

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos

Área de Produção e Controle Farmacêuticos

**Desenvolvimento de comprimidos de liberação prolongada de
nimesulida contendo ferrita para avaliação do trânsito
gastrintestinal por meio de técnica biomagnética**

Ruberlan de Oliveira Santos

São Paulo
2017

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos

Área de Produção e Controle Farmacêuticos

**DESENVOLVIMENTO DE COMPRIMIDOS DE LIBERAÇÃO
PROLONGADA DE NIMESULIDA CONTENDO FERRITA PARA
AVALIAÇÃO DO TRÂNSITO GASTRINTESTINAL POR MEIO DE
TÉCNICA BIOMAGNÉTICA**

Ruberlan de Oliveira Santos

Dissertação para obtenção do grau de

“Versão corrigida da Dissertação conforme resolução CoPGr 6018.

Original encontra-se disponível no Serviço de Pós-Graduação da FCF/USP”

Orientador: Profa. Dra. Cristina Helena dos
Reis Serra

São Paulo
2017

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada à fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

S122d	Santos, Ruberlan Desenvolvimento de comprimidos de liberação prolongada de nimesulida contendo ferrita para avaliação do trânsito gastrointestinal por meio de técnica biomagnética / Ruberlan Santos. - São Paulo, 2017. 116 p.
	Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia. Orientador: Serra, Cristina Helena
	1. Biomagnetismo. 2. BAC. 3. Sistemas matriciais. 4. Liberação prolongada. 5. Aparato IV. I. T. II. Serra, Cristina Helena, orientador.

Ruberlan de Oliveira Santos

Desenvolvimento de comprimidos de liberação prolongada de nimesulida
contendo ferrita para avaliação do trânsito gastrointestinal por meio de técnica
biomagnética

Comissão Julgadora

da

Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Profa. Dra. Cristina Helena dos Reis Serra
orientador/presidente

1º. examinador

2º. examinador

3º. examinador

4º. examinador

São Paulo, _____ de _____.

**“Quanto mais me assumo como estou sendo e percebo
a ou as razões de ser de porque estou sendo assim,
mais me torno capaz de mudar”**

Paulo Freire

**À Deus,
pelo dom da vida.**

**À minha mãe, Genivalda,
pelo eterno apoio e pelo amor incondicional.**

**À meu filho, Romeu,
Sentido da minha vida.**

**À amiga, Patricia,
pelo apoio, apesar das turbulências.**

**Às meus irmãos, Flávio, Diego, Diogo e Alessandra.
pelo eterno apoio e pelo amor incondicional.**

**Às meus amigos, Underson, Edu e Thais.
pelo companheirismo.**

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Cristina Helena dos Reis Serra, pela oportunidade, pelo aprendizado, pelo incentivo, pela dedicação, e por sua compreensão em todos os momentos e principalmente pela amizade.

Ao Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda, por toda dedicação e disponibilidade, que sem dúvida não seria possível a conclusão deste trabalho sem sua ajuda.

À toda equipe do laboratório de física e biofísica de Botucatu (UNESP) representada pelo, Prof. José Ricardo, Uilian, Luciana Corá e Deivid, obrigado pela hospitalidade e principalmente pelo comprometimento nas análises realizadas.

À minha família, pelo amor, pela paciência, pela presença em todos os momentos e pela torcida constante.

À minha família de coração, Alice, Alcides, Aline, Amanda, Alessandro, Vitalina, Geraldo, Priscila, Vinicius, Gustavinho (ainda no ventre), Fábio, Jussara, Murilo, Flávia, Dirceu, Jéssica, Guilherme, pela paciência, pela presença em todos os momentos e pela torcida constante.

Aos colegas do LPB, Marina, Michelle, Caio, Fran, Juliana, Mônica, Thaisa e André pela grande ajuda e amizade, sem a colaboração de vocês seria muito mais difícil.

À minha coordenadora, Paola, pela flexibilidade, apoio e incentivo ao aprendizado.

Aos voluntários que participaram deste estudo.

Às técnicas do laboratório de farmacotécnica, Claudinéia e Edgar, pela amizade e disponibilidade em todos os momentos.

Ao secretário, David, pela competência profissional e prestatividade.

À FAPESP, Capes, pelo suporte financeiro, que possibilitou a realização deste trabalho.

À todos aqueles que direta ou indiretamente, tornaram possível a conclusão deste trabalho.

SUMÁRIO

SUMÁRIO	11
LISTA DE TABELAS	13
LISTA DE FIGURAS	15
LISTA DE ABREVIATURAS	17
RESUMO	18
ABSTRACT	20
1. INTRODUÇÃO	22
2. OBJETIVOS	26
2.1. Objetivo Geral	26
2.2. Objetivos Específicos	26
3. REVISÃO DA LITERATURA	27
3.1. Formas Farmacêuticas de Liberação Prolongada (FFLP)	27
3.2. Fatores relacionados ao TGI que podem afetar a dissolução de fármacos	30
3.2.1. Superfície de absorção	31
3.2.2. pH dos líquidos do TGI	32
3.2.3. Secreções no TGI	33
3.2.4. Estado alimentado e em jejum	34
3.2.5. Volume	34
3.2.6. Tempo de Residência Gástrica (TRG)	35
3.2.7. Motilidade Intestinal	37
3.3. Avaliação <i>in vitro</i> da Forma Farmacêutica de Liberação Prolongada	39
3.3.1. Características dos Aparatos Compendiados	40
3.3.2. Métodos para análise e comparação de perfis de dissolução	45
3.4. Avaliação do trânsito gastrointestinal de formas farmacêuticas sólidas por biomagnetismo	46
3.6. Nimesulida (NSD)	49
4. MATERIAIS E MÉTODOS	52
4.1. Materiais	52
4.1.1. Materiais e Reagentes	52
4.1.2. Equipamento e vidrarias	52
4.2. Métodos	53

4.2.1. Desenvolvimento dos comprimidos matriciais contendo nimesulida (NSD) -----	53
4.2.2. Caracterização dos comprimidos matriciais contendo NSD -----	54
4.2.3. Estudo biomagnético dos comprimidos matriciais contendo NSD por meio da BAC -----	60
4.3. Validação do método analítico espectrofotométrico -----	64
4.3.1. Linearidade -----	64
4.3.2. Especificidade -----	65
4.3.3. Precisão -----	65
4.3.4. Exatidão -----	65
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	67
5.1. Caracterização dos comprimidos matriciais de NSD -----	67
5.1.1. Teor -----	68
5.1.2. Avaliação biofarmacotécnica <i>in vitro</i> -----	68
5.1.3. Avaliação da cinética e da eficiência de dissolução das formulações desenvolvidas -----	75
5.1.5. Estudo biomagnético por BAC das formulações desenvolvidas -----	82
5.2. Validação do método analítico espectrofotométrico -----	92
5.2.1. Linearidade -----	92
5.1.5.2 Especificidade -----	94
5.2.1 Precisão e exatidão -----	95
6. CONCLUSÃO -----	97
REFERÊNCIAS -----	99
ANEXOS -----	111
Anexo A - Ficha do aluno -----	112
Anexo B - Parecer CEP -----	115

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição percentual das formulações dos comprimidos matriciais contendo NSD (200 mg) e ferrita (550 mg) -----	53
Tabela 2 – Descrição dos intervalos de coleta para cada um dos meios de dissolução empregados na avaliação dos comprimidos matriciais de NSD e ferrita (NF1, NF2, NF3 e NF4), com utilização do aparato IV -----	56
Tabela 3 – Valores médios do peso, dureza e friabilidade dos comprimidos matriciais contendo NSD (200 mg) e ferrita (550 mg) -----	65
Tabela 4 – Valores de teor de NSD obtidos a partir da média de três determinações a partir dos comprimidos matriciais contendo NSD (200 mg) e ferrita (550 mg)-----	66
Tabela 5 – Valores médios de porcentagem de NSD dissolvida em função do tempo a partir dos comprimidos matriciais contendo NSD (200 mg), ferrita (marcador magnético, 550 mg) e HPMC em diferentes concentrações (NF1 – 30% HPMC; NF2 – 23% HPMC; NF3 – 17% HPMC e NF4 – 10% HPMC) obtidos a partir do ensaio de dissolução com o aparato IV-----	71
Tabela 6 – Valores do coeficiente de determinação obtidos de acordo com os modelos dependentes que descrevem a cinética de dissolução para as formulações NF1, NF2, NF3 e NF4 nos meios de dissolução, solução pH1,2, solução tampão pH 4,5, solução tampão pH 6,8 utilizando aparato IV-----	74
Tabela 7 – Valores das constantes cinéticas e percentual de dissolução em Q60, Q240 e Q480, obtidos a partir da equação definida pelo modelo matemático com melhor ajuste (ordem zero)-----	75
Tabela 8 - Valores das constantes cinéticas e percentual de dissolução em Q60, Q240 e Q480, obtidos a partir da equação definida pelo modelo matemático com melhor ajuste (ordem zero)	75
Tabela 9 - Avaliação estatística através dos índices de significância ($p < 0.05$) obtidos pela comparação entre a (ED%) das formulações desenvolvidas-----	78
Tabela 10 - Resultados obtidos para o trânsito no TGI (TRG = Tempo de Residência Gástrica; TTO = Tempo de Transito Orocecal e TTI = Tempo de Transito Intestinal) da formulação avaliada (NF4) por meio de estudo <i>in vivo</i> com BAC -----	85

Tabela 11 - Comparação dos resultados obtidos neste estudo (valores médios) através da BAC com valores descritos na literatura para o tempo de trânsito de cada porção do TGI no estado de jejum -----	86
Tabela 12 - Parâmetros do trânsito gastrointestinal relacionados com a constante de dissolução K, com previsão de solubilidade da NSD por região do TGI para formulação NF4 -----	85
Tabela 13 - Solubilidade máxima de NSD em cada região de acordo com a solubilidade em função do pH descrita na literatura (Revisão), em cada porção do TGI levando em consideração volume de líquido fisiológico em cada região	90
Tabela 14 - Valores de precisão e exatidão, intradia e interdias, determinados por meio da análise de soluções padrão de NSD (nas concentrações de 10, 30 e 60 µg/mL) em, e solução de Solução pH 1,2-----	94
Tabela 15 - Valores de precisão e exatidão, intradia e interdias, determinados por meio da análise de soluções padrão de NSD (nas concentrações de 10,30 e 60 µg/ mL) em, e solução tampão pH, 4,5-----	95
Tabela 16 - Valores de precisão e exatidão, intradia e interdias, determinados por meio da análise de soluções padrão de NSD (nas concentrações de 10,30 e 60 µg/ mL) em, e solução tampão pH, 6,8 -----	95

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Esquema representativo do balanço de fluidos no trato gastrointestinal com a contribuição de cada órgão e porção. Os círculos em cor clara representam o volume de líquido ingerido e secretado; os círculos em cor escura representam o volume de líquido reabsorvido ----- 23
- Figura 2 – Esquema representativo das quatro fases do CMM da motilidade gástrica após ingestão do alimento. 24
- Figura 3 – Esquema representativo da utilização do aparato de dissolução IV em sistema fechado. 27
- Figura 4 – Esquemas representando os tipos de células disponíveis para aplicação no aparato USP 4. Extraído de: SOTAX, 2016..... 45
- Figura 5 – Imagens obtidas a partir de ensaios com BAC de comprimidos de liberação colônica administrados a indivíduos saudáveis, demonstrando a sua desintegração (Adaptado de CORÁ, 2005). 49
- Figura 6 – Estrutura Molecular da Nimesulida..... 49
- Figura 7 – Equipamento composto por cuba com capacidade de 1 L, acoplada ao sensor de BAC empregado nas medidas magnéticas geradas a partir do intumescimento do comprimido 60
- Figura 8 – Regiões de posicionamento do multi-sensor BAC sobre a região de projeção gástrica (Figura 8 A) e região de projeção colônica (Figura 8 B) para coleta de sinais e mapeamento. Extraído de: ANDREIS, 2010..... 62
- Figura 9 – Perfis médios de dissolução da NSD obtidos a partir dos comprimidos matriciais contendo NSD (200 mg), ferrita (marcador magnético, 550 mg) e HPMC, NF1(30% HPMC); NF2 (23% HPMC), NF3 (17% HPMC) e NF4 (10% HPMC). Os resultados representam a média de seis determinações (n= 6); HPMC = hidroxipropilmetilcelulose. 72
- Figura 10 – Resultados de eficiência de dissolução para as formulações NF1 = (30% HPMC); 20%; NF2 = (23% HPMC; 20%) NF3 = (17% HPMC; 20%); NF4 = (10% HPMC). Os valores apresentados são resultados da média a partir da avaliação de 6 comprimidos. 77
- Figura 11** - Perfis da área magnética em função do tempo, obtidos para a formulação NF4 (10% HPMC) a partir dos estudos com emprego da BAC *in*

in vitro nos meios de dissolução: solução pH 1,2, soluções tampão, pH4,5 e pH 6,8. Os valores representam os resultados de determinações em cada solução 82

Figura 12. Representação gráfica dos perfis da área magnética em função do tempo, obtida por meio de estudo com BAC *in vitro*, e do de dissolução do fármaco em função do tempo, obtido por meio do ensaio de dissolução com o aparato IV, para a formulação NF4 (10% HPMC) ----- 83

Figura 13. Imagens sequenciais obtidas através do mapeamento biomagnético *in vivo*, evidenciando o TRG da formulação NF4 e a estabilização do aumento de área magnética ----- 87

Figura 14. Curva analítica do método para quantificação de NSD em solução pH 1,2, por espectrofotômetro UV (300 nm) no intervalo de concentração de 6 a 100 µg/mL. Cada ponto representa a média de 3 determinações (n=3). X = concentração (µg/mL); y = absorvância (UV), r² = coeficiente de determinação 91

Figura 15. Curva analítica do método para quantificação de NSD em solução tampão, pH 4,5, por espectrofotômetro UV (300 nm) no intervalo de concentração de 6 a 100 µg/mL. Cada ponto representa a média de 3 determinações (n=3). x = concentração (µg/mL); y = absorvância (UV), r² = coeficiente de determinação ----- 92

Figura 16. Curva analítica do método para quantificação de NSD em solução tampão, pH 6,8, por espectrofotômetro UV (300 nm) no intervalo de concentração de 6 a 100 µg/mL. Cada ponto representa a média de 3 determinações (n=3). x = concentração (µg/mL); y = absorvância (UV), r² = coeficiente de determinação ----- 92

Figura 17. Espectros obtidos por meio da varredura espectrofotométrica das soluções empregadas como meios de dissolução (solução de HCl pH 1,2, solução tampão acetato pH 4,5 e solução tampão fosfato pH 6,8), na faixa de comprimento de onda de 230 a 500 nm ----- 93

Figura 18. Espectros obtidos por meio da varredura espectrofotométrica das soluções contendo padrão de NSD, concentração 100 µg/mL, teor 99,7%, nos seguintes meios de dissolução: solução de HCl pH 1,2, solução tampão acetato pH 4,5 e solução tampão fosfato pH 6,8 ----- 94

LISTA DE ABREVIATURAS

AINE - Antiinflamatório não esteroideal

AMR - Anisotrópicos magneto-resistivos

ASC - Área sobre a curva

Atot - Área total

BAC - Biosusceptometria de corrente alternada

COX - Cicloxigenase

CV - Coeficiente de variação

ED - Eficiência de dissolução

Eq - Equação

FF - Forma farmacêutica

FFLM - Forma farmacêutica de liberação modificada

FFLMs - Formas farmacêuticas de liberação modificadas

FFLP - Forma farmacêutica de liberação prolongada

FFLR - Forma farmacêutica de liberação retardada

FFs - Formas farmacêuticas

HPMC – hidroxipropilmetilcelulose

MRI - Ressonância magnética de imagem

rpm - rotação por minuto

SQUID - Dispositivos supercondutores de interferência quântica

TGI – Trato gastrintestinal

TRG -Tempo de residência gástrica

TTOC - Tempo de trânsito orocecal

TTI - Tempo de trânsito Intestinal

T_i - Tempo de trânsito em cada seguimento do TGI

RESUMO

RUBERLAN, O.S. Desenvolvimento de comprimidos de liberação prolongada de nimesulida contendo ferrita para avaliação do trânsito gastrointestinal por meio de técnica biomagnética. São Paulo, 2017. 116f. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

As Formas Farmacêuticas de Liberação Prolongada (FFLP) têm sido uma alternativa eficaz na terapia, pois proporcionam maior adesão do paciente ao tratamento em função da redução da frequência de dosagem ao longo do dia, sendo sua principal característica, a modulação da liberação/dissolução do fármaco. Entretanto, esta etapa pode ser influenciada por diferentes fatores, dentre eles: os físico-químicos relacionados ao fármaco; os farmacêuticos, principalmente relacionados aos excipientes empregados e às técnicas de obtenção da forma farmacêutica (FF) e os fisiológicos do trato gastrointestinal (TGI), como por exemplo, o pH dos líquidos do TGI, o tempo de esvaziamento gástrico, a motilidade intestinal, entre outros. Desse modo, a avaliação do trânsito da FF no TGI, após a sua administração, permite uma melhor compreensão dos fatores que podem afetar as etapas de liberação/dissolução do fármaco *in vivo*. Dentre as técnicas empregadas com esse objetivo, destacam-se: a cintilografia e os métodos biomagnéticos. A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) é um método biomagnético que tem se mostrado promissor para este tipo de estudo, por ser não invasivo, portátil, livre de radiação ionizante, e por apresentar acurácia e versatilidade. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivos, desenvolver e caracterizar sob o aspecto biofarmacotécnico *in vitro*, um sistema de liberação prolongada contendo nimesulida (fármaco-modelo) e marcador magnético (ferrita), visando obtenção de ferramenta para avaliação do trânsito gastrointestinal por meio de técnica biomagnética. Para isto foram desenvolvidas quatro formulações de comprimidos de liberação prolongada contendo nimesulida, ferrita e diferentes concentrações de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC): NF1 (30% HPMC); NF2 (23% HPMC); NF3 (17% HPMC) e NF4 (10% HPMC). Essas foram avaliadas quanto ao comportamento de dissolução por meio de ensaios com aparato 4 e avaliação da cinética e da eficiência de dissolução (ED%). Posteriormente, estudos biomagnéticos, *in vitro* e *in vivo*, foram conduzidos com emprego da técnica de BAC para a formulação selecionada. Os resultados obtidos

mostraram que as 04 formulações desenvolvidas apresentaram porcentagens de dissolução distintas em função das diferentes concentrações de HPMC (NF1 = 13,2%; NF2 = 40,1%; NF3 = 72,5% e NF4 = 91,5%). A formulação NF4, com menor concentração de HPMC, foi escolhida para os estudos por meio de BAC em função dos resultados de ED% (54,3%) e por apresentar comportamento mais próximo de uma formulação de liberação prolongada. Em relação aos resultados de BAC *in vitro*, destaca-se que a formulação NF4 (10%HPMC) apresentou aumento de área magnética de forma independente do pH do meio, sugerindo que a hidratação/intumescimento da HPMC independe do pH. Em relação à avaliação do trânsito intestinal (estudo *in vivo*) foram obtidos os seguintes dados: Tempo médio de Residência Gástrica (TTR) – 89 minutos; Tempo médio do Trânsito Orocecal (TTO) – 313 minutos e Tempo médio do Trânsito Intestinal (TTI) - 224 minutos. Os dados de BAC *in vivo* permitiram observar que o aumento de área magnética atingiu um platô em cerca de 80 minutos após a administração da formulação NF4. A comparação dos dados de BAC *in vitro* e BAC *in vivo*, relacionados ao trânsito gastrointestinal, indica que a formulação NF4, após apresentar o ápice de intumescimento, foi capaz de manter sua estrutura permanente ao longo do TGI, favorecendo assim a liberação modulada do fármaco. Os resultados obtidos demonstraram que a formulação desenvolvida foi eficiente para avaliar e caracterizar o trânsito no TGI por meio da técnica de BAC e também permitiram uma estimativa do comportamento do fármaco em relação a solubilidade em cada porção do TGI, proporcionando assim uma ferramenta adequada para avaliação do trânsito do TGI e desenvolvimento de FFLP.

Palavras-chave: Biomagnetismo, BAC, sistemas matriciais, liberação prolongada, nimesulida, aparato IV.

ABSTRACT

RUBERLAN, O.S. Development of prolonged release tablets of nimesulide containing ferrite for evaluation of gastrointestinal transit by means of biomagnetic technique. São Paulo, 2017. 116f. Master's Degree Dissertation - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, University of São Paulo, São Paulo, 2017.

Extended Release (ER) dosage forms have been an effective alternative in therapy, since they provide greater patient adherence to treatment as a function of the reduction of the frequency of dosing throughout the day, its main characteristic being the release / dissolution modulation of the drug. However, this stage can be influenced by different factors, among them: the physical and chemical related to the drug; the pharmacists, mainly related to the excipients employed and the techniques of obtaining the form dosage and the physiological ones of the gastrointestinal tract (GI tract), as for example, the pH of the liquid of the GI tract, gastric emptying time, intestinal motility, among others. Thus, assessment of dosage forms transit in GI tract after its administration allows a better understanding of the factors that may affect the drug release / dissolution steps in vivo. Among the techniques used for this purpose, the following stand out: scintigraphy and biomagnetic methods. Alternating Current Biosensometry (ACB) is a biomagnetic method that has shown promise for this type of study, since it is non-invasive, portable, free of ionizing radiation, and because of its accuracy and versatility. In view of the above, the aim of this work was to develop and characterize a sustained release system containing nimesulide (study drug) and magnetic marker (ferrite) under the in vitro biopharmaceutical aspect, aiming to obtain a tool to evaluate the GI tract transit through means of biomagnetic technique. For this, four formulations of extended release tablets containing nimesulide, ferrite and different concentrations of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC): NF1 (30% HPMC) were developed; NF2 (23% HPMC); NF3 (17% HPMC) and NF4 (10%

HPMC). These were evaluated for dissolution behavior by apparatus 4, assays and kinetics and dissolution efficiency (ED%). Subsequently, biomagnetic studies, in vitro and in vivo, were conducted using the ACB technique for the selected formulation. The results showed that the formulations developed showed different percentages of dissolution as a function of the different concentrations of HPMC (NF1 = 13.2%, NF2 = 40.1%, NF3 = 72.5% and NF4 = 91.5%). The NF4 formulation, with a lower concentration of HPMC, was chosen for the ACB studies as a function of ED% results (54,3%) and because of the behavior of a sustained release formulation. In relation to the in vitro ACB results, the NF4 formulation (10% HPMC) showed an increase in magnetic area independently of the pH of the medium, suggesting that the HPMC hydration / swelling is independent of pH. In relation to intestinal transit evaluation (in vivo study) the following data were obtained: Mean Time of Gastric Residency (TTR) - 89 minutes; Mean Time of Orocecal Transit (OCTT) - 313 minutes and Mean Time of Intestinal Transit (TTI) - 224 minutes. ACB data in vivo showed that the increase in magnetic area reached a plateau in about 80 minutes after administration of the NF4 formulation. Comparison of in vitro ACB and ACB data in vivo, related to gastrointestinal transit, indicates that the NF4 formulation, after showing the swelling apex, was able to maintain its permanent structure throughout the GI tract, thus favoring the modulated release of the drug. The obtained results demonstrated that the developed formulation was efficient to evaluate and characterize the transit in the GI tract by means of the ACB technique and allowed a prediction of the behavior of the drug in relation to the solubility in each portion of the GI tract, thus providing a suitable tool for evaluation of the GI tract transit and the development of sustained release formulation.

Key words: Biomagnetism, BAC, matrix systems, sustained release, nimesulide, apparatus IV.

1. INTRODUÇÃO

A população, de um modo geral, tem uma maior aceitação para as formas farmacêuticas de administração oral, principalmente as formas farmacêuticas sólidas. Esta popularidade se deve à maior facilidade de administração, de transporte e de armazenamento destas formas farmacêuticas (AULTON, 2005; SILVA, 2014; GITTINGS, 2013).

Os comprimidos são produzidos principalmente como dois tipos de sistemas de liberação: convencional (liberação muito rápida, rápida) e liberação modificada. Os comprimidos de liberação convencional têm na formulação adjuvantes com a finalidade de permitir rápida liberação do fármaco com o objetivo de garantir a adequada concentração plasmática do mesmo em um curto período de tempo. Por sua vez, dentre os sistemas de liberação modificada, destacam-se os comprimidos de liberação prolongada, que têm como característica proporcionar a liberação do fármaco de forma gradativa, o que deve permitir assim, a manutenção dos níveis plasmáticos do fármaco ao longo do tempo, dentro de uma faixa terapêutica, diminuindo a necessidade de várias administrações durante o dia. As estratégias farmacotécnicas para modular a liberação do fármaco nestas formulações são: sistemas matriciais (utilização de polímeros naturais ou agentes formadores de matriz), sistemas revestidos (em formas de *pellets* ou revestimentos gastrorresistentes) e de bomba osmótica (MARCOLONGO, 2003; LANZILLOTTI, 2012; ANSEL *et al.*, 2007; AULTON, 2005).

Os sistemas matriciais são os mais utilizados para modular a liberação do fármaco em Formas Farmacêuticas de Liberação Modificada (FFLM). Estes são produzidos por meio de matrizes inertes, hidrofílicas ou hidrofóbicas (SPRECIGO, 2006; MARCOLONGO, 2003). A Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) é uma matriz hidrofílica que está entre as mais utilizadas obter formas farmacêuticas de liberação prolongada (FFLP) e apresenta algumas vantagens como, a fácil utilização para obtenção de comprimidos por compressão direta, a

baixa influência do pH do meio sobre sua capacidade de liberação do fármaco, além de não ser tóxica (SIEPMANN, 2012).

