva (CHONG LI *et. al.*, 2019).

Forma farmacêutica, excipientes e propriedades físico-químicas do fármaco são aspectos relevantes que precisam ser considerados durante o desenvolvimento da formulação ou do sistema de liberação do fármaco (ALLEN JR *et. al.*, 2007; DARJI, 2018), pois estes impactam diretamente na eficácia terapêutica. Além disso, a escolha da via de administração é outro fator importante, uma vez que o fármaco deve ter biodisponibilidade adequada para o efeito desejado.

Dentre as vias disponíveis, a via oral é a mais utilizada para administração de fármacos, por ser um método geralmente mais seguro, conveniente e econômico. Sendo assim, é um alvo de grande interesse da indústria farmacêutica, que se empenha fortemente no desenvolvimento de formulações que objetivam otimizar a absorção de fármacos no trato gastrointestinal (TGI) (PEIN, 2014; KOZAREWICZ, 2014; KOZIOLEK *et. al.*, 2016).

E se tratando da administração oral de fármacos, as formas farmacêuticas sólidas, principalmente os comprimidos e cápsulas, são amplamente utilizadas devido à comodidade, facilidade de estabelecer esquemas terapêuticos relativamente fáceis para os pacientes, alta estabilidade, grande precisão na administração de doses pequenas de fármaco, menor custo e por ser uma via indolor (SASTRY *et. al.*, 2000; DEBOTTON *et. al.*, 2017).

Comprimidos são formas farmacêuticas sólidas, obtidos por distintos processos, com o objetivo de proporcionar a liberação imediata do fármaco ou promover a liberação em locais específicos de acordo com variações de pH ao longo do TGI, por meio do revestimento com polímeros pH-dependentes (CORÁ *et. al.*, 2008; McCONNELL *et. al.*, 2008; RONCHI, 2019; WEITSCHIES *et al*, 2019).

É reconhecido que o pH influencia, direta ou indiretamente, o processo de dissolução de polímeros pH-dependentes. Assim, este parâmetro tem consequências na liberação e absorção do fármaco, com implicações significativas na biodisponibilidade de fármacos administrados pela via oral (NIRANJAN, 2017). Isto é particularmente importante na farmacocinética, visto que a biodisponibilidade é um processo fundamental para determinar a exposição sistêmica do fármaco administrado (HUANBUTTA, 2019).

A concentração do fármaco no fluido gastrointestinal, bem como sua permeabilidade pela mucosa, determina a velocidade e a extensão de absorção do fármaco administrado pela via oral (AUGUSTIJINS *et. al.*, 2014). Portanto, é fundamental avaliar os mecanismos de liberação do fármaco, bem como possíveis alterações neste processo provocadas por alterações do pH meio gástrico, pois estes processos influenciam a extensão da absorção (SVITLANA, 2019; MADERUELO, 2019).

São diversos os fatores que podem modificar o pH do ambiente gástrico, especialmente aqueles relacionados à co-administração de fármacos tais como inibidores da bomba de prótons (IBPs). IBPs constituem uma classe de medicamentos que atuam reduzindo a secreção ácida por inibição irreversível da H^+K^+ -ATPase na célula parietal gástrica (RONCHI, 2019), sendo o omeprazol o fármaco mais

frequentemente prescrito (BELLIA, 2020). Neste contexto, possíveis interações entre uma forma farmacêutica sólida revestida e o ambiente gástrico alterado, devido à co-administração de omeprazol merecem ser exploradas (RONCHI, 2019).

Estudos demonstram que a co-administração de Omeprazol com outros fármacos modifica os parâmetros farmacocinéticos, como absorção, biodisponibilidade, distribuição e/ou metabolismo (PEPIN, 2019; DOROFEEVA, 2019; JONG, 2018; TAO, 2018; ARMAS, 2018; ABDELHEDI, 2018). Estes estudos são importantes, já que o Omeprazol está entre as classes mais prescritas de fármacos em todo o mundo, com um uso excessivo, tanto a nível comunitário quanto hospitalar (MULLIN *et. al.*, 2009; MELI *et. al.*, 2015).

Este cenário evidencia a necessidade de investigar as consequências das alterações do pH gástrico nos processos de liberação do fármaco. Já que isto pode interferir na biodisponibilidade de outro fármaco co-administrado, especialmente quando formas farmacêuticas sólidas com revestimento pH-dependente são utilizadas (KOSTRZEWSKA, 2017).

Dentre os produtos disponíveis para o revestimento de formas farmacêuticas sólidas, destaque para os copolímeros do ácido metacrílico, que são amplamente utilizados pela indústria. Eudragit® E-100 (Evonik, Alemanha) é um polímero que apresenta algumas características interessantes como gastrossolubilidade e pH-dependência, que são exploradas a fim de garantir a estabilidade da formulação e permitir a liberação imediata do fármaco no meio gástrico (FAROOQ, 2017).

Diversos medicamentos comercializados são comprimidos revestidos com Eudragit® E-100 como o Equitam®, Facyl® 500, Ulcoren®, Reforgan®, Claritromicina®, Torval® CR, Furp-Metildopa®, Furp-Hioscina® e Neosaldor®. Este polímero na sua

forma protonada, é solúvel em solventes orgânicos e meios aquosos com valores de pH até próximos de 5. Como o pH do estômago humano, em jejum, apresenta valores entre 1,7 a 3,3, o Eudragit[®] E-100 é solúvel nos fluidos gástricos, promovendo assim a liberação do fármaco. Porém se este medicamento revestido for co-administrado com o Omeprazol, este pode ter a liberação do fármaco comprometida e, por consequência, ter a biodisponibilidade alterada.

Apesar dos ensaios *in vitro* realizados durante o desenvolvimento da formulação serem bastante efetivos, os ensaios *in vivo* são fundamentais para avaliar o comportamento da forma farmacêutica em um meio tão complexo quanto o trato gastrointestinal humano. Neste contexto, métodos não invasivos podem contribuir substancialmente na análise dos processos que envolvem desde a liberação do fármaco até sua concentração plasmática. Tais métodos devem não interferir com a fisiologia do órgão e serem capazes de monitorar a forma farmacêutica durante seu trajeto ao longo do TGI. Além de associar estes métodos a ensaios farmacocinéticos, que são necessários para quantificar a biodisponibilidade do fármaco.

A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) é uma técnica biomagnética que foi estabelecida como um método alternativo na pesquisa farmacêutica para avaliar o comportamento de formas farmacêuticas sólidas *in vitro*, como uma ferramenta auxiliar ao controle da qualidade e, *in vivo*, como um método de monitoramento durante o trajeto ao longo dos diferentes segmentos do TGI (CORÁ *et al.*, 2008). Além disso, foi possível obter imagens magnéticas para caracterizar o processo de desintegração de formas farmacêuticas sólidas, implementando um novo conceito em imagens dos sistemas biológicos (CORÁ *et al.*, 2005b).

Mais recentemente, a BAC foi proposta em associação com a farmacocinética, em uma abordagem denominada Magnetofarmacocinética (MgPK), que consiste em relacionar os parâmetros referentes ao monitoramento magnético da forma farmacêutica com os parâmetros farmacocinéticos e biodisponibilidade do fármaco (FERRARI *et al.*, 2014; PIRES, 2016; GROSSKLAUS, 2016).

Diante do exposto, essa proposta consiste em empregar a Magnetofarmacocinética (MgPK) para avaliar a influencia da alteração do pH gástrico provocado pelo tratamento com omeprazol no processo de liberação de um fármaco modelo administrado pela via oral em comprimidos revestidos com Eudragit® E-100.

2. Objetivos

2.1. Geral

Empregar a Biosusceptometria AC associada a métodos analíticos padrão para avaliar *in vitro* e *in vivo* se a alteração do pH gástrico provocado pelo omeprazol influencia a liberação e a biodisponibilidade de um fármaco modelo (metronidazol) administrado em comprimidos revestidos com Eudragit[®] E-100.

2.2. Específicos

- Avaliar *in vitro* a influencia do pH do meio na dissolução do revestimento e na liberação do metronidazol contido em comprimidos revestidos com Eudragit[®] E-100;
- Avaliar *in vitro*, com o auxílio da Biosusceptometria de corrente alternada (BAC), o tempo de dissolução do revestimento (TDR) de comprimidos revestidos com Eudragit[®] E-100 em diferentes pH, simulando a administração de Omeprazol.
- Obter em voluntários hígidos tratados com omeprazol, os parâmetros farmacocinéticos para quantificar a biodisponibilidade do metronidazol;
- Avaliar em voluntários hígidos tratados com omeprazol, os processos de desintegração e liberação do fármaco através de monitoramento via sistema BAC multissensor e monossensor;
- Realizar a Magnetofarmacocinética, correlacionando tempos de desintegração e/ou dissolução do revestimento com absorção sérica.

3. Materiais e Métodos

3.1. *Materiais*

- Acetonitrila (Tedia, Rio de Janeiro, Brasil)
- Metanol (Tedia, Rio de Janeiro, Brasil)
- Ácido acético glacial (Sigma, São Paulo, Brasil)
- Celulose microcristalina (Cruz Vermelha, São Paulo, Brasil)
- Estearato de magnésio (Cruz Vermelha, São Paulo, Brasil)
- Ferrita - $\text{MnZnFe}_2\text{O}_3$; 53-75 μm (Br4Science, Brasil)
- Explosol (Henrofarma, São Paulo, Brasil)
- Aerosil[®] Degussa GmbH (Evonik, São Paulo, Brasil)
- Metronidazol (Audaz, São Paulo, Brasil)
- Metronidazol Padrão (Sigma, São Paulo, Brasil)
- Omeprazol (Teuto, Goiás, Brasil)
- Polímero de revestimento Eudragit[®] E-100 (Evonik, São Paulo, Brasil)
- Álcool Etílico Absoluto (LS Chemicals, São Paulo, Brasil)
- Álcool Isopropílico (Dinâmica, São Paulo, Brasil)
- Acetona (Dinâmica, São Paulo, Brasil)
- Ácido Clorídrico (Dinâmica, São Paulo, Brasil)

3.2. Equipamentos

- Biosusceptômetro de Corrente Alternada (BAC) monosensor/multisensor 7 canais (Br4Science, Brasil)
- Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência – H-Class – UPLC Acquity® (Waters, EUA)
- Liofilizador (Labconco, modelo FreeZone 2.5, EUA)
- Prensa Manual MA-90 (Marconi, São Paulo, Brasil)
- Durômetro Dr. Schleuniger modelo 6D (Pharmatron, , EUA)
- Paquímetro Digital (Starrett, 799A-6, EUA)
- Balança Analítica Modelo XP 204 (Mettler Toledo, São Paulo, Brasil)
- Dissolutor (Nova Ética, São Paulo, Brasil)
- Friabilometro (Nova Ética, São Paulo, Brasil)
- pHmetro Seven Multi (Mettler Toledo, São Paulo, Brasil)
- Centrífuga Hermle Z 326 K (Labnet, Alemanha)

3.3. Comprimidos Magnéticos Revestidos

Os comprimidos magnéticos foram obtidos por compressão direta contendo ferrita (marcador magnético), metronidazol (fármaco modelo) e excipientes em prensa manual MA-90 (Marconi, São Paulo, Brasil) com um conjunto de matriz e punção de 12 mm utilizando-se força de compressão de 30 kN (Anexo 1) e revestidos por solução de polímero pH-dependente.

Todos os comprimidos produzidos foram armazenados em cartelas tipo blíster e mantidos em temperatura ambiente, livre de luz e umidade. Os comprimidos foram submetidos às análises de características físicas por meio de ensaios farmacotécnicos para determinar peso médio, dureza, friabilidade, desintegração e dissolução, de acordo com os parâmetros preconizados pela Farmacopéia Brasileira (2019) (Anexo 2).

A Tabela 1 mostra a formulação utilizada na obtenção dos comprimidos magnéticos.

Tabela 1: Composição dos comprimidos magnéticos.

Material	Fornecedor	(%)	g/dose
Ferrita (Fe_2MnO_4 ; $90 < \varnothing < 125 \mu\text{m}$)	Imag	50,00	0,500
Metronidazol	Audaz	10,00	0,100
Celulose Microcristalina	Blanver	30,00	0,300
Estearato de Magnésio	Henrifarma	1,00	0,010
Aerosil®	Evonik Degussa GmbH	5,00	0,050
Explosol	Blanver	4,00	0,040
TOTAL		100,00	1,000

A ferrita em pó é o material magnético que contém a característica de marcador magnético, pois possui uma alta resposta quando submetida a um campo magnético aplicado externamente, ou seja, alta susceptibilidade magnética, além de ser inerte e não ser absorvida pelo TGI (KUSHCHEVSKAYA, 1997).

Metronidazol é um fármaco derivado sintético do 5-nitromidazol e, de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), pertence à classe I, ou seja, fármaco com alta solubilidade e permeabilidade elevada (LIDENBERG *et al.*, 2004). Quando administrado por via oral na forma de comprimidos revestidos, sofre absorção no estômago e em segmentos proximais do intestino delgado, alcançando concentrações máximas na circulação em torno de 1 a 2 horas após a administração de uma dose de 500 mg (Farmacopeia Brasileira, vol. 2, 2019). Essas características foram essenciais para a escolha desse fármaco como marcador farmacocinético nesse trabalho.

Os comprimidos magnéticos foram revestidos por uma solução de com polímero pH dependente (Eudragit[®] E-100, Evonik, Brasil), em uma única etapa, pela técnica *spray-drying* sob condições padronizadas fornecidos pelo fabricante (Anexo 3), considerando-se um ganho de peso de 6 %. A Tabela 2 mostra a formulação calculada para um 1 kg de solução.

Tabela 02: Formulação para a solução de revestimento contendo polímero Eudragit[®] E-100. As quantidades são as proporções necessárias para a aplicação da solução em 1 kg de comprimidos.

Função	Ingrediente	Peso Total (g)	Substância seca (g)
Polímero	Eudragit [®] E-100	62,50	62,50
Plastificante	PEG 6000 33% aquoso	18,90	6,25
Anti-aderente	Talco	31,30	31,25
Solvente	Acetona	354,90	-
Solvente	Álcool Isopropílico	532,40	-
TOTAL		1000,00	100,00

3.4. Ensaios in vitro

3.4.1. Desintegração

O ensaio de desintegração foi realizado utilizando-se 6 comprimidos magnéticos em um aparato padrão (Nova Ética, São Paulo, Brasil), que consiste em um sistema de cestas e tubos imersos em uma solução de meio ácido simulado (HCl 0,1 N; pH = 1,2) em temperatura constante de 37°C ($\pm$ 1°C). A desintegração do comprimido é definida como o estado no qual nenhum resíduo permanece na tela metálica dos tubos (Farmacopeia Brasileira, 2019).

3.4.2. Dissolução

O ensaio de dissolução foi realizado em sextuplicata, em aparato USP II (método de pás), seguindo critérios estabelecidos pela Farmacopéia Brasileira (2019), sendo realizado para obter o perfil de liberação do metronidazol no meio gástrico simulado (pH=1,2; HCL 0,1N), sob velocidade de agitação de 50 rpm em equipamento padrão (Nova Ética, São Paulo, Brasil).

Alíquotas de 1,0 mL foram coletadas nos intervalos: 0 (controle), 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos, com reposição do meio, e analisados por espectroscopia UV em equipamento Ultrospec 2000 UV/Visible da Pharmacia Biotech em comprimento de onda de 277 nm.

Foram realizados ensaios de dissolução em comprimidos revestidos, com o objetivo de avaliar a influencia do pH do meio no processo. Para tanto, o mesmo aparato descrito anteriormente foi utilizado e soluções de pH com valores de 1,2; 2,0; 3,0; 4,5; e 6,0 foram utilizadas como meio simulado. O Anexo 4 mostra a composição dos meios utilizados nesta análise.

A concentração do fármaco nas amostras foi determinada pela espectrofotometria UV (Ultrospec 2000 UV/Visible, Pharmacia Biotech) com comprimento de onda de absorção máxima, conforme detalhado abaixo (item 4.3.1). A curva de calibração do metronidazol padrão (M3761-5G, Sigma-Aldrich-Brasil) foi obtida para todos os valores de pH das soluções simuladas (a análise das curvas detalhado no Anexo 5).

3.5. Medidas magnéticas

3.5.1. Ensaios *in vitro*

Os processos de dissolução do revestimento e desintegração dos comprimidos magnéticos revestidos foram avaliados *in vitro*, empregando-se o sistema BAC multissensores. As medidas foram realizadas em um recipiente retangular de vidro contendo 900 ml de meios de dissolução padronizados, conforme descritos anteriormente, com diferentes valores de pH e uma guia para inserção do comprimido magnético revestido, para permitir o correto posicionamento no recipiente.

O sistema BAC multisensores foi posicionado na face frontal do recipiente (Figura 1). O comprimido revestido foi inserido e os sinais foram registrados pelos sensores BAC continuamente, em tempo real, com frequência de aquisição de 20 Hz durante 30 minutos.

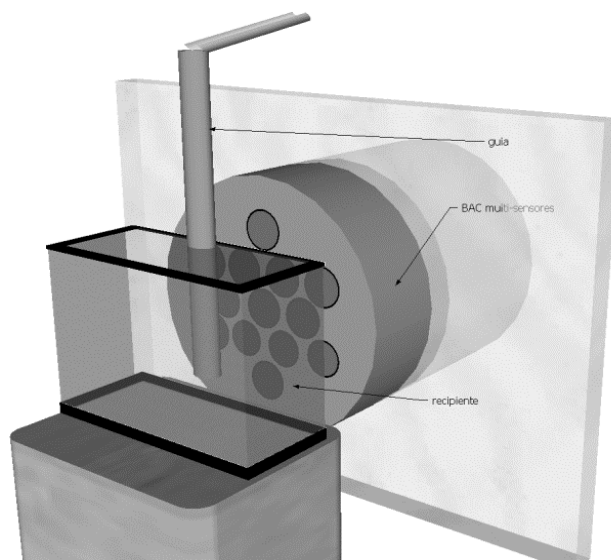


Figura 1: Aparato utilizado nas medidas magnéticas *in vitro*. Um comprimido magnético revestido foi inserido por um guia no vidro recipiente colocado em frente do sistema BAC multissensores, sendo os processos de dissolução do revestimento e desintegração monitorados em tempo real. Modificado de Cora *et. al.*, 2008.

3.5.2. Ensaios *in vivo*

3.5.2.1. Participantes e aspectos éticos

Participaram do estudo doze voluntários hígidos, com idade variando de 20 a 27 anos (24 ± 3 anos), de ambos os gêneros (6 feminino, 6 masculino), que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme protocolo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu (CAAE: 41563015.3.0000.5411). Os participantes foram avaliados em 2 fases: I- controle fisiológico; II- tratamento. O intervalo de *wash-out* entre as fases foi de 7 dias, para assegurar a completa eliminação dos fármacos administrados (detalhes no Anexo 6).

Os critérios de exclusão incluíram uso regular de medicamentos que pudessem interferir com a motilidade do TGI ou pH, tais como antieméticos, procinéticos, antibióticos macrolídeos, opióides, laxativos, antidiarreicos, antiácidos ou fármacos utilizados para prevenção e tratamento de úlceras pépticas. Também foi critério de exclusão qualquer contraindicação para o uso dos fármacos utilizados neste estudo, seguindo avaliação prévia por médico gastroenterologista.

3.5.2.2. FASE I - controle fisiológico

Para o controle fisiológico, foram utilizados placebos para mimetizar o tratamento. Para tanto, cápsulas de gelatina dura, com as mesmas características do produto comercial (Omeprazol, 20 mg, Teuto, Brasil) foram preenchidas com pó inerte e foram administradas aos voluntários na noite anterior ao experimento. Na manhã seguinte, após jejum de 8 h, cada voluntário recebeu outro placebo, 30 minutos antes do início das medidas magnéticas. Os voluntários foram então posicionados no sistema BAC multissensores (Figura 2) e ingeriram um comprimido magnético revestido com o auxílio de 180 ml de água. Os sinais foram adquiridos simultaneamente à ingestão, em tempo real, com frequência de aquisição de 20 Hz durante 30 minutos subsequentes à deglutição, empregando-se amplificadores Lock-in SR-830 (Stanford Research Systems, Inc., Sunnyvale, CA, USA).

Amostras de sangue venoso (5 mL) foram coletadas nos seguintes intervalos: -30 (pré-dose); 3; 6; 9; 12; 15; 18; 21; 24; 27; 30; 45; 60; 90; 120; 150; 180; 210; 240 e 300 minutos após a administração oral do comprimido magnético revestido. As amostras foram imediatamente centrifugadas e o plasma foi coletado e armazenado em freezer - 80°C para posterior processamento e análise por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (CLUE).

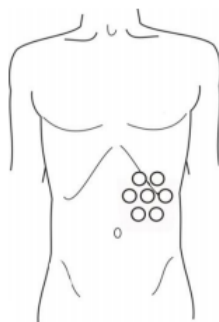


Figura 2: Posicionamento do sistema BAC multissensor sobre a região de projeção gástrica para aquisição dos sinais magnéticos.

3.5.2.3. FASE II - tratamento

Nesta fase, os voluntários receberam Omeprazol (20 mg, Teuto, Brasil) e os comprimidos magnéticos revestidos. Os procedimentos seguiram o protocolo descrito para a fase I (item 3.5.2.2).

3.5.2.4. Monitoramento do comprimido magnético revestido com sistema BAC monossensor

Após o registro contínuo com o sistema BAC multissensores, foram tomados registros magnéticos pontuais sobre a região do estômago e do cólon proximal, utilizando o sistema BAC monossensor, conforme o procedimento experimental descrito com detalhes no Anexo 6, nos intervalos de 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 e 300 minutos. Esses registros permitiram calcular o Tempo de Retenção Gástrico para o comprimido magnético revestido intacto, ou o Tempo de Início da Desintegração do comprimido magnético revestido.

3.5.3. Ensaios de biodisponibilidade

A quantificação do Metronidazol nas amostras de plasma foi realizada por meio da cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE), utilizando o equipamento Waters® Acquity HClass, equipado com detector UV-Vis Photodiode Array (Acquity UPLC®

PDA). Os experimentos foram conduzidos em fase reversa usando uma coluna Acquity® UPLC BEH C18 (1,7 μ m 2,1 x 50 mm; Waters®, EUA), com injetor automático, mantida a 25°C $\pm$ 1°C. A fase móvel foi eluída por modo isocrático em um fluxo de 0,5 mL/min, sendo composta por água:acetonitrila (90:10, v/v), seguindo protocolo previamente determinado (KEES *et. al.*, 1996 e PIROLA *et. al.*, 1998).

A extração do Metronidazol das amostras coletadas dos voluntários foi realizada, seguindo protocolo previamente estabelecido por El-Sayed (1988). Brevemente, adicionou-se 2,0 mL de acetonitrila a 500 μ L do plasma e, em seguida, agitado em vórtex por 2 minutos. As amostras foram centrifugadas a 4500 rpm a 4°C por 10 minutos e o sobrenadante foi transferido em tubo de 15 mL e posteriormente congelado a -80°C e liofilizado em regime *overnight*. No dia seguinte, as amostras liofilizadas foram reconstituídas com a solução água:metanol (90:10, v/v), misturando em vórtex por 1 minuto e transferidos para tubos do tipo Eppendorf. Em seguida, centrifugadas a 14.000 rpm, 4°C, 10 minutos.

O método analítico foi validado de acordo com os parâmetros estabelecidos pela Conferência Internacional de Harmonização (ICH, 2005) e pela ANVISA (2003), dentre eles: linearidade, especificidade, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação (detalhes no Anexo 7).

