

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU
DEPARTAMENTO: BIOFÍSICA E FARMACOLOGIA

MATEUS PADILHA PEREIRA DA SILVA

Biosusceptometria de Corrente Alternada para avaliação *in vitro* de matrizes hidrofílicas

BOTUCATU 2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU
DEPARTAMENTO: BIOFÍSICA E FARMACOLOGIA

MATEUS PADILHA PEREIRA DA SILVA

Biosusceptometria de Corrente Alternada para avaliação *in vitro* de matrizes hidrofílicas

Trabalho de Conclusão de Curso
submetido à Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como
parte dos requisitos necessários para a
obtenção do grau de Bacharel em Física
Médica, sob a orientação do Professor Dr.
Guilherme Augusto Soares

S586b

Silva, Mateus Padilha Pereira da

Biosusceptometria de Corrente Alternada para avaliação in vitro de matrizes hidrofílicas / Mateus Padilha Pereira da Silva. -- , 2023

32 p. : tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (-) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Botucatu,

Orientador: Guilherme Augusto Soares

1. Biomagnetismo. 2. BAC. 3. Matriz hidrofílica. 4. Comprimidos magnéticos. 5. Intumescimento. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Comissão Examinadora

Orientador: Prof. Assistente Dr. Guilherme Augusto Soares
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Prof. Assistente Dr. Allan Felipe Fattori Alves
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Botucatu, _____ de _____ de 2023

“Devemos julgar um homem mais pelas suas perguntas que pelas respostas”

François-Marie Arouet.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Rosalia e Odilon, e irmão, Lucas, pelo suporte, incentivo constante, apoio, carinho, e amor incondicional durante todo o trajeto. Sem eles nada seria possível.

Aos meus primos, Bruno e Paulo Eduardo, por toda ajuda, suporte e companheirismo durante todo o período.

A todos os professores que encontrei durante o caminho, em especial ao meu orientador, Prof. Guilherme Augusto Soares, e Prof. José Ricardo de Arruda Miranda por toda ajuda e aprendizado.

A todos meus colegas de laboratório, por toda ajuda, suporte, e apoio ao longo do tempo.

A meus grandes amigos e colegas de turma Vitor Melo e Gustavo Locatelli, por toda parceria, experiências e vivências desde o começo do trajeto.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, ao Instituto de Biociências de Botucatu, ao Departamento de Biofísica e Farmacologia, pela infraestrutura e pela formação.

RESUMO

Se tratando da via oral, as formas farmacêuticas de liberação controlada têm obtido posição de destaque para administração de fármacos, principalmente por permitir que a taxa de liberação de fármaco seja predeterminada e programada, o que possibilita diminuir a ingestão de fármacos e assim reduzindo possíveis níveis de toxicidade, além de proporcionar uma melhor adesão do paciente ao tratamento. Dentre as formas de liberação controlada vale elencar as matrizes hidrofílicas pela sua rentabilidade e capacidade de produção de perfis farmacológicos reproduzíveis, o principal mecanismo dessas matrizes ocorre através do intumescimento do sistema em contato com o meio aquoso, onde a liberação do fármaco é inerente as características do polímero utilizado em sua formulação. Com isso surge a necessidade de técnicas para avaliar esses sistemas, a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) tem demonstrado bons resultados ao longo dos anos, ela é uma técnica biomagnética que se destaca principalmente por ser portátil, não invasiva e de baixo custo. Desta forma, a proposta desse trabalho consistiu em avaliar *in vitro* a influência de diferentes formulações no processo de liberação de fármaco e intumescimento das matrizes. Para este estudo foram preparadas três formulações, variando os polímeros e suas concentrações presente em cada uma delas. Para a realização das medidas, a matriz magnética foi inserida em um recipiente contendo solução com pH 1,2 e o dispositivo BAC empregado para obter o aumento de área da matriz a partir de escaneamento e posterior formação de imagem magnética da mesma. Os resultados mostraram que as matrizes que possuem maior concentração do polímero com baixa viscosidade, apresentam menor intumescimento e maior liberação de fármaco, o que indica que o aumento da viscosidade cria uma camada mais densa ao redor da matriz, o que faz com que o fluxo de fluído para seu interior ocorra de maneira mais lenta, retardando a reação com o núcleo do comprimido. Assim, a utilização do dispositivo BAC se mostrou eficaz na avaliação e quantificação do intumescimento de matrizes hidrofílicas *in vitro*, possibilitando futuras investigações e aplicações *in vivo*.

Palavras chave: Biomagnetismo, BAC, Matriz hidrofílica, Comprimidos magnéticos, Intumescimento.

ABSTRACT

In the context of oral administration, controlled-release pharmaceutical forms have gained prominence, mainly because they allow for the predetermined and programmed release rate of drugs, which can reduce drug intake and thus reduce potential toxicity levels while also improving patient adherence to treatment. Among controlled-release forms, it is worth mentioning hydrophilic matrices for their cost-effectiveness and the ability to produce reproducible pharmacological profiles. The primary mechanism of these matrices occurs through swelling when in contact with an aqueous medium, where drug release is inherent to the characteristics of the polymer used in their formulation. This has led to the need for techniques to evaluate these systems, and Alternating Current Biosusceptometry (ACB) has demonstrated good results over the years. It is a biomagnetic technique known for its portability, non-invasiveness, and low cost. Thus, the aim of this study was to evaluate *in vitro* the influence of different hydrophilic matrix formulations on the drug release process, as well as the swelling of the matrices. For this study, three formulations were prepared, varying the polymers and their concentrations present in each one. To perform the measurements, the magnetic matrix was inserted into a container containing a pH 1.2 solution, and the ACB device was employed to obtain an increase in the matrix's area through scanning and subsequent formation of a magnetic image of the same. The results showed that matrices with a higher concentration of low-viscosity polymer exhibited less swelling and greater drug release. This indicates that an increase in viscosity creates a denser layer around the matrix, slowing down the flow of fluid into the interior and delaying the reaction with the tablet core. Thus, the use of the ACB device proved effective in evaluating and quantifying the swelling of hydrophilic matrices *in vitro*, enabling future investigations and *in vivo* applications.

Keywords: Biomagnetism, ACB, Hydrophilic matrix, Magnetic Tablets, Swelling.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: (A) Representação do diagrama de funcionamento BAC (B) Sistema de medição e referência BAC.....	19
Figura 2: Representação do aparato de dissolução pelo método de pás.....	20
Figura 3: Representação do aparato de escaneamento utilizado com grade de pontos..	22
Figura 4: Aumento de massa em função do tempo das formulações 1,2 e 3, com ajuste exponencial (em vermelho)...	23
Figura 5: Concentração (em preto) e taxa de liberação (em azul) do metronidazol em função do tempo.....	25
Figura 6: Taxa de liberação de metronidazol das formulações ao longo do tempo.	26
Figura 7: Imagens referentes às matrizes hidrofílicas ao início e final das medidas, na escala de mV.....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Excipientes utilizados nas formulações das matrizes hidrofílicas, expressos em percentagem.....	17
Tabela 2: Área média inicial e final com desvio padrão, e a diferença entre elas.....	24
Tabela 3: Variação de área das matrizes hidrofílicas e a diferença entre os métodos utilizados.....	27

