Maria Fernanda Coelho Guedes Baía

Estabilidade e Biodisponibilidade de Penicilinas Semi-Sintéticas

Porto

1988

MARIA FERNANDA COELHO GUEDES BAÍA

Assistente da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

ESTUDO SOBRE ESTABILIDADE E BIODISPONIBILIDADE DE PENICILINAS SEMI-SINTÉTICAS

Dissertação de candidatura ao grau de Doutor, apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto.

Trabalho realizado no Sector de Tecnologia Farmacêutica

Faculdade de Farmácia do Porto

PORTO - 1988

Pelo amor que nos une e alegria que sentimos em troca do tempo que não vivemos ...

A MEU MARIDO

A MEUS FILHOS

*
* *

No campo tão vasto da investigação que dia a dia se abre à Tecnologia Farmacêutica, sente-se a dificuldade e a incerteza de tomar um rumo ...

Tive o previlégio de ter como Professor e Orientador o Exmº. Senhor Prof. Doutor LUÍS VASCO NOGUEIRA PRISTA a quem presto a minha gratidão perene, amizade e também a minha grande admiração pelo seu saber.

* * *

- Ao meu Professor Exmº. Senhor

Prof. Doutor Rui Manuel Ramos Morgado endereço vivos agradecimentos pelos seus conselhos experientes e úteis sugestões, para além de uma ímpar e constante colaboração.

- Ao Dr. José Manuel Correia Neves de Sousa Lobo os meus préstimos pela sua boa camaradagem e inteligente auxílio.

- À Drª. Maria das Dores Oliveira de Sousa Lobo e Dr. Edmundo Caldas Vilar a minha amizade pela sua compreensão e espírito de ajuda.

- Estou grata à Drª. Alda Fernanda Lopes Albuquerque Pinho pela sua consideração e estima.

- Ao Dr. Domingos Ferreira, Dr. Delfim Fernando dos Santos e Dr. Carlos Maurício Barbosa o meu muito obrigada por toda a ajuda no processamento de texto deste trabalho.

- A minha consideração para a Srª. D. Adelina Fiel, Srª. D. Clara Soares, Sr. João Manuel Parente e Sr. Joaquim Ribeiro por todo o trabalho auxiliar que me prestaram e também pela já longa convivência no Sector de Tecnologia Farmacêutica ao qual me orgulho pertencer.

- A minha Saudade ao Exmº. Senhor Prof. Doutor Antônio Costa pela preciosa iniciação na índole das técnicas biológicas e pela sua amizade.

- Ao Exmº. Senhor Prof. Doutor João Carlos Figueiredo de Sousa o meu agradecimento pelos esclarecimentos prestados extensivo ao Sector de Microbiologia pelas facilidades de trabalho concedidas.

- Agradeço igualmente ao Serviço de Análises Clínicas, Sectores de Toxicologia, Química Orgânica, Biblioteca e Iconografia da Faculdade de Farmácia do Porto, pela dispensa de material e meios necessários à execução de algumas técnicas, dados bibliográficos e composições gráficas.

- O meu apreço à simpatia traduzida nas palavras de entusiasmo capazes de atenuar desânimos recebidas da Exmª. Senhora Prof. Doutora Margarida Alice Ferreira, Prof. Doutor Alberto Roque da Silva, Drª. Aida Spínola Roque da Silva e Drª. Isabel Cardoso. Na mesma linha de pensamento inscrevo os meus grandes amigos Senhora D. Alice Gil Conde, Maria Fernanda Calado Gomes Abrunhosa e Dr. José Antônio da Silva Coelho.

- Ao Instituto Pasteur de Lisboa, Laboratórios Sánitas e Atral a minha obrigação sincera pela dispensa gratuita de matérias-primas.

- Pela colaboração em dados bibliográficos prontamente concedida sempre que solicitada aos Serviços de Biblioteca dos Laboratórios Bial, Atral, Andrade, Luso-Fármaco, Faculdade de Farmácia de Coimbra, Faculdade de Medicina do Porto, Departamento de Química da Faculdade de Ciências do Porto, Centro de Citologia do Porto, Ordem dos Farmacêuticos (Lisboa), presto os meus agradecimentos.

- Aos voluntários que me auxiliaram no ensaio clínico realizado, agradeço a sua boa vontade.

Ao Instituto Nacional de Investigação Científica agradeço os subsídios concedidos para a realização deste trabalho, o qual constituiu uma das linhas de acção do Centro de Tecnologia do Medicamento, e que foi efectuado no Sector de Tecnologia Farmacêutica da Faculdade de Farmácia do Porto, dirigido pelo Professor Catedrático Doutor Luís Vasco Nogueira Prista.

A minha dedicação à FACULDADE DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE DO PORTO e os meus respeitos aos membros da Assembleia de Representantes, Conselho Directivo, Conselho Científico e Conselho Pedagógico.

Os antibióticos distinguem-se dos outros medicamentos pelo facto do seu alvo ser um ser vivente que obedece a regras próprias de multiplicação, com poder patogénico, que possui processos complexos e evolutivos capazes de lhe conferir a possibilidade de resistência à acção do medicamento dirigido contra si.

Continua a ser actual e com contribuição válida todo o estudo sobre antibioterapia ... . Ainda hoje os β-lactâmicos ocupam o primeiro lugar na utilização de antibióticos.

Na década de 70 as Penicilinas de largo espectro ocuparam 32% de utilização do total de antibióticos na Noruega seguindo-se outras Penicilinas, Aminoglucosídeos e Cefalosporinas.

Na Grã Bretanha, segundo uma revisão bibliográfica de 1984 sobre o tema "Uso e abuso de antibióticos" o grupo mais utilizado foi o das Penicilinas de amplo espectro (26-36%) seguido de outras Penicilinas e Cefalosporinas, não se utilizando praticamente nada os Aminoglicosídeos.

Em Espanha a proporção de utilização de antibióticos nos hospitais oscila entre 25 e 50% do total da medicação. Uma publicação de 1987 referindo um estudo regional de 1983 apontava também as Penicilinas de largo espectro como as mais utilizadas em doentes hospitalizados (52% do total dos antibióticos) a seguir os Aminoglicosídeos (16%), Cefalosporinas (11%) e Penicilinas de reduzido e médio espectro (9%). A Amoxicilina e Ampicilina são os dois antibióticos de mais ampla utilização, explicada pela baixa toxicidade potencial e amplo espectro. A Penicilina G e a Cefoxitina ocupam o 5º e 6º lugares respectivamente.

Para termo da comparação foi adoptada a DDD - dose diária/100 camas/dia pelo Nordic Council on Medicines.

Sobre prescrições pediátricas ambulatórias foi realizado um estudo por amostragem em farmácias durante um ano numa cidade espanhola. Os resultados extrapolados referem o aparecimento da Amoxicilina só ou com outros fármacos em 35,97% das receitas e a via oral prescrita em 72,81%.

Num Hospital Português (Cascais) durante o ano de 1985 os antibióticos β-lactâmicos representaram 86,5% (em peso) dos antibióticos utilizados. Por via oral, o antibiótico mais utilizado foi a Ampicilina seguido da Cefradina, Amoxicilina e Cefaloxina. Por via parentérica foi a Cefoxitina em primeiro lugar logo seguida de Ampicilina, Penicilina G e Clindamicina.

Quando efectuada a análise de custos, as Cefalosporinas representaram 62,8% do total e as Penicilinas e derivados só 8,9%.

Para averiguar as tendências de evolução de consumo, da comparação com o ano anterior em relação às camas ocupadas concluiu-se que o consumo aumentou 4,7% de antibióticos em peso e 61,4% em custos.

Os dados publicados sobre a utilização de antibióticos revelam a preocupação em melhorar a eficácia e reduzir os custos.

Cada penicilina é dotada de poder intrínseco de actividade, sensibilidade ou resistência às β-lactamases e largura de espectro específica. Tem qualidades para debelar grande número de infecções bacterianas quando a decisão clínica é correcta.

Para além do campo farmacológico, cumpre saber aproveitar as propriedades dos fármacos e apersentá-los em formulações estáveis, com boa dis-

ponibilidade e agradáveis para o doente, resultando assim formas farmacêuticas eficazes.

A este respeito ainda não se encontram esgotadas as possibilidades das penicilinas semi-sintéticas, bem como os factores influentes na qualidade de cada forma farmacêutica, e cujo estudo a seguir se apresenta.

I - INTRODUÇÃO

1. PENICILINA G - USO INJECTAVEL
1.1. TENTATIVAS GALENICAS ORAL E RECTAL
1.2. SUPOSITORIOS E OVULOS
1.3. FORMAS DE USO EXTERNO - POMADAS E CREMES
1.4. OUTRAS FORMAS FARMACEUTICAS
1.4.1. COLIRIOS
1.4.2. AEROSSOLES
1.4.3. POS
1.4.4. ADESIVOS E GASES
2. PENICILINA V
2.1. PREPARAÇÕES FARMACEUTICAS DE PENICILINA V
2.1.1. CAPSULAS
2.1.2. COMPRIMIDOS
2.1.3. SUSPENSÕES ORAIS
2.1.4. XAROPES
3. PENICILINAS SEMI-SINTETICAS - 6-APA
3.1. DESENVOLVIMENTO DAS PENICILINAS SEMI-SINTETICAS
3.1.1. PENICILINAS ANALOGAS A PENICILINA V
3.1.2. DERIVADOS ISOXAZOLIL
3.1.3. AMINOPENICILINAS
3.1.4. PENICILINAS ANTIPSEUDOMONAS
3.1.5. PENICILINAS RESISTENTES AS β-LACTAMASES
3.1.6. AMDINOPENICILINAS
4. OUTROS ANTIBIOTICOS β-LACTAMICOS
4.1. CEFALOSPORINAS
4.2. OUTROS INIBIDORES DE β-LACTAMASES
4.3. ACIDO OLIVANICO E TIENAMICINAS
4.4. β-LACTAMICOS MONOCICLICOS
5. OS RISCOS E EFEITOS SECUNDARIOS DAS PENICILINAS
5.1. OS DETERMINANTES MAIORES
5.2. OS DETERMINANTES MENORES

II - ESTUDO DA ESTABILIDADE DE SUSPENSÕES ORAIS DE AMINOPENICILINAS

1. INTERESSE
2. CONSIDERAÇÕES SOBRE A ESTABILIDADE
2.1. ENSAIOS PRELIMINARES
2.1.1. ESTUDO DA ESTABILIDADE DA CICLACILINA EM MISTURAS SOLIDAS - VARIAÇÃO DO pH, DA ABSORVENCIA E DO TEOR EM CICLACILNA
2.1.2. MATERIAL E METODOS
2.1.3. RESULTADOS
2.1.4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES
2.2. ESTUDO DA ESTABILIDADE DA CICLACILINA, AMOXICILINA E AMPICILINA EM SUSPENSÃO AQUOSA EXTEMPORANEA - EFEITO DA TEMPERATURA NA CONSERVAÇÃO
2.2.1. MATERIAL E METODOS
2.2.2. RESULTADOS
2.2.3. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES
2.3. CICLACILINA EM SUSPENSÃO NÃO AQUOSA

III - ESTUDO DA ESTABILIDADE E ACTIVIDADE DE COLIRIOS DE CICLACILINA

1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE COLIRIOS
1.1. O USO DE CONSERVANTES
2. ESTUDO DA ESTABILIDADE DE UMA SOLUÇÃO DE CICLACILINA PARA COLIRIOS - INFLUENCIA DA TEMPERATURA, pH E FORÇA IONICA
2.1. MATERIAL E METODOS
2.2. RESULTADOS
2.3. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES
3. ESTUDO DO PODER ANTIBIOTICO DA SOLUÇÃO DE CICLACILINA EM PRESENÇA DE CONSERVANTES
3.1. MATERIAL E METODOS
3.2. RESULTADOS
3.3. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

IV - ESTUDO DA ABSORÇÃO GASTROINTESTINAL DA CICLACILINA - INFLUENCIA DO CONTEUDO GASTRICO, ADJUVANTES E SEXO

1. CONSIDERAÇÕES SOBRE A ABSORÇÃO GASTROINTESTINAL
2. MATERIAL E METODOS
3. RESULTADOS
4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

V - ESTUDO DA ABSORÇÃO RECTAL DE AMINOPENICILINAS

1. CONSIDERAÇÕES GERAIS
2. A ESCOLHA DO EXCIPIENTE PARA SUPOSITORIOS
3. O EFEITO DOS TENSIOACTIVOS NA ABSORÇÃO RECTAL
4. PROBLEMAS RELATIVOS AO ENVELHECIMENTO DOS SUPOSITORIOS
5. MATERIAL E METODOS
6. RESULTADOS
6.1. RESULTADOS DA EXPERIMENTAÇÃO EM ANIMAIS
6.2. RESULTADOS DA EXPERIMENTAÇÃO EM HUMANOS
6.3. RESULTADOS DA CONSERVAÇÃO DOS SUPOSITORIOS EM DIVERSAS CONDIÇÕES DE ARMAZENAGEM
6.3.1. IMPORTANCIA DA CONSERVAÇÃO DOS SUPOSITORIOS SOBRE AS CARACTERISTICAS BIOGALENICAS
7. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

VI - APENDICES

1. CARACTERIZAÇÃO DOS ANTIBIOTICOS ENSAIADOS
2. ERITROSINA E TARTRAZINA
3. MATERIAIS DE EMBALAGEM
4. MEIOS DE CULTURA

5. MASSA PARA SUPOSITORIOS IV NOVATA
6. MATERIAL E APARELHAGEM

VII - BIBLIOGRAFIA

I – INTRODUÇÃO

I - INTRODUÇAO

1. PENICILINA G - USO INJECTAVEL
1.1. TENTATIVAS GALENICAS ORAL E RECTAL
1.2. SUPOSITORIOS E OVULOS
1.3. FORMAS DE USO EXTERNO - POMADAS E CREMES
1.4. OUTRAS FORMAS FARMACEUTICAS
1.4.1. COLIRIOS
1.4.2. AEROSSOLES
1.4.3. POS
1.4.4. ADESIVOS E GASES
2. PENICILINA V
2.1. PREPARAÇÖES FARMACEUTICAS DE PENICILINA V
2.1.1. CAPSULAS
2.1.2. COMPRIMIDOS
2.1.3. SUSPENSÖES ORAIS
2.1.4. XAROPES
3. PENICILINAS SEMI-SINTETICAS - 6-APA
3.1. DESENVOLVIMENTO DAS PENICILINAS SEMI-SINTETICAS
3.1.1. PENICILINAS ANALOGAS A PENICILINA V
3.1.2. DERIVADOS ISOXAZOLIL
3.1.3. AMINOPENICILINAS
3.1.4. PENICILINAS ANTIPSEUDOMONAS
3.1.5. PENICILINAS RESISTENTES AS β-LACTAMASES
3.1.6. AMDINOPENICILINAS
4. OUTROS ANTIBIOTICOS β-LACTAMICOS
4.1. CEFALOSPORINAS
4.2. OUTROS INIBIDORES DE β-LACTAMASES
4.3. ACIDO OLIVANICO E TIENAMICINAS
4.4. β-LACTAMICOS MONOCICLICOS
5. OS RISCOS E EFEITOS SECUNDARIOS DAS PENICILINAS
5.1. OS DETERMINANTES MAIORES
5.2. OS DETERMINANTES MENORES

I - INTRODUÇÃO

As substâncias designadas como "ANTIBIOTICOS" incluem os agentes naturais produzidos por microrganismos, os quais sâo susceptíveis de inibir o crescimento de determinados germes, sendo muitos deles capazes de lhes bloquear o metabolismo, promovendo a sua destruição. Também,num sentido lato e numa concepçâo actual, essa designaçâo compreende compostos de síntese e mesmo produtos naturais obtidos a partir de vegetais superiores que exibem aquelas propriedades.

Algumas dessas substâncias têm maior afinidade para as células do organismo humano do que para as células microbianas, pelo que estâo excluídas do uso clínico. Pelo contrário, outras há que manifestam uma maior afinidade para com as células de germes determinados. Quanto maior for essa diferença (margem terapêutica), maior será a segurança do antibiótico e menos intensos e frequentes serâo os efeitos colaterais resultantes da sua utilizaçâo. A afinidade antibiótica para com os germes depende em muitos casos da existência nestes de características morfológicas ou de processos metabólicos diferentes dos do homem.

Da imensa variedade de antibióticos hoje obtidos, foi nas três últimas décadas que surgiu o conhecimento da maioria, mas a acçâo antibiótica era já sentida há longo tempo. Foi prática dos monges da Idade Média o tratamento de feridas com queijo Roquefort, rico em Penicillium. Lavradores da Ucrânia curavam doenças infecciosas com a aplicaçâo de "er-

vas" provenientes do efeito da humidade do pâo guardado em subterrâneos húmidos. Em 1897 em França, Duchesne apresentou uma tese intitulada "Contribuição para o estudo da concorrência vital nos microrganismos: antagonismo entre bolores e micróbios".

Pasteur foi o promotor da ciência da microbiologia com as suas descobertas ligadas aos microrganismos e seus efeitos nos processos de fermentação e nas doenças. Lançou as bases para a introdução de medidas asséptica e antissépticas na prática cirúrgica.

No final dos anos 20 foi a observação feita por Alexander Fleming duma placa de cultura de estafilococos contaminada por um fungo, onde se notava a lise das colónias bacterianas em volta da área de desenvolvimento do fungo, que levou ao conhecimento da Penicilina.

O produto obtido através duma fermentação dos Penicillium notatum ou chrysogenum era uma mistura de substâncias de estrutura química próxima, mas não diferenciada. Este produto, pó amarelo, não cristalino e impuro, era dotado, segundo o próprio Fleming, de poderosa acção antibacteriana que inibia o desenvolvimento dos estreptococos, estafilococos, pneumococos, gonococos e dos microrganismos causadores da difteria. Não inibia os microrganismos do grupo coliforme-tifóide.

Esta descoberta não teve outras consequências até 1940. Foi necessário esperar por esta data, para que fossem confirmadas no ratinho e depois no homem as propriedades antibacterianas da penicilina e para que fossem realizadas a extracção e purificação, mas em condições tais que a penicilina obtida era de qualidade medíocre, quanto ao rendimento e pureza.

A primeira aplicação terapêutica de penicilina realizada pelo próprio Fleming em 1942 foi um sucesso que dicidiu o seu fabrico à escala industrial. No início da década de 40 a pesquisa foi orientada para o isolamento e determinação da estrutura química da penicilina. Sem dúvida que a Guerra

Mundial de 39-45 estimulou os investigadores como Abraham, Chain, Fleicher, Florey, Heatly e muitos outros que foram desviados dos estudos em outros campos para dar seguimento à importante descoberta de Fleming no que respeita às propriedades, aplicaçôes e produçâo de penicilinas, considerada um problema social e económico.

Nos métodos gerais de produçâo (superficiais ou submersos) há numerosos detalhes específicos em todas as fases. Embora com um certo secretismo,todos se relacionam com a manutençâo, germinaçâo e inoculaçâo do organismo produtor em boas condiçôes. Isto obriga à utilizaçâo de meios com os nutrientes (fontes de hidratos de carbono, nitrogénio e elementos minerais) exigidos pelos fungos. Estes desenvolvem-se mais lentamente do que as bactérias estando por isso mais sujeitos a degeneraçôes.

Para a fermentaçâo ocorrer com bom rendimento nâo basta a selecçâo das matérias primas corresponder às necessidades nutricionais, é igualmente importante nâo negligenciar o controlo da temperatura (≈ 24 °C), pH (5-7,5), arejamento estéril com pressâo determinada para prevenir contaminaçôes e agitaçâo a velocidade constante para cada fase.

Para conseguir a formaçâo de um tipo particular de composto misturam-se substâncias precursoras nos meios de produçâo que determinam a cadeia lateral da molécula da penicilina. Na ausência de precursores é produzido o ácido 6-aminopenicilânico.

Para haver a síntese do sistema cíclico β-lactâmico parece ser necessária a presença no meio de L-cistina, L-cisteína e valina (Arnstein e Grant, 1954) ou ácido L-α-aminoadípico, L-cistina e L-valina (Abraham, 1977).

Os processos de extracçâo e purificaçâo da penicilina têm objectivamente vindo a ser melhorados e concorrem para os resultados dos teores mais altos encontrados no final, os quais sâo averiguados por ensaios laboratoriais.

Aquilo que por volta dos anos 45 se chamava penicilina produzida a partir do Penicillium chrysogenum ou notatum era de facto uma mistura de diversas penicilinas. O estudo dos

químicos levou ao estabelecimento da estrutura das penicilinas - derivados tiazolidina - β-lactâmicos de fórmula geral:

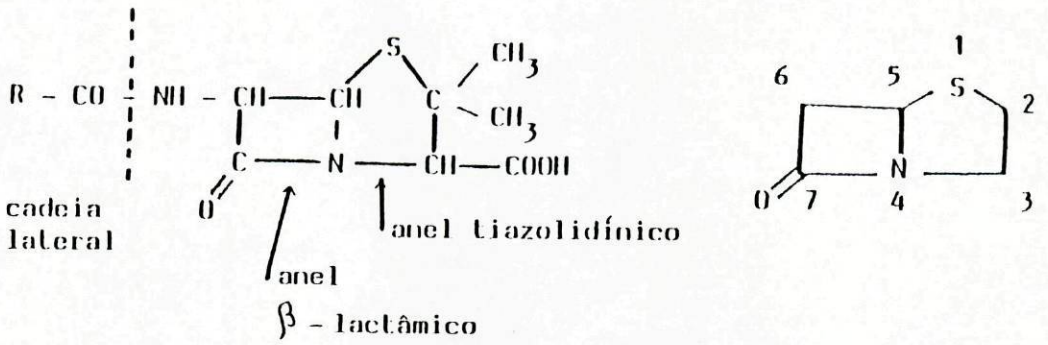


Fig. 1 - Estrutura da Penicilina; núcleo penamo

Em Inglaterra cada substância desta família foi numerada; nos Estados Unidos da América foram designadas pelas letras X, G, F, K. A terminologia americana actual classifica os β-lactâmicos como derivados de um núcleo base.

Penicilina X ou III ——> R = $HOC_6H_4CH_2$ - (p-hidroxibenzilpenicilina)

Penicilina F ou I ——> R = $CH_3CH_2CH{=}CHCH_2$ - (2-pentenilpenicilina)

Penicilina K ou IV ——> R = $CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2$ - - (heptilpenicilina)

A actividade antibacteriana varia com a natureza do grupo R a qual pode ser alterada se o Penicillium se desenvolve na presença de diferentes precursores. Por exemplo, quando estiver presente o ácido fenilacético o Penicillum sintetiza benzilpenicilina - Penicilina G ou II. Quando se adiciona ao meio de desenvolvimento ácido fenoxiacético o produto a extrair é a fenoximetilpenicilina - Penicilina V.

1. PENICILINA G - USO INJECTAVEL

Quando surge um fármaco como a penicilina que revolucione a terapêutica das infecções bacterianas, a Farmácia Galénica apressa-se a resolver os problemas das formas farmacêuticas de modo que a sua aplicação, com acção mais rápida ou retardada, contribua com a maior eficácia no desvaste das doenças infecciosas.

As primeiras formas farmacêuticas de penicilina aplicadas na terapêutica foram os injectáveis (I.V., I.M., subcutâneos) tanto em doses unitárias como em contínuo, procurando averiguar-se os níveis sanguíneos de manutenção (1). De princípio empregou-se penicilina G em solução fisiológica de cloreto de sódio estéril, numa concentração de 5000 U/ml (*) de pH 6,3-6,8.

Verificada a instabilidade da penicilina procurava-se por várias formas obter soluções que pudessem conservar-se pelo menos alguns dias a 25 °C sem perda de actividade e averiguar também a qualidade da embalagem,inclusivé da penicilina no estado sólido. Daí a escolha do valor de pH (≈6,5) apropriado e proporção de soluções tampão e ainda a natureza do vidro para o acondicionamento (2,3).

Para I.V. e intrapleural utilizavam-se soluções de1000 U/ml podendo ir até 5000 U/ml. As soluções eram preparadas todos os dias, preferencialmente, ou utilizavam-se as que eram conservadas abaixo de 10 °C, até ao limite máximo de uma semana (4).

Dado que a penicilina se elimina rapidamente pela urina, para que a sua acção seja melhor exercida estando mais tempo em contacto com os germes idealizou-se uma infusão contínua I.M. de concentração 100 a 500 U/ml e 25 a 50 U/ml

---

(*) - Uma Unidade Internacional é equivalente à actividade de 0,6 μg de penicilina G sódica cristalizada pura para a qual foi assente uma potência de 1667 unidades por miligrama.

I.V.. Devido aos inconvenientes da infusão contínua e para evitar o sacrifício do paciente submetido à administração injectável de 3 em 3 horas durante o tempo necessário, mas impondo-se conseguir um nível terapêutico no sangue, chegou-se às formas de acção prolongada. Sendo a absorção mais lenta, o nível sanguíneo não alcança valores muito altos, mas são suficientes para a acção destruidora dos microrganismos.

Foi tentada a administração do antibiótico por via subcutânea profunda em veículo aquoso e oleoso. A absorção era mais lenta, mas o perigo de abcesos, irritação e dor surgia, além dos resultados serem um tanto irregulares. Max Trumper e Gershon Thompson puseram em prática a colocação de gelo durante 2 horas na região da aplicação do injectável. Observaram que com esta técnica se prolongavam os efeitos da penicilina, pois a absorção era retardada pela diminuição da circulação na referida zona (5).

Outro mecanismo levado a efeito semelhante foi experimentado por Roufanov e seus colegas, diminuindo a permeabilidade vascular por intermédio de um injectável de piramido ao mesmo tempo que o da penicilina. Desta maneira conseguiram-se elevadas concentrações após administração e ainda níveis terapêuticos consideráveis até 24 horas (6).

A substituição do soro fisiológico por sucedâneos do plasma como dissolventes da penicilina foi procedimento do qual resultou o registo de uma patente sueca por Thulin em 1948 - uma solução de acção prolongada estável de penicilina em dextrina a 20%.

Em França, Durel e col. utilizaram soluções coloidais aquosas concentradas de polivinilpirrolidona (25%) como dissolvente do penicilato G sódico cristalizado conhecido pelo nome comercial de "Subtosan-rectar". Paralelamente ao efeito pretendido, após teor elevado na primeira hora e duração apreciável do efeito bacteriostático,aponta-se o inconveniente da administração de grandes volumes nos casos de infecções graves.

Para atenuar a rápida eliminação da penicilina do orga-

nismo recorreu-se ao emprego de substâncias retardadoras da eliminação renal. A penicilina perde-se, não só por filtração glomerular (20%), mas também pelos túbulos contornados (80%) em relação à clearance de 750 a 1100 ml por minuto. Se se reduz ou inibe a secreção tubular, resultará que a cada dose de penicilina corresponderão níveis sanguíneos altos e prolongados. Para tanto, a administração de suspensões em veículo oleoso foi uma hipótese posta em prática por indicação de alguns autores, havendo outros que preconizaram o emprego simultâneo de substâncias que, sendo eliminadas também pelo rim, originam, por mecanismo competitivo, o aumento do tempo de semi-vida biológica do antibiótico. Entre estas substâncias citam-se os sais do ácido p-amino-hipúrico, o probenecide e a caronamida. Esta última pode ser empregada sob a forma de comprimidos por apresentar boa absorção gastrointestinal e ser pouco tóxica.

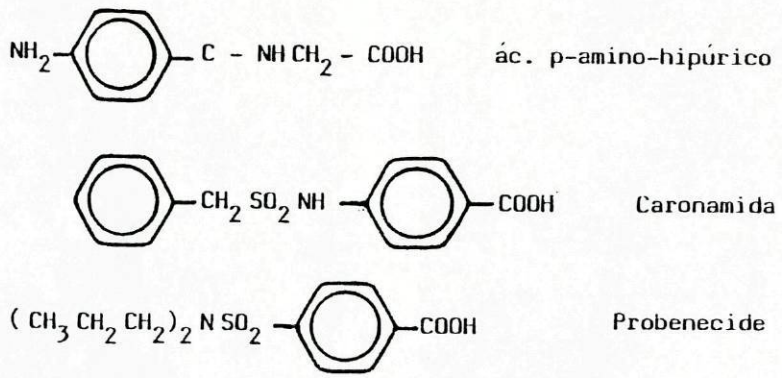


Fig. 2 - Substâncias competitivas na eliminação da penicilina

A associação do antibiótico com benzoato ou sulfamilato de sódio traduz outra maneira de viabilizar o prolongamento da acção da penicilina que consiste em inibir a penicilinase, fermento que a destrói (7).

J. Freund e K. J. Thompson ensaiaram a administração de penicilina em forma de emulsão de tipo A/O, na qual a fase

interna era constituida por solução de penicilina em soro fisiológico e a fase externa por óleo de amendoim adicionado de derivados do colesterol. Comparando a absorção do antibiótico destas preparações com iguais doses de penicilina em solução salina, observou-se atraso de absorção correspondente à forma heterogénea.

No Hospital de Santa Maria em Lisboa foi prática clínica o uso de uma fórmula cuja fase oleosa era constituída por azeite, lanolina, cera, colesterol e clorobutanol.

A conservação da actividade destas preparações extemporâneas mostrou-se muito precária. O seu uso decaíu rapidamente e foram, por consequência, abandonadas (8).

A influência da natureza do veículo sobre a estabilidade do antibiótico em solução ou suspensão, bem como a sua difusão após a aplicação injectável, interessou alguns investigadores o suficiente para a realização de trabalhos in vitro e in vivo. Os resultados obtidos permitiram concluir que os veículos que proporcionam melhor difusão para a penicilina não coincidem com os de melhor estabilidade. Comparando o comportamento de outros tipos de antibióticos ensaiados não se podem estabelecer com firmeza regras gerais nem proporções seguras para obter boa estabilidade. Só após o estudo caso a caso se pode assegurar melhor a validade da medicação (9,10).

Foi sem dúvida o emprego de suspensões de penicilina em excipientes com base em azeite ou óleos adicionados de ceras que predominou largamente no capítulo da acção prolongada (11). Uma só aplicação da conhecida fórmula de Romansky (300 000 U de penicilina cálcica amorfa ou penicilina sódica ou potássica cristalizadas em 1 ml de excipiente que contém 4,8% de cera de abelhas em óleo de amendoim refinado) era suficiente para proporcionar níveis de penicilina no sangue clinicamente eficazes durante 7 a 12 horas (12). A quantidade de cera não ultrapassando os 4,8% evita a necrose muscular; a acção da cera branca assegura a estabilidade da suspensão e uma lenta difusão do antibiótico no organismo. A

fórmula inicial de Romansky sofreu detalhadas modificaçôes dando como consequência prescriçôes na U.S.P. XII (1947) e na Br. Ph. (1948) de suspensôes oleosas de penicilina cálcica, sódica ou potássica cristalizadas para aplicaçâo I.M.. A F.D.A. apontava o óleo de rícino com 3% de cera branca para veículo desta forma farmacêutica, acrescentando que ele nâo deveria conter mais que 1% de humidade.

A imposiçâo na actividade da penicilina empregada era de pelo menos 750 e 900 U/mg para as preparaçôes de 200 000 e 300 000 U/ml, respectivamente. O acondicionamento era feito em recipientes estéreis de 20 ml de capacidade conservados até 10 ou 12 meses à temperatura ambiente conforme se tratava de penicilina cristalizada ou nâo.

Estas preparaçôes apresentavam excessiva viscosidade, pelo que criavam dificuldades na sua administraçâo, obrigando a aquecimento prévio e à escolha de agulhas grossas para a sua aplicaçâo, nâo estando esta, mesmo assim, isenta de inconvenientes: manifestaçôes dolorosas, aparecimento de abcessos e alergias, sem contar já com o problema da limpeza de seringas e agulhas. Estes inconvenientes foram superados, pelo menos parcialmente, com a obtençâo de preparaçôes fluidas à temperatura ambiente. Tais suspensôes foram recebidas com interesse.

Ungar propôs a substituiçâo do óleo de amendoim por oleato de etilo que proporciona uma mistura mais fluida e de manipulaçâo mais fácil. Dowling e col. investigaram as preparaçôes com azeite e cera, de modo a conseguir fluidez à temperatura ambiente e sem necessidade de aquecimento prévio para aplicaçâo.

Atendeu-se também ao tamanho das partículas por ser notada a influência da sua dimensâo na eficácia das preparaçôes, pois só com determinada continuidade aumenta o nível e a permanência de penicilina no sangue. A exigência da F.D.A. para estes preparados fluidos era de que pelo menos 50% do peso total do antibiótico fosse formado por partículas com mais de 50 micra de diâmetro. Chandler e col. descreveram um

método microscópico para determinação da granulometria (13).

Suspensões oleosas de penicilinas adicionadas de substâncias hidrófilas como o sulfato de magnésio mono-hidratado foram propostas com base na competição entre o sal de magnésio e a penicilina para absorver água dos tecidos, resultando daí o retardamento da dissolução e posterior difusão.

Outro procedimento para minimizar as desvantagens dos veículos óleo-cirosos consistiu na substituição da cera por um produto vasoconstritor. O emprego associado de adrenalina com o objectivo de prolongar a permanência de penicilina no organismo foi trabalho de Fisk, Foord e Alles e mais tarde de Ercoli e sua equipa, que utilizaram uma fórmula que se mostrou adequada, assim constituída:

Penicilina K cristalizada	300 000 U
Adrenalina	0,3 mg
Oleo vegetal .....q.b.p.....	1 ml

Estes últimos autores injectaram intramuscularmente 200 000, 300 000 e 600 000 U de penicilina e quantidades de adrenalina compreendidas entre 0,1 e 0,4 mg. Medida a pressão sanguínea aos pacientes submetidos a tal administração, não observaram em nenhum caso efeitos atribuíveis a uma acção vasoconstritora da adrenalina. A injecção intramuscular e sobretudo subcutânea produziu níveis notavelmente altos até 16 e 24 horas. A suspensão guardada ao abrigo da luz devido à presença de adrenalina apresentava uma estabilidade de 18 meses à temperatura ambiente.

Também foram ensaiadas soluções aquosas contendo vasoconstritores (adrenalina, efedrina, cloridrato de neo-sinedrina) concentradas em glucose, soluções coloidais de gelatina ou alginato de sódio. Não ofereceram, porém, vantagens de nota (14,15).

Ambrosio e Maggiora propuseram a pectina para substituir os óleos e ceras nos injectáveis de penicilina com acção retardada. O nível sanguíneo é menor, mas mantém-se mais

tempo a concentração com poder bacteriostático (24-48 h) (16).

Certos geles tixotrópicos constituídos por substâncias hidrófobas mostraram-se adequados para reter as partículas de penicilina em depósito oleoso fornecendo acção prolongada. É assim que a penicilina G sódica se mantém em níveis terapêuticos durante mais tempo quando em suspensão em óleo de amêndoas com 2% de monoestearato de alumínio do que no mesmo óleo com 4,8% de cera branca (17). Buckwalter e Dickison demonstraram que os óleos vegetais gelificados com 2% de monoestearato de alumínio retardam a absorção parenteral de certos fármacos compreendidos entre estes os sais de penicilina (18).

Pensou-se mais tarde em substituir o sal solúvel por penicilina-procaína obtendo-se uma acção prolongada devido à conjugação do excipiente capaz de retardar a absorção e à insolubilidade da penicilina-procaína (1 molécula de procaína base e 1 molécula de penicilina G).

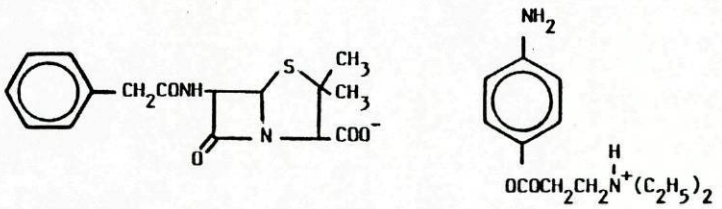


Fig. 3 - Penicilina-procaína

Potência: 900 a 1050 unidades de penicilina por mg.
1 mg representa 1009 unidades de penicilina G

Solubilidade: 1g em 250 ml de água, cerca de 30 ml de álcool e cerca de 60 ml de clorofórmio (U.S.P.).

pH (solução saturada): 5 - 7,5.

Rapidamente inactivada por ácidos e hidróxidos alcalinos bem como por agentes oxidantes.

Para uma dose I.M. de 300 000 unidades obtém-se um ní-

vel máximo de concentraçâo plasmática de penicilina de 1,5 unidades/ml entre 1 a 3 horas após aplicaçâo; cerca de 0,2 unidades/ml até 24 horas e ainda 0,05 unidades/ml ao fim de 48 horas (nível terapêutico mínimo: 0,03 unidades/ml).

A procaína é uma substância apirogénica e atóxica que prolonga a acçâo da penicilina e exerce o seu poder anestésico reduzindo a dor da injecçâo. A penicilina-procaína administra-se intramuscularmente e dada a lenta absorçâo nâo se obtêm de início concentraçôes elevadas de antibiótico no sangue pelo que era recomendado o emprego das chamadas "doses elevadas de choque" empregando concentraçôes de 20 000 a 30 000 U de penicilina que anteriormente vinham sendo utilizadas.

Começaram a circular no comércio formas de suspensôes oleosas e aquosas e também emulsôes A/O extemporâneas onde a penicilina-procaína se suspende na fase interna. Cita-se como exemplo a seguinte formulaçâo:

Cloridrato de procaína ..... 0,04 g
Agua bidestilada apirogénica ..... 2 ml

A penicilina G agita-se neste dissolvente, formando-se entretanto a combinaçâo penicilina-procaína insolúvel. Junta-se seguidamente em veículo gordo:

Monoestearato de alumínio ..... 0,04 g
Oleo de amendoim ..... 2 ml

Imediatamente a seguir à obtençâo da emulsâo injecta-se ao doente.

Posteriormente apareceram novas combinaçôes de penicilina, por exemplo, a penicilina G-procaína com penicilina G cristalizada em suspensâo oleosa com 2% de monoestearato de alumínio. Cada cc contém 300 000 U de penicilina G-procaína e 100 000 U de penicilina G cristalizada.

Em associaçôes de penicilina-procaína com várias sulfo-

namidas verificaram-se situaçôes de antagonismo com a sulfonamida devido à interferência de um dos metabolitos da procaína com a sulfanilamida (19).

A suspensão aquosa deve ser extemporânea obtida com solução isotónica de cloreto de sódio ou água bidestilada. A estabilidade é conseguida à custa de um colóide hidrófilo inócuo que actua como agente suspensor. A forma aquosa, face à suspensão oleosa, tem a vantagem de não apresentar perigo de embolia e maior tolerância por parte do paciente quando administrada. Também o tempo de prolongamento de acção é suficientemente longo, pelo que as formas aquosas destronaram na prática as oleosas, mais perigosas e de manejo clínico mais difícil e meticuloso.

Obtida pela mistura de soluções aquosas de diacetato de N,N'-dibenziletilenodiamina (1M) e penicilina G sódica (2M), entrou também no uso clínico a penicilina G - benzatina. Trata-se de um pó cristalino, branco, o qual dada a sua baixa solubidade proporciona níveis terapêuticos plasmáticos penicilínicos de 1 a 4 semanas.

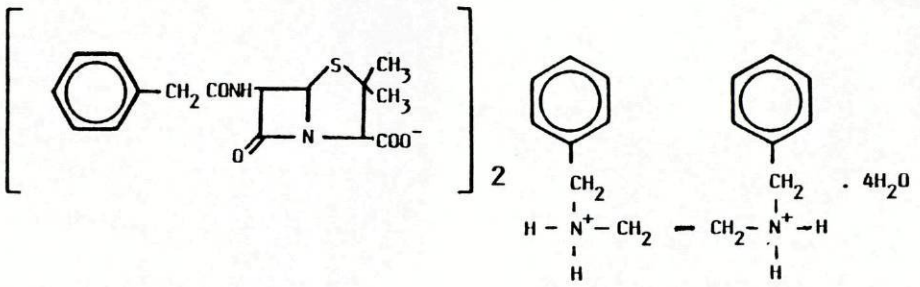


Fig. 4 - Penicilina-benzatina

Potência: 1090 a 1272 unidades de penicilina por mg.
1 g representa 1211 unidades de penicilina G (U.S.P.).

Solubilidade: 0,15 mg/ml.

pH (solução saturada): ≈ 6

Consta em diversa bibliografia o estudo de variedades de penicilina-benzatina e penicilina-procaína procurando compará-las a vários níveis: toxicidade, estabilidade, absorção e mesmo ensaios clínicos segundo programas estabelecidos por Szabo, investigador ligado à preparação da penicilina-benzatina. Vários veículos para uso injectável foram propostos visando um pH compatível (5,5 - 7,5) para suspensões de fácil administração, não dolorosas e de efeito rápido e prolongado (20).

Em Portugal foram comercializadas formas orais e injectáveis na década de 50 às quais eram apontadas vantagens sobre outros derivados penicilínicos, de acção mais prolongada e ausência de efeitos secundários.

No II Congresso Luso-Espanhol de Farmácia realizado em Santiago de Compostela em 1954 foi apresentado um trabalho levado a cabo por farmacêuticos portugueses sobre o "Doseamento da penicilina-benzatínica nos seus preparados galénicos" (21).