3.6. Análise dos dados

A partir dos ensaios de dissolução, foram calculados a eficiência de dissolução (ED%), como sendo a razão entre a área sob a curva de dissolução do fármaco no intervalo de tempo compreendido entre zero e 45 minutos (ASC 0-45) e a área total do retângulo (ASC_{TR}) definido pela ordenada (100% de dissolução) e pela abcissa (KHAN, 1975; COSTA *et al.*, 2001; POONGOTHAI *et al.*, 2011). Fatores de diferença (f_1) e

similaridade (f_2) foram calculados como sendo a diferença existente entre dois perfis de dissolução (MOORE & FLANNER, 1996).

Os sinais magnéticos obtidos nas medidas *in vitro* e *in vivo* foram processados em ambiente MatLab[®] (Mathworks, Inc., Natick, MA, EUA) para obter as imagens magnéticas em intervalos de tempo pré-determinados. Após o processamento digital, foi possível determinar a variação da área magnética dos comprimidos em função do tempo, a fim de quantificar os seguintes parâmetros: (I) tempo de dissolução do revestimento (TDR), representado pela diferença entre o instante da chegada do comprimido no recipiente ou no estômago e o início da desintegração (definido como sendo o intervalo de tempo necessário para calcular o aumento de 10% no número de pixels na área da imagem - t_{10}); (II) fim da desintegração, definido como o intervalo de tempo em que houve aumento de 90% no número de pixels da área imageada (t_{90}), e (III) tempo de desintegração (TD), como a diferença entre t_{90} e t_{10} .

A partir da curva da concentração plasmática em função do tempo obtida dos estudos de biodisponibilidade, foi determinado o perfil de absorção do fármaco em função do tempo por meio dos parâmetros farmacocinéticos: (I) t_{lag} , sendo o tempo em que ocorre a primeira detecção do fármaco nas amostras coletadas; (II) C_{max} , definida como a concentração plasmática máxima que o fármaco atingiu após administração; (III) t_{max} , tempo necessário para alcançar a C_{max} ; (IV) AUC_{0-t} , área sob a curva de absorção plasmática do fármaco no tempo t , que corresponde à medida da exposição do organismo ao fármaco.

Os parâmetros magnéticos e farmacocinéticos são apresentados com valores médios e desvio padrão, sendo analisados em ambiente OriginPro 8[®] (Origin Lab Corp., Northampton, USA). GraphPad Prism[®] 6 (2018, USA) foi utilizado para realizar as

análises estatísticas para averiguar as diferenças entre os grupos analisados através de análise de variância de uma via (ANOVA), teste t-STUDENT não pareado em amostras distintas. O nível de significância considerado foi de 5% ($p < 0,05$).

4. Resultados e Discussão

4.1. *Comprimidos Magnéticos e Ensaio Farmacotécnicos de Controle de Qualidade*

No total foram produzidos 150 comprimidos no lote e cada comprimido passou por uma inspeção visual para garantir que não existiam fissuras ou defeitos que pudessem comprometer o processo de revestimento.

Os ensaios farmacotécnicos, preconizados pela Farmacopeia Brasileira (2019), permitiram para avaliar as características físicas no que diz respeito às propriedades de resistência mecânica, uniformidade e desempenho da liberação do fármaco, elementos úteis na avaliação da qualidade integral dos comprimidos.

A massa média ($1,004 \text{ g} \pm 0,003 \text{ g}$), diâmetro médio ($12,12 \text{ mm} \pm 0,01 \text{ mm}$) e a altura média ($6,08 \text{ mm} \pm 0,04 \text{ mm}$) mostraram-se dentro dos limites permitidos de variação de 5%. Este ensaio, apesar de ser simples, é de grande importância, pois garante que o lote de comprimidos obtido está uniforme quanto à quantidade de excipientes após procedimento de pesagem e mistura da formulação, e posteriormente processo de compressão.

A friabilidade permite determinar qual a resistência dos comprimidos à abrasão, sendo permitida uma variação menor que 1%. O resultado encontrado no ensaio de friabilidade foi de em 0,18%, ou seja, uma perda de 0,18% de peso da amostra de 10 comprimidos depois de submetidos ao friabirômetro. Este teste de qualidade é importante porque, após aprovado, os comprimidos magnéticos puderam ser revestidos. Durante o processo de revestimento, os comprimidos são submetidos a uma constante abrasão e, desta forma, uma friabilidade alta poderia comprometer este processo,

levando à perda de material por atrito e, por consequência, diminuição da dose do fármaco contido no comprimido.

No ensaio de dureza, a força média necessária para romper os comprimidos foi de $140,3 \text{ N} \pm 0,2 \text{ N}$, sendo permitida dureza com valores maiores 45 N. Os comprimidos devem ser duros o suficiente para atingir valores de friabilidade aceitável, conforme citado anteriormente, porém a dureza alta não pode comprometer o processo de desintegração do comprimido.

O processo de desintegração foi avaliado em aparato apropriado, sendo o limite aceitável, como critério de controle de qualidade para comprimidos não revestidos, o tempo máximo de 30 minutos. O resultado do ensaio de desintegração foi de $2,89 \text{ min} \pm 0,57 \text{ min}$, na qual o lote foi aprovado no ensaio. O processo de desintegração é fruto da interação entre fatores que resultam na fragmentação da forma farmacêutica sólida, na qual o Explosol[®] (desintegrante) é o principal excipiente. Assim, o comprimido absorve a solução com o qual está em contato e o desintegrante 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 do comprimido em partículas passíveis de serem dissolvidas no meio e absorvidas pela mucosa do trato gastrointestinal (MELIA & DAVIS, 1989; PERIOLI, 2012).

O teste de dissolução em aparato USP II tem como finalidade obter o perfil de liberação do fármaco contido em uma forma farmacêutica sólida após a desintegração. O perfil de liberação possibilita determinar qual é a taxa e a quantidade de fármaco liberado por um comprimido em função do tempo. O lote é aprovado no teste quando 80% do fármaco contido no comprimido é liberado em até 60 minutos. O ensaio

realizado com os comprimidos magnéticos mostrou que, em 60 minutos, houve a liberação de $97,93 \pm 1,53\%$ de Metronidazol.

O lote de comprimidos magnéticos contendo ferrita e Metronidazol foi aprovado em todos os ensaios de controle de qualidade. Sendo assim, os comprimidos do lote produzido foram considerados aptos para prosseguir para os próximos procedimentos, sendo estes o processo de revestimento e avaliação do processo de liberação do fármaco em diferentes valores de pH. A aprovação do controle de qualidade do lote é necessária para garantir que, quando administrado, o comprimido magnético revestido irá liberar o fármaco no meio gástrico. Neste sentido, caso ocorra uma falha na absorção do fármaco, é possível concluir que ocorreu alguma mudança fisiológica que comprometeu o processo de liberação do fármaco contido no comprimido; ou, se o fármaco foi liberado, existe algum comprometimento no processo de absorção pela mucosa do TGI.

4.2. *Processo de Revestimento dos Comprimidos Magnéticos*

Após a aprovação nos testes de qualidade farmacotécnicos, o lote de comprimidos magnéticos foi submetido ao processo de revestimento em única etapa. A solução de revestimento com o polímero Eudragit[®] E-100 (Evonik, São Paulo) foi preparado conforme orientações do fabricante. Após o processo de aplicação da solução de revestimento, os comprimidos tiveram um ganho de peso de $6,31\% \pm 0,35\%$.

Após maturação da película polimérica em estufa *overnight* a 40°C, uma amostra de 10 comprimidos do lote foi submetida ao teste de qualidade do processo de revestimento descrito no Anexo 3. Todos os comprimidos ficaram intactos, ou seja, o revestimento polimérico não se dissolveu, e por consequência, não ocorreu o processo de desintegração dos comprimidos, atestando a qualidade do processo de revestimento.

4.3. Estudo do Perfil de Dissolução (Aparato USP II) em diferentes valores de pH

O ensaio de dissolução do fármaco foi realizado para verificar o perfil de liberação *in vitro* do Metronidazol contido em uma forma farmacêutica sólida em contato com o fluido gástrico simulado.

Cada experimento de dissolução foi realizado em pH diferentes, para avaliar a influência do pH no perfil de liberação do Metronidazol em função do tempo. Certos ensaios farmacopeicos exigem o ajuste ou a manutenção de pH e, para isso, foram utilizadas soluções denominadas tampões, capazes de suportar variações na atividade de íons hidrogênio. Todas as soluções foram obtidas conforme parâmetros descritos na Farmacopeia Brasileira (2019), sendo: meio gástrico simulado HCl 0,1 N de pH 1,2; solução tampão HCl de pH 2,0; solução tampão acetato pH 3,0; solução tampão acetato de sódio pH 4,5 e solução tampão fosfato pH 6,0 (Anexo 4).

4.3.1. Pico de absorção máxima do Metronidazol na região do ultravioleta

A absorção máxima do Metronidazol foi avaliada através da espectroscopia UV para cada um dos pHs, na qual foi mensurada a absorbância de uma amostra com concentração de 50 µg/mL de Metronidazol diluída na solução com o respectivo pH. As curvas de absorbância do Metronidazol em função do comprimento de onda para cada valor de pH estão apresentadas na Figura 3.

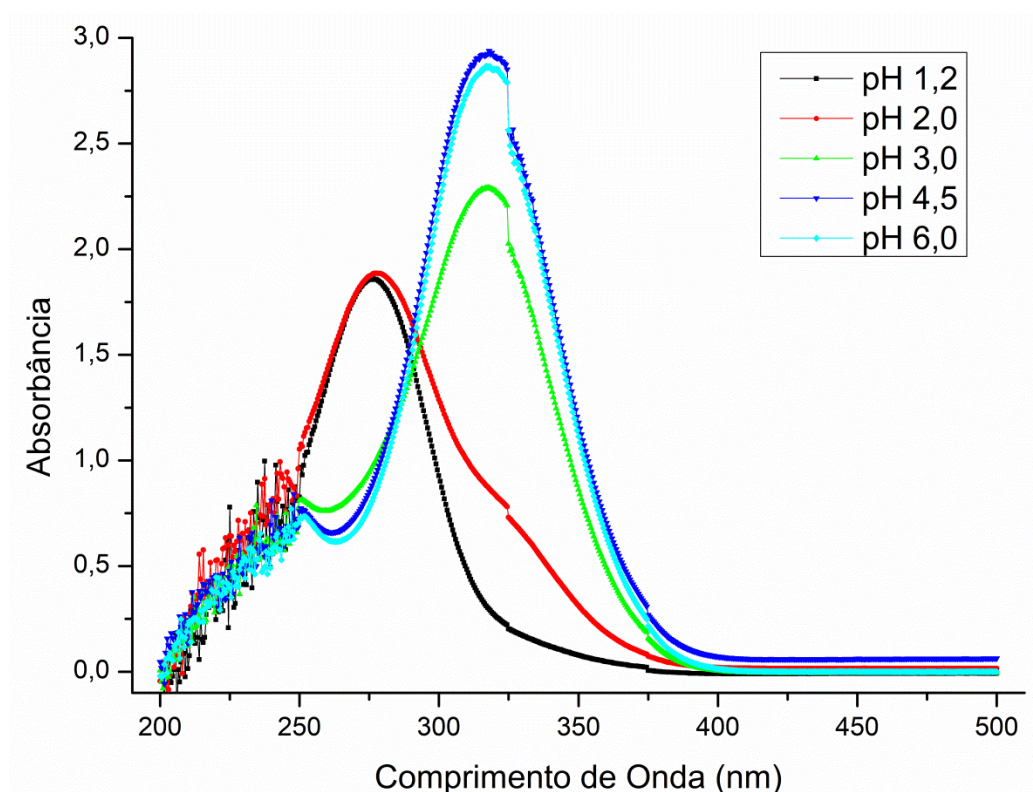


Figura 3: Perfil obtido das amostras de Metronidazol com concentração de 50 µg/mL em diferentes pHs pela espectroscopia UV-Visível, com comprimento de onda entre 200 nm a 400 nm.

As soluções de Metronidazol com pH 1,2 e pH 2,0 tiveram absorbância máxima com comprimento de onda de 277 nm; já as soluções com pH de 3,0, pH 4,5 e pH 6,0 tiveram a absorbância máxima com comprimento de onda de 318 nm.

4.3.2. Curva de Calibração do Metronidazol em soluções de diferentes pHs

Tendo os valores de absorbância máxima registrados para cada valor de pH, soluções de Metronidazol com concentrações conhecidas (5 µg/mL, 10 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL, 25 µg/mL, 30 µg/mL, 40 µg/mL e 50 µg/mL) foram analisadas para cada pH, a fim de se obter a curva de calibração, a qual relaciona a absorbância da amostra em função da concentração conhecida. A Figura 4 ilustra a curva de calibração obtida para as concentrações conhecidas do fármaco.

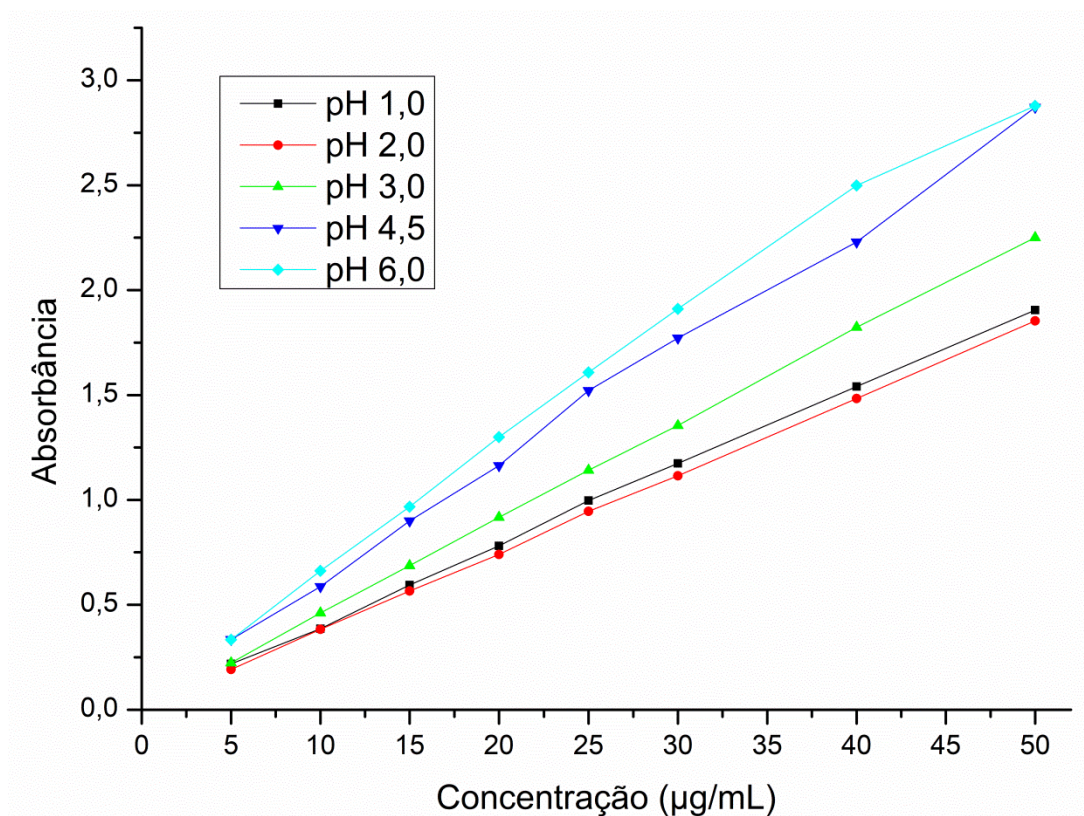


Figura 4: Curva de calibração do Metronidazol obtida em soluções com diferentes valores pH.

Pelo método de regressão linear foi possível determinar equações de reta, onde na Tabela 3 é apresentado o coeficiente angular e constante linear para cada curva. O coeficiente de correlação linear também é apresentado, tendo os valores próximo de $R^2=1$, indicando um perfil linear da absorbância com relação à concentração de Metronidazol.

Os parâmetros referentes ao coeficiente angular e constante linear são respectivamente os valores “a” (angulação) e “b” (translocação vertical) de funções de primeiro grau no perfil $f(x) = a.x + b$, sendo este modelo utilizado para determinar a concentração de fármaco nas alíquotas coletadas durante o teste de solubilidade.

Tabela 3: Parâmetros das curvas de calibração do MT em soluções com diferentes valores de pH.

pH	Coefficiente Angular	Constante Linear	Coefficiente de Correlação (R^2)
1,2	0,037822	0,027705	0,99972
2,0	0,036864	0,011307	0,999942
3,0	0,045032	0,009711	0,99992
4,5	0,055856	0,054879	0,999020
6,0	0,057833	0,110134	0,996871

4.3.3. Perfil de Dissolução do Metronidazol em Soluções de Diferentes pH

A Figura 5A ilustra as curvas de liberação do Metronidazol em função do tempo para cada valor de pH e, na Figura 5B, um zoom das mesmas curvas obtido nos primeiros 20 minutos do processo.

As curvas do perfil de dissolução do Metronidazol em função do tempo demonstram um deslocamento à direita no eixo do tempo, na medida em que o pH da solução aumenta. Na Figura 5B temos um zoom das mesmas curvas até o tempo de 20 min para melhor visualizar este deslocamento à direita no eixo do tempo. Para analisar de forma objetiva as diferenças entre os perfis é necessário avaliar os parâmetros farmacotécnicos das curvas e comparar com o perfil padrão de referência. Adotamos a curva de liberação em meio gástrico simulação de pH 1,2 como perfil padrão de referência, pois este é o pH considerado o fisiológico em indivíduos saudáveis (BERGSTRÖM *et al.*, 2014).

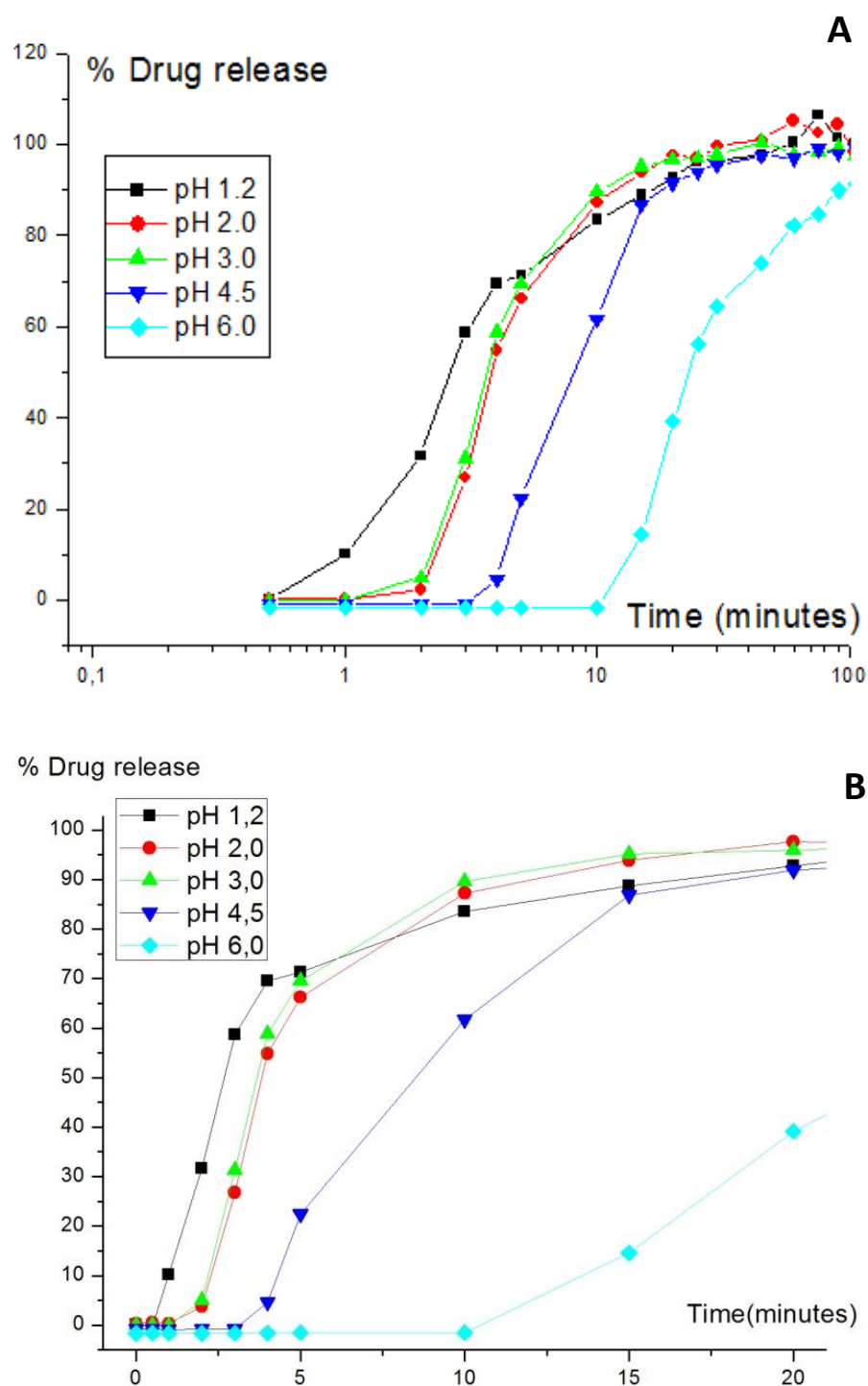


Figura 5 – (A) Perfis de liberação do Metronidazol contido em comprimidos revestidos com Eudragit E-100 em meios de dissolução com diferentes valores de pH. É possível notar a escala logarítmica no eixo das abscissas, o que caracteriza os perfis sigmoides das curvas de liberação de fármaco. (B) Perfis de liberação do fármaco nos primeiros 20 minutos do processo.

Os parâmetros para a caracterização do perfil de dissolução do fármaco em relação à substância química de referência (Metronidazol em solução gástrica simulado

HCl 0,1 N de pH 1,2) foram baseados nos fatores de diferença (f_1) e de similaridade (f_2) propostos por Moore e Flanner (1996), sendo estes calculados em cada intervalo de tempo pré-estabelecido e apresentados na tabela 4.

Tabela 4: Fatores de diferença e similaridade para a comparação entre o perfil de liberação em meio de dissolução de referência (solução gástrica simulado HCl 0,1 N de pH 1,2) em relação aos meios com diferentes valores de pH.

	pH 1,2 - pH 2,0	pH 1,2 - pH 3,0	pH 1,2 - pH 4,5	pH 1,2 - pH 6,0
f_1	9,23	7,96	17,80	42,80
f_2	99,98	99,97	100,00	100,00

Quando o parâmetro f_1 tem valores entre 0 até 15 e, concomitantemente, o f_2 entre os valores de 50 até 100, caracteriza a equivalência entre dois perfis de dissolução, com uma diferença menor de 10% entre os perfis avaliados. Os perfis de liberação do Metronidazol em solução de pH 4,5 e pH 6,0 são considerados diferentes em relação a solução de referência de pH 1,2, já que os valores de f_1 foram acima de 15. Já os fatores de similaridade entre todos os testes dissolução resultaram em valores próximos e iguais a 100, indicando que todos os perfis de liberação são similares. Com dois perfis similares, observa-se que o modelo de liberação em soluções com diferentes valores de pH assemelha-se com o perfil de liberação em meio de referência, conforme ilustrado na Figura 5A, na qual todas as curvas de dissolução tem perfil sigmóide de liberação.