ÍNDICE DE ABREVIACÕES

TGI: Trato Gastrointestinal

FFS: Forma Farmacêutica Sólida

BAC: Biosusceptometria de Corrente Alternada

AMR: Magnetorresistor Anisotrópico

MRI: *Magnetic Resonance Imaging*

DC: Corrente Contínua

CNC: Controle numérico computadorizado

UV: Ultravioleta

HPMC: Hidroxipropilmetilcelulose

SQUID: *Superconducting Quantum Interference Device*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	16
3	MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1	Síntese e confecção das matrizes hidrofílicas	16
	3.1.1 Teste de Friabilidade.....	17
3.2	Biosusceptometria de Corrente Alternada.....	17
3.3	Modelo Experimental	19
	3.3.1. Preparo da Curva analítica do metronidazol em meio gástrico simulado.....	19
	3.3.2. Dissolução.....	20
	3.3.3. Teste Uptake.....	20
	3.3.4. Medidas Magnéticas.....	21
3.4	Análise Estatística	22
4	RESULTADOS	23
4.1	Massa média e área das matrizes magnéticas.....	23
4.2	Uptake das formulações.....	23
4.3	Avaliação da taxa de liberação <i>in vitro</i> do metronidazol	24
4.4	Avaliação do intumescimento do sistema pelo método biomagnético automatizado.....	26
5	DISCUSSÃO	27
6	CONCLUSÃO	29
7	REFERÊNCIAS	29

1. Introdução

Fármacos são substâncias químicas ativas de estrutura bem conhecida e com finalidade medicamentosa, eles são utilizados em diversos tipos de tratamento que buscam curar determinadas patologias ou aliviar seus sintomas. O fármaco entrará em contato com o organismo através das vias de administração, sendo as principais: a via oral, intramuscular, intravenosa e subcutânea. A administração geral de fármacos exige a consideração de fatores relevantes, como a forma farmacêutica correta e a via adequada. Esses fatores influenciam diretamente na biodisponibilidade e liberação dos fármacos (“A Biosusceptometria AC aplicada à tecnologia farmacêutica”, 2008; HUANBUTTA et al., 2019).

Entre as vias de administração, a via oral tem sido amplamente utilizada por ser a mais simples, conveniente, paciente compatível e segura forma de administração de drogas. Normalmente nesta via as formas farmacêuticas sólidas (FFS) como drágeas, comprimidos e cápsulas, são as mais utilizadas devido à facilidade, comodidade, baixo custo, não invasividade e estabelecimento de terapêuticas fáceis que podem ser atribuídas à diferentes tipos de revestimento e à possibilidade de aplicação de sistemas de liberação controlada que vêm sendo amplamente abordados em diversos estudos científicos (DEBOTTON; DAHAN, 2017; MOHYLYUK et al., [s.d.]; PEIN et al., 2014; VERGOTE et al., 2001; WANG et al., [s.d.]).

Sistemas de liberação controlada são sistemas onde a taxa de liberação de fármaco é predeterminada de modo programado, possibilitando o controle do nível terapêutico e a conservação da concentração de um estado estacionário em um sítio ou receptor específico (ASNAASHARI et al., 2010; DAVOODI et al., 2018). Entre os métodos de liberação controlada mais utilizados, podemos destacar as matrizes hidrofílicas devido à rentabilidade e capacidade de produção de perfis farmacológicos reprodutíveis (NOKHODCHI et al., 2012; PRAJAPATI; KRUNAL, 2010). O principal mecanismo dessas matrizes ocorre por meio do intumescimento do sistema em contato com o meio aquoso, formando uma camada de gel na superfície da matriz, onde a liberação ocorrerá por meio de difusão e é inerente às características do polímero utilizado, assim a aplicação adequada de suas propriedades é capaz de produzir formas farmacêuticas bem caracterizadas e reprodutíveis (COLOMBO, 1993; “(PDF) Rheological properties and diffusion dissolution behaviour of hydrophilic polymers”, [s.d.]; TIWARI, 2008).

As matrizes hidrofílicas oferecem várias vantagens como baixa frequência de dosagem, sustentação prolongada do nível terapêutico, uniformidade da concentração do fármaco no sangue, minimização de efeitos colaterais e sistêmicos, sendo importante elencar que a capacidade de liberação do fármaco depende dos polímeros utilizados e sua habilidade de absorção dos fluidos gastrointestinais. Os principais tipos de polímeros hidrofílicos são os derivados de celulose, não derivados de celulose e semissintéticos e os carbômeros, que têm como exemplos: hipromelose, manose e carbopol, respectivamente. Fatores como absorção, viscosidade, composição do polímero e solubilidade influenciam no processo de liberação farmacológica das matrizes (CACCAVO et al., 2016; MADERUELO; ZARZUELO; LANAO, 2011).

Diante da perspectiva apresentada, surge a necessidade de técnicas capazes de analisar e compreender como esses fatores influenciam no intumescimento, e conseqüentemente, na liberação farmacológica das matrizes hidrofílicas. Para o monitoramento de formas farmacêuticas sólidas (FFS), de maneira não invasiva, a implementação de técnicas fundamentadas no Biomagnetismo tem demonstrado grande eficácia ao longo dos anos.

Dentre as técnicas utilizadas estão: o imageamento por ressonância magnética (MRI – do inglês *Magnetic Resonance Imaging*), os Dispositivos Supercondutores de Interferência Quântica (SQUIDS – do inglês *Superconducting Quantum Interference Device*), Sensores Anisotrópicos Magnetorresistivos (AMR), além da Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC). A MRI é uma técnica não invasiva que faz a utilização de campos magnéticos para gerar imagens detalhadas do interior do corpo, onde, através das alterações dos tempos de relaxação dos prótons, permite visualizar a localização e o comportamento das FFS, ao longo do TGI, além de permitir diferenciar a FFS do ambiente gastrointestinal e acompanhar seu trajeto e possíveis interações com as partes do sistema digestivo (NOTT, 2010). Apesar de fornecer imagens de alta resolução, a MRI apresenta algumas limitações, como a dificuldade de posicionamento de voluntários e alta incidência de artefatos de movimento. Além disso, é uma técnica que possui um alto custo de aquisição e a manutenção do equipamento restringe sua utilização em pesquisas (PAHLEVAN et al., 2020; RICHARDSON et al., 2005).

Utilizando o SQUID é possível determinar a localização, a orientação e a evolução temporal do marcador magnético, obtendo-se informações sobre o tempo de trânsito gastrintestinal da forma farmacêutica (WEITSCHIES et al., 2005). Por ser uma técnica

altamente sensível, o SQUID tem como principal desvantagem o alto custo de manutenção, além de ser pouco viável para estudos de desintegração de comprimidos.

A técnica AMR baseia-se na alteração da resistividade elétrica de um material provocada pela aplicação de um campo magnético (KWIATKOWSKI; TUMANSKI, 1986). Os sensores AMR foram utilizados para monitorar o trânsito gastrointestinal de marcadores magnetizados, bem como o processo de desintegração de comprimidos (WEITSCHIES et al., 2001). Entretanto, a baixa sensibilidade e resolução são algumas desvantagens apresentadas pelos sensores AMR.