Outros complexos, apareceram sem contudo marginalizarem os anteriormente apontados (22):

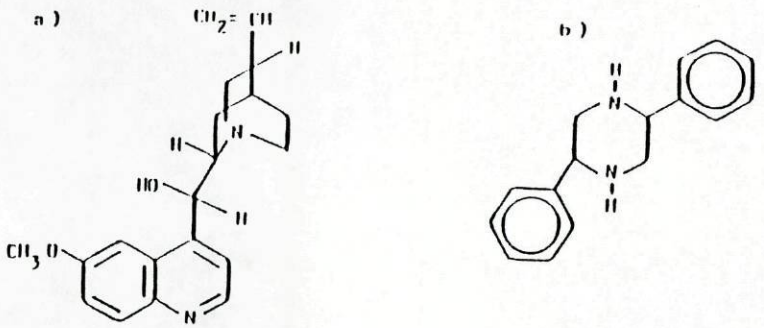


Fig. 5 - a) quinina; b) 2,5-difenilpiperazina

1.1. TENTATIVAS GALENICAS ORAL E RECTAL

A penicilina administrada por via oral é parcialmente inactivada no estômago devido à acidez gástrica e no intestino pela presença de penicilinases oriundas de algumas estirpes bacterianas. A absorção do antibiótico mostra-se irregular. Por essas razões as doses "per os" são mais elevadas relativamente à via parenteral.

Mac Gregor e Long foram os primeiros a falar em administrar a penicilina na forma de pastilhas para infecções da boca e garganta (23). A formulação assenta no uso de penicilina sódica ou cálcica em excipientes com base em gelatinas com xarope simples; gomas, açúcares e água, ou ainda agar, glicerado de amido e xarope comum (24).

Nos Estados Unidos tentaram-se os "chewing-gum" com 10 000 U de penicilina cálcica e goma. Depois de mascar a pastilha elástica durante 7 horas, segundo algumas descrições, ainda se encontra considerável quantidade de antibiótico. Usando penicilina sódica, a quantidade residual já era menor devido à maior solubilidade deste sal. O uso destas pastilhas foi praticado também a nível da infância. A eficácia terapêutica manifestou-se no tratamento da Angina de Vincent,em amigdalites estreptocócicas, faringites, laringites e após amigdalectomia. Os estudos feitos para avaliar a acção da penicilina no sentido de verificar a diminuição do número de espécies bacterianas, incidiram sobre colheitas de saliva cultivadas em agar, contando o desenvolvimento de colónias.

No entanto, de uma maneira geral, não se puderam chamar notáveis os efeitos conseguidos com esta forma galénica. Contribuiram certamente para esse facto o elevado conteúdo em água das formulações e também o não atendimento das condições que favorecem a eficácia, concretamente a tomada do medicamento pós-prandeal entrando em conta com a salivação. Para uma acção meramente tópica na boca e garganta convém menor deglutição, o que proporciona maior tempo de con-

tacto do medicamento com a mucosa bucal. Porém, a lenta velocidade de desagregação contribui para uma acção mais duradoura e está relacionada com os excipientes (os que contêm açúcares sâo menos aconselhados) e com a quantidade de saliva existente, influenciada pela acção sialagoga que os próprios excipientes podem conferir.

Os comprimidos solúveis apresentavam vantagens pela melhor estabilidade e uma dissolução mais lenta na boca.

A F.D.A. e a Br. Ph. prescreveram comprimidos de pelo menos 500 U por comprimido de 1 g fabricados com matrizes com base em açúcares, substâncias corantes e edulcorantes. A título de exemplo apontam-se as seguintes fórmulas de comprimidos já existentes no final da década de 40 (25).

Penicilina sódica	1 000 000 U
Goma arábica desenzimada	50 g
Açúcar cristalizado	800 g
Talco	70 g

Misturar e fazer comprimidos de 1 g.

Sacarose	940 g
Alcool de 70º	q.b.
Eter	200 g
Acido esteárico	10 g
Lactose anidra	50 g
Penicilina sódica ou cálcica	500 000 U

Fazer 1000 comprimidos de 500 U.
Conservação: 12 meses a menos de 5 ºC.

Quanto à preparação de comprimidos, propôs-se a dupla compressão em vez da granulação a húmido do excipiente ao qual se juntaria o antibiótico após secagem. A compressão

por via seca assegura melhor conservação da preparação ainda que as condições não sejam 100% favoráveis. Menos de 0,5% de humidade e acondicionamento em embalagens bem fechadas são condições a respeitar para estas formas farmacêuticas.

No que respeita à absorção é nota-se melhoria, associando à benzilpenicilina substâncias anti-ácidas (citrato trissódico, carbonato de cálcio, fosfato dissódico, etc.) exercendo também um efeito estabilizante sobre o antibiótico. Embora recomendado por alguns, não é aconselhável o bicarbonato de sódio, pois a sua alcalinidade é tal que decompõe a penicilina (26,27). Para maior protecção desta, tanto da acidez estomacal como daquele alcalinizante, Little e Lumb recomendaram a administração da penicilina com ovo, baseados nos resultados clínicos por eles obtidos (28).

Comprimidos e drageias de penicilina-procaína, doseados a 100 000 e 300 000 U foram preferivelmente preparados por via seca.

Ashby e col. afirmaram ser possível a preparação de drageias de sais solúveis de benzilpenicilina por compressão a seco e conservá-las pelo menos 2 anos (29).

Comprimidos efervescentes de penicilina G potássica bem conservados perdem relativamente pouca potência (mantidos a 52 - 56 °C, a perda de potência de um título inicial de 50 000 U era de 4,9% em 4 meses e 5,6% em 12 meses (30).

Os diluentes tais como a sacarose, glucose e lactose serão desaconselhados pela inactivação do antibiótico a curto prazo.

O revestimento gastro-resistente não deu resultados de todo satisfatórios, provavelmente pelo facto de não se chegar a regular o tempo de desagregação de um modo exacto para só permitir a absorção no duodeno (29).

Cápsulas de gelatina dura foram tornadas gastro-resistentes por aplicação de quatro camadas de solução acetónica de acetoftalato de celulose a 8% com ftalato de dietilo a 4%. Resistiram durante pelo menos 2 horas em suco gástrico artificial e desagregaram ao fim de 9 - 24 minutos em suco

entérico artificial. Estes resultados foram conseguidos no Sector de Tecnologia Farmacêutica da Faculdade de Farmácia do Porto (31).

Foltz e Schmmel verificaram que em jejum o nível sérico de antibiótico é mais elevado no caso da penicilina potássica e procaína do que no da penicilina sódica e benzatina.

1.2. SUPOSITORIOS E OVULOS

A terapia antibiótica pela aplicação de supositórios veio a ser praticada, embora com limitada difusão. Isto devido a incertezas quanto ao valor clínico de tal tratamento, motivo de reservas por afirmações contraditórias no que respeita à estabilidade do antibiótico sobretudo no excipiente clássico - manteiga de cacau.

Com efeito, Casano e col., Rodelius, Carvalho e col. constataram que a penicilina é discretamente absorvida a partir da mucosa rectal, aparecendo concentrações eficazes no sangue com permanência em tempo suficiente, embora sempre inferiores aos níveis conseguidos por administração parentérica, considerando doses paralelas. As doses para administração rectal necessitam ser mais elevadas. No caso da penicilina sódica ou potássica são convenientes 500 000 U repetidas de 6 em 6 ou 8 em 8 horas.

Por outro lado, a penicilina-procaína e a penicilina-benzatina entram facilmente na circulação, atravessando a mucosa rectal, resultando níveis altos e prolongados (32, 33).

No que se refere aos aspectos de formulação, os excipientes estudados foram a manteiga de cacau, alguns glicerídeos de ácidos gordos saturados e polietilenoglicois. Ao mesmo tempo estudou-se o poder estabilizante de várias substâncias adicionadas à massa tendo em consideração os trabalhos realizados com soluções aquosas de penicilina (28). Assim, do grupo dos tamponantes procuravam-se os mais capazes

de modificar o pH do meio e/ou tamponarem-no. De entre muitas substâncias com poder antisséptico eram ensaiadas as que actuavam, em princípio, por redução ou impedimento até da produção de penicilinase. Dado que a destruição penicilínica era acelerada pela presença de iões metálicos existentes nas embalagens, era notada conveniente a utilização de compostos fixadores de metais com vista à protecção do antibiótico. O efeito da presença de água e a temperatura de conservação estava também presente nos programas de estudo dos supositórios (34).

Experiências clínicas permitiram adoptar as seguintes doses: adultos - 250 000 U 2 a 4 vezes por dia;
crianças - 125 000 U 2 a 3 vezes por dia.

Os supositórios referidos são de manteiga de cacau e a penicilina é cristalizada. A sua conservação mostrou-se precária (35).

Os óvulos preparados com gelatina glicerinada eram formas totalmente magistrais, com um período de utilização máximo de 3 dias. A F.D.A. inclui óvulos de penicilina sódica, potássica ou cálcica em manteiga de cacau e espermacete, aos quais é imposta uma conservação no frigorífico durante 12 meses.

1.3. FORMAS DE USO EXTERNO - POMADAS E CREMES

A aplicação local de penicilina no caso de infecções cutâneas, feridas infectadas, etc., constituiu um vantajoso meio terapêutico de modo a conseguir <u>in loco</u> uma concentração forte de antibiótico que não era viável por via parentérica.

A veiculação do antibiótico em creme ou em pomada foi cedo apontada como solução para a terapia local externa, embora possam aparecer aspectos desfavoráveis como alergias ou sensibilizações mais ou menos generalizadas (36).

A adenda à Br. Ph. de 1951 permitia o uso das formas cristalinas de sais de sódio e potássio como alternativa aos sais amorfos de cálcio ou potássio englobados em vários tipos de formas dérmicas de diferente composição: em pomadas com excipiente gordo nas quais o antibiótico se encontra na forma de pó microcristalino, hidrossolúvel ou pouco solúvel na água; em solução aquosa dispersa na matéria gorda ou em cremes com o excipiente emulsionado (O/A) onde o antibiótico é posto em solução directamente na fase aquosa, ou por intermédio de hidrótropos.

Dada a grande instabilidade da penicilina G, cedo foram experimentados os excipientes à procura de fórmulas mais estáveis e com maior capacidade de cedência antibiótica. As principais propriedades a exigir aos excipientes para o uso em pomadas compreendem o pH (6-7), ausência de poder oxidante e a possibilidade de esterilização sem variações sensíveis das caracteríticas químicas e físicas (37).

A estabilidade das pomadas de penicilina segundo Tol'tsman foi considerada fraca pelo que preconizava a sua preparação extemporânea e conservação no frigorífico não mais de 5 a 10 dias (38).

Bases anidras contituídas por óleo de amendoim e cera ou vaselina e parafina líquida conservam por mais tempo a actividade antimicrobiana (39). Estas bases nas quais a penicilina se encontra dispersa em partículas sólidas dão uma difusão irregular e descontínua. Pode, porém, tornar-se a difusão mais regular pela adição de pequena quantidade de lanolina que, por hidratação, favorece a dissolução progressiva, do antibiótico em contacto com a pele.

A mistura de hidrocarbonetos saturados, vaselina com 20 a 25% de parafina líquida era apontada como a melhor base para pomadas oftálmicas de penicilina, ao contrário da lanolina e dos álcoois resultantes da sua saponificação que eram desaconselhados por inactivar a penicilina (40).

As pomadas oftálmicas de penicilina aplicadas em recém-nascidos foram consideradas melhores que o nitrato de prata

e mesmo que a penicilina I.M. (41).

A formulação a seguir transcrita, permitindo incorporar soluções de penicilina numa cera sintética, foi estudada comparativamente com outras manipulações com excipientes naturais contendo lanolina.

Solução de penicilina formolada esterilizada, com tampão, correspondente a 1000 U ..... 10 ml
Cera sintética (semelhante aos carbowaxes) ..... 10 g
Parafina líquida esterilizada .....q.b.p..... 100 ml

Obviamente que o período de conservação se mostrou mais longo com excipiente sintético (5 meses), pois não tinha qualquer oligoelemento ou peróxido capaz de alterar rapidamente a penicilina (42).

A preparação da penicilina formolada consiste em juntar 2,5 ml da solução de formol a 2‰ previamente neutralizada a 100 000 U de penicilina. Aquecer a 56 °C durante 30 minutos e repetir este tratamento após 24 horas. Diluir com 2,5 ml de solução tamponada de hipossulfito-boratada. Guardar em ampolas. As soluções conservam-se à temperatura do laboratório durante 9 meses sem variação do seu título inicial (43).

Convém proteger convenientemente as pomadas da humidade, mas, para maior segurança, pode aumentar-se a estabilidade pela incorporação de compostos que absorvam água, como o amido seco de batata, lactose anidra, uma mistura seca de tampão (pH 6,5) constituída por ácido cítrico e fosfato dissódico adicionada na concentração de 1 a 3%.

As bases laváveis constituídas por misturas de polietilenoglicóis, embora excelentes excipientes dermatológicos em geral, mostram-se inactivadoras imediatas para a penicilina, sobretudo quando presentes os PEG 400 e 1500. A adição de catalase a estas bases protege a penicilina da acção dos peróxidos, mais do que em outros antibióticos (neomicina, oxi-

tetraciclina). Porém, a presença de outros antioxidantes, como o ácido ascórbico e metabissulfito de sódio, nâo dá resultados eficazes.

Devido ao bom poder solvente dos PEG face ao celulóide, resinas à base de fenol e formol, PVC e lacas, leva a ser criteriosa a escolha dos materiais de embalagem (44).

Os cremes do tipo O/A contendo penicilina solubilizada na parte aquosa proporcionam uma difusâo regular e contínua de grande quantidade de antibiótico.

Podem efectuar-se estudos de difusâo por diálise em gelose para os antibióticos com alto coeficiente de difusâo como a penicilina, ou diálise em água para os de menor coeficiente de difusâo. A apreciaçâo da cedência antibiótica pode ser efectuada in vivo utilizando animais, ou por experimentaçâo clínica. Estes últimos sâo longos, delicados e mais subjectivos do que os efectuados in vitro (45).

A Br. Ph. (1953) inscreveu uma pomada emulsâo que incluiu o citrato de sódio como tampâo e o clorocresol como conservante, sendo a fase interna constituída por parafina líquida, parafina sólida e cera.

O emprego de agentes tensioactivos (iónicos e nâo iónicos) mostra-se de certa maneira condicionado, devido à eventual interferência na estabilidade do antibiótico e possíveis erros nos doseamentos microbiológicos, levando a aumentos das zonas de inibiçâo (46).

De qualquer modo a conservaçâo de pomadas e cremes hidratados é precária, devido à rápida decomposiçâo da penicilina na fase aquosa.

1.4. OUTRAS FORMAS FARMACEUTICAS

1.4.1. COLIRIOS

Existiam no comércio preparaçôes extemporâneas como os

colírios constituídas normalmente por misturas anidras de benzilpenicilina sódica, substâncias tampão e cloreto de sódio como isotonizante, que no momento do emprego se dissolviam em água esterilizada. O seu período de conservação era de cerca de duas semanas quando as soluções eram mantidas abaixo de 15 °C.

Por indicação do Br. Ph. C. (1949) era associada à benzilpenicilina uma mistura conservante de nipagim e nipasol que se dissolviam em água destilada no momento do emprego. Surgiram propostas de veículos constituidos por uma solução a 70% de PEG 4000 em tampão de Sörensen de pH 8 (47) e uma solução de metilcelulose a 2% que confere maior viscosidade, embora possa ser apontada alguma acção irritante ao espessante sobre o globo ocular (48).

1.4.2. AEROSSOLES

Para as enfermidades das vias respiratórias, e seguindo as experiências com sulfamidas, empregou-se a penicilina em nebulizadores. As partículas de penicilina micronizadas (cerca de 10 μ) dispersas num propelente tipo CCl_2F_2 ou CCL_3F tiveram já grande uso na década de 60 como um dos meios farmacológicos do tratamento da insuficiência respiratória aguda nos doentes pulmonares crónicos e nos indivíduos não comatosos e colaborantes.

A penicilina era associada a fluidificantes e broncodilatadores. Esta via de administração era paralela a outras vias (I.V., I.M.) consoante os casos. A antibioterapia seguida dependia igualmente de situações individuais, conforme a indicação laboratorial era conhecida ou a cobertura antibiótica era cega, pelo que se deitava mão de um antibiótico específico ou dos chamados antibióticos de largo espectro.

1.4.3.POS

Raro é o uso de penicilina pura em pó. São mais vulgares diluições variadas do antibiótico em excipientes anidros e estéreis (cloreto de sódio, citrato de sódio, glucose, licopódio, etc.). É comum a associação da penicilina e sulfamidas (sulfatiazol, sulfanilamida) e proflavina com ou sem óxido de magnésio. Estas misturas são guardadas em frascos de vidro esterilizados e hermeticamente fechados. O período máximo da sua utilização foi, na segunda guerra mundial, para tratamento de feridas.

Em ortodôncia apareceram os "cones dentais" prescritos na F.D.A.. Juntamente com a penicilina cálcica misturava-se sulfatiazol e/ou sulfanilamida.

1.4.4. ADESIVOS E GASES

Utilizam-se soluções concentradas, tamponadas e estéreis ou dispersões coloidais hidrófilas de sais sódicos ou potássicos de benzilpenicilina com os quais se impregnam gazes que posteriormente se secam a baixas temperaturas ou no vácuo e enrola convenientemente.

2. PENICILINA V

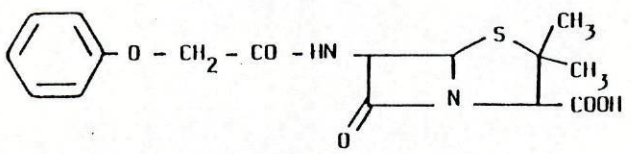


Fig. 6 - α-fenoximetilpenicilina

1 mg de penicilina V corresponde a 1695 U.I.
1 mg de penicilina V potássica corresponde a 1530 U.I.

Uma das penicilinas obtidas por meio da junção de precursor, ácido fenoxiacético, ao meio de fermentação a fim de obter a cadeia lateral apropriada foi a penicilina V (fenoximetilpenicilina). Com excepção desta nenhuma outra penicilina obtida por este método oferecia vantagens em relação à penicilina G. Principalmente a possibilidade de uma absorção após administração oral e a sua estabilidade em meio ácido, só foram descobertas em 1954 pelos trabalhos de Brandl e Margreiter.

Da administração oral da penicilina V resultam níveis hemáticos mais elevados do que com a mesma administração de benzilpenicilina. Todavia, para debelar infecções graves causadas por microrganismos sensíveis à penicilina, é aconselhável o tratamento por via parentérica com soluções ou suspensões de penicilina G.

2.1. PREPARAÇÕES FARMACEUTICAS DE PENICILINA V

2.1.1. CAPSULAS - 125 mg (200 000 U)
250 mg (400 000 U)

2.1.2. COMPRIMIDOS - penicilina V potássica doseados a 200 000 e 400 000 U

2.1.3. SUSPENSÕES AQUOSAS - penicilina V cálcica para uso oral e uso injectável.

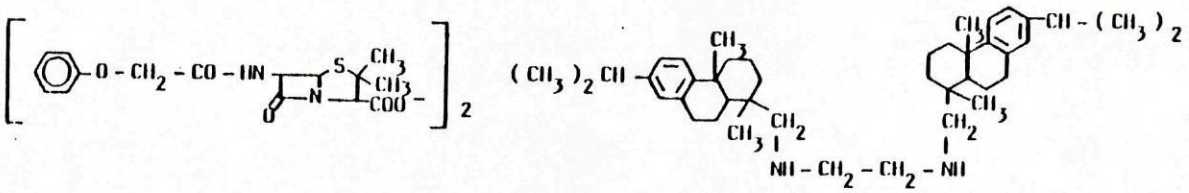


Fig. 7 - idrabamina - fenoximetilpenicilina

Utilizam-se a 300 000 U/5 ml "per os", mistura de N,N'--bis-(deidroabietil)etilenodiamina com pequena quantidade de sais di-hidro e tetra-hidro derivados de penicilina V.

2.1.4. XAROPES - penicilina V - benzatina em suspensão para uso oral.

A estabilidade das suspensões dos sais aminados baseia--se principalmente na solubilidade e coeficiente de degradação do produto dissolvido. A velocidade de decomposição da penicilina em suspensão, para uma dada temperatura e pH, obedece a uma reacção de pseudo ordem zero (k_0), enquanto a parte que se dissolve segue uma reacção de primeira ordem (k_1); a velocidade de decomposição da solução saturada de penicilina será:

$$-\frac{dP}{dt} = k_0 \qquad k_0 = k_1 [Pen]_{sat}.$$

Desde que o sal em solução esteja pelo menos parcialmente dissociado, pode conseguir-se diminuir a sua solubilidade pelo efeito da adição do ião comum (adição de pequenas quantidades de cloridrato de procaína às suspensões de penicilina procaína) (49,50). Deste modo, promove-se o prazo de validade das suspensões, verificando-se, porém, que os ní-

veis hemáticos são inferiores aos conseguidos após administração de sais solúveis (51).

3. PENICILINAS SEMI-SINTETICAS - (6-APA)

Um estudo orientado para a modificação química das penicilinas obtidas por fermentação levou à obtenção de novas penicilinas. As primeiras obtidas por este método foram derivadas da penicilina X, adaptando-se muito bem o grupo p--hidróxido do núcleo do benzeno a uma substituição por halogéneos e por radicais metilo (Coghhill, Stodola e Watchel, 1949). Uma série de penicilinas surgiu então e várias demontraram potência superior à penicilina G. No entanto, o espectro antibacteriano não era mais largo e, por isso, nenhuma foi considerada como melhor para uso clínico.

Durante a década de 50 Batchelor, Chain e outros utilizaram um método análogo para a síntese de novas substâncias: modificaram o grupo p-amino da p-aminobenzilpenicilina mas sem vantagens para a quimioterapia.

As diferentes pesquisas levaram, contudo, à observação de uma discordância total entre as dosagens químicas e biológicas efectuadas no controlo dos meios de fermentação, aos quais não se tinha adicionado o precursor adequado. Este facto permitiu supôr que o núcleo comum das penicilinas - o ácido 6-aminopenicilânico (6-APA) - era produzido em meio de fermentação, mas na ausência total do precursor da cadeia lateral. O 6-APA foi isolado como produto natural proveniente do meio de fermentação (Batchelor e col., 1959) e obtido mais tarde por clivagem enzimática (Kauffmann e Bauer, 1960) ou por hidrólise química da cadeia lateral da penicilina G.

Logo que se obteve o 6-APA toda uma série de objectivos puderam ser propostos, principalmente a possibilidade de aumentar o espectro antibacteriano. As penicilinas G e V eram activas sobre os cocos Gram (+) e (-), mas a sua actividade era fraca para os bacilos Gram (-). Para a Pseudomonas

aeruginosae nenhuma penicilina ou antibiótico existente na altura se mostrava eficaz.

Um outro objectivo das pesquisas sobre o 6-APA foi o da preparação de penicilinas activas sobre os estafilococos penicilino-resistentes. Estes germes apareceram alguns anos após o uso intensivo de penicilina G na clínica. Em 1948, 50% dos germes hospitalares eram já resistentes a esta penicilina. Em 1957, altura do reconhecimento do 6-APA, este número atingia 80% em muitos hospitais. Para além disso, eram igualmente resistentes à maior parte dos antibióticos usados em clínica na época (bacitracina, estreptomicina, tetraciclinas, etc.).

Já em 1944 Kirby atribuiu a resistência dos estafilococos perante a penicilina G à produção de uma penicilinase β-lactamase, que por abertura do anel β-lactâmico da penicilina, conduz à formação do ácido penicilóico que não possui actividade antibacteriana.

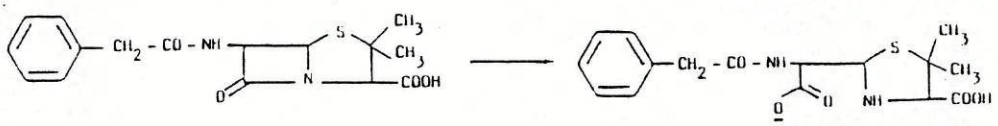


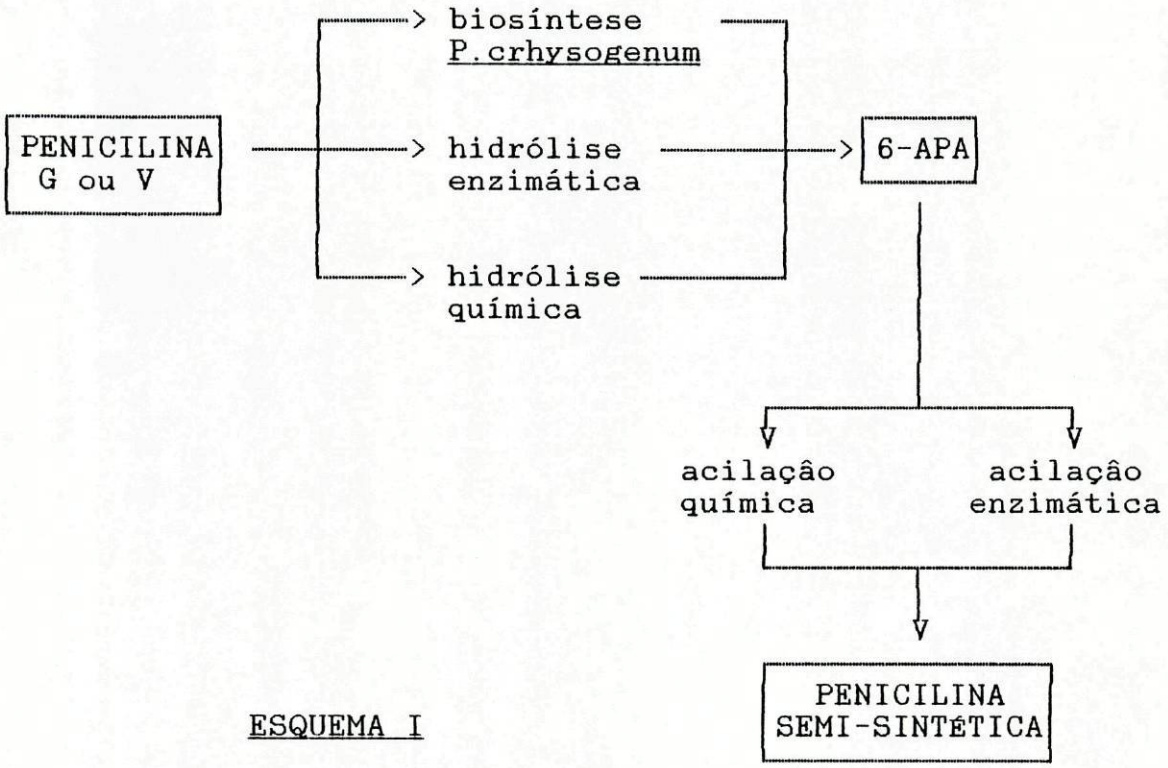
Fig. 8 - Formação do ácido penicilóico

Devido à possibilidade de modificação da cadeia lateral, tentou obter-se penicilinas estáveis face às β-lactamases, que conservassem a sua actividade antibacteriana para os germes resistentes à penicilina. As pesquisas que se seguiram à descoberta do 6-APA conduziram ao desenvolvimento de uma série de penicilinas que respondem aos dois objectivos propostos: alargamento do espectro e estabilidade face a estafilococos produtores de β-lactamase.

As possibilidades básicas para preparação do 6-APA e penicilinas semi-sintéticas podem representar-se esquemáticamente (ESQUEMA I).

A acilação química do 6-APA com cloreto do ácido fenilacético, produzindo benzilpenicilina, foi usada para obter

evidência cromatográfica de 6-APA em amostras de fermentações e em determinações quantitativas do mesmo ácido em culturas fermentadas de Penicillium chrysogenum sem adição de precursores.



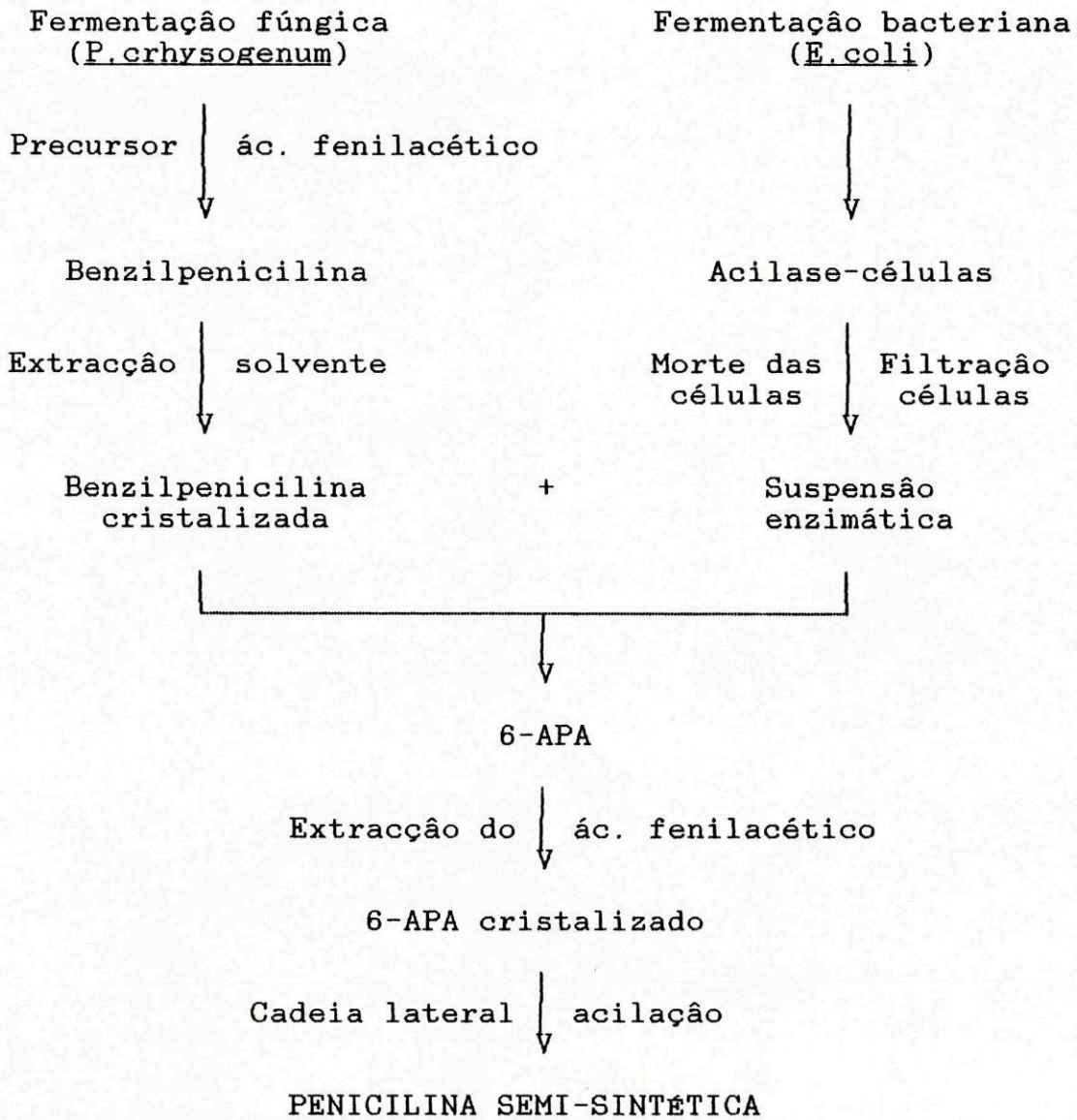
ESQUEMA I

A obtenção do 6-APA por fermentação directa com aquele Penicillium é de baixo rendimento e exige processos de isolamento complicados. Ao contrário, as fermentações e isolamento das penicilinas G e V mostram-se mais rentáveis, além destas duas penicilinas serem base económica e segura para a obtenção de 6-APA necessário para produzir comercialmente penicilinas semi-sintéticas.

As principais hidrólises químicas e enzimáticas das penicilinas em 6-APA são descritas por Carrington (1971). Dois tipos diferentes de enzimas capazes de remover o acilo da cadeia lateral foram detectadas em microrganismos. O primeiro tipo está amplamente distribuído em grande número de

actinomicetos, fungos filamentosos, e certas algas. Promovem a desacilaçâo da penicilina V mais rapidamente que a da penicilina G (pH 10 e 50 °C). O segundo tipo foi só detectado em bactérias, especialmente nas de Gram (-) e hidrolisa a benzilpenicilina (pH 8 e 40 °C). Uma amido-hidrolase de E.coli é usualmente associada com células, mas ocorre também actividade extracelular com outras bactérias.

As acilases penicilínicas sâo enzimas reversíveis; conseguem a ligaçâo das cadeias laterais ao 6-APA (pH 5 e 35--40 °C).



ESQUEMA II

Comercialmente a hidrólise enzimática para a obtençâo mais eficiente de 6-APA a partir de penicilina é normalmente baseada nos dois processos de fermentaçâo, como mostra o ESQUEMA IIdescrito por Carrington.

Um método inventado na Holanda e também descrito por Carrington consiste na preparaçâo de penicilinas com substituintes iminoéter, sendo selectivamente hidrolisadas a 6-APA sob determinadas condiçôes que deixam o anel β-lactâmico intacto.

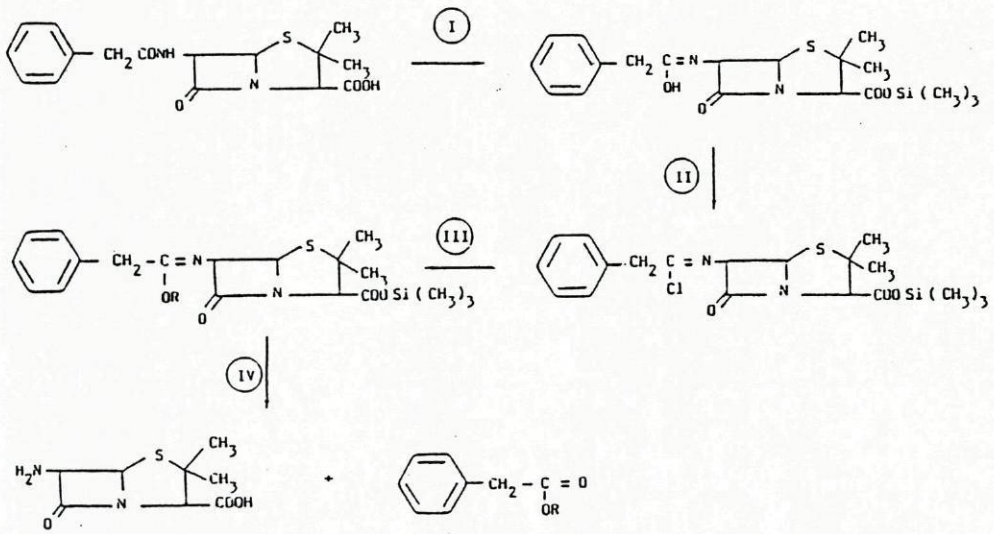


Fig. 9 - Preparaçâo de penicilinas com substituintes iminoéter

As penicilinas naturais sâo primeiramente convertidas no seu éster metilsilícico para protecçâo do grupo carboxílico (I). Por tratamento com percloreto ou oxicloreto de fósforo em presença de um catalisador, obtém-se um iminocloreto (II). Com adiçâo de um álcool, converte-se o iminocloreto no correspondente iminoéter e faz-se simultaneamente a clivagem do éster silícico sem quebrar o anel β-lactâmico (III) e (IV).

Cada etapa destas reacçôes exige condiçôes próprias de

temperatura, tempo e tipo de reagentes empregados. A hidrólise selectiva do iminoéter é altamente sensível, deve ser realizada em meio ácido fraco para originar 6-APA que cristaliza facilmente no ponto isoeléctrico.

Para obter uma penicilina semi-sintética basta promover a acilação química do 6-APA, reacção obtida por junção da cadeia lateral ao núcleo da penicilina.



Fig. 10 - Preparação de uma penicilina semi-sintética por acilação química

A acilação contínua enzimática do 6-APA é também possível. Abbott (1976) referiu o uso de enzimas imobilizados para obter 6-APA a partir de penicilinas e consequentemente chegar às penicilinas semi-sintéticas por acilação do ácido. A desacilação é feita à custa de acilases penicilínicas de E.coli, Bacillus megatherium, B.circulans ou esporos de Fusarium moniliforme. A acilação enzimática do 6-APA tem menor utilidade comercial. No mesmo artigo vem descrito um processo de duas etapas para sintetizar a ampicilina a partir da penicilina G (56).

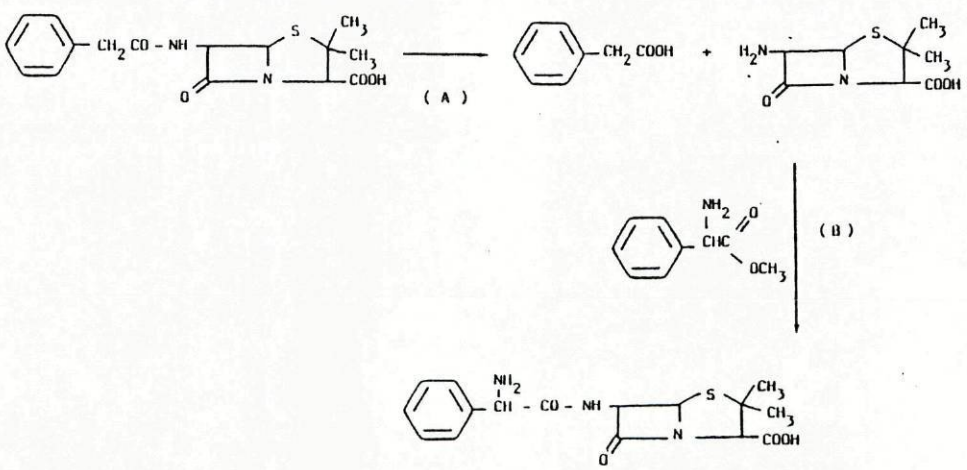


Fig. 11 - Síntese da ampicilina por acilação enzimática

Em (A) uma acilase de E.coli hidrolisa a benzilpenicilina a 6-APA e ácido fenilacético. Antes de se prosseguir para a reacção de acilação, deverão separar-se os dois produtos formados para prevenir a sua junção e evitar nova formação de penicilina G. Este trabalho de separação é desnecessário se for usada a acilase tipo III da Pseudomonas melanogenum para a etapa (B), uma vez que é específica para dadores de fenilglicina, podendo ser adicionada a mistura do 6-APA com o ácido fenilacético, somente a ampicilina é sintetizada.

Num outro processo simplesmente se regista uma etapa: acilação com acilases imobilizadas provenientes da E.coli, B.megatherium ou B.circulans que produzem ampicilina.

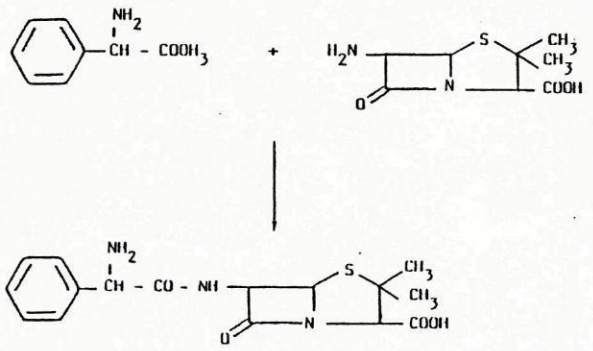


Fig. 12 - Síntese da ampicilina

3.1. DESENVOLVIMENTO DAS PENICILINAS SEMI-SINTÉTICAS

O desenvolvimento das penicilinas passa necessariamente por modificações estruturais de modo a criar melhoria da actividade intrínseca dos fármacos, aumento da resistência à inactivação pelas β-lactamases e melhores propriedades farmacocinéticas.

- Tentaram-se modificações na cadeia lateral acilamino em 6 β.

- Introdução de substituintes em 6 α.
- Modificaçôes do grupo carboxílico em C3 .

3.1.1. PENICILINAS ANALOGAS A PENICILINA V

A introdução de um átomo de oxigénio na cadeia lateral (fenoxipenicilinas) estabiliza o anel β-lactâmico e confere estabilidade à hidrólise em meio ácido. Esta é a sua maior vantagem e desde então começou a falar-se em "penicilinas ácido-estáveis" (52). Todavia, em solução degradam-se mas com uma velocidade menor em relação à benzilpenicilina e outras.