Também foram calculados os parâmetros t_{lag} (tempo do início da liberação do Metronidazol, em minutos), a eficiência de dissolução (ED%) da formulação e as áreas sob a curva (AUC) dos perfis de dissolução (KHAN, 1975; COSTA *et al.*, 2001; POONGOTHAI *et al.*, 2011), além do tempo médio de dissolução (TMD, em minutos),

determinado a partir das doses acumulativas do Metronidazol absorvida em função do tempo (AGUILAR *et al.*, 2008). Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Parâmetros farmacotécnicos dos perfis de liberação do Metronidazol após teste de dissolução em aparato USP II. AUC é a área sob a curva de % Liberação de MT em função do tempo (min). ED é adimensional, e os parâmetros t_{lag} e TMD são apresentados em minutos (min).

	pH 1,2	pH 2,0	pH 3,0	pH 4,5	pH 6,0
AUC	14538,76 ^a ±175,03	14807,54 ^b ±107,19	14286,67 ^c ±65,97	13775,57 ^d ±280,18	10992,81 ^e ±391,67
ED 30	16,70 ±2,46 ^f	16,29 ±1,19 ^f	17,06 ±0,64 ^f	14,35 ±1,27 ^g	6,26 ±1,96 ^h
ED 45	26,71 ±3,00 ⁱ	26,44 ±1,28 ⁱ	27,47 ±0,75 ⁱ	24,88 ±1,37 ⁱ	15,72 ±2,39 ^g
ED 60	36,91 ±2,99 ^j	36,89 ±1,17 ^j	37,90 ±0,74 ^j	35,47 ±1,42 ^j	26,38 ±2,31 ⁱ
t_{lag}	1,33 ±0,58 ^k	2,33 ±0,58 ^k	2,00 ±0,00 ^k	4,00 ±0,00 ^l	16,67 ±2,89 ^m
TMD	2,22 ±1,75 ⁿ	3,18 ±0,77 ⁿ	2,52 ±0,67 ⁿ	4,36 ±0,68 ^o	8,12 ±0,82 ^p

Sobrescrito nos valores com letras diferentes representam diferença significativa com $p < 0,05$.

Os parâmetros de eficiência de dissolução (ED) nos intervalos de tempo analisados apresentaram valores menores quando comparados ao teste com pH de referência em relação aos testes de dissolução com pH 6,0. Por outro lado, o tempo de início de liberação (t_{lag}) e o tempo médio de dissolução (TMD) apresentaram valores maiores comparados ao teste de referência em relação aos de pH 4,5 e pH 6,0.

Ao analisar estes parâmetros observa-se que em pH 4,5 e pH 6,0 ocorreu um atraso na dissolução do Metronidazol, mostrando que o aumento do pH interfere nos processos de liberação da forma farmacêutica sólida revestida com Eudragit® E-100. Neste sentido, foi avaliado os processos que antecedem a dissolução, sendo destes o processo de dissolução do revestimento e o processo de desintegração do comprimido.

4.4. Medidas Magnéticas *in vitro*

Os processos de dissolução do revestimento e desintegração, que antecedem a liberação e respectiva dissolução do fármaco, são processos tempo dependentes que podem ser quantificados por meio da adição de um marcador magnético, empregando-se a técnica de Biosusceptometria AC que permite identificar, em tempo real, o espalhamento deste marcador.

A ferrita em pó foi utilizada como marcador magnético por se tratar de um material ferromagnético, insolúvel em qualquer meio, material capaz de gerar alta susceptibilidade magnética e, não ser absorvido pela mucosa do TGI sendo, portanto, desprovido de qualquer efeito adverso ao organismo (BELIKOV e KUREGYAN, 2001). Diversos estudos foram realizados utilizando ferrita como marcador demonstrando que não implica em alterações significativas nas propriedades farmacotécnicas dos comprimidos (CORÁ *et al.*, 2003, 2005a, 2005b, 2006, 2008, 2010, 2011; MIRANDA *et al.*, 2003, 2010).

Os parâmetros de interesse para avaliar o processo de liberação do fármaco são: tempo de dissolução do revestimento (TDR) e tempo de desintegração (TD) do comprimido, uma vez que antecedem a liberação do fármaco a forma farmacêutica. A Figura 6 ilustra os sinais magnéticos obtidos com o sistema BAC multisensores para caracterizar, em tempo real, os processos de dissolução do revestimento e desintegração do comprimido magnético adicionado ao meio gástrico simulado. Na figura 7, no sinal pós-processado com filtro passa-baixa, o processo de dissolução do revestimento ocorreu no intervalo apontado pelas setas 1 e 2; e a desintegração ocorreu no intervalo entre as setas 2 e 3.

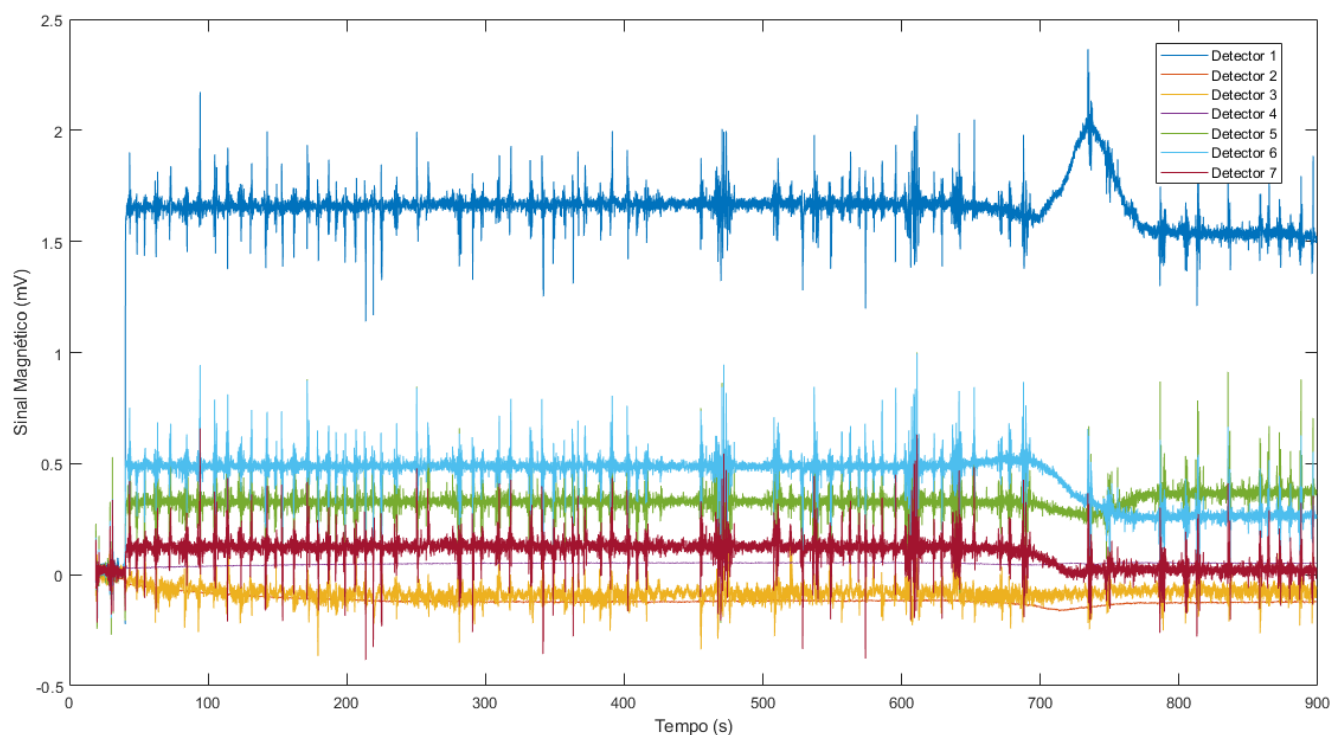


Figura 6: Sinal magnético em função do tempo adquirido de um comprimido magnético revestido avaliado no sistema BAC multissensor.

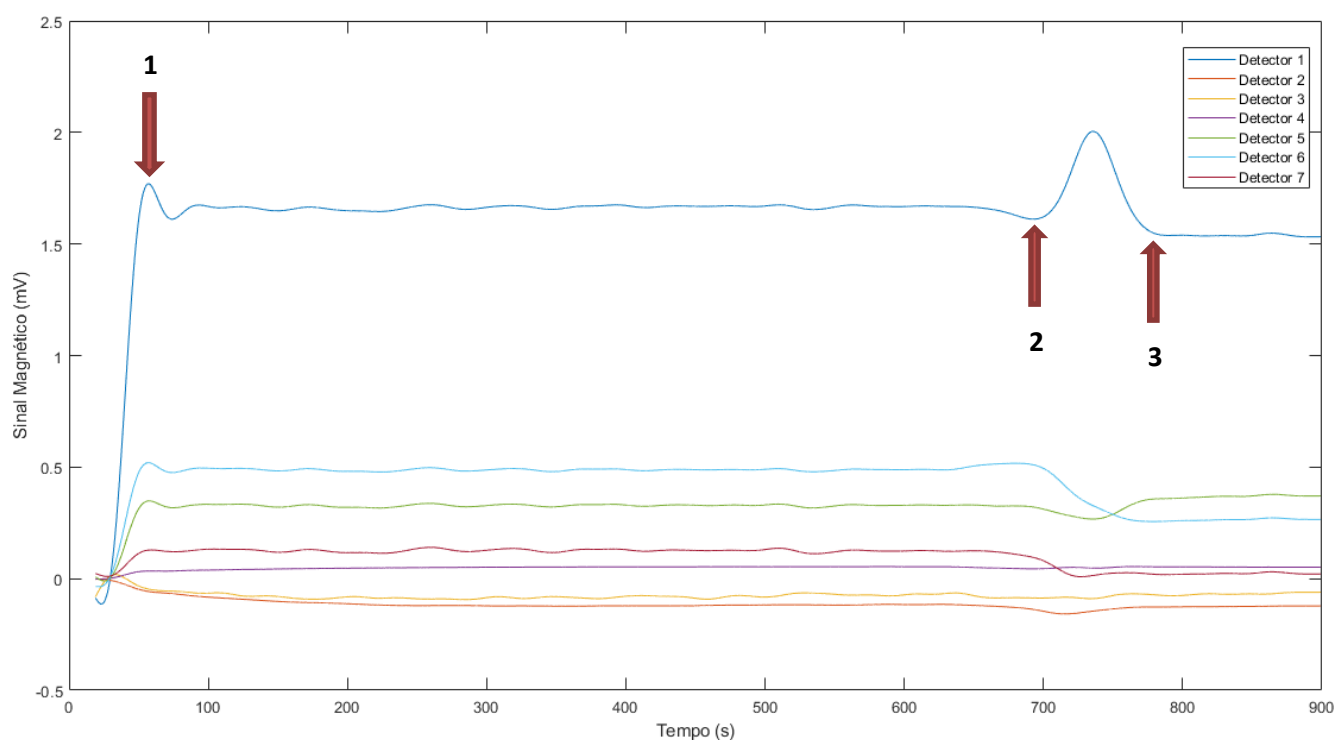


Figura 7: Sinal pós-processado por filtro passa-baixa na frequência de corte 0,03 Hz. As setas 1 e 2 indicam, respectivamente, o início e o final do processo de dissolução do revestimento. A seta 3 indica o fim da desintegração do comprimido magnético.

O tempo da dissolução do revestimento (TDR) correspondeu no intervalo definido entre as setas 1 e 2. Durante esse intervalo, o revestimento impede que a solução de dissolução entre em contato com o desintegrante, que promove o processo de desintegração do comprimido (CORÁ et al, 2005b). Neste intervalo de tempo o comprimido é uma fonte pontual de sinal.

A desintegração é representada pela abertura do espectro do sinal magnético e seu espalhamento em todos os canais da BAC, até o final do processo de desintegração, indicado pela seta 3. A diferença entre os intervalos de tempo indicados pelas setas 2 e 3 permitiu quantificar o tempo de desintegração do comprimido (TD).

Os sinais magnéticos foram processados para gerar imagens que representam a evolução da área imageada em função do tempo. A Figura 8 ilustra as imagens magnéticas obtidas em diferentes intervalos de tempo, para retratar o espalhamento da ferrita, característico do processo de desintegração.

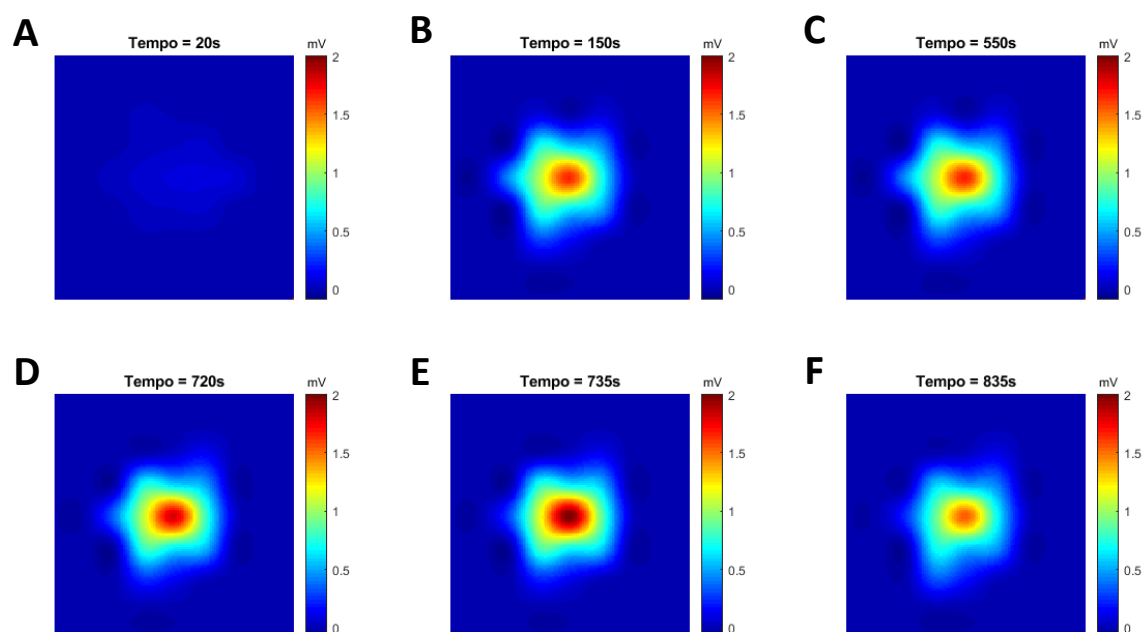


Figura 8: Imagens *in vitro* do comprimido magnético revestido. O aumento da área magnética em função do tempo ilustra o processo de desintegração da forma farmacêutica.

Na figura 8(A), observa-se a ausência de sinal, pois o comprimido não havia sido inserido no recipiente. Em (B) e (C), observa-se que a imagem do comprimido magnético não sofre alteração na área, caracterizando o período em que o revestimento do comprimido está sendo dissolvido, e por consequência, o comprimido permanece como uma fonte pontual, com área constante. Nas imagens subsequentes (D) e (E), é possível verificar aumento da área magnética, indicando que neste período o revestimento foi dissolvido e o processo de desintegração do comprimido está ocorrendo. Em (F), a diminuição na intensidade da imagem indica espalhamento do material magnético em função do término do processo de desintegração.

A Figura 9(A) representa a evolução da área das imagens obtidas do comprimido magnético em função do tempo e a Figura 9(B) a derivada do aumento da área magnética em função do tempo (s).

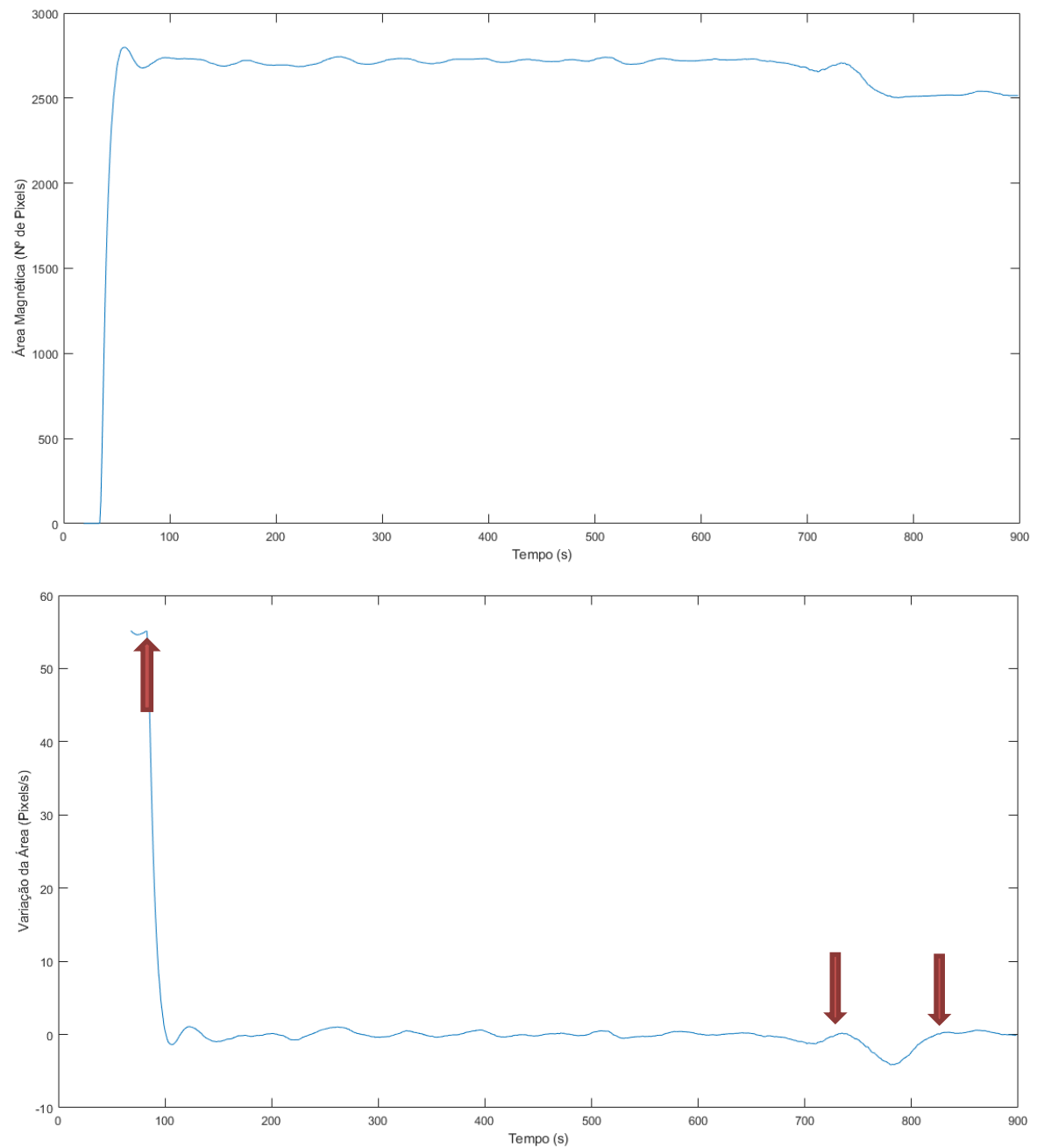


Figura 9: (A) Evolução da área das imagens magnéticas de um comprimido em meio ácido simulado em função do tempo. (B) derivada no tempo da área magnética.

Na figura 9(B) observam-se intervalos de tempo nos quais ocorre a variação da área dos comprimidos a fim de identificar os momentos que ocorrem as transições dos eventos relacionados à liberação do fármaco.

No intuito de avaliar com precisão estas transições, foi obtido um gráfico de marcador binário, a partir do qual foram determinados os momentos que ocorrem uma variação maior que 10% na área das imagens. A Figura 10 ilustra o marcador binário, no qual os intervalos em que ocorrem variações maiores que 10% na área das imagens o marcador apresenta o valor “1”; com variações menores que 10%, o marcador binário apresenta o valor “0”.

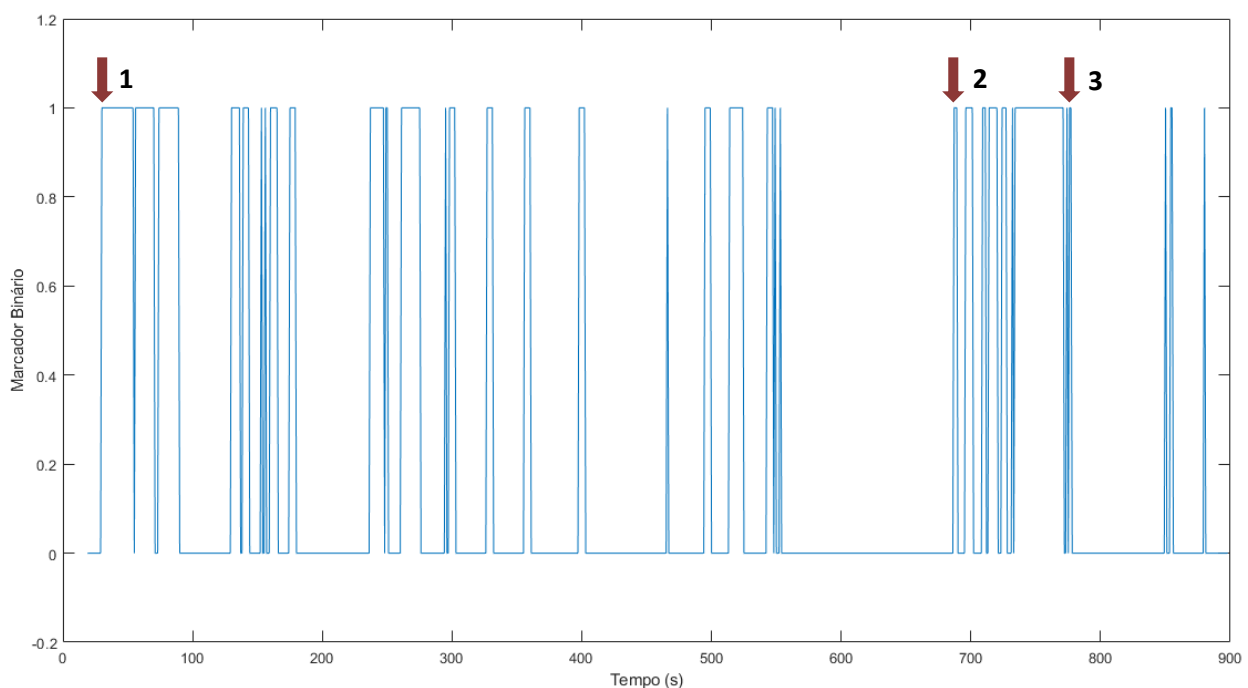


Figura 10: Marcador binário em função do tempo. Quando a variação da área da imagem magnética é maior que 10%, o marcador possui o valor 1 e para variações menores que 10%, o marcador retorna o valor 0. As setas “1”, “2” e “3” indicam, respectivamente, o início e fim do processo de dissolução do revestimento e final do processo de desintegração.

Com o marcador binário foi possível identificar os seguintes intervalos: (1) momento em que o comprimido é inserido no aparato para as medidas com o sistema BAC multissensores e início do processo de dissolução do revestimento; (2) final do processo de dissolução do revestimento e início do processo de desintegração do comprimido magnético; e (3) final do processo de desintegração do comprimido magnético.

Na tabela 6 estão apresentados os valores calculados referentes ao tempo de dissolução do revestimento (TDR) e tempo de desintegração (TD) dos comprimidos magnéticos.

Tabela 6: Tempo de dissolução do revestimento (TDR) e tempo de desintegração (TD) quantificados por meio das áreas das imagens magnéticas obtidas nos ensaios *in vitro* com os sensores BAC em meios simulados com diferentes valores de pH.

pH	TDR (min)		TD (min)	
1.2	1,61 ^a	±0,09	0,56 ^f	±0,07
2.0	3,41 ^b	±0,13	0,59 ^f	±0,08
3.0	2,71 ^c	±0,34	0,28 ^f	±0,12
4.5	5,79 ^d	±1,16	1,48 ^a	±0,13
6.0	8,39 ^e	±2,36	1,11 ^h	±0,51

Sobrescrito nos valores com letras diferentes representam diferença significativa com $p < 0,05$.