Nesse panorama, a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) tem se consolidado como uma técnica alternativa versátil, de baixo custo e portátil. A técnica despontou demonstrando bons resultados para estudos enfocando a motilidade gastrointestinal (AMÉRICO et al., 2007, 2009; BAFFA et al., 1995; MIRANDA et al., 1997; ROMEIRO et al., 2006) bem como em pesquisas farmacêuticas (CORÁ et al., 2005, 2009). Essa técnica utiliza bobinas de indução para registrar a variação temporal do fluxo magnético obtida como resposta de um material ferromagnético. Esse material tem como principal característica uma alta susceptibilidade magnética (χ) e, por isso, produz uma resposta intensa quando um campo magnético externo é aplicado ao meio biológico. A BAC aplicada à pesquisa farmacêutica proporcionou outra abordagem referente ao processo de desintegração de comprimidos e cápsulas *in vitro* e no TGI humano (CORÁ et al., 2006). Ao longo dos anos, devido ao constante aperfeiçoamento, a BAC também demonstrou um grande potencial para obtenção de imagens magnéticas destas formas farmacêuticas, introduzindo um novo conceito em imagens dos sistemas biológicos (PINTO et al., 2021; SOARES et al., 2021). Porém, os estudos aplicando esta técnica em matrizes poliméricas hidrofílicas ainda são escassos.

Em vista disso, esse trabalho tem o intuito de aplicar a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) na pesquisa farmacêutica para monitorar e avaliar *in vitro* a taxa de intumescimento através de imagens magnéticas, em conjunto com a taxa de liberação de fármaco de matrizes hidrofílicas com diferentes formulações poliméricas. Esperando assim, obter resultados característicos e intrínsecos de cada formulação, assim como a sua influência nos parâmetros analisados, que fornecerão de alicerce para futuras aplicações *in vivo*.

2. Objetivos

Este trabalho tem como objetivo avaliar as taxas de liberação de fármaco e taxas de intumescimento de matrizes hidrofílicas, em diferentes formulações poliméricas. A partir disso foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- Síntese, caracterização e confecção das matrizes hidrofílicas magnéticas;
- Realização de medidas *in vitro* utilizando meio gástrico simulado;
- Avaliação do parâmetro taxa de liberação de fármaco através de espectrofotômetro Nanodrop;
- Avaliação da taxa de intumescimento via uptake;
- Avaliação e aquisição da taxa de intumescimento através de imagens utilizando a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC);
- Comparação dos parâmetros obtidos entre as diferentes formulações poliméricas empregadas.

3. Materiais e Métodos

3.1. Síntese e confecção das matrizes hidrofílicas

As matrizes hidrofílicas magnéticas foram obtidas por compressão direta contendo micropartículas de ferrita de manganês ($MnFe_2O_4$, que foram selecionadas especificamente para atuar como marcador magnético por serem inertes ao organismo humano e a variação de pH do meio), metronidazol – empregado como fármaco modelo-, polímeros HPMC K15M e K100LV, lactose e estearato de magnésio 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. Todas as matrizes produzidas foram submetidas às análises de características físicas por meio de ensaios farmacotécnicos para determinação de massa média, friabilidade e dissolução, de acordo com os parâmetros estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (2019) e armazenadas em cartelas tipo blíster em temperatura ambiente, livre de luz e umidade.

As micropartículas de ferrita de manganês, além de inertes, possuem alta resposta quando submetida a um campo magnético aplicado externamente, ou seja, alta susceptibilidade magnética. Como princípio ativo foi utilizado o metronidazol, 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. As formulações matriciais estão apresentadas na Tabela 1 a seguir.

Tabela 1: Excipientes utilizados nas formulações das matrizes hidrofílicas, expressos em porcentagem.

Componentes	Formulações		
	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)
HPMC K100LV	0	6,25	12,5
HPMC K15M	25	18,75	18,5
Metronidazol	10	10	10
Ferrita de Manganês	50	50	50
Estearato de Magnésio	0,5	0,5	0,5
Lactose Malha	14,5	14,5	14,5
Total	100	100	100

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

3.1.1. Teste de Friabilidade

Este teste permite determinar a resistência dos comprimidos magnéticos à abrasão, quando submetidos à ação mecânica. Para isso, os comprimidos magnéticos foram pesados e dispostos em um friabilômetro, que realizou rotações de 25 rpm por 4 minutos. Após remover qualquer resíduo de pó dos comprimidos, eles foram novamente pesados, a diferença entre o peso inicial e final representa a friabilidade, medida em função da porcentagem de pó perdido, sendo considerados aceitáveis apenas comprimidos com perda igual ou inferior a 1,5% do seu peso, e que não apresentaram rachaduras ou lascas.

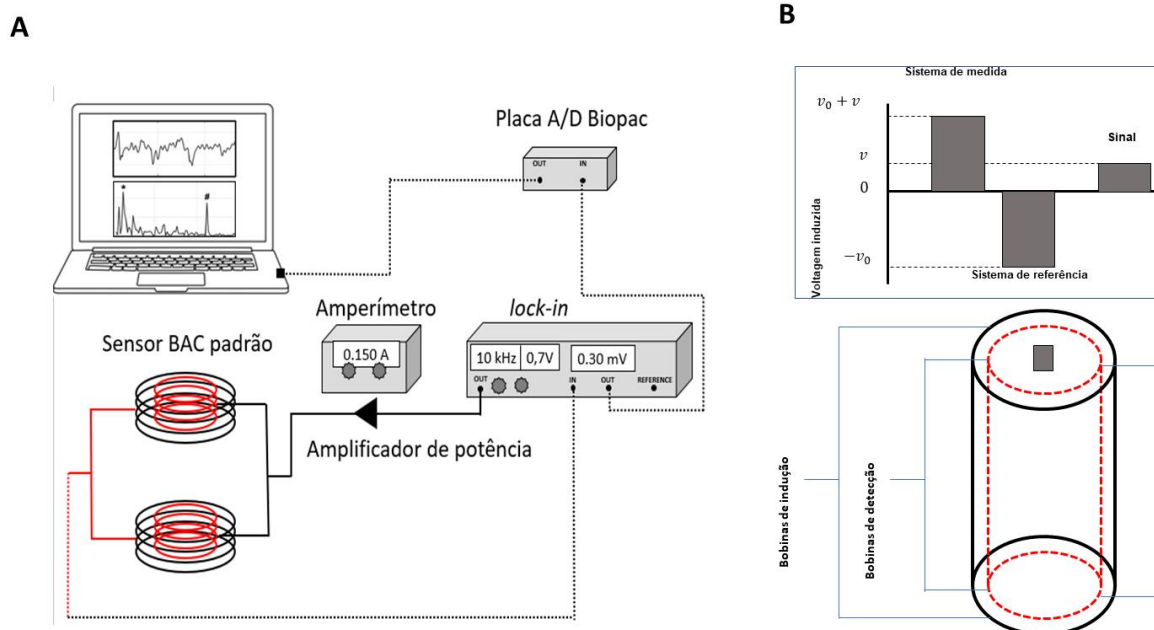
3.2. Biosusceptometria de Corrente Alternada

A técnica de Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) é baseada na aplicação de bobinas de indução para magnetizar e detectar a magnetização de marcadores magnéticos. O sensor é composto por dois pares de bobinas, sendo um par de bobinas referente a excitação e outro par de bobinas referente a detecção. Os pares de bobinas são posicionados nas extremidades opostas do sensor. O conjunto de bobinas excitadora e detectora mais próximas ao marcador magnético é chamado de sistema de medida, e o conjunto na extremidade oposta é chamado de sistema de referência. O sistema atua como

um transformador duplo de fluxo magnético com núcleo de ar e em arranjo de gradiômetro de primeira ordem. Essa configuração é o diferencial da técnica BAC por garantir que as tensões induzidas em ambas as bobinas, pelo fluxo magnético dos campos de excitação e ruídos ambientais, se anulem sem a necessidade de blindagens magnéticas ou eletromagnéticas. Além do sensor BAC, são utilizados como periféricos amplificadores *lock-in* para alimentar as bobinas excitadoras e estimar o sinal elétrico induzido nas bobinas detectoras. O sistema é acoplado a um computador por uma placa A/D para a aquisição de sinais.