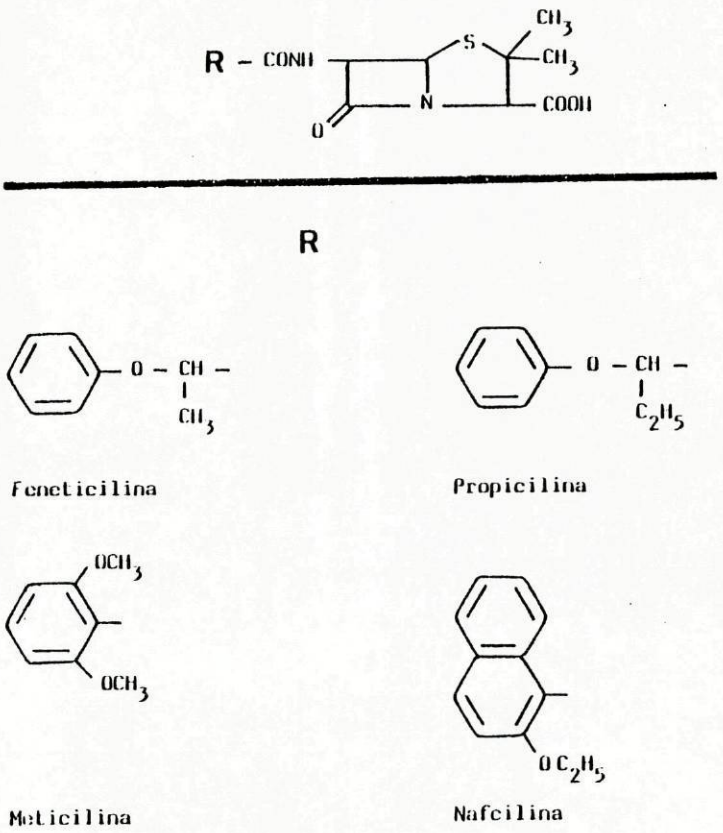


Fig. 13 - Penicilinas análogas à Penicilina V

A primeira penicilina semi-sintética usada na clínica foi a feneticilina seguida da propicilina, análogas à peni-

cilina V em estrutura e propriedades antibacterianas, porém substancialmente melhor absorvidas quando administradas por via oral.

O sal potássico da feneticilina, a 35 °C e a pH 1,5 tem um tempo de semi-vida de 1 hora. O valor desse tempo é de 4 minutos nas mesmas condições para a penicilina G. O pH correspondente à degradação mais lenta é de 6,5, embora a velocidade de degradação não seja apreciavelmente aumentada entre pH 5,5 e 7 usando soluções tamponadas com citrato (53).

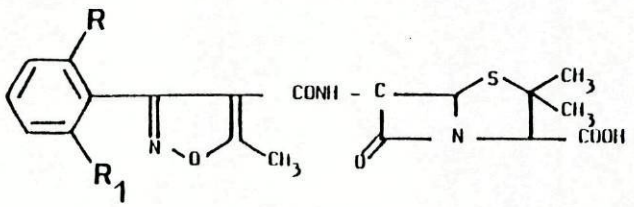
Nos princípios de 1960 surgiu a meticilina, eficaz para o tratamento de infecções causadas por estafilococos penicilino-resistentes. A actividade antibacteriana intríseca da meticilina é mais fraca que a da penicilina G, necessitando por isso de posologias mais fortes. Não obstante, foi uma aquisição de valor para a gama de antibióticos, que por introdução dos substituintes em orto na cadeia lateral da fenilpenicilina se impede o acesso das enzimas ao anel β-lactâmico. A cadeia lateral com impedimento estérico faz a interposição enzima-substrato.

Recentemente, certos autores são ainda de opinião que a meticilina, a ser a escolha de primeira linha para as infecções graves de estafilococos resistentes, não sendo estável em meio ácido é apontada a via parentérica como a única para a sua utilização. Foram realizadas tentativas para aumentar a sua concentração no soro, com administração paralela de probenecide pelo reconhecimento da sua validade específica antiestafilocócica (54).

Cabe aqui mencionar os trabalhos realizados no Departamento de Tecnologia Farmacêutica da Faculdade de Farmácia do Porto sobre a absorção da meticilina nas formas farmacêuticas "cápsulas revestidas" (55) e "supositórios" (56). A experimentação foi realizada em coelhos e no Homem com resultados positivos. As conclusões apontam para a utilização do antibiótico também por outras vias e não somente o emprego em injectável.

3.1.2. DERIVADOS ISOXAZOLIL

A aquisição da meticilina para se opor à inactivação pelas β-lactamases de um modo firme, orientou a investigação para a síntese de penicilinas de estrutura semelhante. De sínteses, estruturadas de modo a unir um heterociclo como o isoxazol ao carbonilo da cadeia acilamina na posição 6, resultaram mais tarde os derivados isoxazolil com maior estabilidade frente às β-lactamases estafilocócicas e melhores propriedades farmacológicas. São eles a oxacilina mais rapidamente metabolizada, a cloxacilina que é excretada 10% na forma de metabolito activo, a dicloxacilina que tem a mais elevada taxa de ligação às proteinas e a flucloxacilina que atinge níveis séricos mais elevados (57).



R	R_1	
H	H	Oxacilina
Cl	H	Cloxacilina
Cl	Cl	Dicloxacilina
Cl	F	Flucloxacilina

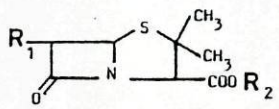
Fig. 14 - Derivados isoxazolil

Podem apontar-se como propriedades comuns desta série a grande estabilidade face à penicilinase estafilocócica, a boa absorção oral, elevada ligação seroproteica e eliminação renal repartida pelas formas não alteradas e pelas metabolizadas.

Em geral o carácter hidrofóbico da cadeia acilamino incrementa a actividade frente a Gram (+) diminuindo-a para os Gram (-). Conseguiu-se alargar o espectro de acção das penicilinas por introdução de pequenos substituintes hidrófilos como OH, NH_2, COOH, SO_3H em posição α na referida cadeia.

3.1.3. AMINOPENICILINAS

Do número de penicilinas com espectro alargado, a ampicilina, aparecida em 1961, é a mais amplamente empregada. Sobre os cocos Gram (+) possui actividade semelhante à da penicilina G; não é no entanto estável face aos estafilococos produtores de penicilinase. Possui actividade importante contra os cocos Gram (-) e maior potência para os bacilos Gram (-) do que a benzilpenicilina.



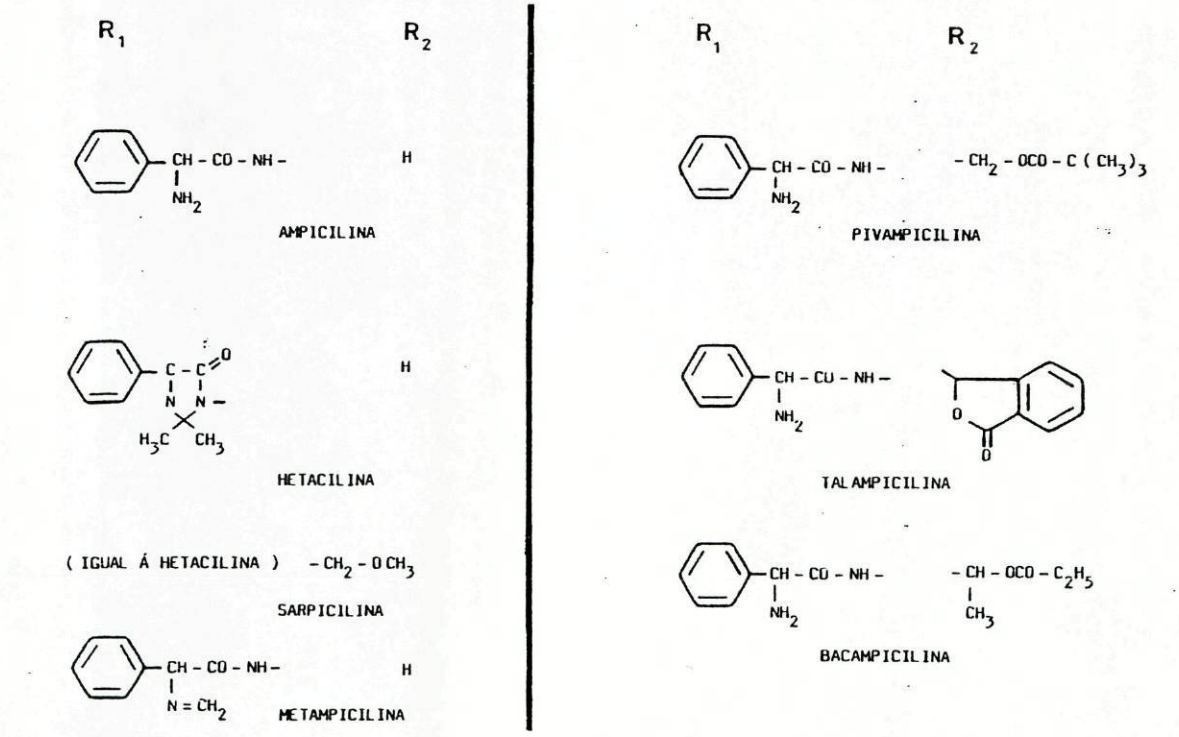


Fig. 15 - Pró-ampicilinas

É estável em meio ácido e absorvida após administração oral, não sendo, no entanto, completa essa absorção. Por isso, um dos objectivos foi desde logo conseguir desenvolver derivados da ampicilina que oferecessem uma melhor absorção com libertação desta penicilina no organismo.

A hetacilina, a sarpicilina e a metampicilina são pró-drogas que libertam in vivo a ampicilina (58,59,60,61,62).

Outra série de pró-drogas são os ésteres da ampicilina: a pivampicilina, a talampicilina e a bacampicilina dão níveis séricos mais elevados em comparação à ampicilina. São rapidamente hidrolisados a ampicilina em presença de esterases séricas provenientes de espécies de mamíferos (63).

Doseamentos em voluntários humanos em ensaios clínicos cruzados com 250 mg de ampicilina e 350 mg de pivampicilina (correspondendo a 250 mg de ampicilina) mostraram que a absorção do éster é equivalente à concentração do pico sérico de ampicilina após administração I.M.. O éster foi absorvido quase quantitativamente, proporcionando um pico sérico triplo em comparação com a dose oral de ampicilina.

Daehne e col. prepararam uma série de aciloximetil ésteres de ampicilina para estudo farmacoquímico selectivo em relação ao aumento da absorção oral.

A relação entre o radical R e a percentagem da fracção disponível no soro 30 minutos após administração oral foi a seguinte:

CH_3 - 89% CH_2CH_3 - 80% $(CH_2)_2CH_3$ - 85%

$CH(CH_3)_2$ - 89% $C(CH_3)_3$ - 22% C_6H_5 -67%

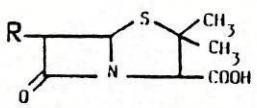
$CH(CH_2CH_3)_2$ - 23%

Tentou-se a modificação do grupo ácido carboxílico por tetrazol mas o resultado obtido foi uma diminuição da actividade.

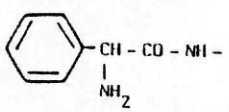
As aminopenicilinas incluem também a amoxicilina, a

azid ocilina, a epicilina e a ciclacilina (64,65,66,67).

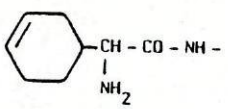
O espectro antibacteriano da amoxicilina é análogo ao da ampicilina no conjunto dos bacilos Gram (+) e (-) ampicilino-sensíveis. Frente aos estreptococos A e B a sua actividade é superior à ampicilina e penicilinas V e G (68). Tem melhor absorção oral, não é influenciada pela alimentação, possui maior actividade intrínseca, melhor difusão e baixa taxa de ligação às proteinas plasmáticas (17%).



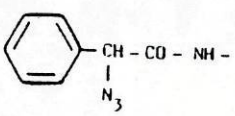
R



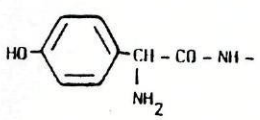
AMPICILINA



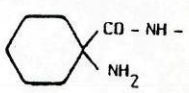
EPICILINA



AZIDOCILINA



AMOXICILINA



CICLACILINA

Fig. 16 - Aminopenicilinas

As betalactaminas têm como propriedade comum a fixação à parede bacteriana, o que conduz a alterações morfológicas. Observadas ao microscópio, estas alterações deixam transparecer certas diferenças quando se trata de um outro antibiótico. É o caso da amoxicilina e da ampicilina. Um estudo de Curtis a propósito do mecanismo de actuação das betalactaminas sobre a E.coli K^{12}, permite actualmente fundamentar em bases bioquímicas a explicação das diferenças morfológigas sofridas pela bactéria em presença da ampicilina e amoxicilina.

A parede interna da bactéria compreende seis proteínas distintas que fixam as penicilinas (Penicillin Binding Protein = PBP), as quais se ligam por covalência a um resto de serina, centro activo das proteinas. Algumas destas enzimas têm funções essenciais na morfogénese, enquanto que outras parecem desprovidas de função específica. Foi possivel mostrar que as PBP 1 estão implicadas na biossíntese dos peptidoglicanos associados ao crescimento celular. A sua inibição conduz à formação de esferoblastos e à lise rápida da bactéria.

As PBP 2 e 3 têm como funções especiais, respectivamente, a manutenção de uma morfologia circular e o processo da divisão celular. O efeito letal para a bactéria parece ser mais rápido por inibição das PBP 1.

As PBP 4, 5 e 6 não parecem estar implicadas no efeito das betalactaminas. A função da PBP 1b não é clara, embora estudos com mutantes pareçam indicar a sua importância na biossíntese da parede celular (69).

Existe, portanto, uma correlação entre a proteína fixada pelo antibiótico e o tipo de alteração morfológica obtido, o que consequentemente conduz a um efeito bactericida mais ou menos rápido de um antibiótico para outro. Assim, a ampicilina que se fixa sobre as PBP 3 dá formas filamentosas que têm lise retardada (na medida em que a concentração de ampicilina se manterá num nível de eficácia durante um espaço de tempo suficientemente longo).

A amoxicilina, que se fixa sobre as PBP 1, dá logo à partida esferoblastos que rapidamente rebentam. Este modo de acção classifica a amoxicilina entre as betalactaminas munidas de potente actividade e efeito muito mais rápido.

A epicilina apresenta características biológicas e químicas semelhantes às da ampicilina: o espectro antibacteriano, as taxas de actividade tanto in vitro como no que diz respeito às infecções experimentais no rato são similares. Só demonstra uma actividade mais marcada in vitro para a Pseudomonas: 50% das estirpes mostram sensibilidade a 100 µg/ml de epicilina, enquanto que 12,5% são sensíveis à mesma concentração de ampicilina. Todavia, é pouco provável que a diferença de actividade in vitro sobre esta estirpe entre a epicilina e a ampicilina possa ter qualquer consequência terapêutica. Tanto uma como outra só exercem um décimo da actividade da carbenicilina e somente um vigésimo da actividade da ticarcilina sobre Pseudomonas.

A azidocilina mostra grande actividade para o H. influenzae e enterococos. Após administração oral encontra-se em concentrações séricas altas. Durante as primeiras 8 horas 70% de α-azidobenzilpenicilina é excretada pela urina. Só uma pequena parte (5-10%) é metabolizada, apresentando o metabolito o mesmo valor de Rf que o da ampicilina quando ambos são analisados por cromatografia em camada fina (66, 70).

A ciclacilina apresenta a vantagem de uma melhor absorção relativamente às suas análogas. O ácido aminado desta penicilina aminoalicíclica é rapidamente reabsorvido e transportado como o são os aminoácidos naturais. A actividade antibacteriana desta penicilina de largo espectro é inferior à da ampicilina: 5 a 20 vezes menos activa in vitro sobre os estreptococos dos grupos A e B e sobre os estafilococos sensíveis à penicilina G e também sobre os pneumococos. É 10 a 20 vezes menos activa sobre os bacilos Gram (-) ampicilinossensíveis. Apresenta-se, porém, mais activa do que a ampicilina sobre os estafilococos produtores de penicili-

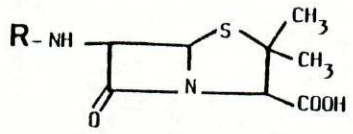
nase, embora se note esta diferença unicamente em presença de uma inoculaçâo fraca. A absorçâo da ciclacilina compensa, em certa medida,a sua inferioridade antibacteriana in vitro.

3.1.4. PENICILINAS ANTIPSEUDOMONAS

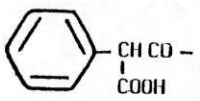
Por alteraçâo posterior (1967) no espectro antibacteriano com introduçâo do grupo ácido em posiçâo α na cadeia acilamino surgiu a carbenicilina (71). Possui uma acçâo comparável à da ampicilina contra os germes Gram (-) e é ainda activa contra algumas Pseudomonas e importantes variedades de Proteus. A carbenicilina tem baixa toxicidade, o que permite administrar doses altas por via parentérica.

Devido à grande utilizaçâo em hospitais, as vantagens económicas da fabricaçâo em quantidade de uma mesma mistura permitem evitar a preparaçâo quotidiana, se houver estabilidade. A este respeito foi conduzido um estudo sobre o sal dissódico de carbenicilina em solventes normalmente utilizados na via parentérica (glucose a 5% e cloreto de sódio a 0,9%). A avaliaçâo da estabilidade comparativa em funçâo da temperatura (-20, 7 e 25 °C) e a averiguaçâo do interesse da descongelaçâo em forno micro-ondas deram resultados esperançosos. Nâo se verificou alteraçâo da estabilidade das soluçôes congeladas e descongeladas rapidamente por micro-ondas. Crê-se que, no futuro, esta venha a ser a prática hospitalar normal (72).

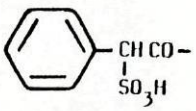
A carbenicilina nâo é absorvida por via oral, mas a pesquisa orientada no sentido da obtençâo de derivados absorvíveis "per os" deu resultados positivos. Os ésteres β--carboxilados da carbenicilina (éster 5-indoxílico) - carindacilina - e a carfecilina (éster fenílico) sâo utilizados em formas farmacêuticas de uso oral, pois sâo mais estáveis em meio ácido (73) e libertam a carbenicilina no organismo encontrando-se em quantidades razoáveis na urina.



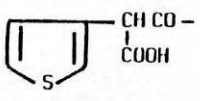
R



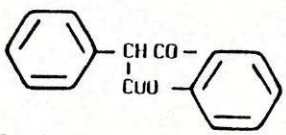
Carbenicilina



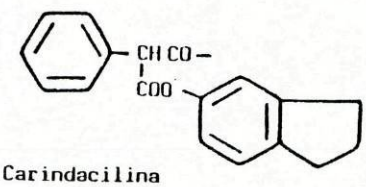
Sulbenicilina



Ticarcilina

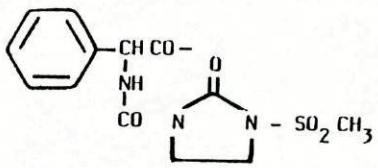


Carfecilina

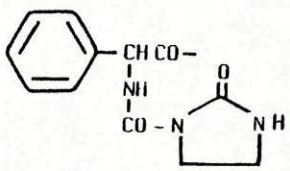


Carindacilina

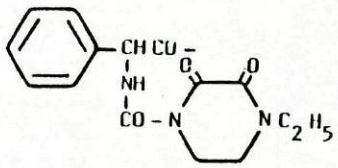
R



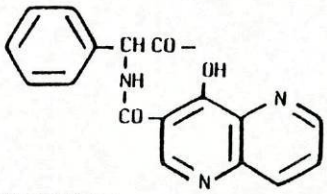
Mezlocilina



Azlocilina



Piperacilina



Apalcilina

Fig. 17 - Penicilinas antipseudomonas

A investigaçâo continua no sentido de encontrar substâncias mais activas sobre a Pseudomonas aeruginosa. Uns investigadores trabalharam com rumo aos derivados de estrutura semelhante à carbenicilina. A Ticarcilina (substituiçâo do anel benzénico por um heterocíclico), a sulbenicilina (substituiçâo do ácido carboxílico por ácido sulfónico) e a suncilina (substituiçâo do grupo ácido por sulfonamida) foram o resultado desses esforços conducentes a maior estabilidade química.

Apesar de tudo, a actividade destas penicilinas frente à Pseudomonas aeruginosa nâo é suficientemente elevada. As C.M.I. encontradas sâo da ordem das várias dezenas de μg/ml, afastadas portanto das poucas unidades que sâo os valores ideais para sucesso terapêutico. Esta especificidade tem sido esperada nas cefalosporinas.

Outros investigadores dedicaram o seu trabalho para conseguir a obtençâo de penicilinas de largo espectro que melhorassem a actividade antipseudomonas, embora sensíveis às β-lactamases. Sâo exemplos as ureidopenicilinas. A azlocilina, a mezlocilina, a piperacilina e a apalcilina, obtidas por acilaçâo do grupo amina tanto da ampicilina como da amoxicilina, parecem cumprir as seguintes condiçôes:

in vitro

C.M.I. mais baixas que as de carbenicilina e análogos.

Alargamento do espectro antibacteriano, incluindo germes pouco sensíveis à carbenicilina.

in vivo

Diminuiçâo do aporte sódico (sais monossódicos) e da posologia diária (1/4 - 1/2) comparada com a da carbenicilina.

A azlocilina mostra-se 4 a 8 vezes mais activa in vitro que a carbenicilina frente a Psdeudomonas, sendo igualmente

activa perante outros germes como Serratia, Proteus, Klebsiella, Hemophilus e Enterococos, insensíveis à carbenicilina. Após administraçâo I.V. revela uma semi-vida plasmática de cerca de 70 minutos e uma eliminaçâo biliar importante, uma "clearance" sérica de 180 ml por minuto, isençâo de biotransformaçâo metabólica, eliminaçâo renal de 60% em 8 horas e "clearance" renal de 120 ml por minuto. A fixaçâo às proteinas plasmáticas é de cerca de 30-40%.Os picos séricos após injecçâo I.V. de 2-5 g podem chegar a 150-400 µg/ml. Os picos urinários sâo da ordem de 1000-2500 µg/ml. A posologia diária situa-se entre 10-15 g, cerca de metade da da carbenicilina, o que diminui ainda a concentraçâo em sódio.

A mezlocilina apresenta as mesmas características. As C.M.I. sâo ligeiramente mais elevadas para Pseudomonas, mas mais reduzidas para as Enterobacteriáceas. A sua semi-vida plasmática é mais curta (1 hora) e o seu volume de distribuiçâo mais reduzido que o da azlocilina. Tem uma considerável eliminaçâo biliar, "clearance" sérica de 385 ml por minuto e "clearance" renal de cerca de 120 ml por minuto.

A piperacilina apresenta C.M.I. mais baixas, 8 a 32 vezes menores que a carbenicilina. É extremamente activa in vitro sobre Pseudomonas, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Proteus, Bacteroides, bem como sobre cocos Gram (+), incluindo o Enterococos para o qual a carbenicilina nâo tem actividade. Os níveis séricos sâo elevados: 150-170 µg/ml, dependendo da via de administraçâo. Liga-se fortemente às proteinas plasmáticas (88-95%). A taxa de eliminaçâo mínima é de 70 a 75%. A sua posologia diária é inferior à da carbenicilina: 4-8 g em perfusâo I.V. ou injecçâo I.V., lenta em situaçôes de infecçôes urinárias.

A apalcilina apresenta C.M.I. baixas para as Enterobacteriáceas e Pseudomonas cuja actividade é explicada nâo pela resistência às β-lactamases, mas por uma melhor penetraçâo e fixaçâo nos "alvos" bacterianos. É activa por vezes face a germes resistentes à carbenicilina e ampicilina. É, porém,

pouco activa para os Hemophilus ampicilino-resistentes. Apresenta uma grande excreção biliar e forte ligação às seroalbuminas (80-95%), sendo muito pouco metabolizada. A posologia diária é bastante mais reduzida do que a da carbenicilina 1-6 g em perfusão I.V. (74,75).

3.1.5. PENICILINAS RESISTENTES AS β-LACTAMASES

Nas penicilinas a introdução de um grupo metoxilo em posição 6 α conduz geralmente a compostos resistentes à inactivação por β-lactamases. Os estudos efectuados sobre ureidopenicilinas têm como objectivo manter a actividade antipseudomonas e apresentar resistência às β-lactamases. Com efeito, cada vez mais as bactérias vinham exibindo resistência adquirida às carboxipenicilinas (76).

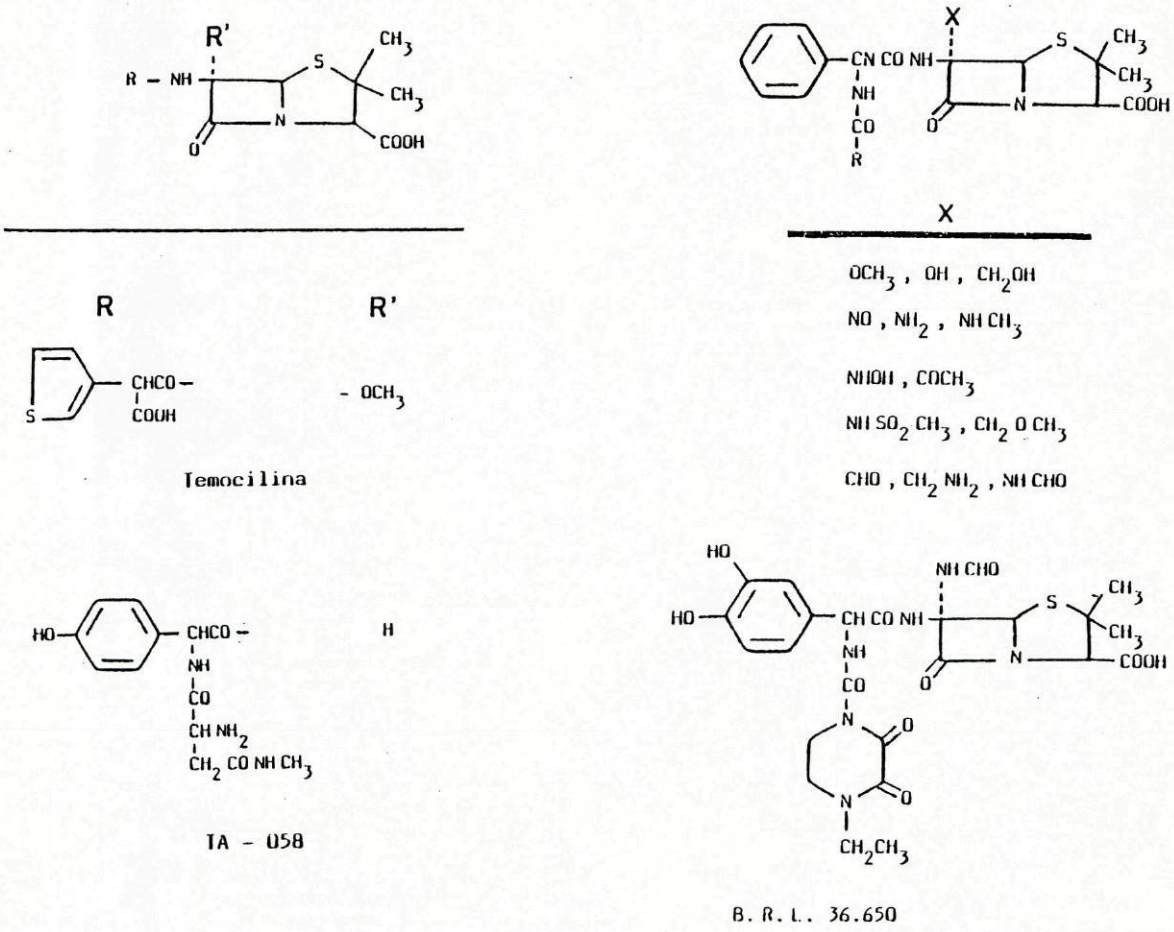
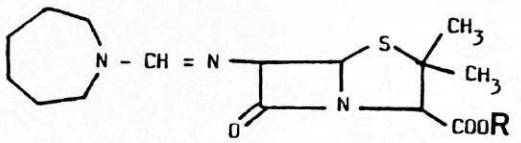


Fig.18 - Penicilinas resistentes às β-lactamases

Tem sido sintetizada grande quantidade de derivados com substituintes variados na posição 6 α do núcleo penamo (77, 78). Os compostos com grupo formamido em posição 6 α são os que melhores resultados apresentam. O derivado da piperacilina BRL.36.650 possui propriedades análogas às cefalosporinas da 3ª geração e assemelha-se também ao aztreonamo do novo grupo β-lactâmico (79).

3.1.6. AMDINOPENICILINAS



R	
H	Mecilinamo
$-CH_2-O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-C(CH_3)_3$	Pivmecilinamo

Fig.19 - Amdinopenicilinas

O mecilinamo é um derivado 6-β-amidinopenicilânico. Tem um espectro antibacteriano invulgar, algo parecido com as cefalosporinas da 2ª geração. Possui efeitos inibitórios muito fracos para a maioria das bactérias Gram (+) e é relativamente ineficaz contra espécies de H.influenzae, màs a sua actividade inibitória para muitas outras bactérias Gram (-) é marcadamente superior à de outras penicilinas.

Mostra afinidade para as PBP 2 dos Gram (-) convertendo as bactérias em esferoblastos osmoticamente estáveis. No entanto, a perda de divisão celular e o aumento da massa celular provoca a lise bacteriana.

Não é activo contra Pseudomonas e tem fraca acção contra anaeróbios. É sensível às β-lactamases estafilocócicas, mas mais estável do que a ampicilina, em relação à qual apresenta uma ligação menor às proteínas do soro (5-10%).

O mecilinamo é usado na forma injectável. O seu éster pivmecilinamo é absorvido por via oral. Estão indicados como antibióticos de primeira escolha para infecções do tracto urinário, por onde são predominantemente eliminados (80).

4. OUTROS ANTIBIOTICOS β-LACTAMICOS

4.1. CEFALOSPORINAS

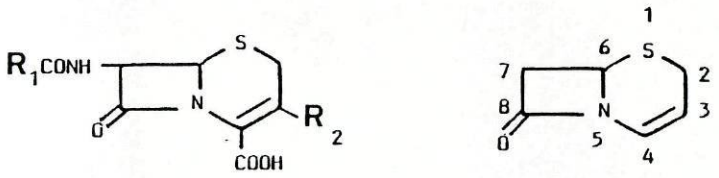


Fig.20 - Estrutura das cefalosporinas; núcleo cefemo

As cefalosporinas são constituídas por um anel di-hidrotiazolínico ligado a um anel β-lactâmico (núcleo cefemo) acopulando duas cadeias laterais. Daí a sua semelhança estrutural com as penicilinas e a designação conjunta de β-lactaminas.

Os processos de obtenção são semelhantes aos das penicilinas, sendo possível obter cefalosporinas a partir das penicilinas.A conversão requer oxidação dos grupos metilo da penicilina e expansão do anel tiazolidínico para di-hidrotiazina. Morin e seus col. mostraram ser os iniciadores da conversão conforme se apresenta na Fig.21.

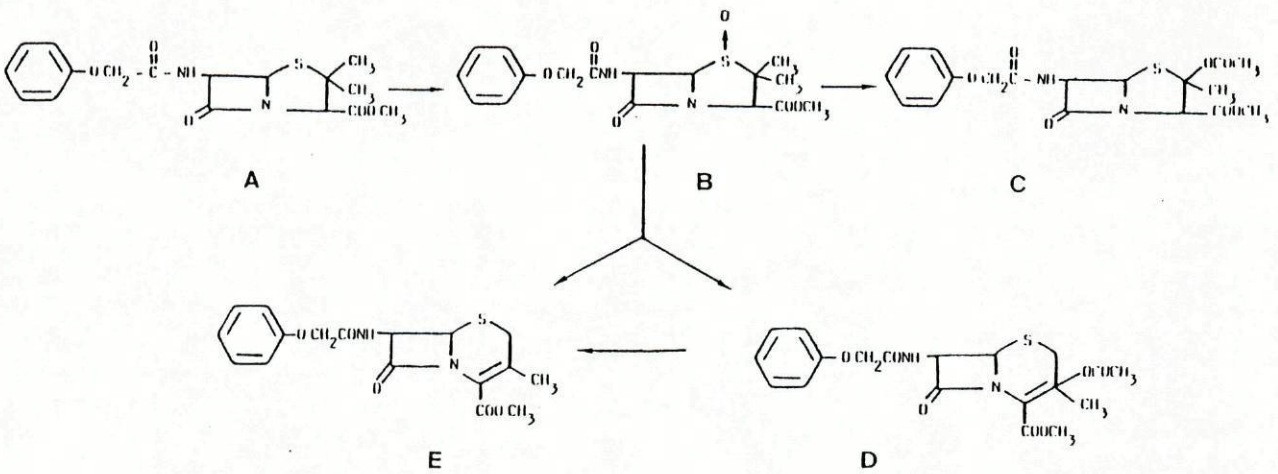


Fig.21 - Obtenção de cefalosporina a partir de penicilina

- A oxidação do ester penicilínico (A) com metaperiodato em solução aquosa de dioxano forma o sulfóxido (B).

- Este sulfóxido em meio de anidrido acético origina 2β-acetoximetilpenamo (C) e 3β-acetoxicefemo (D). Este acetato tratado por trietilamina origina o composto (E) o qual pode também ser obtido do sulfóxido.

Há outras reacções para a conversão, algumas com intervenção enzimática (81).

A classificação das cefalosporinas baseada na cronologia do aparecimento, e também principalmente em outras características como o espectro de acção, a estabilidade perante as β-lactamases e os perfis farmacocinéticos conduziu à divisão das cefalosporinas em três grupos: da primeira, da segunda e da terceira gerações.

As quatro modificações operadas nas cefalosporinas melhoram as propriedades farmacológicas e a actividade.

É possível a modificação do núcleo (7-ACA) (77,82):

- Modificação na cadeia acilamino em posição 7 β.
- Introdução de grupos em posição 7 α.
- Troca do átomo de enxofre na posição 1 por outros heteroátomos, especialmente o oxigénio (oxacefemo).
- Modificação na posição 3.

Assim, alteraçôes na posição 3 afectam essencialmente as propriedades farmacocinéticas, mais do que variaçôes de actividade intrínseca ou especto de acção, tendo em conta que diminui a actividade ao aumentar o comprimento da cadeia.

O tipo de cadeia acilamino e sua configuração na posição 7 β do anel β-lactâmico tem grande influência na penetrabilidade nos Gram (-) e portanto na sua activiade intrínseca. O espectro de acção e a estabilidade perante as β-lactamases e ainda modificaçôes na cadeia lateral afectam, quer a actividade antibacteriana, quer as características farmacocinéticas.

A existência de uma cadeia lateral metiltiotetrazilo está directamente correlacionada com a ocorrência de alguns efeitos secundários.

1ª geração - amplo espectro para Gram (-) excepto enterobacteriáceas resistentes e pseudomonas.

A cadeia acilamino tem um grupo arilometilo e o anel benzénico é substituido por heterocíclicos e por grupos polares contendo heteroátomos.

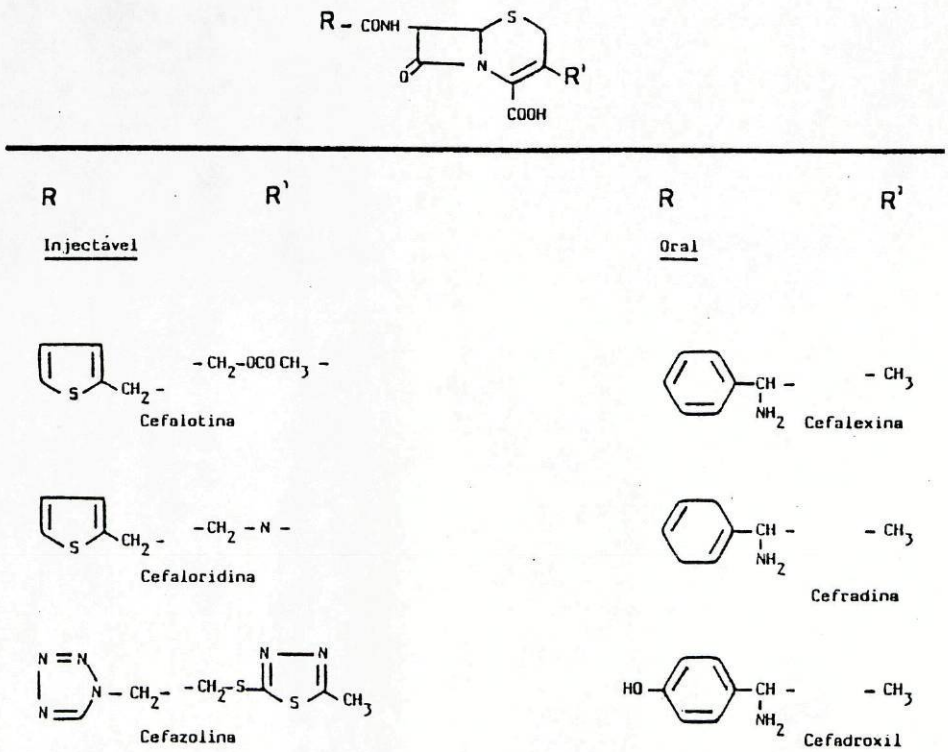


Fig.22 - Algumas cefalosporinas da 1ª geração

2ª geração - amplo espectro e incluem já as enterobacteriáceas resistentes, mas nâo pseudomonas.

Na posição α da cadeia acilamino têm um grupo hidroxilo (cefamandole) ou levam na cadeia acilamino o-aminometilfenilacético.

A partir de culturas de Cephalosporum foram isoladas a cefalosporina P (actua nos Gram (+)), a cefalosporina N (actua nos Gram (+) e (-)) e a cefalosporina C.

A cefalosporina C, composto com apenas 10% da actividade antibiótica da penicilina N, hidrolisa-se por acção das estearases, mas denota estabilidade em presença das penicilinases estafilocócicas. Foi esta última propriedade que manteve os investigadores interessados nesta molécula, que levou em 1959 ser possível isolar o 7-ACA, precursor da Cefalotina e dos restantes novos compostos deste grupo.

A cefalotina e a cefaloridina, muito activas para espécies Gram (+), eram usadas na clínica em pacientes alérgicos à penicilina. Todavia, eram só administradas por via injectável e as espécies Gram (-) ampicilino-resistentes ofereciam a mesma resistência àquelas cefalosporinas.

Aparece posteriormente a cefazolina dando níveis séricos mais elevados e num espaço de tempo muito curto após injecção. Apesar disso, não é totalmente resistente ao ataque das β-lactamases, embora apresente melhores resultados do que a cefaloridina e cefalotina relativamente aos microrganismos Gram (-) ampicilino-resistentes.

Os derivados obtidos por substituição do grupo acetoxi por hidrogénio, alcoxi ou halogénios dão lugar a cefalosporinas absorvíveis por via oral. A configuração destas tem na cadeia lateral acilamino fenilglicina unida em 7 β e grupos hidrogénio, azido, metoxilo ou halogénios na posição 3, que substituiram o grupo acetoximetilo.

Estas cefalosporinas orais são geralmente obtidas a partir das penicilinas.

A esterificação do grupo ácido para obter pró-drogas

que melhorem a absorção oral, diferentemente do que se passa com as penicilinas, não tem dado resultado.

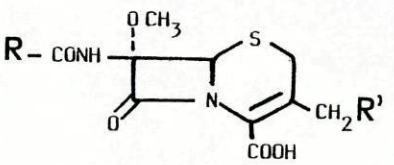
As cefalosporinas são estáveis em meio ácido e, assim sendo, estaria o caminho aberto para a formulação de cefalosporinas em formas para administração oral.

A cefalexina foi a primeira a ser utilizada "per os" com significado clínico. As características de absorção oral da molécula, avaliadas em termos de actividade antibacteriana geral, não classificam esta cefalosporina como sendo de largo espectro, embora a molécula seja um pouco mais resistente ao ataque das β-lactamases do que as já mencionadas cefalosporinas.

Novos compostos se lhe seguiram, mas até hoje não mostram melhor biodisponibilidade do que as cefalosporinas injectáveis e penicilinas orais, não se igualando nem em espectro de acção nem em potência.

Merecem especial atenção as cefalosporinas com resistência às β-lactamases a qual é conseguida de duas formas:

- éteres de oxima de configuração sin na cadeia acilamino como na cefuroxima.
- cefalosporinas com um grupo metoxilo em posição 7 α.



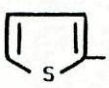
R	R'
$NH_2 - CH(COOH) - (CH_2)_3$	$-O CO NH_2$
Cefamicina C	
	$-O CO NH_2$
Cefoxitina	

Fig.23 - Cefamicinas

Com origem natural obtiveram-se as cefamicinas que por modificaçâo estrutural deram derivados sintéticos de grande interesse como a cefoxitina extraordinariamente resistente às β-lactamases (74).

Como alternativa apareceu a cefuroxima por introdução de um grupo metoxima na cadeia lateral em posição 7. É dotada de largo espectro para Gram (-), incluindo muitas espécies produtoras de penicilinases. É activa contra as enterobacteriáceas produtoras de uma cefalosporinase capaz de destruir a maior parte das cefalosporinas.

Quando administrada po via injectável produz bons níveis sanguíneos, mas nâo mostra melhor actividade do que a cefaloridina. Contudo, em casos de infecçôes causadas por espécies Gram (-) ampicilino-resistentes, o seu uso é aconselhado por muitos.