Os comprimidos de liberação prolongada, objeto de estudo deste trabalho, tem como característica liberar o fármaco gradativamente ao longo do Trato Gastrointestinal (TGI) humano, mantendo-o em níveis terapêuticos no sangue (ANSEL, 2005). Assim, a velocidade de liberação, ou dissolução, do fármaco nos líquidos biológicos, a partir da forma farmacêutica, e a sua absorção, são os fatores determinantes da manutenção desses níveis terapêuticos e da magnitude da resposta (GITTINGS, 2013; SHARGEL, YU, 2012; STORPIRTIS, 2011; ANSEL, 2000). As etapas de dissolução/liberação e absorção do fármaco podem sofrer influência de inúmeros fatores, dentre eles destacam-se: os farmacêuticos, relacionados à forma farmacêutica, excipientes e tecnologia de obtenção; os físico-químicos, relacionados ao fármaco e os fatores fisiológicos, que, no caso da administração oral, estão especialmente relacionados às características do TGI (DIAMANT, 1997; BOLOGNESI, 2008; BITAR 2014).

O TGI humano é um meio complexo, que apresenta diferenças regionais extremamente acentuadas. Vários fatores fisiológicos do TGI podem influenciar a absorção dos fármacos, como: superfície de absorção; pH, composição e volume dos líquidos do TGI; influência dos alimentos; presença de sais biliares; presença de enzimas; mecanismo de transporte através das membranas das células do TGI; metabolismo pré-sistêmico; motilidade e trânsito no TGI (AMIDON, BERMEJO, 2003; MACHERAS, ARGYRAKIS, 1997).

A motilidade é uma das funções básicas do TGI, que é caracterizada pela capacidade de contração e relaxamento da musculatura do tubo digestivo, sempre com a intenção de misturar e propelir o bolo alimentar ao longo do TGI (CAMILERI, 2006). O trânsito do medicamento no TGI, que compreende a passagem do medicamento através do esôfago, estômago, intestino delgado e cólon, pode ter impacto considerável na dissolução e na absorção do fármaco. O intestino delgado é a porção do TGI onde ocorre absorção da maioria dos fármacos e nesta porção, o tempo de trânsito varia entre 3,0 a 4,5 horas em indivíduos saudáveis (SHARGEL; YU, 2005; WILSON, 2000; SJOGREN, 2014).

Desta forma, tanto o tempo de residência gástrica, assim como o tempo de permanência no intestino delgado e grosso, são determinantes na dissolução e absorção dos fármacos e podem ter impacto na biodisponibilidade do mesmo (SJOGREN, 2014, HILA *et al.*, 2006). Tais parâmetros são sobretudo importantes para as FFLM, como as FFLP (ASHFORD, 2005b; CHARMAN *et al.*, 1997).

Embora as FFLP, na forma de comprimidos, sejam apresentações relativamente simples, há um grande desafio envolvido em seu desenvolvimento, uma vez que a biodisponibilidade do fármaco, veiculado nesta FF, dependerá fundamentalmente da adequada liberação/dissolução (SHARGEL, YU, 2012; ANSEL, 2005). Assim sendo, o sucesso das FFLP depende de um adequado desenvolvimento que deve considerar o impacto dos vários aspectos supracitados, nos processos de liberação e absorção, como por exemplo, o tempo em que a FF reside ou transita em cada parte do TGI, as diferenças anatômicas de cada região e os diferentes pH dos líquidos fisiológicos (AUGUSTIJNS, 2014; LENNERNAS, 2014). Portanto, estudos que permitam melhor compreensão em relação à liberação/dissolução do fármaco e ao trânsito das FFLP tornam-se imprescindíveis. A avaliação do comportamento de dissolução pode ser realizada por meio de ensaios de dissolução *in vitro*, que tem como premissa básica a utilização de soluções que apresente relevância fisiológica, sendo usual trabalhar dentro de uma faixa de pH entre 1,2 a 6,8 (BRASIL, 2010).

Há pelo menos sete tipos de aparatos, referenciados nas diferentes farmacopeias, propostos para a realização dos ensaios de dissolução. Os aparatos 1 e 2 são os mais empregados, sobretudo para sistemas de liberação convencional. Entretanto, para FFLM, os aparatos 1 e 2 têm emprego limitado, e nestes casos, os aparatos 3 e 4 são os mais apropriados devido uma melhor correlação com as condições *in vivo*, especialmente o aparato 4. Este aparato tem sido indicado para a avaliação de diferentes FFLM, como, dispositivos de liberação subcutânea, *stent*, formas farmacêuticas de liberação retardada (FFLR) e FFLP, em função das seguintes características: facilidade de manter condições *sink* para fármacos de baixa solubilidade, por possibilitar o emprego

de volumes infinitos de meio de dissolução; comodidade de poder variar o pH do meio de dissolução em um único ensaio, sem que haja necessidade de remoção da FF do sistema; permite avaliar diferentes sistemas de liberação; evita a evaporação do meio, uma vez que as células são mantidas completamente fechadas, reduzindo assim, erros experimentais e, principalmente, por possibilitar condições de ensaio muito semelhantes com aquelas que são observadas *in vivo*, como fluxo do líquido que passa através das FFs e condições hidrodinâmicas, o que permite a obtenção de perfis de dissolução mais preditivos (LANGENBUCHER, 1989; FOTAKI *et al.*, 2009).

Os estudos do comportamento de trânsito das FFs, especialmente as FFLP, durante seu trajeto no TGI, por sua vez, têm sido de grande relevância para o desenvolvimento farmacotécnico. Estes têm sido realizados por meio de diferentes técnicas, como, a esofagografia baritada, esofagogastroscoopia, a manometria esofágica, a cintilografia e técnicas biomagnéticas (CORÁ, 2008; ANDREIS, 2010; KLEIN, 2013). Dentre as técnicas biomagnéticas empregadas, destacam-se: os Dispositivos Supercondutores de Interferência Quântica (SQUID), os Sensores Anisotrópicos Magneto-Resistivos (AMR), a Ressonância Magnética (MRI) e a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) (CORÁ, 2010; Bolognesi, 2008; CORÁ, 2008).

A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) é uma técnica promissora que apresenta vantagens como, melhor relação custo/benefício, portabilidade, boa relação sinal/ruído, sensibilidade adequada para permitir o estudo do trânsito no TGI e por não ser invasiva, além de não necessitar de ambiente blindado (WEITSCHIES, 2012; OLIVEIRA, 2010; CORÁ, 2010).

Assim, considerando as questões supracitadas, o presente trabalho teve por objetivo desenvolver e caracterizar, sob o aspecto biofarmacotécnico *in vitro*, um sistema de liberação prolongada contendo nimesulida (fármaco-modelo) e um marcador magnético (ferrita), tendo em vista o desenvolvimento de ferramenta que permita estudos mais aprofundados sobre o impacto do trânsito gastrointestinal na liberação de fármacos, por meio de técnicas biomagnéticas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O presente trabalho teve por objetivo, desenvolver e caracterizar, sob o aspecto biofarmacotécnico *in vitro*, um sistema de liberação prolongada contendo nimesulida (fármaco-modelo) e um marcador magnético (ferrita), tendo em vista o desenvolvimento de ferramenta que permita estudos mais aprofundados sobre o impacto do trânsito gastrointestinal na liberação de fármacos, por meio de técnicas biomagnéticas.

2.2. Objetivos Específicos

- i) Desenvolver formulações de liberação prolongada contendo nimesulida e ferrita, como um marcador magnético;
- ii) Avaliar e caracterizar as formulações desenvolvidas em relação às características biofarmacotécnicas *in vitro*, por meio do estudo de dissolução com emprego do aparato IV;
- iii) Empregar a BAC para avaliar as formas farmacêuticas sólidas magneticamente marcadas, por meio de estudos *in vitro* e *in vivo*, e mensurar a variação de aumento de área magnética durante trânsito no TGI.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Formas Farmacêuticas de Liberação Prolongada (FFLP)

As FFLP consistem em um tipo de Forma Farmacêutica de Liberação Modificada (FFLM), as quais têm como característica a modificação da taxa de liberação do fármaco apresentarem inúmeras vantagens, tais como, melhor adesão ao tratamento pelo paciente e à possibilidade de controle da liberação do fármaco, o que mantém a concentração do fármaco em níveis terapêuticos por um determinado período de tempo (PRISTA *et al*, 1996; SILVA, 2014; LANZILLOTTI, 2012; SPRICIGO, 2006).

A maioria dos produtos de liberação modificada encontra-se na forma de comprimidos ou cápsulas de administração oral. As FFLM podem ser classificadas como: sistemas de Liberação Retardada (FFLR) e prolongada (FFLP) (MANADAS, 2002; USP, 2017). A FFLR, como o próprio nome sugere, tem a característica de retardar a liberação do fármaco, sendo liberado nas porções distais do TGI. A FFLP, por sua vez, consiste de sistema que modifica a taxa de liberação do fármaco, mantendo-a constante por um período de tempo mais longo, e desta forma o fármaco é liberando gradativamente ao longo do TGI (PEZZINI, 2007; USP 40, 2017).

Dentre as apresentações de FFLP, destacam-se os sistemas matriciais, os revestidos e os sistemas osmóticos (LANZILLOTTI, 2012; SPRICIGO, 2006). Os comprimidos revestidos são recobertos com fina camada de polímeros, que podem conferir gastrorresistência, como também, servir de recurso técnico, para mascarar o sabor e melhorar o aspecto do comprimido, (MADERUELO, 2011). Os sistemas conhecidos como bombas osmóticas utilizam-se da pressão osmótica para modular a liberação do fármaco. Consistem em comprimidos com um pequeno orifício, que apresentam revestimento semipermeável. Neste tipo de sistema, o fármaco encontra-se distribuído no comprimido e o processo de liberação do mesmo ocorre por meio

da penetração dos líquidos fisiológicos no interior do comprimido, que é controlado pelo revestimento semipermeável, promovendo uma pressão hidrostática que permite a liberação contínua do fármaco (AULTON, 2005; ANSEL 2005).

Os sistemas matriciais, por sua vez, são os mais utilizados para produção de comprimidos de liberação prolongada, devido à simplicidade em sua obtenção e ao baixo custo, uma vez que para a fabricação destes não é necessário modificar o maquinário utilizado para comprimidos de liberação convencional (SPRICIGO, 2006; SIEPMANN, 2008; LANZILLOTTI, 20012;).

Conforme Lordi (1970), os excipientes empregados nos sistemas matriciais, com a finalidade de modular a liberação do fármaco, são classificados em:

- i. Polímeros inertes (ex.: etilcelulose, polietileno, cloreto de vinila);
- ii. Matrizes insolúveis em água (hidrofóbicos) e erodíveis (ex.: triglicerídeos, cera de carnaúba e óleo de rícino hidrogenado).
- iii. Matrizes hidrofílicas (ex.: alginato de sódio, hidroxipropilmetilcelulose, hidroxietilcelulose, carbômeros, carboximetilcelulose sódica).

Os polímeros inertes ou insolúveis apresentam uma estrutura porosa que serve como uma espécie de reservatório para os fármacos, e a entrada de líquido biológico por canalículos presentes nessas estruturas, é o que possibilitará à FF, o adequado controle de liberação do fármaco (LANZILLOTTI, 2012; LOPES, 2005; ANSEL, 2005; AULTON, 2005; PEZZINI, 2002; MANADAS, 2002). A inferência do termo inerte a este tipo de sistema está relacionada ao fato desses polímeros não sofrerem alteração em sua estrutura quando entram em contato com os líquidos biológicos, ou seja, não se solubilizam no meio (LANZILLOTTI, 2012; AULTON, 2005; PEZZINI, 2007; MADERUELO, 2011). No caso das matrizes hidrofóbicas, o processo de liberação acontece de duas formas, por erosão ou por difusão, prevalecendo

uma delas de acordo com a as características físico-químicas do fármaco e dos excipientes utilizados (MANADAS, 2002; MADERUELO, 2011).

Os polímeros hidrofílicos, por sua vez, normalmente empregados são os derivados da celulose, como Hidroxietilcelulose (HEC), Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), Carboximetilcelulose (CMC), entre outros. Estes quando em contato com os líquidos biológicos, sofrem alteração estrutural através do intumescimento decorrente do enfraquecimento das ligações polímero-polímero, conferindo à estrutura uma característica gelatinosa. A formação de um gel é o fator preponderante para modular a liberação do fármaco, de modo a controlar a entrada de fluido biológico e consequente saída de fármaco solubilizado (PEZZINI, 2007; LOPES, 2005; MADERUELO, 2011).

No desenvolvimento de FFLP o HPMC é o polímero mais utilizado, uma vez que é facilmente encontrado no mercado farmacêutico, apresentando-se com diferentes viscosidades, o que flexibiliza sua utilização na produção de FFLP e obtenção de distintos perfis de liberação do fármaco. Sua natureza atóxica e inócua, também são características que viabilizam sua utilização (PEZZINI, 2007, AULTON, 2005; COSTA, 2002, LOOPES 2007).

A velocidade e a intensidade de formação da estrutura gelatinosa estão associadas principalmente à viscosidade do polímero, sendo diretamente proporcionais à mesma, ou seja, quanto maior a viscosidade maior a capacidade de formar gel e maior será a retenção do fármaco na forma farmacêutica (SPRICIGO, 2006; PEZZINI, 2007; SIEPMANN, 2012).

Nas FFLP a cinética de liberação do fármaco é modulada de modo que, mesmo que ocorra a erosão do sistema, o fármaco deve ser liberado gradativamente ao longo do TGI. A liberação a partir dos sistemas de FFLP pode ocorrer por meio de três mecanismos: difusão, degradação/erosão polimérica e intumescimento (*swelling*), tais eventos podem ocorrer simultaneamente, porém sempre com a prevalência de um dos mecanismos (MANADAS, 2002).

A difusão é o processo onde o fármaco, que está revestido por um polímero, ou incorporado a uma matriz polimérica, é solubilizado pelo líquido biológico na matriz, ou no interior do polímero, para depois ser liberado paulatinamente seguindo a lei de transferência de massa de Fick (BICHERI, 2010; MANADAS, 2002).

Por outro lado, a liberação do fármaco por degradação/erosão polimérica, acontece através da difusão do líquido biológico para o interior da FF, provocando o intumescimento da mesma, formando uma estrutura gelatinosa, que, para fármacos altamente solúveis, a liberação se dará pelo processo de difusão e também por degradação/erosão, no entanto para fármacos poucos solúveis, a liberação ocorrerá quase que exclusivamente por degradação/erosão (BICHERI, 2010; MANADAS, 2002).

Conforme descrito, as FFLP apresentam diferentes e variados mecanismos de liberação/dissolução do fármaco que podem ocorrer simultaneamente, porém, sempre com a prevalência de um tipo. Os mecanismos de liberação, assim como a cinética de liberação, podem sofrer influência direta das condições fisiológicas do TGI, uma vez que este apresenta diferenças consideráveis ao longo de sua extensão e dentre estas, destacam-se: volume dos líquidos fisiológicos; composição destes líquidos; grande amplitude de faixa de pH, que pode variar de 1,0 a 8,0 ao longo de todo TGI, além da variação na motilidade de cada região (LOPES, 2005; SIEPMANN, 2006, 2012; OLIVEIRA, 2010).

3.2. Fatores relacionados ao TGI que podem afetar a dissolução de fármacos

Os fatores que afetam a dissolução e a absorção de fármacos estão especialmente relacionados às propriedades físico-químicas dos fármacos, às características farmacêuticas (forma farmacêutica, adjuvantes farmacotécnicos e tecnologia envolvida na fabricação dos medicamentos), e às características biológicas, tais como, via de administração, anatomia e fisiologia do local onde ocorrerá a absorção (SHARGEL; YU, 2005). Assim, para os medicamentos

administrados por via oral, os aspectos fisiológicos do TGI que terão impacto importante sobre a liberação e absorção dos fármacos podem ser resumidos em: pH dos líquidos do TGI, tempo de residência gástrica, motilidade intestinal, estabilidade do fármaco nos fluidos fisiológicos; estado de jejum ou alimentado e superfície de absorção (SERRA; 1998; STORPIRTIS, 1999; FRIMAN, 2000; AULTON, 2005; NIESSEN, 2005; VARUM, 2008; BITAR, 2014; PHILLIPS, 2014).

O TGI é composto pelos principais órgãos (esôfago, estômago, intestino delgado e intestino grosso) que apresentam como principais funções, os processos de armazenamento, digestão, secreção e absorção de nutrientes (PRISTA; 1991; SHARGEL & YU, 1993, DRESSMAN *et al.*, 2007).

O esôfago com cerca de, 25 centímetros, conecta a boca ao estômago. O tempo de passagem do alimento nesta região, varia entre 8 a 20 segundos (SHARGEL & YU, 1993). O estômago, por sua vez, é a porção do TGI mais dilatada, com capacidade de aproximadamente 1,5 L, sendo que em jejum, seu volume não ultrapassa 50 mL. Esta porção do TGI está dividida em: fundo; corpo, antro e piloro (QUIGLEY, 2000). Já o intestino delgado representa cerca de 60% do TGI, com dimensão entre 4 e 5 metros, sendo a porção onde ocorre a maior parte da absorção de nutrientes e este é dividido em: duodeno (20 a 30 centímetro); jejuno (1,5 a 2,0 metros) e íleo (2 a 3 metros). Estes distintos segmentos apresentam diferenças em relação a aspectos morfológicos, composição dos líquidos presentes, como valores de pH, enzimas, proteínas e sais. Por outro lado, o intestino grosso é a porção terminal do TGI, que tem a função de absorver água e eletrólitos, entre suas principais particularidades destaca-se a presença de uma flora bacteriana específica e motilidade mais lenta (PRISTA; 1991; SHARGEL & YU, 1993, DRESSMAN *et al.*, 2007).

3.2.1. Superfície de absorção

A porção do TGI com maior capacidade de absorção é o intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) e nesta região o tempo de trânsito do fármaco varia entre 3,0 – 4,5 horas em indivíduos sadios (SHARGEL; YU, 2005).

O intestino delgado quando comparado com o estômago e intestino grosso, apresenta um maior poder de absorção devido a presença de vilosidades e microvilosidades na superfície de absorção. Soma-se a isto a maior extensão que esta porção apresenta em relação às outras (de 6 a 8 metros) (BITAR, 2014; PHILLIPS, 2014).

3.2.2. pH dos líquidos do TGI

Considerando que a maioria dos fármacos são ácidos ou bases fracas, o pH tem papel fundamental na solubilidade dos mesmos. Assim, a predominância de uma das formas, ionizada (mais solúvel) ou não ionizada (menos solúvel), dependerá do pH do meio e do pKa do fármaco (CHWLA *et al.*, 2003; DRESSMAN, 2001, 2007).

Os líquidos do TGI exibem um gradiente de pH considerável, podendo variar de 1,0 a 8,0. O fluido gástrico é muito ácido, normalmente apresentando pH entre 1,0 a 3,0 em jejum. Após a ingestão de alimentos, os valores usuais de pH gástrico observados encontram-se na faixa de 3,0 a 7,0 (ASHFORD, 2005). No duodeno, onde há a secreção do bicarbonato de sódio que neutraliza o ácido, o pH do meio varia entre 2,5 e 6,5, no estado de jejum e no estado alimentado, os valores ficam entre 1,0 a 7,0. Já nas porções do jejuno e íleo, as faixas de pH sofrem mudanças significativas e os valores variam de 5,0 a 7,5, podendo chegar a 8 na junção ileocecal. No intestino grosso, valores entre 7,5 a 8,0 são os normalmente encontrados. Destaca-se que o pH é bastante influenciado pela presença de alimento ou patologias, relacionadas ao TGI (DRESSMAN *et al.*, 2007; AUGUSTIJNS, 2014; CHAWLA, 2003). De acordo com as calorias, tipo de dieta e a presença de substâncias ricas em lipídeos, irá alterar o pH meio. Patologias como o diabetes promovem mudanças significativas no pH, assim como, infecções e outros tipos de enfermidades no TGI (BITAR, 2014; AUGUSTIJNS, 2014; LORENA, 2012; PHILLIPS, 2014). O Quadro 1 resume os valores de pH nas porções do TGI no estado de jejum e alimentado.

Quadro 1. Valores de pH nas porções do TGI em indivíduos normais nos estados de jejum e após a ingestão de alimentos.

Seguimento	pH	
	Jejum	Após ingestão de alimentos
Estômago	1,0 - 3,0	3,0 - 7,0
Duodeno	2,5 - 6,5	2,5 - 7,0
Jejuno	5 - 6,5	5,2 - 6,2
Íleo	6,5 - 8,0	6,8 - 7,8
Cólon	5,5 - 7,0	6,8 - 8,0

Fonte: Dressman (2007)

3.2.3. Secreções no TGI

Dentre as substâncias secretadas no TGI que apresentam impacto sobre a dissolução e absorção de fármacos, destacam-se o ácido clorídrico, os sais biliares, a lecitina e as enzimas, como pepsina, amilase, protease e lipase. Os sais biliares são secretados no intestino delgado pela vesícula biliar e têm como função a emulsificação das gorduras provenientes da alimentação e podem auxiliar na dissolução dos fármacos. As concentrações dos sais biliares no intestino delgado proximal, geralmente, variam de 3 a 5 mM, no estado de jejum, atingindo valores próximos de 15 mM, após as refeições (CHARMAN *et al.*, 1997). Fármacos que apresentam características hidrofóbicas e, portanto, baixa solubilidade em água, como aqueles da classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), podem ter sua dissolução maior quando administrados em conjunto com alimentos gordurosos, uma vez que os sais biliares atuarão formando micelas, favorecendo a solubilização destes (GAI, 2009; DRESSMAN *et al.*, 1998). Segundo Dressman (2007), a presença dos sais biliares e da lecitina no intestino delgado proximal, também afeta a solubilidade do fármaco. O bicarbonato de sódio é secretado no duodeno e tem

a função de neutralizar o ácido proveniente do suco gástrico. Tal processo será extremamente importante para a solubilização de fármacos que apresentam baixa solubilidade em pH ácido, como a nimesulida, por exemplo (DRESSMAN, 1998, 2007, AUGUSTIJNS, 2014; CHEMICALIZE, 2017).

A secreção de enzimas como a pepsina no estômago e à amilase, protease e lipase, secretadas pelo pâncreas no intestino delgado, ocorre após a ingestão de alimentos, para ajudar no processo digestivo, porém fármacos com características lipídicas sofrem degradação na presença de lipase, já as outras enzimas afetará na estabilidade de fármacos em forma de proteína e lipídeos (SERRA, 1998; DRESSMAN, 1998, 2007).

3.2.4. Estado alimentado e em jejum

A presença de alimento no TGI, fisiologicamente provoca mudanças no padrão observado no estado em jejum, como a secreção de substâncias (sais biliares, ácido clorídrico, enzimas), aumento de irrigação sanguínea, aumento de viscosidade dos fluidos fisiológicos, mudanças de pH e até alteração do perfil de motilidade no TGI, todos estes fatores citados terão impacto no comportamento de absorção dos fármacos no TGI (DRESSMAN, 2007; BASANT, 2016; AUGUSTIJNS, 2014 SJOGREN, 2014).

3.2.5. Volume

O volume de líquidos ingeridos e dos líquidos secretados em cada uma das porções do TGI, bem como o fluxo destes através da superfície do intestino, terão impacto sobre o grau de dissolução e de absorção do fármaco. Conforme representado na Figura 1, cerca de 1,5 a 2,0 L/dia são ingeridos em condições normais, podendo variar em função das condições climáticas, massa corpórea, atividades e hábitos pessoais. Os líquidos secretados pelas diferentes glândulas e órgãos somam um total de cerca de 7,5 L/dia em todo TGI (saliva – 1,0L; secreções gástricas – 2,0L; bile – 0,4L; secreções pancreáticas – 1,5L; secreções do íleo e do jejuno – 2,6L) que seguramente

tem papel fundamental na solubilização de fármacos (SERRA, 1998; DRESSMAN, 1998, 2007; SJOGREN, 2014).

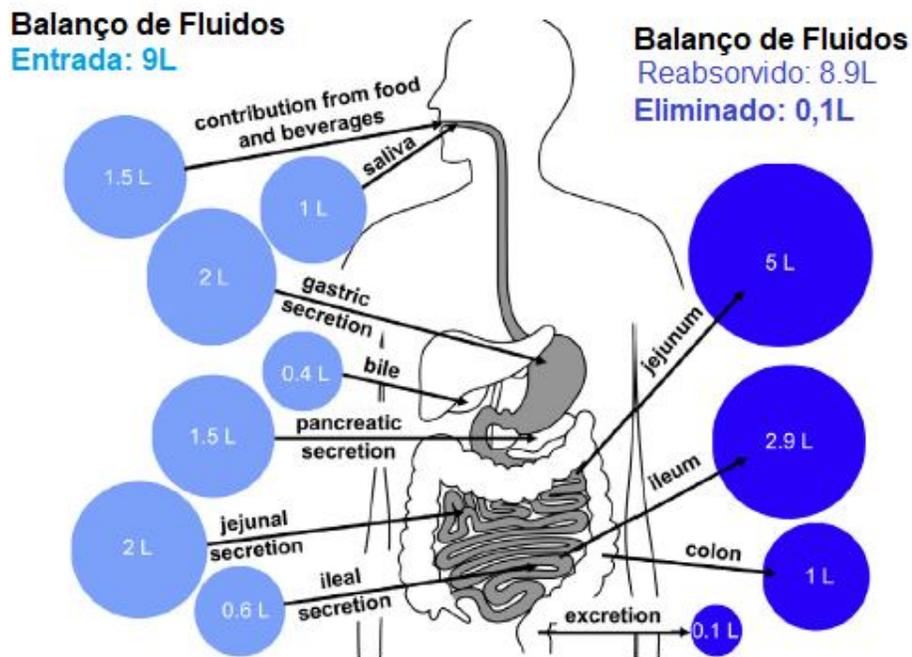


Figura 1. Esquema representativo do balanço de líquidos no trato gastrointestinal com a contribuição de cada órgão e porção (Adaptado de SJOGREN, 2014). Os círculos em cor clara representam o volume de líquido ingerido e secretado; os círculos em cor escura representam o volume de líquido reabsorvido.