Na medida em que o pH do meio de dissolução aumenta, o tempo necessário para dissolver o revestimento aumenta, confirmando que a dissolução do polímero de revestimento utilizado neste estudo é dependente do pH. O Eudragit® E-100 é um polímero hidrófilo, com grupos funcionais de amina terciários e são à base de metacrilato de dimetilaminoetilo e ésteres metacrílicos neutros (JUNG *et al.*, 1999). Este polímero, na sua forma protonada, é solúvel em solventes orgânicos e insolúvel em éter de petróleo e água. É solúvel em meios aquosos com pH até 5 e é usado principalmente em tecnologia farmacêutica como excipiente de revestimento de comprimidos gastrossolúveis (RIGO *et al.*, 2014; QUINTEROS *et al.*, 2008).

Os dados obtidos utilizando-se o aparato com o sistema BAC multisensores corroboram com os dados obtidos no aparato de dissolução USP II, indicando que o pH do meio influência significativamente a liberação do fármaco contido no comprimido revestido. A vantagem do aparato magnético consiste no fato de que a BAC foi capaz de

avaliar em tempo real o exato momento que o comprimido inicia o processo de desintegração, o que não pode ser observado pelo aparato oficial.

Nos próximos tópicos (item 4.6.1.), é apresentada a avaliação com a BAC multissensor para identificar e quantificar o início do processo de desintegração dos mesmos comprimidos magnético *in vivo*.

4.5. Ensaios *in vivo* - Efeito do Tratamento por Omeprazol na Biodisponibilidade

Após as medidas *in vitro*, da qual se confirmou a influencia do pH na liberação do fármaco em comprimidos revestidos com Eudragit® E-100, foi avaliado se a mudança do pH intragástrico influencia na liberação do Metronidazol administrado pelo mesmo comprimido magnético revestido, através de um estudo de biodisponibilidade.

O Metronidazol (MT) é um fármaco anti-microbiano que, de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), pertence à classe I, ou seja, fármacos que apresentam alta solubilidade e permeabilidade elevada (LIDENBERG *et al.*, 2004). Quando administrado por via oral, sofre absorção no estômago e em segmentos proximais do intestino delgado. Essas características foram essenciais para a escolha desse fármaco como marcador farmacocinético nesse estudo, pois as avaliações foram realizadas para comprimidos de liberação no estômago. Além disso, já foram desenvolvidos estudos utilizando o Metronidazol como fármaco modelo em comprimidos magnéticos, e os resultados demonstram que o fármaco é um bom marcador farmacocinético, devido sua boa absorção e fácil detecção na concentração sérica (Pires, D.W. 2016; Grossklaus, D. B. B. 2016).

Os mesmos comprimidos magnéticos com Metronidazol revestidos foram administrados a voluntários saudáveis, seguindo o desenho experimental descrito no

item 3.5.2. Foi avaliado o perfil da biodisponibilidade do Metronidazol frente aos tratamentos com placebo e Omeprazol. As amostras de sangue coletadas dos voluntários foram processadas e analisadas seguindo protocolo descrito por Kees *et al.*,1996 e Pirola *et al.*, 1998.

O perfil da biodisponibilidade apresentado na Figura 11 descreve a concentração de Metronidazol (em $\mu\text{g/mL}$) em função do tempo para um dos voluntários (voluntário nº 3) antes (placebo) e após o tratamento com omeprazol. O perfil da velocidade e a extensão de absorção de um princípio ativo em uma forma de dosagem são representados pelos parâmetros farmacocinéticos do perfil de biodisponibilidade.

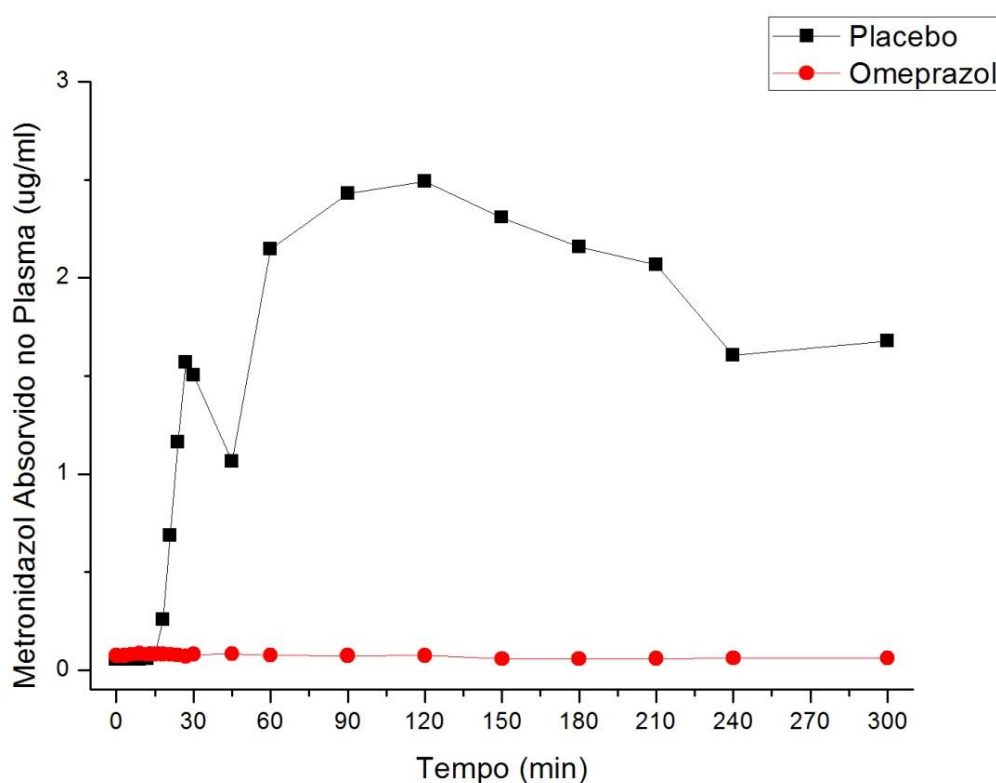


Figura 11: Perfil de concentração de Metronidazol em função do tempo de um dos voluntários (voluntário nº 3). A curva em quadrados pretos apresenta o perfil de concentração do Metronidazol para o ensaio feito com tratamento Placebo. A curva com os círculos vermelhos apresenta o perfil para o ensaio com o mesmo voluntário sob tratamento com Omeprazol.

Observa-se que a concentração do metronidazol foi alterada após o tratamento com omeprazol, indicando que o pH do meio interferiu com os processos que envolvem a liberação do fármaco da forma farmacêutica sólida. O perfil de concentração plasmática de um fármaco é consequência dos processos farmacocinéticos - absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME). A extensão e a velocidade da absorção de um fármaco administrado pela via oral são representadas pelos parâmetros farmacocinéticos, utilizados para quantificar a biodisponibilidade (MIAH *et. al.*, 2018).

Esta quantificação é feita a partir do cálculo de parâmetros farmacocinéticos da curva de absorção do fármaco em função do tempo, preconizados pela Farmacopeia Brasileira e descritos no tópico 3.6. Os parâmetros farmacocinéticos da biodisponibilidade do Metronidazol para os voluntários tratados com placebo são apresentados na tabela 7.

Tabela 7: Valores calculados a partir da curva do perfil de Biodisponibilidade do Metronidazol frente aos tratamentos Placebo: Tempo para início da Absorção (t_{lag}) dado em minutos, Concentração máxima (C_{max}) dado em $\mu\text{g/mL}$, Tempo de Concentração máxima (t_{max}) dado em minutos, e AUC_{0-t} é a quantificação da área sob a curva no intervalo de tempo 0 até t em minutos.

Voluntário	t_{lag} (min)	t_{max} (min)	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	AUC_{0-30} ($\mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$)	AUC_{0-60} ($\mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$)	AUC_{0-300} ($\mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$)
1	18	90	1,99	10,11	38,76	500,91
2	15	150	1,69	10,58	37,28	420,08
3	18	120	2,49	14,24	57,59	556,34
4	18	150	2,42	4,65	18,90	535,65
5	30	90	2,57	3,00	55,35	531,90
6	15	90	2,80	17,36	83,36	506,36
7	15	120	3,10	17,57	62,49	718,44
8	24	120	1,55	3,12	27,72	345,12
9	24	90	1,91	3,20	26,52	545,47
10	18	120	2,20	7,25	40,62	484,92
11	18	120	1,80	5,81	27,86	353,96
12	18	120	1,52	9,30	36,68	363,83
Média	19,25	115,00	2,17	8,85	42,76	488,58
DP	4,52	21,53	0,51	5,31	18,55	106,26

“DP”, desvio padrão.

Os parâmetros farmacocinéticos permitem avaliar se alterações fisiológicas podem interferir na biodisponibilidade de um fármaco. Nos resultados ilustrados na Tabela 7, observa-se que o placebo não interferiu com a absorção do fármaco modelo, corroborando com os resultados obtidos em estudo previamente realizados pelo laboratório, com a mesma metodologia (PIRES, 2016; GROSSKLAUS, 2016). Com o placebo, não houve alteração do pH fisiológico do conteúdo gástrico e, desta forma, os processos de dissolução de revestimento e desintegração ocorreram conforme o

esperado a partir dos ensaios *in vitro*. Comparando-se os ensaios realizados previamente pelo grupo, infere-se que a biodisponibilidade do metronidazol não foi afetada por comprimidos com revestimentos distintos, mantendo-se o pH no valor fisiológico.

Estudos realizados para caracterizar os fluidos gástrico e intestinal no homem descreveram diversas características destes conteúdos durante o jejum e no período pós-prandial, tais como: pH, capacidade tampão, osmolaridade e tensão superficial (DRESSMAN *et al.*, 1990; LINDAHL *et al.*, 1997; EFENTAKIS & DRESSMAN, 1998; PEDERSEN *et al.*, 2000; KALANTZI *et al.*, 2006; PEDERSEN *et al.*, 2013; BERGSTRÖM *et al.*, 2014). Os resultados indicaram que os valores do pH gástrico no homem, em jejum, compreendem uma faixa que varia de 1,7 até 3,3 (média de 2,5) (DRESSMAN *et al.*, 1990; LINDAHL *et al.*, 1997; EFENTAKIS & DRESSMAN, 1998; PEDERSEN *et al.*, 2000; KALANTZI *et al.*, 2006; PEDERSEN *et al.*, 2013; BERGSTRÖM *et al.*, 2014). Diante destes achados, é possível afirmar que, em nosso estudo, o pH intragástrico dos voluntários sob tratamento com placebo encontrava-se na faixa acima descrita e, por esta razão, o revestimento do comprimido foi dissolvido pelo meio, possibilitando a desintegração e liberação do fármaco para absorção.

Na segunda etapa do experimento, da qual os mesmos voluntários foram submetidos ao tratamento com Omeprazol antes da administração do comprimido magnético revestido, os parâmetros farmacocinéticos são apresentados na Tabela 8.

Podemos verificar que os parâmetros farmacocinéticos dos voluntários 2, 3, 5, 8 e 11 apresentaram valores nulos, com um forte indicativo que o comprimido pode não ter passado pelo processo de desintegração, e por consequência o fármaco não liberado. Os demais voluntários (1, 4, 6, 7, 9, 10 e 12) deram valores com grande diferença nos parâmetros t_{lag} e o t_{max} , do quais ficaram maiores, indicando um possível atraso na

liberação do fármaco. Além disso, os parâmetros C_{max} e AUC_{0-300} deram valores menores, indicando que houve uma diminuição na extensão de absorção.

Tabela 8: Valores calculados a partir da curva do perfil de Biodisponibilidade do Metronidazol frente aos tratamentos Omeprazol: Tempo para início da Absorção (t_{lag}) dado em minutos, Concentração máxima (C_{max}) dado em $\mu\text{g/ml}$, Tempo de Concentração máxima (t_{max}) dado em minutos, e AUC_{0-t} é a quantificação da área sob a curva no intervalo de tempo 0 até t em minutos.

Voluntário	t_{lag} (min)	t_{max} (min)	C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	AUC_{0-30} ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$)	AUC_{0-60} ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$)	AUC_{0-300} ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$)
1	12	120	1,88	7,64	32,99	527,69
2	0	0	0	0,00	0,00	0,00
3	0	0	0	0,00	0,00	0,00
4	45	180	2,48	1,83	18,86	512,21
5	0	0	0	0,00	0,00	0,00
6	150	240	2,09	2,68	5,31	305,61
7	21	120	3,48	5,42	54,39	773,49
8	0	0	0	0,00	0,00	0,00
9	45	150	2,20	3,09	21,09	507,09
10	45	90	2,03	2,46	14,09	452,09
11	0	0	0	0,00	0,00	0,00
12	15	90	1,84	9,55	35,58	441,03
Média	27,75	82,50	1,33	2,72	15,19	293,27
DP	42,79	83,03	1,25	3,25	18,01	279,03

Obs: "DP" é o desvio padrão.

Estes resultados demonstram forte indicativo que o pH no ambiente intragástrico estava mais alcalino devido ao tratamento com omeprazol, causando uma influência na dissolução do Eudragit® E-100. O tratamento diário com baixas doses de omeprazol (20 mg), por via oral, pode aumentar significativamente o pH intraluminal gástrico, que

chega a pH 4,0 por mais de 8 horas, na maioria dos pacientes em estudos já realizados. De maneira geral, a supressão crônica do ácido gástrico com uso de inibidores de bomba de prótons é bem tolerada, com poucos efeitos colaterais clinicamente evidentes (MULLIN *et al.*, 2009). Como verificamos nos resultados dos testes de dissolução dos comprimidos revestidos, o polímero pH-dependente Eudragit® E-100 tem dificuldades de dissolução quando esta imerso em solução com pH próximo de 5.

4.6. Análise Magnetofarmacocinético

Na análise magnetofarmacocinético pretende-se correlacionar os resultados obtidos com o estudo farmacocinético apresentado no item anterior (item 4.5) com as medidas magnéticas realizadas com os sistemas BAC multissensor (itens 3.5.2.2 e 3.5.2.3) e monossensor (item 3.5.2.4). As medidas magnéticas *in vivo* foram realizadas com o objetivo localizar e, posteriormente, monitorar os processos relacionados com a liberação do fármaco contido nos comprimidos magnéticos revestidos administrados aos voluntários antes e após o tratamento com o IBP, que altera o pH do estômago.

4.6.1. Monitoramento com Sistema BAC Multissensor e Monossensor

O processo de desintegração do comprimido no estômago é monitorado por meio de sinais magnéticos adquiridos com o sistema BAC multisensores e pela quantificação da variação nos sinais e imagens, a exemplo daqueles observados nas medidas *in vitro*. Além disso, com a BAC é possível caracterizar possíveis interferências neste processo, incluindo defeitos que resultam na não desintegração do comprimido ou, ainda, o deslocamento do comprimido intacto para outros segmentos do TGI. Neste caso, é possível calcular o tempo de retenção da forma farmacêutica nestes segmentos.

Quando o comprimido se desintegra no estômago, a BAC conseguiu identificar em qual tempo se deu início ao processo, devido à variação do sinal magnético adquirido indicado pela seta na Figura 12.

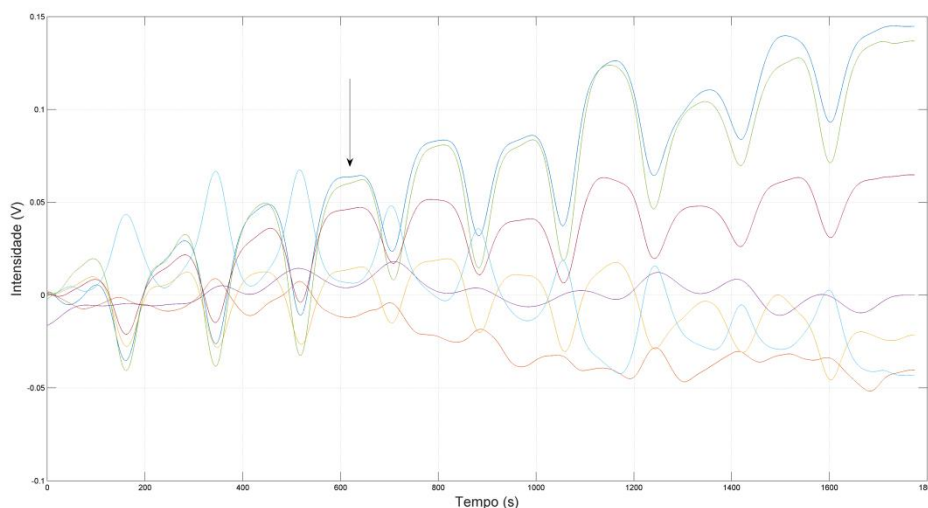


Figura 12: Intensidade do sinal magnético em função do tempo. Sinal registrado do voluntário 3 sob tratamento com Placebo.

O momento que ocorre uma intensa variação na intensidade do sinal de todos os canais indica o início do espalhamento do material magnético (ferrita). Assim como foi apresentado nos resultados da medida BAC multissensor no item 4.4, esta variação do sinal é o exato momento que ocorre o início da desintegração do comprimido magnético. O espalhamento ocorre quando o polímero de revestimento do comprimido é dissolvido, permitindo assim que ocorra o processo de desintegração do comprimido. Neste caso, o parâmetro adquirido pelo sistema BAC foi o tempo de início da desintegração.

Entretanto, caso não exista uma variação na intensidade no sinal durante o monitoramento com o sistema BAC multissensor (Figura 13), o material magnético fica contido no interior do comprimido revestido, dando um forte indicativo que não ocorreu o processo de desintegração do comprimido.

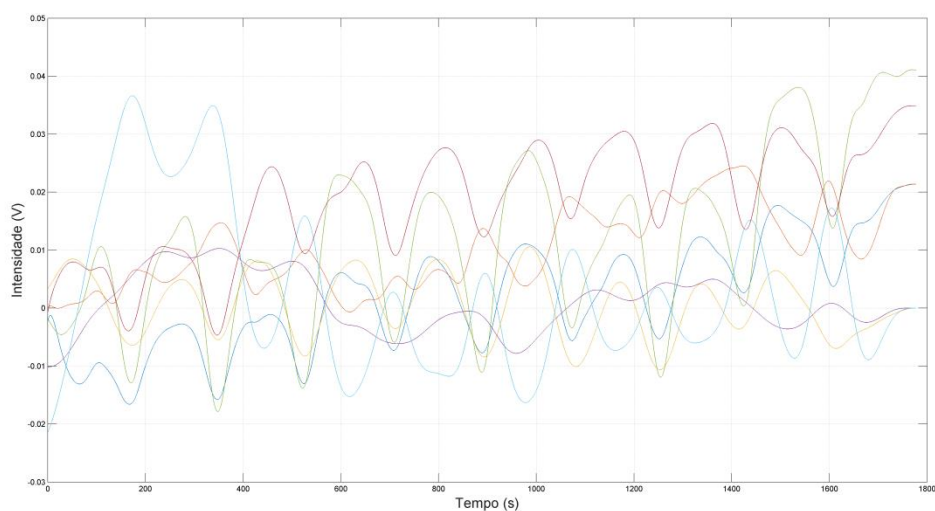


Figura 13: Intensidade do sinal magnético em função do tempo. Sinal registrado do voluntário 3 sob tratamento com Omeprazol.

Os voluntários 2, 3, 5, 8 e 11 apresentaram este mesmo perfil de sinal, indicando que o tratamento com Omeprazol interferiu no processo de dissolução do revestimento, impedindo assim que o comprimido se desintegre.

Após os 30 minutos de monitoramento com o sistema BAC multissensor, foi dado início ao monitoramento do comprimido magnético com o sistema BAC monossensor (descrito no item 3.5.2.4). Durante este período, a intensidade do sinal do comprimido magnético na projeção gástrica é apresentada na Figura 14, na qual notou-se que a intensidade do sinal magnético diminuiu a nível basal repentinamente (entre os tempos 60 minutos e 90 minutos), indicando assim que o comprimido passou pelo esfíncter pilórico, se deslocando para o duodeno. Neste caso, o parâmetro adquirido pelo sistema BAC foi o tempo de retenção.

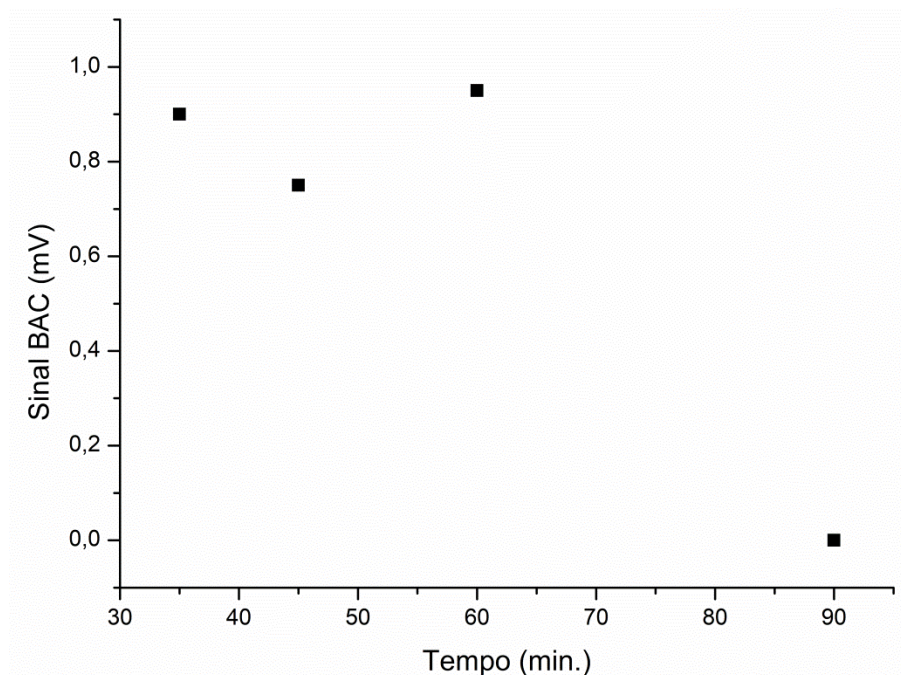


Figura 14: Intensidade do sinal magnético em função do tempo adquirido pelo sistema BAC monossensor. Sinal registrado do voluntário 3 sob tratamento com Omeprazol.

Após o tratamento com omeprazol, não foi possível identificar variação significativa na intensidade do sinal adquirido pelos sensores BAC, um indicativo de que o comprimido não se desintegrou. O comprimido não desintegrado produz um sinal com intensidade maior, visto que não há espalhamento do material no meio em que está sendo avaliado, sendo detectado em outros segmentos do TGI. Neste caso, o parâmetro calculado é o tempo de retenção, que se refere ao intervalo de tempo no qual o comprimido magnético ficou retido no estômago.

Por outro lado, com os voluntários 1, 4, 6, 7, 9, 10 e 12 ocorreu o processo de desintegração do comprimido magnético revestido para os tratamentos com placebo e com Omeprazol. Na figura 15 é apresentado o sinal magnético do monitoramento com o sistema BAC multissensor do voluntário 4, como exemplo.