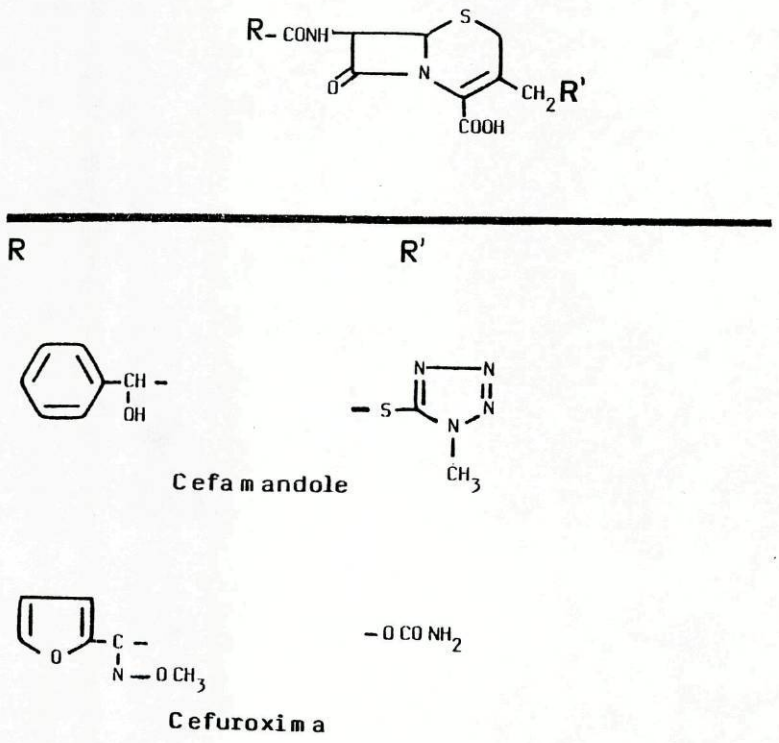


Fig.24 - Algumas cefalosporinas da 2ª geração

Mais recentemente surgiu um novo tipo de cefalosporinas de origem natural isoladas de flavobactérias, semelhantes às

cefamicinas com um grupo formilamino em vez do grupo metoxilo em 7 α e que dão pelo nome de chitinovorinas. Mostram alta resistência frente às β-lactamases, embora como antibióticos não possam ser classificados de grande interesse (83).

A cefamandole representa um certo avanço em termos de actividade antibacteriana, mas não é totalmente resistente ao ataque das β-lactamases e o espectro de actividade não é ainda tão amplo como seria desejável.

<u>3ª geração</u> - amplo espectro incluindo pseudomonas.

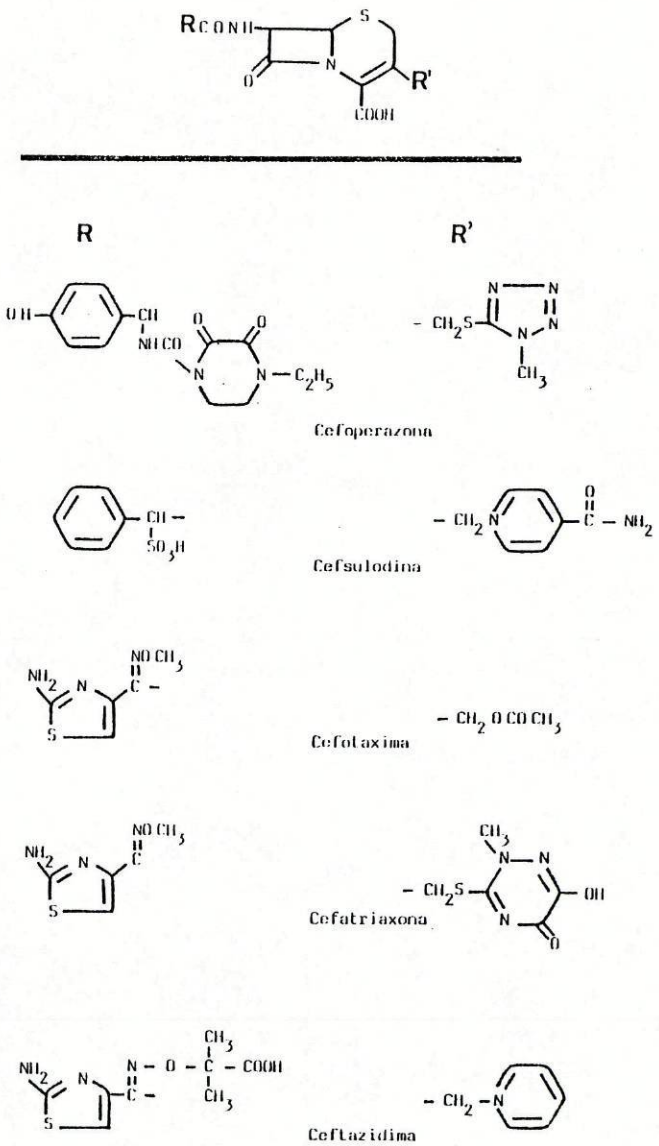


Fig.25 - Algumas cefalosporinas da 3ª geração

São incluídas as que contêm um grupo ácido sulfónico em posição α na cadeia acilamino (cefsulodina) ou as que contêm arilglicina como cadeia acilamino com um grupo amino acilado (cefoperazona), paralelas às ureidopenicilinas.

Nas cefalosporinas da 3ª geração destacam-se as que combinam na cadeia acilamino duas características estruturais das cefalosporinas da 2ª geração - os éteres de oxima (boa penetração e resistência às β-lactamases) com 2-aminotiazol (boa actividade intrínseca). Do grande número de compostos deste tipo, cuja diferença é mínima em relação à actividade e propriedades farmacocinéticas mencionam-se a cefotaxima, ceftriaxona e a ceftazidima (84).

Entre as cefalosporinas da 3ª geração também se incluem os oxacefemos, grupo de antibióticos de síntese total, que resultam da troca do átomo de enxofre por oxigénio na posição 1 da estrutura cefemo.

Os processos de obtenção são complexos e geralmente utilizam o 6-APA.

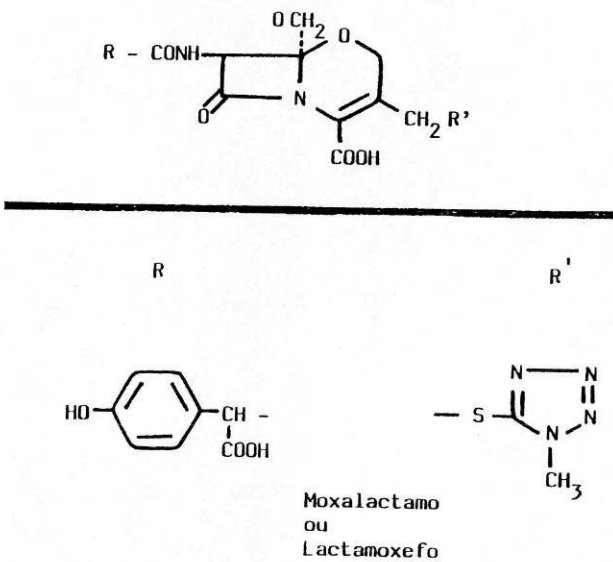


Fig.26 - Oxacefemos

Entre esta classe destaca-se o moxalactamo também chamado lactamoxefo. Apresenta actividade intrínseca, espectro

de acção e resistência às β-lactamases superior às penicilinas e cefalosporinas. É porém muito caro, devido à sua síntese, o que torna a sua prescrição clínica mais restrita.

4.2. OUTROS INIBIDORES DAS β-LACTAMASES

Há duas formas de actuação perante as β-lactamases. A primeira consiste numa estratégia para evitar esses enzimas por intermédio de penicilinas ou cefalosporinas com estrutura adequada. A segunda é praticada por neutralização das β-lactamases, associando um seu inibidor ao antibiótico para que este possa alcançar o local de acção.

Com o uso de inibidores β-lactamásicos podem aumentar-se os espectros antibacterianos, como o das aminopenicilinas, que sendo bons antibióticos são, no entanto, sensíveis à hidrólise pelas β-lactamases.

Há inibidores sem estrutura β-lactâmica mas não têm interesse clínico. São unicamente usados para estudos de enzimologia.

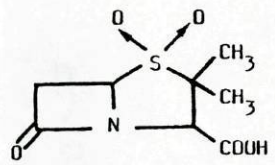
Dentro dos que contêm estrutura β-lactâmica podem distinguir-se os que possuem um heteroátomo em posição 1 (ácido clavulânico e derivados do núcleo penamo) e os que têm carbono nessa posição (carbapenamo). Ambos os grupos são inibidores progressivos.

Embora o mecanismo de acção não seja o mesmo para todos os inibidores, estes podem enquadrar-se nos que formam complexo covalente acil-enzima por abertura do anel β-lactâmico.

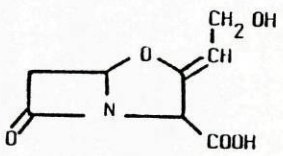
O facto mais assinalável é a substituição do átomo de enxofre pelo oxigénio (núcleo clavamo), ausência da cadeia lateral acilamina e substituição de um grupo β-hidroxietilideno no anel oxazolidínico

O ácido clavulânico é extraído de Streptomyces clavuligerus, também produtor de várias cefalosporinas (85). Em geral o ácido clavulânico e seus derivados são relativamente

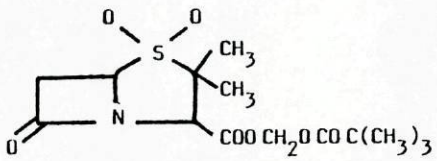
pobres como agentes antibacterianos. Sâo, no entanto, potentes inibidores de muitas β-lactamases (86). Têm sido feitas tentativas de associações do ácido clavulânico com penicilinas, como a benzilpenicilina, ampicilina, amoxicilina, carbenicilina e, também, com cefalosporinas clássicas para encontrar um largo espectro (87,88). Em princípio, o sucesso desta tentativa terá que ser provado na clínica. Podem, contudo, ser apontadas certas desvantagens inerentes ao sinergismo: primeiro, uma mistura fixa de uma penicilina e um inibidor de penicilinase terá problemas consequentes para uma associaçâo terapêutica correcta; segundo, o ácido clavulânico e seus derivados nâo sâo potentes inibidores de todas as β-lactamases, sendo exemplo as do grupo coli.



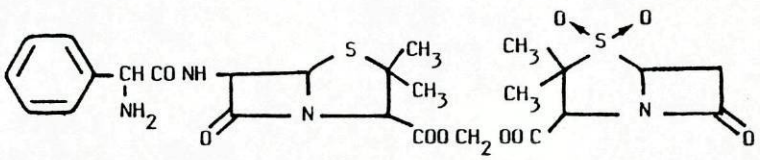
Sulbactama



Ácido clavulânico



Pivsulbactama



Sultamicilina

Fig.27 - Inibidores das β-lactamases

É absorvido por via oral de modo semelhante à amoxicilina. O pico sérico para uma dose única de 10 mg/Kg (I.M.) é de 13 μg/ml. Liga-se às proteinas plasmáticas em 20%.

O sulbactama (ácido sulfonopenicilânico) tem actividade

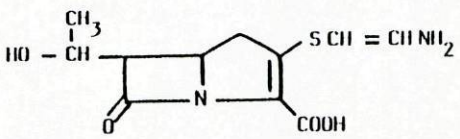
antibiótica limitada, mas provou-se que aumenta in vivo e in vitro a actividade dos antibióticos β-lactâmicos como a penicilina G, ampicilina, carbenicilina e cefoperazona, face a certas bactérias produtoras de β-lactamases.

Devido à sua grande estabilidade em soluçâo, o sulbactama apresenta sobre o ácido clavulânico a vantagem de poder acompanhar vários antibióticos β-lactâmicos. A associaçâo mais frequente é feita com a ampicilina na forma injectável (1:2) para aplicaçâo intravenosa (89).

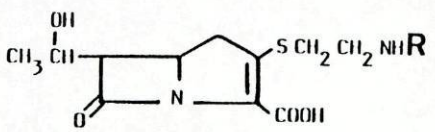
É, porém, pouco absorvido por via oral. Já o seu éster, pivsulbactama, proporciona excelentes níveis séricos após ser administrado por via oral a ratos, macacos e mesmo ao homem. A combinaçâo de 750 mg deste pró-fármaco com 800 mg de bacampicilina, equivalente a 250 e 278 mg, respectivamente, de sulbactama e ampicilina, merece atençâo por parte da indústria farmacêutica com vista ao lançamento clínico.

A sultamicilina obtida por ligaçâo covalente do sulbactama à ampicilina liberta ambos os antibióticos, originando altos níveis sanguíneos e mostra poder inibidor para as β--lactamases sendo absorvida por via oral. Estudos farmacocinéticos indicando altas concentraçôes de sultamicilina na urina apontam para o emprego deste antibiótico no tratamento de infecçôes do aparelho urinário (90).

4.3. ACIDO OLIVANICO E TIENAMICINAS

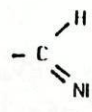


Ácido olivânico



R

H — Tienamicina



N – formimidoil tienamicina

Fig.28 - Derivados com núcleo carbapenemo

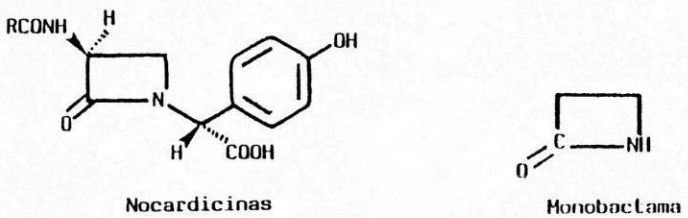
A tienamicina, o ácido olivânico (Streptomyces olivaceus) e seus derivados apresentam o núcleo parecido com o da penicilina, mas com substituição do átomo de enxofre por carbono (núcleo carbapenemo).

A tienamicina, produzida pelo Streptomyces cattleya, é caracterizada por alta actividade intrínseca e largo espectro bem como pela estabilidade em presença das β-lactamases. A sua potencial utilizaçâo é comprometida pela sua labilidade química, tanto em soluçôes concentradas como em formas sólidas (90).

Este problema parece parcialmente resolvido com um derivado análogo, N-formimidoiltienamicina que nâo só tem grande resistência às β-lactamases como é capaz até de as inibir. A actividade antibacteriana é maior do que a da tienamicina especificamente para Pseudomonas, Bacteróides e Enterococos.

Este amidinoderivado é hidrolisado durante a excreção por um enzima identificado como uma di-hidropeptidase renal. Assim, a combinação com um inibidor específico do enzima será um processo para aplicação clínica.

4.4. β-LACTÂMICOS MONOCICLICOS



Nocardicinas Monobactama

Fig.29 - Nocardicinas; monobactama

As Nocardicinas, como grupo monocíclico com propriedades marcadamente antimicrobianas no que respeita à sua alta potência antibiótica β-lactâmica, foram os primeiros exemplos isolados das espécies de Nocardia (91).

As nocardicinas naturais sâo activas frente a certos

germes Gram (-) especialmente Proteus, E.coli e Pseudomonas (92).

Têm discrepância entre a actividade in vitro e in vivo, e sendo esta mais activa com espectro de acção mais amplo.

Possuem uma função oxima a qual, relacionada com o grupo acilamino, favorece a actividade antimicrobiana. Contêm p-hidroxifenilglicina, raramente encontrada na natureza. As suas estruturas estão estereoquimicamente relacionadas com a molécula da penicilina (α-carboxilo; β-acilamino) e por último são inibidores a nível da parede celular da biossíntese bacteriana (93).

Têm sido preparados vários derivados de nocardicinas, tanto semi-sintéticos como de síntese total. Porém, a ambiguidade do seu mecanismo de acção e o facto de não se ter conseguido derivados de actividade superior à das naturais, tem limitado muito o impacto destas estruturas.

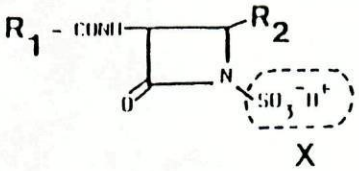
Os monobactâmicos naturais não mostraram o alto grau de actividade nem facilidade de manipulação para obter semi-sintéticos devido à ligação N-SO_3H, muito lábil do núcleo 3-AMA (94).

Por síntese total obtiveram-se compostos muito potentes clinicamente (95). Na cadeia acilamino em posição 3-β introduziram-se grupos semelhantes aos que existem nas penicilinas e cefalosporinas.

Pequenos grupos hidrófilos como OH, NH_2, COOH ou SO_3H em posição α nessa cadeia não deram resultado positivo.

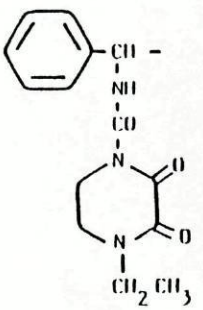
A fenilglicina com o grupo amina acilado deu compostos muito activos (ureidomonobactâmicos), compostos com actividade similar à piperacilina e igualmente sensíveis às β-lactamases. A resistência foi conseguida introduzindo um grupo metoxilo em posição 3 α.

Paralelamente ao que se relatou com as cefalosporinas da 3ª geração, a combinação de éteres oxima de configuração sin e aminotiazol na cadeia acilamino em 3 β, conduziu a compostos muito potentes e de largo espectro, mas com sensibilidade às β-lactamases. Para obter resistência introduzem-se substituintes em posição 4 α e em 4 β.

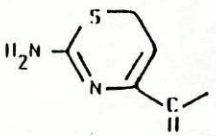


X

R_1



Ureido - monobactamos



Aminotiazol - éteres oxima Monobactamos

R_2

H

CH_3

CH_2CH_3

$CH(CH_3)_2$

$CH=CH_2$

$C\equiv CH$

X

$-P(OR)\bar{O}$

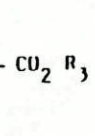
Monofosfamos

$-CONSO_2R$

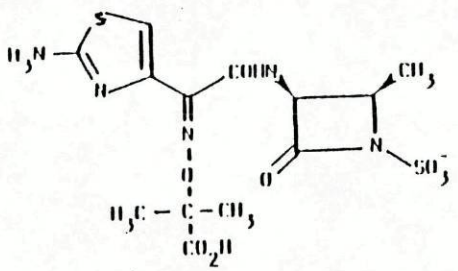
Monocarbamos

$-O\,SO_3^-$

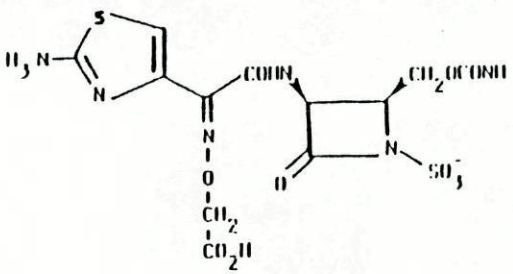
Monosulfactamos



Oxamazinas



Aztreonamo



Carumonamo

Fig.30 - Monobactâmicos

Em 1985 com o nome de Aztreonamo entrou no circuito comercial português, já bem caracterizado (96), um antibiótico sintético deste grupo dirigido especificamente a bactérias aeróbias Gram (-) e estável para a maioria das β-lactamases.

Esta sua acção assume particular relevo, atendendo à crescente importância deste grupo de bactérias na clínica, responsáveis por septicemias. Sendo cada vez mais frequentes as resistências bacterianas, obrigam ao uso de antibióticos β-lactâmicos com aminoglucosídeos. Contudo, os doentes nesta situação são mais susceptíveis à oto e nefrotoxicidade destes últimos. Estudos estatísticos apontam a eficácia do derivado monolactâmico na maior parte das septicemias em que foi utilizado, nas doses de 1 a 2 g diários I.V. ou I.M..

Estudos comparativos com outros antibióticos β-lactâmicos demonstram que concentrações duas a quatro vezes CMI de aztreonam o destroem rapidamente culturas de E.coli e P.aeruginosa. Quando em níveis inferiores às CMI reduzem essas populações bacterianas, pois causam filamentação (97).

O seu modo de acção é semelhante ao das cefalosporinas. In vitro a actividade do aztreonamo tem sido reconhecida para grande número de microrganismos Gram (-) e a sua actividade é comparada com a das cefalosporinas da terceira geração para a maioria dos germes pertencentes às Enterobacteriáceas.

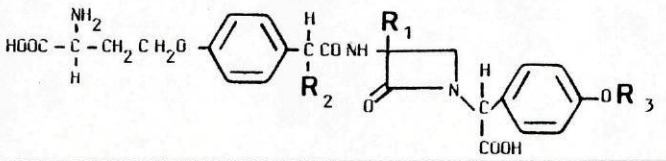
O aztreonamo actua sobre mais PBP 3 e a sua concentração bactericida aproxima-se da inibitória. Não tem praticamente actividade face aos germes Gram (+) nem anaeróbios.

Proporciona concentrações altas no sangue e na urina, quer administrado I.M., quer I.V. e foi o primeiro injectável monobactâmico a ser desenvolvido para uso clínico (98). Pode ser administrado em associação com ampicilina ou cefalosporinas no caso de infecções múltiplas. A sua semi-vida sérica é de 1,7-1,9 horas e liga-se às proteinas do soro numa percentagem de 56%. Como efeito colateral é apontada uma perturbação do gosto e elevação das transaminases.

Quando se substitui o metilo da posição 4 por outros grupos mais volumosos, aumenta a resistência às β-lactamases mas diminue a actividade antibiótica. Também esta actividade vem aumentada se se substituir o grupo sulfónico unido ao azoto β-lactâmico por outros grupos semelhantes, mas com carácter mais electronegativo. É o caso dos monofosfanos e monocarbanos. Já os derivados monossulfactanos são mais activos que os monobactanos, mas menos estáveis às β-lactamases.

Finalmente, prepararam-se derivados do ácido 1-oxiacético (oxamazinas) e alguns ésteres de oxamazinas que podem ser utilizados como pró-drogas das β-lactaminas monocíclicas, pois permitem a sua administração oral (99).

As formadicinas constituem um novo grupo de antibióticos β-lactâmicos monocíclicos produzidos por bactérias do Flexibacter alginoliquefaciens (100). A sua estrutura é semelhante às nocardicinas, com a característica de possuirem um grupo formilamino em posição 3 α no caso das formadicinas A e C. As formadicinas A e B são os primeiros antibióticos β-lactâmicos com um grupo carbo-hidrato, como o ácido glucurónico, na posição 9.



Formadicina	R_1	R_2	R_3
A	NHCHO	OH	Ácido D-glucurónico
B	H	NHCHO	Ácido D-glucurónico
C	NHCHO	OH	H
D	H	NHCHO	H

Fig.31 - Formadicinas

O grupo formilamino em posição 3 α confere alta resistência as β-lactamases.

Entre as quatro formadicinas naturais conhecidas, é a C a que apresenta maior actividade antibiótica, especialmente face a Pseudomonas aeruginosa. São mais activas do que as nocardicinas de estrutura similar (101).

5. OS RISCOS E EFEITOS SECUNDARIOS DAS PENICILINAS

Visto o problema na globalidade, as penicilinas envolvem vários riscos desde logo os potenciais perigos biológicos originados nos processos de obtençâo por fermentaçâo em larga escala. Os microrganismos, esporos e alguns componentes celulares podem produzir reacçôes alérgicas no homem.

Os processos de extracçâo implicam o emprego de dissolventes que ao serem recuperados podem ficar poluídos e contaminar outras matérias.

Quanto à purificaçâo, nâo oferecendo totais garantias, os contaminantes residuais concorrem para reacçôes adversas após administraçâo.

Todos os géneros de Penicillium sâo testados quanto à possível produçâo de microtoxinas. Os efeitos da formaçâo de mutantes, e o aparecimento de metabolitos indesejáveis ou desconhecidos, podem ser minimizados, se nâo mesmo prevenidos quando descobertos.

Em paralelo com os efeitos curativos, os antibióticos podem afectar o organismo do hospedeiro, directa (toxicidade) ou indirectamente. Estes últimos podem resultar de alteraçôes do balanço ecológico da microflora normal ou de induçôes de reacçôes alérgicas ou de hipersensibilidade.

Dentro da variedade das reacçôes de toxicidade , a penicilina pertence aos antibióticos capazes de provocar alguma neurotoxicidade, nefrotoxicidade e toxicidade cutânea. Excluem-se a hepatotoxicidade (só a talampicilina deve ser evitada na insuficiência hepática, porque nâo sendo hidrolisada, é hepatotóxica).

Realizaram-se experiências já há alguns anos em voluntários saudáveis, as quais foram efectuadas para confirmar ou desmentir a sugestâo feita por alguns autores como Frada, Courty e Biscaye, entre outros, de que a penicilina seria um dos antibióticos responsáveis por alguns fenómenos de trombose. As pequenas diferenças detectadas nos testes e controlo, nâo tendo efeito sistemático, foram estimadas como erro

experimental. A tese em estudo nâo teve, assim, suporte para ser considerada válida (102).

A penicilina é apontada como vantajosa por ser pouco tóxica. No entanto, há casos pontuais referidos: a ampicilina ocasiona frequentemente o aparecimento de rash maculopapular de origem tóxica, nâo alérgica.

As amdinopenicilinas inibem a primeira fase de agregação plaquetária, sobretudo em doses elevadas, podendo ocasionar perturbaçôes da hemostasia em alguns doentes.

Doses muito altas de benzilpenicilina sódica ou potássica podem ser responsáveis, por sobrecarga iónica, de desequilíbrios electrolíticos, sobretudo em doentes com insuficiência renal.

Os compostos associados à penicilina G em formas "depósito" quando utilizados em grandes doses podem ocasionar reacçôes adversas devidas a essas mesmas substâncias: procaína, benzatina e clemizol.

A perda de actividade das penicilinas é uma probabilidade a ser encarada, pois pode traduzir-se no risco de simples inactivaçâo, indução de resistências, efeitos adversos ou atingir incompatibilidades com fármacos administrados paralelamente. Um veículo inadequado ou concentraçôes desproporcionadas podem ser motivo de tal insucesso. Cita-se a administraçâo da ampicilina, de sais sódicos de penicilina G, da carbenicilina e do sal potássico de feneticilina em soluçâo glucosada para infusôes intravenosas de grande volume (103,104,105).

Nâo se encontram descritos casos de exclusividade comprovada de bloqueamento neuromuscular, ototoxicidade ou toxicidade gastrointestinal agudas. A teratogenia e carcinogenicidade nâo estâo relacionadas com este grupo de antibióticos.

As reacçôes adversas povocadas pela penicilina afectam o sistema imunitário. Este sistema é complexo, interdependente, constituído por elementos celulares (linfócitos, macrófagos e células da inflamaçâo) e moleculares humorais

(imunoglobulinas, sistema do complemento, linfoquinas, sistemas da properdina, coagulaçâo e fibrinólise). A activaçâo de um destes componentes promove a estimulaçâo em cadeia de outros elementos (106).

A alergia à penicilina é englobada nas doenças reaccionais por hipersensibilidade e, dentro destas pertence, ao tipo anafiláctico (mais perigoso) ou ao tipo hipersensibilidade retardada.

Na anafilaxia tem que ser considerada a fase de sensibilizaçâo, em que os anticorpos fixam-se nos mastócitos tissulares e circulantes. As Ig E encontram-se em pequena quantidade no soro dos indivíduos normais. O antigénio reage com as reaginas fixadas na membrana celular dos mastócitos cuja combinaçâo provoca a activaçâo das membranas, desgranula as células com libertaçâo de histamina e outros mediadores celulares de tipo aminas vasoactivas. Estas substâncias provocam vasodilataçâo, alteraçôes da permeabilidade vascular e outros efeitos farmacológicos. Actuam igualmente sobre os eosinófilos, plaquetas e polinucleares neutrófilos.

As reacçôes alérgicas podem ocorrer em vários graus, mas a reacçâo anafilática mais perigosa e frequente é a da benzilpenicilina injectável e seus sais.

As soluçôes aquosas sâo as que mais causam a formaçâo de substâncias (haptenos) com tendência à ligaçâo a determinadas proteínas em locais específicos da sua estrutura (conjugado hapteno-proteína).

A alergia é mediada pelo antigénio-anticorpo, desenvolvendo-se uma resposta do sistema imunitário ao conjugado hapteno-proteína. A produçâo de anticorpos atinge especificidade para o grupo hapteno e normalmente também para porçôes da proteína.

O mecanismo pelo qual se produzem as respostas do sistema imunitário envolve a formaçâo de ligaçôes entre macromoléculas do organismo e a penicilina intacta, produtos da sua degradaçâo ou reacçâo com adjuvantes das formulaçôes, ou ainda com metabolitos, e até com impurezas. As macromolécu-

las reactivas sâo correntemente proteínas, embora alguns lipídeos ou hidratos de carbono possam entrar em minoria.

Os anticorpos podem também reagir com um antigénio de estrutura química parecida (reconhecimento falso do hapteno). A extensâo desta reactividade depende nâo só de como as duas moléculas sâo semelhantes, mas também de como o hapteno está ligado à porçâo proteica, isto é, ao aminoácido com o qual está conjugado ou, talvez até, aos resíduos circundantes a que o hapteno se encontre unido.

As reacçôes antigénio-anticorpo sâo normalmente inibidas por haptenos monovalentes, isto é, moléculas pequenas que contêm um só grupo hapteno ligado. Os mais pequenos podem até ser constituídos por um hapteno ligado a um único aminoácido. O grau de inibiçâo depende da concentraçâo do hapteno monovalente e da sua semelhança com o qual o anticorpo exibe especificidade. Esta pode determinar-se por avaliaçâo do grau de inibiçâo.

As substâncias imunogénicas sâo capazes de provocar a formaçâo de anticorpos e reagem sempre com eles em resposta à sua prévia administraçâo, traduzida a nível interno ou externo do organismo por sintomas vários. As substâncias que actuam como antigénios por reagirem com anticorpos já existentes podem ou nâo ser imunogénicas.

Com o conhecimento da estrutura dos antigénios determinantes é possível preparar derivados monovalentes que podem ser usados para anular a sensibilizaçâo dos pacientes antes da administraçâo dos potenciais imunogénos. Presume-se que esses derivados vâo bloquear os pontos de combinaçâo ao anticorpo, permitindo assim que as substâncias sejam utilizadas.

Um objectivo dos estudos das reacçôes químicas envolvidas na alergia poderá ser o de preparar modificaçôes nos compostos para que possam vir a nâo ser alérgicos, conservando as propriedades terapêuticas originais. Desde que as modificaçôes químicas operadas no grupo dos β-lactâmicos sâo feitas com facilidade, tem vindo a ser melhorado o poblema

da alergia. Por outro lado, concorre também para esta melhoria o avanço tecnológico e a selectividade das operaçôes necessárias à obtençâo de maior pureza dos compostos. Mesmo assim, ainda nâo se atingiu o ideal, pois nâo estâo bem esclarecidas muitas reacçôes envolvidas e o mecanismo que as determina.

A frequência com que surgem reacçôes alérgicas varia com a via de administraçâo; ocorre mais frequentemente na administraçâo parentérica, medianamente na administraçâo tópica e com menor número de casos na via oral. A frequência é independente da dose administrada, embora a sua intensidade possa ser fraca para doses baixas. Também se verifica que a positividade nos testes de sensibilidade aumenta com a idade (2% nos jovens e 10% em indivíduos acima dos 45 anos).

Mencionam-se por ordem decrescente de frequência as reacçôes seguintes de hipersensibilidade: rash maculopapular, rash urticariforme, febre, broncospasmo, vasculite, doença do soro, dermatite exfoliativa, síndrome de Stevens--Johnson e anafilaxia.

Os sintomas podem aparecer imediatamente, nos primeiros 30 minutos ou depois de uma a várias horas de forma acelerada, ou entâo aparecerem tardios, quando só se manifestam dias ou semanas após a administraçâo. Esta última forma é a mais usual.

Apesar da via parentérica ser a mais importante, nem todos os indivíduos alérgicos à penicilina respondem positivamente aos testes efectuados com o reagente peniciloil-poli-L-lisina específico para o hapteno penicilamida. Isto indica, portanto, a probabilidade de haver estruturas variadas que podem ser determinantes na alergia penicilínica.

A capacidade de sensibilizaçâo tem outra ordenaçâo: é máxima para a aplicaçâo tópica, seguindo-se a via parentérica e, por último, a administraçâo "per os".

A quantidade de penicilina absorvida através do leite materno nâo é suficiente para tratar infecçôes, mas pode causar hipersensibilidade na criança. Conforme o grau das

reacções (diarreias, mudança na flora orofaríngea, candidíases) pode ser motivo para ser interrompido o aleitamento (107).

5.1. OS DETERMINANTES MAIORES

A penicilina reage com proteínas de várias maneiras para formar o conjugado tido como o maior determinante hapténico in vivo, embora o mecanismo ainda nâo esteja bem esclarecido (Fig. 32).

I -Ligaçâo directa da molécula íntegra da penicilina às proteínas que conduz à abertura do anel β-lactâmico (aminólise).

A pH neutro a penicilina reage lentamente com as aminas; contudo, estudos da aminólise da penicilina têm mostrado qe sâo requeridas condiçôes de catálise (OH^- e H^+), como acontece na reacçâo com a glicina (108). Em condiçôes parecidas in vivo ocorrem fácil e rapidamente reacçôes que produzem diastómeros 5R e 6R, que eventualmente isomerizam e produzem misturas de diastereoisómeros. Se o grupo NH_2 ligado for ∈-aminogrupo da lisina, o seu inibidor mais eficiente é o ácido N-peniciloil-∈-aminocapróico.

Por dados experimentais nota-se que a magnitude de conjugaçâo da penicilina com proteínas é da mesma ordem de grandeza que a ligaçâo reversível dessas penicilinas às sero-albuminas. A cloxacilina é a que apresenta maior "protein binding" (>90%) (109).

II -A alta reactividade do ácido penicilénico, que é produzido espontaneamente pelo rearranjo da molécula da penicilina, é outra via que provoca a formaçâo do antigénio. Esse rearranjo envolve a abertura do anel β-lactâmico, formaçâo de oxazolona e aparecimento de um grupo sulfidrilo livre que reage

directamente com os grupos amina livres das proteínas para dar uma mistura de diastereoisómeros.

É também hidrolisado rapidamente em soluções neutras para formar ácido penicilóico, composto que não forma conjugado peniciloílo.

Crê-se que em condições fisiológicas estes dois processos (I e II) sejam competitivos.

É considerável a variação da velocidade de formação do ácido penicilénico nas várias formas de penicilinas, estando relacionada também com a sua velocidade de degradação em meio ácido. Por outro lado, a aminólise e a hidrólise alcalina não proporcionam velocidades tão variadas entre a mais rápida e a mais lenta degradação. Assim sendo, pode pensar-se que o ácido penicilénico não é a única via pela qual se formam os determinantes peniciloílo nas condições fisiológicas. Aí pode ser bem mais rápido que in vitro devido às catálises enzimática e/ou por iões metálicos. A pH entre 4 e 7 o ião Cu é consumido na reacção, não se formando qualquer quantidade de ácido penicilénico. Nas catálises enzimáticas, porque não podem ser controladas externamente, não é possível encontrar nenhuma evidência directa para cada uma das reacções envolvidas.

III -As formas do ácido penicilénico via mistura de ligação dissulfito formam conjugados estáveis, potentes antigénios que induzem a formação de anticorpos específicos para a estrutura do ácido penicilénico. Estes anticorpos detectam-se em indivíduos alérgicos à penicilina por testes imunológicos usando haptenos monovalentes. A pele contém proteínas com maior número de grupos de ligação S-S e menor pH do que o soro, o que leva a pressupor maior probabilidade de se desenvolverem manifestações de hipersensibilidade de contacto em quem manipula directamente a penicilina (penetração directa através da pe-

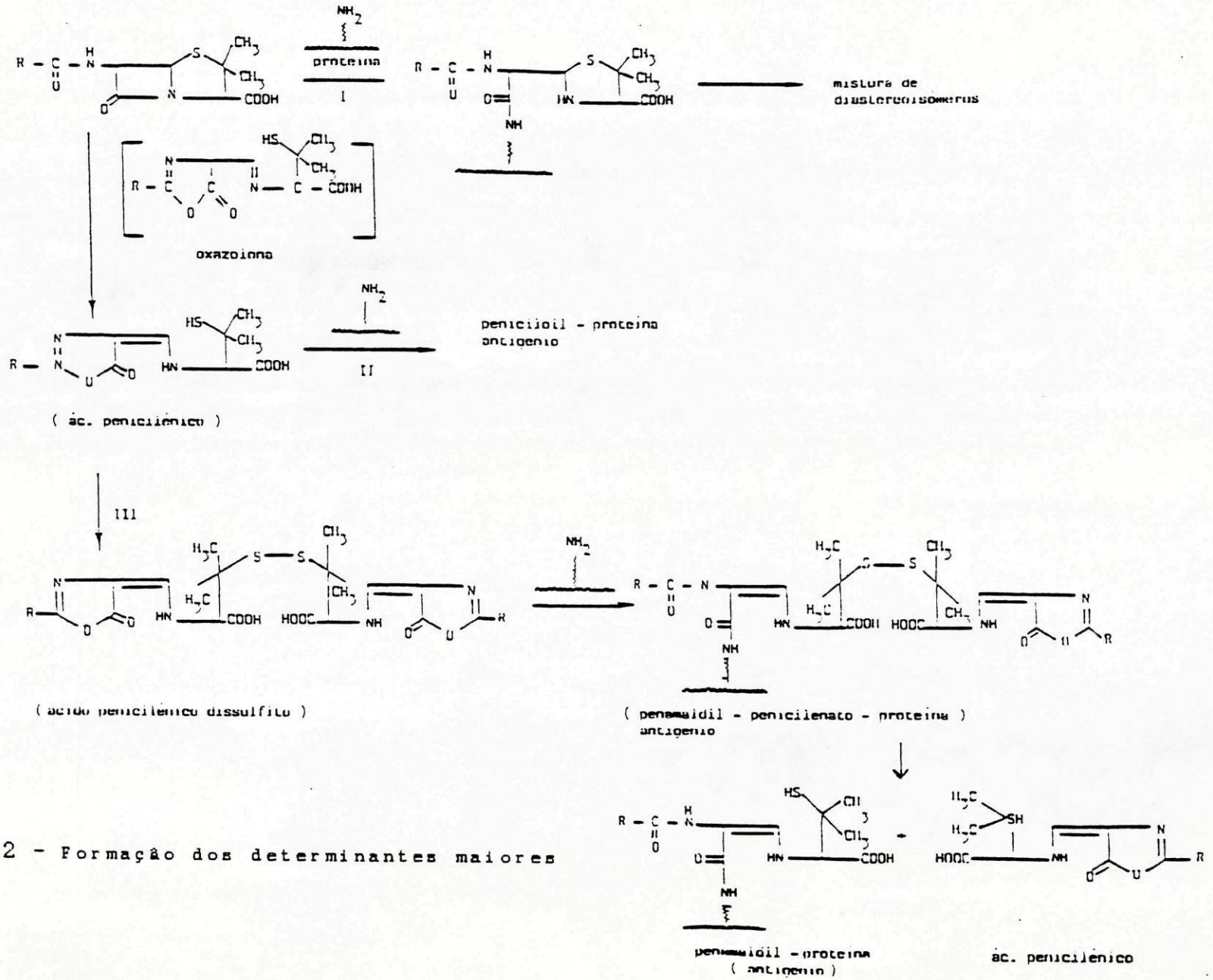


Fig.32 - Formação dos determinantes maiores

le) com o uso de formas tópicas deste antibiótico. O ácido penicilénico nâo requer um meio aquoso para se formar a partir do rearranjo da molécula da penicilina.

O ácido penicilénico pode dimerizar e, após entrar no organismo, pode cindir-se formando-se ácido penicilénico, agora pronto para conjugaçâo directa ou reacção por intermédio da sua funçâo oxazolona e produzir-se uma mistura com conjugados penamaldil--penicilenato (II + III). Estes, por clivagem tardia, podem formar de novo ácido penicilénico e o derivado penamaldilo, por rearranjo, pode originar a formaçâo de antigénio peniciloílo (110).

5.2. OS DETERMINANTES MENORES

Os determinantes menores da hipersensibilidade penicilínica têm também considerável importância. Sâo produtos de degradaçâo como o ácido penicilóico, o ácido penamáldico, o cido penáldico, o 6-APA e a penicilamina, que podem acumular-se durante o armazenamento, sobretudo das soluçôes aquosas, ou formarem-se <u>in vivo</u>.

Assumem também significado os contaminantes das penicilinas, ainda que em pequenas quantidades, os quais podem ser de natureza proteica ou polímeros dos próprios antibióticos.

Dennen e Davis propuseram que a penicilina se decompôe em meio ácido para formar,a pH baixo, maior quantidade de ácido penílico do de que ácido penicilóico (111).

No entanto, Hartmann et al. estudaram a degradaçâo da penicilina V em meios ácido, neutro e alcalino, demonstrando que o ácido penicilóico é o produto primário da hidrólise que, ulteriormente decomposto nas soluçôes aquosas neutras ou ácidas, pode produzir α e β (ou 5R e 5S) isómeros do cido penilóico. Foi também registado que a penicilina V se

hidrolisa em ácidos penilóico e penicilóico em formas sólidas, sendo a hidrólise iniciada pela água englobada ou ligada aos invólucros das cápsulas ou às capas das drageias.