3.2.6. Tempo de Residência Gástrica (TRG)

O tempo em que o alimento leva para passar o estômago e chegar ao intestino é conhecido como Tempo de Residência Gástrica (TRG) e está relacionado à velocidade de esvaziamento gástrico, processo este, caracterizado pela projeção do bolo alimentar para o duodeno. O TRG pode

variar de 5 a 120 minutos, sendo afetado diretamente pela presença de alimento (TRONCON, 2008; YU *et al.*, 2014; ESTUDANTE *et. al.*, 2013).

No período pós-prandial inicia-se a motilidade interdigestiva, conhecida como Complexo Mioelétrico Migratório (CMM), caracterizado por uma atividade gástrica intensa e irregular, muito acentuada, com quatro fases consecutivas, de duração de 84 a 112 minutos (GIELKENS *et al.*, 1998; CHAWLA *et al.*, 2003) (Figura 2).

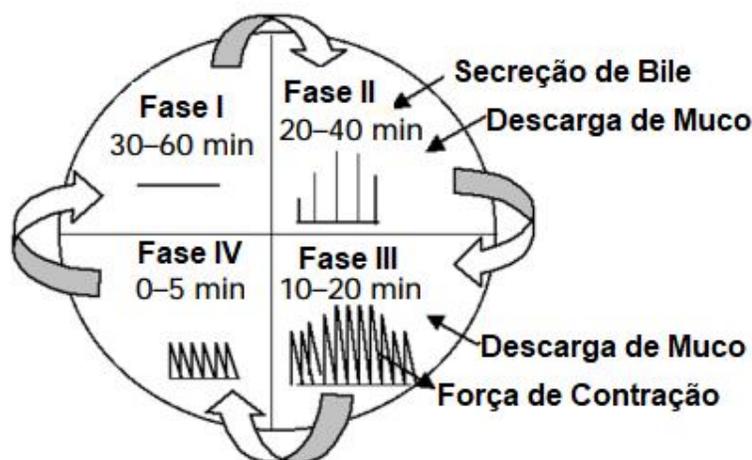


Figura 2. Esquema representativo das quatro fases do CMM da motilidade gástrica após ingestão do alimento (Adaptado de CHAWLA *et al.*, 2003)

No período pós-prandial controlado (jejum de 12 horas), observam-se dois padrões de atividades gástricas: relaxamento da porção proximal do estômago para receber o alimento, seguida de contrações graduais que movimentam o bolo alimentar para região distal, esta por sua vez, realiza a mistura e desagregação das partículas dos alimentos, através de movimentos peristálticos, em direção ao esfíncter pilórico, que controla o esvaziamento gástrico (CHAWLA *et al.*, 2003; DRESSMANN, 2007).

A fase I compreende o período de 30 a 60 minutos e caracteriza-se pela moderada atividade gástrica, ocorrendo apenas contrações esporádicas, que tendem a aumentar durante fase II, que dura período similar à fase I. A fase III

contempla um período de 10 e 20 minutos, com contrações mais intensas, rítmicas e oclusivas, propagando-se do antro gástrico até o piloro, que abre sua base, permitindo assim, a remoção de materiais residuais presentes no estômago, ocorrendo então nesta fase, o esvaziamento gástrico. A fase IV caracteriza-se por um período onde se misturam contrações vigorosas da fase III e moderadas da fase I, com a presença de ondas contráteis do CMM, que se propagam distalmente na direção do íleo terminal, cessando com a ingestão de alimento (GIELKENS *et al* 1998; CHAWLA *et al.*, 2003).

Portanto, o estado prandial terá influência na motilidade e no tempo de esvaziamento gástrico, demonstrando a importância de considerar este parâmetro para desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas de administração oral. Junto ao exposto, como parte do conteúdo gástrico as FFs, sofrem ação mecânica, proveniente do movimento peristáltico, sobretudo, na parede da região distal do estômago, podendo assim, promover a ruptura da FF, comprometendo a cinética de liberação do fármaco, que pode ainda, ser influenciada pelo baixo pH desta região (KAMBA *et al.*, 2003; DRESSMAN, 2007).

Para fármacos que degradam em meio ácido o TRG é um parâmetro fundamental a ser avaliado em função do tempo de exposição do fármaco ao um meio degradante, e que determinará a disponibilidade do fármaco para porções seguintes do TGI. No caso das FFLR, que devem atravessar o estômago para posteriormente liberarem o fármaco, o TRG pode alterar completamente a cinética de liberação. Caso o TRG seja muito rápido, o fármaco será liberado mais rapidamente estando disponível para absorção e, portanto, para atingir a biodisponibilidade, porém, o contrário também é verdadeiro (STORPIRTIS, 1998; BASANT, 2016; AUGUSTIJNS, 2014).

3.2.7. Motilidade Intestinal

A motilidade como mencionada anteriormente pode ser definida como os movimentos de contração e relaxamento da musculatura do tubo digestivo

com a função de misturar e propelir o alimento ao longo do TGI (SOBOTA, 2005, AULTON, 2005).

A absorção do fármaco está intimamente relacionada ao tempo de exposição do fármaco às superfícies de absorção (membrana luminal), sobretudo, do intestino delgado que quando comparado ao estômago, apresenta um tempo de trânsito regular. Desta forma, é o padrão de motilidade do TGI que determinará o tempo que o fármaco permanecerá em contato com a mucosa do intestino. Tal parâmetro é de fundamental importância para a adequada absorção do fármaco, sobretudo para os sistemas que liberam o fármaco de forma gradativa durante o trânsito no TGI, como é o caso das FFLP (BASANT, 2016; AUGUSTIJNS, 2014).

Da mesma forma que o estômago, o intestino delgado apresenta padrões de atividades motora distintos, em função da presença ou não de alimento. Em jejum, a atividade gástrica é definida pelo CMM e tem regularidade cíclica, por outro lado, após a ingestão de alimento (período pós-prandial) a atividade cíclica é interrompida (THOMSON *et al* 2003). No entanto segundo Chawla *et al.* (2003) o tempo de trânsito no intestino não tende a sofrer influência significativa após a ingestão de alimentos, ocorrendo normalmente entre 3 a 4 horas em indivíduos sadios.

O intestino grosso igualmente aos seguimentos anteriores, também tem a motilidade influenciada pelo estado pós-prandial e em relação a sua atividade motora, esta porção apresenta motilidade propulsiva forte e prolongada, que aumenta da região proximal para distal (CHORASIA; JAN, 2003).

Patologias e dietas ricas e lipídeos promovem variação significativa no trânsito colônico. Em relação aos sistemas de liberação colón específicos, segundo Asghar e Chandran (2006), sistemas multiparticulados apresentam um trânsito intestinal mais lento, favorecendo a liberação e absorção do fármaco neste seguimento do TGI.

3.3. Avaliação *in vitro* da Forma Farmacêutica de Liberação Prolongada

O ensaio de dissolução *in vitro* tornou-se um dos mais importantes procedimentos para assegurar a qualidade das formulações na forma sólida de uso oral. Estes ensaios têm como objetivo mensurar o percentual de fármaco liberado em um determinado período de tempo, a partir de uma forma farmacêutica e para isto são empregados meios de dissolução, que na maioria dos casos, buscam simular as condições fisiológicas. Estudos de dissolução têm fundamental importância nas diversas etapas da obtenção e avaliação dos produtos farmacêuticos, tais como: desenvolvimento farmacotécnico; fabricação; controle em processo e do produto acabado; estudo de estabilidade; estudos de correlação *in vitro* - *in vivo* e também para avaliar a possibilidade de bioisenção (dispensa dos estudos de bioequivalência) (SIEWERT, DRESSMAN, BROWN, & SHAH, 2003; MARCOLONGO, 2003).

Os métodos adotados para o estudo da dissolução *in vitro*, devem constituir modelos experimentais capazes de refletir com fidedignidade as condições *in vivo*, especialmente aquelas que podem afetar a velocidade de dissolução e, portanto, a biodisponibilidade dos fármacos no organismo (PESTIEAU, 2016; GALGATTE, 2014).

Data-se de 1897, um dos artigos científicos mais antigos relacionados à dissolução de substâncias sólidas, denominado "*solubilization rate of solid substances on their own solutions*" (NOYES, 1897). Já nesta época percebeu-se a importância do entendimento dos mecanismos envolvidos na dissolução de uma substância sólida. Diversos experimentos realizados levaram os pesquisadores a concluir que a velocidade de solubilização é proporcional à concentração da camada formada em volta da partícula sólida (camada de difusão) e à concentração total da solução (MARCOLONGO, 2003; LINDFORS *et al.*, 2015).

Em sua gênese, o teste de dissolução partiu de métodos desenvolvidos em béquer de 400 cm³, contendo 250 mL de meio de dissolução, com agitação promovida por agitadores de polietileno de três pás, com diâmetro de 50 mm,

submergidos no meio de dissolução a uma profundidade de 27 mm com controle de temperatura (AULTON 2005).

O teste de dissolução é o teste oficial para avaliar o desempenho da formulação no que se refere à liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica. Preconizado pelas principais farmacopeias, esse teste, inicialmente aplicado às formas farmacêuticas orais sólidas, foi desenvolvido para quantificar a concentração liberada da substância ativa a partir da forma farmacêutica e a extensão desta liberação (BRASIL, 2010).

A década de 70 foi um marco para o setor farmacêutico em função da oficialização do primeiro aparato de dissolução pela farmacopeia americana (USP). Cinco anos depois a mesma já recomendava o aparato I e II, cesto e pás, respectivamente (MARQUES, 2002). Na década de 80, variáveis como, vibração, ponto de coleta, geometria do sistema, agitação, entre outras, foram exaustivamente estudadas, consolidando o teste como uma ferramenta confiável e eficaz para quantificar a taxa de dissolução de uma forma farmacêutica (MANANDAS, 2002).

Com o avanço tecnológico das matérias-primas e a incorporação de novas formas farmacêuticas, os aparatos I e II, passaram a ser limitados em função de dificuldades como a adequada manutenção das condições *sink* para fármacos de baixa solubilidade (MEDINA, 2013).

Entre as décadas de 80 e 90 foram introduzidos mais cinco aparatos de dissolução, como alternativas para realizar o teste de dissolução, e a dissolução, antes preconizada somente para formas farmacêuticas sólidas, passa a ser recomendada para outros tipos de formulações, tais como: suspensões, pós, semissólidos, implantes, supositórios, óvulos; adesivos transdérmicos, entre outros (SILVA, 2013; MANADAS, 2002; MARCOLONGO, 2003).

3.3.1. Características dos Aparatos Compendiados

Oficialmente são sete os aparatos compendiados pela farmacopeia americana (USP, 2015), são eles: aparato I (ou cesto), aparato II (ou pás),

aparato III (ou também denominado de cilindros recíprocos), aparato IV (ou células de fluxo), aparato V (ou pás sobre disco), aparato VI (ou cilindro rotatório) e aparato VII (ou suportes recíprocos). Embora exista uma tentativa de harmonização entre as farmacopeias europeias, japonesa e americana, nem todos os aparatos são aceitos pelas farmacopeias europeia e japonesa. A Farmacopeia brasileira, por exemplo, admite apenas os aparatos, I, II e III.

O primeiro aparato compendiado foi o aparato I (ou cesto), cinco anos depois, foi compendiado o aparato 2 (pás). Ambos são aparatos de primeira escolha em função de sua consolidação no setor farmacêutico e facilidade de aplicação e, quando não selecionados, há a necessidade de justificar a técnica e a utilização de outro aparato, junto ao órgão regulatório (BRASIL, 2010; SILVA, 2013).

Tanto o aparato 1, quanto o 2, são comumente encontrados em aço inoxidável. Ambos os aparatos utilizam cubas cilíndricas de vidro, ou de outro material inerte e com capacidade de volume de 1000 a 2000 mL (BRASIL, 2010).

O aparato III, ou cilindros recíprocos, é uma variação de um desintegrador, onde a FF fica suspensa em tubos, que são mergulhados no meio de dissolução, normalmente de forma a ter um gradiente de pHs (MARCOLONGO, 2003; BRASIL, 2010).

O aparato IV, ou célula de fluxo, tem algumas particularidades, que serão abordadas em item em separado, uma vez que é tema deste trabalho.

O aparato V, ou pás sobre disco, é uma variação do aparato II, onde o adesivo transdérmico é colocado entre duas telas de um material inerte e este conjunto é fixado em um vidro relógio que será alocado sob a pá. Já, o aparato VI é um cilindro rotatório onde o adesivo é fixado e submergido na cuba com o meio de dissolução. Por fim, o aparato VII, ou disco recíproco, trata-se de uma modificação do cilindro rotatório para diferente fixação do adesivo transdérmico. Os aparatos V e VI são exclusivamente empregados para estudos de dissolução de adesivos transdérmicos, e o aparato VII, além de ser utilizado para transdérmicos é empregado também para avaliar sistemas de bombas osmóticas (MARQUES, 2004; MARCOLONGO, 2003; HERMANS, 2017).

3.3.1.1. Aparato IV (Célula de fluxo)

O aparato IV, ou célula de fluxo, surgiu na década de 70, a partir da parceria entre a empresa Sotax e a indústria suíça ciba, representada pelo Dr Langenbucher (LANGENBUCHER, 1989). Diante da dificuldade em obter resultados confiáveis para fármacos de baixa solubilidade, devido a impossibilidade em manter as condições *sink* com os aparatos existentes na época para estudos de dissolução, o referido autor apresentou um esboço de sua ideia para os engenheiros da Sotax e juntos, criaram o aparato IV (LANGENBUCHER, 1989; HU, 2005; SOTAX, 2016).

Da sua criação até o momento atual, o aparato IV sofreu algumas atualizações, e sua aplicação também se estendeu para todas as formas farmacêuticas factíveis ao teste de dissolução. O equipamento permite trabalhar em regime fechado ou aberto, possibilitando empregar pequenos volumes até volumes infinitos de meio de dissolução (SOTAX, 2016; TODARO, 2017).

O equipamento é composto por uma bomba com pistões cerâmicos, por um banho-maria, um seletor de meios, um coletor, e por fim, pelas células de dissolução. O funcionamento do equipamento configurado para regime aberto se dá da seguinte forma: selecionado o meio através do seletor de meio, este será bombeado, passando pelo banho-maria, em seguida pelas células de dissolução onde entrará em contato com a FF, ocorrendo então a dissolução da mesma. Conforme o método selecionado, parte da dissolução será coletada e parte descartada, diferente do que acontece quando configurado para sistema fechado, onde o meio de dissolução circula continuamente por todo o sistema, até o final do teste, momento em que acontece a coleta (LANGENBUCHER 1989; SOTAX, 2016; KAKHI, 2009). A Figura 1 apresenta um esquema da utilização do aparato de dissolução IV em sistema fechado.

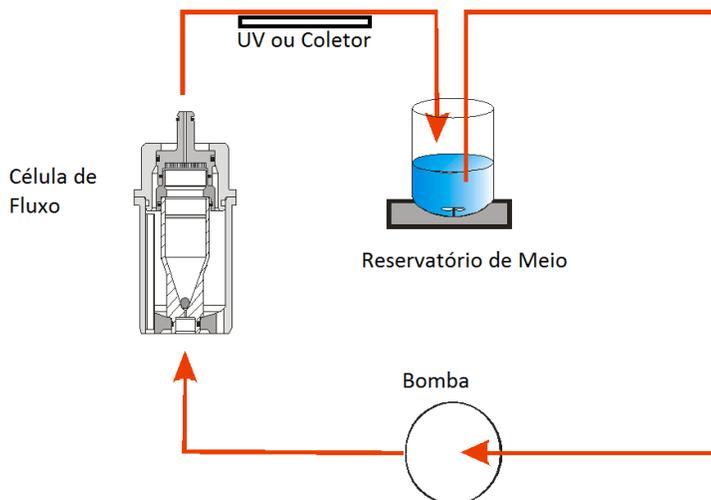


Figura 3. Esquema representativo da utilização do aparato de dissolução IV em sistema fechado (imagem adaptada de SOTAX, 2016).

Com o emprego do aparato IV, é possível a seleção de até quatro meios distintos de dissolução para o mesmo teste, possibilitando assim, um gradiente de pH durante o ensaio, o que permite uma simulação mais próxima do comportamento fisiológico (LANGENBUCHER 1989; WANG, 2009; GAO, 2009).

Além da manutenção das condições *sink*, há também outros fatores a favor do aparato IV, como a eliminação do efeito cone, (acumulo de partículas no fundo da cuba), que diminui a superfície de contato do fármaco com meio de dissolução, que normalmente ocorre com o emprego do aparato II. O fluxo de trabalho pode ser programado dentro da faixa de 1,5 mL/min até 35 mL/min, sendo até o momento compendiados os fluxos de: 4, 8 e 16 mL/min (GITE, 2016; MEDINA, 2014; FOTAKI *et al.*, 2009).

Há alguns trabalhos na literatura que relatam a avaliação do desempenho do aparato IV frente a outros aparatos, e que demonstram resultados com baixo desvio padrão, intra e entre laboratórios (MEDINA, 2014; FIGUEROA, 2012; GRECO, 2011; FOTAKI *et al.*, 2009). Estudos de Fotaki e

colaboradores (2009), realizados com fármacos de baixa a moderada solubilidade, mostraram que os resultados de dissolução para a fenacetina foram melhores com emprego do aparato IV, apresentando perfil mais discriminativo e com desvios menores, em relação àqueles obtidos com o aparato II, fato evidenciado em um trabalho colaborativo realizado por cinco laboratórios (NICKLASSON; *et al* 1991).

A tentativa de simular as condições fisiológicas em um teste *in vitro*, como por exemplo, a hidrodinâmica envolvida no TGI, tem sido um desafio para o desenvolvimento de FFLM, como FFLP. Há muitos trabalhos descritos na literatura que visam uma melhor correlação *in vitro/in vivo*, e o emprego do aparato IV tem se destacado nesses trabalhos (DERENDORF, 1983; MORITA, 2003; NEUBERT, 2008; SUNESEN, 2005; KAKHI, 2009; JANTRAIID, 2009; D'ARCY, 2011; SILVA, 2014; ADROVER, 2015).

Em sua configuração original, o equipamento apresenta seis diferentes tipos de células, para diferentes tipos de formas farmacêuticas, célula para Formas Farmacêuticas Sólidas (FFS), de 12 e 22,6 mm; célula para pós e grânulos; célula para cremes e pomadas; célula para supositórios e células para implantes, conforme demonstrado na Figura 4 (SOTAX 2016).

Embora ainda não exista comercialização de comprimidos padrões para o aparato IV, é possível encontrar na literatura testes realizados com comprimidos padrões USP de prednisona e de ácido salicílico, que apresentam resultados semelhantes aos encontrados com o aparato II, evidenciando a necessidade de desenvolvimento de padrões para este propósito (BIELEN, 2002; WENNERGREN, 1988).

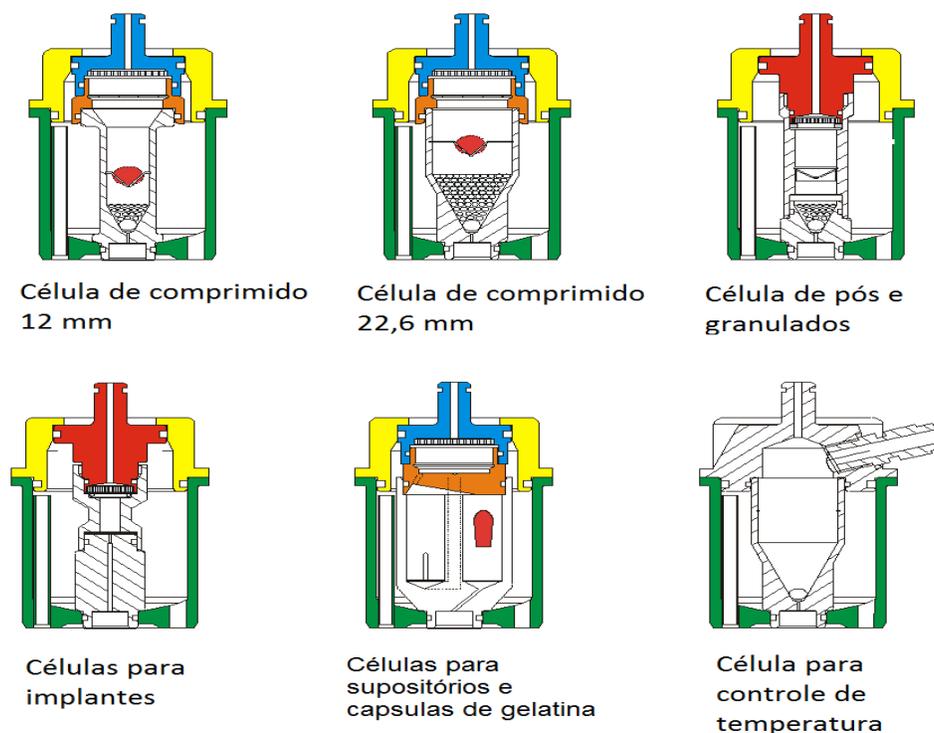


Figura 4. Esquemas representando os tipos de células disponíveis para aplicação no aparato USP 4. Extraído de: SOTAX, 2016.

3.3.2. Métodos para análise e comparação de perfis de dissolução

Nos últimos anos, têm sido dada mais ênfase ao teste de dissolução, como ferramenta para isenção de estudo de biodisponibilidade e cada vez mais, o referido teste é usado para comparar e analisar diferenças entre duas formulações, diferenças de fornecedores e equivalência farmacêutica, as agências regulatórias sugerem algumas formas de comparação entre perfis de dissolução que permitem com um grau de segurança determinar a semelhança entre um medicamento teste e um referência, porém é necessário avaliar as peculiaridades de cada formulação (O'HARA, 1998; YUKSEL, 2000; COSTA, 2002; RAJALAHTI, 2011; MERCURI, 2017).

Dentre os métodos matemáticos empregados nesses estudos comparativos, destacam-se: (1) método onde se avalia a variância (ANOVA); (2) métodos modelos independentes; (3) métodos modelos dependentes. A

ANOVA baseia-se na análise de repetidos ensaios, determinando as fontes de variância entre tempo, produto e interação tempo *versus* produto. Dentre os métodos modelos independentes, merece destaque a combinação do cálculo do fator de diferença (F_1) e o fator de semelhança (F_2), que se dá pela comparação direta do percentual dissolvido em função do tempo de uma amostra teste frente à amostra referência (FLANNER, 1996; YUKSEL, 2000; SERRA, STORPIRTIS, 2007; RAJALAHTI, 2011).

Os métodos que empregam modelos dependentes, baseiam-se em funções matemáticas distintas que possibilitam a comparação dos perfis através dos parâmetros inerentes às funções matemáticas, permitindo a comparação dos perfis de dissolução pelos parâmetros das equações. Os métodos mais usuais são: ordem zero, primeira ordem, Higuchi; Korsmeyer-Peppas; Hixon Crouwell, quadrático, Weibull (FLANNER, 1996; TYSONG, 1996; O'HORA, 1998).

3.4. Avaliação do trânsito gastrointestinal de formas farmacêuticas sólidas por biomagnetismo

Conforme descrito no item 3.2, para os medicamentos administrados por via oral, sobretudo para as FFLP, cuja liberação do fármaco se dará de forma gradativa ao longo do TGI, os aspectos fisiológicos como a motilidade do TGI terão impacto importante sobre a liberação e absorção dos fármacos. Principalmente considerando os aspectos já abordados anteriormente, como as diferenças encontradas em cada uma das porções do TGI em relação à superfície de absorção e composição, volume e pH dos líquidos biológicos (SERRA; 1998; STORPIRTIS, 1999; FRIMAN, 2000; AULTON, 2005; NIESSEN, 2005; VARUM, 2008; BITAR, 2014; PHILLIPS, 2014). Nesse sentido, a avaliação do trânsito das FFs, sobretudo ds FFLP, torna-se extremamente relevante para estudar o impacto do tempo de exposição destes sistemas de liberação aos sítios do TGI onde se dará a dissolução e a absorção do fármaco TGI (LANZILLOTTI, 2012; DRESSMANN, 2001, 2007).

Nos últimos anos, vários métodos têm sido propostos para estudar ou avaliar o trânsito no TGI de formas farmacêuticas sólidas administradas pela

via oral. Dentre as técnicas estão a esofagografia baritada, esofagogastroscoopia, a manometria esofágica, a cintilografia e técnicas biomagnéticas como, por exemplo, a Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) (QUINI, 2015; CARMO, 2014; MAO, 2014; MARTINS, 2015; CORÁ, 2010).

O primeiro estudo da motilidade gastrointestinal por meio de técnica biomagnética, relatado na literatura, foi realizado por Wenger e colaboradores em 1957, e nesta ocasião foi avaliada a atividade de material magnético (imã) após sua ingestão (CORÁ, 2005). Em substituição a técnica padrão (cintilografia) diferentes métodos biomagnéticos tem sido utilizado para a avaliação do trânsito de FFs no TGI (WEITSCHIES, 2001, 2012). A incorporação de marcador magnético nas formulações é a estratégia mais aplicada, e a maioria dos trabalhos tem sido realizada com sistemas mutiparticulados ou sistemas de liberação colônica, (Figura 5), ou seja, liberação retardada, com objetivo de avaliar o local de desintegração (CORÁ, 2005, 2008, 2010; BOLOGNESI, 2008; ANDREIS 2010; OLIVEIRA, 2010; QUINI, 2011).