Um amplificador *lock-in* (SR830, Stanford Research Systems, Sunnyvale, EUA) gera um sinal de 0,7 V a 10 kHz, que é amplificado para 40 V através de um amplificador de potência (TIP 800, Ciclotron, Barra Bonita, Brasil) e aplicado nas bobinas excitadoras, gerando um campo magnético que atravessa a seção transversal das bobinas de detecção. A presença de materiais magnéticos adjacentes a bobina de detecção gera um desequilíbrio do fluxo magnético do sistema. O sinal gerado pela presença do material magnético na bobina retorna ao amplificador *lock-in*, que processa o sinal de saída para a aquisição da componente de 10 kHz e posterior conversão em um sinal DC. O sinal é adquirido em tempo real pelo software (LabVIEW 2010, National Instruments, Austin, EUA) e é digitalizado por uma placa A/D (DAQPad-6015, National Instruments, Austin, EUA) para posterior armazenamento no disco rígido de um computador. A figura 1A representa o diagrama de funcionamento do sistema BAC, a figura 1B corresponde ao sistema de medição e referência da BAC, ao aproximar-se de um material com alta susceptibilidade magnética.

Figura 1- Representação do diagrama de funcionamento BAC (Figura 1^a) e sistema de medição e referência BAC (Figura 1B).



Fonte: Biazotti (2019)

Os monitoramentos magnéticos efetuados com o sensor BAC são representados por matrizes temporais que podem ser manipuladas matematicamente para obter imagens sequenciais, provenientes de intervalos de tempo pré-definidos. Posteriormente as imagens são submetidas a ajustes como processamento digital para subtração de *background*, ajustes de brilho, contraste e segmentação a fim de se obter uma imagem de melhor qualidade.

3.3. Modelo Experimental

3.3.1. Preparo da curva analítica do metronidazol em meio gástrico simulado

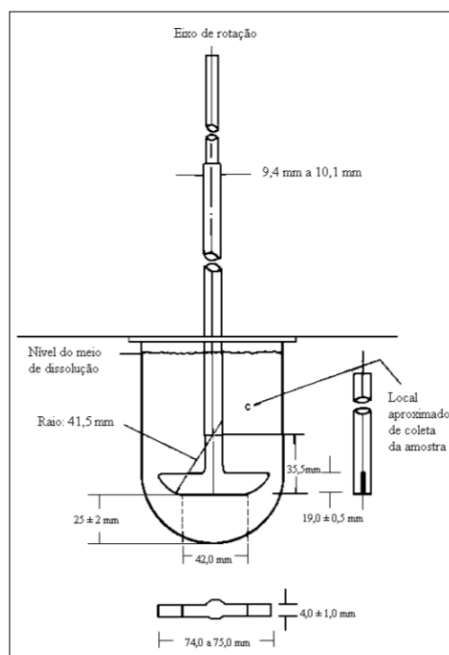
Para obtenção da curva foram preparadas diferentes soluções de metronidazol com concentrações conhecidas (5, 10, 15, 20, 25, 30, 50, 100 e 200 $\mu\text{g/mL}$). Essas soluções foram analisadas em espectrofotometria UV com comprimento de onda de 277 nm, e se obteve a curva de calibração que relaciona a absorvância da amostra em função da concentração conhecida. Pelo método de regressão linear foi possível determinar equação da reta, e conseqüentemente o coeficiente angular e coeficiente linear da curva. Para se estabelecer o comprimento de onda utilizado para análise das soluções, foram feitas varreduras em um range de 200-400 nm, e todas as soluções tinham um pH fixo em 1,2.

3.3.2. Dissolução

Os ensaios de dissolução foram realizados inserindo cada uma das três formulações em um aparato USP II (método de pás conforme Figura 2), seguindo critérios estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (2019), sendo realizado para obter o perfil de liberação do metronidazol de cada formulação no meio gástrico simulado (pH=1,2; HCl 0,1N), sob velocidade de agitação de 75 rpm em equipamento padrão (Nova Ética, São Paulo, Brasil).

Alíquotas de 1,0 mL foram coletadas nos intervalos: 0 (controle), 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330, e 360 minutos, com reposição do meio, e posteriormente analisadas por espectroscopia UV em equipamento Ultrospec 2000 UV/Visible da Pharmacia Biotech em comprimento de onda de 277 nm.

Figura 2- Esquema de dissolução pelo método de pás.



Fonte: Farmacopeia Brasileira, 6ª ed. 2019.

3.3.3. Teste Uptake

Para avaliação da absorção de água dos comprimidos, foi realizado o teste uptake em triplicata para cada uma das formulações das matrizes hidrofílicas. O teste foi realizado inserindo as matrizes em béquer contendo 900 mL de solução gástrica simulada (pH=1,2; HCl 0,1N), de onde os comprimidos eram retirados, medido a altura, diâmetro e massa –

com o auxílio de paquímetro e balança analítica - em tempos determinados: 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330 e 360 minutos. O aumento de área foi calculado através da diferença da área da circunferência final e inicial, a taxa de intumescimento foi calculada em porcentagem através da equação:

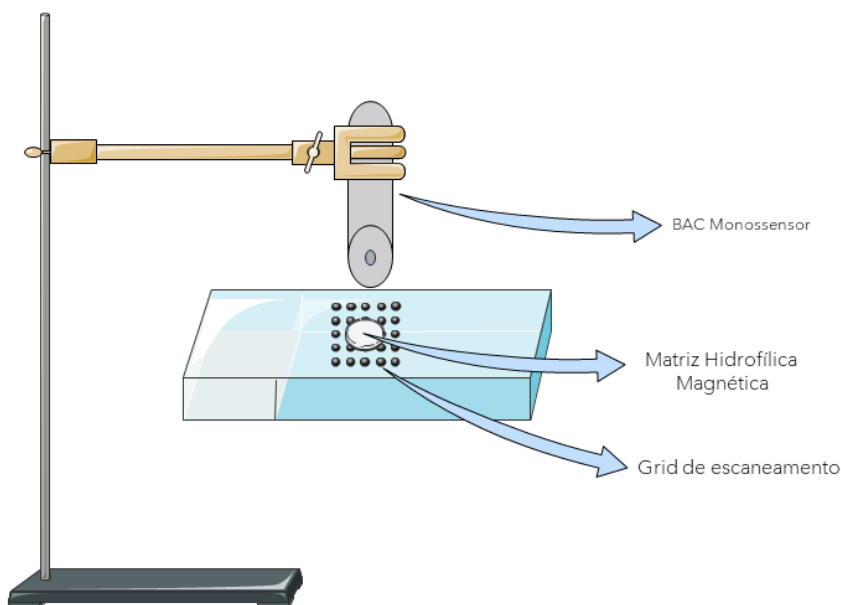
$$\frac{P_f - P_i}{P_i} \times 100 \quad (1)$$

Sendo P_f o peso final do comprimido e P_i o peso inicial, de forma que foram obtidas as médias de intumescimento para cada uma das formulações.