Recentemente, por espectroscospia de ressonância magnética, estudou-se a decomposição a pH 2,5 e a 37 °C da benzilpenicilina (112). Encontrou-se um resultado modificado no

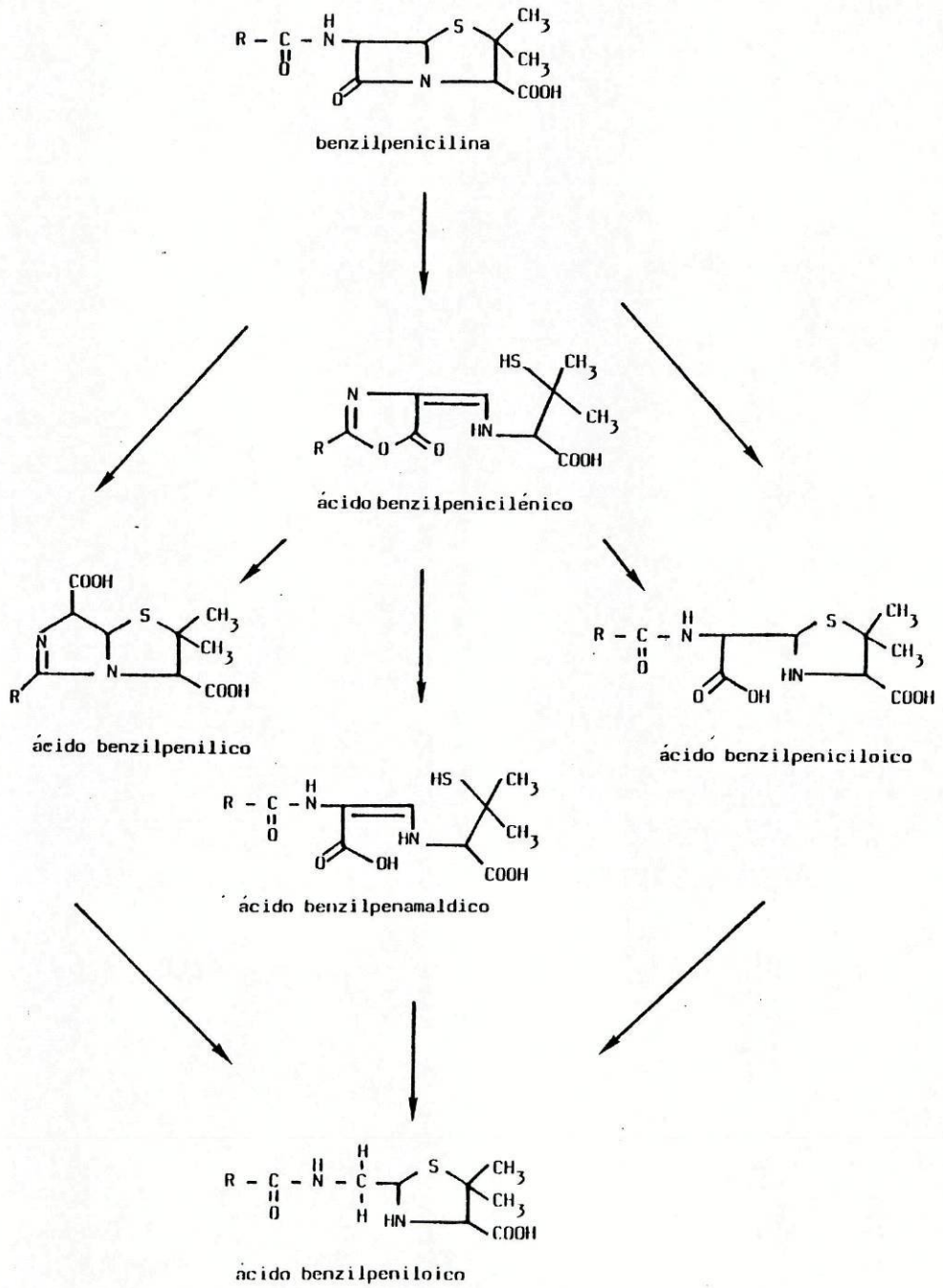


Fig.33 - Degradação da penicilina G por RNM

qual havia só benzilpenilóico como produto final. Nâo foi encontrado nem benzilpenilaldeído nem penicilamina nas soluçôes velhas da penicilina G (Fig.33). Todavia, outros, mais tarde, confirmaram a presença de penicilamina nas soluçôes aquosas ácidas por técnicas polarográficas.

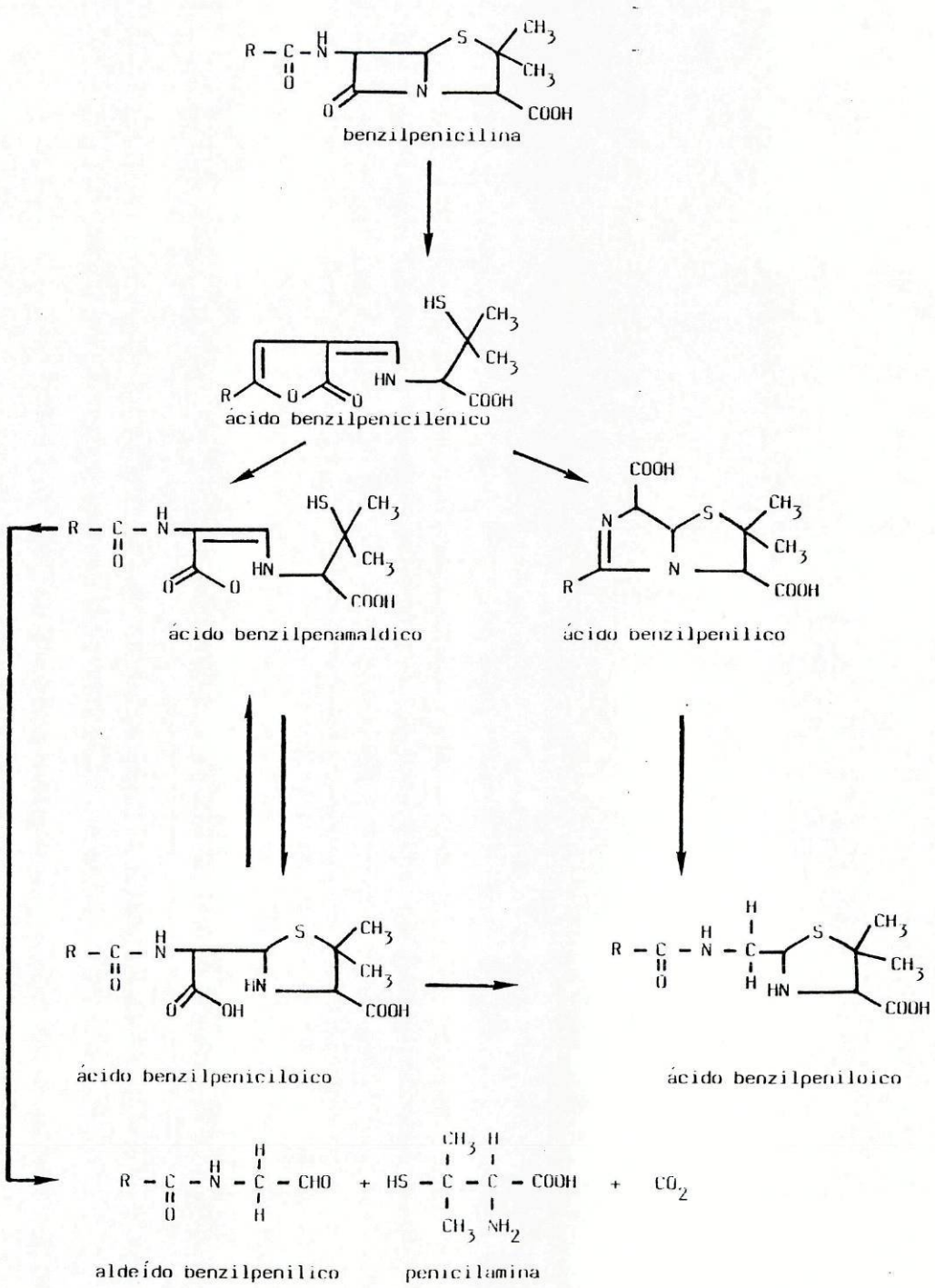


Fig.34 - Degradação da penicilina G em meio ácido

A degradação da benzilpenicilina em meio ácido envolve uma hidrólise catalítica ácida da molécula indissociada para fornecer ácido penicilóico ou também a formação inicial de cido penicilénico a partir da reacção não catalisada da molécula da penicilina ou do rearranjo do anião seguido de ataque por um protão que leva a ácido penílico (Fig.34) (113).

A degradação da penicilina em meio neutro,particularmente nas condições fisiológicas de pH e temperatura (7,4 e 37 °C), ainda hoje não está completamente esclarecida. Uma proposta sugerida está representada na Fig.35 (110).

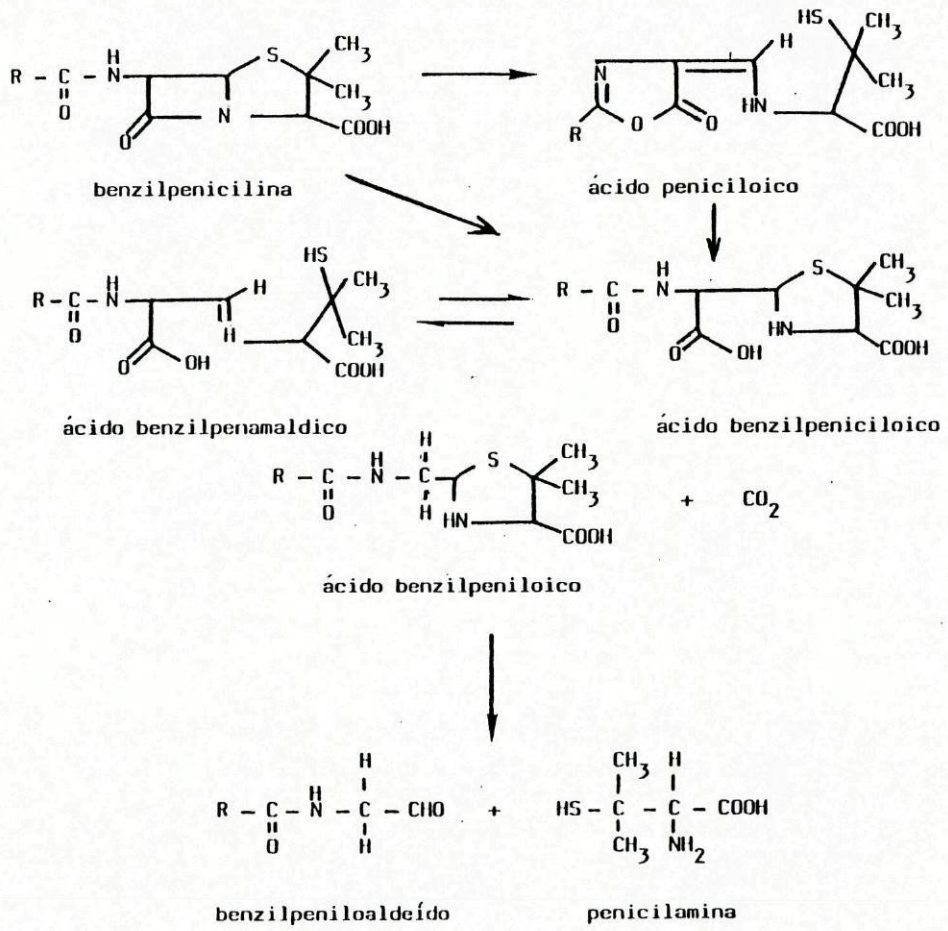


Fig.35 - Degradação da penicilina a pH 7,4

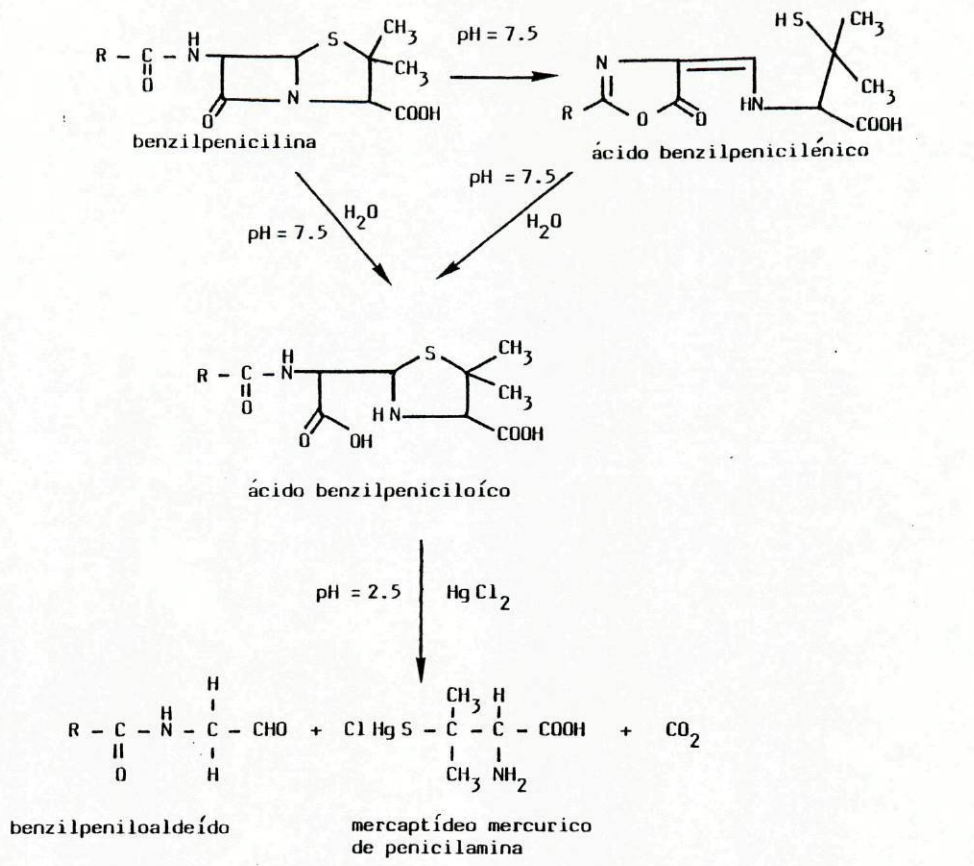


Fig.36 - Degradação da benzilpenicilina a pH 7,5

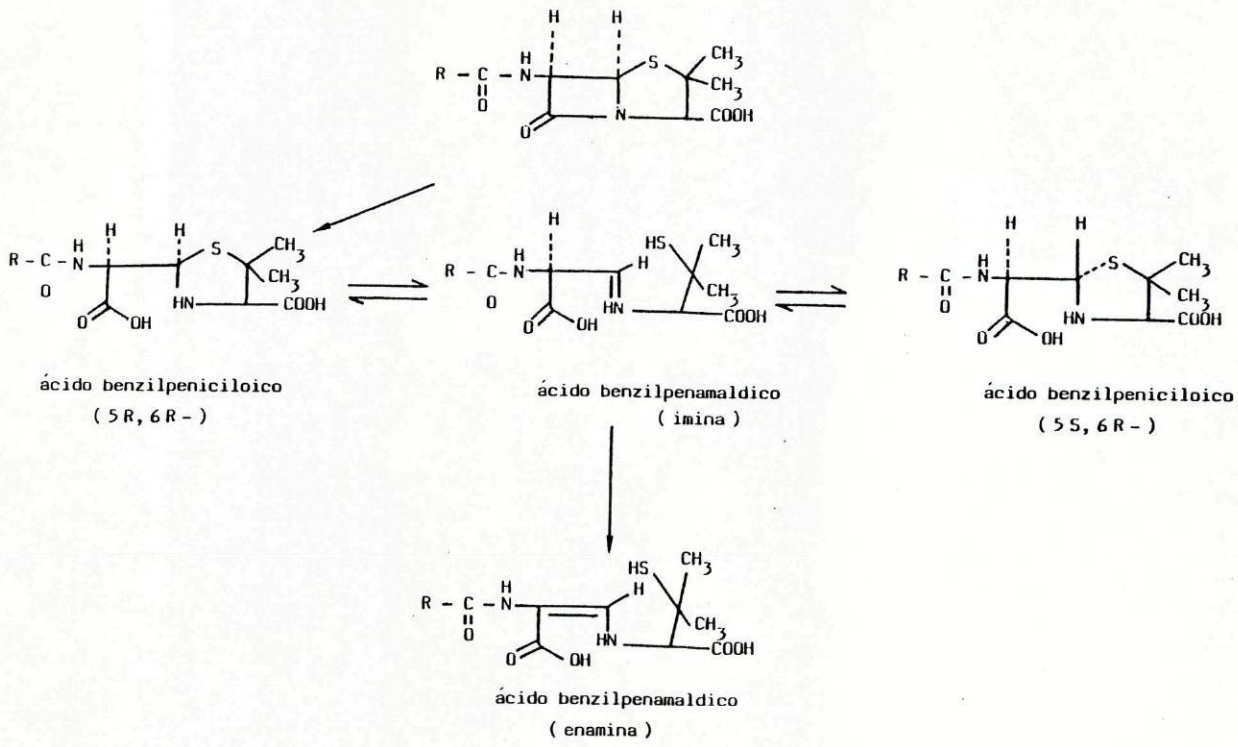


Fig.37 - Degradação da benzilpenicilina a pH 10

A degradação da penicilina G proposta por Levine é por realiza-se passando a ácido penicilóico por rompimento do anel β-lactâmico ou então via ácido penicilénico que depois se hidrolisa dando uma mistura de isómeros (Fig.36) (114).

Outro esquema de degradação inclui os epímeros do ácido penicilóico (Fig.37) (115).

Qualquer produto que potencialmente possa originar grupos peniciloílo (antigénicos) é considerado determinante.

Estes grupos peniciloílo podem aparecer como ácido penicilóico livre, combinados com a penicilamida ou esterificados (116).

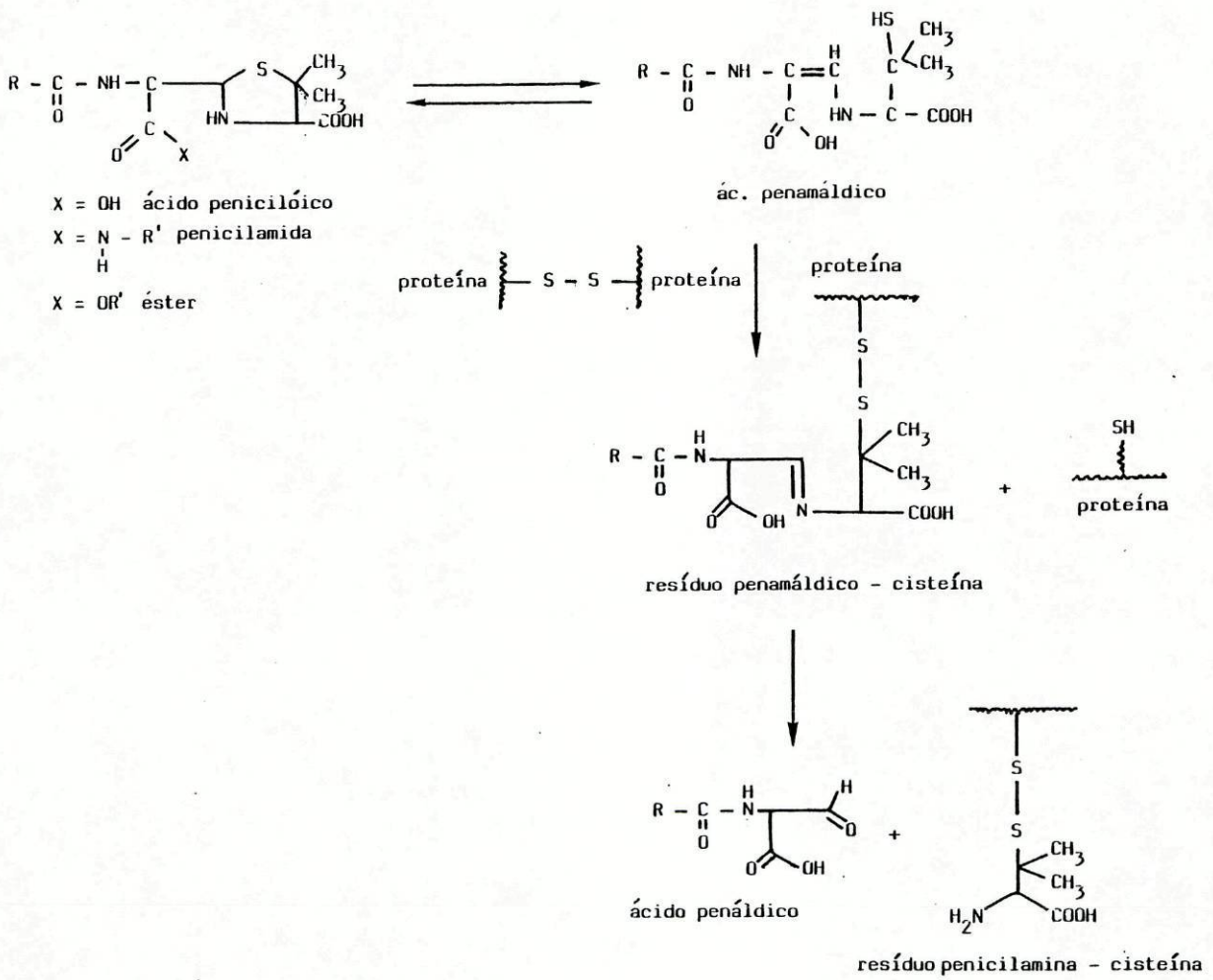


Fig.38 - Formação de antigénios a partir do grupo peniciloílo

O ácido penicilóico é produto representativo da hidrólise e da excreção da penicilina. Pode dar origem a estruturas capazes de se combinarem com proteínas in vivo. Pode ocorrer a isomerização do ácido penicilóico através do ácido penamáldico, a qual é catalisada pelo iâo Cu, dando-se mais rapidamente em meio ácido e independentemente do pH na zona (7,3-12,5) (117,118,119,120).

O ácido penicilóico é considerado como fraco determinante, ainda que seja estruturalmente inapaz de reagir com proteínas para a formação de conjugado peniciloilo e, por conseguinte, não possa conduzir à produção de anticorpos específicos. É assim, porque o ácido penicilóico pode reagir com as ligações S-S para formar resíduo de penicilamina--cisteína, o qual poderá combinar-se rapidamente com uma molécula de penicilina presente (121). Alguns pacientes apresentam reacção imunológica posítiva quando testados com ácido penicilóico.

Provavelmente o caminho químico envolve primeiramente uma troca entre cisteína-dissulfito e o ácido penamáldico, seguida de decomposição do produto para uma mistura penicilamina-cisteína. Os grupos penamaldatos também podem ser formados a partir das penicilamidas por isomerização in vivo catalizada pelo Cu.

Demonstrou-se que a porção penicilamina proveniente da degradação do penamaldato mostrada é o antigénio determinante e foi identificada juntamente com o ácido penicilóico e 6-APA como um produto de metabolização da penicilina.

Uma possibilidade in vivo poderá ser a formação do penilaldeído convertido via penamaldato do grupo penicilamida--proteina. A junção de um grupo amina formaria uma base de Schiff. Um grupo de investigadores verificou que o penilaldeído reage com o ácido ∈-aminocapróico a pH 7,4 em tampão de fosfatos 0,1 M originando um derivado cujo máximo de absorção se situa em 280 nm.

O 6-APA, intermediário chave que se integra, tanto na fermentação, como na preparação das penicilinas semi-sinté-

ticas, pode aparecer como contaminante nas preparaçôes de penicilinas.

Certas bactérias entéricas promovem a hidrólise das penicilinas por intermédio de uma amidase e originam o 6-APA <u>in vivo</u>. Pequenas quantidades foram encontradas como resultantes da hidrólise alcalina <u>in vitro</u> (a penicilina V produz maior quantidade).

O 6-APA reage com a poli-L-lisina, ácido ∈-aminocapróico e proteinas a pH 7,4 para produzir derivados semelhantes aos determinantes peniciloílo. Esta é uma hipótese para a conjugaçâo às proteinas <u>in vivo</u>.

O 6-APA, nâo tendo cadeia lateral, nâo forma directamente ácido penicilénico. Polimeriza-se a pH neutro podendo os polímeros conter 7 a 8 unidades. Abaixo de pH 7,5 a reacçâo de hidrólise é predominante, enquanto que acima daquele valor a dimerizaçâo é mais pronunciada e segue uma cinética de segunda ordem. O dímero, sendo um acil 6-APA, pode por rearranjo formar ácido penicilânico, capaz de reagir com proteínas ou com outra molécula de 6-APA e dar macropolímeros (112).

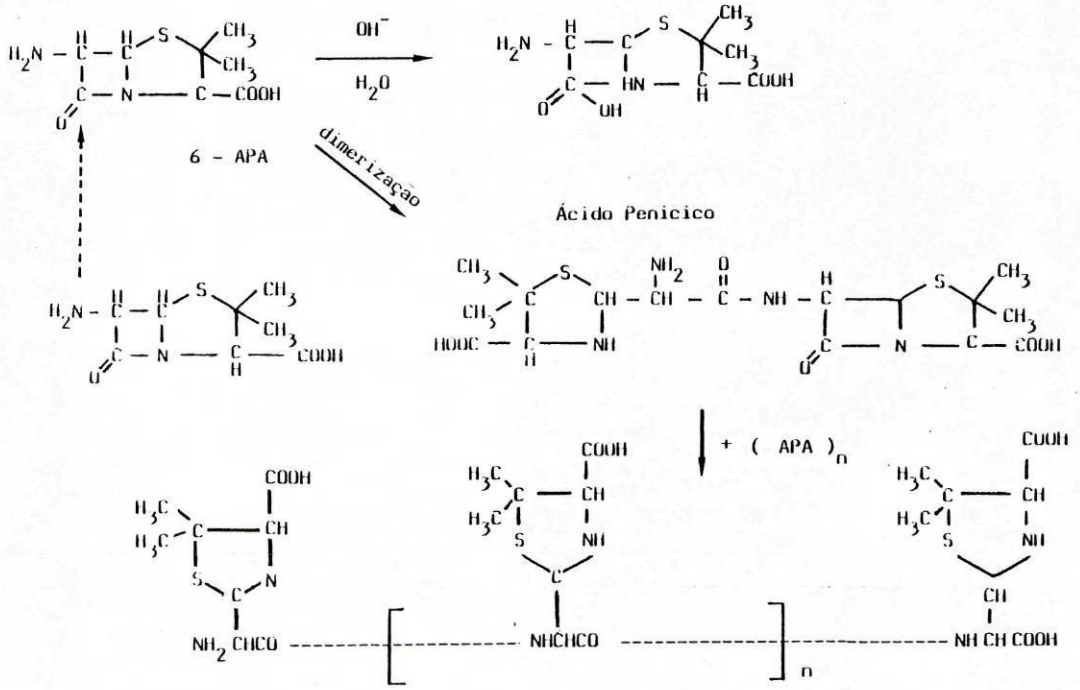


Fig.39 - Polimerizaçâo do 6-APA

De dada quantidade de penicilina introduzida no organismo a maior fracção é excretada sem alteração pela urina e a fracção menor é metabolizada. Alguns metabolitos são biologicamente activos. A p-hidroxifenoximetilpenicilina foi encontrada como sendo o principal metabolito da fenoximetilpenicilina em humanos (123). A via metabólica da hidroxilação dos aneis benzénicos é a que se pensa ser a mais provável para a metabolização das penicilinas.

O ácido penicilóico foi identificado como um metabolito inactivo. Reconhecido já como um intermediário de certos antigénios in vivo, a sua formação será uma etapa a considerar na hipersensibilização.

Também como metabolito da penicilina G foi encontrado o ácido fenacetúrico que mostra potencial reactividade com o ácido penicilóico (124).

Menciona-se a presença do 6-APA na urina humana.

As impurezas (material proteico ou polímeros penicilínicos), mesmo que presentes em pequenas quantidades, apresentam potencialidades para originar alergias.

A benzilpenicilina, por fermentação e com exposição às proteínas, tem possibilidade de formação de peniciloíl-proteína durante o processo e esta, se não foi bem extraída, acompanhará a penicilina.

A principal fonte de 6-APA provém do tratamento da penicilina G pela amidase de E.coli que lhe remove a cadeia lateral. Qualquer proteína como impureza proveniente da benzilpenicilina pode acompanhar o processo e aparecer inclusivamente nas penicilinas semi-sintéticas.

Por diálise de grandes volumes de soluções de penicilinato de sódio mostra-se haver grandes porções de impurezas imunogénicas de elevado peso molecular, contendo material proteico e grupos peniciloílo ligados. Após remoção destes contaminantes e depois de um repouso das soluções, foi encontrado outro material polimérico que por análise se verificou tratar-se de derivados penicilínicos, talvez do ácido penicilénico, que combinado com proteinas residuais da peni-

cilina bruta possa formar potentes alergenos.

Um problema importante diz respeito à imunogenicidade da penicilina bruta ou purificada. Weck et al. verificaram que, para os coelhos, tanto a penicilina purificada como a bruta eram imunogénicas, mas a hidrólise alcalina destruía a maior parte do material imunogénico.

Pacientes submetidos a testes imunológicos dão reacções diferentes. Uns reagem à penicilina bruta e não à purificada outros, porém, dão só reacção à penicilina pura, e a maior parte reage aos dois tipos. Assim sendo,não são só os contaminantes os responsáveis pelas respostas alérgicas.

A ampicilina e suas congéneres, sendo ácido-estáveis não formam com facilidade ácidos penicilénicos. A alergenicidade não pode ser devida a esse facto, pondo-as em paralelo com a meticilina ou a penicilina G.

A dimerização e a polimerização das aminopenicilinas processam-se de modo semelhante ao que foi proposto para o 6-APA, isto é, por ataque nucleofílico do grupo amina livre da cadeia lateral ao carbonilo do anel β-lactâmico da segunda molécula (125,126).

Esta reacção está sujeita a catálise ácida ou alcalina por grupos amina protónicos e não protónicos, respectivamente. No caso da amoxicilina também pelo grupo hidroxilo fenólico a outras moléculas da penicilina. A tendência para a dimerização é maior para a amoxicilina, seguindo-se a epicilina e a ampicilina e formando-se muito menor quantidade de dímeros no caso da ciclacilina (20 vezes menos que na ampicilina) (127). A velocidade de desaparecimento dos grupos amina primária segue aquela mesma ordem.

Os factores estruturais podem influenciar as diferentes velocidades de dimerização das aminopenicilinas. No caso da ciclacilina a fraca capacidade do grupo NH_2 para atacar o carbonilo e, por conseguinte, não dar polímeros com facilidade, deve-se ao impedimento estérico desse grupo.

Concomitantemente com a dimerização, as aminopenicilinas degradam-se por hidrólise, produzindo os correspondentes

ácidos penicilóicos.

A meticilina é degradada facilmente a ácido penicilénico do qual a fracção macromolecular nâo proteica provavelmente é derivada. As fracções nâo dialisáveis da meticilina e da ampicilina mostraram muito baixa capacidade imunológica para provocar reacções de hipersensibilidade nos pacientes. Podem conjugar-se in vivo com proteínas e desenvolverem uma série de reacções perigosas.

O facto de nâo se encontrar nenhuma impureza proteica na meticilina e ampicilina tem significado. Ambas sâo preparadas a partir do 6-APA, por sua vez obtido a partir da penicilina G. Os processos de extracção sâo suficientes para eliminar algum resíduo proteico que pudesse existir na penicilina original. Parece então ser possível preparar benzilpenicilina livre de proteínas pelo mesmo método (acilação do 6-APA com cloreto do ácido fenilacético) (109).

II-V – PARTE EXPERIMENTAL

II - ESTUDO DA ESTABILIDADE DE SUSPENSÕES ORAIS DE AMINOPENICILINAS

1. INTERESSE
2. CONSIDERAÇÕES SOBRE A ESTABILIDADE
2.1. ENSAIOS PRELIMINARES
2.1.1. ESTUDO DA ESTABILIDADE DA CICLACILINA EM MISTURAS SOLIDAS - VARIAÇÃO DO pH, DA ABSORVENCIAS E DO TEOR EM CICLACILINA
2.1.2. MATERIAL E MÉTODOS
2.1.3. RESULTADOS
2.1.4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES
2.2. ESTUDO DA ESTABILIDADE DA CICLACILINA, AMOXICILINA E AMPICILINA EM SUSPENSÃO AQUOSA EXTEMPORÂNEA - EFEITO DA TEMPERATURA NA CONSERVAÇÃO
2.2.1. MATERIAL E MÉTODOS
2.2.2. RESULTADOS
2.2.3. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES
2.3. CICLACILINA EM SUSPENSÃO NÃO AQUOSA

II - ESTUDO DA ESTABILIDADE DE SUSPENSÕES ORAIS DE AMINOPENICILINAS

1. INTERESSE

A maior parte dos fármacos recentes são basicamente hidrófobos ou apresentam baixa solubilidade aquosa. Tais características tornam inaceitável a sua administração na forma de soluções pelo enorme volume, necessário em muitos casos para cumprimento da dose terapêutica.

As suspensões ultrapassam este problema, uma vez que as formulações consentem quantidades razoáveis de fármacos em pequeno volume de líquido, onde a resistência à hidrólise e oxidação é em geral melhorada quando comparada com a das soluções aquosas.

Sobretudo crianças e idosos manifestam preferência pelas suspensões orais em detrimento das cápsulas e comprimidos, pela facilidade de deglutição, evidenciando-se ainda mais a adesão ao medicamento nessas classes etárias se, as formulações forem de algum modo atractivas na cor e embalagem prática, mas sobretudo se contiverem o edulcorante escolhido em conformidade com o sabor que se pretende mascarar (128).

Embora se possam apontar algumas desvantagens aos sistemas heterogéneos, o avanço do estudo teórico e o desenvolvimento tecnológico têm feito das suspensões formas farmacêuticas muito divulgadas.

Consideram-se todas estas razões com objectividade suficiente para promoverem interesse de parte do trabalho ex-

perimental realizado com a finalidade de aplicação na antibioterapia clínica.

2. CONSIDERAÇÕES SOBRE A ESTABILIDADE

As suspensões farmacêuticas líquidas integram-se nos sistemas dispersos, caracterizados pela heterogeneidade de fases com comportamento diverso. Dada a inexistência de afinidade sólido/líquido e perante diferenças qualitativas e quantitativas mais ou menos desequilibradas entre as fases dispersa e dispersante, estabelecem-se condições de instabilidade das preparações. Na diversidade dos casos possíveis, as formulações devem conter os constituintes suficientes para uma boa estabilidade física, traduzida em floculados facilmente redispersíveis, evitando-se de todo o aparecimento de massas aglomeradas.

Segundo o método da dispersão para preparação de suspensões quer extemporâneas,quer definitivas, as partículas insolúveis terão que ser molhadas completamente pelo líquido não permanecendo ar na interfase. Quando se põem em contacto as duas fases pode manifestar-se completa molhabilidade, ou repelência marcada se a flutuação das partículas é visível. Ocorrem mais frequentemente situações intermédias, havendo entre o sólido e o líquido um ângulo de contacto, que é diminuído com a introdução de molhantes, situados de preferência na interfase. São numerosas as substâncias capazes do desempenho da função molhante, assentando o critério de escolha nas propriedades tensioactivas, na ausência de toxicidade ou na força anti-flutuação. Para suspensões de fase externa aquosa utilizam-se, de uma maneira geral, os tensioactivos O/A, os quais intervêm na diminuição da tensão interfasial sólido/líquido e, também, na tensão superficial da água. Se a fase contínua fôr um líquido com características apolares é preferido outro tipo de substâncias, como por exemplo, o monoestearato de alumínio ou os spans.

Embora sem carácter tensioactivo, utilizam-se também macromoléculas como a carboximetilcelulose, o Aerosil, etc, às quais é conferido certo grau de molhabilidade por se oporem à flutuação.

Desde o contacto das duas fases até à administração da preparação e durante a sua utilização, medeia todo um tempo durante o qual as partículas tendem a depositar. Entretanto para uma posologia correcta é necessário que o sólido se encontre perfeitamente disperso no seio do líquido.

Estamos perante sistemas fluidos, de mecânica complexa, onde diversos tipos de forças actuam, umas conjugadas e outras opostas, das quais a resultante exprime o comportamento das preparações.

Sabe-se que cada partícula sólida dispersa no seio de um líquido tem tendência intrínseca para atraír a que lhe está mais próxima. Daí a origem de dupletos, tripletos, etc que tendem a depositar, aumentando a velocidade de sedimentação se não houver forças no sistema que actuem em sentido contrário. A teoria chamada de D.V.L.O.(*) relaciona as forças de Van der Waals e as de repulsão electrostática entre partículas, para interpretar em parte os fenómenos da estabilidade (129,130). A energia de interacção (VT) é definida como a soma da força de repulsão (VR) com a força de atracção (VA). Tanto os valores de VR como os de VA são susceptíveis de serem estimados mediante condições particulares de valores limitados de potenciais zeta e distâncias entre partículas. Para distâncias relativamente grandes (>100 Å) fazem-se sentir as forças de London e as repulsivas que resultam da dupla camada, em função da separação, do raio das partículas e do potencial de superfície. A energia de atracção depende das propriedades moleculares, tamanho e constituição atómica e bem assim do meio onde se encontram. É independente das propriedades eléctricas das partículas e da sua concentração.

(*) - Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek.

Resultará um valor sempre positivo para VT se VR > VA o que equivale a um alto potencial repulsivo na dupla camada. Na prática tal pode traduzir-se no facto das suspensões exibirem resistência à agregação. Essa resistência aumenta com a diminuição do tamanho das partículas, resultando só um sedimento, a prazo muito longo, pela influência da gravidade.

São raros os casos de estabilidade permanente. Concretamente, nas suspensões de penicilinas isso nunca se verifica.

O oposto ao descrito é o estado da rápida floculação, situação em que as forças de atracção são maiores que as de repulsão (VA > VR). Na generalidade, para pequenas distâncias o potencial de energia entre duas partículas é negativo. Para distâncias intermédias o potencial energético começa a ser positivo devido à repulsão das duplas camadas.

Um alto potencial de barreira pode ser ultrapassado se as partículas estão suficientemente próximas para se atingir um nível mínimo de energia. O valor requerido para o máximo de potencial de superfície capaz de prevenir esta situação equivale a um potencial zeta de 50 mV. Assim sendo, em formulações farmacêuticas deve procurar-se um sistema que atinja sensivelmente aquele valor. Os agregados formados no nível mínimo de energia mostram-se muito compactos. A suspensão torna-se muito difícil de redispersar e só com agitação muito vigorosa se consegue alguma melhoria, mas sempre em precárias condições.

Existe um nível secundário de energia (>1000 Å) que corresponde ao desprendimento de flóculos facilmente redispersíveis por agitação ou diluição.

Para ajudar a reter o sistema num estado metaestável recorre-se muitas vezes a substâncias capazes de serem adsorvidas à superfície das partículas, formando uma película de revestimento. As partículas sólidas adquirem um filme carregado electricamente. A película envolvente concorre para a estabilização do sistema e o termo genérico utilizado para referir estes casos é o de "estabilização estérica".

Consoante as características estruturais desses agentes, é diferente o seu mecanismo de acção, embora qualquer deles tenha a mesma finalidade.

Físicos e matemáticos têm desenvolvido esforços no sentido de quantificar teoricamente os potenciais energéticos destes complexos sistemas, mas numerosas variáveis que têm que ser tomadas em consideração tornam os modelos inadequados para explicar todas as situações.

Na formulação farmacêutica utilizam-se agentes tensioactivos, colóides protectores e substâncias polimerizadas como estabilizantes das suspensões. Alguns deles são só utilizados para uso externo. Dada a gama alargada de estabilizantes, as características de actuação de uns são um pouco comuns a outros. Com frequência acontece que os tensioactivos diminuem a viscosidade da suspensão ao destruir a estrutura do flóculo. Este facto ajuda a pensar ser possível aumentar a quantidade de substâncias sólidas nas formulações.

Os colóides protectores (gomas naturais ou sintéticas, alginato de sódio, gelatina, etc) revestem as partículas sólidas ficando muitas vezes a superfície da partícula carregada electricamente e estabelecendo-se pontes de hidrogénio entre o hidrato e a água. Estes protectores, tal como os polímeros (chamados também agentes defloculantes ou dispersantes), diferem dos tensioactivos na actuação sobre a tensão superficial e interfasial, pois não as reduzem de maneira apreciável. Além disso, incrementam o potencial zeta e formam barreira mecânica impedindo a agregação das partículas. A utilização de colóides protectores em concentrações bastante maiores que as dos outros dois tipos de estabilizantes, faz aumentar substancialmente a viscosidade, o que dificulta a sedimentação e a agregação. Ao mesmo tempo anulam de todo os movimentos brownianos que eventualmente pudessem ainda existir. O aumento da viscosidade impede também o crescimento dos cristais e a tendência à formação de agregados, devido à diminuição da velocidade de difusão das partículas.

A expressão da lei de Stokes(*) é utilizada para a análise simples do fenómeno, porquanto as condições de validade perfeita da equação não são verificadas nas suspensões, a não ser de forma aproximada. Desde logo, o volume da fase dispersante nestas formas orais não é muito superior ao das partículas sólidas; pelo contrário, em grande parte dos casos a percentagem de partículas sólidas (p/v) é elevada. As características das partículas afastam-se largamente do preconizado pela referida lei quanto à forma esférica e superfície lisa. As características morfológicas das partículas têm sido objecto de estudos recentes onde se relacionam o contorno com os diferentes campos de aplicação galénica e até com práticas biomédicas (131).

As forças que se exercem no sedimento são gravitacionais, de fricção, reaccionais e de natureza eléctrica (132).

As forças gravitacionais têm sentido na direcção do sedimento e a magnitude da massa deste. Em direcção contrária ao sedimento exercem-se as forças de fricção e reacção que se relacionam com a viscosidade e até com a geometria do contentor da suspensão. A velocidade dos fluidos foi também estudada por Kozeny que considera precisamente a forma da secção como uma das variáveis interferente no valor da velocidade, além de outras grandezas (133).