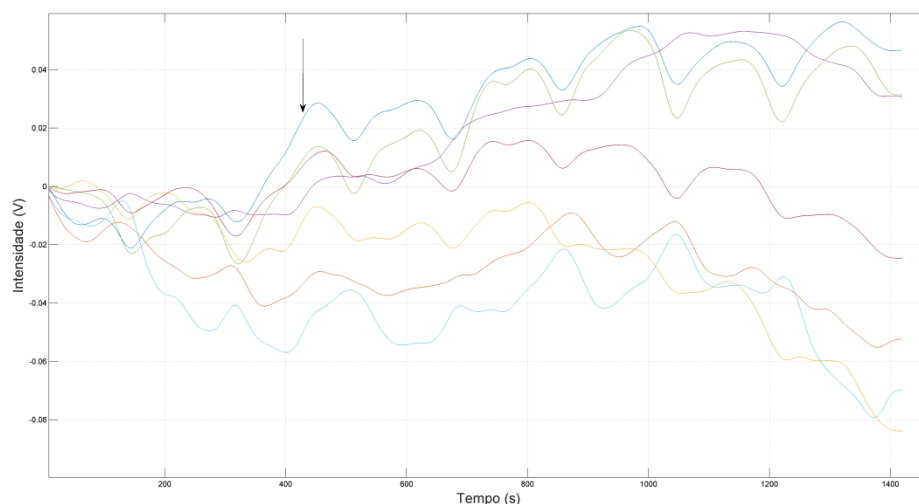


Figura 15: Intensidade do sinal magnético em função do tempo adquirido pelo sistema BAC monossensor. Sinal registrado do voluntário 4 sob tratamento com placebo.

A seta indica novamente o tempo que ocorre uma intensa variação do sinal magnético, na qual o material magnético se espalha devido o processo de desintegração do comprimido magnético. Na figura 16, é apresentado o sinal magnético do mesmo voluntário, sob tratamento com Omeprazol.

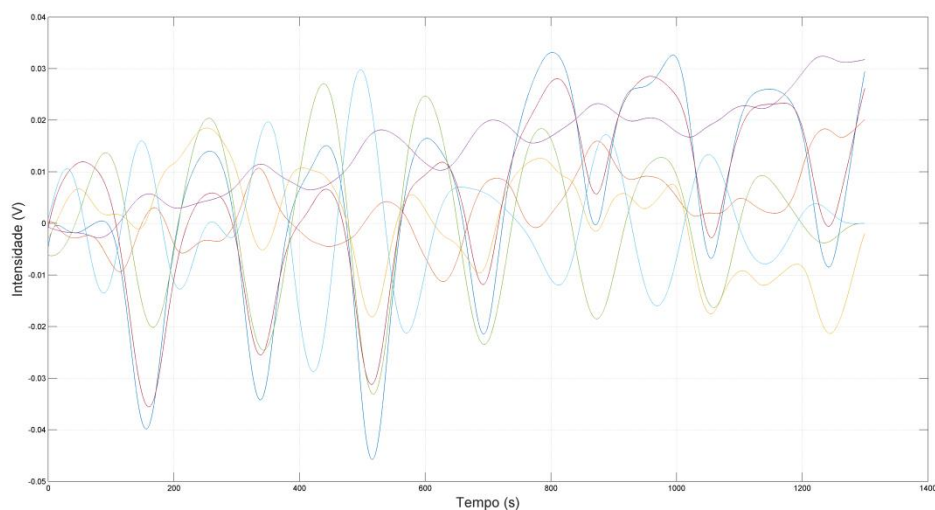


Figura 16: Intensidade do sinal magnético em função do tempo adquirido pelo sistema BAC monossensor. Sinal registrado do voluntário 4 sob tratamento com Omeprazol.

O perfil do sinal magnético do voluntário 4 sob tratamento com Omeprazol é semelhante com a do voluntário 3 (Figura 13), na qual não apresenta variação

expressiva da intensidade do sinal, indicando que o comprimido magnético revestido não desintegrou. Porém, o perfil do sinal do sistema BAC monossensor, apresentado na Figura 17, indica um decaimento progressivo da intensidade do sinal. Este perfil sugere que o comprimido se desintegrou após 30 minutos, e o material magnético (ferrita) é esvaziado do estômago. Neste caso, o parâmetro adquirido pelo sistema BAC foi o tempo de início da desintegração.

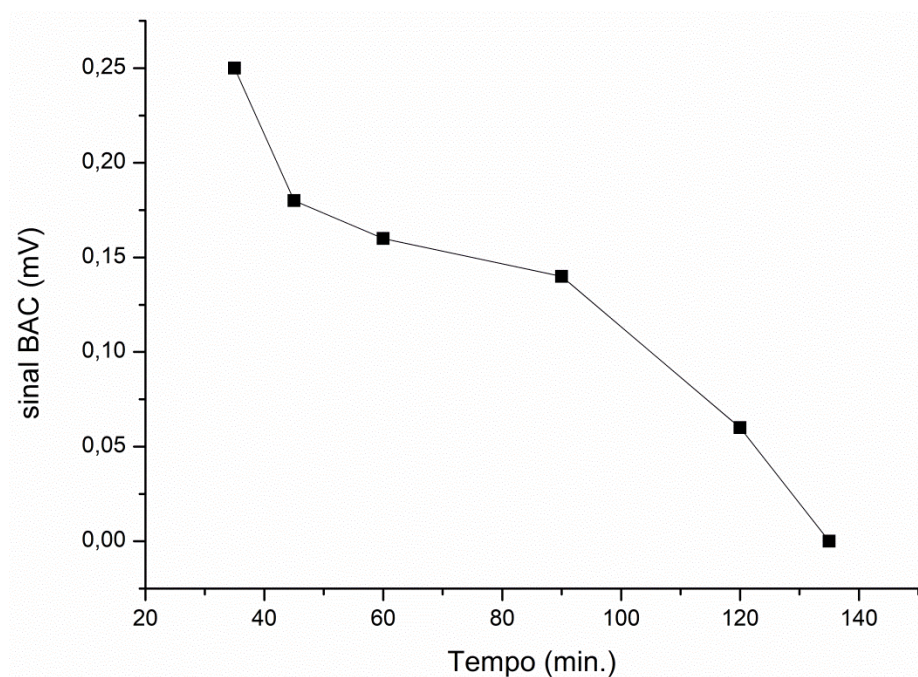


Figura 17: Intensidade do sinal magnético em função do tempo adquirido pelo sistema BAC monossensor. Sinal registrado do voluntário 4 sob tratamento com Omeprazol.

Nas medidas magnéticas realizadas nos voluntários, foi possível identificar dois perfis distintos: um grupo de participantes ($n = 5$) nos quais não foi possível caracterizar o processo de desintegração no tratamento com omeprazol, e outro grupo ($n = 7$) nos quais o processo foi quantificado.

Para o primeiro grupo, a Tabela 9 mostra os valores do início da desintegração de cada voluntário e os valores médios quando tratados com placebo, e o tempo de retenção quando tratados com omeprazol. E para o segundo grupo, a tabela 10 mostra os

valores do início da desintegração para os dois tratamentos de cada voluntário e os valores médios.

Tabela 9: Tempo do início da desintegração ou tempo de retenção dos comprimidos magnéticos revestidos avaliados pelos sistemas BAC. Resultados dos voluntários referentes ao Grupo 1 de resultados. Dados expressos como média ± DP.

	Voluntário	2	3	5	8	11	Média	DP
Placebo	Início da desintegração (minutos)	10,00	10,00	23,00	18,00	8,00	13,80	6,42
	Tempo de Retenção (minutos)	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
Omeprazol	Início da desintegração (minutos)	i	i	i	i	i	i	i
	Tempo de Retenção (minutos)	30,00	40,00	75,00	40,00	50,00	47,00	17,18

“NSA”, não se aplica; “i”, comprimido inteiro.

Tabela 10: Tempo do início da desintegração ou tempo de retenção dos comprimidos magnéticos revestidos avaliados pelos sistemas BAC. Resultados dos voluntários referentes ao Grupo 2 de resultados. Dados expressos como média ± DP.

	Voluntário	1	4	6	7	9	10	12	Média	DP
Placebo	Início da desintegração (minutos)	7,00	8,00	12,00	10,00	15,00	12,00	10,00	10,57^a	2,70
	Tempo de Retenção (minutos)	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA
Omeprazol	Início da desintegração (minutos)	10,00	35,00	120,00	10,00	35,00	35,00	10,00	36,43^b	38,91
	Tempo de Retenção (minutos)	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA	NSA

Sobrescrito nos valores com letras diferentes representam diferença significativa com p < 0,05.
 “NSA”, não se aplica.

No grupo 1 de resultados (Tabela 9), podemos notar que há uma diferença entre os resultados dos voluntários tratados com placebo e com o Omeprazol. Na condição fisiológica, o sistema BAC identificou o início do processo de desintegração, que em contrapartida, não ocorreu nos voluntários sob tratamento com Omeprazol, já que as medidas magnéticas não identificaram uma variação do sinal magnéticos, indicando que o comprimido não se desintegrou.

Para os participantes elencados no grupo 2 (Tabela 10), observou-se que para ambos as condições (antes e após o tratamento com omeprazol), o comprimido se desintegrou, porém, o tempo de desintegração foi significativamente diferente com um atraso de quase o triplo do tempo em relação ao tratamento com placebo. É provável que esta diferença para o início do processo de desintegração tenha ocorrido em função do tratamento com o omeprazol, um potente inibidor da secreção ácida pela célula parietal gástrica (MULLIN *et al.*, 2009). Neste caso, a alteração do pH interferiu com o tempo necessário para a dissolução do revestimento, atrasando o início da desintegração e, conseqüentemente, a liberação do fármaco.

4.6.2. Magnetofarmacocinética do Tratamento com Placebo

Nesta análise foi correlacionado o parâmetro farmacocinético t_{lag} com o parâmetro de início da desintegração mensurado pelo sistema BAC multissensor. Na Figura 18 é apresentada esta correlação, através de uma regressão linear dos parâmetros.

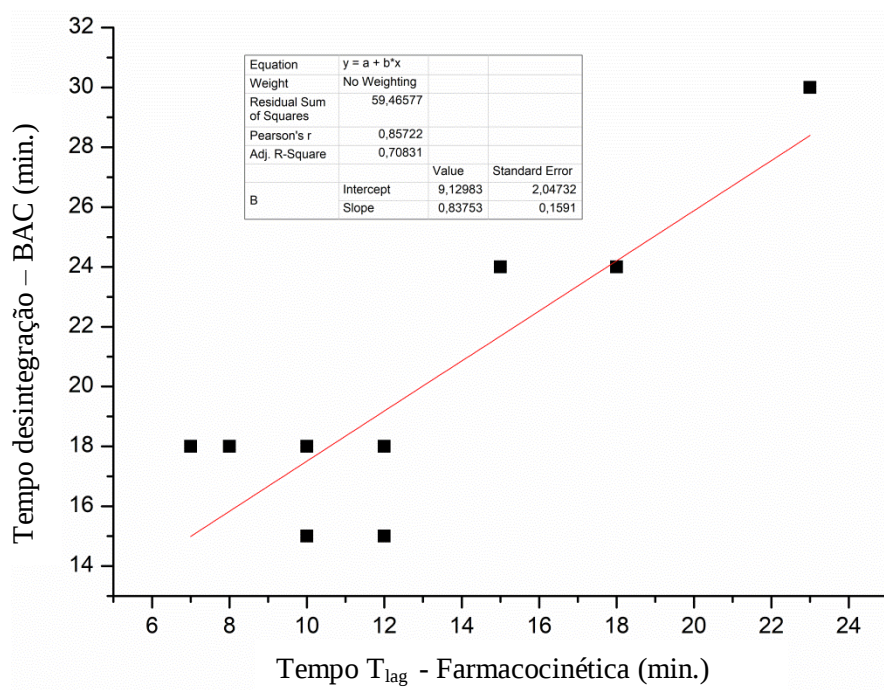


Figura 18: Regressão Linear de correlação do parâmetro farmacocinético t_{lag} com o parâmetro de Tempo de Desintegração adquirido pelo sistema BAC multissensor.

O valor do coeficiente de correlação da regressão linear foi de $R^2 = 0,85722$. Este valor indica que existe uma relação direta entre os parâmetros. O processo que antecede a liberação do fármaco é a desintegração do comprimido, que se fragmenta em partículas menores, deixando assim o fármaco disponível para se dissolver na solução gástrica, e posterior, absorção pela mucosa do TGI. O processo de desintegração e absorção são processos tempo-dependentes, cuja ordem só pode acontecer em um único sentido. O sistema BAC multissensor foi capaz de identificar o comprimido magnético revestido no interior do estômago, e também o início do processo de desintegração *in vivo*.

Sendo assim, com a análise magnetofarmacocinética foi possível identificar que o fármaco foi absorvido no sangue em média 7,31 minutos após o comprimidos se desintegrar. Uma forma de avaliar a concordância destes dois parâmetros adquiridos por métodos diferentes é através da análise de concordância de Bland-Altman. Na Figura 19 é apresentado o resultado desta análise.

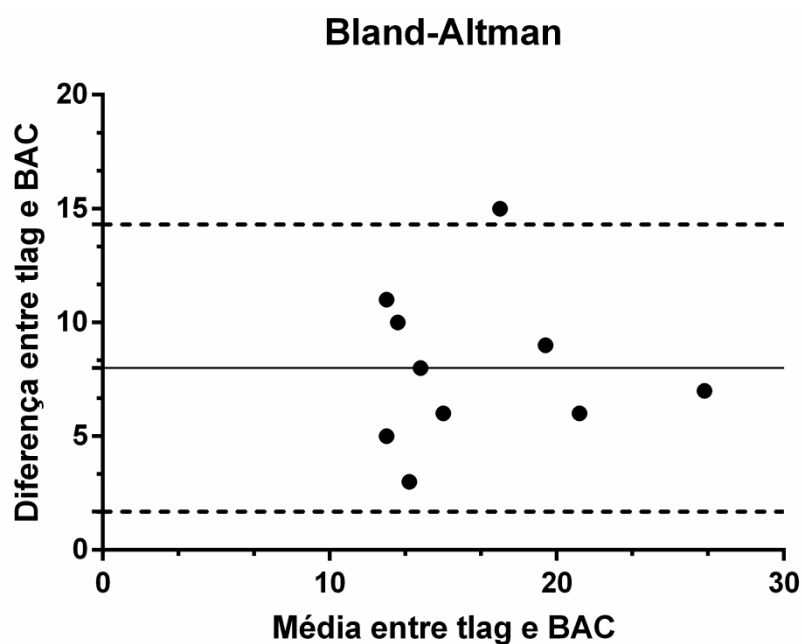


Figura 19: Análise de concordância de Bland-Altman para os parâmetros t_{lag} e tempo do início da desintegração.

Ao analisar o gráfico de Bland-Altman para os parâmetros de t_{lag} e tempo de início da desintegração, podemos notar que somente 1 ponto está deslocado para dois desvios padrão. Isso demonstra uma forte correlação entre os parâmetros, tendo a análise magnetofarmacocinética com a BAC e parâmetros farmacocinéticos em concordância com os eventos de liberação e absorção do fármaco.

4.6.3. Magnetofarmacocinética do Tratamento com Omeprazol

Para a análise magnetofarmacocinético do tratamento com Omeprazol, os resultados dos voluntários foram separados em dois grupos, sendo o Grupo 1 os voluntários cujos os parâmetros farmacocinéticos (Tabela 8) deram valores nulos. O Grupo 2 são os resultados dos voluntários cujos os parâmetros farmacocinético (Tabela 8) deram valores diferente de zero. Esta separação dos grupos coincidiu com os realizados no item 4.6.1., mostrando uma forte correlação entre os resultados magnéticos realizados com os sistemas BAC e com os parâmetros farmacocinéticos.

Na tabela 12 são apresentados os resultados médios de todos os parâmetros farmacocinéticos, juntos com os respectivos resultados obtidos com os sistemas BAC para a análise magnetofarmacocinética.

Tabela 12: Parâmetros farmacocinéticos e parâmetros magnéticos obtidos para os voluntários antes e após o tratamento com omeprazol. Os dados estão expressos como média $\pm$ desvio padrão.

	Tratamentos	t_{lag} (min)	t_{max} (min)	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	AUC_{0-30} ($\mu\text{g.min/mL}$)	AUC_{0-60} ($\mu\text{g.min/mL}$)	AUC_{0-300} ($\mu\text{g.min/mL}$)	Início da Desintegração	Retenção
Grupo 1	Placebo	21,00 ^a $\pm 6,00$	120,00 ^c $\pm 21,21$	2,02 ^d $\pm 0,47$	7,35 ^e $\pm 4,92$	41,16 ^g $\pm 14,52$	441,48 ⁱ $\pm 98,45$	13,80 ^j $\pm 6,42$	NSA
	Omeprazol	0	0	0	0,00	0,00	0,00	i	47,00 $\pm 17,18$
Grupo 2	Placebo	18,00 ^a $\pm 3,00$	111,43 ^c $\pm 22,68$	2,28 ^d $\pm 0,54$	9,92 ^e $\pm 5,69$	43,90 ^g $\pm 22,06$	522,22 ⁱ $\pm 105,21$	11,14 ^j $\pm 2,48$	NSA
	Omeprazol	47,57 ^b $\pm 47,51$	141,00 ^c $\pm 53,98$	2,29 ^d $\pm 0,57$	4,67 ^f $\pm 2,96$	26,04 ^h $\pm 16,29$	502,74 ⁱ $\pm 140,99$	36,43 ^k $\pm 38,91$	NSA

t_{lag} , Tempo para início da Absorção; $C_{m\acute{a}x}$, Concentração máxima; $t_{m\acute{a}x}$, Tempo de Concentração máxima; AUC_{0-t} , a quantificação da área sob a curva no intervalo de tempo 0 até t.

Sobrescrito nos valores com letras diferentes representam diferença significativa com $p < 0,05$.

“NSA”, não se aplica; e “i”, comprimido integro.

Para os participantes elencados no grupo I (n=5), os parâmetros farmacocinéticos obtidos após a administração do omeprazol foram nulos, ou seja, não foi possível obter o perfil de concentração plasmática do metronidazol. Esses achados corroboram os dados magnéticos da qual o comprimido não desintegrou, fortalecendo a hipótese que o tratamento com o omeprazol interferiu no processo de dissolução do revestimento, impedindo que o comprimido se desintegrasse e liberasse o fármaco para absorção.

Por outro lado, nos participantes elencados no grupo 2 (n=7), foi possível obter valores de t_{lag} , t_{max} e Início da Desintegração com diferenças significativas, indicando um possível atraso na liberação do fármaco. Entretanto, os parâmetros t_{max} , C_{max} e AUC_{0-300} não foram diferentes, indicando que, mesmo com o atraso na liberação do fármaco, resultante da alteração do pH provocado pelo omeprazol, o comprimido magnético liberou todo o metronidazol e este foi absorvido. Este achado é evidenciado pela AUC_{0-300} , que indica que ocorreu a absorção na mesma extensão antes e após o uso do omeprazol. Comparando-se C_{max} e AUC_{0-300} entre os grupos, não verificou-se uma diminuição na extensão da absorção do fármaco.

Nossos achados apontam para um forte indicativo de que o pH no ambiente intragástrico estava menos ácido em decorrência do tratamento com o omeprazol. O tratamento diário com baixas doses de omeprazol (20 mg), por via oral, pode aumentar significativamente o pH intraluminal gástrico, chegando a atingir 4,0, por mais de 8 horas, na maioria dos pacientes avaliados em estudos desta natureza (MULLIN *et al.*, 2009). De maneira geral, a supressão crônica do ácido gástrico com uso de inibidores de bomba de prótons é bem tolerada, com poucos efeitos colaterais clinicamente evidentes (SAVARINO *et al.*, 2009).

5. Conclusão

A abordagem magnetofarmacocinética (MgPK) empregada neste estudo, de forma inédita, contribui para avaliar criticamente o comportamento de uma forma farmacêutica sólida frente a um meio complexo como o TGI do homem. Muito embora os ensaios *in vitro* sejam bem estabelecidos e reconhecidos como ferramentas indispensáveis para o controle de qualidade de uma formulação, nenhum teste é capaz de simular, perfeitamente, as condições encontradas *in vivo* (McConel 2008). Falhas na liberação do fármaco, decorrentes ou não da formulação, podem resultar em falhas terapêuticas.

É importante destacar que o TGI é influenciado por uma série de fatores que incluem desde o estado prandial, doenças e a co-administração de fármacos, que podem alterar a fisiologia e, desta forma, interferir com os processos farmacêuticos (HATTON *et. al.*, 2018). Portanto, abordagens que permitem avaliar o comportamento da forma farmacêutica, desde a localização em um determinado segmento, até as etapas envolvidas na liberação do princípio ativo da formulação associadas ao monitoramento do perfil farmacocinético, podem contribuir para ampliar o conhecimento para melhorar a farmacoterapia pela via oral. É neste contexto que a MgPK se destaca, especialmente porque utiliza a BAC, uma técnica biomagnética não invasiva, livre de radiação e que não interfere na fisiologia do TGI.

6. Referências

- ALTREUTER, D.; KIRTANE, A. R.; GRANT, T.; KRUGER, C.; TRAVERSO, G.; BELLINGER, A. *Changing the pill: developments towards the promise of an ultra long-acting gastroretentive dosage form*. Exp. Op. Drug Deliv., v. 15, p. 1189-1198, 2019.
- AUGUSTIJINS, P.; WUYTS, B.; HENS, B.; ANNAERT, P.; BUTLER, J.; BROUWERS, J. A *review of drug solubility in human intestinal fluids: Implications for the prediction of oral absorption*. Eur. J. Pharm. Sci., v. 57, p. 322-332, 2014.
- BELLIA, G. F.; RAMIREZ, G. G.; BARON, M. G.; CROXTON, R.; RODRIGUEZ, J. G. *Analysis of omeprazole and esomeprazole obtained from traditional pharmacies and unlicensed internet websites using Raman spectroscopy, 1H-NMR and chemometric analysis*. Vib. Spect., v. 106, 2020.
- BERGSTRÖM, C. A. S.; HOLM, R.; JORGENSEN, S. A.; ANDERSSON, S. B. E.; ARTURSSON, P.; BEATO, S.; BORDE, A.; BOX, K.; BREWSTER, M.; DRESSMAN, J.; FENG, K. I.; HALBERT, G.; KOSTEWICZ, E.; McALLISTER, M.; MUENSTER, U.; THINNES, J.; TAYLOR, R.; MULLERTZ, A. *Early pharmaceutical profiling to predict oral drug absorption: Current status and unmet needs*. Eur. J. Pharm. Sci., v. 57, p. 173-199, 2014.
- BILLANY, M. *Suspensions and emulsion*. In: AULTON, M. E. *The Science of Dosage Form Design*. Ed. Pharmaceutics, 2nd ed., p. 340-342, 2002.
- BORODKIN, S.; SUNDBERG, P. *Polycarboxylic acid ion-exchange resin adsorbates for taste coverage in chewable tablets*. J. Pharm. Sci., v. 60, p. 1523-1527, 1971.
- COLESTIPOL, *Clinical Pharmacology*. Gold Standard Multimedia (<http://www.cp.gsm.com>, accessed on Feb 3, 2004), 2000.
- 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.
- COSTA, P. *An alternative method to the evaluation of similarity factor in dissolution testing*. Int. J. Pharm., v. 22, p. 77-83, 2001.
- DARJI, M. A.; LALGE, R. M.; MARATHE, S. P.; MULAY, T. D.; FATIMA, T.; ALSHAMMARI, A.; LEE, H. K.; REPKA, M. A.; MURTHY, S. N. *Excipient Stability in Oral Solid Dosage Forms: A Review*. AAPS Pharm. Sci. Tech., vol. 19, 2018.
- DEBOTTON, N.; DAHAN, A. *Applications of Polymers as Pharmaceutical Excipients in Solid Oral Dosage Forms*. Inc. Med. Res. Rev., v. 37, p. 52-97, 2017.