3.3.4. Medidas Magnéticas

O processo de intumescimento das matrizes magnéticas foi avaliado *in vitro*, empregando o sistema BAC. As medidas foram realizadas em um recipiente retangular de vidro contendo 900 ml de meio gástrico simulado, com uma guia para inserção da matriz hidrofílica magnética e uma plataforma com *grid* de 81 pontos (9x9) para escaneamento conforme Figura 3 abaixo. Dessa forma, com o auxílio de uma mesa CNC o sensor realizava uma varredura em cada uma das linhas da plataforma e o valor de voltagem na saída do sistema BAC era registrado. Esses escaneamentos, assim como a dissolução e uptake, também foram realizados em intervalos de tempo pré-estabelecidos com duração total de 6 horas. A partir desse monitoramento foram obtidas as distribuições de campo magnético, que proporcionaram a formação das imagens magnéticas das matrizes hidrofílicas.

Figura 3- Representação do aparato utilizado com grade de pontos.



Fonte: elaborado pelo autor (2023)

As imagens obtidas a partir da distribuição de intensidade do campo magnético foram processadas em ambiente Python e quantificadas seguindo protocolos desenvolvidos previamente (COLERATO FERRARI et al., 2014; CORÁ et al., [s.d.]; PINTO et al., 2021). Para o cálculo de área magnética foi aplicado um *threshold* de 28% de intensidade máxima de sinal detectado, a variação de área magnética da matriz foi avaliada mensurando a diferença entre a área da imagem obtida ao início e final da medida (após 6 horas).

3.4. Análise Estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas no software Graphpad Prism 8. O experimento para avaliação da taxa de liberação para as diferentes formulações foi representado através de média \pm desvio padrão. O resultado foi analisado estatisticamente através da análise de variância ANOVA. Foram consideradas diferenças significativas quando $p < 0,05$.

4. Resultados

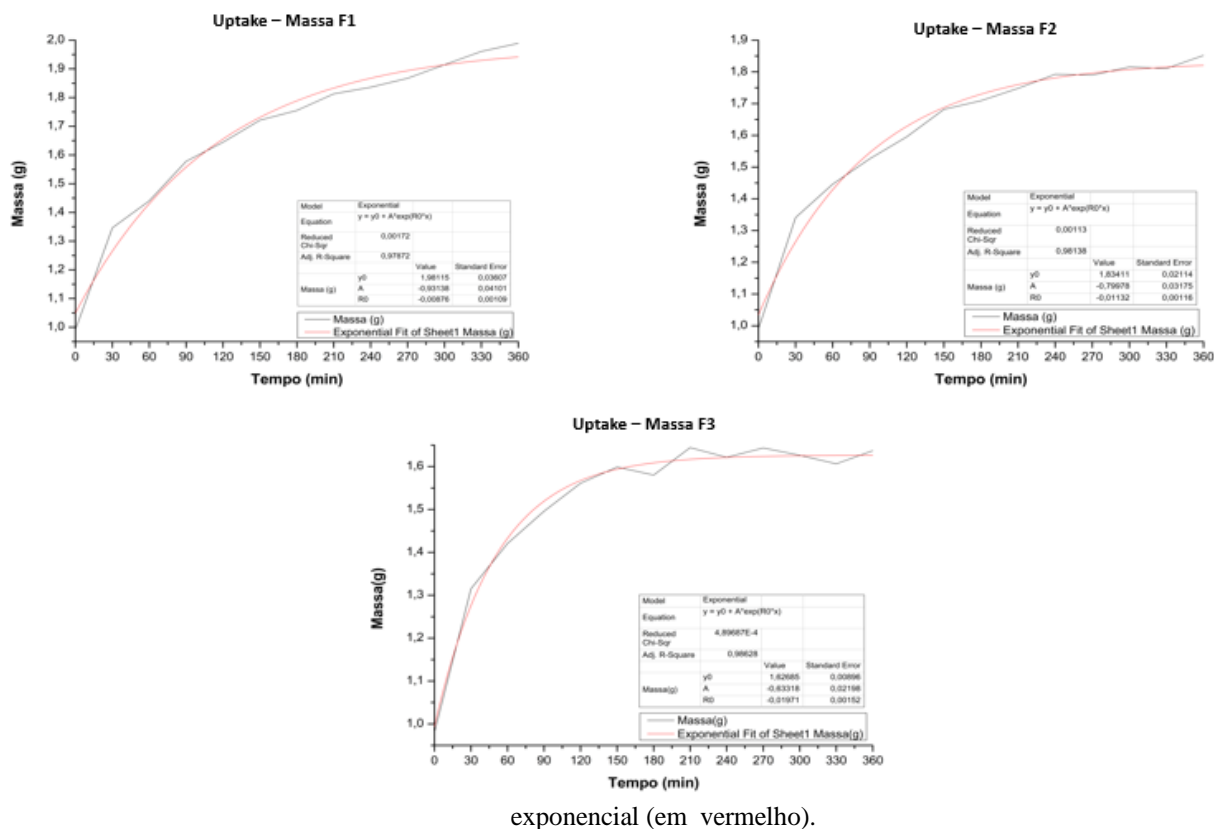
4.1. Massa média e área das matrizes magnéticas

Após confeccionadas, as matrizes apresentaram uma massa média de $1,001 \text{ g} \pm 0,003$, após o teste de friabilidade elas passaram por uma inspeção visual para averiguar possíveis fissuras ou defeitos e foi medida novamente a massa média ($0,999 \text{ g} \pm 0,003$), resultando uma friabilidade de 0,19%, ou seja, uma perda de 0,19% de massa após serem submetidas ao friabilômetro, mostrando-se dentro do limite de 1,5% estabelecido pela Farmacopeia Brasileira. O diâmetro médio obtido foi de $1,216 \text{ cm} \pm 0,106$.

4.2. Uptake das formulações

A fim de estudar o intumescimento exercido pelas matrizes hidrofílicas, o teste uptake foi realizado em todas as formulações, e assim foi obtido o aumento de massa de cada uma delas em função do tempo em que ficaram submersas em meio gástrico simulado, conforme mostra a Figura 4.

Figura 4- Aumento de massa em função do tempo das formulações 1,2 e 3, com ajuste



Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Estes dados obtidos mostram, como esperado, que todas as formulações intumesceram. A formulação 3 - que possui maior quantidade do polímero HPMC K100LV – apresentou um menor aumento de massa que as demais formulações, que apresentam ausência do HPMC K100LV (formulação 1) ou em menor quantidade (formulação 2).