A força eléctrica assume-se como contrária ao eixo do sedimento e parte-se do princípio que aumenta a repulsão quanto mais próximos estiverem os flóculos, intervindo aí também a quantidade de líquido presente.

Na cinética da agregação o termo "coagulação" é usado quando as forças envolvidas são principalmente físicas, devido à redução das forças repulsivas da dupla camada. O termo "floculação" é aplicado no caso de ligação entre partículas. Como na maior parte dos casos é difícil distinguir o tipo de forças intervenientes, usa-se o termo "agregação".

(*) -

$$V = \frac{2r^2 g(d_1 - d_0)}{9\eta}$$

Fala-se em partículas "defloculadas" quando se encontram isoladas num sobrenadante turvo de um sistema com agregados provenientes de uma lenta sedimentação.

As suspensões com elevado potencial zeta sedimentam lentamente dando tempo para as partículas de menores dimensões se colocarem nos espaços deixados pelas partículas maiores. Desse arranjo geométrico provêm massas pastosas dificilmente redispersíveis (caking).

Com a ajuda de um electrólito de sinal contrário à carga da partícula consegue baixar-se o potencial zeta e obter-se rápida sedimentação com grande volume de sedimento, sem tempo para a formação dos agregados compactos, ficando os flóculos soltos e a suspensão facilmente redispersível.

A floculação controlada baseia-se precisamente na obtenção de um potencial zeta com um valor intermédio, em que na prática a suspensão se apresente com tendência para a floculação, mas sem atingir o máximo.

Para preparar fórmulas deste tipo convém um estudo prévio experimental para observar a eficácia do agente floculante e determinar a sua concentração na suspensão. Segundo Schulze-Hardy a crescente valência dos iões parece determinar a eficiência de um electrólito na coagulação das partículas em ritmo cada vez maior (134).

Vários investigadores realizaram trabalhos sobre a estabilidade física das suspensões utilizando a relação HS/HL(*). Jones e col. relacionaram o volume de sedimento com a concentração de cloreto de alumínio para flocular a sulfaguanidina (135).

O volume de sedimento pode ser relacionado com o tempo e essa relação serve para o estudo comparativo de formulações. Mais possibilidades dá a relação HS/HL quando tomada como linha de base correspondente a um estado de floculado e a partir daí se obtêm sedimentos próprios de estados floculados.

(*) - HS/HL - altura do sedimento/altura do líquido.

A altura do sedimento depende da concentraçâo e do tamanho das partículas sólidas em dado veículo. Ward e Kammermeyer usaram a relaçâo HS/HL para obterem um dado pertinente caso se consiga obter uma linha recta entre o logarítmo dos pesos das partículas e aquele quociente. Pode então prever-se a altura do sedimento para dada concentraçâo de partículas sólidas multiplicando a altura do líquido pelo factor relativo à concentraçâo correspondente (HS/HL) (136).

Por vezes tem que se revestir a partícula, modificando-lhe a carga e só depois usar o agente floculante. Nestes casos tem importância o controlo do pH, pois é muito vulgar o uso de revestimentos com produtos anfotéricos e, como se sabe têm cargas de sinal contrário para determinadas zonas de pH, antes e depois do ponto isoeléctrico. Também as próprias partículas podem ter carácter anfotérico (aminopenicilinas) havendo, então, cuidado bastante para nâo criar condiçôes de instabilidade química, condicionante do sucesso físico a estudar.

A instabilidade das suspensôes nâo é exclusivamente devida a fenómenos físicos. Reacçôes químicas podem concorrer para a formaçâo de massas agregadas no fundo dos recipientes e comprometer definitivamente a utilizaçâo das preparaçôes.

Pode, certamente, nesta altura pôr-se o problema de nâo ser prática corrente a floculaçâo controlada nas suspensôes industrializadas. A verdade é que em muitos casos nâo há necessidade imperativa de a executar.

Nas formas extemporâneas, por exemplo, dado o seu curto prazo de utilizaçâo nâo se pratica a floculaçâo controlada, além de que encarece com certeza o medicamento e sobretudo evitam-se incompatibilidades nas suspensôes muito complexas.

Quando se trata de preparaçôes aquosas definitivas há então conveniência em controlar devidamente a floculaçâo. Se as suspensôes nâo sâo aquosas, nâo haverá praticamente ionizaçâo e o problema da estabilidade física é resolvido por outros meios.

Apenas teoricamente, as partículas mostram insolubili-

dade absoluta, perante o meio líquido dispersante. Na preparação de suspensões é vulgar constarem fármacos que quanto à solubilidade em termos gerais podem ser, segundo a actual farmacopeia, desde " ligeiramente solúveis" até " praticamente insolúveis". Acresce, ainda, que a dimensão e forma das partículas influenciam a solubilidade. Mesmo na distribuição de grandeza normal existem sempre umas bastante mais pequenas do que a média em cada formulação sendo essas mais solúveis, e à medida que se vão dissolvendo aumenta a probabilidade de a concentração na solução ultrapassar o coeficiente de solubilidade. Pode desde logo uma granulometria heterogénea ser um factor responsável pelo crescimento dos cristais, causadores de instabilidade física (137). Há outros agentes que concorrem para o mesmo fenómeno: o polimorfismo e a variação de temperatura modificam a solubilidade; os molhantes, diminuindo a tensão superficial sólido/líquido, reduzem a diferença de solubilidade entre as partículas de diferente dimensão.

Os tensioactivos não iónicos são bastante empregados, nomeadamente os polissorbatos, utilizados até como substâncias solubilizantes. Têm sido considerados como inertes, mas actualmente crê-se na sua ligação a iões. Assim sendo, a sua presença assume maior importância pela interferência com as cargas e implicações no transporte através das membranas orgânicas (138).

As suspensões orais são agitadas antes de serem vertidas para a respectiva colher de administração. As propriedades do fluxo variam com a agitação e com o escoamento. O comportamento reológico dos sistemas é naturalmente consequência da sua constituição por influência directa da natureza do veículo, relação das quantidades sólido/líquido, diâmetro e forma de partícula, mas sobretudo do agente suspensor. Os agentes suspensores escolhidos deveriam apresentar-se ao mesmo tempo tixotrópicos e pseudoplásticos para um dado ciclo de temperaturas.

Os agentes suspensores de origem natural são susceptí-

veis de originar maior variação nos resultados, consoante a sua proveniência. Trata-se de substâncias complexas nas quais os constituintes, que lhes dão as propriedades plásticas, oscilam e determinam o grau de histerese.

As variações dos reogramas deverão ser nulas ou muito pouco notadas quando se praticam os ensaios de choque térmico. São considerados resistentes os veículos que mantêm a uniformidade de escoamento após um período de envelhecimento (2-3 anos).

É de notar que a resistência dos veículos é influenciada também por outros factores, tais como a conservação microbiológica, ausência de compostos provenientes de reacções químicas com baixas velocidades de reacção, não reactividade do veículo com o contentor e ainda a inércia perante as radiações solares e manutenção da intensidade da cor.

A cor é uma característica organoléptica psicologicamente importante, pois representa uma preferência por vezes decisiva para venda, mas também uma ajuda da detecção da homogeneidade de misturas e ainda da estabilidade. A alteração de cor após o fabrico e durante o período de armazenagem (temperatura, luz, humidade) assinala alguma instabilidade cuja causa pode ser devida ao próprio corante ou à interacção deste com um ou mais constituintes da mistura ou produtos de decomposição.

As listas de corantes permitidos na alimentação, medicamentos e cosméticos estão sujeitas muitas vezes a modificações, havendo casos de corantes, lacas e pigmentos, que ora são autorizados, ora são proíbidos. Isto significa então que os estudos realizados com tais compostos não são concludentes e/ou que as exigências variam segundo vários pontos de vista...

Porque os corantes naturais são em regra mais frágeis do que os sintéticos, há tendência a utilizar estes últimos.

As alterações de cor têm muitas vezes por base reacções de oxido-redução. Também se aproveitam estas reacções para transformar produtos naturais incolores em corados.

A luz proveniente de várias fontes é a principal responsável por parte das alteraçôes dos corantes, de tal forma que o termo "solidez" à luz designa uma resistência que já foi quantificada e escalonada (escalas de Bâlatre, Cooper, F.D.A.) (139).

É difícil estabelecer uma correlaçâo entre a solidez de um corante e a classe química. Contudo, têm revelado maior estabilidade os do tipo quinolina e pirazolona do que os derivados antraquinónicos, e estes mais do que os do tipo trifenilmetano e xanteno (140).

Os agentes tensioactivos, substâncias redutoras e oxidantes, ácidos e álcalis, o amido e açúcares sâo alguns dos adjuvantes capazes de interferir com a estabilidade dos corantes. Por sua vez, estes podem influenciar o comportamento ou a actividade de outros constituintes presentes. Aponta-se como exemplo a modificaçâo da solubilidade dos derivados da celulose e a formaçâo de complexos com a PVP em soluçâo aquosa de eritrosina. Também com este corante se observam fenómenos de inibiçâo da dissoluçâo de algumas substâncias, como o sulfatiazol, a sulfaguanidina, o que poderá repercutir-se na absorçâo gastro-intestinal (141).

2.1. ENSAIOS PRELIMINARES

2.1.1. ESTUDO DA ESTABILIDADE DA CICLACILINA EM MISTURAS SOLIDAS - VARIAÇÃO DO pH, DA ABSORVENCIA E DO TEOR EM CICLACILINA

*	Ciclacilina.....	3,15 g
**	Corante.....	4,5 mg
	Citrato de sódio.....	116,8 mg
	Benzoato de sódio.....	0,3 g
	Dióxido de silício.....	0,43 g
	Açúcar em pó....q.b.p....	45 g

2.1.2. MATERIAL E MÉTODOS:

a) Preparação das misturas sólidas: Os corantes foram previamente diluídos por espatulação numa pequena quantidade do açúcar em pó. As misturas dos pós foram feitas em almofariz de vidro segundo o método da diluição geométrica. Foram seguidamente acondicionadas em papeis farmacêuticos (papel vegetal) e colocados em estufas reguladas para 50 e 70 °C.

b) Determiação da absorvência, do pH e do teor em ciclacilina: Após preparação foram efectuados ensaios iniciais sobre uma amostra de cada mistura. Em tempos julgados convenientes eram retiradas de novo amostras para as respectivas determinações.

Para determinar a absorvência e o pH era pesada suficiente amostra, de tal modo que após junção conveniente de á-

---

* - Lote 533 [vd. Ap. 1]

** - Eritrosina e tartrazina [vd. Ap. 2]

gua destilada e filtração se obtivesse quantidade bastante para avaliar o pH, proceder às leituras espectrofotométricas e, por interpolação na curva de calibração, obter os resultados de cada ensaio [vd. Ap. 2].

Para a determinação do teor em ciclacilina eram pesadas quantidades das misturas em estudo, procedendo-se à junção de água destilada de modo a obter concentrações convenientes (1 ou 2 mg/ml) para o doseamento segundo a técnica da hidroxilamina [vd. Ap. 1].

2.1.3. RESULTADOS:

QUADRO I - Mistura contendo eritrosina (70 °C)

Dias	Absorvências	pH	Ciclacilina(*)
0	0,284	6,05	68,3
4	0,288	7,35	72,9
14	0,278	7,35	68,9
25	0,235	7,60	60,7

(*) - mcg/ml

QUADRO II - Mistura contendo tartrazina (50 °C)

Dias	Absorvências	pH	Ciclacilina(*)
0	0.424	6,05	88,1
4	0,433	6,05	65,3
25	0,450	6,00	71,1

(*) - mcg/ml

QUADRO III - Mistura contendo tartrazina (70 °C)

Dias	Absorvências	pH	Ciclacilina(*)
0	0,424	6,05	88,1
4	0,409	6,05	88,9
25	0,350	6,00	81,7

(*) - mcg/ml

2.1.4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES:

A mistura contendo eritrosina ainda que ao fim de 25 dias a 70 °C apresente um teor tolerável do antibiótico (menos 13,3% do que a quantidade teórica), o aumento de pH é desde logo uma desvantagem por ser indicativo da possibilidade real da destruição da ciclacilina por hidrólise alcalina. Paralelamente, a diminuição da absorvência relativa ao corante permite concluir que a cor não é resistente e as preparações poderiam vir a ser prejudicadas. A mistura com a tartrazina revela uma melhor estabilidade face ao pH e teor em antibiótico, mas os valores das absorvências não dão segurança quanto à manutenção de cor (aumentam a 50 °C e diminuem a 70 °C).*

Considera-se que os resultados obtidos não são suficientemente animadores para ser tomada qualquer das pré-formulações ensaiadas como promissora para uma suspensão de ciclacilina.

* - Pouco depois deste trabalho efectuado a tartrazina foi excluída da lista de corantes permitidos em Portugal. Hoje volta a estar incluída.

2.2. ESTUDO DA ESTABILIDADE DA CICLACILINA, AMOXICILINA E AMPICILINA EM SUSPENSÃO EXTEMPORÂNEA - EFEITO DA TEMPERATURA NA CONSERVAÇÃO

* Antibiótico	5 g
Caulino	20 g
Alginato de sódio	1 g
Sacarina sódica	0,05 g
Vanilina	0,01 g
Benzoato de sódio	0,36 g
Acido benzóico	0,23 g
Nipagin	0,03 g
Nipazol	0,01 g
Fosfato de riboflavina	0,05 g
Agua destilada .....q.b.p.....	100 ml

Esta fórmula foi estabelecida após pré-formulação. Foram necessários pequenos acertos nas quantidades de vanilina, sacarina sódica e riboflavina para melhoria das características organolépticas. Quanto ao sabor foi efectuado um teste oculto em 6 adultos (homens e mulheres) com resultado positivo.

Após estudo químico foi experimentada a administração da suspensão de amoxicilina em uma criança de 5 anos do sexo feminino. A adesão foi completa. Faz-se notar que esta administração foi praticada no seguimento a uma terapêutica de uma forma comercializada do mesmo antibiótico.

---

* - Ampicilina anidra (lote 35355), ciclacilina (lote 617), amoxicilina tri-hidrato (lote 112), [vd. Ap.1]

2.2.1. MATERIAL E MÉTODOS:

a) Preparação e acondicionamento das suspensões: o conteúdo sólido foi preparado manualmente segundo as regras de mistura de pós tendo o cuidado prévio de secar em estufa o caulino e o alginato de sódio. Este foi passado por tamis de 500 malhas para melhor homogeneização. Ao mesmo tempo foram ainda preparadas misturas sem antibiótico e outras sem corante.

Em provetas de vidro foi adicionada água destilada sobre determinada quantidade de mistura sólida conforme a formulação indicada. Em frasco de vidro escuro acondicionaram-se iguais suspensões. Um grupo foi colocado no frigorífico e outro igual permaneceu à temperatura ambiente. Prepararam-se tantos grupos quantos os necessários para estudo. Assim, desde logo se iniciou o estudo comparativo da estabilidade química das três penicilinas em veículo aquoso para suspensão extemporânea.

b) Doseamento das penicilinas: As amostras para doseamento foram retiradas dos frascos com pipeta, sendo as suspensões acondicionadas nas provetas somente para um controlo visual das características organolépticas e também para padronizar a agitação antes da retirada das amostras para ensaio. Para tentar minimizar os erros de técnica uniformizaram-se as amostras (4 ml) recolhidas para balão completando o volume de 100 ml com tampão de fosfatos de pH 6. Estas suspensões diluídas necessitavam ser filtradas por filtros de poros apertados (Gelman 0,1 a 40 μm). Sobre 2 ml do filtrado procedeu-se ao doseamento [vd. Ap.1]. Prepararam-se de igual modo amostras para ensaio retiradas das misturas sem antibiótico e das que não continham corante com o objectivo de detectar alguma interferência. Durante o tempo de duração dos ensaios não se verificou anomalia devida à presença da riboflavina.

A técnica de análise, já anteriormente seguida, baseou-se no ataque nucleofílico pela hidroxilamina e posterior adição de ião férrico ao ácido hidroxâmico formado. A inten-

sidade de coloração do complexo foi avaliada por leituras das absorvências em 480 nm, e, com referência a um padrão, encontraram-se os teores de antibiótico (mcg/mg) da amostra submetida a ensaio. Faz-se notar que foram tomadas para padrões as penicilinas dos mesmos lotes que serviram para a preparação das suspensões, não se atendendo ao grau de pureza.

No caso do doseamento das misturas sólidas (QUADRO VI), para averiguar o envelhecimento do pó foram usadas como referência penicilinas diferentes das que serviram para a preparação de cada mistura e o grau de pureza foi tomado em conta para efeito de cálculo.

As leituras de pH foram efectuadas em amostras retiradas do pó em estudo e adicionadas de água destilada segundo a proporção da fórmula das suspensões. Após conveniente agitação e intervalos de repouso efectuaram-se as leituras.

2.2.2. RESULTADOS:

Cada valor é a média de 2 ou 3 ensaios.

QUADRO IV - Teores (mcg/mg) de Ciclacilina e Amoxicilina tri-hidrato em suspensão aquosa a 20±5 °C.

Dias	Ciclac.	Amox. tri-h.
0	171,0	168,0
6	——	155,1
7	170,5	——
9	——	156,5
16	——	168,5
17	169,1	——

QUADRO V - Teores (mcg/mg) de Ampicilina anidra, Ciclacilina e Amoxicilina tri-hidrato em suspensão aquosa a 5 °C.

Dias	Amp. anid.	Ciclac.	Amox. trih.
0	181,2	169,1	164,7
1	———	———	154,7
4	200,9	———	169,9
5	———	180,9	189,9
6	———	———	179,6
9	186,1	172,9	———
11	———	———	167,5
14	180,4	———	———
15	———	166,6	———
18	187,7	———	———
21	———	171,2	———

QUADRO VI - Teores (mcg/mg) de Ampicilina anidra, Ciclacilina e Amoxicilina tri-hidrato em misturas sólidas para suspensão extemporânea armazenadas a 20±5 °C

Tempo	Amp. anid. (pH)	Ciclac. (pH)	Amox. trih. (pH)
0	185,6 (5,45)	195,5 (5,2)	187,3 (5,1)
3 anos	167,9 (4,7)	182,9 (4,7)	179,3 (4,5)
Quebra %	9,0	9,3	9,5
Embalagem(*)	Vidro escuro sem cartolina	Vidro escuro sem cartolina	Polietileno sem cartolina

(*) - [vd. Ap. 3]

2.2.3. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES:

Segundo a posologia, é usual o conteúdo de cada embalagem de suspensão extemporânea de antibiótico ser consumido em 8 a 10 dias.

A duração dos ensaios, efectuados tanto à temperatura ambiente como à do frigorífico, excedeu bastante esse período, não havendo dúvidas quanto à manutenção do teor no período de administração.

Alguma diversidade de resultados encontrados tem que ser analisada relativamente a um sistema onde a homogeneidade é inatingível. A operação de mistura obedece a uma lei exponencial de primeira ordem. A curva entre o grau de mistura e o tempo é assíntota (142).

Relativamente à percentagem teórica em antibiótico (18,7%), não foram encontrados afastamentos significativos em nenhuma das suspensões, considerando o teor do antibiótico em relação à mistura em pó. A suspensão de amoxicilina deixada à temperatura ambiente regista ao 16º dia após preparação uma quebra de 10%, sensivelmente a mesma para a suspensão de ciclacilina em idênticas condições - menos 9,6% de actividade no 17º dia.

As quebras nas preparações destas duas penicilinas guardadas no frigorífico não são exactamente da mesma ordem de grandeza: 10,5% para a amoxicilina no 11º dia e 8,4% para a ciclacilina no 21º dia.

A suspensão de ampicilina anidra ensaiada demonstrou boa estabilidade quando colocada no frigorífico.

Todos os desvios encontrados não alteram significativamente cada dose administrada.

As misturas em pó guardadas nas embalagens referidas no QUADRO VI foram submetidas a ensaio provando serem resistentes à deterioração. Conforme o previsto antes das experiências, por leituras bibliográficas, a cor dada pela riboflavina às suspensões não se altera durante aquele período (143,144,145). Nas condições de experiência, e com base nos

resultados dos ensaios, as aminopenicilinas estudadas perderam menos de 10% em mistura sólida durante 3 anos.

Da análise dos resultados e das observaçôes efectuadas ao longo do trabalho pode concluir-se:

1.- Todas as suspensôes apresentam boas características organolépticas (bom aspecto, cheiro e sabor agradáveis) que se mantêm durante todo o período de utilizaçâo previsto.

2.- As suspensôes apresentam estabilidade física: homomogenizam facilmente sem necessidade de agitaçâo muito vigorosa e prolongada e mostram escoamento adequado para administraçâo oral.

3.- As dimensôes da embalagem (altura/secçâo) têm influência no tempo mínimo de homogeneizaçâo.

4.- O conteúdo sólido mantém o mesmo aspecto inicial após 3 anos de armazenagem à temperatura ambiente. O acondicionamento empregado nâo pode ser considerado factor primário de influência na estabilidade.

5.- As aminopenicilinas estudadas apresentam boa estabilidade química quando em suspensâo no veículo proposto e às temperaturas consideradas, durante um período normal de utilizaçâo. Nesse espaço de tempo nâo é determinante a temperatura para a estabilidade das suspensôes.

2.3. CICLACILINA EM SUSPENSÃO NÃO AQUOSA

Ciclacilina	5 g
Sacarina	0,07 g
Vanilina	0,01 g
Span 60	0,05 g
Monoestearato de alumínio	1 g
Miristato de isopropilo ....q.b.p....	100 ml

a) Características da suspensão: cor esbranquiçada, sabor adocicado, fácil depósito com sedimento totalmente redispersível por leve agitação, após longo tempo de repouso. Tende a amarelecer ligeiramente com o tempo, mas não altera o sabor.

Viscosidade (20 °C, 100 rpm) = 225 cPo

Diâmetro médio das partículas = 83,16±46,12 μ

(contagem de 600 partículas)

Baixa de teor (4 anos, 20±5 °C, exposta à luz) = 17,5%

Os doseamentos foram efectuados após extracção da ciclacilina (Lote 563) [vd.Ap.1] de uma amostra de suspensão para uma solução tampão de fosfatos de pH 6.

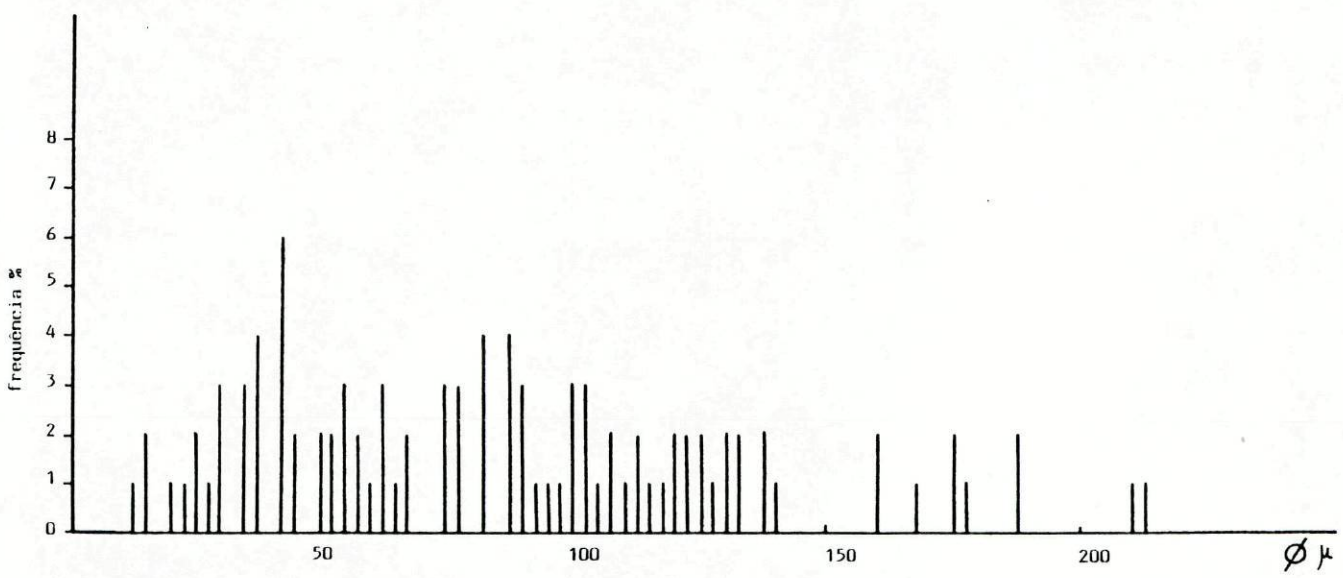


Fig.40 - Diagrama de frequências das partículas de ciclacilina (Lote 563)

Utilidade da suspensão:

Quanto à estabilidade aceita-se classificá-la como uma boa suspensão definitiva.

A eficácia da sua utilização pode pôr-se sob reserva atendendo ao veículo caracterizado por rápio escoamento devido à baixa viscosidade e efeito lubrificante, reforça o aumento do trânsito GI. Estas características sugerem fraca absorção do antibiótico.

Um estudo experimental sobre a absorção seria então conclusivo àcerca da formulação proposta, averiguando se se trata de um exemplo em que a estabilidade é uma qualidade necessária, mas não suficiente, para se obter eficácia terapêutica.

Os efeitos colaterais poderiam fazer-se notar. Crê-se na interferência com a absorção de certas substâncias, quer por arrastamento, quer por dissolução das lipossolúveis, especialmente as vitaminas. Conjuntamente prevê-se o empobrecimento do TGI na sua microflora com os inerentes efeitos adversos.

III - ESTUDO DA ESTABILIDADE E ACTIVIDADE DE COLIRIOS DE CICLACILINA

1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE COLIRIOS
1.1. O USO DE CONSERVANTES
2. ESTUDO DA ESTABILIDADE DE UMA SOLUÇÃO DE CICLACILINA PARA COLIRIOS - INFLUENCIA DA TEMPERATURA, pH E FORÇA IONICA
2.1. MATERIAL E MÉTODOS
2.2 RESULTADOS
2.3 DISCUSSÃO E CONCLUSÕES
3. ESTUDO DO PODER ANTIBIOTICO DA SOLUÇÃO DE CICLACILINA EM PRESENÇA DE CONSERVANTES
3.1. MATERIAL E MÉTODOS
3.2. RESULTADOS
3.3. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

III - ESTUDO DA ESTABILIDADE E ACTIVIDADE DE COLIRIOS DE CICLACILINA

1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE COLIRIOS

As prescrições farmacêuticas para oftalmologia compreendem grande número de fármacos. Na maioria dos casos não se espera pelo diagnóstico laboratorial ou consulta médica, e é o próprio doente que procura alívio num OTC.

Nas infecções superficiais da conjuntiva são administradas preparações contendo fármacos de vários grupos entre os quais estão presentes os antibióticos.

Dada a constituição do filme lacrimal que protege a córnea, a aplicação de medicação constitui uma interferência nas propriedades ópticas (146). Estas dependem da espessura e composição estrutural do filme lacrimal que por sua vez afecta o índice de refracção.

Queixas de visão turva quando há lacrimação são sintomas frequentemente referidos e uma das causas pode ser exactamente o começo de uma conjuntivite infecciosa.

Os estreptococos, os estafilococos e destas, sobretudo a varidade aureus são responsá-veis pelo maior número de infecções oculares superficiais onde a proliferação bacteriana funciona como que um abrasivo sobre o epitélio córneo, que assim franqueia a entrada a pseudomonas. As ulcerações córneas provocadas pelas preparações contaminadas por estas bactérias "oportunistas" podem conduzir a perdas de visão.

Em 1953 a F.D.A. requereu a prática da esterilizaçâo para todas as soluçôes oftálmicas. Os conservantes foram incluídos nas formas multidose para assegurar a esterilidade após a primeira abertura das embalagens. Mesmo com a melhoria da qualidade e estanquicidade dos recipientes, ainda hoje subsiste o problema da inquinaçâo dos colírios multidose. Actualmente, a maior parte das embalagens em vez de tampas de borracha e conta-gotas separados contém pipetas doseadoras em plástico fixadas nos frascos, tornando menos provável a contaminaçâo pelo ar que substitui o volume de colírio após instilaçâo e a perda de conservante por absorçâo e difusâo pelos elastómeros.

Talvez porque sâo consideradas formas farmacêuticas menos importantes, sâo mal conservadas e utilizadas pelos utentes. Muitas vezes guardadas mal fechadas em lugares quentes e húmidos durante períodos que excedem os limites do razoável e a administraçâo da mesma preparaçâo a mais do que um indivíduo, acresce o aumentava o risco de contaminaçôes acidentais. A contaminaçâo é principalmente provocada pelo contacto directo da extremidade do conta-gotas com o local infectado.

Existe sempre o risco de uma contaminaçâo por germes resistentes ao conservante. Estas formas sobrevivem e multiplicam-se no colírio durante toda a sua duraçâo. Também por esta razâo se limita o tempo de utilizaçâo.

A USP XXI prescreve 7 dias para um colírio multidose a partir da primeira utilizaçâo.

A Farmacopeia da R.D.A., 2a Ed., recomenda o prazo máximo de 30 dias para colírios multidose após abertura da embalagem quando contêm conservantes e 6 dias quando nâo contêm estes agentes (147).

A F.P., V, refere o limite de 10 ml como o conteúdo da preparaçâo multidose, nâo estipula o prazo de utilizaçâo contado a partir da abertura do recipiente, deixando-o certamente à responsabilidade da entidade preparadora. A este respeito há países que concretizam melhor as normas gerais

de utilização.

Os colírios, ainda que sejam estáveis, exibem baixa biodisponibilidade devido a perdas por drenagem, turnover lacrimal, mal-absorção e ligação proteica.

As suspensões podem ter maior biodisponibilidade relativamente às soluções, mas para tal têm que ser satisfeitas determinadas condições. Após instilação de uma suspensão, algumas das moléculas da substância activa passam da solução saturada para a córnea ou conjuntiva e logo haverá dissolução de mais partículas que vão ocupar o lugar deixado por aquelas. Para que se note benefício com a suspensão, a velocidade de dissolução deve ser maior que a clearance da dose instilada e sensivelmente igual à velocidade de absorção. O tamanho de partícula (<10 μ) tem que ser considerado neste âmbito, pois à progressão da tenuidade corresponde cada vez maior velocidade de dissolução e menor irritação ocular (148).

Nem todas as substâncias têm qualidades para serem utilizadas em suspensão, pelo que se empregam soluções saturadas ou ligeiramente sobressaturadas, quando há exigências para isso. De qualquer modo tenta-se minimizar as perdas.

Estudam-se através de modelos farmacocinéticos sofisticados as influências dos vários parâmetros na biodisponibilidade de formas oculares para se conseguir estabelecer a concentração ideal para o tamanho da gota mais adequado. Logo após instilação, há que descontar a remoção pelo palpebrar, a drenagem via sistema nasolacrimal para o gastrointestinal, pois acontece sempre que é excedido o volume lacrimal normal (7-10 μl). Desta comunicação resulta muitas vezes que o paciente se apercebe do marcado sabor ou cheiro das gotas oculares (149).

A absorção através da conjuntiva ainda não está completamente esclarecida. O epitélio conjuntival oferece substancialmente menor resistência do que o epitélio córneo e a passagem superficial dos fármacos através da circulação periférica da conjuntiva é uma via de absorção ocular.

A permeabilidade da esclerótica é na generalidade maior do que a da córnea. A estrutura colagénea e mucopolissacarídica permite às substâncias hidrossolúveis penetrar através da esclerótica enquanto que as mais lipofílas nâo se difundem por aí tâo facilmente (150).

Sendo a córnea nâo vascularizada, é juntamente com o filme lacrimal precorneal o primeiro mecanismo operante no processo fisiológico da visâo. É composta por três camadas que separam o exterior do humor aquoso. A penetraçâo consiste na travessia das barreiras lipídicas (epitélio e endotélio) separadas pela substância própria, meio nitidamente hidrófilo com o valor de pH normal de 7,4. As substâncias que apresentam alto coeficiente de partilha O/A (Ko/a) têm boas possibilidades de penetraçâo através da córnea, se bem que encontram uma barreira (estroma) que pelo menos frena a velocidade de passagem. Ao contrário, para baixos Ko/a o epitélio será a membrana limitante (151). As substâncias que atingem o humor aquoso sâo difundidas para a íris e corpo ciliar onde exercem a sua acçâo terapêutica.

Os antibióticos sâo administrados para efeitos tópicos superficiais. Todavia podem atingir tecidos mais profundos consoante a sua estrutura que está naturalmente relacionada com a solubilidade, Ko/a, características fundamentais para o jogo da dissociaçâo molecular. Sabe-se que a forma nâo dissociada é a mais lipossolúvel e portanto a que atravessa mais facilmente as membranas lipófilas. Quanto maior for a fracçâo nâo dissociada maior será a penetraçâo.

Pretende-se fazer notar em todos estes fenómenos a importância de algumas características dos fármacos e também os factores respeitantes à forma farmacêutica. Esta é sempre uma mistura de substâncias mais ou menos interferentes cuja escolha se baseia na compatibilidade físico-química e na biocompatibilidade com o tecido ocular. Dada a delicadeza e sensibilidade deste tecido, a gama de adjuvantes é mais estreita do que em muitas outras formas farmacêuticas, mesmo nas parenterais. Assim, a utilizaçâo de tensioactivos como

dispersantes, cossolventes ou promotores da permeabilidade (152) é feita na menor concentraçâo possível dado o seu poder irritante, sobretudo desde os aniónicos, passando pelos catiónicos e terminando nos nâo iónicos. Estes últimos sâo tidos como mais inofensivos, mas podem prejudicar a acçâo dos conservantes por interacçôes, de tal modo que a quantidade livre necessária para a acçâo antibacteriana seja inferior à CMI (153).

Em princípio, os agentes que aumentam a viscosidade das soluçôes oftálmicas (álcool polivinílico, metilcelulose) prolongam o tempo de contacto dos princípios activos com os tecidos oculares incrementando a penetraçâo (154,155). Experiências realizadas em coelhos e em humanos para o estudo da influência da viscosidade do veículo na biodisponibilidade sâo discordantes em alguns aspectos. Encontram-se justificaçôes diferentes para resultados semelhantes. Uns atribuem a vantagem do maior tempo de contacto ao aparecimento da maior quantidade de dada substância no humor aquoso proveniente da preparaçâo mais viscosa; outros afirmam que tal resultado é motivado pela menor perda inicial, daí a maior concentraçâo de substância no fluido lacrimal após instilaçâo. Os aspectos quantitativos sâo diferentes nos animais de experiência e no homem, mercê da diferença dos parâmetros biológicos (156,157).

Um outro efeito que pode ser promovido pelo aumento da viscosidade é o contrariar da acçâo antibacteriana dos agentes que se encontram nas preparaçôes (158).

A determinaçâo do máximo efeito, a duraçâo da acçâo e a AUC sâo parâmetros para avaliaçâo e distinçâo de veículos utilizados em colírios que diferem na viscosidade e concentraçâo. Muitas experiências se têm efectuado mas é impossível estabelecer regras rígidas ou leis numéricas gerais. O que se observa por exemplo para determinada série de baixas concentraçôes com reologia pseudoplástica e viscosidade limitada, difere em muitos casos na proporçâo dos efeitos verificados com concentraçôes acima daquelas.

Os veículos, quer sejam aquosos, quer oleosos terâo que ser puros e estéreis. A escolha de uns ou outros é funçâo da acçâo terapêutica pretendida (superficial ou profunda), da solubilidade da substância activa no veículo e miscibilidade da mistura fármaco-veículo com o fluido lacrimal. Casos há em que seria mais razoável adoptar as emulsões como formas de compromisso. Estes sistemas têm inconvenientes quanto à estabilidade, atendendo a que a administraçâo ocular requer uma viscosidade adequada e sobretudo há que atender ao efeito prejudicial dos tensioactivos.

A preferência vai, contudo, para as preparaçôes líquidas aquosas. Nelas sâo integrados os isotonizantes, sempre que necessário. O grau de tolerância ocular relativo à tonicidade é mais elevado para as soluçôes hiperosmóticas.

O valor do pH das soluçôes é tido como factor importante pelos marcados efeitos na estabilidade das preparaçôes, na sua biodisponibilidade e na acçâo fisiológica.

Sâo só toleráveis as administraçôes na zona de pH entre 4 e 10, face à irritaçâo (sensaçâo de picada ou queimadura) e lacrimaçâo intensas que se verificam fora destes limites. Dentro dessa zona devem preferir-se os valores à volta de 8 porque proporcionam menor desconforto, menores perdas por lacrimaçâo, considerada factor primário na influência do teor das substâncias activas instiladas (158).

Quando se aplicam gotas oftálmicas para debelar infecçôes oculares, encontram-se já os olhos irritados e mais ou menos purulentos. Neste estado há maiores perdas por lacrimaçâo. Dado que a permeabilidade das membranas está alterada, a passagem através delas é facilitada e a penetraçâo poderá ser mais profunda.

No caso da aplicaçâo de antibióticos em que se pretende acçâo local, se considerarmos a penetraçâo profunda uma perda, a parte disponível para a acçâo terapêutica será menor relativamente a olhos nâo lesados. A concentraçâo é o primeiro factor para a eficácia antimicrobiana. Após um período de contacto antibiótico-agente infeccioso, começa um abran-

damento seguido de regressão no desenvolvimento das bactérias. Obtem-se a sua anulação com aplicações sucessivas de colírio espaçadas o suficiente, consoante a especificidade. Para obter tais resultados é necessário que a resposta antibiótica seja adequada à cinética microbiana.

O valor das CMI não indica o comportamento cinético de desenvolvimento microbiano em relação à concentração do antibiótico presente no período após a administração.

As bactérias que em fase logarítmica de crescimento contactam com o antibiótico acima de uma concentração mínima, começam a decrescer linearmente em escala logarítmica com o tempo. A inclinação das curvas caracteriza a constante de velocidade letal "kill rate constant" e é linearmente dependente da concentração do antibiótico.

A velocidade de perda de formas viáveis após o tempo de latência "lag time" e de indução pode ser expressa como a diferença entre a velocidade de regeneração dos microrganismos na ausência de antibiótico e a velocidade bactericida deste, sendo esta última função da sua concentração. Se a velocidade letal é proporcional ao poder antibiótico de determinada concentração, será

$$dN/dt = (K_o - K_D C)\ N$$

$$dN/dt = K_{app}\ N$$

onde K_o é a velocidade específica de regeneração natural; K_D é a velocidade específica; N é o número de microrganismos viáveis; C é a concentração do antibiótico e K_{app} é a velocidade de velocidade de regeneração aparente. Esta pode ser obtida das inclinações das partes lineares das curvas semi-logarítmicas entre o número de formas viáveis e o tempo num estado de equilíbrio e antes do aparecimento de novo crescimento das possíveis formas resistentes.

A relação dos valores de K_{app} e concentração de antibiótico é uma função linear.

$$K_{app} = K_o - K_D\ (C-C')$$

Uma concentração definida de antibiótico pode ser excedida antes de se manifestar actividade antibacteriana. Esse excesso (C') pode ser retirado, transferido por ligação ou remoção da concentração efectiva pelos componentes do meio. Há provavelmente uma velocidade letal máxima que não pode ser excedida, mesmo com concentrações muito altas de antibiótico (160).

Para que se verifique regressão e anulação do desenvolvinmento bacteriano será necessário não só aplicar a nova dose de antibiótico em tempo óptimo, como também que os valores de certos parâmetros se encontrem devidamente relacionados.

$$T = t_{1/2}\ \frac{\log\ (K_{app}/K_D C_o)}{\log 1/2}$$

Esta equação define o tempo ideal (T) para nova dose de antibiótico ser administrada considerando Co a concentração inicial de antibiótico.

Para $T>0$ ——> $\log\ (K_{app}/K_D C_o) < 0$, o que implica $K_{app}/K_D C_o < 1$ o que só se consegue quando $C_o > K_{app}/K_D$.

C tem que ser >> K_{app}/K_D para se conseguir diminuição de desenvolvimento (161).

Além da concentração, todos estes parâmetros têm influência na eficácia antimicrobiana. No caso dos antibióticos β-lactâmicos é assumido que o poder bactericida está relacionado com a duração do tempo de contacto. Os antibióticos com semi-vidas longas permanecem por períodos mais prolongados e seriam capazes de prevenir melhor a regeneração. Contudo o $t_{1/2}$ influencia inicialmente menos a velocidade letal do que K_{app}, K_D e C_o.

O tempo de latência tende a diminuir para altas concentrações de antibiótico, o que está relacionado com a penetração nas membranas, isto é, com a diferença de gradiente de concentração até ao equilíbrio.

Os valores de pH do meio, dentro de certos limites,não interferem nos valores de K_{app} na ausência de antibiótico. Ao contrário, os valores de K_{app} decrescem à medida que aumenta o pH quando o agente bacteriano contacta com o antibiótico. Várias experiências realizadas com antibióticos β--lactâmicos e outros revelaram interferências em relaçâo a microrganismos representativos dos gram (+) e gram (-) (160).