A BAC desponta como uma técnica inovadora para avaliação de diversos aspectos relacionados à motilidade e ao comportamento de formas farmacêuticas no TGI. Além de ser um método não invasivo e livre de radiação ionizante, a BAC não requer ambiente magneticamente blindado e possui um custo de implantação baixo, comparativamente aos outros métodos. A técnica utiliza bobinas de indução para registrar a variação temporal do fluxo magnético obtida pela resposta da ferrita ao campo aplicado externamente. Esse material tem como característica fundamental uma alta susceptibilidade magnética e, por isso, produz uma resposta intensa quando o meio biológico é submetido a um campo magnético (QUINI, 2015; CORÁ, 2010). A ferrita tem sido utilizada como marcador magnético para estudos de monitoramento magnético por tratar-se de um material inerte, insolúvel e que, portanto, não é absorvido pelo TGI e em função de sua susceptibilidade magnética e fácil incorporação a alimentos ou formas farmacêuticas (CARMO, 2014;

WEITSCHIES, 2011). A Figura 5 apresenta imagens obtidas a partir dos ensaios com BAC.

Esta técnica biomagnética permite definir parâmetros que possibilitam a caracterização da motilidade do TGI, tais como: Tempo de Residência Gástrica (TRG); Tempo de Trânsito Orocecal (TTOC) e Tempo de Trânsito Intestinal (TTI). O TRG compreende o período em que o alimento chega ao estômago e é expelido para porção seguinte (duodeno), ou seja, refere-se ao tempo que o alimento leva para atravessar o estômago. O TTOC é mensurado a partir da ingestão do alimento e sua chegada ao ceco, e representa o tempo de trânsito no TGI. Por fim, o TTI representa o tempo que o bolo alimentar leva para realizar todo o trajeto pelo intestino, ou seja, a partir da saída do estômago até última porção do TGI (AULTON, 2005, HILA *et al*, 2006; SJOGREN, 2014).

A BAC tem se mostrado como uma técnica eficiente para este tipo de estudo, apresentando vantagens frente a outras técnicas biomagnéticas (CORÁ, 2010). Até o momento não há relatos na literatura sobre avaliação do trânsito no TGI de sistemas matriciais de liberação prolongada através da BAC.

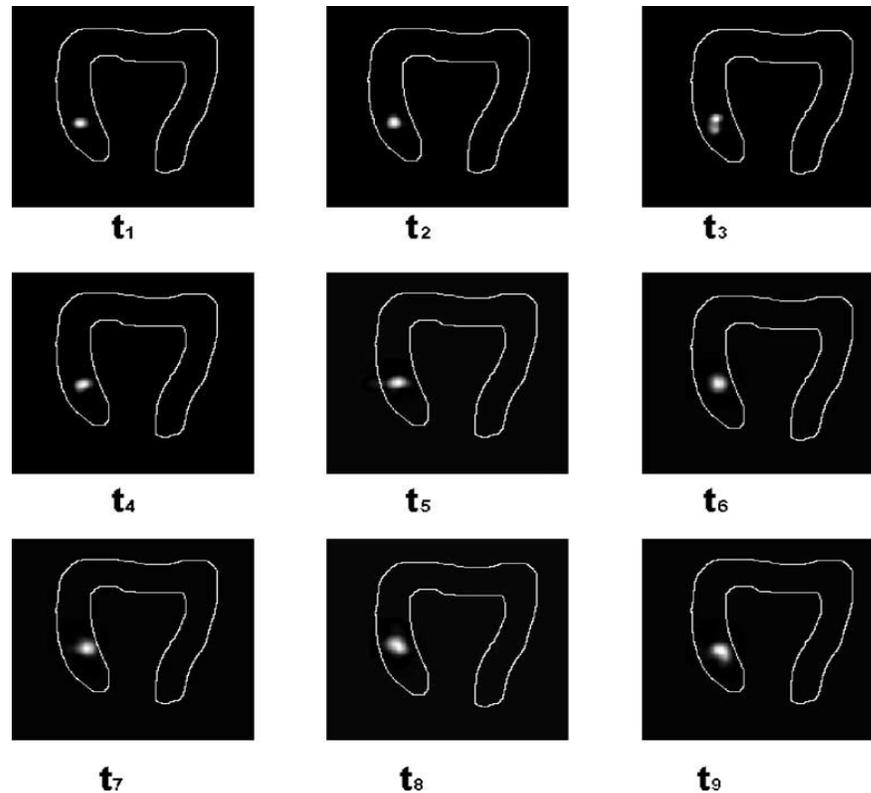


Figura 5. Imagens obtidas a partir de ensaios com BAC de comprimidos de liberação colônica administrados a indivíduos saudáveis, e que demonstram a sua desintegração nos tempos T1 a T9 (Adaptado de CORÁ, 2005).

3.6. Nimesulida (NSD)

A NSD (Figura 2) é um antiinflamatório não esteroidal (AINE), classificada quimicamente como alquilsulfonamida, com patente datada em 1974, nos Estados Unidos das Américas, pelos laboratórios RIKER (KIM, 2012).

Este fármaco apresenta propriedades analgésicas, anti-inflamatórias e antipiréticas (BRASIL, 2010). Quando avaliada junto a fármacos da mesma categoria, destaca-se pela baixa incidência de efeitos colaterais, em especial ao trato gastrointestinal (KIM, 2012; SILVA, 2016; Álvarez, 2015). A NSD é inibidora seletiva da cicloxigenase 2 (COX-2) e em menor proporção da cicloxigenase 1 (COX-1), o que acarreta a redução da formação das prostaglandinas, substância envolvida em processos inflamatórios

responsáveis pelas dores. Portanto, esse fármaco tem sido indicado para tratamento de processos inflamatórios, mialgias, estados febris e no pós-operatório, por via oral, tópica e retal, podendo em raríssimos casos ser utilizado em processos inflamatórios crônicos (ÁLVAREZ, 2015; GOUVEIA, 2011).

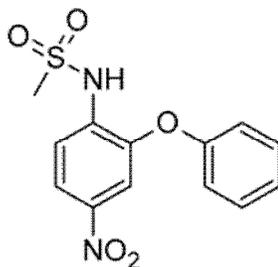


Figura 6. Estrutura Molecular da Nimesulida Adaptado da Farmacopeia Brasileira (2010).

A NSD apresenta-se na forma de um pó cristalino, levemente amarelado, com pK_a de 6,7, (CHEMICALIZE, 2017). Em função de seu pK_a , a NSD apresenta solubilidade dependente do pH. De acordo com Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), a NSD está classificada como fármaco classe II, em função de sua baixa solubilidade em água (0,01 a 0,03mg/mL) e alta permeabilidade ($2,6 \times 10^4$ cm/s), sendo a dissolução o fator limitante a sua absorção (AMIDON *et al.*, 1995). Apresenta uma boa absorção no TGI, sendo que cerca de 40% ocorre no estômago e no intestino delgado proximal, e cerca de 50% se dá no intestino delgado distal (DRUGBANK, 2017). Ela sofre efeito de primeira passagem e encontra-se ligada às proteínas plasmáticas em um percentual que atinge aproximadamente 99% (DRUGBANK, 2017; GELLER *et al.*, 2010; PEREIRA, 2011).

A NSD encontra-se comercializada no mercado brasileiro predominantemente na forma de liberação convencional, sendo registrado pela

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) apenas uma apresentação como FFLM.

Para o presente trabalho, selecionou-se a NSD, como fármaco modelo, para o desenvolvimento das formulações de comprimidos matriciais, contendo ferrita como marcador magnético.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

4.1.1 Materiais e Reagentes

- ✓ Nimesulida: Substância Química de Referência (lote: 06/2016, teor = 99,7%, gentilmente doado pela Eurofarma Laboratórios e Matéria Prima
- ✓ Hidroxipropilmetilcelulose K4M (Methocel™, HPMC K4M, gentilmente doado por Colorcon®; lote: yi24012n01);
- ✓ Celulose microcristalina (Fabricante: MIMG TAE; lote: C1011080; validade: 26/11/2013); e Estearato de magnésio (Fabricante: PETER GREBEN; lote: c115753),
- ✓ Ácido clorídrico, Ácido acético glacial, Acetato de sódio tri-hidratado, Fosfato de potássio monobásico, Cloreto de potássio, Hidróxido de sódio, Metanol, grau cromatográfico;
- ✓ Água ultrapura (Milli Q®, USA).

4.1.2. Equipamento e vidrarias

- ✓ Espectrofotômetro UV - fluorescência Infinite M200 - Tecan;
- ✓ Prensa hidráulica – Nova Ética;
- ✓ Dissolutor Flow-cell - C7 smart - Sotax;
- ✓ Micropipetas variáveis 100-1000 µL e 500-5000 µL – Brand;
- ✓ Balões volumétricos, béqueres, provetas de volumes adequados;
- ✓ Ultrassom;
- ✓ Fiabilômetro;
- ✓ Cronômetro;
- ✓ Microplacas transparentes para leitura UV.

4.2. Métodos

4.2.1. Desenvolvimento dos comprimidos matriciais contendo nimesulida (NSD)

As formulações foram desenvolvidas para obtenção de comprimidos matriciais de liberação prolongada de NSD, e a ferrita foi incluída nas formulações como um marcador magnético, com a finalidade de permitir a avaliação do trânsito gastrointestinal dos comprimidos. Foram obtidas 04 formulações de comprimidos matriciais (NF1, NF2, NF3 e NF4), com perfis de dissolução distintos, contendo 200 mg de NSD (fármaco modelo) e 550 mg de ferrita (marcador magnético). Os comprimidos foram desenvolvidos com peso médio de 1100 mg. Para isto, foram empregadas diferentes proporções de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC K4M) além de, outros componentes, tais como: estearato de magnésio, celulose microcristalina, lactose, amido, dióxido de silício coloidal (AEROSIL®) e talco. A Tabela 1 apresenta a composição percentual das formulações dos comprimidos matriciais contendo NSD e ferrita.

Os comprimidos foram obtidos por compressão direta, os componentes das formulações foram pesados em balança analítica para produção de 50 comprimidos de cada formulação (NF1, NF2, NF3 e NF4) e em um saco plástico de 0,5 L, os pós foram misturados manualmente por 10 minutos. Posteriormente a mistura foi pesada e comprimida com prensa manual hidráulica (Nova Ética®) e punção de 12 mm, sob pressão de 500 psi por 30 segundos.

Tabela 1. Composição percentual das formulações dos comprimidos matriciais contendo NSD (200 mg) e ferrita (550 mg)

Componentes	Formulações			
	NF1 (%)	NF2 (%)	NF3 (%)	NF4 (%)
HPMC K4M	30,0	23,0	17%	10,0
Nimesulida	20,0	20,0	20,0	20,0
Ferrita	50,0	50,0	50,0	50,0
Estearato de Magnésio	0,00	0,50	0,50	0,50
Celulose Microcristalina	0,00	6,40	12,0	12,0
Amido	0,00	0,03	0,03	0,03
Lactose	0,00	0,10	0,40	7,40
Aerosil®	0,00	0,01	0,01	0,01
Talco	0,00	0,15	0,15	0,15

4.2.2. Caracterização dos comprimidos matriciais contendo NSD

4.2.2.1. Peso Médio

Procedeu-se a avaliação do peso médio pela pesagem de 20 comprimidos de cada uma das formulações (NF1; NF2; NF3 e NF4), em balança analítica modelo Shimadzu, para posterior determinação do peso médio. Adotou-se o critério de aceitação de variação de +/- 5% do peso médio. Considerou-se a possibilidade de até duas unidades estarem fora desta tolerância, porém, nenhuma acima ou abaixo de 10% em relação ao peso médio (BRASIL, 2010).

4.2.2.2. Dureza

O teste de dureza foi realizado em durômetro Nova Ética®, com emprego de 10 comprimidos. Adotou-se como critério de aceitação, dureza de no mínimo 3 Kgf (BRASIL, 2010).

4.2.2.3. Friabilidade

A friabilidade foi avaliada em friabiliômetro sob rotações de 25 rpm por 4 minutos, com emprego de 10 comprimidos. Como critério de aceitação estabeleceu-se a perda máxima de 1,5% de peso (BRASIL, 2010).

4.2.2.4. Teor

Para determinação do teor de NSD nos comprimidos obtidos, trituraram-se 20 comprimidos e pesou-se em balança analítica, quantidade de pó equivalente a 200,0 mg de NSD. Transferiu-se a amostra para um balão volumétrico de 100,0 mL e adicionaram-se cerca de 60 mL de solução de hidróxido de sódio 0,1 moles L⁻¹. Em seguida, agitou-se manualmente por 5 minutos e completou-se o volume do balão com solução de hidróxido de sódio 0,1 moles L⁻¹. A partir desta solução obtida, retirou-se uma alíquota de 1,0 mL e adicionou-se em um balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com solução de hidróxido de sódio 0,1 moles L⁻¹. Paralelamente preparou-se uma solução padrão contendo NSD, substância química de referência com pureza de 99,7%, fornecido pela empresa Eurofarma Laboratórios SA, de mesma concentração da amostra. Calculou-se a quantificação do fármaco a partir das leituras das absorbâncias em espectrofotômetro UV-VIS, a 300 nm. As análises foram realizadas em triplicatas e critério de aceite do teor é de 95 a 105%, conforme preconizado pela Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010).

4.2.2.5. Avaliação Biofarmcotécnica *in vitro*

4.2.2.5.1. Ensaio de Dissolução

Os perfis de dissolução das formulações desenvolvidas de comprimidos matriciais (NF1; NF2; NF3 e NF4) foram obtidos a partir dos ensaios de dissolução em equipamento de dissolução SOTAX CE7 Smart, aparato IV, com célula de 22,6 mm, contendo cerca de 10 gramas de esferas de vidro. Os meios de dissolução foram bombeados através das células com um fluxo de 8 mL/min, conforme o seguinte protocolo: solução pH 1,2, nos primeiros 60 minutos; solução de tampão acetato, pH 4,5, nos 60 minutos seguintes e solução de tampão fosfato, pH 6,8, até completar 8 horas de análise. Os meios foram mantidos à temperatura de 37°C. Alíquotas (42 mL) foram retiradas por coletor automático, em intervalos de tempo pré-estabelecidos, conforme orientação descrita para obtenção de perfil de dissolução de formulações de liberação modificada (RDC 31,2010). Desta forma, as amostras foram coletadas como descrito a seguir: na primeira hora de análise, foram realizadas 4 coletas com intervalos de 15 minutos cada, e o meio de dissolução empregado foi a solução de HCl pH 1,2; nos 60 minutos seguintes foram realizadas 2 coletas, a cada 30 minutos e neste período foi empregado como meio a solução tampão acetato pH 4,5; nos 360 minutos seguintes, foram realizadas 4 coletas, a cada 30 minutos, mais 4 coletas a cada 60 minutos, somando um total de 480 minutos de ensaio (SILVA, 2014; USP 39). A Tabela 2 apresenta a descrição resumida dos intervalos de coleta para cada um dos meios de dissolução empregados na avaliação dos comprimidos matriciais de NSD e ferrita (NF1, NF2, NF3 e NF4), com utilização do aparato IV.

Tabela 2. Descrição dos intervalos de coleta para cada um dos meios de dissolução empregados na avaliação dos comprimidos matriciais de NSD e ferrita (NF1, NF2, NF3 e NF4), com utilização do aparato IV

Meio de Dissolução	Período (Minutos)	Intervalos (Minutos)
Solução de HCl pH 1,2	60	4 coletas a cada 15 (15, 30, 45 e 60)
Tampão acetato pH 4,5	60	2 coletas a cada 30 (90 e 120)
Tampão fosfato pH 6,8	120	4 coletas a cada de 30 (150, 180, 210 e 240)
Tampão fosfato pH 6,8	240	4 coletas a cada de 60 (300, 360, 420 e 480)

Os meios de dissolução foram preparados conforme descrito na Farmacopéia Americana (USP, 2016) e estão detalhados a seguir.

- ✓ **Solução pH 1,2:** Pipetou-se uma alíquota de 8,5 mL de ácido clorídrico concentrado para um balão volumétrico de 1000 mL contendo 500 mL de água. Completou-se o volume do balão para 1000 mL com água purificada.
- ✓ **Solução Tampão pH 4,5:** Transferiram-se cerca de 2,99 gramas de acetato de sódio triidratado para um balão volumétrico de 1000 mL contendo 500 mL de água. Ajustou-se o pH para $4,5 \pm 0,1$ com ácido acético glacial. Completou-se o volume do balão para 1000 mL com água.
- ✓ **Solução Tampão pH 6,8:** Transferiram-se cerca de 6,8 gramas de fosfato de potássio monobásico monoidratado e 0,9 gramas de hidróxido de sódio para um balão volumétrico de 1000 mL contendo 500 mL de água. Dissolveu-se e ajustou-se o pH para $6,8 \pm 0,1$ com

solução de ácido fosfórico ou hidróxido de sódio. Completou-se o volume do balão para 1000 mL com água purificada.

As amostras obtidas a partir dos ensaios de dissolução foram analisadas por meio de método espectrofotométrico desenvolvido e validado para a determinação das concentrações de NSD dissolvida nos respectivos meios de dissolução, conforme descrito no item 4.3. As concentrações do fármaco dissolvido nos meios foram calculadas a partir das absorvâncias obtidas nas amostras e da curva analítica (descrita no item 4.3). A porcentagem de NSD dissolvida e liberada a partir dos comprimidos foi calculada conforme a seguinte equação: (BRASIL, 2010).

$$\% \text{ dissolvida} = \frac{F \times I \times C}{2 \times Q} \times 100 \quad (\text{Eq. 4.1})$$

Onde:

- F = fluxo (mL/min)
- I = intervalo (min)
- C = Concentração (g/mL)
- Q = Quantidade de fármaco (g)
- 2 = % da fração coletada (50%)

A partir das concentrações de NSD dissolvida nos respectivos meios, foram obtidos os perfis de dissolução para cada uma das formulações de comprimidos matriciais desenvolvidas (NF1; NF2; NF3 e NF4), por meio da construção de curvas da porcentagem cumulativa do fármaco dissolvido em função do intervalo de tempo (minutos), utilizando o software Microsoft Excel®.

4.2.2.5.2. Avaliação da cinética e da eficiência de dissolução

Nessa etapa, os resultados obtidos a partir dos perfis de dissolução foram submetidos a cálculos matemáticos e estatísticos com o objetivo de determinar a cinética de dissolução da NSD a partir das formulações desenvolvidas (NF1; NF2; NF3 e NF4). A equação de regressão da reta foi determinada através das porcentagens dissolvidas em função do tempo, utilizando-se os modelos cinéticos de Higuchi, ordem zero e primeira ordem (MOURÃO *et al.*, 2011; SERRA, STORPIRITIS, 2007; NIKOLIC *et al.*, 1991; SHIN & CHO, 1996). Para avaliar os perfis de dissolução através dos modelos propostos, estabeleceram-se as seguintes relações:

- **Modelo Higuchi** - Porcentagem de NSD dissolvida (%D) em função da raiz quadrada do tempo (minutos);
- **Modelo de ordem zero** - Quantidade ($Q_{\infty} - Q_d$) de NSD (mg) não dissolvida (Quantidade total contida em um comprimido subtraída da quantidade dissolvida) em função do tempo (minutos).
- **Modelo de primeira ordem** - Logaritmo neperiano da porcentagem de NSD não dissolvida ($\ln \%ND$) em função do tempo (minutos).
- **Korsmeyer-Peppas** Quantidade absoluta de fármaco liberado no tempo t e tempo infinito ($M_t / M_{\infty} = K_k * t^n$), respectivamente, em função do tempo elevado a n (expoente que caracteriza o tipo de dissolução).

A eficiência de dissolução (ED%) foi determinada por meio da razão entre área sobre a curva, nos tempos entre 0 a 480 minutos (ASC_{0-480}) e a área total do gráfico (superfície), definido pela ordenada (100% de dissolução) e pela abscissa (tempo 480 min), conforme equação Eq. 7.1 (KHAN, RHODES, 1975; SERRA, STORPIRITIS, 2007; MOURÃO *et al.*, 2011).

$$ED\% = \frac{ASC_{(0-480 \text{ min.})}}{A_{tot}} \times 100\% \quad (\text{Eq. 4.2})$$

Onde:

ED: Eficiência de dissolução (%),

ASC: Área sobre a curva de dissolução no intervalo de tempo avaliado, calculado pelo método dos trapezóides,

Atot: Área total do gráfico (superfície) definido pela ordenada e abscissa.

A cinética e ED% de dissolução foram determinadas através do software Excel utilizando o suplemento DDsolver, através dos os valores médios de dissolução.

Todos os ensaios foram avaliados estatisticamente no suplemento DDsolver da plataforma Excel®, com emprego da estatística descritiva para obtenção dos coeficientes de variação, com Intervalo de Confiança de 95% (IC 95%).

4.2.3. Estudo biomagnético dos comprimidos matriciais contendo NSD por meio da BAC

Os estudos biomagnéticos *in vitro* e *in vivo* foram realizados por meio da técnica de Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) no Instituto de Biociências, do campus Botucatu da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, sob a responsabilidade e coordenação do Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda, conforme descrito por Corá e colaboradores (MIRANDA, 1997; CORÁ, 2005, 2008; ANDREIS, 2010). Tais estudos foram conduzidos com o objetivo de mensurar o tempo de trânsito por todo TGI, e também registrar variação de aumento de área magnética da ferrita incorporada na formulação (CORÁ, 2010; BOLOGNESI, 2008).

4.2.3.1. Estudo biomagnético *in vitro*

Após o desenvolvimento dos comprimidos matriciais com diferentes porcentagem de HMPC, apenas uma formulação foi selecionada para seguir com os estudos biomagnéticos e a formulação que apresentou melhores resultados de ED%, cinética de dissolução e um perfil mais discriminativo, foi a

NF4 (HPMC 10%), com o objetivo de monitorar o grau de intumescimento dos comprimidos nos diferentes meios aquosos empregados (solução pH 1,2; solução tampão pH 4,5 e solução tampão pH 6,8) por meio do campo magnético e das respectivas imagens magnéticas. Para este ensaio, os comprimidos foram posicionados em uma cuba contendo 900 mL de meio de dissolução, que foi mantido à temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, e as medidas magnéticas foram realizadas empregando o sensor BAC, posicionado na parede desta (Figura. 10). O tempo total de ensaio foi de 8 horas, na primeira hora o monitoramento foi realizado a cada 15 minutos e nas horas seguintes a cada 30 minutos, até o final do ensaio. Tal procedimento foi realizado individualmente para cada meio de dissolução.

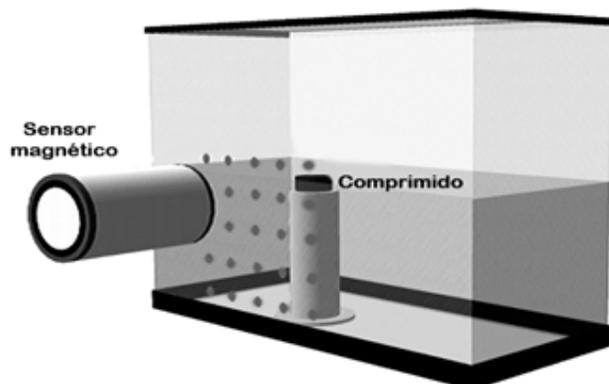


Figura 7. Equipamento composto por cuba com capacidade de 1 L, acoplada ao sensor de BAC empregado nas medidas magnéticas geradas a partir do intumescimento do comprimido.

4.2.3.2. Estudo biomagnético *in vivo*

O estudo biomagnético *in vivo* da formulação desenvolvida e selecionada para o estudo foi realizado no Instituto de Biociências, do campus Botucatu da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, sob a responsabilidade e coordenação do Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda.

O protocolo para este estudo, que envolveu 08 indivíduos saudáveis, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Medicina da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (CEP/986.486, ANEXO A).

Participaram do estudo 8 indivíduos saudáveis (sem patologias relacionadas ao TGI), de ambos os sexos, com idade entre 21 e 41 anos, que não estivessem fazendo uso de nenhum tipo de medicamento e em jejum de pelo menos 12 horas.

A formulação foi administrada com um volume de 250 mL de água e o sensor de medição magnética foi posicionado sobre o abdômen do participante, na região de projeção gástrica (Figura 8A). Procedeu-se o monitoramento a cada 15 minutos, em uma grade de pontos (5x5) desenhada no abdômen do participante. Inicialmente o sensor de medição magnética foi posicionado na região gástrica e após a ausência de sinal emitido nesta região, correspondente ao esvaziamento gástrico, alterou-se a posição do sensor para a região de projeção colônica (Figura 8B) e o monitoramento foi realizado em intervalos de 15 minutos, sendo realizado com o participante sempre em pé, no momento da leitura, finalizando-se em 8 horas de estudo (MIRANDA, 1997; CORÁ 2008; ANDREIS, 2010).

As imagens obtidas a partir da distribuição de intensidade do campo magnético foram processadas e quantificadas, seguindo protocolos desenvolvidos previamente. Posteriormente foram submetidas ao processamento digital para subtração de *background*, ajustes de brilho, contraste e segmentação, utilizando um operador específico para detectar e delimitar as bordas das imagens. A soma dos valores dos *pixels* contidos na imagem delimitada fornece o valor da área magnética da ferrita e indiretamente do comprimido. As imagens foram processadas em ambiente MatLab (Mathworks, Inc) determinando assim o aumento de área magnética da formulação NF4 (CORÁ, 2008; ANDREIS, 2010).