O aumento de área média de cada uma das formulações foi calculado e está representado na Tabela 2.

Tabela 2- Área média inicial e final com desvio padrão, e a diferença entre elas.

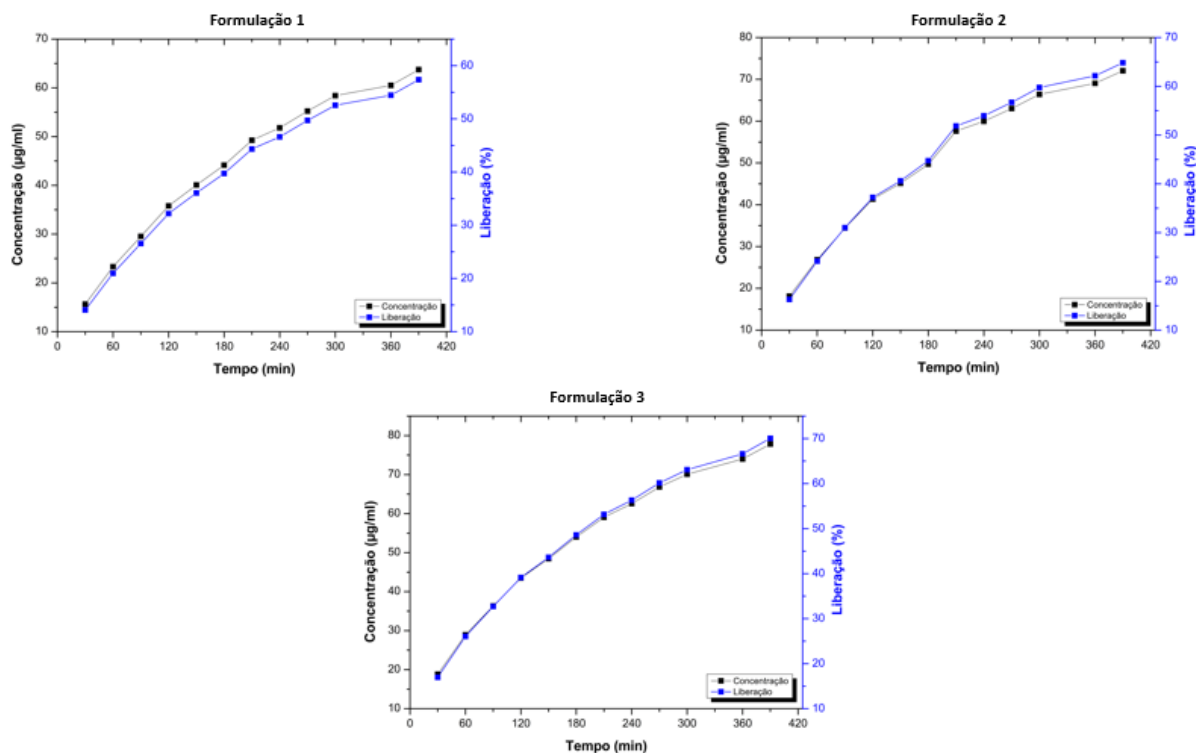
Formulação	Área inicial (cm²)	Área final (cm²)	Aumento de área (cm²)
1	1,172 ± 0,160	1,897 ± 0,230	0,725
2	1,156 ± 0,104	1,796 ± 0,317	0,640
3	1,159 ± 0,050	1,706 ± 0,100	0,547

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

4.3. Avaliação da taxa de liberação *in vitro* do metronidazol

Após leitura em espectrofotômetro UV das alíquotas coletadas, foram obtidos os valores de absorvância de cada uma das amostras nos tempos determinados. A figura 5 demonstra a concentração de fármaco liberada ao longo do tempo, assim como a taxa de liberação do metronidazol, que puderam ser calculadas partir dos valores de absorvância e a curva característica do metronidazol.

Figura 5- Concentração (em preto) e taxa de liberação (em azul) do metronidazol em função do tempo.

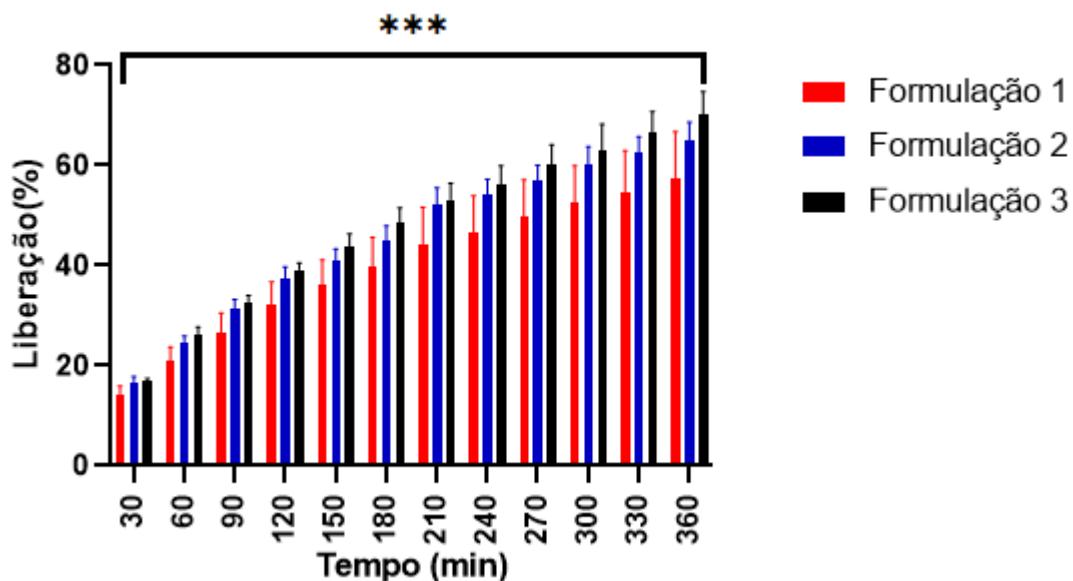


Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Com a taxa de liberação pode-se observar que, a formulação 3 - que possui maior quantidade de HPMC K100LV - foi a que mais liberou fármaco no período estabelecido de 6 horas, chegando a 70% de liberação, seguida pela formulação 2 que possui menor quantidade de HPMC K100LV, e a formulação 1, que não possui o polímero de baixa viscosidade em sua formulação.

A variação na taxa de liberação entre as formulações apresentou diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0005$) e está representada na Figura 6.

Figura 6- Taxa de liberação de metronidazol das formulações ao longo do tempo.