Após um período de tempo definido correspondente à morte de um certo número de germes, há subsequente desenvolvimento das formas viáveis. A curva de desenvolvimento na presença do antibiótico é semelhante à obtida na ausência deste. Isto indica o efeito desprezável do antibiótico na parte correspondente à porçâo terminal dos segmentos, mesmo com concentraçâo constante. As curvas semi-logarítmicas de regeneraçâo na presença do antibiótico consistem em decréscimos (susceptíveis) e em aumentos (resistentes) segundo cinéticas de primeira ordem, ambas ocorrendo depois de certos tempos de contacto (l_1 , l_2) (Fig. 41) (162).

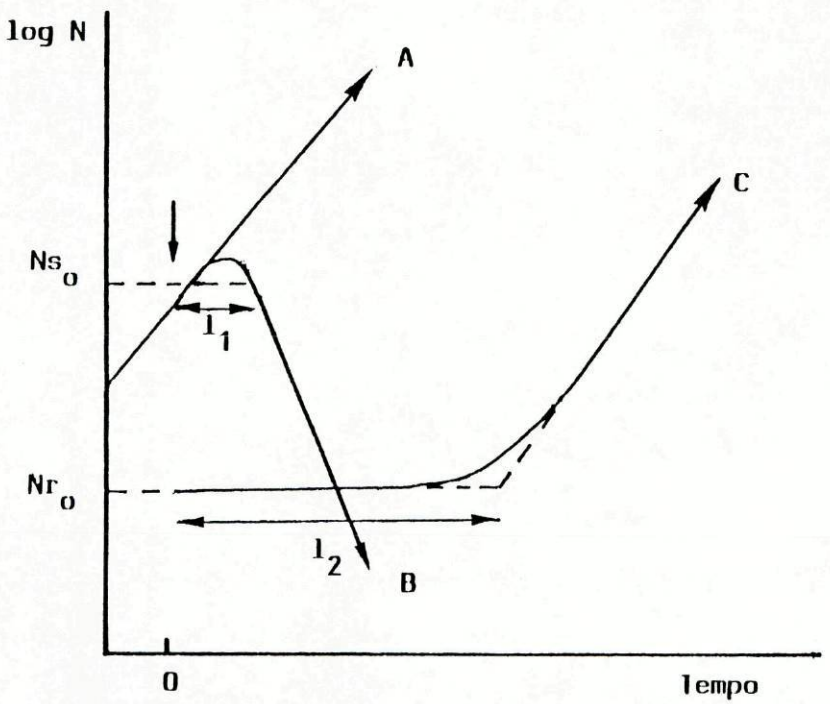


Fig. 41 - Esquema das curvas de regeneraçâo

O fenómeno pode ser atribuido ao consumo ou degradação do antibiótico e/ou à produção de inibidores ou inactivadores e/ou ainda à presença de bactérias capazes de resistir à acção bactericida. Esta resistência poderá ser adquirida por mutação e/ou adaptação no contacto com o antibiótico em várias concentrações, o que se reflecte na mudança da permeabilidade de membrana.

As formas resistentes desenvolvem-se após um tempo de contacto e com um ritmo paralelo às formas viáveis. O número de resistentes pode ser favorecido com concentrações baixas de antibiótico e as gerações não são afectadas por posteriores contactos com doses menores de antibiótico. Daí o dizer-se que a resistência uma vez adquirida é persistente.

Além destes factores o próprio ciclo celular pode influenciar o novo desenvolvimento após a primeira adição de antibiótico.

A adição combinada de bacteriostáticos e bactericidas não pode ser generalizada de forma a obterem-sem sempre sinergismos ou antagonismos. Por vezes há até discordâncias nos resultados de experiências realizadas. Assim, não pode ser automaticamente generalizado o postulado de que a penicilina não será activa para organismos em fase estacionária ou na primeira fase do tempo de contacto dos microrganismos afectados por agentes bacteriostáticos.

1.1. O USO DE CONSERVANTES

Os conservantes devem matar os microrganismos introduzidos na preparação multidose em tempo igual ao que medeia entre duas aplicações. Como a frequência de administração é variável, certos autores estimam o tempo de 1 hora para que um colírio possa ser esterilizado (163).

Sabidas as incompatibilidades com os fármacos e a adsorção pelos recipientes, é necessário precisar o conservan-

te e a concentraçâo a empregar de modo a conseguir efeito de assepcia. Sâo empregados como preventivos, impedindo o desenvolvimento microbiológico ou mesmo para tornar a preparaçâo estéril, isto é, actuam como bacteriostáticos ou bactericidas.

O mecanismo de acçâo dos conservantes envolve toxicidade para com as células dos microrganismos, mas nâo devem ser substâncias tóxicas para as células animais. A estrutura dos dois tipos de células suporta essa diferença e a composiçâo e estrutura química dos conservantes determina o seu modo de acçâo.

O grupo dos álcoois, como o clorobutanol, actuam ao nível da membrana plasmática pelo poder dissolvente dos lipídeos, desorganizando de tal modo a estrutura da membrana que aumenta a permeabilidade provocando perda de proteínas do citoplasma.

Os fenóis, como o clorocresol e os p-hidroxibenzoatos reagem com as proteínas da parede celular e da membrana citoplasmática. Uma concentraçâo alta de fenóis penetra no citoplasma por interferência com as ligaçôes lipídeo-lipídeo da membrana citoplasmática e precipita as proteínas (164).

Os ácidos carboxílicos, como o ácido benzóico, o salicílico e o sórbico, intervêm no metabolismo dos germes.

Os derivados de amónio quartenário, como o cloreto de benzalcónio, que têm cargas positivas, sendo adsorvidas pela membrana citoplasmática originam a ruptura, podendo assim o conservante penetrar no citoplasma e precipitar os enzimas.

Os catiões mercuriais derivados da dissociaçâo dos compostos orgânicos reagem com os grupos sulfidrilo dos enzimas da parede celular e depois com os da membrana citoplasmática que contêm grupos tiol e provocam uma coagulaçâo geral do citoplasma.

As substâncias orgânicas azotadas, como a cloro-hexidina em baixa concentraçâo, inibem a ATPase da membrana e o transporte do iâo potássio. Actuam na parede celular e destacam as camadas exteriores que formam pequenas vesículas.

Em concentraçôes elevadas actuam do mesmo modo que os fenóis.

Os microrganismos têm estrutura e composiçâo diferentes. Nem todos contêm os mesmos enzimas. Alguns destes sâo mais importantes do que outros para a sobrevivência de cada espécie.

A actividade do conservante é influenciada por vários factores como a concentraçâo, a temperatura e o pH do meio em que se encontra. Quando em concentraçâo elevada pode, mais rapidamente difundir-se através das membranas e, se a preparaçâo farmacêutica contiver poucos germes, a velocidade de destruiçâo segue uma cinética de primeira ordem e pode ser até calculada uma constante de velocidade de destruiçâo. Esta constante é diferente para cada valor da concentraçâo do conservante. A relaçâo entre a concentraçâo e o tempo necessário pra a destruiçâo dos germes é dada pela seguinte equaçâo:

$$C^n \; t = \text{Constante}$$

$$n \log C + \log t = \text{Constante}$$

em que C é a concentraçâo do conservante, t o tempo de destruiçâo e n o coeficiente de diluiçâo.

Considerando os tempos de esterilizaçâo t_1 e t_2 para as concentraçôes C_1 e C_2, o valor de n pode ser encontrado pela expressâo:

$$n = \frac{\log t_2 - \log t_1}{\log C_1 - \log C_2}$$

Também pode ser determinado pela inclinaçâo da reta obtida entre o logaritmo do tempo de esterilizaçâo e o logaritmo da concentraçâo (165).

Desde que o logarítmo do número de sobreviventes seja funçâo linear do tempo, a expressâo

$$D = \frac{U}{\log No - \log Nu}$$

Onde D representa o tempo de redução decimal; U o intervalo de tempo de exposição a temperatura constante; No o número inicial de microrganismos e Nu o número de sobreviventes após a exposição U, permite também encontrar n:

$$D = \frac{A}{Cn}$$

Sendo A um valor extrapolado de D a 25 °C e cuja concentração é 1% (p/v). Esta relação é representada graficamente pela recta conseguida entre logarítmo de D e o logarítmo da concentração (%) (164,166).

Quando a concentração do conservante baixa (absorção ou degradação) a velocidade de acção diminui e prolonga-se o tempo para obter o efeito desejado. Quantitativamente terá que ser multiplicado por um factor igual ao denominador da relação do abaixamento da concentração elevado à potência igual ao coeficiente de diluição.

Os coeficientes de diluição dependem da estrutura química da substância e são específicos para cada conservante. Se se deseja obter uma acção rápida de destruição (administrações com curtos intervalos) é preferível a escolha recair em um conservante com baixo coeficiente de diluição.

A influência da temperatura sobre a actividade é complexa e parece até contraditória. Uma ligeira elevação da temperatura aumenta a actividade do conservante e também influencia a multiplicação dos germes. Um aumento mais significativo da temperatura tem influência positiva na actividade do conservante e acelera a morte dos microrganismos. Estas influências são contudo diferentes em cada tipo de germe e de conservante. Por isso, e atendendo a contaminações mistas, torna-se impossível determinar o coeficiente de temperatura.

A actividade de um conservante deve ser determinada à temperatura de aplicação do medicamento, mas também à sua temperatura de armazenagem. Como existe o risco de primeira contaminação para as preparações multidose convém utilizar conservantes cuja actividade seja independente das variações de temperatura.

O pH pode influenciar a actividade do conservante pois muitas vezes esta está ligada às propriedades físico-químicas (solubilidade, dissociação, lipofilia) das substâncias. Numerosas experiências dão nota de tal influência. A constante de hidrólise encontrada para o metilparabeno a pH 6,0 é de $0,432 \times 10^{-5}$ e de $6,998 \times 10^{-5}$ a pH 9,0 e à temperatura de 25ºC (167). A redução da actividade deste conservante com o aumento de pH pode avaliar-se pela variação da CMI e D (1,10 e 2,10 mg/ml; 5 e 216 minutos, respectivamente, para os valores de pH 5,0 e 8,0) (168).

A DL_{50} depende da via de administração e varia com a espécie. Pode perguntar-se se os conservantes não vão reagir com a mucosa ocular e provocar irritação. A USP XXI prescreve a interdição de agentes conservantes nas soluções empregadas nas intervenções cirúrgicas.

A córnea do coelho é utilizada para avaliação do poder irritante dos conservantes. Entre os mais estudados figura o cloreto de benzalcónio. A sua instilação produz uma solubilização da camada de gordura do filme precorneano. Se a concentração utilizada for baixa (< 0,004%) não há sensação de dor e a camada gorda restabelece-se imediatamente. Uma solução a 0,01% poderá destruir irreversivelmente esta camada. A sua ruptura provoca o aparecimento de "pontos secos" onde se dá a evaporação rápida da fase aquosa (sensação de opressão). Desta maneira fica facilitado o acesso do conservante à membrana das células que se contraem após contacto durante algum tempo. Porque não se unem mais, destaca-se a camada superior do epitélio (irritação). O cloreto de benzalcónio pode chegar ao humor aquoso e provocar a destruição do endotélio.

Geralmente no homem os conservantes nâo provocam irritaçâo nem lesâo visível e sâo mais bem tolerados do que no animal de experiência. Tal diferença pode ser explicada pela grande diluiçâo pelo líquido lacrimal e pelo palpebrar que retira da cónea a soluçâo instilada, nâo tendo o conservante tempo para reagir com as células epiteliais. No coelho a secreçâo lacrimal é aproximadamente um terço da do homem e há quase total ausência do palpebrar (157).

2. ESTUDO DA ESTABILIDADE DE UMA SOLUÇAO DE CICLACILINA PARA COLIRIOS - INFLUENCIA DA TEMPERATURA, pH E FORÇA IONICA

Os valores de pH foram escolhidos com o propósito de se conseguir, pelo menos, uma situaçâo de compromisso. Por um lado, estabilidade química suficiente da ciclacilina em soluçâo, uma vez que a zona de pH seleccionada (5,8-7,65) nâo se afasta muito do ponto isoeléctrico e também nâo se entra declaradamente na zona alcalina, por outro lado, considerando a aplicaçâo da soluçâo no globo ocular, ela será melhor tolerada na zona neutra-alcalina do que em valores nitidamente ácidos.

Nos casos de formulaçôes multidose, a necessidade de adjuvantes faz pensar na influência da variaçâo da força iónica (isotonizantes) e na manutençâo da actividade antibiótica com a presença de conservantes durante o tempo de utilizaçâo, mediante as condiçôes de conservaçâo impostas ao colírio.

2.1. MATERIAL E MÉTODOS

a) Preparaçâo das soluçôes e condiçôes de armazenagem: As soluçôes de ciclacilina (lote 563) [vd.Ap.1] foram preparadas na concentraçâo de 2 mg/ml tendo em consideraçâo a pureza do antibiótico. A ciclacilina foi dissolvida em soluçâo tampâo de fosfatos aos valores de pH 5,80, 6,70 e 7,65. Cada uma das soluçôes foi acondicionada em proveta de vidro, mantida à temperatura ambiente durante o tempo de experiência. Iguais soluçôes foram guardadas no frigorífico.

b) Doseamento da ciclacilina: Sobre amostras recolhidas de cada soluçâo preparada procedeu-se em tempo julgado conveniente à dosagem do antibiótico pelo método da hidroxilamina fazendo uso do factor de calibraçâo igual a 8,6 [vd. Ap.1].

2.2. RESULTADOS

QUADRO VII - Ciclacilina remanescente (%) em solução tamponada a diferentes valores de pH e mantida à temperatura de 25±5 °C.

pH	dias de ensaio							
	1	2	3	4	5	6	7	8
5,80	100	95,5	91	84	—	79	72	70
6,70	93	86	82	71	—	63	—	46
7,65	86,5	84,5	70	63	—	52	40,5	—

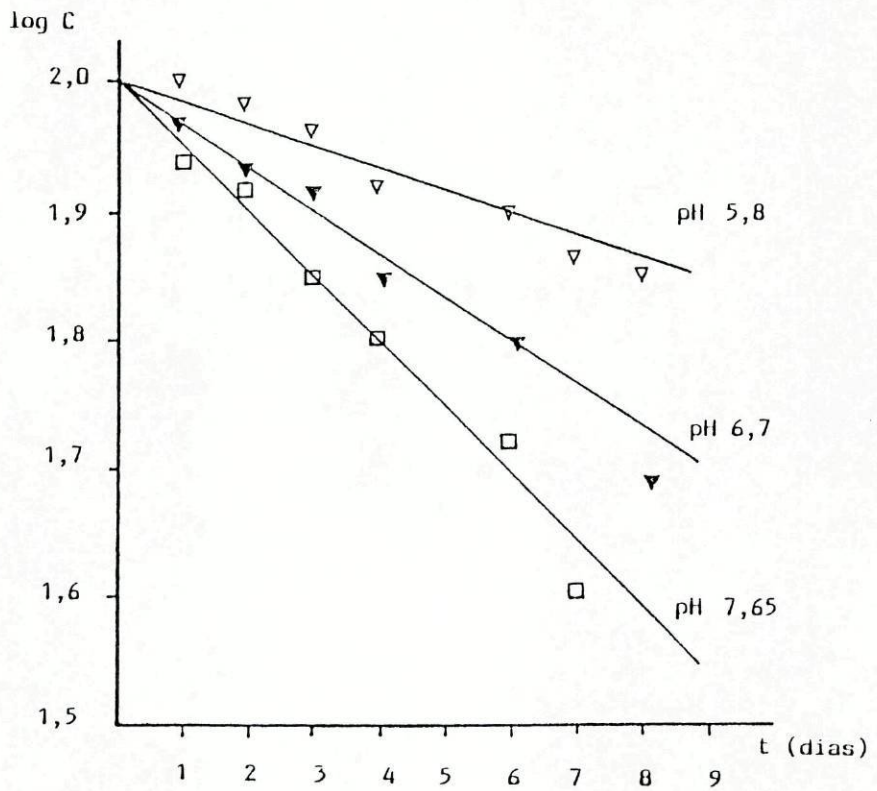


Fig. 42 - Degradação da solução de ciclacilina (25±5 °C)

QUADRO VIII- Ciclacilina remanescente (%) em soluçâo tamponada a diferentes valores de pH, mantida à temperatura de 8 °C.

	dias de ensaio							
pH	1	2	3	4	5	6	7	8
5,80	100	100	—	100	—	100	100	100
6,70	—	98	—	—	—	88	—	86,5
7,65	—	—	93,5	89	—	—	83	78

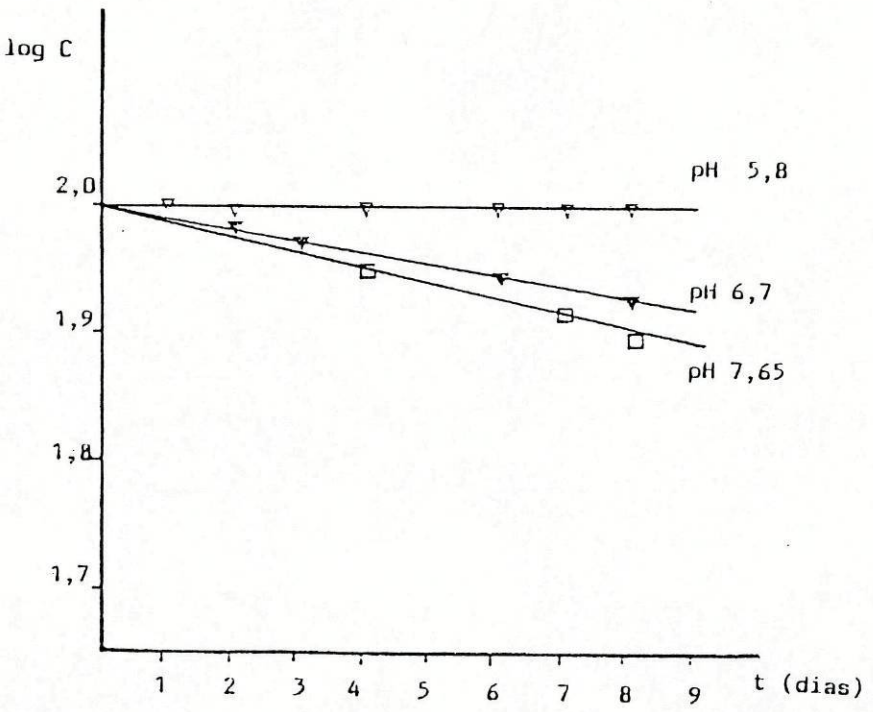


Fig. 43 - Degradação da solução de ciclacilina (8 °C)

QUADRO IX - Valores correspondentes da velocidade específica de degradação e prazo de validade da solução de ciclacilina, com concentração constante da solução tampão e força iónica variável segundo cada valor de pH, à temperatura de 25±5 °C.

pH	fosfatosx10^2 (Moles/l)	μ	Kx10^2 (d^{-1})	tm (d)
5,80	6,66	0,06	3,8	3
6,70	6,66	0,15	8,42	1,25
7,65	6,66	0,20	10,55	1

QUADRO X - Valores correspondentes da velocidade específica de degradação e prazo de validade da solução de ciclacilina, com concentração constante da solução tampão e força iónica variável segundo cada valor de pH, à temperatura de 8 °C.

pH	fosfatosx10^2 (Moles/l)	μ	Kx10^2 (d^{-1})	tm (d)
5,80	6,66	0,06	——	——
6,70	6,66	0,15	1,65	7
7,65	6,66	0,20	2,72	4

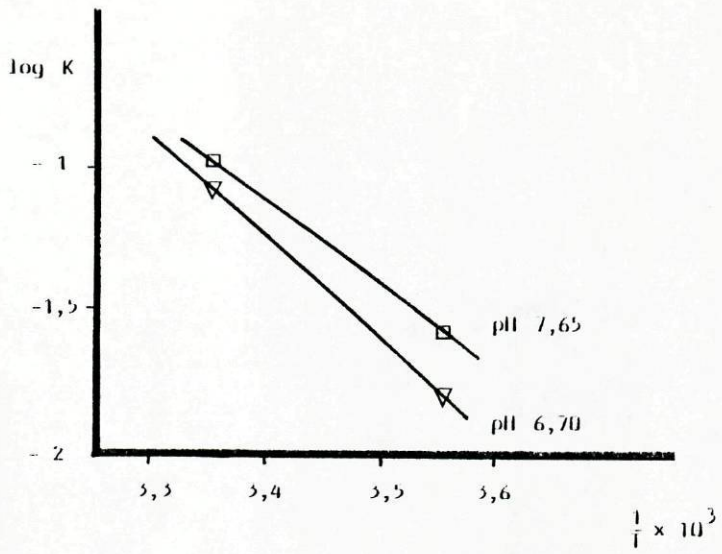


Fig. 44 - Curvas das velocidades específicas de degradação da ciclacilina em função da temperatura

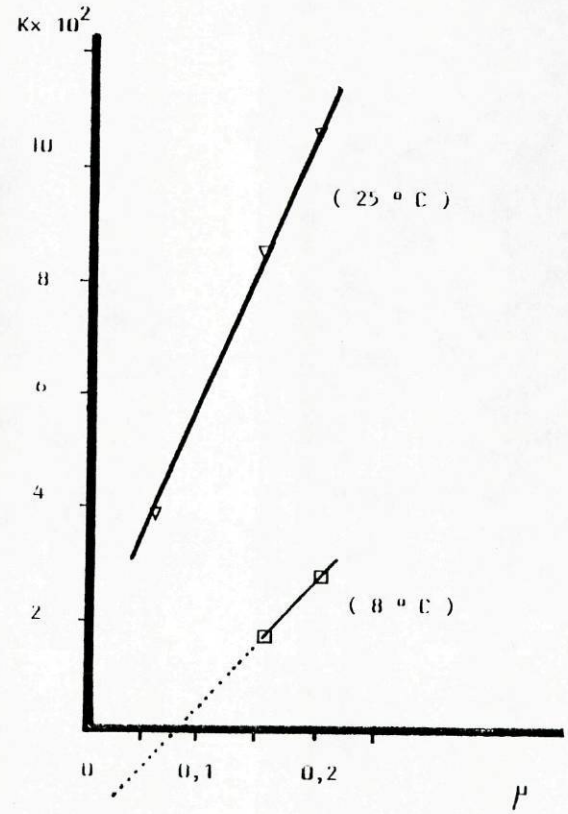


Fig. 45 - Curvas das velocidades específicas de degradação em função da força iónica

2.3. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A temperatura ambiente nenhuma das soluções consegue uma estabilidade capaz de suportar a perda máxima de 10% de antibiótico em uma semana, tempo de duração dos ensaios e normalmente recomendado. A velocidade de decomposição atinge valores tais que, para o pH de maior estabilidade relativa, o colírio só poderia ser usado durante 3 dias (QUADRO VII, IX e Fig. 42).

A temperatura do frigorífico e a pH 5,80 não se verificou qualquer variação no teor do antibiótico pelo método de doseamento aplicado. Já, porém, a valores de pH superiores nota-se o abaixamento do título, embora a pH 6,70 resulte um prazo de validade de 1 semana e a pH 7,65 a solução possa ser utilizada durante de 4 dias (QUADRO VIII, X e Fig. 43).

O calor de activação é de 15,95 $Kcal.mol^{-1}$ a pH 6,70 e de 13,36 $Kcal.mol^{-1}$ a pH 7,65 (Fig. 44).

Para o caso presente, estaria indicado o cloreto de sódio como isotonizante se a solução fosse hipotónica. O efeito da dissociação do sal na solução modifica a força iónica do meio e essa influência pode ser relacionada com a degradação.

Nas condições do ensaio verifica-se haver uma relação linear entre a velocidade específica de degradação da ciclacilina e a força iónica para os diferentes valores de pH, mantendo constante a concentração total de fosfato. A variação da força iónica provém unicamente do aumento do ião $HPO4^{2-}$ em relação ao ião $H2PO4^{-}$. As inclinações das rectas são diferentes consoante a temperatura (> a 25 °C) (Fig.45).

A ciclacilina está englobada no grupo das penicilinas consideradas "estáveis". No entanto, as suas soluções aquosas, apresentam abaixamento de teor ao longo do tempo. A velocidade de degradação das reacções é influenciada pelo pH do meio, temperatura, força iónica e presença de tampão (tipo e concentração) (169-174).

As reacções de degradação das penicilinas anfotéricas onde se inclui a ciclacilina podem ser representadas pelo seguinte esquema:

$$RH_2^+ + H^+ \xrightarrow{H_2O} C \qquad k_1 \quad \text{reacção (1)}$$

$$RH^{\pm} + H^+ \xrightarrow{H_2O} C \qquad k_2 \quad \text{reacção (2)}$$

$$RH^{\pm} \xrightarrow{H_2O} C \qquad k_3 \text{ ou } k_{H_2O} \quad \text{reacção (3)}$$

$$R^- \xrightarrow{H_2O} C \qquad k_4 \text{ ou } k'_{H_2O} \quad \text{reacção (4)}$$

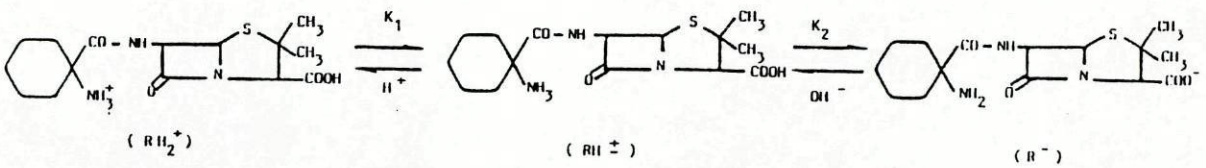
$$R^- + OH^- \xrightarrow{H_2O} C \qquad k_5 \quad \text{reacção (5)}$$

A velocidade final é igual ao somatório dos coeficientes de cada uma das reacções:

$$v = - d[C]_T/dt$$

$$= k_1[RH_2^+][H^+] + k_2[RH^{\pm}][H^+] + k_3[RH^{\pm}] + k_4[R^-] + k_5[R^-][OH^-]$$

onde $[C]_T$ é a concentração total de ciclacilina; RH_2^+, $RH^{\pm}$ e R^- representam respectivamente as formas catiónica, anfotérica e aniónica.



(RH_2^+) ($RH^{\pm}$) (R^-)

$$K_1 = \frac{[RH^{\pm}]\,[H^+]}{[RH_2^+]} \qquad K_2 = \frac{[R^-]\,[H^+]}{[RH^{\pm}]}$$

$pK_1 = 2,68 \pm 0,04$ e $pK_2 = 7,50 \pm 0,02$

(em água a 25±0,1 °C) (171)

Fazendo as necessárias substituições nos valores de K_1 e K_2 e considerando com Kw pode chegar-se à expressão geral:

$$k = \frac{k_1[H^+]^3 + k_2[H^+]^2K_1 + k_3[H^+]K_1 + k_4K_1K_2 + k_5K_1K_2Kw/[H^+]}{[H^+]^2 + [H^+]K_1 + K_1K_2}$$

Considerando os valores de pH do meio em relação aos pK_1, pI e pK_2, a contribuição das cinco reacções apontadas será distribuída da seguinte forma:

- Para pH << pK_1 a ciclacilina existe como espécie catiónica e a velocidade da reacção hidrolítica é atribuída exclusivamente àquela forma e ao ião hidrónio - reacção (1).

- Para pH ≈ pK_1 as formas catiónica e anfotérica reagem com o ião hidrónio em diferentes proporções - reacções (1) e (2).

- Para pK_1 < pH < pI os iões hidrónio e as moléculas de água actuam como agentes catalíticos - reacções (1), (2) e (3).

- Para pI < pH < pK_2 as reacções são espontâneas e as moléculas de água são consideradas as espécies catalisadoras que reagem com as formas anfotérica e aniónica. A proporção das reacções de cada uma das espécies com a água não será muito diferente - reacções (3) e (4).

$$k = k_3 f_{RH^\pm} + k_4 f_{R^-},$$

onde $f_{RH^\pm}$ e f_{R^-} são as fracções molares das formas anfotérica e aniónica, respectivamente.

- Para pH > pK_2 só as reacções entre os hidroxiliões e a forma aniónica são responsáveis pela velocidade de degradação - Reacção (5).

$$v = - d[C]_T/dt = K[R^-] \qquad k = k_5[OH^-]$$

$$\log k = \log k_5 + \log [OH^-]$$

O estudo presente, dado os pH escolhidos, abrange estas duas últimas situações (5,09 < 5,80-6,70 < 7,50 e 7,65 > 7,50, respectivamente).

O anel β-lactâmico é extremamente mais sensível ao ataque nucleofílico iniciado pelo iâo hidroxilo. Nas soluçôes alcalinas a constante de hidrólise é tanto mais elevada quanto mais o pH se afastar do pK_2 e consequentemente do pI.

Também na zona alcalina há maior sensibilidade às β-lactamases.

A análise dos resultados conduz às seguintes conclusôes:

- Uma soluçâo tampão de fosfatos de concentraçâo $6,66 \times 10^{-2}$ moles/litro com pH compreendido entre 5,80 e 6,70 pode servir como solvente da ciclacilina em soluçôes de concentraçâo de 2 mg/ml.

- Esta soluçâo preparada extemporaneamente e conservada no frigorífico tem estabilidade química suficiente para poder vir a ser utilizada como colírio em período razoável.

- Na medida em que o pH se afasta de 5,80 e se aproxima de 6,70 diminui o prazo de validade da soluçâo, sendo de uma semana para o mais alcalino, mantidas as condiçôes de temperatura. Pode sugerir-se um acondicionamento em recipiente de vidro de um pequeno volume de líquido.

3. ESTUDO DO PODER ANTIBIOTICO DE UMA SOLUÇÃO DE CICLACILINA NA PRESENÇA DE CONSERVANTES

Depois de se ter avaliado a estabilidade química da solução de ciclacilina (2 mg/ml) em solução tampão de fosfatos de pH 5,80-6,70 e impostas as condições de conservação, falta complementar o estudo no aspecto microbiológico para que a solução possa ser multidose.

Assim, com junção de conservantes normalmente utilizados em formas oculares avaliou-se o poder antibiótico de várias soluções face a diferentes estirpes bacterianas.

3.1. MATERIAL E MÉTODOS

a) Preparação das soluções e condições de experiência: Foi preparada uma solução tampão de fosfatos de pH 5,80 que esterilizada a 121 °C durante 15 minutos serviu para a preparação de todas as soluções para experiência:

P - solução de ciclacilina a 2 mg/ml.
A - solução de ciclacilina com clorocresol a 0,1%
A*- solução de clorocresol a 0,1%
B - solução de ciclacilina com cetavlon a 0,01%
B*- solução de cetavlon a 0,01%
C - solução de ciclacilina com nitrato de fenilmercúrio a 0,001%
C*- solução de nitrato de fenilmercúrio a 0,001%
D - solução de ciclacilina com clorobutanol a 0,5%
D*- solução de clorobutanol a 0,5%

Na preparação de todas as soluções com antibiótico (lote 563) [vd.Ap.1] foi considerado o grau de pureza. Os conservantes utilizados foram adquiridos no mercado farmacêutico sem ser especificada a sua origem e faziam parte das existências do laboratório de Tecnologia.

Todas as soluções foram guardadas no frigorífico após preparação e até ao fim das experiências.

Os ensaios com registo de resultados foram conduzidos ao longo de duas semanas.

Foram efectuados ensaios químicos de controlo após preparação e ao fim da primeira e segunda semanas com o objectivo de averiguar alguma degradação anormal do antibiótico pela presença dos conservantes.

Em paralelo com o tempo de ensaio, foram também observadas todas as soluções a fim de se detectar algum material em suspensão, sedimentado ou aderente ao vidro.

b) Ensaios microbiológicos: Para os ensaios microbiológicos foram utilizadas estirpes bacterianas cedidas pelo laboratório de Microbiologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. A proveniência das bactérias é casual, de diversos doentes e isoladas de produtos não especificados.

Foram necessários ensaios preliminares para aferir a técnica de "contaminação artificial". Deste modo conseguiu-se melhorar uma técnica seguida em trabalho anterior (175, 176), poupando material e meios e diminuindo o tempo de experiência. Procedeu-se do seguinte modo:

- Passar cada estirpe para uma quantidade estabelecida previamente de meio líquido ICC [vd. Ap.4] em tubo e incubar a 37 °C durante 6 horas. Suspender uma gota de cada cultura em 10 ml de água esterilizada. Semear uma ansa (≈0,1µl) por toque em placa de Petri previamente preparada com a mistura de 1 ml de solução em estudo e 9 ml de meio gelosado nutritivo [vd. Ap.4]. Incubar a 37 °C e observar o desenvolvimento ao fim de 16 e 24 horas. Em casos de dúvida prolongar a incubação até 48 horas.

Cada solução foi experimentada em duas placas para cada ensaio. Cada placa foi dividida e marcada em tantas porções quantas as sementeiras das bactérias disponíveis mais uma reservada ao "ensaio em branco" correspondente à água esterilizada.

3.2. RESULTADOS

QUADRO XI - Poder antibiótico da ciclacilina em soluçâo (2 mg/ml) tamponada a pH 5,80 em presença de diversos conservantes, face a várias estirpes bacterianas

Espécies bacterianas	Soluções									
	P	A*	A	B*	B	C*	C	D*	D	(n)
Ps.aeruginosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4
P.mirabilis	-	+	-	+	-	-	-	+	-	6
K.peneumoniae	+	+	+	+	+	-/+	-/+	+	+	6
S.marcessens	-	+	-	+	-	-/+	-	+	-	6
S.lutea	-	+	-	-	-	-	-	+	-	4
M.pyogenes	-	+	-	-	-	-	-	+	-	4
S.aureus	-	+	-	-	-	-	-	+	-	6
B.subtillis	-	-/+	-	-	-	-	-	+	-	6
E.coli	-	+	-	+	-	-/+	-	+	-	6
S.epidermidis	-	+/-	-	+	-	-	-	+	-	6
P.vulgaris	+	+	+	+	+	-	-/+	+	+	6

(+) Desenvolvimento em todos os ensaios; (-) Desenvolvimento nulo em todos os ensaios; (+/-) Desenvolvimento em mais de 50% dos ensaios; (-/+) Desenvolvimento nulo em mais de 50% dos ensaios.

Nos ensaios de controlo químico nâo se registou degradaçâo da ciclacilina em presença dos conservantes, ao contrário de outras penicilinas estudadas. (177,178)

As características organolépticas das soluçôes nâo se alteraram durante as duas semanas de experiência.

3.3. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

As soluções à temperatura do frigorífico não se apresentaram com tendência a cristalizações ou interacções para a temperatura de conservação e acondicionamento em vidro.

Também, não se registando baixa de teor significativa de modo a excluir por reactividade química algum dos conservantes experimentados, interessa considerar os resultados microbiológicos.

As soluções submetidas a ensaios microbiológicos foram preparadas a pH 5,80 e conservadas no frigorífico, visto se ter concluído ser a melhor das soluções estudadas. Acresce que, para a maioria dos conservantes a zona mais ácida é preferível à alcalina para exercerem a sua actividade.

Dos conservantes empregados somente o nitrato de fenilmercúrio tem pH óptimo para ser activo na zona alcalina (>7). O cetavlon situa-se na zona correspondente à neutralidade (5-8). O clorocresol, embora o seu pH óptimo se situe na região ácida, não perde de todo a actividade para pH > 4. O clorobutanol perde a capacidade conservante para valores de pH superiores a 4 (164).

Devido a não terem sido utilizadas estirpes de colecção, preferidas por alguns autores, não era previsível o comportamento para as que foram ensaiadas. Houve o cuidado de escolher bactérias de controlo, S. aureus, E. coli e Ps. aeruginosa e ainda outras cuja variedade simula o acaso real das contaminações.

A Ps. aeruginosa representa os germes pouco exigentes para a proliferação na água, adaptáveis aos substractos de diversas origens e muitas vezes resistentes a substâncias antimicrobianas. Tem uma grande importância do ponto de vista de higiene da fabricação. Tal como os Proteus demonstra patogenicidade ocular directa (179).

A E. coli é a mais representativa dos gram (-) da flora endógena humana e animal.

O S. aureus é o representante máximo dos gram (+) e

está entre as bactérias de primeira escolha para aferir as penicilinas.

Com base nos resultados obtidos podem tirar-se as seguintes conclusões:

- As soluções de ciclacilina não impediram o desenvolvimento de Ps. aeruginosa, K. pneumoniae e P. vulgaris.

- As mesmas soluções são susceptíveis de impedir o desenvolvimento de P. mirabilis, S. marcessens, S. lutea, M. pyogenes, S. aureus, B. subtillis, E. coli e S. epidermitis nas condições referidas no ensaio.

- O clorobutanol a 0,5% não mostrou qualquer actividade face às estirpes bacterianas ensaiadas, pelo que deverá ser excluído destas soluções como conservante.

- O nitrato de fenilmercúrio a 0,001% mostrou ser o único dos conservantes ensaiados a influenciar o não desenvolvimento da K. pneumoniae e P. vulgaris, pelo que deverá ser incluído como conservante nestas soluções.

IV - ESTUDO DA ABSORÇÃO GASTROINTESTINAL DA CICLACILINA - INFLUENCIA DO CONTEUDO GASTRICO, ADJUVANTES E SEXO

1. CONSIDERAÇÕES SOBRE A ABSORÇÃO GASTROINTESTINAL.
2. MATERIAL E METODOS
3. RESULTADOS
4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

IV - ESTUDO DA ABSORÇAO GASTROINTESTINAL DA CICLACILINA - INFLUENCIA DO CONTEUDO GASTRICO, ADJUVANTES E SEXO

1. CONSIDERAÇÕES SOBRE A ABSORÇAO GASTROINTESTINAL

A absorção dos fármacos no tracto gastrointestinal (TGI) é influenciada pelas características físico-químicas do fármaco e pelo tipo de forma farmacêutica administrada. Por outro lado, as condições gerais do organismo (idade, sexo, equilíbrio hídrico, função excretora, etc.), e em particular o estado anatomofisiológico do aparelho digestivo, conjugam-se com as propriedades do medicamento, resultando níveis hemáticos mais ou menos elevados. Consoante a afinidade do princípio activo para os diversos tecidos orgânicos, prossegue a sua distribuição e o efeito terapêutico será tanto mais eficaz quanto maior for a potência após absorção e o tempo de duração do efeito dependendo em boa parte da metabolização e da velocidade de eliminação.

A - CARACTERISTICAS FISICO-QUIMICAS

A velocidade de absorção depende da solubilidade. São mais solúveis os sais sódicos ou potássicos das aminopenicilinas do que as suas formas ácidas. Pela acção da acidez

gástrica, os sais originam as formas ácidas no estado físico de precipitados muito ténues que aumentam a superfície específica e a molhabilidade e se dissolvem rapidamente nos fluidos adicionais, favorecendo a rapidez de absorçâo (180). Quanto mais fluidos se acumulam no estômago mais partículas dissolvidas são absorvidas e as partículas finas são esvaziadas para o intestino.

A diferença no incremento da absorçâo entre a administraçâo de sais ou de ácidos, nâo é em todos os casos claramente notada de modo a dar sempre a preferência aos sais. Há outros parâmetros que entram em jogo.

As aminopenicilinas diferem umas das outras quanto à solubilidade intrínseca. Para os valores de pH fisiológico (1,5-8), a ciclacilina anidra apresenta maior solubilidade seguida da ampicilina anidra, ampicilina trihidrato, amoxicilina trihidrato e, por último, a epicilina anidra. A zona à volta do ponto isoeléctrico (pI) corresponde claramente à menor solubilidade. As curvas de solubilidade em relaçâo ao pH à temperatura de 37 °C e à força iónica constante, apresentam-se na forma de U aberto (181,182,183).

A velocidade de dissoluçâo para todas elas segue uma cinética de zero ordem. A pH ácido (menor que 3) a velocidade de dissoluçâo é tanto maior quanto mais baixo for o pH, havendo até linearíedade. Para valores além daqueles, a velocidade é invariável para qualquer penicilina.

A concentraçâo no soro após dose única oral de cada penicilina considerada nâo está de acordo com a ordem da sua solubilidade, porquanto sâo trocados os lugares da amoxicilina trihidrato, ampicilina anidra e ampicilina trihidrato; a ciclacilina e a epicilina anidras mantêm-se nos extremos pela ordem decrescente.

Uma vez dissolvidas, já nâo precipitam em qualquer outro ponto do TGI, considerado o efeito da força iónica e dos tensioactivos.

A presença de certo volume de líquidos afecta a biodisponibilidade das aminopenicilinas devido às diferenças de

solubilidade. Não se torna pois indiferente tomar uma cápsula com meio copo de água ou com um volume de líquido substancialmente maior. A amoxicilina é notoriamente afectada (184).

Quanto mais depressa começar a absorção após a ingestão, isto é, quanto mais rápida a passagem do antibiótico para a corrente circulatória na parte superior do tubo digestivo, maiores são as probabilidades de menores efeitos adversos pela destruição da microflora comensal e da não destruição de parte do antibiótico pelas β-lactamases eventualmente produzidas. Por outro lado, quanto maior e mais rápido for o pico sérico, mais depressa o antibiótico chega ao local de acção onde haverá o contacto com o germe patogénico. Considera-se pois, que é de toda a conveniência haver uma boa e rápida absorção.