- DRESSMAN, J. B.; BERARDI, R. R.; DERMENTZOGLOU, L. C.; RUSSELL, T. L.; SCHMALTZ, S. P.; BARNETT, J. L.; JARVENPAA, K. M. *Upper gastrointestinal (GI) pH in young, healthy men and women*. Pharm. Res., v. 7, p. 756–761, 1990.
- DRESSMAN, J. B.; VERTZONI, M.; GOUMAS, K.; REPPAS, C. *Estimating drug solubility in the gastrointestinal tract*. Adv. Drug Deliv. Rev., v. 59, p. 591-602, 2007.
- EFENTAKIS, M.; DRESSMAN, J. *Gastric juice as a dissolution medium: surface tension and pH*. Eur. J. Drug Metab. Pharm., v. 23, p. 97–102, 1998.
- Farooq, U.; Khan, S.; Nawaz, S.; Ranjha, N. M.; Haider, M. S.; Khan, M. M.; Dar, E.; Nawaz, A. *Enhanced gastric retention and drug release via development of novel floating microspheres based on Eudragit E100 and polycaprolactone: synthesis and in vitro evaluation*. Des. Mono. Polym., v. 20, p. 419-433, 2017.
- GAO, Z.; NGO, C.; YE, W.; RODRIGUEZ, J. D.; KEIRE, D.; SUN, D.; WEN, H.; JIANG, W. *Effects of Dissolution Medium pH and Simulated Gastrointestinal Contraction on Drug Release From Nifedipine Extended-Release Tablets*. J. Pharm. Sci, p.1-6, 2018.
- JIMENEZ-KAIRUZ, A. F.; ALLEMANDI, D. A.; MANZO, R. H. *Equilibrium properties and mechanism of kinetic release of metoclopramide from carbomer hydrogels*. Int. J. Pharm., v. 250, p. 129-136, 2003.
- JIMENEZ-KAIRUZ, A. F.; ALLEMANDI, D. A.; MANZO, R. H. *The improvement of aqueous chemical stability of a model basic drug by ion pairing with acid groups of polyelectrolytes*. Int. J. Pharm., v. 269, p. 149-156, 2004.
- JIMENEZ-KAIRUZ, A. F.; LLABOT, J. M.; ALLEMANDI, D. A.; MANZO, R. H. *Swellable drug-polyelectrolyte matrices (SDPM): characterization and delivery properties*. Int. Pharm., v. 288, p. 87-99, 2005.
- JUNG, J. Y.; YOO, S. D.; LEE, S. H.; KIM, K. H.; YOON, D. S.; LEE, K. H. *Enhanced solubility and dissolution rate of itraconazole by a solid dispersion technique*. Int. J. Pharm., v. 187, p. 209-218, 1999.
- 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., v. 23, p. 165-176, 2006.
- KHAN, K. A. *The concept of dissolution efficiency*. J. Pharm. Pharmacol., v. 27, p. 48-49, 1975.

- KORTEJÄRVI, H.; URTTI, A.; YLIPERTTULA, M. *Pharmacokinetic simulation of biowaiver criteria: The effects of gastric emptying, dissolution, absorption and elimination rates*. Eur. J. Pharm. Sci., v. 30, p. 155–166, 2007.
- KOSTEWICZ, E. S.; ABRAHAMSSON, B.; BREWSTER, M.; BROUWERS, J.; BUTLER, J.; CARLET, S.; DICKINSON, P. A.; DRESSMAN, J.; HOLM, R.; KLEIN, S.; MANN, J.; McALLISTER, M.; MINEKUS, M.; MUENSTER, U.; MÜLLERTZ, A.; VERWEI, M.; VERTZONI, M.; WEITSCHIES, W.; AUGUSTIJNS, P. *In vitro models for the prediction of in vivo performance of oral dosage forms*. Eur. J. Pharm. Sci., v. 57, p. 342-366, 2014.
- KOSTRZEWSKA, M.; SIERGIEJKO, A. S.; OLSZANSKA, D.; JURKOWSKA, G.; GARLEY, M.; WRONA, W. R.; JABLONSKA, E.; JAMIOLKOWSKI, J.; DABROWSKI, A. *The effect of omeprazole treatment on the gut microflora and neutrophil function*. Cl. Res. Hepat. Gastroent., v. 41, p. 575-584, 2017.
- KUSHCHEVSKAYA, N. F. *Use of ferromagnetic particles in medicine*. Pow. Metall. Met. Cer., vol. 36, p. 11-12, 1997.
- LENNERNÄS, H.; AARONS, L.; AUGUSTIJNS, P.; BEATO, S.; BOLGER, M.; BOX, K.; BREWSTER, M.; BUTLER, J.; DRESSMAN, J.; HOLM, R.; FRANK, K. J.; KENDALL, R.; LANGGUTH, P.; SYDOR, J.; LINDAHL, A.; McALLISTER, M.; MUENSTER, U.; MÜLLERTZ, A.; OJALA, K.; PEPIN, X.; REPPAS, C.; HODJEGAN, A. R.; VERWEI, M.; WEITSCHIES, W.; WILSON, C.; KARLSSON, C.; ABRAHAMSSON, B. *Oral biopharmaceutics tools – Time for a new initiative – An introduction to the IMI project OrBiTo*. Eur. J. Pharm. Sci., v. 57, p. 292-299, 2014.
- LI, C.; WANG, J.; WANG, Y.; GAO, H.; WEI, G.; HUANG, Y.; YU, H.; GAN, Y.; WANG, Y.; MEI, L.; CHEN, H.; HU, H.; ZHANG, Z.; JIN, Y. *Recent progress in drug delivery*. Ch. Pham. Ass., v. 9, p. 1145-1162, 2019.
- LINDAHL, A.; UNGELL, A. -L.; KNUTSON, L.; LENNERNÄS, H. *Characterization of fluids from the stomach and proximal jejunum in men and women*. Pharm. Res., v. 14, p. 497–502, 1997.
- MADERUELO, C.; LANOVA, J. M.; ZARZUELO, A. *Enteric coating of oral solid dosage forms as a tool to improve drug bioavailability*. Eur. J. Pharm. Sci., v. 138, 2019.
- 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.
- MOORE, J. W.; FLANNER, H. H. *Mathematical comparison of dissolution profiles*. Pharm. Tech., v. 20, p. 64-74, 1996.

- MULLIN, J. M.; GABELLO, M.; MURRAY, L. J.; FARRELL, C. P.; BELLOWS, J.; WOLOV, K. R.; KEARNEY, K. R.; RUDOLPH, D.; THORNTON, J. J. *Proton pump inhibitors: actions and reactions*. Drug Dis. Tod. v. 14, p. 647-660, 2009.
- PEDERSEN, B. L.; MÜLLERTZ, A.; BRONSTED, H.; KRISTENSEN, H. G. *A comparison of the solubility of danazol in human and simulated gastrointestinal fluids*. Pharm. Res., v. 17, p. 891-894, 2000.
- PEIN, M.; PREIS, M.; ECKERT, C.; KIENE, F. E. *Taste-masking assessment of solid oral dosage forms – A critical review*. Int. J. Pharm., v. 465, p. 239-254, 2014.
- PEDERSEN, P. B.; VILMANN, P.; BAR-SHALOM, D.; MULLERTZ, A.; BALDURSDOTTIR, S. *Characterization of human fasted gastric fluid for relevant rheological parameters and gastric lipase activities*. Eup. J. Pharm. Biopharm., v. 85, p. 958-965, 2013.
- PIRES, D. W. *Influência da Motilidade Gastrintestinal no Processo de Desintegração de Comprimidos*. 2016. 58f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.
- POONGOTHAI, S.; BALAJI, V.; MADHAVI, B.; RAJASEKBAR, R.; ILAVARASAN, R.; KARRUNAKARAN, C. M. *A sensitive dissolution test method for the development and validation of levetiracetam tablets by reverse phase-HPLC technique*. Int. J. Pharm. Tech Res., v. 3, p. 1023-1032, 2011.
- QUINTEROS, D. A.; RIGO, V. R.; JIMENEZ-KAIRUZ, A. F.; OLIVEIRA, M. E.; MANZO, R. H.; ALLEMANDI, D. A. *Interaction between a cationic polymethacrylate (Eudragit E100) and anionic drugs*. Eur. J. Pharm. Sci., v. 33, p. 72-79, 2008.
- RIGO, M. V. R.; ALLEMANDI, D. A.; MANZO, R. H. *Swellable drug-polyelectrolyte matrices (SDPM) of alginic acid: Characterization and delivery properties*. Int. Pharm., v. 322, p. 36-43, 2006.
- RIGO, M. V. R.; OLIVEIRA, M. E.; RUBIO, M.; MANZO, R. H. *Enhanced intestinal permeability and oral bioavailability of enalapril maleate upon complexation with the cationic polymethacrylate Eudragit E100*. Eur. J. Pharm. Sci., v. 55, p. 1-11, 2014.
- RONCHI, F.; SERENO, A.; PAIDE, M.; SACRÉ, P.; GUILLAUME, G.; STÉPHENNE, V.; GOOLE, J.; AMIGHI, K. *Development and evaluation of an omeprazole-based delayed-release liquid oral dosage form*. Int. J. Pharm., v. 567, 2019.
- SAVARINO, V.; DI MARIO, F.; SCARPIGNATO, C. *Proton pump inhibitors in GORD: An overview of their pharmacology, efficacy and safety*. Pharm. Res.; v. 59, p. 135-153, 2009.

- SEGREGUR, D.; FLANAGAN, T.; MANN, J.; MOIR, A.; KARLSSON, E. M.; HOCH, M.; CARLILE, D.; JEANNE, S. S.; DRESSMAN, J. *Impact of Acid-Reducing Agents on Gastrointestinal Physiology and Design of Biorelevant Dissolution Tests to Reflect These Changes*. J. Pharm. Sci., p. 1-17, 2019.
- SILCHENKO, S.; NESSAH, N.; LI, J.; LI, L. B.; HUANG, Y.; OWEN, A. J.; HIDALGO, I. J. *In vitro dissolution absorption system (IDAS2): Use for the prediction of food viscosity effects on drug dissolution and absorption from oral solid dosage forms*. Eur. J. Pharm. Sci., v. 143, 2020.
- THWALA, L. N.; PRÉAT, V.; CSABA, N. S. *Emerging delivery platforms for mucosal administration of biopharmaceuticals: A critical update on nasal, pulmonary and oral routes*. Exp. Op. Drug Deliv., 2016.
- VILCHES, A. P.; JIMENEZ-KAIRUZ, A.; ALOVERO, F.; OLIVEIRA, M. E.; ALLEMANDI, D. A.; MANZO, R. H. *Release kinetics and up-take studies of model fluoroquinolones from carbomer hydrogels*. Int. J. Pharm., v. 246, p. 17-24, 2002.
-

Anexos

Os anexos desta seção contem trechos da metodologia desenvolvida na presente pesquisa, redigidos de forma independente com objetivo de apresentar uma descrição mais detalhada dos procedimentos descritos no tópico 3 (Materiais e Métodos). Contém informações no formato de Procedimento Operacional Padrão (POP), além de detalhes de operações e equipamentos .

A leitura dos anexos iram auxiliar ao leitor que deseja mais detalhes das atividades desenvolvidas no trabalho de pesquisa, de modo que possibilite a produção de comprimidos magnéticos revestidos, além da reprodução dos resultados apresentados.

Anexo 1

Comprimidos Magnéticos

Os comprimidos magnéticos foram produzidos através do método de fabricação de compressão direta, na qual cada excipiente foi pesado individualmente em uma balança analítica e, em seguida, transferido em um cadinho para ser misturado manualmente com pistilo para obter uma formulação homogênea. Na tabela 1 é descrito com detalhes a quantidade de cada excipiente utilizado na formulação do comprimido magnético.

Tabela 01: Composição dos comprimidos magnéticos.

Material	Fornecedor	(%)	g/dose
Ferrita (Fe_2MnO_4 ; $90 < \phi < 125 \mu\text{m}$)	Imag	50,00	0,500
Metronidazol	Audaz	10,00	0,100
Celulose Microcristalina	Blanver	30,00	0,300
Estearato de Magnésio	Henrifarma	1,00	0,010
Aerosil®	Evonik Degussa GmbH	5,00	0,050
Explosol	Blanver	4,00	0,040
TOTAL		100,00	1,000

A quantidade total de excipiente foi o equivalente para produzir 150 comprimidos magnéticos por lote. Após o processo de homogeneização dos excipientes, foi pesado a quantidade de 1 g da mistura para, em seguida, ser colocado em um conjunto de matriz e punção de 12 mm para o processo de compressão com força de compressão de 30 kN através de uma prensa manual MA-90. Cada comprimido passa por uma inspeção visual para avaliar se a superfície dos comprimidos está isentos de

porosidade ou fissuras nas bordas. Na figura 1 é apresentado o comprimido obtido após o processo de compressão.



Figura 01: Comprimido magnético após processo de compressão manual

Todos os comprimidos produzidos foram acomodados em cartelas tipo blíster e emblistados em uma maquina emblistadora (Tepron, São Paulo, Brasil) e armazenados em local limpo com temperatura ambiente, livre de luz e humidade.

Características dos excipientes

Ferrita

A busca por materiais particulados que tenham propriedades ferromagnéticas para a aplicação em estudos de marcação magnética é de grande interesse para aplicações na medicina e na biologia, já que possibilita investigar o deslocamento destes materiais no organismo, bem como estudos relacionados a parâmetros do trato gastrointestinal. Para que isso seja possível, este material deve atender uma combinação de propriedades tais como: alto teor de ferro metálico, não pirofórico, hidrofóbico, alta dispersão, resistente à corrosão, bactericida e alta superfície específica.

Existem diversas formas de dosagem contendo estes materiais com propriedade ferromagnética, da qual atente estas características para emprego de estudos em

sistemas biológicos, como por exemplo, fluidos magnéticos, suspensões, pomadas, microcápsulas, supositórios e adesivos. Portanto estas formas de dosagem contém geralmente ferro metálico, óxidos de ferro ou ferrita de várias estruturas na forma solida (pó micro particulado) em suspensão em soluções (nanopartículas magnéticas).

Estudos na área de aplicações de formas de dosagem contendo partículas com propriedades ferromagnéticas foram realizados visando suas aplicabilidades na medicina, assim como para verificar sua confiabilidade ao aplicar em sistemas biológicos. Nestes estudos verificou-se que a aplicação de composições à base de ferro na forma de pó ou na forma de dispersões líquidas e/ou pastosas em aplicações repetidas não foi observado efeitos tóxicos agudos, alergênicos ou irritação local e não houveram efeitos negativos no funcionamento de órgãos ou em sistemas vitais (KUSHCHEVSKAYA, 1997).

A ferrita em pó é o material magnético que contem a característica de marcador magnético, pois possui uma alta resposta quando submetida a um campo magnético, ou seja, alta susceptibilidade magnética, além de ser inerte e não ser absorvida pelo TGI. Portanto, tendo a ferrita características de material com propriedade ferromagnética é possível investigar através de técnicas biomagnéticas o deslocamento deste material ao longo de todo trato, podendo assim realizar estudos de parâmetros de trânsito destes materiais e o tempo de retenção nos segmentos do trato, bem como medir o tempo de esvaziamento.

Tendo em vista estas características, a utilização de materiais com propriedade ferromagnética associados a técnicas biomagnéticas de monitoramento tem sido alvo de diversos estudos nas áreas de pesquisas farmacêuticas, utilizando a ferrita como excipiente na produção de comprimidos, denominando assim como comprimidos

magnéticos. Nestes diversos estudos realizados foi utilizado ferrita como marcador e demonstraram que este material não implica em alterações significativas nas propriedades farmacotécnicas dos comprimidos (CORÁ et al., 2003, 2005a, 2005b, 2006, 2008, 2010, 2011; MIRANDA et al., 2003, 2010).

Metronidazol

O 1-(2 hidroximetil)-2-metil-5-nitroimidazol (estrutura molecular apresentada na figura 2), conhecido como metronidazol é um fármaco derivado sintético do 5-nitromidazol. Apresenta ação anti-microbiano usado no tratamento de infecções por bactérias anaeróbicas e protozoários.

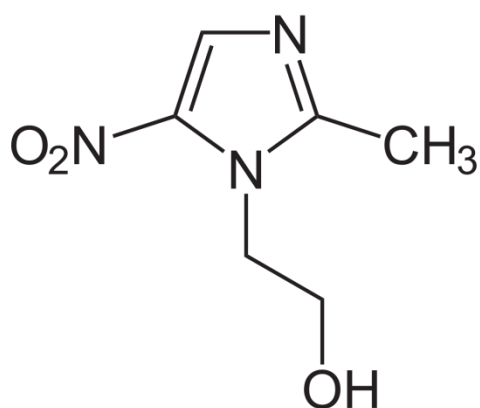


Figura 02: Estrutura molecular do Metronidazol

De acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), pertence à classe I, ou seja, fármacos que apresentam alta solubilidade e permeabilidade elevada (LIDENBERG *et al.*, 2004). É apresentado como pó cristalino inodoro, com coloração branca ou levemente amarelado, tendo ponto de fusão na faixa de 159°C a 163°C e pKa de 2,38. Possui estabilidade à temperatura ambiente e em condições normais de umidade do ar, porém sua estabilidade é comprometida quando exposto à luz do sol, podendo ficar com aparência escurecida.

Quando administrado por via oral na forma de comprimidos revestidos, sofre absorção no estômago e em segmentos proximais do intestino delgado, alcançando concentrações na faixa de 8 a 13 µg/mL no plasma após uma dose única de 500 mg, chegando a concentrações máximas na circulação na faixa de 1 a 2 horas (Goodman & Gilman, 2001). Essas características foram essenciais para a escolha desse fármaco como marcador farmacocinético nesse projeto, pois as avaliações serão realizadas para comprimidos de liberação no estômago. Além disso, já foram desenvolvidos estudos pelo grupo de pesquisa utilizando o metronidazol como fármaco modelo em comprimidos magnéticos, e os resultados demonstram que o fármaco é um bom marcador farmacocinético para a presente pesquisa pela sua boa absorção e fácil detecção na concentração sérica (PIRES, 2016; Grossklaus, 2016).

Quando administrado ao indivíduo em estado alimentado, a quantidade absorvida de metronidazol não é afetada, porém, pode reduzir os parâmetros farmacocinéticos de concentração máxima no plasma (C_{max}) e retardar o início da absorção, diminuindo assim o parâmetro de tempo para a concentração máxima (t_{max}).

O volume de distribuição do metronidazol é próximo ao volume de água corporal total, tendo pouca afinidade com as proteínas plasmáticas, estando presente de forma predominante no plasma. Sendo um pró-fármaco, necessita de ativação através da biotransformação pela redução do grupo nitro através de enzimas hepáticas microsossomais do sistema citocromo p 450. Após biotransformação, o metabólito ativo 1-(2-hidroxietil)-2-hidroximetil-5-nitroimidazol apresenta atividade antimicrobiana clinicamente significativa (Lamp et al.,1999).

A eliminação é predominantemente pela urina na forma inalterada ou na forma de metabólito ativo, sendo a meia vida do metronidazol entre 6 a 12 horas e seus

hidroximetabólito entre 6 a 18 horas, indicando que a forma ativa tem maior tempo de circulação no organismo antes de ser excretado (Hoffmann et al., 1995).

Anexo 2

Testes Farmacotécnicos

Os comprimidos foram submetidos às análises de características físicas através de ensaios farmacotécnicos de peso médio, dureza, friabilidade e desintegração, todos de acordo com os parâmetros preconizados pela Farmacopéia Brasileira (2019).

Peso Médio

O teste se aplica a formas farmacêuticas sólidas que contem dose única, tendo como objetivo verificar a uniformidade dos comprimidos após processo de produção. Junto deste teste foi avaliada a uniformidade das dimensões, através da medida do diâmetro e altura dos comprimidos. O peso médio foi calculado mediante a pesagem individual de 12 comprimidos do lote em uma balança analítica de resolução de 0,0001 g. O diâmetro e a altura foram medidas com paquímetro de resolução de 0,05 mm para os mesmos 12 comprimidos do lote. A uniformidade dos comprimidos do lote é comprovada quando os valores de peso, diâmetro e altura atingirem as diferenças mínimas, podendo-se tolerar não mais que duas unidades fora do limite de variação de $\pm 5\%$ em relação aos valores médios.

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 desintegrar e liberar o fármaco. Este teste que verifica a resistência mecânica dos comprimidos é considerado oficial dentro do contexto legal da Farmacopeia Brasileira, já que este teste contém evidências úteis na avaliação da qualidade integral dos comprimidos.

O teste se aplica a comprimidos não revestidos, já que esta característica de qualidade deve ser garantida antes de submeter o lote de comprimidos as próximas etapas, como por exemplo, a etapa de revestimento dos mesmos. O ensaio foi realizando colocando o comprimido em uma base fixa isenta de qualquer resíduo superficial e submetendo-o à ação de uma força aplicada diametralmente através de um durômetro de pistão Dr. Schleuniger-Pharmatron modelo 6D (EUA), até que a força seja o suficiente para esmagá-lo, sendo portanto considerado um teste destrutivo. A força mensurada no aparelho é dada em newtons (N) com resolução de 0,1N, sendo que a dureza mínima aceitável é de 45 N ou 4,5 kgf. O teste foi realizado em 6 comprimidos e os resultados apresentados como valor médio da dureza $\pm$ desvio padrão.

Friabilidade

Teste destrutivo que possibilita avaliar a resistência mecânica dos comprimidos a processos de abrasão, sendo determinada após submeter um conjunto de comprimidos à ação mecânica de aparelhagem específica. Assim como no ensaio de dureza, a friabilidade é realizada em comprimidos não revestidos para garantia da qualidade do lote antes dos próximos processos de produção.

A aparelhagem específica para o teste de friabilidade consiste de um cilindro de polímero sintético com faces internas polidas e de baixa atividade estática, com dimensões padronizadas de $287,0 \pm 4,0$ mm de diâmetro e $38,0 \pm 2,0$ mm de espessura (Figura 1). O cilindro rotaciona através do eixo central com velocidade que pode ser ajusta, sendo a unidade dada em rotações por minuto (rpm), por durante um tempo ajustado no temporizador. Uma das faces do cilindro é removível, e internamente ao cilindro contém uma projeção curva com raio interno de $80,5 \pm 5,0$ mm que se estende do centro até a parede externa do cilindro, possibilitando submeter o conjunto de comprimidos a uma queda de $156,0 \pm 2,0$ mm a cada ciclo de rotação.

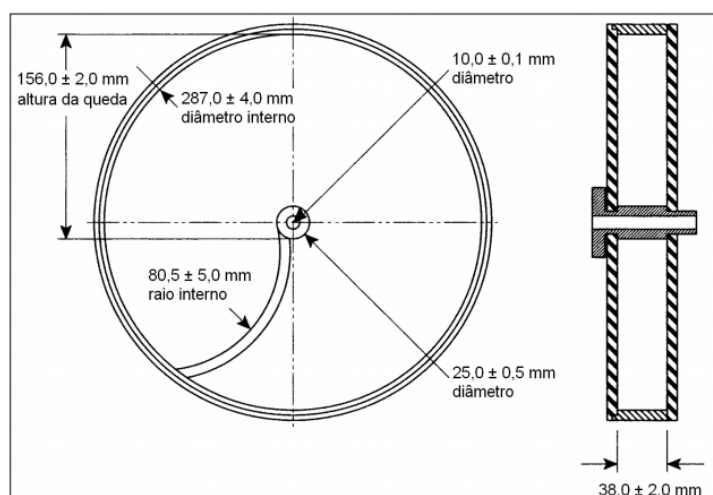


Figura 01: Especificações dimensionais do aparato para ensaio de friabilidade.