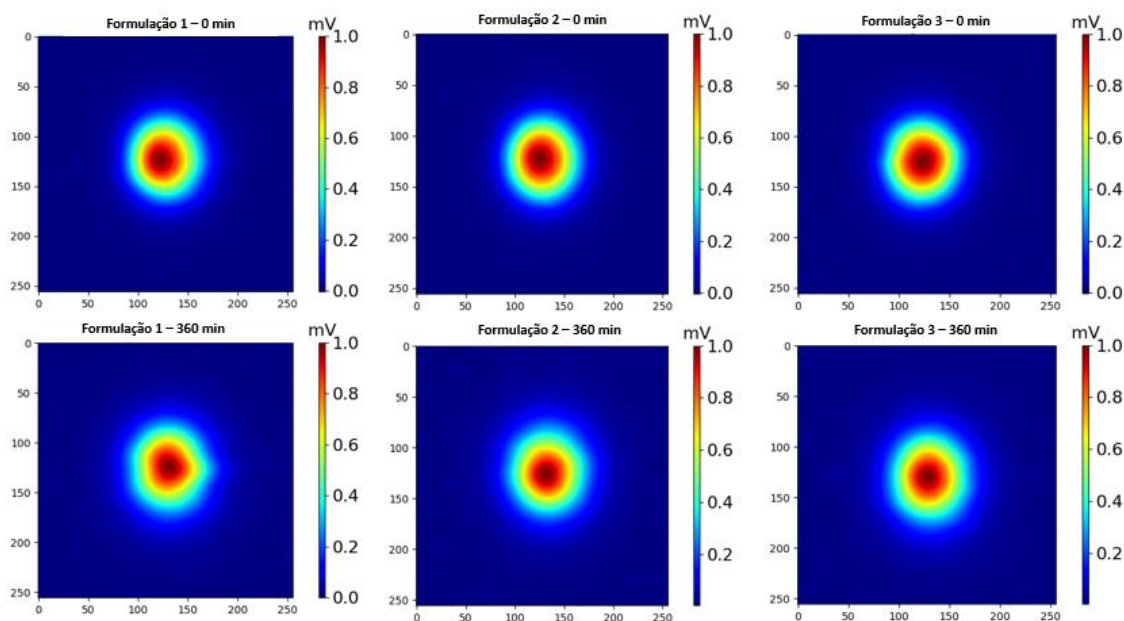


Fonte: elaborado pelo autor (2023)

4.4. Avaliação do intumescimento do sistema pelo método biomagnético automatizado

Para avaliar o intumescimento das matrizes hidrofílicas, foi realizado o experimento envolvendo o escaneamento das matrizes em diferentes tempos utilizando o sistema BAC. Estas medidas são importantes para aplicações *in vivo*, pois em voluntários, o método magnético de avaliação do aumento da área é fundamental para realizar a farmacomagnetografia (CORÁ et al., [s.d.]; PINTO et al., 2021; WEITSCHIES; BLUME; MÖNNIKES, 2009). Assim, é possível avaliar a variação da área magnética, referente a variação de volume do comprimido, quantitativamente via análise das imagens. A figura 7 mostra exemplos das imagens magnéticas obtidas neste experimento.

Figura 7- Imagens referentes às matrizes hidrofílicas ao início e final das medidas, na escala de mV.



Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Onde no tempo inicial a imagem magnética tem sinal máximo e uma área pequena, já que o marcador magnético está concentrado no comprimido em seu tamanho padrão, em contrapartida no tempo final a imagem magnética tem uma área maior e um sinal menor, devido ao intumescimento do sistema e a dispersão das partículas magnéticas.

O aumento de área magnética apresentado nas imagens obtidas através da Biosusceptometria de Corrente Alternada, foi quantificado e comparado com o aumento de área obtido com os valores calculados através de medidas com paquímetro e está expresso na Tabela 3.

Tabela 3- Variação de área das matrizes hidrofílicas e a diferença entre os métodos utilizados.

Formulação	Varição de área física	Varição de área imageada	Diferença (%)
1	0,725	0,803	11,901
2	0,640	0,622	2,802
3	0,547	0,745	36,183

Fonte: elaborado pelo autor (2023)

5. Discussão

Neste estudo, foi realizada uma avaliação detalhada e completa da taxa de liberação de fármaco e intumescimento de matrizes hidrofílicas utilizando o sistema BAC. Esta forma de liberação controlada de fármacos que tem se destacado ao longo dos anos por

ser um tratamento menos invasivo e eficaz, foi estudada e avaliada por uma técnica biomagnética de baixo custo e também conhecida por ser eficaz e não invasiva (CORÁ et al., [s.d.]).

Na Figura 4 podemos observar o intumescimento de cada uma das formulações empregadas, e conforme o esperado, as matrizes que possuíam maior quantidade do polímero de viscosidade média, apresentaram um maior aumento de massa, isso ocorre pelo fato desses polímeros possuírem uma estrutura mais densa, tornando a matriz mais compacta, o que se mostrava visível durante o experimento, enquanto na formulação 3 - que possui uma maior concentração de polímero de baixa viscosidade (HPMC K100LV) - ocorreu o oposto, resultando em um menor intumescimento do sistema. Na Figura 5 identificamos a influência das formulações na taxa de liberação do metronidazol, onde a formulação 1 que não possui o polímero de baixa viscosidade em sua composição, apresentou a menor taxa de liberação entre as formulações, seguida pela formulação 2 que possui menor concentração de HPMC K100LV, e a formulação 3 que na sua composição polimérica contém 50% de polímero de viscosidade média (HPMC K15M) e 50% de polímero de baixa viscosidade, o que é justificado pelo processo de difusão – principal mecanismo de liberação de fármaco nesse sistema - que ocorre de maneira mais lenta nos polímeros com maior viscosidade devido às moléculas do polímero estarem mais densamente empacotadas e criarem uma rede mais entrelaçada, tornando o movimento das moléculas do fármaco mais lento, essa diferença de liberação de metronidazol é estatisticamente significativa como pode ser observado na Figura 6.

Através da técnica BAC foi possível visualizar o intumescimento das matrizes através da quantificação do aumento de área presente na imagem magnética. A formulação 3 apesar de ter apresentado o menor aumento de massa em comparação às demais (Figura 4), apresentou aumento de área magnética maior que o aumento de área física – como observado na Tabela 3 - , essa contradição é explicada devido ao protocolo experimental empregado na medida magnética *in vitro*, pois ao retirar a matriz do recipiente contendo o meio gástrico para pesá-la e medir o diâmetro, por ser a formulação com menor viscosidade e a menos compacta, o comprimido sofria uma perda de material durante esse processo que ocorreu 12 vezes ao longo das 6 horas do experimento, o que também se aplica à formulação 1 e 2, porém de maneira mais atenuada devido à ausência e menor quantidade do polímero HPMC K100LV em suas formulações, respectivamente.

Com esses resultados, a técnica BAC se mostrou capaz de monitorar e quantificar o intumescimento de matrizes hidrofílicas *in vitro*, o que é de suma importância para futuras

aplicações *in vivo* (SOARES et al., 2021), além de se mostrar eficaz e promissora na pesquisa farmacêutica em geral.

6. Conclusão

Este trabalho avaliou o efeito de diferentes composições poliméricas em matrizes hidrofílicas magnéticas na taxa de liberação de metronidazol e no intumescimento do sistema. A partir dos resultados obtidos, concluímos que o polímero de baixa viscosidade (HPMC K100LV) aumenta a taxa de liberação do fármaco, enquanto o polímero de viscosidade média (HPMC K15M) apresenta um maior intumescimento e uma liberação mais lenta, de modo que as três formulações possuem diferença estatisticamente significativas entre elas. O sistema BAC foi capaz de detectar, monitorar e quantificar por meio de imagens magnéticas em tempo real, o intumescimento de todas as formulações utilizadas no trabalho. Com isso, os resultados adquiridos são de grande valia e irão auxiliar no desenvolvimento de futuras metodologias que serão aplicadas no Laboratório de Biomagnetismo, como na farmacomagnetografia, que visa aplicações e investigações *in vivo* de formas farmacêuticas sólidas.