Os tempos de trânsito da formulação foram determinados como descrito a seguir. O TRG, que se refere ao tempo de permanência do comprimido no estômago, foi determinado a partir do momento em que o comprimido chegou no estômago até a perda de sinal magnético nesta região (Figura 8a). O TTOC

(refere-se ao tempo de trânsito pelo intestino delgado) foi caracterizado a partir da detecção de sinal magnético na região entre 7 e 10 centímetros da parte inferior do esterno a direita (processo xifoide), na posição anatômica de projeção do duodeno, finalizando com a chegada do comprimido ao ceco, localizado cerca de 10 a 15 centímetros da crista ilíaca anterior.

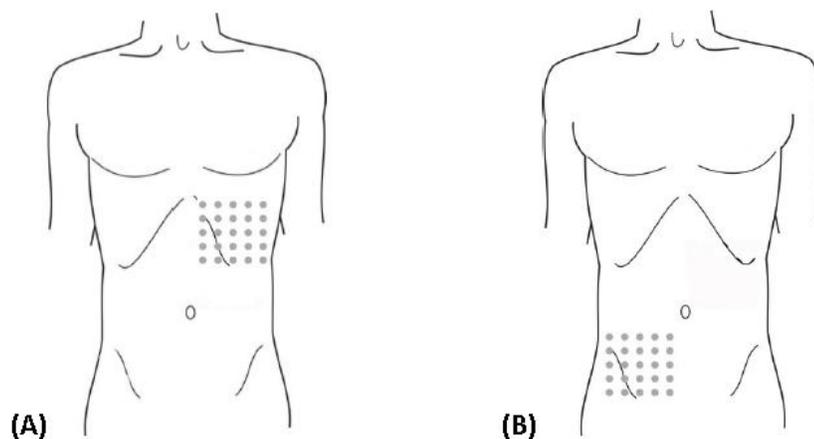


Figura 8. Regiões de posicionamento do multi-sensor BAC sobre a região de projeção gástrica (Figura 8 A) e região de projeção intestinal (Figura 8 B) para coleta de sinais e mapeamento. Extraído de: ANDREIS, 2010.

4.2.3.2. Cálculo de estimativa de solubilidade em cada região do TGI

A estimativa quantidade dissolvida de fármaco em cada região do TGI foi calculada utilizando o tempo de trânsito em cada região do TGI e a constante de dissolução (k) o seguinte cálculo:

$$SP = k \times T_t \quad (\text{Eq. 4.3})$$

Onde:

SP: Solubilidade prevista de fármaco em cada região do TGI

k: Constante de dissolução (% / min^{1/2})

Tt: Tempo de trânsito em cada porção do TGI

4.3. Validação do método analítico espectrofotométrico

As amostras obtidas a partir dos ensaios de dissolução foram analisadas por método espectrofotométrico com emprego de espectrofotômetro da marca Tecan, Modelo Infinite M200, utilizando microplacas transparentes com 96 posições, em comprimento de onda de 300nm, adaptado da monografia da NSD comprimidos da farmacopeia brasileira (2010).

A validação do método espectrofotométrico empregado na análise da NSD dissolvida a partir dos comprimidos matriciais desenvolvidos (NF1, NF2, NF3 e NF4) foi realizada conforme RE 899/2003 da ANVISA e os parâmetros avaliados foram: linearidade, especificidade, exatidão e precisão, intra e interensaios (BRASIL, 2003; ICH, 2005; USP 40).

4.3.1. Linearidade

Para a determinação da linearidade do método espectrofotométrico empregado, preparou-se uma solução estoque de NSD na concentração de 0,2 mg/mL, em metanol. A partir desta solução, preparou-se curva analítica com as seguintes concentrações de NSD: 6, 10, 20, 30, 40, 60 e 100 µg/mL, nos diferentes meios empregados: solução pH1,2 e soluções tampão, pH 4,5 e pH 6,8. A partir destas curvas determinou-se a equação da reta por regressão linear através do método dos mínimos quadrados (BRASIL, 2003).

4.3.2. Especificidade

A especificidade foi determinada por meio de varredura espectrofotométrica, na faixa de 230 a 500 nm, em espectrofotômetro UV-VIS (modelo Tecan), das soluções padrão de NSD, preparadas na concentração de 60 µg/mL, em solução pH 1,2 e em soluções tampão, pH 4,5 e pH 6,8.

4.3.3. Precisão

A precisão do método foi determinada através da análise de amostras com três concentrações diferentes de NSD (10, 30 e 60 µg/mL), em triplicata, preparadas em cada um dos meios de dissolução (solução pH, 1,2 e soluções tampão, pH, 4,5 e 6,8). As análises foram realizadas em momentos diferentes do mesmo dia (precisão intradia) e em dias diferentes (precisão interdia) em espectrofotômetro UV-VIS modelo Tecan, no comprimento de onda de 300 nm (BRASIL, 2003). Os resultados foram obtidos conforme equação 4.2 (Eq. 4.2), descrita abaixo.

Coeficiente de variação (CV %):

$$CV \% = \frac{\text{Desvio Padrão}}{\text{Média}} \times 100 = \quad (\text{Eq. 4.4})$$

4.3.4. Exatidão

A exatidão do método foi determinada através da análise de amostras com três concentrações diferentes de NSD (10, 30 e 60 µg/mL), em triplicata, preparadas em cada um dos meios de dissolução (solução pH, 1,2 e soluções tampão, pH, 4,5 e 6,8). As análises foram realizadas em momentos diferentes do mesmo dia (exatidão intradia) e em dias diferentes (exatidão interdia) em espectrofotômetro UV-VIS modelo Tecan, no comprimento de onda de 300 nm (BRASIL, 2003). Os resultados foram obtidos conforme equação 4.3 (Eq. 4.3), descrita abaixo.

$$\textit{Exatid\~{a}o} (\%) = \frac{\textit{Concentra\~{c}\~{a}o m\~{e}dia determinada}}{\textit{Concentra\~{c}\~{a}o te\~{o}rica}} \times 100 \quad (\text{Eq. 4.5})$$

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização dos comprimidos matriciais de NSD

Os comprimidos matriciais obtidos por compressão direta, conforme descrito no item 4.2.2, foram submetidos à avaliação físico-química, de acordo com o preconizado pela 5ª edição da Farmacopeia Brasileira (2010), contemplando as análises de: peso médio, dureza e friabilidade, conforme descrito no item 4.2.2. A Tabela 3 sumariza os resultados das avaliações destes parâmetros para as formulações desenvolvidas (NF1, NF2, NF3 e NF4).

Tabela 3. Valores médios do peso, dureza e friabilidade dos comprimidos matriciais contendo NSD (200 mg) e ferrita (550 mg)

Código	Peso Médio (mg) ± DP	Dureza (kgf)	Friabilidade (%)
NF1	1122,00 ± 4	> 3	0,8
NF2	1155,0 ± 0,6	> 3	1,0
NF3	1130,0 ± 0,8	> 3	1,1
NF4	1137,0 ± 0,6	> 3	1,2

DP = Desvio Padrão, n = dez comprimidos (dureza e friabilidade) e 20 comprimidos (peso médio). NF1 = 30% HPMC; NF2 = 23% HPMC; NF3 = 17% HPMC e NF4 = 10% HPMC.

Os resultados de peso médio e de friabilidade, para todas as formulações desenvolvidas, estão em concordância com o preconizado pela Farmacopeia Brasileira (2010). Em relação ao peso médio, o coeficiente de variação (CV%) não foi superior a 5,0%, conforme o preconizado e os valores de friabilidade foram inferiores a 1,5% do peso inicial. Por outro lado, em relação à dureza, os valores expressos na Tabela 3 indicam a alta dureza (> 3kgf), de forma que todos os valores foram considerados superiores ao mínimo preconizado pela Farmacopeia Brasileira (2010). Entretanto, a determinação deste parâmetro foi dificultada em função da alta dureza observada decorrente da presença de ferrita na formulação, provavelmente. Em função disto,

estimou-se que os valores foram superiores aos valores preconizados como mínimos pela farmacopeia.

5.1.1. Teor

A Tabela 4 apresenta os resultados médios e os respectivos desvios padrões de teor de NSD para os comprimidos matriciais desenvolvidos. Conforme demonstrado pelos resultados obtidos, todas as formulações desenvolvidas apresentaram-se em conformidade com o preconizado na Farmacopeia Brasileira (2010), uma vez que o teor de NSD se manteve dentro dos limites de 95,0 a 105,0%.

Tabela 4. Valores de teor de NSD obtidos a partir da média de três determinações a partir dos comprimidos matriciais contendo NSD (200 mg) e ferrita (550 mg)

Formulação	Teor médio (%)	CV (%)
NF1	99,2	1,2
NF2	100,9	1,0
NF3	98,7	1,7
NF4	99,8	1,9

CV = Coeficiente de Variação; NF1 = 30% HPMC; NF2 = 23% HPMC; NF3 = 17% HPMC e NF4 = 10% HPMC.

5.1.2. Avaliação biofarmacotécnica *in vitro*

Conforme descrito no item 4.2.2.5, os comprimidos matriciais contendo NSD (200 mg), ferrita (550 mg) e HPMC nas concentrações de 30% (NF1), 23% (NF2), 17% (NF3) e 10% (NF4), obtidos por compressão direta, foram submetidos aos ensaios de dissolução com emprego do aparato IV, em diferentes meios de dissolução (solução pH 1,2; soluções tampão, pH 4,5 e pH 6,8).

Ensaio de dissolução são considerados ferramenta fundamental na predição do comportamento *in vivo* da forma farmacêutica (PRISTA *et al*, 1996). Tal requisito se torna prioritário, pois para que ocorra a absorção do fármaco e o mesmo se torne biodisponível, é necessário que ocorra a liberação, ou dissolução do mesmo nos líquidos corporais. Assim se a forma farmacêutica é um comprimido, por exemplo, o mesmo deve desintegrar em partículas menores até que ocorra a dissolução, para que finalmente o fármaco esteja disponível para ser absorvido (MARCOLONGO, 2003; SILVA 2014). Estes ensaios são principalmente aplicados no controle de qualidade de produtos farmacêuticos, na avaliação da equivalência farmacêutica, nos estudos de bioequivalência, no desenvolvimento de novas FFs e nos estudos de correlação *in vitro* / *in vivo* (CIVIV) (KOSTEWICZ, 2014).

Os métodos desenvolvidos para avaliação da dissolução *in vitro* devem ser capazes de refletir com precisão as condições *in vivo*, especialmente aquelas que podem influenciar a taxa de dissolução e, portanto, a biodisponibilidade dos fármacos (SERRA, 1998; CID, 1981; SHARGEL, YU, 21012; PESTIEUAU, 2016; KOSTEWICZ, 2014). Para que os parâmetros do teste *in vitro* sejam estabelecidos, é importante o conhecimento dos fatores fisiológicos, físico-químicos relacionados ao fármaco e farmacêuticos, relacionados à forma farmacêutica, que podem afetar a liberação dos fármacos no organismo, a partir das formas farmacêuticas (SHARGEL, YU, 2012; PISLA, 2015).

Dentre esses fatores, os fisiológicos merecem destaque, devido a grande variabilidade encontrada no TGI, por exemplo, o tempo de residência gástrica é um dos parâmetros que apresentam grande influência na extensão da absorção do fármaco (PISLA, 2015). O intestino, constituído de dois segmentos, o delgado e o grosso, é a região onde ocorre a absorção da grande maioria dos fármacos em função de ser a região mais extensa do TGI e apresentar tecido apropriado para a absorção (MAYER, 1994; TROCON 2008; LORENA 2014). O processo de absorção de nutrientes e fármacos ocorre especialmente no intestino delgado, subdividido em duodeno, jejuno e íleo, (MAYER, 1994; CHWLA *et al*, 2003). Os líquidos do TGI apresentam ampla

faixa de pH, que varia entre 1,0 a 8,0 e a composição destes pode ser bastante variável em função da presença de alimentos, bactérias, enzimas (amilases, lipases, proteases), sais biliares e lecitina (ROUGE *et al.*, 1996; DRESSMAN, 2001, 2007)

O ensaio de dissolução deve ser realizado em condições mais próximas possíveis daquelas observadas nas condições *in vivo* (MARCOLONGO, 2003; PESTIEIAU, 2016). Nesse sentido, os parâmetros que fundamentam o teste de dissolução *in vitro* tais como, temperatura, biorrelevância do meio e condições hidrodinâmicas de agitação, precisam ser avaliados e padronizados, para que se obtenham métodos robustos, reprodutíveis, precisos e capazes de permitir correlação com resultados *in vivo* (PESTIEIAU, 2016; KOSTEWICZ, 2104). Os métodos de dissolução *in vitro* devem ainda apresentar um alto poder discriminativo, evidenciando diferenças no perfil de dissolução provenientes de alterações nas formulações desenvolvidas (BRASIL 2010; MARCOLONGO, 2003).

Conforme apresentado na revisão da literatura, existem diferentes aparatos para avaliação do comportamento de dissolução dos comprimidos. A Farmacopeia Americana (2017) descreve sete aparatos, dentre eles os aparatos, cesta (I) e pás (II), que foram os primeiros a serem referendados em compêndios oficiais, tronando-se os mais empregados para avaliação do teste de dissolução, sobretudo para formas farmacêuticas sólidas. Porém, com a necessidade de realização de ensaios de dissolução para outras formas farmacêuticas, outros aparatos têm sido indicados, como o cilindro recíproco (III) e a célula de fluxo (IV) (MARCOLONGO, 2003; FOTAKI, 2011; BROWN, 2011; KANFER, 2017).

A tentativa de simular as condições fisiológicas em um teste *in vitro*, tem sido um desafio para o desenvolvimento de FFLP, parâmetros como, a hidrodinâmica envolvida no TGI é algo extremamente complexo de simular *in vitro*. Há muitos trabalhos descritos na literatura que visam uma melhor correlação *in vitro/in vivo*, e o emprego do aparato IV tem se destacado nesses trabalhos (DERENDORF, 1983; MORITA, 2003; NEUBERT, 2008; SUNESEN,

2005; KAKHI, 2009; JANTRAIID, 2009; D'ARCY, 2011; SILVA, 2014; ADROVER, 2015). Entretanto, não existem muitas monografias descritas nas farmacopeias, na brasileira e japonesa, por exemplo, o aparato IV não está referendado. Há apenas duas monografias descritas na farmacopeia americana que descrevem a aplicação do aparato IV para os produtos, Rufinamide e Voltaren Retard (USP, 2017).

O aparato IV apresenta grande vantagem frente aos demais aparatos compendiados. Conforme destacado no capítulo da revisão da literatura, este aparato apresenta como principal vantagem a capacidade de manter as condições *sink* durante o ensaio, pois permite o emprego de volumes infinitos de meio de dissolução, o que favorece a dissolução de fármacos de baixa solubilidade, e nesse sentido é o método que mais se assemelha às condições *in vivo*. Além disso, este aparato possibilita também padrão hidrodinâmico dos meios de dissolução semelhante ao fluxo de líquidos no TGI. Outra vantagem é a viabilidade de se trabalhar com até quatro meios distintos de dissolução para o mesmo teste, possibilitando assim, um gradiente de pH durante o ensaio, o que permite uma simulação mais próxima do comportamento fisiológico, e o estudo pode ser conduzido sem que seja necessária a remoção da FF para alteração do meio (LANGENBUCHER 1989; WANG, 2009; GAO, 2009). Além de assegurar a condução do ensaio com uma grande amplitude de volume de meio de dissolução (próximo de 15 mL a infinito) e de fluxo destes meios, que pode variar de 1,5 mL/min até 35 mL/min (GITE, 2016; MEDINA, 2014; FOTAKI *et al.*,2009).

O aparato IV pode ser empregado em duas configurações básicas, sistema aberto e sistema fechado. O sistema aberto permite trabalhar com um volume infinito de meio, favorecendo as condições *sink*. Já o sistema fechado permite o emprego de pequenos volumes, situação mais favorável para formulações com baixas concentrações (FOTAKI, 2011; BROWN, 2011; KANFER, 2017).

Conforme descrito no item 4.2.2.5.1, os ensaios de dissolução para os comprimidos matriciais preparados conforme descrito no item 4.2.1.

(Formulações: NF1, NF2, NF3 e NF4) foram conduzidos em equipamento de dissolução SOTAX CE7 Smart, aparato IV, com célula de 22,6 mm, em sistema aberto. Os resultados referentes estão descritos na Tabela 5 e os respectivos perfis de dissolução, representados na Figura 9.

A Tabela 5 apresenta a porcentagem de NSD dissolvida em função do tempo, a partir dos comprimidos matriciais NF1 (30% HPMC), NF2 (23% HPMC), NF3 (17% HPMC) e NF4 (10% HPMC). Conforme resultados obtidos, as formulações com maior percentual de HPMC apresentaram menor porcentagem de liberação/dissolução. Assim, a formulação NF4, com menor percentual de HPMC (10%), foi a que apresentou maior dissolução da NSD, superando 90% de liberação, após 8 horas de ensaio. Por outro lado, a formulação NF1, com maior quantidade de HPMC (30%) foi a que apresentou menor percentual de liberação do fármaco, atingindo cerca de 13%, após 8 horas de ensaio. Em relação às formulações NF2 (23%) e NF3 (17%), que apresentaram comportamento de dissolução intermediário, a porcentagem de liberação de NSD foi de 41% para NF2, após período de 8 horas, enquanto que para a NF3, atingiu-se um platô de liberação em torno de 2,5 horas após o início do ensaio, com cerca de 70% de dissolução, que permaneceu até o final, período de 8 horas.

A hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) ou Methocel®, como é conhecido comercialmente, é um polímero derivado da celulose e tem como característica principal a sua capacidade de absorção de água e intumescimento, formando uma rede gelificada que controla a velocidade de liberação do fármaco (SIEPMANN, PEPPAS, 2012). Este polímero é um dos mais empregados na obtenção de formulações de liberação prolongada e pode apresentar diferentes viscosidades, em função do peso molecular. A sua capacidade em exercer um controle na liberação do fármaco está associada a esta característica (SIEPMANN, PEPPAS, 2012; SPRECIGO, 2006). Para as formulações desenvolvidas foi utilizado o HPMC K4M, que apresenta uma viscosidade entre média e alta, adequada para comprimidos matriciais de liberação prolongada (SIEPMANN, PEPPAS, 2012; LOPES, 2005).

A NSD é um fármaco pertencente à classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS), portanto, apresenta baixa solubilidade (0,01mg/mL) e alta permeabilidade ($2,6 \times 10^4$ cm/s). As formulações com maior percentual de HPMC apresentaram menor porcentagem de liberação/dissolução. Tal fato pode estar associado à baixa solubilidade do fármaco e às maiores concentrações de HPMC, que contribuíram para a menor taxa de dissolução (LOPES, 2005; SIEPMANN, PEPPAS, 2012). A Figura 9 ilustra o comportamento de dissolução distinto das quatro formulações desenvolvidas.

Tabela 5. Valores médios de porcentagem de NSD dissolvida em função do tempo a partir dos comprimidos matriciais contendo NSD (200 mg), ferrita (marcador magnético, 550 mg) e HPMC em diferentes concentrações (NF1 – 30% HPMC; NF2 – 23% HPMC; NF3 – 17% HPMC e NF4 – 10% HPMC) obtidos a partir do ensaio de dissolução com o aparato IV

Formulação	NF1	NF2	NF3	NF4
Tempo (Min)	HPMC 30% (% ± CV)	HPMC 23% (% ± CV)	HPMC 17% (% ± CV)	HPMC 10% (% ± CV)
0-15	0,57 ± 0,1	0,86 ± 0,1	18,39 ± 0,4	3,71 ± 0,9
15-30	0,89 ± 0,1	2,47 ± 0,3	36,77 ± 1,4	9,06 ± 1,1
30-45	0,72 ± 0,1	3,23 ± 0,3	44,57 ± 0,9	14,26 ± 1,9
45-60	1,32 ± 0,1	4,84 ± 1,0	49,76 ± 2,4	19,59 ± 2,2
60-90	2,32 ± 0,3	8,06 ± 0,9	60,06 ± 2,3	27,64 ± 4,9
90-120	3,34 ± 0,3	10,80 ± 1,9	64,24 ± 1,9	34,55 ± 4,5
120-150	4,52 ± 0,2	13,77 ± 0,9	68,57 ± 2,3	42,19 ± 7,0
150-180	5,34 ± 0,5	15,50 ± 1,5	70,77 ± 1,4	47,48 ± 6,0
180-210	6,45 ± 0,9	17,82 ± 2,2	71,54 ± 2,1	53,29 ± 7,5
210-240	7,95 ± 1,6	19,62 ± 1,8	71,99 ± 1,9	59,19 ± 6,0
240-300	9,27 ± 1,1	23,58 ± 2,7	72,07 ± 2,1	67,82 ± 6,5
300-360	10,22 ± 0,9	29,26 ± 1,9	72,38 ± 2,1	75,45 ± 8,9
360-420	11,96 ± 1,2	35,44 ± 2,0	72,46 ± 2,3	83,98 ± 4,2
420-480	13,25 ± 1,6	40,06 ± 2,3	72,55 ± 1,9	91,54 ± 6,3

Os resultados representam a média de seis determinações (n= 6); CV = coeficiente de variação; HPMC = hidroxipropilmetilcelulose.

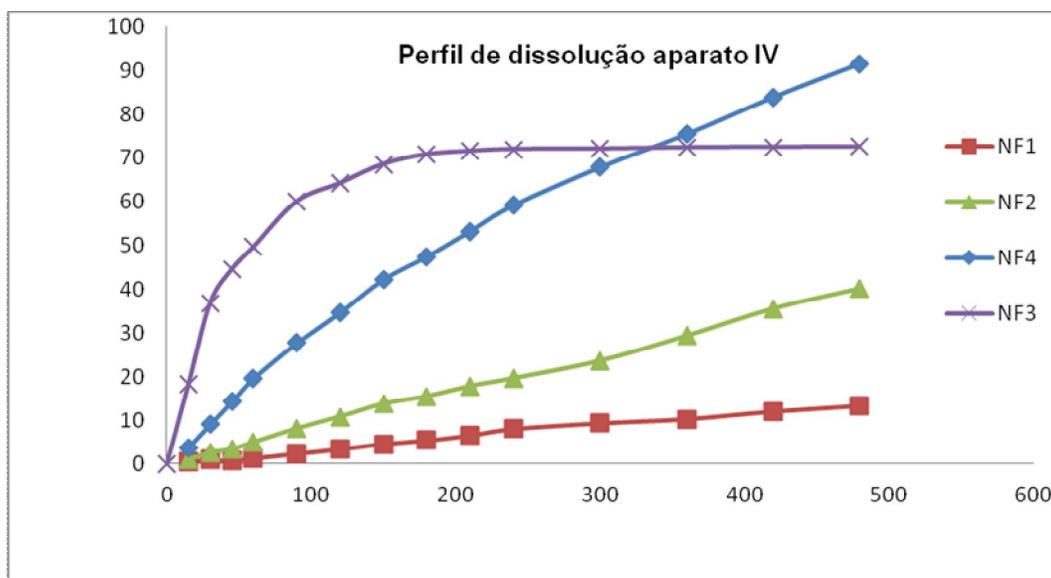


Figura 9. Perfis médios de dissolução da NSD obtidos a partir dos comprimidos matriciais contendo NSD (200 mg), ferrita (marcador magnético, 550 mg) e HPMC, NF1(30% HPMC); NF2 (23% HPMC), NF3 (17% HPMC) e NF4 (10% HPMC). Os resultados representam a média de seis determinações (n= 6); HPMC = hidroxipropilmetilcelulose.

5.1.3. Avaliação da cinética e da eficiência de dissolução das formulações desenvolvidas

O estudo da cinética e da eficiência de dissolução tem aplicação fundamental na avaliação do comportamento de dissolução dos fármacos a partir de um determinado produto farmacêutico. Estas ferramentas permitem obter dados como, por exemplo, velocidade de dissolução e tempo necessário para dissolução de uma determinada concentração de fármaco. Além disso, permitem comparação entre perfis de dissolução (SERRA, STORPIRTS, 2007).

A comparação entre perfis de dissolução de outras formas farmacêuticas, que não as sólidas (comprimidos e capsulas), como por exemplo, suspensões, cremes, pomadas, *stent*, ou mesmo de FFLP (reservatório, bomba osmótica, sistemas matriciais), visando a avaliação da equivalência farmacêutica, tem sido considerada extremamente complexa (SPRECIGO, 2006; PAIXÃO, 2017; YUKSEL, 2000; RAJALAHTI, 2011).

O estudo comparativo entre perfis de dissolução obtidos a partir dos produtos farmacêuticos é etapa fundamental para garantir a equivalência

farmacêutica entre medicamentos candidatos a genéricos, ou similares, e os respectivos medicamentos de referência. Para tanto vários modelos matemáticos têm sido propostos (CARDOT, 2017; MERCURI, 2017; SIEPMANN; 2013). Dentre os métodos utilizados para comparação de perfis de dissolução, destacam-se os modelos que empregam ANOVA (onde se avalia a variância), os modelos independentes, que permitem a determinação dos fatores de diferença (F_1) e de semelhança (F_2) e os modelos dependentes, ou cinéticos. Estes últimos baseiam-se em funções matemáticas que relacionam o percentual dissolvido do fármaco com um determinado intervalo de tempo, com a finalidade de calcular parâmetros que possibilitem a comparação dos perfis, como: constante de velocidade de dissolução (k); meia vida de dissolução ($T_{50\%}$) e quantidade de fármaco dissolvido em um determinado intervalo de tempo (Q_i) (FLANNER, 1996; YUKSEL, 2000; SERRA, STORPIRTIS, 2007; RAJALAHTI, 2011). Os métodos mais usuais são: ordem zero, primeira ordem, Higuchi; Korsmeyer-Peppas; Hixon Crouwel, quadrático e Weibull (FLANNER, 1996; TYSONG, 1996; O'HORA, 1998). Estes modelos também permitem chegar a conclusões quanto ao mecanismo de liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica (SERRA, STORPIRTIS, 2007). (FDA, 1997).