Para a realização do teste de friabilidade foi pesado com exatidão 10 comprimidos do lote produzido, para determinar o peso inicial da amostragem a ser testada. Os comprimidos foram introduzidos na aparelhagem específica para teste de friabilidade, conforme ilustrada na Figura 1, e dado início ao teste, na qual o aparelho foi ajusto para uma velocidade de 25 rpm por durante 4 minutos, submetendo assim os comprimidos a 100 ciclos de estresse a abrasão. Após os 4 minutos, os comprimidos foram retirados do aparelho e limpos de todo resíduo de pó que possa ter na superfície. É realizada uma inspeção visual nos comprimidos testado para verificar se existe algum quebrado, lascado, rachado ou partido. Caso encontra-se algum comprimido nestas condições, o lote seria reprovado no teste de qualidade de friabilidade. Caso contrário, os comprimidos são pesados novamente, e calculado a diferença do peso inicial da amostragem de comprimido em relação ao peso após teste de friabilidade. É considerado lote aprovado no teste de qualidade quando a perda de material for igual ou inferior a 1,5% do peso. Para resultados duvidosos, ou valores superiores de perda de peso, pode-se repetir o teste e o resultado da avaliação será o valor médio de três ensaios.

Desintegração

O princípio ativo contido em uma forma farmacêutica sólida será liberado para dissolução somente após o processo de desintegração do comprimido, processo que fragmenta o comprimido em partículas menores dentro de uma solução.

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.

A aparelhagem específica para o teste de desintegração consiste de um sistema de cestas e tubos que se movimenta dentro de um recipiente apropriado com uma solução gástrica/simulado de imersão. Possui um termostato para controlar e manter o líquido a temperatura constante de 37°C, simulando assim a temperatura do ambiente gástrico, e um mecanismo de movimento vertical que movimenta o sistema de cestas e tubos a uma frequência constante. O volume do líquido de imersão deverá ser suficiente para que, ao atingir o ponto mais alto do percurso, a parte inferior da cesta fique, no mínimo, a 25 mm abaixo da superfície do líquido, e que no ponto mais baixo fique, no mínimo, a 25 mm do fundo do béquer. Os movimentos ascendente e descendente deverão ter a mesma velocidade e a mudança do sentido do movimento deve ser suave.

O sistema de cesta contém 6 tubos de vidro ou acrílico transparente de comprimento de $77,5 \pm 2,5$ mm de comprimento e entre 20,7 mm a 23,00 mm de diâmetro interno e espessura de paredes de aproximadamente 2 mm. As extremidades dos tubos são abertas sendo que na extremidade inferior do tubo contem uma tela de arame de aço inoxidável de $0,635 \pm 0,030$ mm, sendo a abertura da tela de arame tem entre 1,8 a 2,2 mm. Na Figura 2 é ilustrado todos os detalhes descrito.

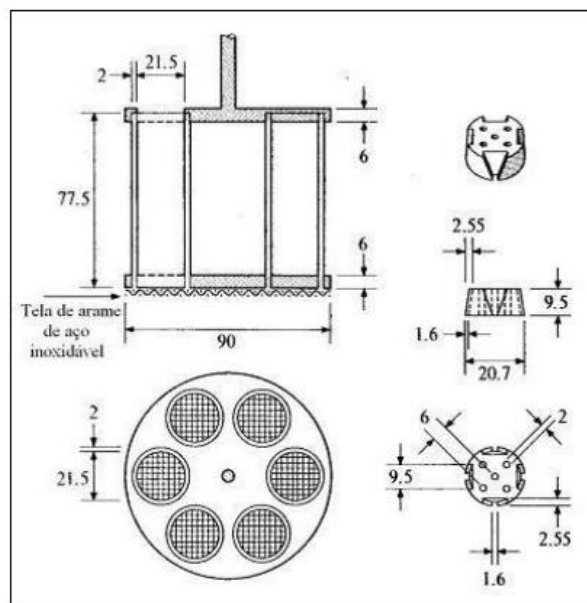


Figura 02: Especificações dimensionais do aparato para ensaio de desintegração.

O ensaio de desintegração foi realizado com seis comprimidos do lote produzido, e a solução utilizada no teste foi meio gástrico simulado (HCl 0,1 N; pH = 1,2 a $37^{\circ}\text{C} \pm 1,0$). Os comprimidos foram inseridos em cada tubo e posteriormente dado início ao movimento mecânico vertical do sistema. Para os fins do teste, a desintegração do comprimido é definida como o estado no qual nenhum resíduo dos comprimidos permanece na tela metálica dos tubos. O limite de tempo estabelecido como critério geral para a desintegração de comprimidos não revestidos é de 30 minutos, a menos que indicado de maneira diferente na monografia individual.

Dissolução

Após as etapas que envolvem os processos de liberação do fármaco de um comprimido, o último processo antes da absorção é a dissolução do fármaco na solução intragástrica. Diante deste cenário é de suma importância aplicar algum método que seja capaz de determinar o perfil de dissolução do fármaco de forma discritiva.

O teste de dissolução possibilita determinar a taxa e a quantidade de uma substância ativa dissolvida no meio de dissolução quando o comprimido é submetido a um aparato específico, sob condições experimentais controladas. O teste tem como resultado final a porcentagem do total de fármaco dissolvido após liberação em função do tempo. O teste de dissolução é considerado padrão ouro como teste de controle de qualidade, atendendo assim as exigências de monografias registradas por órgãos regulatórios.

Existem diversos aparatos para teste de dissolução, e o aparato utilizado neste estudo é o aparato USP II (método de pás). Este aparato é constituído de 3 componentes principais, sendo eles o recipiente, a haste e o motor.

O recipiente tem forma cilíndrica e fundo hemisférico, também denominado de cuba, de vidro boro silicato, podendo ter uma tampa de material transparente e que possibilite aberturas para o eixo do agitador e para coletas. As dimensões da cuba são de 185 ± 25 mm de altura e 102 ± 4 mm de diâmetro, com capacidade de um volume de 1 litro. A haste é fabricada de aço inoxidável, podendo ser revestida com material inerte, com dimensões especificadas conforme Figura 3. Tem como finalidade a agitação da solução de dissolução de forma suave e sem desvio do eixo a uma velocidade específica e constante. O motor possibilita ajustar a velocidade de rotação da haste conforme é especificado na monografia do fármaco a ser testado, mantendo um limite de variação de não mais que $\pm 4\%$, para que não produza efeitos hidrodinâmicos indesejáveis.

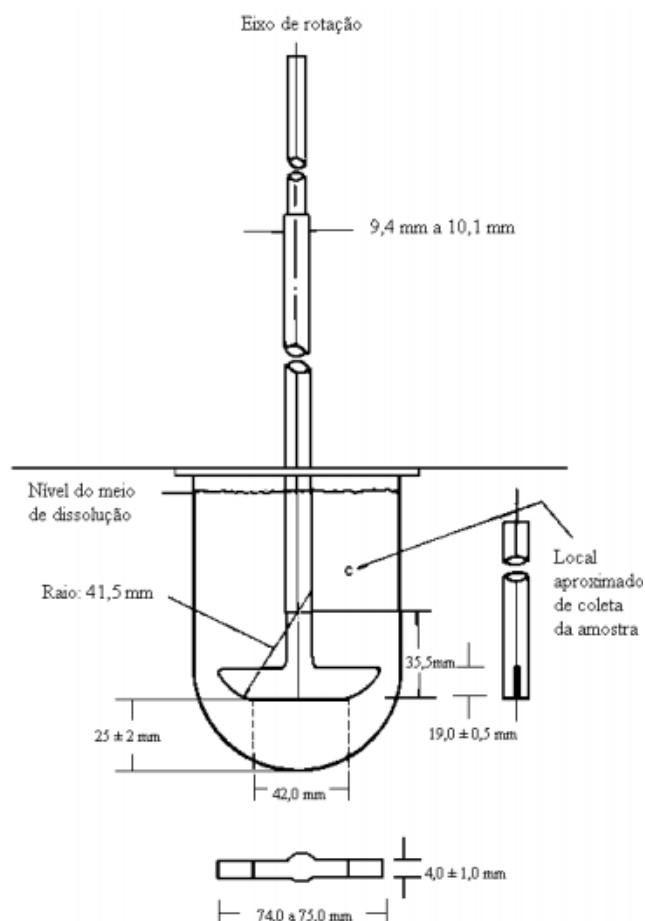


Figura 03: Especificações dimensionais do aparato para ensaio de dissolução (pás).

Procedimento do teste de dissolução

O ensaio de dissolução foi realizado para obter o perfil de liberação do metronidazol *in vitro* em meio gástrico simulado (pH=1,2; HCL 0,1N). Os ensaios foram realizados utilizando Estação de Dissolução da Nova Ética (Figura 4) de 3 cubas, com a temperatura do banho mantida a $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ em aparato USP II (pás), sob velocidade de agitação de 50 rpm, utilizando solução ácida. O ensaio foi realizado em sextuplicata, adicionando o comprimido na cuba contendo o meio gástrico simulado (900 mL) com a temperatura já condicionada, e imediatamente dada o início da contagem do tempo com um cronômetro digital. Durante o ensaio, alíquotas de 1,0 mL foram coletadas nos períodos 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 45, 60, 90, 120, 150,

180, 210 e 240 minutos e depois da coleta foi reposto a quantia de 1,0 mL de solução de meio ácido simulado na mesma cuba.



Figura 04: Aparato USP II para ensaio de dissolução desenvolvido pela Nova Ética

A concentração de Metronidazol nas amostras foi determinada através de um método analítico com espectrofotometria na região do UV com o equipamento Ultrospec 2000 UV/Visible da Pharmacia Biotech em comprimento de onda de 277 nm. No resultado final, espera-se que seja liberado no mínimo 80% do metronidazol contido no comprimido em até 60 minutos, podendo assim considerar que o lote de comprimido atende os padrões de qualidade exigidos.

Anexo 3

Revestimento

Após a aprovação dos testes farmacotécnicos os comprimidos magnéticos foram revestidos com polímero de revestimento pH dependente Eudragit[®] E-100 (Evonik) em uma única etapa utilizando uma máquina de revestimento (PCCA, Brazil) sob condições padronizadas fornecidos pela Evonik do Brasil que em colaboração forneceu o polímero de revestimento.

Procedimento de Revestimento

Na tabela 1 contem a formulação calculada para uma quantidade padrão de 1 kg de solução como suspensão por pulverização.

Tabela 01: Formulação da solução de revestimento para 1 kg de comprimidos.

Função	Ingrediente	Total a ser pesado (g)	Substância seca (g)
Polímero	Eudragit [®] E-100	62,50	62,50
Plastificante	PEG 6000 33% aquoso	18,90	6,25
Antiaderente	Talco	31,30	31,25
Solvente	Acetona	354,90	-
Solvente	Álcool Isopropílico	532,40	-
TOTAL		1000,00	100,00

O lote total dos comprimidos magnéticos foi pesado dando o total de 150 g, do qual foi acrescido de 100 g de comprimidos placebo de diâmetro de 9 mm. Devido a isso, a quantidade de peso dos ingredientes para a solução de revestimento foi calculado para 250 g de comprimidos, mais um acréscimo que seja o suficiente para que os comprimidos obtenham um aumento de peso de 6%, mais 25% de perda por

evaporação. O placebo é acrescentado ao lote neste procedimento de revestimento com o objetivo de dar volume e auxiliar na dinâmica de movimentação do conjunto na drageadeira.

As etapas de preparo da formulação para o revestimento foi a seguinte:

- Pesagem dos ingredientes nas proporções indicadas na tabela 1;
- Em um Becker foi adicionado 50% do total dos solventes e acrescentado lentamente o polímero Eudragit enquanto a solução é agitada na velocidade lenta por um mixer por durante 60 minutos (Figura 2) ou até que todo o polímero se dissolva;

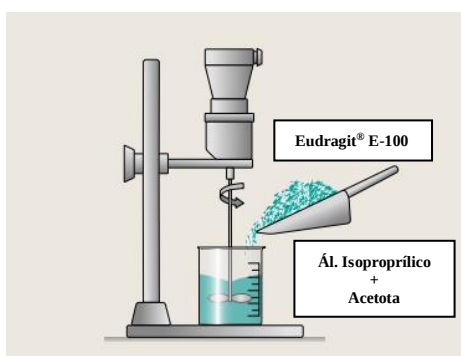


Figura 02: Esquema da primeira etapa para o preparo da solução de revestimento Eudragit E-100.

- Separadamente, em outro Becker, foi adicionado o PEG 6000 33% aquoso e o talco nos outros 50% do total de solventes e agitado com alta velocidade com o auxílio do Mixer por durante 10 minutos (Figura 3A);
- Imediatamente depois, é adicionado lentamente a solução de talco com PEG na solução contendo o Eudragit dissolvido, agitando em velocidade lenta até que se obtenha uma solução homogênea (Figura 3B);
- Em seguida, a solução final é filtrada em filtro de 0,5 mm (Figura 3C) e armazenada no recipiente da pistola de pulverização.

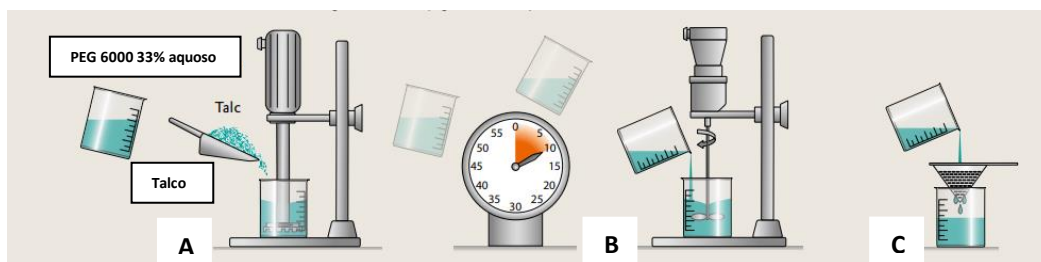


Figura 03: Esquema da segunda etapa para o preparado da solução de revestimento Eudragit E-100.

Enquanto é feito o procedimento de preparo da solução de revestimento, os comprimidos magnéticos junto com os placebos são colocados na drageadeira e pré-aquecidos por um sistema de insuflador a temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Após o preparo da solução, esta deve ser aplicada imediatamente nos comprimidos a serem revestidos.

O procedimento de aplicação da solução de revestimento foi realizado de forma manual seguindo os seguintes passos:

- Ajustar a pressão de atomização da pistola pulverizadora entre 1,5 a 2,0 bar;
- Aplicar a solução na superfície dos comprimidos a uma distância entre 7 a 10 cm enquanto a drageadeira estiver movimentando os comprimidos (Figura 4);
- A cada 15 minutos é retirado uma amostra de 5 comprimidos para pesagem;
- Retornar os comprimidos pesados na drageadeira e continuar a aplicação da solução de revestimento;
- Finalizar o procedimento quando os comprimidos obtiverem um ganho de peso de 6% do peso inicial.



Figura 04: Posição da drageadeira e da pistola de atomização da solução de revestimento durante o processo de aplicação manual da película de revestimento.

Durante o processo de revestimento foi medido a temperatura dos comprimidos para garantir que os mesmo estão aquecidos entre 30°C a 40°C com um termômetro digital a laser modelo ST600 da Mira Laser. Quando os comprimidos atingiram ganho de 6% do peso inicial, estes foram alocados em uma estufa a temperatura de 40°C e ficaram por 24 horas para secagem e maturação do polímero aplicado.

No dia anterior, os comprimidos foram avaliados visualmente quanto ao acabamento, verificando se a camada de revestimento esta uniforme, com ausência de fissuras e/ou bolhas. Em seguida, estes passam por um teste simples de dissolução do revestimento, que consistiu em colocar uma amostra de 10 comprimidos do lote revestido em um Becker com água destilada, mantida em banho-maria a temperatura de 37°C e pH 7,0. O objetivo do teste é verificar se o revestimento ficará intacto após 48 horas imerso em água. Passado às 48 horas, se o revestimento não for dissolvido e o comprimido estiver intacto, o lote de comprimido magnético revestido é aprovado, e emblistado para serem armazenado em ambiente fechado para prosseguir com a pesquisa. Caso contrário, se o revestimento se dissolver e o comprimido desintegrar, todo o lote é reprovado e descartado, e um novo lote de comprimido magnético é

produzido, e passam por todos os procedimentos de teste farmacotécnico de qualidade e revestimento.

Anexo 4

Preparo das soluções tampão de dissolução

Solução Padrão meio gástrico simulado HCl 0,1 N de pH 1,2

Em um Becker foi acrescentado aproximadamente 800 ml de água deionizada. Em seguida, foi pesado 2 g de cloreto de sódio (NaCl) na balança analítica. O sal foi dissolvido nos 800 ml de água com o auxílio de um agitador magnético. Na capela, foi adicionado 7,250 mL de ácido clorídrico (HCl) no Becker contendo a água com o sal, e medido o pH. Caso o pH não estivesse em 1,2, foi acertado acrescentado HCl. Com a solução em pH 1,2, a mesma foi transferida para um balão volumétrico de 1 L e completado o balão com água deionizada. A produto final obtido é uma solução tampão de ácido clorídrico de pH 1,2.

Solução Tampão Ácido Clorídrico pH 2,0

Em um Becker foi acrescentado aproximadamente 800 ml de água deionizada. Em seguida, foi pesado 3,800 g de cloreto de potássio (KCl) na balança analítica. O sal foi dissolvido nos 800 ml de água com o auxílio de um agitador magnético. Na capela, foi adicionado 2,500 mL de ácido clorídrico (HCl) no Becker contendo a água com o sal, e medido o pH. Caso o pH não estivesse em 2,0, foi acertado acrescentando HCl. Com a solução em pH 2,0, a mesma foi transferida para um balão volumétrico de 1 L e completado o balão com água deionizada. A produto final é uma solução tampão de ácido clorídrico de pH 2,0.

Solução Tampão Acetato pH 3,0

Em um Becker foi acrescentado aproximadamente 800 ml de água deionizada. Em seguida, foi pesado 0,145 g de acetato de sódio ($C_2H_3NaO_2$) na balança analítica. O sal foi dissolvido nos 800 ml de água com o auxílio de um agitador magnético. Na

capela, foi adicionado 8 mL de ácido acético glacial (CH_3COOH) no Becker contendo a água com o sal, e medido o pH. Caso o pH não estivesse em 3,0, foi acertado acrescentando ácido acético glacial. Com a solução em pH 3,0, a mesma foi transferida para um balão volumétrico de 1 L e completado o balão com água deionizada. A produto final é uma solução tampão acetato de pH 3,0.

Solução Tampão Acetato de sódio pH 4,5

Em um Becker foi acrescentado aproximadamente 800 ml de água deionizada. Separadamente foi obtido uma solução de hidróxido de sódio 50% (NaOH) pesando o sal e a água em uma balança analítica nas mesmas proporções. Em seguida, foi adicionado 2 mL de hidróxido de sódio 50% nos 800 ml de água e homogeneizados com o auxílio de um agitador magnético. Na capela, foi adicionado 2,400 mL de ácido acético glacial (CH_3COOH) no Becker contendo a água com o hidróxido de sódio, e medido o pH. Caso o pH não estivesse em 4,5, foi acertado acrescentando ácido acético glacial para diminuir o pH ou o hidróxido de sódio 50% para aumentar o pH. Com a solução em pH 4,5, a mesma foi transferida para um balão volumétrico de 1 L e foi completado o balão com água deionizada. A produto final é uma solução tampão de acetato de sódio de pH 4,5.

Solução Tampão Fosfato pH 6,0

Em um Becker foi acrescentado aproximadamente 800 ml de água deionizada. Separadamente foi pesado 1,183 g de hidróxido de sódio e dissolvido em 148 mL de água para obter uma solução de hidróxido de sódio de concentração 0,2 M (molar). Em seguida, foi adicionado 40 mL de hidróxido de sódio 0,2 M nos 800 ml de água e homogeneizados com o auxílio de um agitador magnético. Na capela, foi adicionado 6,8 g de fosfato de potássio (KH_2PO_4), agitado até se dissolver completamente, e medido o pH. Caso o pH não estivesse em 6,0, foi acertado acrescentando ácido fosfórico para

diminuir o pH ou acrescentado o hidróxido de sódio 50% para aumentar o pH. Com a solução em pH 6,0, a mesma foi transferida para um balão volumétrico de 1 L e completado o balão com água deionizada. A produto final é uma solução tampão fosfato de pH 6,0.

Anexo 5

Método de Análise das Curvas de Dissolução

O método utilizado para quantificar a diferença existente entre dois perfis de dissolução foi o método proposto por Moore e Flanner (1996), que são os fatores diferença (f_d ou f_1) e de similaridade (f_s ou f_2).

O fator f_1 calcula a diferença percentual entre os dois perfis de dissolução em cada ponto e é medido o erro relativo entre os dois perfis (DIAZ et al., 2016). É calculado de acordo com a fórmula abaixo:

$$f_1 = \left(\frac{\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|}{\sum_{t=1}^n R_t} \right) \cdot 100$$

onde, n = número do tempo; R_t = valor de referência da dissolução do grupo de tempo t ; T_t = valor do teste de dissolução do grupo de tempo t .

O fator f_2 é aplicado quando se deseja comparar uma medida de semelhança entre as porcentagens dissolvidas de ambos os perfis, este fator é um logaritmo recíproco da transformação da raiz quadrada da soma do erro quadrado e indica a média da similaridade da porcentagem de dissolução entre os dois perfis (DIAZ et al., 2016). É calculado de acordo com a fórmula abaixo:

$$f_2 = 50 \cdot \log \left(\frac{1}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2}{n}}} \cdot 100 \right)$$

onde, n = número do tempo; R_t = valor de referência da dissolução do grupo de tempo t ; T_t = valor do teste de dissolução do grupo de tempo t .

No caso de o fator de diferença “ f_1 ” registrar índices entre 0-15, diz-se que as formulações não diferem entre si. O fator de similaridade “ f_2 ” registra quão similares as

amostras são. Essa forma de comparação é adotada pelos guias do FDA (Food and Drug Administration, Estados Unidos) como critério de similaridade de perfil de dissolução *in vitro*. Dessa forma, quando dois perfis são idênticos, $f_2 = 100$; uma variação média de 10% contribuirá para um $f_2 = 50$. Assim, se o índice se situa entre 50-100, diz-se que os produtos são similares (XIE et al, 2015).

Outro parâmetro utilizado para análise do perfil de dissolução foi proposto por Khan e Rhodes (1972) que propuseram a eficiência de dissolução (ED) para fazer a comparação entre formulações, calculada a partir do perfil de dissolução, através do método dos trapezóides (soma da área de todos os trapézios). Determinou-se a ED através da razão entre a área sob a curva de dissolução do MT no intervalo de tempo compreendido entre zero e 45 minutos (ASC 0-45) e a área total do retângulo (ASCTR) definido pela ordenada (100% de dissolução) e pela abcissa. A ED foi expressa em porcentagem e pode ser definida pela seguinte equação:

$$ED = \frac{ASC_{0-45}}{ASC_{total}} \cdot 100$$

Anexo 6

Ensaio in vivo

As medidas foram realizadas em 12 voluntários saudáveis, em jejum de 8 horas, que não utilizem medicamentos que possam interferir com a motilidade do TGI e no pH gástrico, e ainda, que não tenham restrições quanto à administração dos fármacos propostos (condições estas avaliadas pelo médico doutor acima citado).