7. Referências

- A Biosusceptometria AC aplicada à tecnologia farmacêutica. 2008.
- AMÉRICO, M. F. et al. Scintigraphic validation of AC Biosusceptometry to study the gastric motor activity and the intragastric distribution of food in humans. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 19, n. 10, p. 804–811, 1 out. 2007.
- AMÉRICO, M. F. et al. Electrical and mechanical effects of hyoscine butylbromide on the human stomach: a non-invasive approach. **Physiological Measurement**, v. 30, n. 4, p. 363, 12 mar. 2009.
- ASNAASHARI, S. et al. Pharmaceutical Development and Technology Preparation and evaluation of novel metronidazole sustained release and floating matrix tablets. 2010.
- BAFFA, O. et al. Analysis and development of AC biosusceptometer for oro-caecal transit time measurements. **Medical & Biological Engineering & Computing**, v. 33, n. 3, p. 353–357, maio 1995.
- CACCAVO, D. et al. Swellable Hydrogel-based Systems for Controlled Drug Delivery. **Smart Drug Delivery System**, 10 fev. 2016.
- COLERATO FERRARI, P. et al. Drug Development and Industrial Pharmacy A novel automated alternating current biosusceptometry method to characterization of controlled-release magnetic floating tablets of metronidazole A novel automated alternating current biosusceptometry method to characterization of controlled-release

magnetic floating tablets of metronidazole. **Drug Dev Ind Pharm**, v. 40, n. 8, p. 1123–1131, 2014.

COLOMBO, P. Swelling-controlled release in hydrogel matrices for oral route. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 11, p. 57, 1993.

CORÁ, L. A. et al. Magnetic images of the disintegration process of tablets in the human stomach by ac biosusceptometry. **Physics in Medicine & Biology**, v. 50, n. 23, p. 5523, 9 nov. 2005.

CORÁ, L. A. et al. Gastrointestinal transit and disintegration of enteric coated magnetic tablets assessed by ac biosusceptometry. **European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences**, v. 27, n. 1, p. 1–8, jan. 2006.

CORÁ, L. A. et al. Pharmaceutical applications of AC Biosusceptometry. 2009.

CORÁ, L. A. et al. Enteric Coated Magnetic HPMC Capsules Evaluated in Human Gastrointestinal Tract by AC Biosusceptometry. [s.d.].

CORÁ, L. A. et al. Biomagnetic Methods: Technologies Applied to Pharmaceutical Research. [s.d.].

DAVOODI, P. et al. Drug delivery systems for programmed and on-demand release ☆. 2018.

DEBOTTON, N.; DAHAN, A. Applications of Polymers as Pharmaceutical Excipients in Solid Oral Dosage Forms. **Medicinal Research Reviews**, v. 37, n. 1, p. 52–97, 1 jan. 2017.

HUANBUTTA, K. et al. Development and in vitro/in vivo evaluation of tamarind seed gum-based oral disintegrating tablets after fabrication by freeze drying. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 54, p. 101298, 1 dez. 2019.

KWIATKOWSKI, W.; TUMANSKI, S. The permalloy magnetoresistive sensors-properties and applications. **Journal of Physics E: Scientific Instruments**, v. 19, n. 7, p. 502, 1 jul. 1986.

MADERUELO, C.; ZARZUELO, A.; LANAO, J. M. Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices. **Journal of Controlled Release**, v. 154, n. 1, p. 2–19, 25 ago. 2011.

MIRANDA, J. R. A. et al. A novel biomagnetic method to study gastric antral contractions. **Physics in medicine and biology**, v. 42, n. 9, p. 1791–1799, 1997.

MOHYLYUK, V. et al. IVIVC for Extended Release Hydrophilic Matrix Tablets in Consideration of Biorelevant Mechanical Stress. [s.d.].

NOKHODCHI, A. et al. The Role of Oral Controlled Release Matrix Tablets in Drug Delivery Systems. **BioImpacts**, v. 2, n. 4, p. 175–187, 2012.

NOTT, K. P. Magnetic resonance imaging of tablet dissolution. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 74, n. 1, p. 78–83, 1 jan. 2010.

PAHLEVAN, N. M. et al. Group delay method for MRI aortic pulse wave velocity measurements in clinical protocols with low temporal resolution: Validation in a heterogeneous cohort. **Magnetic Resonance Imaging**, v. 69, p. 8–15, 1 jun. 2020.

(PDF) Rheological properties and diffusion dissolution behaviour of hydrophilic polymers. Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/20520130_Rheological_properties_and_diffusion_dissolution_behaviour_of_hydrophilic_polymers>. Acesso em: 31 jul. 2023.

PEIN, M. et al. Taste-masking assessment of solid oral dosage forms—A critical review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 465, n. 1–2, p. 239–254, 25 abr. 2014.

PINTO, L. A. et al. Pharmacomagnetography to evaluate the performance of magnetic enteric-coated tablets in the human gastrointestinal tract. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 161, p. 50–55, 1 abr. 2021.

PRAJAPATI, B.; KRUNAL, R. DESIGN AND IN VITRO EVALUATION OF NOVEL NICORANDIL SUSTAINED RELEASE MATRIX TABLETS BASED ON COMBINATION OF HYDROPHILIC AND HYDROPHOBIC MATRIX SYSTEM. 2010.

RICHARDSON, J. C. et al. Pharmaceutical applications of magnetic resonance imaging (MRI). **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 8, p. 1191–1209, 15 jun. 2005.

ROMEIRO, F. G. et al. A novel biomagnetic approach to study caecocolonic motility in humans. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 18, n. 12, p. 1078–1083, 1 dez. 2006.

SOARES, G. A. et al. The Influence of Omeprazole on the Dissolution Processes of pH-Dependent Magnetic Tablets Assessed by Pharmacomagnetography. **Pharmaceutics** 2021, Vol. 13, Page 1274, v. 13, n. 8, p. 1274, 17 ago. 2021.

TIWARI, S.-S. Modulation of drug release from hydrophilic matrices. **Pharmaceutical Technology Europe**, v. 20, n. 9, 2008.

VERGOTE, G. J. et al. An oral controlled release matrix pellet formulation containing nanocrystalline ketoprofen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 219, p. 81–87, 2001.

WANG, L. et al. Design and Evaluation of Hydrophilic Matrix System Containing Polyethylene Oxides for the Zero-Order Controlled Delivery of Water-Insoluble Drugs. [s.d.].

WEITSCHIES, W. et al. Determination of the disintegration behavior of magnetically marked tablets. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 52, n. 2, p. 221–226, 1 set. 2001.

WEITSCHIES, W. et al. Impact of the intragastric location of extended release tablets on food interactions. **Journal of Controlled Release**, v. 108, n. 2–3, p. 375–385, 28 nov. 2005.

WEITSCHIES, W.; BLUME, H.; MÖNNIKES, H. Magnetic Marker Monitoring: High resolution real-time tracking of oral solid dosage forms in the gastrointestinal tract. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 74, p. 93–101, 2009.