No presente trabalho a avaliação da cinética de dissolução das formulações desenvolvidas foi realizada com o emprego dos seguintes modelos matemáticos: ordem zero, primeira ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppas, que permitiram também avaliação do mecanismo de liberação da NSD a partir das formulações desenvolvidas (HIGUCHI, 1963; KORSMEYER, PEPPAS, 1981).

A Tabela 6 apresenta os coeficientes de determinação obtidos para cada um dos modelos aplicados aos perfis de dissolução das formulações desenvolvidas (NF1, NF2, NF3 e NF4), quando estas foram submetidas ao ensaio de dissolução com o aparato IV (item 4.2.2.5.1). Os resultados obtidos demonstraram um bom ajuste para os quatro modelos propostos, uma vez que os coeficientes de determinação obtidos foram próximos de 1 (Tabela 6). Quanto ao mecanismo de liberação da NSD de acordo com os resultados observa-se que a quantidade de polímero teve influência direta na liberação, sugerindo que o intumescimento do HPMC seja o mecanismo principal de

liberação, podendo também, apresentar simultaneamente a superposição dos mecanismos de liberação (PRESCIGO, 2006; MOURÃO, 2009; SERRA, STORPIRTIS, 2007; PATHER *et al*, 1998; SIEPMANN, PEPPAS, 2012).

Tabela 6. Valores do coeficiente de determinação obtidos de acordo com os modelos dependentes que descrevem a cinética de dissolução para as formulações NF1, NF2, NF3 e NF4 nos meios de dissolução, solução pH1,2, solução tampão pH 4,5, solução tampão pH 6,8 utilizando aparato IV

FORMULAÇÃO				
Modelo	NF1	NF2	NF3	NF4
Higuchi	0,986	0,968	0,867	0,998
Ordem zero	0,997	0,978	0,756	0,999
1º ordem	0,996	0,987	0,925	0,999
Korsmeyer - Peppas	0,998 / 1,0*	0,976 / 0,3*	0,893 / 1,1*	0,998 / 0,9*

Os valores apresentados referem-se à média dos coeficientes de determinação (r^2) de seis pontos de dissolução (n=6); os valores com * indicam os resultados do expoente n do modelo de Korsmeyer- Peppas

Tabela 7. Valores das constantes cinéticas e percentual de dissolução em Q60, Q240 e Q480, obtidos a partir da equação definida pelo modelo matemático com melhor ajuste (ordem zero)

Formulação	Constantes Cinéticas			
	k* (%/min)	Q60 (%)	Q240 (%)	Q480 (%)
NF1	0,03	1,32	1,95	13,25
NF2	0,08	4,99	19,97	39,93
NF3	0,21	13,83	72,0	72,50
NF4	0,22	19,95	59,19	91,54

k* = coeficiente angular da reta de regressão = constante da velocidade de dissolução (%/min^{1/2}). NF1 = (30% HPMC); 20%; NF2 = (23% HPMC; 20%) NF3 = (17% HPMC; 20%); NF4 = (10% HPMC)

Outra forma de comparar ou analisar os perfis de dissolução é por meio da determinação da eficiência de dissolução (ED%). Khan & Rhodes (1975) introduziram o conceito de eficiência de dissolução, que pode ser definido como a área sob a curva em um determinado intervalo de tempo obtida por meio da construção dos perfis de dissolução, que relacionam porcentagens dissolvidas do fármaco e tempo (SERRA, STORPIRTS, 2007).

A ED% tem se apresentado como ferramenta importante para a comparação direta entre perfis, de maneira simples e robusta, especialmente quando se pretende avaliar a influência das variáveis de formulação e do processo produtivo no perfil de dissolução de uma forma farmacêutica. Diferente dos modelos cinéticos que estabelecem comparação entre os valores dos parâmetros obtidos pelas equações aplicadas, tais como, constante de velocidade de dissolução (k); meia vida de dissolução ($T_{50\%}$) e quantidade de fármaco dissolvido em um determinado intervalo de tempo (Q_t), a ED%, considera o perfil de dissolução como um todo e, portanto, permite uma comparação mais abrangente (SKOUG *et al.*, 1997; O'HARA *et al.*, 1998; OFOEFULE *et al.*, 2001; SERRA, STORPIRTIS, 2007).

Conforme descrito no item 4.2.6, a ED% dos perfis obtidos no presente estudo foram determinadas por meio de software Excel, através do suplemento Ddsolver. Os resultados de ED% obtidos a partir dos ensaios de dissolução com o aparato IV, para os comprimidos matriciais contendo NSD e ferrita (NF1 = 7,0%; NF2 = 19,9%; NF3 = 64,8% e NF4 = 54,3%) evidenciaram a influência da concentração do HPMC no processo de liberação, resultando em perfis de liberação distintos (Tabela 8; Figura 10). Destaca-se que a formulação NF1, com maior porcentagem de HPMC (30%), apresentou menor ED%, enquanto as formulações NF3 e NF4, com menores porcentagens de HPMC, respectivamente 17% e 10%, apresentaram maiores valores de ED. Para avaliar a significância destas diferenças empregou-se análise estatística (ANOVA) e os resultados estão apresentados na Tabela 9. A avaliação estatística demonstrou que as formulações (NF1, NF2, NF3 e NF4), quando comparadas entre si, apresentam diferenças significativas em relação à ED%, indicando assim que, em todos os casos se obteve perfis de dissolução

distintos. Tais diferenças estão relacionadas às diferentes concentrações de HPMC, que serão abordadas a seguir.

Tabela 8. Valores obtidos para a eficiência de dissolução ED% e área sob a curva para as formulações desenvolvidas dos comprimidos matriciais

FORMULAÇÃO	ASC Média	(ED%)
NF1	3363,8 ± 3,2	7,0
NF2	9567,3 ± 4,6	19,9%
NF3	31101,6 ± 1,9	64,8
NF4	26045,5 ± 1,2	54,3%

Os valores apresentados são resultados da média a partir da avaliação de 6 comprimidos; HPMC = Hidroxipropilmetilcelulose NF1 = (30% HPMC); 20%; NF2 = (23% HPMC; 20%) NF3 = (17% HPMC; 20%); NF4 = (10% HPMC).

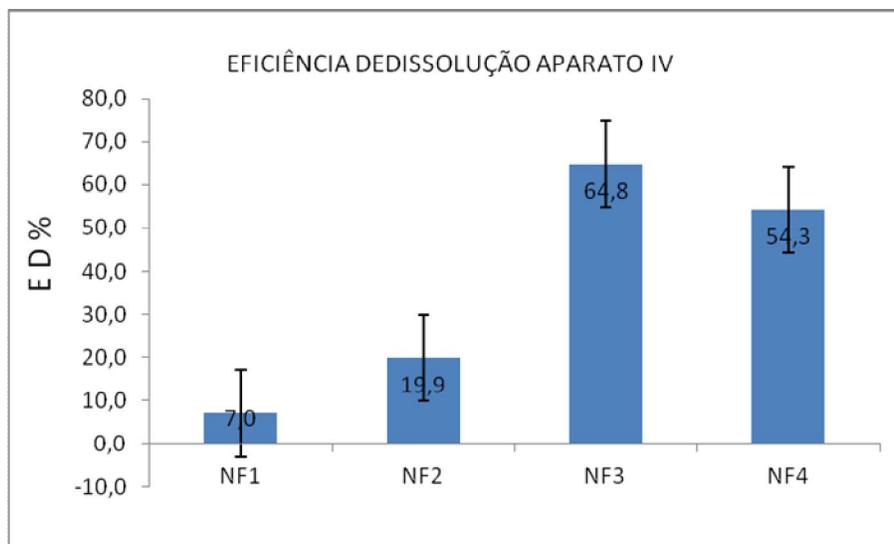


Figura 10. Resultados de eficiência de dissolução para as formulações NF1 = (30% HPMC); NF2 = (23% HPMC); NF3 = (17% HPMC) e NF4 = (10% HPMC). Os valores apresentados são resultados da média a partir da avaliação de 6 comprimidos.

Tabela 9. Avaliação estatística através dos índices de significância ($p < 0.05$) obtidos pela comparação entre a (ED%) das formulações desenvolvidas

	NF1	NF2	Resultado	Valor-p
	7,0%	19,9%	Diferente	< 0,00001
	NF1	NF3		
	7,0%	64,8%	Diferente	< 0,00001
	NF1	NF 4		
	7,0%	54,3%	Diferente	< 0,00001
ED%	NF2	NF3		
	19,9%	64,8%	Diferente	< 0,00001
	NF2	NF4		
	19,9%	54,3%	Diferente	< 0,00001
	NF3	NF4		
	64,8%	54,3%	Diferente	< 0,00001

p = índice de significância ANOVA – fator único; NF1 = (30% HPMC); NF2 = (23% HPMC) NF3 = (17% HPMC) e NF4 = (10% HPMC)

A taxa de dissolução de um fármaco, sobretudo de alta solubilidade, em sistemas matriciais hidrofílicos, é prioritariamente modulada pela matriz polimérica e segundo Siepmann (2012), pode ser explicada por pelo menos três mecanismos decorrentes da hidratação do HPMC: (1) intumescimento (2) erosão (3) difusão de Fick.

Em relação ao mecanismo de intumescimento da matriz polimérica há algumas considerações importantes a serem feitas, como a formação de estruturas intermediárias e permanentes (gel / plástica) e suas inter-relações. Este fenômeno ocorre quando o polímero é hidratado e vai passando de uma estrutura gelificada (gel) para uma estrutura mais emborrachada (plástico), diminuindo assim o contato da água ou líquidos fisiológicos com o fármaco, e desta forma modulando a liberação do fármaco em função da entrada de solvente na FF (SIEPAMANN, PEPPAS, 2012).

O processo de erosão acontece através do desprendimento das camadas mais externas da matriz intumescida, resultado do rompimento das interações polímero-polímero, aumentando a área do fármaco em contato com os líquidos fisiológicos e em consequência, observa-se o aumento da dissolução do fármaco, seguindo a lei de Fick (SIEPAMANN, PEPPAS, 2012).

A lei de difusão de Fick determina que as moléculas ou partículas tendam a seguir do meio mais concentrado para o menos concentrado, desta forma, à medida que o fármaco entre em contato com a água ou líquidos corporais, se estabelece um gradiente de concentração que determinará a velocidade de dissolução do fármaco. Vale ressaltar que este processo é favorecido, quando são estabelecidas as condições *sink*, ou seja, a presença de volume suficiente de meio para garantir a dissolução do fármaco, como ocorre naturalmente *in vivo* (SIEPAMANN, PEPPAS, 2012).

O trabalho realizado por Gal (1996) tem importante relevância para discussões feitas em torno do HPMC e suas diferentes formas, comercialmente disponíveis, com peso molecular e viscosidade, distintos e que impactam na liberação do fármaco. A viscosidade da HPMC aumenta em função do peso molecular, o que proporciona diferentes graus de intumescimento (GAL, 1996). O pesquisador também avaliou o impacto da viscosidade na capacidade de controle da liberação da substância ativa, concluindo que, à medida que a viscosidade do HPMC aumenta, a formação da barreira gel é favorecida, e isto confere um maior controle na liberação do fármaco (GAL, 1996; SIEPAMANN, PEPPAS, 2012). O HPMC K4M utilizado para o desenvolvimento dos comprimidos matriciais do presente trabalho, demonstrou ser eficiente para controlar a liberação da NSD, apesar de ser um fármaco da classe II do SCB (baixa solubilidade e alta permeabilidade), conforme resultados obtidos para as formulações com diferentes concentrações de HPMC, apresentados nas Tabelas 5, 7 e 8. Os resultados obtidos permitiram concluir que a formulação (NF4), com 10% de HPMC, apresentou o melhor perfil de dissolução, liberando gradativamente a NSD, atingindo cerca de 90 % de liberação ao final de 8 horas de ensaio.

Após o desenvolvimento das formulações com diferentes percentuais de HPMC, foi possível obter uma formulação com o melhor desempenho esperado para uma FFLP, seja quando avaliada pela cinética e eficiência de dissolução, ou no que se refere às faixas de liberação do fármaco, em 60 minutos (20 a 40%), 240 minutos (50 a 70%) e 480 minutos (80 a 100%) conforme sugerido por Prista *et al* (1996).

5.1.5. Estudo biomagnético por BAC das formulações desenvolvidas

Conforme descrito no item 4.2.3, os estudos biomagnéticos *in vitro* e *in vivo* foram realizados por meio da técnica de Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) no Instituto de Física e Biofísica, do campus Botucatu da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, sob a responsabilidade e coordenação do Prof. Dr. José Ricardo de Arruda Miranda, conforme descrito por Corá e colaboradores (MIRANDA, 1997; CORÁ, 2005, 2008; ANDREIS, 2010).

Para estas etapas do estudo foi selecionada a formulação NF4 em função de seu melhor desempenho em relação ao percentual de liberação da NSD após as 8 horas de ensaio de dissolução (superior a 90%), conforme demonstrado na Tabela 7 e Figura 9, e por apresentar comportamento de FFLP com características semelhantes àquelas propostas por Prista *et al.*, (1996) (PRISTA, 1996; SPRECIGO, 2006).

O estudo de biomagnetismo *in vitro* foi conduzido com 06 comprimidos da formulação NF4, conforme descrito no item 4.2.3.1.

Na Figura 11 estão apresentados os perfis gráficos da área magnética gerada através do monitoramento por meio da BAC *in vitro* da formulação NF4 (10% HPMC) nos meios de dissolução (solução pH 1,2, soluções tampão, pH4,5 e pH 6,8), conforme descrição no item 4.2.2.5.1. De acordo com os resultados, observa-se o aumento da área magnética em função do tempo, indicando que os comprimidos, à medida que foram hidratados, pelo contato com o meio, permitiram a distribuição das partículas de ferrita, marcador

magnético, que foi detectada pelo sensor disposto na parede da cuba que com o meio de dissolução e o comprimido (Figura 7).

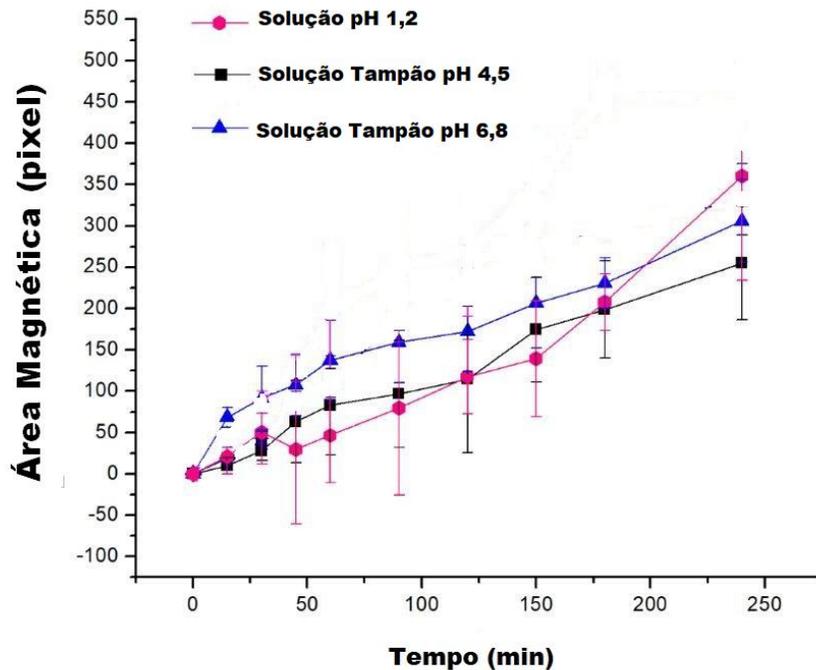


Figura 11. Perfis da área magnética em função do tempo, obtidos para a formulação NF4 (10% HPMC) a partir dos estudos com emprego da BAC *in vitro* nos meios de dissolução: solução pH 1,2, soluções tampão, pH4,5 e pH 6,8. Os valores representam os resultados de determinações em cada solução

Os resultados (Figura11) também permitiram observar que a alteração do pH não impactou no aumento de área magnética, indicando que a hidratação/intumescimento da matriz da formulação NF4 comportou-se como pH independente. Esta observação está em concordância com os resultados relatados por Siepmann e Peppas (2012) que, por meio de estudos com formulações contendo o fármaco buflomedil e HPMC, como matriz controladora de liberação do fármaco, concluíram que a hidratação/intumescimento deste polímero é independente de pH do meio (HIGUCHI, 1963; SIEPMANN, PEPPAS, 2012).

De acordo com os resultados apresentados na Figura 12, referente à formulação NF4 (10% HPMC), que demonstram os perfis da área magnética em função do tempo, obtida por meio de estudo com BAC *in vitro*, e de dissolução do fármaco em função do tempo, obtido por meio do ensaio de dissolução com o aparato IV, pode-se sugerir que à medida que a área magnética aumenta, observa-se um aumento da liberação do fármaco, que provavelmente se dá através da rede polimérica formada (barreira gel). Tal comportamento foi igualmente observado por Areevath e colaboradores (1998) quando determinaram a dissolução do diclofenaco, a partir de matrizes poliméricas hidrofílicas, com objetivo de avaliar o intumescimento das matrizes no sentido axial e radial, mensurados através de uma sequência de fotos, durante um período de tempo de 360 minutos. Nott (2010) realizou o monitoramento da área gerada, por meio de Ressonância Magnética, quando formulações matriciais contendo o fármaco maleato de clorfenilamina e HPMC foram submetidas ao ensaio de dissolução com o aparato IV. O autor correlacionou o aumento da área gerada com a liberação de maleato de clorfenilamina e obteve resultados semelhantes ao encontrados no presente trabalho com BAC.

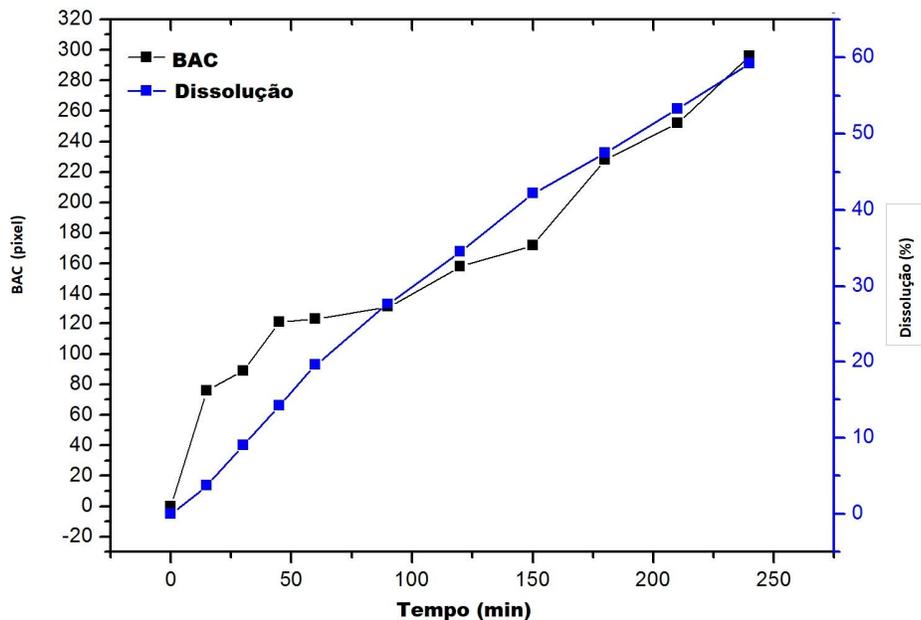


Figura 12. Representação gráfica dos perfis da área magnética em função do tempo, obtida por meio de estudo com BAC *in vitro*, e do de dissolução do fármaco em função do tempo, obtido por meio do ensaio de dissolução com o aparato IV, para a formulação NF4 (10% HPMC).

A avaliação do trânsito das FFs, sobretudo das FFLP, torna-se extremamente relevante para estimar o impacto do tempo de exposição destes sistemas de liberação aos sítios do TGI onde se dará a dissolução e a absorção do fármaco (LANZILLOTTI, 2012; DRESSMANN, 2001, 2007). Tais estudos têm sido objeto de pesquisa para vários autores (QUINI, 2015; CARMO, 2014; MAO, 2014; MARTINS, 2015; CORÁ, 2010). Para caracterizar a motilidade do TGI os seguintes parâmetros têm sido principalmente empregados: tempo de trânsito esofágico, tempo de residência gástrica (TRG), tempo de trânsito orocecal (TTOC) e tempo de trânsito intestinal (TTI). Tais estudos têm sido direcionados também para estimar a influência de patologias no trânsito TGI e impactos da cirurgia bariátrica. Dentre as técnicas empregadas para este fim estão a esofagografia baritada, esofagogastroscoopia, a manometria esofágica, a cintilografia e as técnicas biomagnéticas como, por exemplo, a Biosusceptometria de Corrente Alternada

(BAC) (QUINI, 2015; CARMO, 2014; MAO, 2014; MARTINS, 2015; CORÁ, 2010). Dentre estas, a cintilografia tem se destacado como técnica padrão para este tipo de monitoramento (WEITSCHIES, 2012). Entretanto, a necessidade de utilização de material radioativo e a exposição do paciente a este tipo de substância, restringem o emprego desta técnica. Técnicas como a BAC tem se apresentado como uma alternativa promissora (CORÁ, 2008).

O monitoramento do trânsito no TGI humano pela BAC consiste na detecção de material magnético, por exemplo: magnetitas e ferritas, incorporados a uma forma farmacêutica, que gera um campo magnético que com auxílio de um amplificador de sinal, permite quantificar a intensidade do sinal emitido pelo marcador, esses resultados são processados por software adequado e convertidos em imagens para avaliação da variação de área magnética durante o percurso no TGI humano (ANDREIS, 2010; CORÁ, 2008).

No presente trabalho, o estudo biomagnético *in vivo*, foi conduzido com emprego de técnica biomagnética por meio de BAC, conforme descrito no item 4.2.3.2, e envolveu a participação de 08 indivíduos sadios (sem patologias relacionadas ao TGI), aos quais foi administrada a formulação NF4, após jejum de 12 horas, procedendo-se o monitoramento do trânsito no TGI por BAC durante o período de 8 horas (MIRANDA, 1997; CORÁ 2008).

A Tabela 10 apresenta os parâmetros obtidos para o trânsito no TGI (TRG = Tempo de Residência Gástrica; TTOC = Tempo de Transito Orocecal e TTI = Tempo de Transito Intestinal) da formulação avaliada (NF4) por meio de BAC, conforme descrito no item 4.2.3. Em relação ao TRG, que se refere ao tempo em que a formulação permaneceu no estômago, observa-se semelhança entre os resultados obtidos neste estudo (89,0 minutos) e aquele descrito (96,1 minutos) por Lorena (2014), em ensaio conduzido com dieta padronizada marcada com material radioativo, com emprego de cintilografia (LORENA, 2014). A Tabela 11 apresenta a comparação entre os resultados médios do trânsito no TGI obtidos no presente estudo por meio de BAC e os dados descritos na literatura (DRESSMAN, 1996). Os resultados obtidos permitem observar que o tempo em que a formulação NF4 permaneceu na

porção intestinal (TTI), onde ocorre grande parte dos processos de absorção, foi superior aos valores de tempo nos outros segmentos (TRG e colônica).

Como os tempos médios se mantiveram dentro das faixas descritas na literatura, pode-se inferir que a BAC é uma técnica capaz de mensurar o tempo de trânsito no TGI com eficiência.

Tabela 10. Resultados obtidos para o trânsito no TGI (TRG = Tempo de Residência Gástrica; TTOC = Tempo de Transito Orocecal e TTI = Tempo de Transito Intestinal) da formulação avaliada (NF4) por meio de estudo *in vivo* com BAC

Voluntário	TRG (min.)	TTI	TTOC (min.)
1	80	290	370
2	40	> 360	> 420
3	25	245	270
4	240	75	315
5	110	> 360	> 420
6	100	170	270
7	40	230	270
8	80	85	165
Média	89	272	313
SD	68	88	68

Nota: > indica o tempo em que foi detectado o último sinal, sendo este considerado no cálculo das médias.

Tabela 11. Comparação dos resultados obtidos neste estudo (valores médios) através da BAC com valores descritos na literatura para o tempo de trânsito de cada porção do TGI no estado de jejum

Região do TGI	Tempo de Trânsito no TGI em minutos	
	BAC	Literatura*
TRG (Estômago)	89	5 - 120
TTI (Intestino)	272	120 – 2880
TTOC (Ingestão até o ceco)	313	180 - 300

*ASHOFORD, (2005)

A Figura 13 permite visualizar a estabilização do núcleo da matriz, região de cor vermelha mais intensa, isto evidencia que, a ferrita presente na formulação, embora tenha se espalhado em função do comprimido ter atingido intumescimento máximo em cerca de 80 minutos, manteve-se retida no polímero, conservando seu núcleo. O grau de intumescimento é um importante parâmetro quando se trata de matrizes hidrofílicas aplicadas à liberação prolongada. Segundo estudos apresentados por Santos (2011), que investigou os mecanismos de liberação de NSD a partir de comprimidos de liberação prolongada com HPMC, este polímero atinge seu intumescimento máximo nas primeiras horas de hidratação, com uma expansão que atinge cerca 185 % em relação ao tempo zero. Analisando os resultados obtidos para a formulação NF4, com base nos resultados descritos por Santos (2011), é possível sugerir que NF4 atingiu seu ápice de intumescimento ainda no estômago, de acordo com os resultados de TRG (89 minutos), assim, acredita-se que a barreira gel em função do intumescimento atingido, tenha sido formada, sugerindo que a liberação da NSD da formulação, não será comprometida para porções seguintes do TGI, conforme indícios apresentados.