Pré-medida magnético com monossensor BAC

Os voluntários passaram por uma fase de teste, denominado pré-medida, com o monossensor magnético BAC que visa avaliar se é possível localizar o comprimido magnético dentro do estômago do voluntário, e registrar a localização anatômica do estômago, tendo como referência a cicatriz umbilical. No dia da pré-medida, os voluntários se apresentaram no laboratório às 8 horas da manhã, estando em regime de jejum de 8 horas.

Comprimidos magnéticos da pré-medida

O comprimido utilizado nesta pré-medida foi produzido utilizando a mesma formulação dos comprimidos magnéticos revestidos, porem não contendo o metronidazol. Após serem produzidos, os comprimidos passaram pelos mesmos testes farmacotécnicos (exceto o teste de dissolução), e quando aprovado pelos testes de controle de qualidade, foram emblistados e armazenados para posteriormente serem utilizados na pré-medida.

Procedimento experimental da pré-medida

O sistema monossensor BAC estava configurado com uma frequência de excitação de 10 kHz, e tensão de 0,7 V. Uma medida foi realizada com o monossensor BAC na região de projeção gástrica com o objetivo de obter o valor basal do sinal

magnético. Posteriormente foi administrado ao voluntário um comprimido magnético teste com o auxílio de 200 mL de água, e imediatamente após, realizado a medida com o monossensor BAC.

Uma varredura em toda projeção gástrica com o monossensor BAC foi realizado até encontrar um ponto que a intensidade de sinal magnético é máxima. Quando encontrado o valor de sinal magnético máximo, este valor é registrado em ata, bem como o valor da localização deste ponto tendo como referência a cicatriz umbilical. O valor máximo da intensidade do sinal magnético, dado em mV, deve ser no mínimo 0,700 mV. Caso este valor seja maior ou igual a 0,700 mV, o voluntário é aprovado para dar continuidade à pesquisa; caso contrário, o voluntário é dispensado e este procedimento é repetido com outros voluntários até que se tenha um número de 12 voluntários saudáveis aptos para as próximas etapas.

Fases experimental com os voluntários

Cada voluntário foi submetido ao experimento em 2 etapas, denominadas de fases I e II. Na Fase I (Controle fisiológico) foi analisado o comportamento individual frente à intervenção do procedimento experimental a partir da administração de placebo como tratamento. Na Fase II (Tratamento) o voluntário foi conduzido ao mesmo procedimento experimental da Fase I, porém neste, ele foi submetido um regime de tratamento com inibidor de bomba de prótons (Omeprazol, 80 mg) ao invés do placebo.

A Fase I e a Fase II foram realizadas no mesmo voluntário em dias distintos, já que é necessário ter um período de eliminação dos fármacos administrados e da ferrita. O período de eliminação, denominado *wash out*, pode ser definido como o tempo entre os tratamentos para o qual o efeito de uma formulação administrada em um tratamento não interfere no outro. Este período deve ser de no mínimo 10 tempos de meia-vida do

fármaco administrado. O metronidazol tem um tempo de meia-vida na faixa de 6 horas a 12 horas. Neste estudo, o período de *wash out* foi definido de no mínimo uma semana.

Procedimento experimental

Os ensaios com os voluntários foram conduzidos de modo cego e randômico seguindo o desenho experimental ilustrado na figura 1.

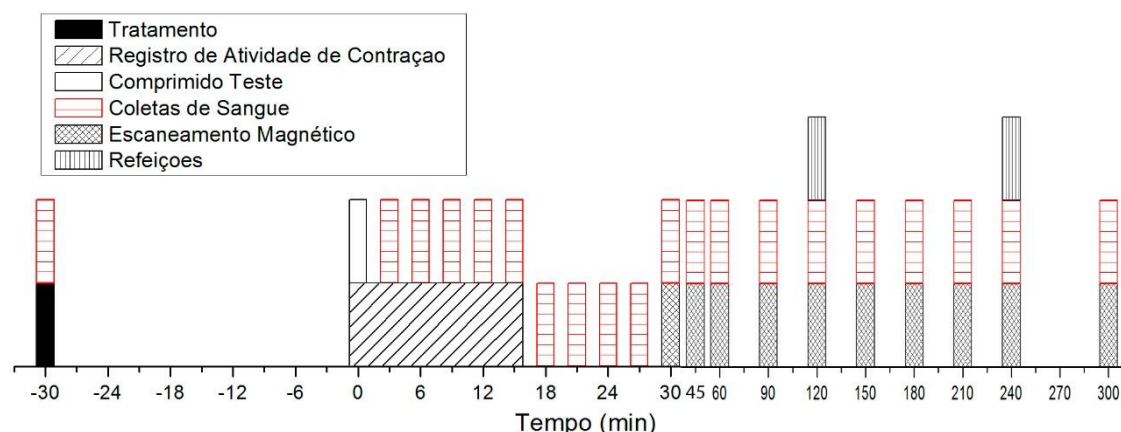


Figura 1: Diagrama do desenho experimental para medidas com voluntários. Nela consta as atividades em cara tempo. Dentre elas: administração do comprimido tratamento e do comprimido magnético, período de registro dos sinais magnéticos com o sistema BAC multissensor, tempos para os registros magnético com a BAC monossensor e os tempos para as coletas de sangue para a análise farmacocinética do metronidazol.

Fase I – Controle Fisiológico (Placebo)

Na Fase I, o voluntário recebeu um comprimido placebo para ser administrado antes de dormir, um dia antes do procedimento experimental no laboratório. No dia seguinte, presente no laboratório e em jejum de 8 horas, foi ofertado ao voluntário outro comprimido placebo com auxílio de 180 ml de água. Após 30 minutos foi administrado o comprimido magnético revestido contendo metronidazol com auxílio de 180 ml de água e dado início o monitoramento com a BAC múltissensor. O sistema de BAC multissensores foi posicionado na região de projeção gástrica (Figura 2) conforme coordenadas registradas no procedimento anterior e os sinais foram adquiridos durante 30 minutos (Figura 1). Os sinais magnéticos foram adquiridos em uma frequência de aquisição de 20 Hz empregando-se amplificadores Lock-in SR-830 (Stanford Research

Systems, Inc., Sunnyvale, CA, USA) a uma tensão de excitação de 0,07 V a uma frequência de 10 kHz. Esse monitoramento foi realizado para a obtenção da distribuição de intensidade do campo magnético em função do tempo, promovido pela ferrita. Assim, após o processamento dos sinais magnéticos, foram obtidas imagens magnéticas correspondentes à área do comprimido nos intervalos de tempo definidos. Concomitante as medidas magnéticas, para a análise farmacocinética, foram coletadas amostras de sangue venoso (5 ml) nos seguintes intervalos: -30 (pré-dose); 3; 6; 9; 12; 15; 30; 60; 120; 180, 240 e 300 minutos após a administração oral do comprimido magnético revestido (Figura 13). As amostras foram imediatamente centrifugadas e o plasma foi coletado e armazenado em freezer -80° C para posterior processamento e análise por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (CLUE), seguindo protocolo descrito por Kees *et al.*, 1996 e Pirola *et al.*, 1998.

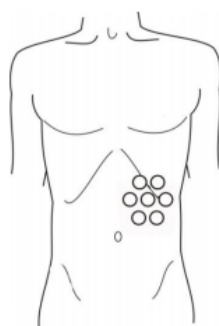


Figura 2: Posicionamento do multissensor BAC sobre a região de projeção gástrica, para aquisição da distribuição do marcador magnético (ferrita) e atividade de Contração Gástrica.

Fase II – Tratamento (Omeprazol)

Os voluntários receberam um comprimido de omeprazol (40mg) para ser administrado antes de dormir, um dia antes do procedimento experimental no laboratório. No dia seguinte, ao mesmo voluntário em jejum de 8 horas, foi administrado o omeprazol (mais 40 mg) como inibidor de bomba de próton com auxílio de 180 mL de água e, após um período de 30 minutos, receberam o comprimido

magnético revestido contendo metronidazol. As medidas magnéticas seguiu o mesmo protocolo adotado para a fase controle, ou seja, 30 minutos de registro com o sistema de multi-sensores BAC na superfície abdominal do voluntário, nas regiões determinadas anteriormente. Bem como, a análise farmacocinética seguiu o mesmo protocolo descrito na Fase I, sendo as coletas realizadas concomitantemente a medida magnética com o sistema BAC multissensor.

Monitoramento do comprimido magnético revestido com monossensor BAC

Após o registro contínuo com o sistema multissensor BAC, foram tomados registros magnéticos pontuais sobre a região do estômago e do cólon proximal, utilizando o sistema monossensor BAC, conforme o procedimento experimental 4.14.2.1., nos tempos 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 e 300 minutos. Esses registros permitiram calcular o Tempo de Esvaziamento Gástrico (TEG), Tempo de Trânsito do Intestino Delgado (TTID) e Tempo de chegada Oro-Cecal (TTOC) da ferrita contida no comprimido magnético revestido.

Anexo 7

Estudo Farmacocinético da Biodisponibilidade do Metronidazol

A metodologia analítica desenvolvida para a quantificação do metronidazol nas amostras do ensaio *in vivo* foi a cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE), utilizando o equipamento Waters® Acquity HClass, equipado com detector UV-Vis Photodiode Array (Acquity UPLC® PDA).

Configuração do UPLE para as corridas de amostras para análise

Os experimentos foram conduzidos em fase reversa usando uma coluna Acquity UPLC® BEH C18 (1,7 µm 2,1 x 50 mm; Waters®, EUA), com injetor automático, mantida a 25°C ± 1°C. A fase móvel foi eluída por modo isocrático em um fluxo de 0,5 mL/min, sendo composta por água:acetonitrila (90:10, v/v).

Obtenção da curva de calibração do metronidazol para CLUE

Solução padrão de trabalho de metronidazol, ou solução mãe

A solução estoque foi preparada na concentração de 1 mg/mL, em que o 10 mg de padrão metronidazol M3761-5G da Sigma-Aldrich foi cuidadosamente pesado em uma balança analítica de resolução 0,0001 g e dissolvido em 10 mL água deionizada.

Solução de fortificação de metronidazol

Posteriormente, 100 µL desta solução estoque foi diluída em 9,900 mL água para obter uma solução de fortificação com concentração de 10 µg/mL. Soluções de trabalho na faixa de concentração de 0,1 µg/mL a 10 µg/mL foram obtidas a partir de diluições fracionárias da solução de fortificação.

Determinação do pico de absorção máxima do metronidazol em UPLC

Para determinar o melhor comprimento de onda de absorção do metronidazol no UPLC, inicialmente fez-se uma varredura dos comprimentos de onda entre 210-390 nm

de uma solução de metronidazol na concentração de 10 µg/mL, a partir da solução de fortificação. O comprimento de onda do detector fixou-se em 320 nm (comprimento de absorção máximo detectado), sendo a área deste pico do cromatograma calculada e analisada automaticamente pelo software Empower® 3.

Determinação do pico de absorção máxima do metronidazol em plasma

O mesmo procedimento de análise foi realizado em uma amostra de plasma humano fortificada com metronidazol com concentração final de 10 µg/mL para avaliar se o pico de absorção máxima coincide com o da solução de metronidazol realizada no item anterior.

Determinação da curva de calibração do metronidazol em plasma no UPLC

Em 8 tubos de 15 mL, devidamente identificados numericamente, foram adicionados 500 µL de amostra de plasma humano de pré-dose (ou seja, amostra de plasma que não contem metronidazol) e fortificados com o volume indicado na Tabela 1 com a solução fortificante.

Tabela 01: Volumes utilizados para a construção da curva de calibração do Metronidazol em plasma humano.

Tubo	Volume Fortificação	Plasma Pré-Dose	Concentração Final
Tubo 1	0	500,00 µL	0
Tubo 2	5,00 µL	500,00 µL	0,1 µg/mL
Tubo 3	10,00 µL	500,00 µL	0,2 µg/mL
Tubo 4	25,00 µL	500,00 µL	0,5 µg/mL
Tubo 5	50,00 µL	500,00 µL	1,0 µg/mL
Tubo 6	125,00 µL	500,00 µL	2,5 µg/mL
Tubo 7	250,00 µL	500,00 µL	5,0 µg/mL
Tubo 8	500,00 µL	500,00 µL	10,0 µg/mL

Em cada tubo foi adicionado 2 mL de acetonitrila e misturados em vortex por 2 minutos. As amostras foram centrifugadas a 4500 rpm a 4°C por 10 minutos e o sobrenadante foram transferidos em outros tubos de 15 mL com a mesma identificação e, posteriormente, congelados a -80°C e liofilizados em regime *overnight*. No dia seguinte, as amostras liofilizadas foram reconstituídas com a solução água:metanol (90:10, v/v), misturando em vórtex por 1 minuto e transferidos para tubos do tipo Eppendorf com as mesmas identificações numéricas. Em seguida, centrifugadas a 14.000 rpm, 4°C, 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para o vial de análise e injetado no equipamento de cromatografia.

Método de processamento das amostras de plasma para análise em UPLC

A extração do metronidazol das amostras coletadas dos voluntários foi realizada, seguindo protocolo previamente estabelecido por El-Sayed (1988). Brevemente, adicionou-se 2,0 ml de acetonitrila a 500 µL do plasma e, em seguida, agitado em vórtex por 2 minutos. As amostras foram centrifugadas a 4500 rpm a 4°C por 10 minutos e o sobrenadante foi transferido em tubo de 15 mL e posteriormente congelado a -80°C e liofilizado em regime *overnight*. No dia seguinte, a amostra liofilizada foi reconstituída com a solução água:metanol (90:10, v/v), misturando em vórtex por 1 minuto e transferido para um tubo do tipo Eppendorf. Em seguida, centrifugadas a 14.000 rpm, 4°C, 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para o vial de análise e injetado no equipamento de cromatografia.

Anexo 8

Princípios Básicos da Suceptibilidade Magnética

Dentre as diversas propriedades que existe nos materiais, a suceptibilidade magnética é uma grandeza física de grande importância, já que quando medida experimentalmente, esta propriedade, que é intrínseca do material, dará resultados que é específico do material. Podemos medir a suceptibilidade magnética de um material utilizando uma técnica magnética de corrente alternada (AC). A vantagem de se aplicar esta técnica é que, para materiais que tem respostas não-lineares, podemos obter a resposta em frequência para uma determinada intensidade de campo magnético.

Basicamente, a técnica de corrente alternada consiste em aplicar um campo magnético alternado em um material e posteriormente registrar a resposta dada pelo material. No intuito de descrever de forma sucinta as bases teóricas em torno da resposta que um material tem quando submetido ao campo magnético alternado, é necessário ser apresentado alguns conceitos físicos básicos do magnetismo clássico.

Quanto é aplicado um campo magnético externo de intensidade H em um material, este adquire uma magnetização de intensidade M , que pode ser expresso pela seguinte equação (1):

$$\vec{M} = \lim_{\Delta V \rightarrow 0} \frac{1}{\Delta V} \sum_i \vec{m}(\vec{r}_i) \quad (1)$$

onde $\vec{m}(\vec{r})$ é o momento de dipolo magnético de uma partícula i localizada em uma posição $\vec{r}_i$ de um elemento de volume ΔV . A resposta deste material devido à aplicação de um campo magnético H é dada pelo vetor indução magnética $\vec{B}$. A relação entre os

vetores indução magnética $\vec{B}$ e intensidade de campo magnético $\vec{H}$ podem ser descrita, no sistema internacional, pela equação (2):

$$\vec{B} = \mu_0(\vec{H} + \vec{M}) \quad (2)$$

onde μ_0 é a permeabilidade magnética no vácuo.

A relação entre o vetor indução magnética $\vec{B}$ com o campo magnético externo $\vec{H}$ e a relação da intensidade da magnetização $\vec{M}$ com o mesmo campo magnético $\vec{H}$ são dadas pelas equações:

$$\vec{B} = \mu \cdot \vec{H} \quad (3)$$

$$\vec{M} = \chi \cdot \vec{H} \quad (4)$$

onde μ é a permeabilidade magnética no ambiente que o campo magnético $\vec{H}$ está sendo aplicado, e χ é a susceptibilidade magnética do material, que é característico de cada material magnético, submetido ao campo magnético $\vec{H}$. Para materiais com resposta linear à intensidade do campo magnético $\vec{H}$, temos que χ é independente de $\vec{H}$, entretanto, para materiais com resposta não-linear quando sujeitos a um campo magnético $\vec{H}$, a susceptibilidade magnética χ é dependente de $\vec{H}$.

Quando combinamos a equação (2) com as equações (3) e (4), iremos obter:

$$\mu = \mu_0 \cdot (1 + \chi) \quad (5)$$

A permeabilidade magnética do meio μ e a susceptibilidade magnética χ devem ser definidos em função de $\vec{H}$ quando os efeitos do material sujeito ao campo magnético é não-linear, podendo serem calculados por:

$$\mu = \mu(H) = \frac{\partial B}{\partial H} \quad (6)$$

$$\chi = \chi(H) = \frac{\partial M}{\partial H} \quad (7)$$

A resposta de um material magnético quando submetido a campo magnético $\vec{H}$ externo pode ser classificada pelas suas fases magnéticas. Os principais tipos de fases magnéticas são: diamagnetismo, paramagnetismo e ferromagnetismo.

Os materiais diamagnéticos são os que têm menor resposta magnética, apresentando uma susceptibilidade magnética negativa, tendo como efeito resultante uma diminuição do módulo do campo externo aplicado no interior do material. Já os materiais paramagnéticos tem valores de susceptibilidade χ positivo, sendo estes valores menores que 1, tendo como resultado um pequeno aumento no módulo do campo magnético externo na presença desses materiais. Já os materiais ferromagnéticos são os materiais que tem a maior resposta magnética, tendo valores de susceptibilidade magnética χ positivos, maiores que 1.

A permeabilidade magnética μ para os materiais com propriedades ferromagnéticas é definida como:

$$\mu = \frac{d\vec{B}}{d\vec{H}} \quad (8)$$

sendo a permeabilidade magnética μ dependente do campo aplicado, para respostas não-lineares.

Materiais com características ferromagnéticas possuem alta magnetização porque esta propriedade relaciona-se ao fato de possuírem na sua estrutura dipolos magnéticos intrínsecos com alta possibilidade de interação, do qual os dipolos

alinhando-se paralelamente entre si. Ao realizar uma análise microscópica, podemos classificar estes materiais ferromagnéticos em 3 classes: ferromagnéticos, antiferromagnéticos e ferrimagnéticos (ou ferrita).

Esta classificação é dada devido à teoria do ferromagnetismo de Heisenberg, da qual diz que o sentido dos momentos magnéticos atômicos de um material podem existir em 3 estados de energia diferentes. A estrutura dos momentos de dipolo magnético de um material ferromagnético são todos ordenados paralelamente no mesmo sentido. Já os materiais antiferromagnéticos, o momento magnético total é nulo, pois seus momentos de dipolo magnético estão organizados de modo antiparalelos. Finalmente, a classe ferrimagnética, ou ferrita, apresenta uma alternância na disposição de seus momentos de dipolo magnético na estrutura, tendo “spin para cima” e “spin para baixo” resultando um momento magnético total não nulo.

As ferritas são compostas basicamente de óxido de ferro, possuindo uma alta permeabilidade magnética e baixa condutividade elétrica. Motivos que são considerados para a sua escolha na utilização de técnicas biomagnéticas de detecção, tornando assim o material de escolha neste estudo farmacotécnico para avaliar as características físicas que envolve os processos que antecedem a liberação do fármaco em um comprimido magnético revestido.

Fundamentos da Biosusceptometria AC (BAC)

A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) consiste em um sistema de bobinas de indução magnética que aplicam um campo magnético de corrente alternada em um meio biológico e, através de bobinas de detecção mede-se o campo magnético proveniente da resposta da interação entre o campo induzido e o meio (MIRANDA et al., 2003; CORÁ et al., 2008).

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 bobinas de medida e, o outro, como bobinas de referência (Figura 1)(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).

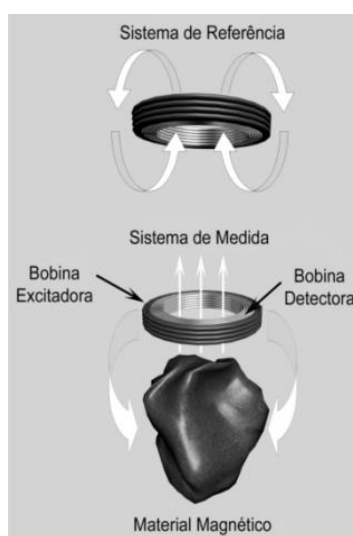


Figura 1: Diagrama da configuração de um sistema BAC.

O registro dos sinais magnéticos adquiridos através das bobinas detectoras na presença de um comprimido marcado com ferrita é diretamente proporcional à concentração do material magnético e diminui com a distância do comprimido com o sistema BAC, ou seja, é possível identificar a posição e quantidade de material magnético contido no sistema.

Um dispositivo Monossensor BAC é constituído por 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. As bobinas de detecção estão

arranjadas em uma configuração gradiométrica de primeira-ordem e dispostas em um arranjo coaxial, ou seja, a bobina de excitação é externa, enquanto a bobina de detecção é interna (Figura 2A).

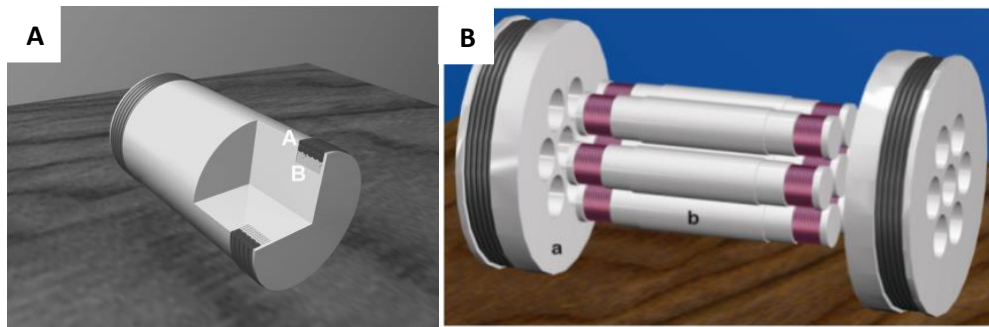


Figura 2: (A) Monossensor BAC (A: Bobina excitadora; B: Bobina detectora). (B) Sistema de Biosusceptometria AC com multisensores mostrando o par de bobinas de excitação (a) e os sete pares de bobinas de detecção (b).

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, 2006, 2011). A diferença entre o sistema multisensores (Figura 2B) e o citado anteriormente (Figura 2A) 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 constante aperfeiçoamento dessa instrumentação permitiu o desenvolvimento de diversos estudos aplicados à fisiologia básica do TGI, tanto em humanos (ROMEIRO *et al.*, 2006; AMÉRICO *et al.*, 2007, 2009), quanto em animais (MORAES *et al.*, 2003; ANDREIS *et al.*, 2008) e em pesquisas envolvendo a tecnologia farmacêutica (CORÁ *et al.*, 2003; 2005a,b; 2006; 2008; 2010; MIRANDA *et al.*, 2010).

Na pesquisa farmacêutica, esse método oferece uma oportunidade única para monitorar as formas farmacêuticas, bem como outros processos relacionados com a liberação de fármacos em tempo real. Nos últimos anos, estudos utilizando partículas magnéticas em detrimento de radioisótopos em formas farmacêuticas sólidas, culminaram na aplicação desses métodos na investigação dos processos de liberação do fármaco em conjunto com estudos de parâmetros fisiológicos que influenciam a biodisponibilidade de fármacos administrados em formas farmacêuticas sólidas orais.