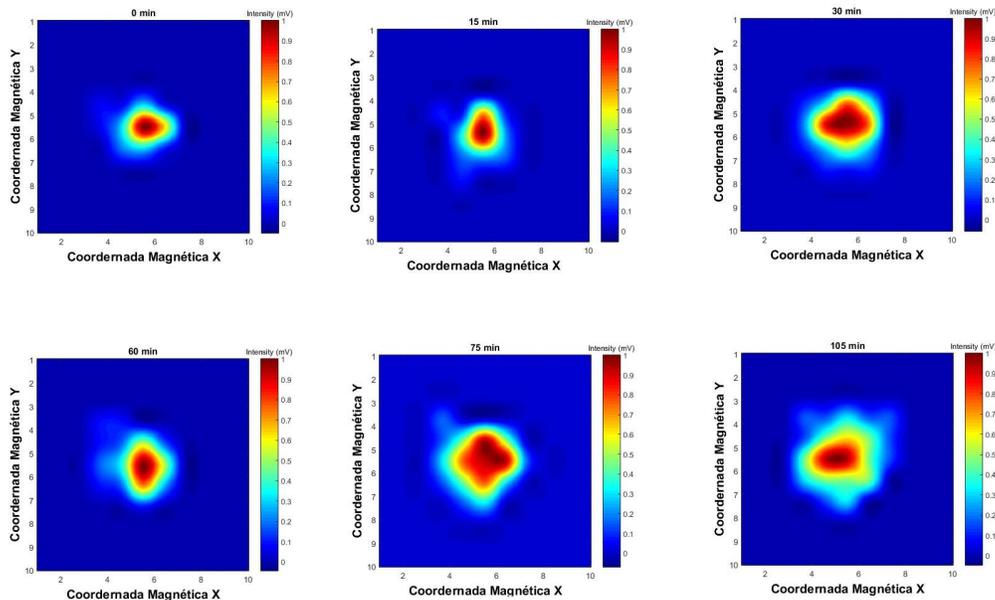


Figura 13. Imagens com os intervalos de tempo do mapeamento biomagnético *in vivo*, evidenciando o TRG da formulação NF4 e a estabilização do aumento de área magnética

Sabe-se que o intestino delgado é a região do TGI onde ocorre a absorção da maioria dos fármacos, por diversas razões já citadas na revisão, como: características das membranas desta região, maior superfície de contato, além de um maior tempo de trânsito nesta região (DRESSMAN, 2007; ASHFORD, 2005). Porém, o TGI humano é um meio extremamente complexo, e as diferenças entre cada porção não se referem apenas às características anatômicas ou histológicas, mas também em relação à presença dos líquidos (ingeridos ou secretados, conforme ilustrado na Figura 1), que podem ser distintos em relação ao volume, composição e pH (DRESSMAN, 2007; ASHFORD, 2005; AMIDON, BERMEJO, 2003; MACHERAS, ARGYRAKIS, 1997). Considerando que a absorção do fármaco apenas se dará após sua solubilização, torna-se fundamental considerar o impacto do trânsito da FF no TGI e o impacto da exposição aos líquidos do TGI sobre a solubilização/liberação do fármaco.

Em relação à solubilidade, sabe-se que a NSD, com pKa 6,7, apresenta baixa solubilidade (0,01 a 0,03mg/mL) e que este parâmetro é dependente do pH, o que significa dizer que quando este fármaco atravessa o TGI, sua solubilidade não é uniforme, sendo maior em um determinado segmento, em função da variação do pH de cada porção do TGI. Segundo Dressmann (2001, 2007), tal evento é conhecido como janela de solubilidade do fármaco no TGI, assim a garantia que maior quantidade de fármaco seja liberada nesta janela, aumentaria sua biodisponibilidade (DRESSMAN, 2001, 2007). Conforme dados descritos na literatura, a NSD apresenta os seguintes valores de solubilidade em função do pH do meio: pH 1,7 – 0,03 mg/mL; pH 4,6 – 0,03 mg/mL; pH 6,5 – 0,06 mg/mL; pH 7,4 – 0,21 mg/mL e pH 8,0 – 0,76 mg/mL (CHEMICALIZE, 2017). Considerando os resultados de BAC *in vivo* obtidos no presente estudo para a formulação NF4, em relação a: tempos de trânsito no TGI (TRG, TTOC, TTI) e os dados de dissolução *in vitro*, constante de dissolução (K) definida a partir dos estudos de dissolução, foi possível estimar qual a quantidade de NSD que se encontrará solubilizada em cada porção do intestino (porcentagem de solubilidade prevista – SP%). Tal estimativa foi obtida por meio de cálculo descrito no item 4.2.3.2. Conforme pode ser observado na Tabela 12, que apresenta um resumo desses dados, o maior valor de solubilidade prevista (68%) foi obtido na porção do intestino delgado (TTI trânsito no intestino delgado), local de maior capacidade absorptiva no TGI. Somando-se a isso, destaca-se que esta porção do TGI apresenta maior volume de líquidos em relação às outras porções e o pH destes está dentro de intervalo que beneficia a solubilização do fármaco em específico, indicando uma janela de solubilização (2,5 a 6,5), conforme descrito por Dressmann (2001, 2007). Este resultado sugere que há um favorecimento para a absorção do fármaco. Por outro lado, quando o valor médio de TRG é comparado ao valor médio de TTOC, observa-se que a formulação NF4 permanece um menor tempo na região gástrica. Este dado é interessante, considerando a baixa solubilidade da NSD (0,01 a 0,03 mg/mL) na faixa de pH do estômago (1 a 3) o que determina menor liberação em uma região de baixa capacidade de solubilização e absorção.

Tabela 12. Parâmetros do trânsito no TGI (TRG = Tempo de Residência Gástrica; TTOC = Tempo de Transito Orocecal e TTI = Tempo de Transito Intestinal), constante de dissolução (K), e resultados de dissolução previstas da NSD por região do TGI para a formulação NF4

Região do TGI	TRG	TTOC	TTI
Tempo (min)	89	313	272
K (% / min)	0,22	0,22	0,22
SP (%)	19,60	68,86	59,84
SP (mg)	17,44	137,12	119,68

k = constante de dissolução, SP = solubilidade prevista

Diante do exposto, fica evidente que a partir do desenvolvimento desta ferramenta, ou seja, deste sistema de liberação (FFLP) contendo um fármaco modelo (NSD) e um marcador magnético (ferrita), foi possível avaliar o trânsito desta FFLP através do TGI e determinar o tempo em que este sistema permaneceu em cada porção do TGI. Tais informações avaliadas em conjunto com os dados de solubilidade da NSD e com os resultados dos estudos de dissolução desta formulação permitem concluir que para o desenvolvimento farmacotécnico, sobretudo de FFLM, e neste caso de FFLP, é de fundamental importância conhecer o impacto do trânsito no TGI na liberação/dissolução e absorção do fármaco.

5.2. Validação do método analítico espectrofotométrico

5.2.1. Linearidade

Conforme resultados apresentados nas Figuras 14, 15 e 17, o método espectrofotométrico (comprimento de onda de 300 nm), empregado na análise da NSD, mostrou-se linear no intervalo de concentração de 6 a 100 µg/mL, nos diferentes meios: solução de HCl pH 1,2, solução tampão acetato pH 4,5 e solução tampão fosfato pH 6,8 (BRASIL, 2003).

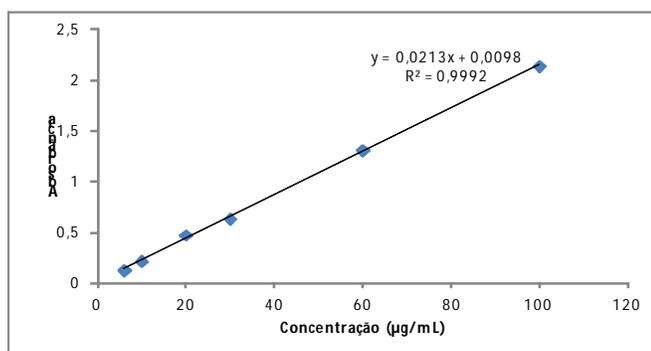


Figura 14. Curva analítica do método para quantificação de NSD em solução pH 1,2, por espectrofotômetro UV (300 nm) no intervalo de concentração de 6 a 100 µg/mL. Cada ponto representa a média de 3 determinações (n=3). x = concentração (µg/mL); y = absorbância (UV), r^2 = coeficiente de determinação.

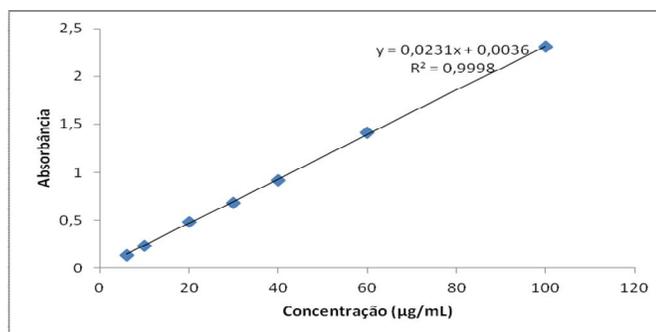


Figura 15. Curva analítica do método para quantificação de NSD em solução tampão, pH 4,5, por espectrofotômetro UV (300 nm) no intervalo de concentração de 6 a 100 µg/mL. Cada ponto representa a média de 3 determinações (n=3). x = concentração (µg/mL); y = absorbância (UV), r^2 = coeficiente de determinação.

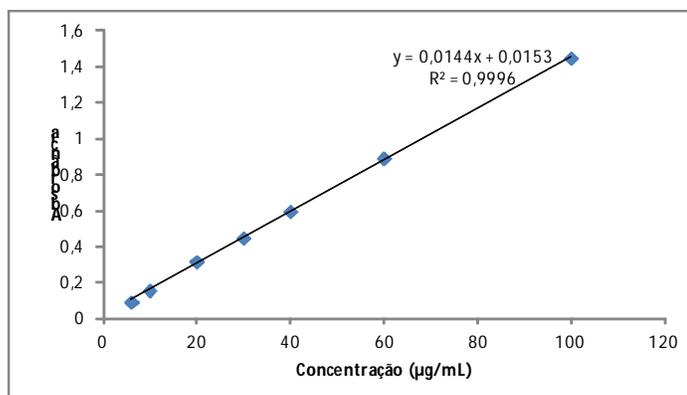


Figura 16. Curva analítica do método para quantificação de NSD em solução tampão, pH 6,8, por espectrofotômetro UV (300 nm) no intervalo de concentração de 6 a 100 µg/mL. Cada ponto representa a média de 3 determinações (n=3). x = concentração (µg/mL); y = absorbância (UV), r^2 = coeficiente de determinação.

5.1.5.2 Especificidade

Conforme apresentado nas Figuras 8 e 9, o método espectrofotométrico mostrou-se específico para NSD, uma vez que não apresentou detecção de interferentes no mesmo comprimento de onda da análise (300 nm), fato evidenciado pela varredura no espectrofotômetro. A Figura 8 apresenta os perfis obtidos por meio da varredura espectrofotométrica das soluções empregadas como meios de dissolução (solução pH 1,2, solução tampão acetato pH 4,5 e solução tampão fosfato pH 6,8), na faixa de comprimento de onda de 230 a 500 nm. A Figura 9 apresenta os perfis obtidos por meio da varredura espectrofotométrica das soluções contendo a substância química de referência NSD (concentração 100 µg/ml; teor 99,7%) nos meios de dissolução solução pH 1,2, solução tampão pH 4,5 e solução tampão pH 6,8.

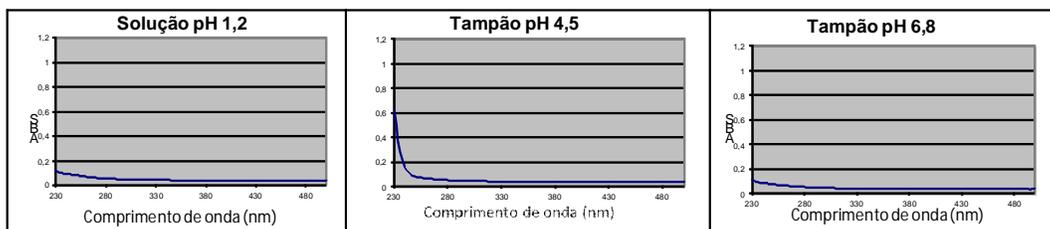


Figura 17. Espectros obtidos por meio da varredura espectrofotométrica das soluções empregadas como meios de dissolução (solução de HCl pH 1,2, solução tampão acetato pH 4,5 e solução tampão fosfato pH 6,8), na faixa de comprimento de onda de 230 a 500 nm.

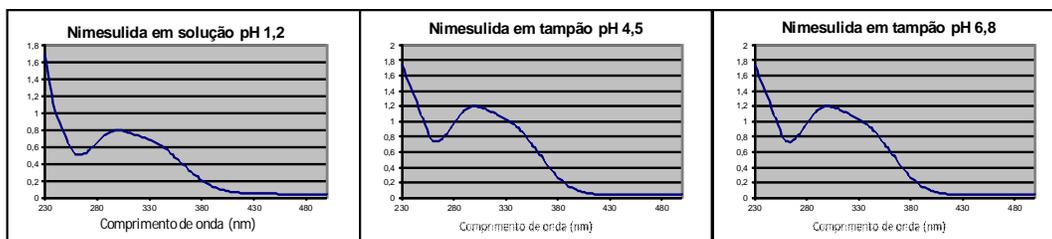


Figura 18. Espectros obtidos por meio da varredura espectrofotométrica das soluções contendo padrão de NSD, concentração 100 µg/mL, teor 99,7%, nos seguintes meios de dissolução: solução de HCl pH 1,2, solução tampão acetato pH 4,5 e solução tampão fosfato pH 6,8.

5.2.1 Precisão e exatidão

A precisão e exatidão do método analítico atenderam aos critérios de aceitação de uma variação de no máximo 5,0%, conforme RE 899/2003, demonstrando que o método pode ser considerado exato para quantificação de NSD nos meios de dissolução empregados (solução de HCl pH 1,2, solução tampão acetato pH 4,5 e solução tampão fosfato pH 6,8). Os resultados estão apresentados nas Tabelas 13 a 15, e descrevem valores de precisão entre 0,2 a 1,5 intradia e 0,2 a 0,8 interdias, para a exatidão intradia entre 98,1 e 99,1%, e de 98,2 e 99,7%, interdias.

Tabela 14. Valores de precisão e exatidão, intradia e interdias, determinados por meio da análise de soluções padrão de NSD (nas concentrações de 10, 30 e 60 µg/mL) em, e solução de Solução pH 1,2

Concentração NSD µg / mL	Precisão (%)		Exatidão (%)	
	Intradia	Interdias	Intradia	Interdias
10	0,2	0,8	98,9	98,2
30	0,2	0,2	98,1	98,7
60	1,5	0,4	99,1	99,0

Cada valor representa uma média de três determinações (n=3) para precisão e exatidão intradia e três determinações para precisão e exatidão interdias.

Tabela 15. Valores de precisão e exatidão, intradia e interdias, determinados por meio da análise de soluções padrão de NSD (nas concentrações de 10,30 e 60 µg/ mL) em, e solução tampão pH, 4,5

Concentração NSD µg / mL g	Precisão (%)		Exatidão (%)	
	Intradia	Interdias	Intradia	Interdias
10	0,5	0,4	98,7	98,6
30	0,7	0,2	98,5	98,5
60	1,6	0,9	98,1	99,7

Cada valor representa uma média de três determinações (n=3) para precisão e exatidão intradia e três determinações para precisão e exatidão interdias.

Tabela 16. Valores de precisão e exatidão, intradia e interdias, determinados por meio da análise de soluções padrão de NSD (nas concentrações de 10,30 e 60 µg/ mL) em, e solução tampão pH, 6,8

Concentração NSD µg / mL	Precisão (%)		Exatidão (%)	
	Intradia	Interdias	Intradia	Interdias
10	1,5	0,9	99,7	99,1
30	1,1	0,6	98,6	98,2
60	1,0	0,4	99,1	98,7

Cada valor representa uma média de três determinações (n=3) para precisão e exatidão intradia e três determinações para precisão e exatidão interdias.

6. CONCLUSÃO

1. As 4 formulações de comprimidos matriciais desenvolvidas, contendo nimesulida (fármaco modelo), ferrita (marcador magnético) e diferentes concentrações de HPMC (NF1 - 30% HPMC; NF2 - 23% HPMC; NF3 - 17% HPMC e NF4 - 10% HPMC), atenderam aos requisitos preconizados pela Farmacopeia Brasileira (2010) em relação a peso médio, dureza e friabilidade. A avaliação biofarmacotécnica *in vitro* por meio dos ensaios de dissolução com o aparato IV permitiu identificar que estas apresentaram perfis de liberação da NSD distintos, sendo que as formulações com maior percentual de HPMC apresentaram menor porcentagem de liberação/dissolução da NSD;
2. A formulação NF4, com menor concentração de HPMC, foi selecionada para os estudos por meio de BAC (*in vitro* e *in vivo*) por apresentar o melhor desempenho esperado para uma FFLP, quando avaliada em relação ao seu comportamento de dissolução, especialmente em função da cinética e da eficiência de dissolução;
3. Os resultados de BAC *in vitro* permitiram identificar que a formulação NF4 (10%HPMC) apresentou aumento de área magnética de forma independente do pH do meio, sugerindo que a hidratação/intumescimento da HPMC independe do pH. Os dados de BAC *in vivo* permitiram observar que o aumento de área magnética atingiu um platô em cerca de 80 minutos após a administração da formulação NF4;
4. A comparação dos dados de BAC *in vitro* e BAC *in vivo*, relacionados ao trânsito gastrointestinal, indica que a formulação NF4, após apresentar o ápice de intumescimento, foi capaz de manter sua estrutura permanente ao longo do TGI, favorecendo assim a liberação modulada do fármaco;
5. A correlação dos dados de BAC *in vivo* (tempos de trânsito no TGI – TRG, TTOC, TTI) com os dados de dissolução *in vitro* (constante de dissolução – K), obtidos a partir da formulação NF4, permitiu estimativas em relação às quantidades solubilizadas de NSD em cada porção do intestino. A maior

porcentagem de NSD solubilizada ocorrerá na porção do intestino delgado, local de maior capacidade absorptiva no TGI, que apresenta maior volume de líquidos em relação às outras porções e com pH dentro de intervalo que beneficia a solubilização do fármaco;

6. A avaliação do trânsito no TGI, por meio da técnica de BAC, em conjunto com os estudos de dissolução a partir da formulação desenvolvida (FFLP, em um sistema matricial), proporcionaram a obtenção de ferramenta interessante que pode ser aplicada no desenvolvimento biofarmacotécnico de sistemas de liberação de fármacos;

7. O desenvolvimento desta ferramenta, ou seja, deste sistema de liberação (FFLP) contendo um fármaco modelo (NSD) e um marcador magnético (ferrita), foi possível avaliar o trânsito desta FFLP através do TGI e determinar o tempo em que este sistema permaneceu em cada porção do TGI. Tais informações avaliadas em conjunto com os dados de solubilidade da NSD e com os resultados dos estudos de dissolução desta formulação permitem concluir que para o desenvolvimento farmacotécnico, sobretudo de FFLM, e neste caso de FFLP, é de fundamental importância conhecer o impacto do trânsito no TGI na liberação/dissolução e absorção do fármaco.

REFERÊNCIAS

ADROVER, A. et al. In vitro dissolution testing of oral thin films: A comparison between USP 1, USP 2 apparatuses and a new millifluidic flow-through device. **Chemical Engineering Research And Design**, Roma, Italy, v. 95, p.173-178, mar. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cherd.2014.10.020>.

AMIDON, G.L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V.P.; CRISON, J.R. A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. *Pharmaceutical Research*, v.12, n.3, p.413-420, 1995.

ANDREAS, C. J.; et al. In vitro biorelevant models for evaluating modified release mesalamine products to forecast the effect of formulation and meal intake on drug release. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, Taiwan, Roc., v. 97, p.39-50, nov. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.09.002>.

ANDREIS, U. Farmacomagnetografia colônica: estudo *in vivo* da desintegração de comprimidos magnéticos revestidos. 2010. 80 f. tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, “Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu.

ANOVA-based, model-dependent and -independent methods. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 209, p. 57-67, *Mersin, Turkey*, 2000.

ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.G.; ALLEN, L.V. Farmacotécnica: Formas Farmacêuticas & Sistemas de Liberação de Fármacos. São Paulo: Editorial Premier, 2000, 568p.

AREEVATH, S.J. Relationship between swelling, erosion and drug release in hydrophilic natural gum mini-matrix formulations, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 6, n. 1, p. 207-217, Nottingham, UK, 1997.

AUGUSTIJNS, P. A review of drug solubility in human intestinal fluids: Implications for the prediction of oral absorption. *European Journal of Pharmaceutical Science*, v. 57, n. 2, p.322-332, Harlow, UK, 2014.

AULTON, M.E.; GEORGE G. O. Delineamento de formas farmacêuticas, 2ª edição, Ed. Artmed, Porto Alegre, 2005.

AZARMI, S.; ROA, W. OBENBERG, R. Current perspectives in dissolution testing of conventional and novel dosage forms. **International Journal Of Pharmaceutics**, Alberta, Canada, v. 328, p.12-21, 02 out. 2006.

BAFFA, O. *et al.* Analysis and development of an AC Biosusceptometer for oro-caecal transit time measurements. *Med. Biol. Eng. Comput.*, v.33, p.353-357, 1995.

BANAKAR, U.V. Pharmaceutical dissolution testing. New York: Marcel Dekkes, 1992. p. 307-395.

BASSANT, N. Predicting human intestinal absorption of diverse chemicals using ensemble learning based QSAR modeling approaches. *Computational Biology and Chemistry*, v. 37, n. 2, p. 178-196, India, 2016.

BHARDWAJ, U.; BURGESS, D. J. A novel USP apparatus 4 based release testing method for dispersed systems. **International Journal Of Pharmaceutics**, Storrs, USA, v. 388, n. 1-2, p.287-294, mar. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.01.009>.

BHATTACHAR, S. N. et al. Dissolution testing of a poorly soluble compound using the flow-through cell dissolution apparatus. **International Journal Of Pharmaceutics**, Mi, USA, v. 236, p.135-143, 14 jan. 2002.

BICHERI, M. T. L. **DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO in vitro DE COMPRIMIDOS DE LIBERAÇÃO MODIFICADA PARA VEICULAÇÃO DE ZIDOVUDINA**. 2010. 96 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de Sorocaba, Sorocaba, Sp, 2010.

BILEN, N. Performance of USP calibrator tablets in flow-through cell apparatus. **International Journal Of Pharmaceutics**, Novo Mesto, Slovenia, v. 233, p.123-129, 18 out. 2001.

BITAR, N.K. Tissue engineering in the gut: Developments in neuromusculature. *Gastroenterology*, v. 14, n. 1, p.1614-1624, Winston-Salem, North Carolina, 2014.

BLOOMFIELD, M.S.; BUTLER, W.C. Robustness testing, using experimental design, of a flow-through dissolution method for a product where the actives have markedly differing solubility properties. **International Journal Of Pharmaceutics**, Dartford, Uk, v. 206, n. 2, p.55-61, 4 jul. 2000.

BOLOGNESI, L. Avaliação do tempo de trânsito esofágico de formas farmacêuticas sólidas pela Cintilografia e Biosusceptometria AC. Dissertação (mestrado) "Universidade Estadual Paulista". – Instituto de Biociências, Botucatu. 2008.

BONAMICI, D. Sistema de classificação biofarmacêutico. São Paulo, 2009, 171p. (Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP).

BRASIL. Leis, decretos, etc. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de junho de 2003. Seção 1. [A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos]. 2003a.

BUTLER, W.C.G.; BATEMAN, S.R. A flow-through dissolution method for a two component drug formulation where the actives have markedly differing solubility

properties. **International Journal Of Pharmaceutics**, Kent, UK, v. 173, p.211-219, 8 jul. 1998.

CAMMARN, S. R.; SAKR, A. Predicting dissolution via hydrodynamics: salicylic acid tablets in flow through cell dissolution. **International Journal Of Pharmaceutics**, Cincinnati, Usa, v. 1, n. 201, p.199-209, 15 fev. 2000.

CARDOT, J.M. Dissolution comparisons using a Multivariate Statistical Distance (MSD) test and a comparison. *The AAPS Journal*, The AAPS Journal, v. 19, n. 4 p. 1091-1102, Ferrand, France, 2017.

CHAWLA, G. A Means to Address regional variability in Intestinal drug absorption. *Pharmaceutical Technology*, v. 46, n. 1, p.51-62, *Frankfurt am Main, Germany*, 2003.

CORÁ, L. A. et al. AC biosusceptometry in the study of drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 57, n. 3, p.1223-1241, Araraquara, São Paulo, 2005.

CORÁ, L. A. et al. Biomagnetic Methods: Technologies Applied to Pharmaceutical Research. **Pharm Res**, [s.l.], v. 28, n. 3, p.438-455, 15 out. 2010. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s11095-010-0285-5>.

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

CORÁ, L.A.; AMÉRICO, M.F.; OLIVEIRA, R.B.; SERRA, C.H.R.; BAFFA, O.; EVANGELISTA, R.C.; OLIVEIRA, G.F.; MIRANDA, J.R.A. Biomagnetic methods technologies applied to pharmaceutical research, *Springer Science*, Alagoas, 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20949311>. Acessado em 24 nov. 2015.

D'ARCY, D. M.; LIU, B.; CORRIGAN, O. I. Investigating the effect of solubility and density gradients on local hydrodynamics and drug dissolution in the USP 4 dissolution apparatus. **International Journal Of Pharmaceutics**, Dublin, Ireland, v. 419, n. 1-2, p.175-185, out. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.07.048>

DELVADIA, P. R.; BARR, W. H.; KARNES, H. T. A biorelevant in vitro release/permeation system for oral transmucosal dosage forms. **International Journal Of Pharmaceutics**, VA, United States, v. 430, n. 1-2, p.104-113, jul. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.03.050>.

DERENDORF, H. In vivo-in vitro correlations of salicylate saliva levels and continuous flow cell dissolution rates. **International Journal Of Pharmaceutics**, Monster, F. R. G., v. 15, p.167-175, 18 nov. 1982.

DICIONÁRIO DE ESPECIALIDADES FARMACÊUTICAS (DEF 98/99). 27 Ed., Rio de Janeiro, Publicações Científicas.

DOROŚYŃSKI, P. P. et al. Novel Application of MRI Technique Combined with Flow-Through Cell Dissolution Apparatus as Supportive Discriminatory Test for Evaluation of Controlled Release Formulations. **Aaps Pharmscitech**, Kraków, Poland, v. 11, n. 2, p.588-597, 30 mar. 2010. American Association of Pharmaceutical Scientists (AAPS). <http://dx.doi.org/10.1208/s12249-010-9418-8>.

DRESSMANN, J.B. Estimating drug solubility in the gastrointestinal tract, *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 59, n. 1, p.75-87, *Frankfurt am Main, Germany*, 2007.

DRESSMANN, J.B. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs q in the gastrointestinal tract, *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 46, n. 1, p.75-87, *Frankfurt am Main, Germany*, 2001.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 5 ed. São Paulo: Farmacopéia Brasileira, 2010.

FAUSTO, B. A. Transição Demográfica no Brasil: As possibilidades e os desafios para a economia e a sociedade. UFMG/Cedeplar. Belo Horizonte, v. 318, p28. 2004.

FIP – INTERNATIONAL PHARMACEUTICAL FEDERATION. FIP guideline for dissolution testing of solid oral products. *Drug Inf. J.* v. 30, p. 1071–1084, 1996. Disponível em: http://www.fip.org/www/uploads/database_file.php?id=260&table_id=. Acesso em: 08/04/2016.

FIRMAN, G.C.M. Avaliação qualitativa e quantitativa do esvaziamento gástrico através d videofluoroscópico. *Arq Gastroenterol*, v. 37, n. 2, p.80-88, Rio de Janeiro, Brasil, Portugal, 2000.

FOTAKI, N. et al. A comparative study of different release apparatus in generating in vitro–in vivo correlations for extended release formulations. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, Athens, Greece, v. 73, n. 1, p.115-120, set. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2009.04.012>.

GAO, Z. *In vitro* dissolution testing with flow-through method: a technical note, *AAPS PharmSciTech*, v. 10, n. 4, p. 1-5, December 2009

GARBACZ, G.; et al. Bio-relevant dissolution testing of hard capsules prepared from different shell materials using the dynamic open flow through test apparatus. **European Journal Of Pharmaceutical Sciences**, Greifswald, Germany, v. 57, p.264-272, jun. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2013.08.039>.

GELLER, M. A comparison of the NSAIDs Diclofenac sodium and nimesulide in clinical practice: therapeutic efficacy, pharmacology, and safety, Rio de Janeiro, Jun. 2010. Moreira JR Editora. Disponível em: <http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?id_materia=4322&fase=imprime>. Acessado em 14 nov. 2011.

GITTINGS, S. et al. Dissolution methodology for taste masked oral dosage forms. **Journal Of Controlled Release**, [s.l.], v. 173, p.32-42, jan. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.10.030>.

GJELLAN, K.; et al. A collaborative study of the in vitro dissolution of acetylsalicylic acid gastro-resistant capsules comparing the flow-through cell method with the USP paddle method. **Internanonal Journal Of Pharmaceuncs**, Uppsala, Sweden, v. 151, p.81-90, 22 jan. 1997.

GOODMAN, K. Assessing gastrointestinal motility and disintegration profiles of magnetic tablets by a novel magnetic imaging device and gamma scintigraph. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 74, n. 1, p.84-92, Greifswald, Germany, 2010.

GOUVEIA, A.M. Obtenção e caracterização de dispersões sólidas de nimesulida. 2011. 99p. dissertação (Mestrado em Fármacos e Medicamentos) – Área de Produção e Controle de Fármacos, Universidade de São Paulo, São Paulo.

HURTADO Y DE LA PENÃ, M.; ALVARADO, Y.V.; DOMINGUEZ-RODRIGUEZ, A.M.; ARROYO, A.R.C. Comparison of dissolution profiles for albendazole tablets using USP apparatus 2 and 4. *Drug Development Ind. Pharm.* V. 29, n. 7, p. 777-784, 2003.

KAKHI, M. Mathematical modeling of the fluid dynamics in the flow-through cell. **International Journal Of Pharmaceutics**, Silver Spring, USA, v. 376, n. 1-2, p.22-40, jul. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.04.012>.

KIM, M.S. Quantification of nimesulide in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detector (HPLC-UV): Application to pharmacokinetic studies in 28 healthy Korean subjects. *Journal of Chromatographic Science*, v. 50, p. 496 - 400, 2012.

KLEIN, S. The role of individual gastric emptying of pellets in the prediction of diclofenac in vivo dissolution. *Journal of Controlled Release*, v. 166, p. 285-293, Ljubljana, Slovenia, 2005.

KULINOWSKI, P.; et al. An integrated system for dissolution studies and magnetic resonance imaging of controlled release, polymer-based dosage forms - A tool for quantitative assessment of hydrogel formation processes. **Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis**, Kraków, Poland, v.

48, n. 3, p.685-693, nov. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2008.06.025>.

LANZILLOTTI, P. F. **Sistemas para Liberação modificada de fármacos**. 2012. 46 f. Monografia (Especialização) - Curso de Faculdade de Farmácia, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Faculdade Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2012.

LAPEÑA, M. H.; et al. Comparison of Dissolution Profiles for Albendazole Tablets Using USP Apparatus 2 and 4. **Drug Development And Industrial Pharmacy**, New York, NY, v. 29, n. 7, p.777-784, jan. 2003. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1081/ddc-120021777>.

LOPES, M.C.; LOBO, J.M.S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. Porto. Portugal, **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 143-154, 2005.

LORENA, S. L. S. et al. ESTUDO DO ESAZIAMENTO GÁSTRICO E DA DISTRIBUIÇÃO INTRAGÁSTRICA DE UMA DIETA SÓLIDA ATRAVÉS DA CINTI. **Arq Gastroenterol**, Campinas, Sp, v. 37, n. 2, p.102-106, jun. 2000.

ITEFANIČ, M. et al. Prediction of the in vivo performance of enteric coated pellets in the fasted state under selected biorelevant dissolution conditions. **European Journal Of Pharmaceutical Sciences**, Ljubljana, Slovenia, v. 62, p.8-15, out. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2014.05.007>.

Maderuelo, C. Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices. *Journal of Controlled Release*, v. 154, p. 2-19, Salamanca, Spain, 2011.

MANADAS, R.; PINA, M.E.; VEIGA, F. A dissolução *in vitro* na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. *Rev. Bras. Ciências Farm.* v. 38, n. 4, p. 375-399, 2002.

MAO, H. Fabrication of magnetic silica-pillared clay (SPC) nanocomposites

MARTINS, M. L. et al. Enhancing the versatility of alternate current biosusceptometry (ACB) through the synthesis of a dextrose-modified tracer and a magnetic muco-adhesive cellulose gel. **Materials Science And Engineering: C**, Botucatu Sp, Brasil, v. 48, p.80-85, mar. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2014.11.059>.

MEDINA, J. R.; et al. Comparative in vitro dissolution study of carbamazepine immediate-release products using the USP paddles method and the flow-through cell system. **Saudi Pharmaceutical Journal**, [Dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2013.02.001](http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2013.02.001), v. 22, n. 2, p.141-147, abr. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2013.02.001>.

MERCURI, A. Understanding and predicting the impact of critical dissolution variables for nifedipine immediate release capsules by multivariate data analysis. *International Journal of Pharma*, v. 518, p. 41-49, Bath, United Kingdom, 2017.

MONTEIRO, M.L. Comprimidos matriciais preparados com hidroxipropilmetilcelulose e pectina contendo quercetina para liberação colón-específica, *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 26, n. 2, p.179-184, São Paulo, Brasil, 2007.

MORITA, R. D evelopment of a new dissolution test method for an oral controlled release preparation, the PVA swelling controlled release system (SCRS). *Journal of Controlled Release*, v. 90, p. 109-117, Osaka, Japan, 2003.

MOURÃO, S.C. Correla o in vitro-in vivo para formas farmacêuticas sólidas de libera o modificada contendo diclofenaco de sódio. 2011, 205p. Tese (Doutorado em Fármacos e Medicamentos) -  rea de Produ o e Controle de Fármacos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

MOURÃO, S.C.; SILVA, C.; BRESOLIN, T.M.B.; SERRA, C.H.R.; PORTA, V. Dissolution parameters for sodium diclofenac – containing hypromellose matrix tablete. *Int. J. Pharm.* v. 186, p. 201-207, 2010.

Muscle Contractility in Mice. *GASTROENTEROLOGY*, v. 129, p.1592-1601, Netherlands, 2005.

NEUBERT, A. et al. Development of a vessel-simulating flow-through cell method for the in vitro evaluation of release and distribution from drug-eluting stents. **Journal Of Controlled Release**, Greifswald, Germany, v. 130, n. 1, p.2-8, ago. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.05.012>.

NICKLASSON, M. et al. A collaborative study of the in vitro dissolution of phenacetin crystals comparing the flow through method with the USP Paddle method. **International Journal Of Pharmaceutics**, Malmo, Sweden, v. 1, n. 69, p.255-264, 19 nov. 1991.

NIESSEN, P. Smoothelin-A Is Essential for Functional Intestinal Smooth

NOTT, K. P. Magnetic resonance imaging of tablet dissolution. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, [s.l.], v. 74, n. 1, p.78-83, jan. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2009.07.003>.

NOVAK, S.D. Characterization of physicochemical properties of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) type 2208 and their influence on prolonged drug release from matrix tablets, v. 66, n. 1, p. 136-143, Ljubljana, Slovenia, 2012

O'HARSA, T. **A review of methods used to compare dissolution profile data**. PSTT, v. 1, n. 5, p. 214-224, Dublin 4 Ireland, 1998.

OLIVEIRA, G.F. Sistema mutiparticulado magnético: Desenvolvimento e avalia o in vivo através da biosusceptometria AC. 2010. 139f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, São Paulo, 2010.

PAIXÃO, P. Evaluation of dissolution profile similarity – Comparison between the f2, the multivariate statistical distance and the f2 bootstrapping methods.

European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 112, n. 4 p. 67-74, Lisboa, Portugal, 2017.

PERNG, C.; et al. Assessment of oral bioavailability enhancing approaches for SB-247083 using flow-through cell dissolution testing as one of the screens. **International Journal Of Pharmaceutics**, PA, USA, v. 250, p.147-156, 11 set. 2002.

PEZZINI, B. R. et al. Applications of USP apparatus 3 in assessing the in vitro release of solid oral dosage forms. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 51, n. 2, p.265-272, jun. 2015. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-82502015000200003>.

PEZZINI, B.R.; SILVA, M.A.S.; FERRAZ, H.G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. *Rev. Bras. Ciências Farm.* v. 43, n. 4, p. 491- 502, 2007.

PHILLIPS, L.K. Measurement of gastric emptying in diabetes, *Journal of Diabetes and Its Complications*, v. 28, n. 1, p. 893-903, Australia, 2014.

PISLA, M. Analysis of small intestinal transit and colon arrival times of non-disintegrating tablets administered in the fasted state. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 75, n. 1, p. 131-141, Ljubljana, Slovenia, 2015.

PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R.M.R. *Tecnologia Farmacêutica*, 5ª edição, v.I, ed. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1995

QUINI, C. C et al. Employment of a noninvasive magnetic method for evaluation of gastrointestinal transit in rats. **J Biol Eng**, Botucatu - São Paulo, v. 6, n. 1, p.1-6, 2012. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/1754-1611-6-6>.

RAWAT, A.; BURGESS, D. J. USP apparatus 4 method for in vitro release testing of protein loaded microspheres. **International Journal Of Pharmaceutics**, Storrs, Usa, v. 409, n. 1-2, p.178-184, maio 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.02.057>.

RAWAT, A.; et al. Validation of USP apparatus 4 method for microsphere in vitro release testing using Risperdal® Consta®. **International Journal Of Pharmaceutics**, Storrs, Usa, v. 420, n. 2, p.198-205, nov. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.08.035>.

RICHARDSON, J et al. Pharmaceutical applications of magnetic resonance imaging (MRI). **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s.l.], v. 57, n. 8, p.1191-1209, 15 jun. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2005.01.024>.

RJALAHTI, T. Multivariate data analysis in pharmaceutics: A tutorial review. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 417, n. 1, p. 280-290, Bergen, Norway, 2011.

ROLIM, C.M.B. Bioequivalência de comprimidos de nimesulida no mercado nacional. 2001. 210f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

SANTOS, G. J. F. L. **Ensaio de Dissolução das Formas Farmacêuticas: Aplicações na Investigação Científica e na Indústria Farmacêutica.** 2012. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2012.

SANTOS, M.O. Comprimidos de HMPC contendo nimesulida: preparação, caracterização e estudo dos mecanismos que regem a liberação do fármaco 2011. 52f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2011

SATARKAR, N; HILT, J. Magnetic hydrogel nanocomposites for remote controlled pulsatile drug release. **Journal Of Controlled Release**, KY, United States, v. 130, n. 3, p.246-251, 24 set. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.06.008>.

SEIDLITZ, A.; et al. Examination of drug release and distribution from drug-eluting stents with a vessel-simulating flow-through cell. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, Greifswald, Germany, v. 78, n. 1, p.36-48, maio 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2010.12.021>.

SERRA, C.H.R. Avaliação Biofarmacotécnica de Comprimidos contendo Cefalexina: Cinética de Dissolução e Bioequivalência. 205 f. Tese de doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

SERRA, C.H.R., STORPIRTIS, S. Comparação de perfis de dissolução da cefalexina através de estudos de cinética e eficiência de dissolução (ED%). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 43, n. 1, p. 79-88, 2007.

SHARGEL, L.; YU, A.B.C. Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics. 5ed. New York: McGraw-Hill, 2005.

SIEPMANN, J. Mathematical modeling of drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 364, n. 1, p. 328-343, Lille, France, 2008.

SIEPMANN, J. Mathematical modeling of drug dissolution. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 453, n. 1, p. 12-24, Lille, France, 2008

SIEPMANN, J.; SIEPMANN, F. Mathematical modeling of drug dissolution. **International Journal Of Pharmaceutics**, Lille, France, v. 453, n. 1, p.12-24, ago. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.04.044>.

SIEPMANN, J; PEPPAS. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 64, n. 1, p. 163-174, West Lafayette, USA, 2012.

SIEWERT, M.; DRESSMAN, J.; BROWN, C.; SHAH, V. FIP/ AAPS guidelines for dissolution/ *in vitro* release testing of novel/ special dosage forms. *Dissolution technologies*. v.10, p. 6-15, 2003.

SILVA, J. A. **Dissolução de comprimidos: estudo comparativos de apresentações contendo diazepam.** 2013. 53 f. Monografia (Especialização) - Curso de Faculdade de Farmácia, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Faculdade Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.

SILVA, M. F. **Correlação in vitro - in vivo de comprimidos matriciais de furosemida complexada à hidroxipropil- β -ciclodextrina: métodos in vitro, in vivo e in silico.** 2014. 297 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

SILVA, R.L. Meios para dissolução de comprimidos de nimesulida: ação dos tensoativos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 38, n. 2, p. 63-73, 2002.

SJÖGREN, E. In vivo methods for drug absorption – Comparative physiologies, model selection, correlations with in vitro methods (IVIVC), and applications for formulation/API/excipient characterization including food effects. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 57, p. 99 - 151, 2014.

SPRECIGO, R. Desenvolvimento de comprimidos de liberação prolongada de furosemida: influência das ciclodextrinas. 2006. 159 f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2014.

STORPIRTIS, S. Considerações biofarmacotécnica relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e absorção do fármaco, *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 35, n. 1, p. 1-16, 1999.

STORPIRTIS, S., CONSIGLIERI, V. O. Biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos: aspectos fundamentais para o planejamento e execução de estudos. *Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo*, v. 31, n. 2, p. 63-70, 1995.

STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J.E.; CHIANN, C.; GAI, M.N. *Biofarmacotécnica*. 1.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2009, 321p.

SUNESSEN, V. H.; et al. In vivo in vitro correlations for a poorly soluble drug, danazol, using the flow-through dissolution method with biorelevant dissolution media. **European Journal Of Pharmaceutical Sciences**, Copenhagen, Denmark, v. 24, n. 4, p.305-313, mar. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2004.11.007>.

SUNG, K.C. Effect of formulation variables on drug an polymer release from HPMC-bases matrix tablets. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 142, n. 1, p. 52-60, MI, USA, 1996.

TRONCON, L.E.A. Motilidade gástrica: fisiopatologia e métodos de estudo. *Pesquisa Médica*, *Pesquisa Médica*, v. 2, n. 2, p. 14-25, São Paulo, Brasil, 2008.

Tsume, Y; Takeuchi, S; Matsui, K; Amidon, E.G; Amidon, L.G. In vitro dissolution methodology, mini-gastrointestinal simulator (mGIS), predicts better in vivo dissolution of a weak base drug, desatinib. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 3286, n. 1, p. 1-3, 2015.

UNITED STATES PHARMACOPEIA 31, 2008. ed Rocckville: United States Pharmacopoeial Convention.

VARUM, F.O. Estudos de mucoadesão no trato gastrointestinal para o aumento da biodisponibilidade oral de fármacos, *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 59, n. 1, p.75-87, v. 44, n. 4, p.535-549, Coimbra, Portugal, 2008.

VICTOR, W.C; ANTÔNIO, M.O; AQUIAR, E.N; MOREIRA, M.C. Avaliação da qualidade e perfil de dissolução de comprimidos gastro-resistentes de diclofenaco sódico 50mg comercializados no Brasil. *Revista Brasileira de Farmácia*. Minas Gerais. v. 86, n. 1, 2005.

WAGNER, C.; JANTRATID, E.; KESISOGLOU, F.; VERTZONI, M.; REPPAS, C.; DRESSMAN, J.B. Predicting the oral absorption of a poorly soluble, poorly permeable weak base using biorelevant dissolution and transfer model tests coupled with physiologically based pharmacokinetic model. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* v. 82, p.127-138, 2012.

WEITSCHIES, W. et al. Magnetic marker monitoring of disintegrating capsules. **European Journal Of Pharmaceutical Sciences**, Greifswald, Germany, v. 3, n. 140, p.411-416, 10 abr. 2001.

WEITSCHIES, W.; KARAUS, M.; CORDINI, D.; TRHAMS, L. Magnetic Marker Monitoring monitoring of disintegrating capsules, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 13, n. 1, p.93-101, Berlin, Germany, 2001.

WEITSCHIES, W.; KOSCH, O.; MFNNIKES, H.; TRAHMS, L. Magnetic Marker Monitoring: An application of biomagnetic measurement instrumentation and principles for the determination of the gastrointestinal behavior of magnetically marked solid dosage forms, Berlin, 2005. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Disponível em: <<http://www.journals.elsevier.com/advanced-drug-delivery-reviews/>>. Acessado em: 21 Jul. 2011.

WEITSCHIES, W.; KOSCH, O.; MFNNIKES, H.; TRAHMS, L. Magnetic Marker Monitoring: High resolution real-time tracking of oral solid dosage forms in the gastrointestinal tract. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 74, n. 1, p.93-101, Berlin, Germany, 2010.

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

WENNERGREN, Bo et al. A collaborative in vitro dissolution study: comparing the flow-through method with the USP paddle method using USP prednisone calibrator tablets. **Internanonal Journal Of Pharmaceuncs**, Malmo, Sweden, v. 1, n. 53, p.35-41, 8 dez. 1988.

XAVIER, M;A;F. Avaliação cintilográfica do esvaziamento gástrico e do trânsito intestinal após cirurgia gástrica. 2013. 87 f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

YUKSEL, N. Comparison of in vitro dissolution profiles by ANOVA-based, model-dependent and -independent methods. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 209, n. 1, p.57-67, Beijin, China, 2014.

ANEXOS

Anexo A - Ficha do aluno

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação



Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial

FICHA DO ALUNO

9139 - 8185398/1 - Ruberlan de Oliveira Santos

Email: ros@usp.br
 Data de Nascimento: 19/12/1979
 Cédula de Identidade: RG - 32539080-0 - SP
 Local de Nascimento: Estado da Bahia
 Nacionalidade: Brasileira
 Graduação: Bacharel em Farmácia - Universidade Guarulhos - São Paulo - Brasil - 2007

Curso: Mestrado
 Programa: Fármaco e Medicamentos
 Área: Produção e Controle Farmacêuticos
 Data de Matrícula: 01/07/2015
 Início da Contagem de Prazo: 01/07/2015
 Data Limite para o Depósito: 02/01/2018
 Orientador: Prof(a). Dr(a). Cristina Helena dos Reis Serra - 01/07/2015 até o presente. Email: chserra@usp.br
 Proficiência em Línguas: Inglês, Aprovado em 01/07/2015
 Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 17/08/2016
 Data do Depósito do Trabalho:
 Título do Trabalho:
 Data Máxima para Aprovação da Banca:
 Data de Aprovação da Banca:
 Data Máxima para Defesa:
 Data da Defesa:
 Resultado da Defesa:
 Histórico de Ocorrências: Primeira Matrícula em 01/07/2015

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 6542 em vigor a partir de 20/04/2013).

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 13/07/2017

Impresso em: 28/12/2017 08:00:49



Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Documento sem validade oficial

FICHA DO ALUNO

9139 - 8185398/1 - Ruberlan de Oliveira Santos

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBF5805-2/1	Delineamento de Experimentos e Ferramentas Estatísticas Aplicadas às Ciências Farmacêuticas	05/08/2015	13/10/2015	90	6	100	A	N	Concluída
EDA6055-1/1	Tendências da Educação Superior no Século XXI (Faculdade de Educação - Universidade de São Paulo)	11/08/2015	16/11/2015	120	0	-	-	N	Pré-matrícula indeferida
FBF5777-3/5	Tópicos Gerais de Fármaco e Medicamentos I	13/08/2015	25/11/2015	45	3	87	A	N	Concluída
FBF5779-2/3	Preparo de Artigos Científicos na Área de Farmácia	04/09/2015	05/11/2015	90	0	-	-	N	Matrícula cancelada
FBF5821-1/1	Tópicos Avançados em Fármaco e Medicamentos (Avanços e Desafios no Desenvolvimento de Sistemas Nanoestruturados para a Liberação Modificada de Fármacos)	23/09/2015	21/10/2015	30	2	100	A	N	Concluída
FBF5784-2/4	Eletroforese Capilar: Princípios e Aplicações na Área Farmacêutica	24/09/2015	25/11/2015	90	6	89	A	N	Concluída
FBF5704-6/4	Análise Espectrométrica de Fármacos	02/03/2016	14/06/2016	150	10	86	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação	
Disciplinas:	0	25	27
Estágios:			
Total:	0	25	27

Créditos Atribuídos à Dissertação: 71

Conceito a partir de 02/01/1997:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.

Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 13/07/2017

Impresso em : 28/12/2017 08:00:49



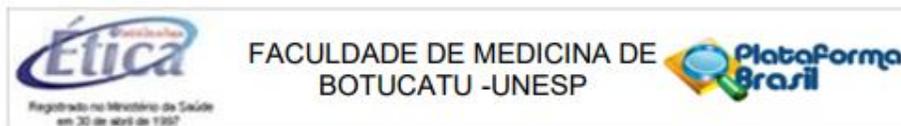
Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9139 - 8185398/1 - Ruberlan de Oliveira Santos

Comissão julgadora da dissertação de mestrado:			
NUSP	Nome	Vínculo	Função
205252	Cristina Helena dos Reis Serra	FCF - USP	Presidente

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 13/07/2017
Impresso em : 28/12/2017 08:00:49

Anexo B - Parecer CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Influência da Motilidade Gastrointestinal no Processo de Desintegração de Comprimidos

Pesquisador: Deivid W. Pires

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 41563015.3.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Física e Biofísica

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 986.486

Data da Relatoria: 15/03/2015

Apresentação do Projeto:

Igual ao parecer 968205 de 28/02

Objetivo da Pesquisa:

Igual ao parecer 968205 de 28/02

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O pesquisador faz detalhamento das possíveis intercorrências ou efeito dos medicamento

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Igual ao parecer 968205 de 28/02

Pesquisador incorporou todas as sugestões listadas na pendência, além de esclarecer os critérios de inclusão e exclusão, bem como recrutará os voluntários.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O TCLE ficou longo, mas fornece todas as informações necessárias ao participante da pesquisa, conforme sugerido ao pesquisador. Está bem claro.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Está em condições de ser aprovado.



FACULDADE DE MEDICINA DE
BOTUCATU -UNESP



Continuação do Parecer: 966.486

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto de Pesquisa APROVADO, deliberado em reunião EXTRAORDINÁRIA do CEP de 16/03/2015, sem necessidade de envio à CONEP.

Ao final da execução deste projeto, deverá ser encaminhado ao CEP na forma de "NOTIFICAÇÃO", o respectivo "Relatório Final de Atividades".

BOTUCATU, 16 de Março de 2015

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador)

Endereço: Chácara Butignoli, s/n
Bairro: Rubião Junior CEP: 18.618-970
UF: SP Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608 E-mail: capellup@fmb.unesp.br