As aminopenicilinas, tendo uma estrutura anfotérica, podem estar completamente ionizadas e exibir muito baixa solubilidade nos lipídeos. Ainda não está esclarecido completamente o mecanismo da sua absorção, embora a permeabilidade das membranas seja quase a hipótese quase aceite tacitamente, mas julga-se que entrem em jogo outros factores. Experiências com o lúmem de rato isolado indicam a influência de transporte activo para a ciclacilina. Outros estudos *in vitro* mostram que os antibióticos β-lactâmicos, incluindo a ciclacilina, cefalexina, amoxicilina e ampicilina, não são transportados com a ajuda da energia do ATP. Miyazaki *et al.* demonstraram que em ambas as técnicas que a maior ligação da amoxicilina à mucosa em comparação com a ampicilina, provém da diferença de concentração nos fluidos dos dois antibióticos (185).

A absorção da ciclacilina a pH 7,0 ao nível do intestino do rato por perfusão *in situ* demonstrou que para a dose de 95 mcg/ml o antibiótico desaparece rapidamente segundo uma cinética de primeira ordem com 85% aos 100 minutos. Para concentrações entre 770 e 1200 mcg/ml o desaparecimento depois de 100 minutos foi respectivamente 69 e 54%. As cur-

vas semilogarítmicas mostraram-se convexas. Para concentrações superiores a 30 mcg/ml a ciclacilina desaparece lentamente do líquido de perfusão segundo cinética aparente de 1ª ordem (186).

Quando os fármacos sofrem dissociação, a sua distribuição nos líquidos do organismo é fortemente influenciada pelo pH. Quando as constantes de dissociação são muito semelhantes, o diferente grau de absorção obtido apenas se pode relacionar com o coeficiente de partilha (Ko/a) (187,188). Podem procurar-se meios para melhorar a absorção dos fármacos, quer por variação de pH, quer por modificação daquele coeficiente. A ingestão de um líquido ácido ou alcalino juntamente com o fármaco pode aumentar a absorção se tiver interferência na formação da forma indissociada.

Como resultado de muitas experiências chegou-se à conclusão que as propriedades físico-químicas com influência na transporte passivo através das membranas biológicas são: o Ko/a, a existência de ionização nos fluidos orgânicos determinados pelos valores de pKa e o pH do fluido no qual a substância se dissolve e, ainda, o seu peso molecular ou volume.

As superfícies das células da mucosa intestinal são de natureza mais lipídica do que hidrófila, o que do ponto de vista da penetração oferece uma competição para as moléculas optarem entre as condições aquosas, por um lado, e os materiais lipídicos das membranas por outro.

Para avaliar a permeabilidade dos compostos através das membranas criou-se o conceito de " coeficiente de reflexão" (σ) como medida da permeabilidade. Geralmente a permeabilidade da membrana para um soluto aumenta com o aumento do Ko/a. Exceptuam-se os compostos altamente ramificados os quais penetram nas membranas mais lentamente do que o que pode esperar-se face ao valor do seu Ko/a e moléculas pequenas polares que penetram mais rapidamente do que o esperado por aquela de acordo com aquela propriedade.

Uma última observação tem sido feita por alguns autores

que desenvolveram o conceito de membrana "lipídica-crivo" com poros aquosos na superfície por onde penetram substâncias pequenas polares ou relativamente lipoinsolúveis. O acesso a esta via de penetração estará em princípio limitado para moléculas com impedimento estérico.

A interpretação físico-química para a penetração da maioria dos compostos de acordo com o Ko/a é baseada nas forças atómicas e moleculares às quais as moléculas dos solutos estão expostas nas fases aquosa e lipídica. A capacidade de um composto para se dividir entre essas duas fases da membrana envolve o equilíbrio entre as forças intermoleculares soluto-água e soluto-membrana. Se as forças atractivas da interacção soluto-água são maiores que as soluto-membrana, então a permeabilidade da membrana é baixa e vice--versa. Examinando a permeabilidade de uma série de compostos homólogos e a influência dos substituintes naquela característica, pode reconhecer-se a importância do grupo substituinte nas forças intermoleculares na fase aquosa e na fase lipídica (isto é, dipolo-dipolo, dipolo-dipolo induzido ou de Van der Waals).

A permeabilidade de uma membrana para os não electrólitos estudada por Diamond e Wright parece ser determinada pelo número e força da ligação hidrogénio que o soluto pode fazer com a água. Segundo a capacidade de formação de ligações hidrogénio com a água estabelecem-se relações entre grupos substituintes em determinados compostos não electrólitos e a influência na permeabilidade das membranas. As funções éter, cetona, aldeído e éster têm menos influência na diminuição da permeabilidade em relação ao grupo OH. O grupo amida causa ainda maior decréscimo do que os grupos já referidos. Os amino-ácidos dotados dos mais baixos Ko/a entre as moléculas orgânicas são impermeáveis. Os derivados da ureia têm mais baixa permeabilidade do que as amidas com o mesmo número de carbonos. Compostos sulfurados têm alto Ko/a e atravessam as membranas mais rapidamente do que os compostos com oxigénio. Os sulfóxidos ($R_2S=O$) são menos permeá-

veis do que as ceto-nas correspondentes ($R_2C=O$) (189).

A forma não ionizada tem Ko/a mais alto e daí a influência na absorção. A chamada hipótese de pH partilha estabelece que os compostos ionizáveis penetram nas membranas biológicas na forma não ionizada (difusão não iónica). Como resultado, as substâncias ácidas poderão ser melhor absorvidas a partir de soluções ácidas quando pH < pKa enquanto que as bases são mais absorvidas a partir das soluções alcalinas quando pH > pKa. Segundo esta teoria, há tanto tempo aceite, pode generalizar-se que os ácidos são absorvidos a partir do estômago e que as bases são absorvidas no intestino (190).

Entretanto, ao longo do TGI as condições variam e por conseguinte a maior parte dos fármacos ionizados ou não ionizados são melhor absorvidos na parte superior do intestino delgado, como resultante da maior superfície dessa região.

Em geral a absorção dos compostos sofre em primeiro lugar a influência do lugar da absorção, mais do que o facto de serem ácidos ou básicos.

Admtindo não haver interferências que impeçam a absorção, a substância contacta com a membrana absorvente. As moléculas podem difundir-se dos fluidos GI para a superfície da membrana banhada por esses líquidos.

A definição mais apropriada de absorção é a penetração das substâncias através das membranas, aparecendo a forma inalterada na corrente circulatória. Há, porém, dois pontos importantes a considerar: Muitas vezes dá-se o nome de absorção ao desaparecimento da substância dos fluidos GI. Isto é verdade se somente o desaparecimento do lúmen corresponde ao aparecimento no sangue. Não é o caso da degradação ou metabolização no intestino. A membrana intestinal não é unicelular mas sim uma série de folhetos paralelos uns aos outros. Para que uma molécula possa chegar ao sangue deve penetrar na camada mucosa, nas células apicais da superfície, na membrana basal, na lâmina própria, na membrana dos capilares e no citoplasma das células dessas membranas e, finalmente, dentro dos capilares.

Quando se fala em membrana intestinal deve, por conseguinte, pensar-se na membrana inteira. As moléculas, chegando à lâmina própria, estão em condições para atravessar os capilares ou difundir-se pelos vasos linfáticos, sendo mais comum irem para o aparelho circulatório sanguíneo, pois as vilosidades são muito e rapidamente perfundidas pelo sangue. O aporte do fluxo sanguíneo é 500 a 1000 vezes maior que o da linfa. Embora o sistema linfático seja uma potencial via para remover substâncias do intestino, em circunstâncias normais somente uma pequena fracção da quantidade total vai para a linfa.

Os vasos linfáticos e capilares são permeáveis à maioria das substâncias de baixo peso molecular e solúveis nos lipídeos e a membrana capilar representa barreira maior do que a parte central da vilosidade para a penetração de grandes moléculas ou combinações de moléculas.

B - FACTORES FISIOLOGICOS

a) Componentes e propriedades dos fluidos GI

O pH varia ao longo do Tracto GI. No estômago (1-3,5) varia ao longo do dia, é flutuante em resposta à ingestão dos alimentos, conforme a natureza destes e o estado de saúde do indivíduo. E mais ácido durante a noite.

O pH do duodeno começa normalmente em 5,7 no piloro, passa a 7,7 no jejuno proximal e ascende a 8 no intestino grosso.

O pH do fluido GI influencia a absorção de várias maneiras. Sendo as substâncias ácidos ou bases fracas e a solubilidade aquosa influenciada pelo pH, a velocidade de dissolução de cada forma farmacêutica, sobretudo comprimidos e cápsulas, é dependente do pH. Os ácidos dissolvem-se mais

rapidamente em meio alcalino e por isso haverá maior velocidade de dissolução no intestino que no estômago. As substâncias básicas dissolvem-se mais rapidamente em meio ácido e a velocidade de dissolução será mais rápida no estômago do que no intestino.

A co-administração de soluções ácidas ou alcalinas com certas substâncias pode exercer efeito em todo o processo da absorção.

Como a dissolução é uma pré-etapa da absorção e é muitas vezes um processo lento, especialmente para compostos pouco solúveis em água, o pH exerce maior influência em todo o processo da absorção. Uma vez que o sítio de maior absorção é o intestino delgado, parece, pois, que as substâncias básicas pouco solúveis devem dissolver-se primeiro no suco gástrico para serem bem absorvidas no intestino, pois a velocidade de dissolução aí é baixa.

A desagregação de algumas formas farmacêuticas será influenciada pelo pH, se as formulações contiverem certos componentes sensíveis a essa grandeza.

Caso mais complicado será quando se nota instabilidade dos fármacos nos fluidos ácidos ou alcalinos, como sucede com as penicilinas. Se a velocidade e teor de degradação dependerem directamente da concentração da substância em solução, uma tentativa para retardar a dissolução nos fluidos onde se processa a degradação deverá ser feita com vista a melhorar a absorção. Há preparações com vários sais ou ésteres de substâncias que não se dissolvem no suco gástrico, não sendo aí degradadas, mas que se dissolvem no suco entérico antes da absorção.

Especialmente na última parte do GI há a possibilidade de formação de hidróxidos insolúveis das substâncias ou formação de películas insolúveis com componentes das formulações que reduzem o grau de absorção.

Os sais biliares, enzimas e mucina exercem também influência. Os sais biliares são tensioactivos, podem aumentar a velocidade e/ou o grau de absorção das substâncias pouco

solúveis na água por incremento da velocidade de dissolução nos fluidos GI (191). Há casos, porém, em que os sais biliares podem reduzir a absorção quando promovem a formação de complexos hidro-insolúveis não absorvíveis.

Os enzimas necessários para a digestão alimentar têm também que ser incluídos como actuantes sobre os fármacos. Os fermentos pancreáticos hidrolisam os ésteres, a lipase e tripsina do suco são capazes de desacetilar substâncias e as estearases das mucosas parecem atacar vários ésteres penicilínicos (63).

A mucina, contendo glicoproteínas responsáveis pelas propriedades reológicas, actua como barreira, retarda o contacto das substâncias com a membrana epitelial e pode fixar substâncias por intermédio de receptores aniónicos ou por ligações hidrogénio. Paralelamente, não é de esquecer que a concomitante administração de substâncias ou alimentos que interferem com o muco podem secundariamente ter reflexos na absorção. Os derivados da cisteína, compostos proteolíticos e agentes que afectem as ligações iónicas ou interfiram na síntese das glicoproteínas são susceptíveis, por desnaturação da estrutura das macromoléculas, de atenuar os efeitos do muco (192).

b) Alimentação e esvaziamento gástrico

Qualquer factor que influencie a absorção pode alterar a velocidade e ou a quantidade absorvida. Geralmente a existência de alimentos, em virtude de reduzir o esvaziamento gástrico diminui a absorção, circunstância particularmente notada para os compostos mais instáveis nos fluidos gástricos (meticilina) e para as formas de dosagem de lenta libertação (115).

A consistência do bolo alimentar e do quimo contraria a difusão e o contacto mais rápido com as membranas. As substâncias podem estabelecer ligações com partículas alimenta-

res ou reagirem com os fluidos do tracto gastro-intestinal segregados em resposta à presença dos alimentos. A formação de certos compostos específicos durante a digestão ou a sua inclusão na dieta, podem interferir com a absorção de fármacos. A presença dos sais de cálcio e ferro diariamente na alimentação e de outros catiões, como o magnésio e o alumínio, muitas vezes constituintes de antiácidos, provoca redução na absorção da tetraciclina, verificando-se prejuízo para o paciente.

O interesse do esvaziamento gástrico reside no facto de se saber que a maior parte dos fármacos são melhor absorvidos a partir do duodeno. Qualquer factor que incremente a passagem do estômago para o intestino terá influência na rapidez e grau de absorção com repercussão na resposta terapêutica.

O esvaziamento gástrico pode, porém,representar por vezes um factor limitante da absorção. Pode tornar-se o esvaziamento mais lento e atrasar as fases de libertação e absorção. Aumentando a temperatura dos fluidos GI tende a aumentar a difusão. Haverá então conveniência em tomar os medicamentos com líquidos quentes. Contudo, se forem muito quentes, o esvaziamento é atrasado.

O esvaziamento é influenciado pelo estado emocional do paciente, volume de alimentos, presença de ácidos, triglicerídeos, carbo-hidratos, aminoácidos e pressão osmótica. A distensão estomacal é o único estímulo natural conhecido que aumenta a velocidade de esvaziamento. O estado físico do conteúdo gástrico tem influência nesse factor fisiológico (soluções ou partículas pequenas esvaziam mais rapidamente).

As gorduras são os alimentos digeridos mais lentamente. Na presença de suco pancreático e bílis produzem inibição do esvaziamento gástrico via interacção com os receptores.

O tempo de tomada do medicamento em relação à refeição pode aumentar ou diminuir a velocidade de esvaziamento. Esta interferência pode, assim, estender-se à eficácia dos fármacos. Se há decréscimo de esvaziamento, pode haver complexa-

ção fármaco-alimento ou aumento de degradação se o fármaco é sensível à acidez. Se há aumento de eficácia do medicamento com a tomada de alimentos (mais rápida e/ou maior absorção) então pode pensar-se que para os fármacos pouco solúveis, atrasando a velocidade de trânsito haverá mais tempo para se dissolverem nos fluidos e, assim, a possibilidade de maior absorção.

Se as administrações orais são pouco espaçadas, poderá acontecer que se juntem várias no estômago, caso não tenha havido entretanto esvaziamento. Os comprimidos tomados antes da refeição esvaziam mais rapidamente do que administrados no período pós-prandeal. Regra geral, os medicamentos podem ser tomados com um copo de água com o estômago vazio e criam-se boas condições para a absorção. Esta regra é particularmente importante para aqueles compostos instáveis nos fluidos gástricos (penicilina e eritromicina), para as drageias gastrorresistentes e para aqueles compostos melhor absorvidos na última porção do intestino (vit. B_{12}).

Há excepções a esta regra - os compostos que são irritantes, os compostos absorvidos por mecanismo especial e aqueles compostos para os quais a presença de alimentos aumenta a absorção.

c) Trânsito intestinal

As substâncias encontram condições no intestino distintas das do estômago. Os movimentos intestinais propulsivos e de mistura determinam a velocidade de trânsito e o tempo de residência no intestino (193). Este tempo dita o espaço no qual a forma farmacêutica liberta o fármaco, permite a dissolução e inicia a absorção. Uma alta motilidade intestinal conduz a menor tempo de residência e oferece condições de menor absorção. A motilidade é mais importante para as formas de acção retardada ou para produtos com revestimento entérico, bem como para aquelas substâncias que se dissolvem

devagar ou em que a absorção é máxima só em certas regiões do intestino.

As ondas peristálticas propagam-se ao conteúdo intestinal na parte inferior do tracto em cerca de 1 a 2 cm/s. Em circunstâncias normais, os movimentos nessa zona são lentos e demora 3 a 10 horas mover um alimento desde a forma de quimo do piloro até à válvula ileocecal. A actividade peristáltica é aumentada depois da refeição como resultado do reflexo gastroentérico iniciado pela distensão do estômago reflectindo-se no aumento da motilidade e secreção.

Os movimentos de mistura do intestino delgado derivam das contracções dos segmentos intestinais e da mistura do conteúdo com as secreções e proporcionam o contacto com a superfície do epitélio, grande área de absorção. Esta mistura promove a absorção por aumento da velocidade de dissolução (agitação) e por aumento da área da membrana. A camada de difusão aumenta provavelmente com o aumento de tamanho de partícula e diminui com a velocidade de agitação, o que se traduz <u>in vivo</u> pela motilidade do tracto gastro-intestinal. A maioria dos sistemas farmacêuticos são heterogéneos e com partículas de diferentes diâmetros, o que por consequência varia h logo no início e durante todo o processo de dissolução:

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{D}{h} S (C_s - C_i)$$

onde Q é a quantidade de substância dissolvida ao fim do tempo t; D significa o coeficiente de difusão; S a área de membrana para a absorção; h a espessura da camada de difusão à volta da partícula; C_s a solubilidade à saturação em h; C_i a concentração de fármaco no seio dos fluidos.

A presença de alimentos estimula os movimentos do trânsito intestinal. Se a medicação for tomada com antecedência em relação aos alimentos, reduz-se potencialmente as inter-

acções com os componentes alimentares no intestino delgado onde estes materiais têm contacto mais prolongado.

Em relação ainda com os alimentos, estes tendem a promover a viscosidade no intestino, a qual reduz a difusão das substâncias para as membranas.

O trânsito intestinal é diminuído se houver redução de secreções de sucos digestivos e de tiroxina e é aumentado em estados diarreicos e durante a hipoglicemia insulínica.

A absorção no cólon é pequena e lenta em comparação com a da parte superior do intestino delgado. As substâncias que se apresentam para absorção no cólon são aquelas que estão ainda presentes nas formas de administração (acção retardada, drageias revestidas) ou incompletamente dissolvidas.

d) Fluxo sanguíneo

O tracto gastro-intestinal é altamente vascularizado. A circulação esplâncnica que o percorre recebe cerca de 28% do sangue expulso do coração e este fluxo drena na veia porta e vai ao fígado antes de entrar no sistema circulatório. Assim, uma substância absorvida poderá primeiro passar ao fígado e ser aí metabolizada antes da distribuição.

Em virtude da rápida perfusão sanguínea no tracto gastro-intestinal, o sangue representa no sítio da absorção um virtual poço para o material a absorver. Assim sendo, nunca se encontra uma quantidade concentrada e ascendente de substância no local circunscrito à absorção e o gradiente de concentração é unidireccional.

Geralmente o fluxo sanguíneo não é tido como relevante no que respeita à absorção. As propriedades da forma farmacêutica, especialmente a velocidade de dissolução e as potencialidades inerentes aos compostos, são factores limitantes da absorção.

No transporte activo e mecanismos especiais (194) que requerem a participação da membrana, o fluxo sanguíneo é

influente, uma vez que se o aporte de oxigénio for diminuído pode haver uma redução na absorção, mercê da dependência da grandeza de energia das células intestinais para o transporte.

O fluxo é pouco aumentado após a refeição e pode perdurar algumas horas. Da co-administração de medicamentos com alimentos não se poderá esperar aumento na absorção. O exercício físico violento parece reduzir o fluxo sanguíneo no tracto gastro-intestinal.

$$\left(\frac{dQ_s}{dt}\right)_{(i \longrightarrow s)} = \frac{C_i - C_s}{1/P_m A_m + 1/\alpha BF}$$

onde $P_m = \frac{D_m R_{m/aq}}{\hat{} X_m}$; α - fracção do fluxo sanguíneo dos capilares perto da membrana gastro-intestinal; BF - fluxo sanguíneo intestinal.

$1/P_m A_m$ traduz a resistência ao transporte entre o lúmem gastro-intestinal e o sangue dos capilares, o que é praticamente a resistência posta pela membrana (195).

$1/\alpha BF$ representa a resistência à drenagem pelo sangue.

Os compostos que têm grande solubilidade nos lipídeos quando se difundem através dos poros poderão ser limitados pelo fluxo sanguíneo.

A velocidade de absorção das substâncias caracterizadas por baixa permeabilidade de membrana podem ser independentes do fluxo sanguíneo. Substâncias como a ureia que são de absorção intermédia parecem ser afectadas para fluxos pequenos mas insensíveis aos de grande velocidade. Dos pacientes com problemas cardíacos, afectada a expulsão do sangue e por consequência o fluxo na área esplâncnica, pode esperar-se diminuição da velocidade de absorção ao nível do tracto gastro-intestinal. Outras doenças e estados físicos de actividade podem também diminuir o fluxo sanguíneo.

e) Complexação e interacção

Qualquer factor que altere a concentração efectiva influencia a velocidade e o grau de absorção da substância em causa.

A formação de complexos e o seu efeito na absorção foi já exemplo referido. O grau de interacção, a constante de estabilidade do complexo, a solubilidade na água da substância e do complexo formado são os factores influentes na absorção. Geralmente, porque a reacção de complexação é reversível, a formação de complexos tem mais influência sobre a velocidade de absorção do que propriamente na extensão.

Algumas vezes a complexação é aproveitada para aumentar a estabilidade ou a solubilidade de formas farmacêuticas. Os agentes tensioactivos porque formam micelas acima da concentração micelar crítica, podem solubilizar substâncias por inclusão ou por contacto. Abaixo dessa concentração têm um efeito de desgaste na membrana pelo qual podem aumentar a penetração de substâncias presentes.

Se o fármaco se repartir pela fase aquosa e fase micelar, e se a micela não for absorvida, haverá redução na absorção.

Os tensioactivos têm influência também na dissolução das formas farmacêuticas, sendo a velocidade aumentada para substâncias pouco solúveis em água e, havendo solubilização parcial, haverá aumento da absorção.

A administração oral conjunta de determinados fármacos pode ter como resultado uma interacção mercê da qual a absorção de um dos fármacos seja alterada pelo outro.

f) Metabolismo e degradação

Vários enzimas e microrganismos presentes no tracto gastro-ntestinal podem metabolizar as substâncias. O metabolismo oferece a possível explanação para certas substâncias tidas como pouco absorvidas. Para as formas que são

muito metabolizadas conseguem-se obter pró-drogas, protegendo-se por modificaçâo química o grupo funcional. Essas substâncias podem então ser metabolizadas no organismo e originam as espécies desejadas.

A absorçâo nâo é o único processo que pode ocorrer no tracto gastro-intestinal. Um fármaco pode ser degradado e/ou metabolizado antes de estar em condiçôes de ser absorvido. A degradaçâo química, especialmente por reacçôes dependentes do valor de pH, pode ocorrer quando se dá a solubilizaçâo nos fluidos.

A degradaçâo enzimática e a metabolizaçâo no lúmen intestinal ocorrem com facilidade, pois essa regiâo é rica quer em microflora, quer em fermentos digestivos.

Pode então parecer que o metabolismo e a degradaçâo reduzem o grau de eficácia. Em algumas ocasiôes esses processos podem favorecê-lo como é o caso dos pró-fármacos. Nestes, os efeitos apontados tornam-se essenciais para a biodisponibilidade (pró-ampicilinas).

Concomitantemente à antibioterapia, pela redução da populaçâo de microrganismos pode proteger-se o metabolismo e/ou a degradaçâo das substâncias.

C - FACTORES INDIVIDUAIS

As mudanças de pH no tracto gastro-intestinal, o esvaziamento gástrico, a estenose pilórica e os estados de diarreia sâo factores causados por desnutriçâo (197), doença ou cirurgia que associados à classe etária afectam o nível da absorçâo, bem como as fases de libertaçâo, absorçâo, distribuiçâo, metabolizaçâo e eliminaçâo (198).

É reduzida a absorçâo da fenoximetilpenicilina em pacientes com esteatorreia (199). A ampicilina e o ácido nalidíxico parecem ter fraca absorçâo em crianças com shigeloses (200).

As diversas posiçôes individuais relativamente a perí-

odos de tempo significativos, doentes acamados ou em ambulatório, estado desperto ou nâo e actividade física têm influência no teor e espécie de substâncias absorvidas por via gastro-intestinal, bem como na sua eliminaçâo (201).

Pediatras, geriatras e farmacologistas estudaram o possível efeito sobre a absorçâo da alteraçâo do fluxo sanguíneo associado ao sexo.

O efeito do sexo sobre a absorçâo gastro-intestinal de penicilinas foi estudado por Poole. Dado que em muitas situaçôes a variável sexo influencia a absorçâo medicamentosa, foi também concluído que as penicilinas monobásicas, como a dicloxacilina, nafcilina e penicilina G, se encontravam em maiores quantidades no soro quando a administraçâo oral se processava em cadelas. As áreas sob a curva mostraram-se praticamente semelhantes quando se tratava da administraçâo de penicilinas anfotéricas. Segundo o autor, a hipótese que parece mais plausível para estas diferenças encontradas prende-se com a diferença de acidez no tracto gastro-intestinal das fêmeas e dos machos (202).

D - FACTORES RELATIVOS A FORMA FARMACEUTICA

Quando a forma de administraçâo nâo é uma soluçâo, é necessário libertar o agente terapêutio, uma vez alcançado o local de absorçâo. As partículas vâo ocupar determinada rea dependente do seu tamanho. Segundo a equaçâo de Nernst, a velocidade de dissoluçâo aumenta com a diminuiçâo do tamanho das partículas. É sobretudo a área superficial efectiva que determina a velocidade de dissoluçâo. Essa área pode ser aumentada por processos físicos de reduçâo de partículas, ou por adiçâo de agentes tensioactivos ao meio de dissoluçâo ou mesmo incluí-los nas formas farmacêuticas. Pensando em comprimidos contendo tensioactivo, é mais rápida a desagregaçâo e, por conseguinte, começa mais cedo a absorçâo.

As interacções entre os princípios activos e os excipientes podem afectar a estabilidade, a velocidade de dissolução e a absorção. Por ligação química ou processos físicos entre o fármaco e o adjuvante pode modificar-se o estado físico, o tamanho de partícula e a superfície efectiva de absorção. As ligações por forças físicas no estado sólido são geralmente de rápida separação quando se passa para o meio aquoso. Porém, em muitos casos acontece reflectir-se nos níveis hemáticos a diminuição das concentrações da substância a absorver por esta ser adsorvida pelos adjuvantes. As substâncias utilizadas como adsorventes intestinais e os anti-ácidos são potenciais interferentes quando administrados simultaneamente com outros compostos. Cita-se os exemplos do caulino, carvão, atapulgite e trissilicato de magnésio com poder para adsorverem antibióticos e outros agentes terapêuticos (203).

O grau de solvatação é outra variável que influencia C_s. A ampicilina apresenta solubilidades diferentes consoante está na forma anidra ou de tri-hidrato (10 e 8 mg/ml, em água, a 37 °C, respectivamente). No caso concreto da ampicilina, devido às grandes variedades de produção e proveniências foi realizado um estudo com tratamento estatístico, mas não foi significativa a diferença nos resultados encontrados (204).

De uma maneira geral, é desejável que a desagregação seja rápida e que resulte tenuidade alta para incrementar a área superficial efectiva.

Os efeitos dos processos de produção e da constituição das formulações afectam a libertação dos fármacos. Os lubrificantes, como o estearato de magnásio, diminuem a velocidade de dissolução, e da categoria do desagregante depende a facilidade de desintegração (205,206).

A velocidade de dissolução varia face à força de compressão utilizada. Esta tem maior influência nos comprimidos mais pequenos.

Para formulações que não se dissolvem rapidamente, o

aumento da densidade de empacotamento diminui a velocidade de dissolução.

O polimorfismo afecta a solubilidade à saturação e, assim, a velocidade de dissolução no estado cristalino. Em geral a forma polimófica mais solúvel é a de menor estabilidade termodinâmica. As formas farmacêuticas mais velhas podem conter mais formas polimórficas estáveis mas menos solúveis. O período de validade pode ter efeito significativo nas formas que exibem polimorfismo.

As drogas podem complexar com os excipientes absorvíveis e nâo absorvíveis da forma farmacêutica. Esta complexação pode ocorrer na forma farmacêutica ou nos fluidos e o complexo resultante pode ser mais ou menos solúvel que a droga em si mesmo.

Os antibióticos, entre outros compostos, podem ser adsorvidos pelas próprias embalagens, mesmo as de superior qualidade, e, se assim for, nâo se pode responsabilizar a formulação por eventual baixa biodisponibilidade (207).

As modificações operadas em todas estas variáveis podem ser aproveitadas em benefício da biodisponibilidade, incluindo a própria tecnologia, como no caso da vancomicina que por ser muito higroscópica só em matrizes semi-sólidas de polietileniglicóis (4000-8000) se consegue produzir em cápsulas para via oral (208).

E - MECANISMOS DE ABSORÇAO

A maioria dos compostos é absorvida por difusão passiva, na qual a membrana toma lugar unicamente como uma barreira de difusão. Matematicamente expressa-se essa passagem pela lei de Fick simplificada por Riggs e discutida por Benet.

$$\frac{dQ_s}{dt} = D_m A_m R_{m/aq} \frac{C_i - C_s}{X_m}$$

onde dQ_s/dt - velocidade de absorção; D_m-coeficiente de difusão da substância através da membrana ($9 \times 10^{-6} cm^2 s^{-1}$ para os antibiótios); A_m - área da membrana atravessada pelo fármaco; $R_{m/aq}$ - coeficiente de partilha membrana/parte aquosa ($\approx$ Ko/a); C_i - concentração do fármaco nos fluidos gastro-intestinais no local da absorção; C_s - concentração do fármaco no sangue no local da absorção; X_m - espessura da membrana (25 μ na membrana duodenal).

Uma forma mais simplificada da equação

$$\left(\frac{dQ_s}{dt}\right)_{(i \longrightarrow s)} = K\,(C_i - C_s)$$

incorpora D_m, A_m, $R_{m/aq}$ e X_m numa única constante K referente ao coeficiente de permeabilidade.

Devido ao maior volume de sangue e velocidade de circulação comparado com o fluido gastro-intestinal em dado momento da absorção, C_i é muito maior que C_s e como resultado pode ainda a equação anterior ser simplificada

$$\frac{dQ_s}{dt} = K\,C_i$$

Embora pareça consistente a absorção obedecer a uma cinética de ordem 1, há algumas questões na sequência do processo. O coeficiente de partilha comanda a movimentação na travessia da membrana. Contudo, para algumas membranas, quando o Ko/a é muito alto a difusão não é muito elevada através da membrana e dá-se a difusão aquosa nas porções vi-

zinhas daquela. Assim, o transporte através de membranas parece ter uma velocidade limitada, havendo uma movimentaçâo através da membrana para determinados compostos, enquanto que para outros o limite de velocidade é traduzido na difusâo pela camada aquosa.

O sistema de transporte é complexo e é ainda incompleto o seu conhecimento.

A equaçâo que traduz a lei de FicK sugere que por diluiçâo nos fluidos do traco gastro-intestinal diminui a concentraçâo da substância nesses fluidos (C_i), baixa o gradiente de concentraçâo ($C_i - C_s$) e reduz-se a velocidade de absorçâo. Com efeito, as diluiçôes orais sâo muitas vezes sugeridas nas emergências dos primeiros socorros em casos de sobredosagem. A utilidade deste procedimento tem sido estudada e sabe-se que há compostos administrados por via oral conjuntamente com um volume de líquido cuja grandeza nâo tem influência na absorçâo. Há outros casos em que o volume de líquido é influente (184). A reduçâo no gradiente de concentraçâo é tida por alguns autores como factor importante.

C_i pode ser modificada pelas condiçôes fisiológicas do paciente (pH e tipo de secreçôes) e pelas alteraçôes que eventualmente se possam operar nas moléculas para diminuir ou aumentar a solubilidade. Desde que um fármaco seja mais solúvel na forma de sal, a velocidade de dissoluçâo será maior nessa forma do que na forma nâo ionizada. Se a dissoluçâo é etapa determinante na velocidade de absorçâo, para uma dada série de sais e formas nâo ionizadas, pode prever-se que o grau de eficácia da substância aumentará com o aumento da solubiliadade, estabelecendo comparaçôes entre as diferentes solubilidades.

A forma ionizada é mais solúvel nos fluidos do tracto gastro-intestinal do que a forma nâo ionizada. Para uma substância dissociável, seja um ácido ou uma base, o pH dos fluidos do tracto gastro-intestinal determinará qual a quantidade ionizada e nâo ionizada.

A velocidade de dissoluçâo pode ser governada pela so-

lubilidade da substância na camada de difusão tamponada. A comparação da forma ionizada - não ionizada (I-N) e não ionizada - ionizada (N-I) pode também ser explicada por existir tampão de pH na camada de difusão, o que conduz a uma comparação entre os processos de controlo cinético e termodinâmico.

O efeito do pH de soluções de antibióticos β-lactâmicos na absorção intestinal em ratos e a quantificação da contribuição das formas ionizadas e não ionizadas no processo da absorção foi estudado por alguns autores (185,186). A pH > pKa encontrando-se totalmente ionizadas, a sua absorção intestinal dá-se pela passagem dos canais de membrana, sendo, portanto, independente do seu índice lipófilo. Isto poderá explicar em parte o facto de que as espécies ionizadas são absorvidas em quan-tidades apreciáveis. Há independência da velocidade de absorção para muitas penicilinas e cefalosporinas em soluções de pH > 6,5 no lúmen intestinal. Para valores de pH < 6,0 a velocidade de absorção aumenta significativamente e depende directamente da lipossolubilidade das espécies não ionizadas.

A zona semelhante ao pKa é a região teste para a ocorrência do ponto de inflexão na curva teórica obtida entre a velocidade de absorção e a pH. Cada curva mostra também uma certa região constante para a qual pH < pKa.

A contribuição para a absorção GI da forma não dissociada é muito maior do que a da forma dissociada.

O pH da solução afecta não só os princípios activos, como também os produtos inertes das formas farmacêuticas. Na medida em que os princípios activos e os adjuvantes se dissolvem, podem vir a alterar o pH da camada de difusão sem mudar significativamente o pH do seio dos fluidos. É possível adicionar intencionalmente agentes tampão às cápsulas ou comprimidos, pois uma pequena quantidade pode favorecer a rápida dissolução dos princípios activos. Resumidamente, o efeito do pH na velocidade de dissolução de um fármaco em formas orais depende do pH dos fluidos do TGI, da força do

cido ou da base bem como das propriedades físico-químicas.

Quanto maior for C_i mais depressa a substância atravessará a membrana. Este C_i refere-se à mesma concentração referida na equação de Nernst e que foi minimizada com respeito à velocidade de dissolução.

Se os fluidos são aquosos, então C_i aumentará com o aumento da solubilidade das substâncias na água, o que implica diminuir $R_{m/aq}$. Assim, em relação à absorção da substância, ela não pode ser mais lipossolúvel que hidrossolúvel porque não se dissolveria nos fluidos aquosos do TGI, nem tão solúvel na água que não penetre na parte lipídica da membrana.

C_s é influenciada pelo fluxo sanguíneo, pois quanto maior for este, maior é a diferença ($C_i - C_s$) e mais aumenta o transporte passivo.

Parece ser evidente que os compostos são absorvidos por outros processos. Muitos nutrientes essenciais são solúveis em água, têm baixos Ko/a e são fornecidos através das membranas. Este facto leva a pensar que o intestino tem mecanismos especiais de transporte os quais dependem da membrana e do tipo de estrutura do composto.

Se um composto é absorvido por um mecanismo passivo, pode obter-se linearidade na representação gráfica da relação entre a quantidade absorvida e a dose ingerida, embora a percentagem absorvida em relação à dose ingerida possa aparecer com uma inclinação de zero.

Contrariamente ao mecanismo passivo, se o processo de absorção requer envolvimento da membrana, o sistema pode ser saturado com o aumento das doses orais tornando-se menos eficiente para as altas dosagens. Na representação gráfica, haverá linearidade para pequenas doses e curva para doses moderadas, aproximando-se das assíntotas para doses muito altas.

Para um processo não passivo a percentagem de dose absorvida diminui com o aumento da dose administrada como resultado da saturação do mecanismo de transporte, notando-se deficiência da absorção. Por isso tem sido sugerida a

administraçâo de doses orais pequenas em vez de uma única dose alta. Combinada esta soluçâo com o efeito pós-antibiótico (209) resultará certamente eficácia e maior conforto para o paciente.

2. MATERIAL E MÉTODOS

a) Administraçâo de cápsulas de ciclacilina em animais de experiência: O enchimento das cápsulas [vd.Ap.3] foi processado manualmente, mediante o peso de cada coelho de modo a respeitar a dose de 50 mg de ciclacilina (lote 563) [vd.Ap.1] por Kg massa corporal.

Os animais sâos, machos e fêmeas, foram submetidos ou nâo previamente a 24 horas de jejum, consoante as condiçôes do ensaio o exigiam. A água nunca lhes foi retirada.

Cada animal era utilizado para experiência uma só vez por semana.

A coadministraçâo de uma certa porçâo de água ajudou à deglutiçâo das cápsulas.

Em tempos previamente estipulados por um ensaio piloto foram feitas colheitas de sangue (± 2 ml) da veia marginal, da orelha as quais eram recebidas em tubo contendo uma gota de heparina. Após centrifugaçâo durante 10 minutos a 2500 r.p.m. procedeu-se à separaçâo do plasma.

b) Doseamento da ciclacilina no plasma: Para o doseamento da ciclacilina no plasma procedeu-se a ensaios microbiológicos pela técnica de difusâo em placa utilizando cilindros de aço inoxidável esterilizados colocados sobre o meio de cultura τ sem ferir o meio β de suporte [vd.Ap.4]. A estirpe escolhida foi a Sarcina lutea ATCC 9341 gentilmente cedida pelo Lab. de Microbiologia da Fac. Farmácia do Porto. Era repicada para gelose inclinada periodicamente. O seu desenvolvimento precedendo cada experiência era feito em 25 ml de meio α [vd.Ap.4] a 37 °C, sem agitaçâo durante 20 horas. Desta suspensâo bacteriana eram retirados 2 ml para 100 ml

do meio τ previamente fundido e arrefecido até 48-50 °C. Imediatamente eram distribuídos 5 ml desta diluição para cada caixa de Petri que continha já 20 ml de meio β solidificado. Cada placa era cuidadosamente agitada de modo que o meio que continha a bactéria ficasse uniformemente distribuído, com superfície lisa para receber os cilindros com o plasma obtendo-se assim difusão homogénea.

As soluções de antibiótico para referência foram preparadas com solução tampão de fosfatos pH 6, esterilizada [vd.Ap.4].Essas soluções eram sempre preparadas no dia de cada experiência, pertencendo o antibiótico ao mesmo lote que serviu para a preparação das cápsulas administradas. Cada solução era diluída o número de vezes necessário de modo a obter-se uma gama de concentrações suficiente para cálculo da concentração plasmática. Por interpolação na curva obtida entre logarítmos das concentrações de referência e respectivos raios dos halos de inibição determinaram-se as quantidades de antibiótico presentes no plasma (mcg/ml). Os registos resultaram das leituras efectuadas após 16-18 horas de incubação a 37 °C.

c) Cálculo dos parâmetros: Com o registo das médias dos níveis plasmáticos (mcg/ml) correspondentes aos vários tempos de colheita de sangue (min) foram construídas as respectivas curvas.

Com os valores da regressão linear do ramo ascendente de cada curva (ordem um) obtiveram-se as constantes de velocidade de absorção (Kapp min^{-1}) pelo método dos mínimos quadrados.

Os valores das constantes de velocidade por unidade de peso metabólico (Vapp min^{-1} Kg^{-1}) foram obtidos segundo a equação:

$$Vapp = Kapp/(\text{peso do animal vivo})^{0,75} \qquad (210)$$

As áreas sob as curvas(AUC) foram determinadas com a ajuda do planímetro.

3. RESULTADOS:

QUADRO XII - Níveis plasmáticos de ciclacilina (mcg/ml) após administração oral de cápsulas (50 mg/Kg) a coelhos.

Tempo (min)	pós-prandeal (mcg/ml ± s)	(n)	em jejum (mcg/ml ± s)	(n)
15	8,9 ± 11,2	(32)	8,3 ± 12,1	(19)
30	14,5 ± 12,4	(25)	9,5 ± 9,8	(11)
45	25,5 ± 17,7	(44)	17,2 ± 24,0	(9)
60	19,8 ± 13,5	(40)	22,0 ± 20,7	(28)
75	17,5 ± 11,5	(38)	20,3 ± 26,8	(9)
90	10,7 ± 7,3	(38)	10,7 ± 6,6	(16)
105	7,1 ± 4,8	(11)	8,2 ± 7,1	(13)
120	5,4 ± 4,6	(8)	4,9 ± 3,3	(14)
135	2,7 ± 2,0	(10)	———	———
150	0,9 ± 0,9	(4)	———	———
165	0,8 ± 0,4	(3)	———	———

(n)-número de experiências registadas; s-desvio padrão.

QUADRO XIII - Constantes de velocidade aparente de absorção, constantes de velocidade aparente por unidade de peso metabólico e áreas sob a curva referentes à administração oral de cápsulas de ciclacilina (50 mg/Kg) a coelhos.

	pós-prandeal	(n)	em jejum	(n)
pm ± s Kg	3,644 ± 0,448	(49)	3,850 ± 0,376	(34)
Kapp min^{-1}	1,52 x 10^{-2}		1,05 x 10^{-2}	
Vapp $min^{-1}Kg^{-1}$	5,76 x 10^{-3}		4,33 x 10^{-3}	
AUC mcg ml^{-1} min (0-120)	54,8		49,3	

(n)-número de coelhos pesados; pm-peso médio dos coelhos; s-desvio padrão.

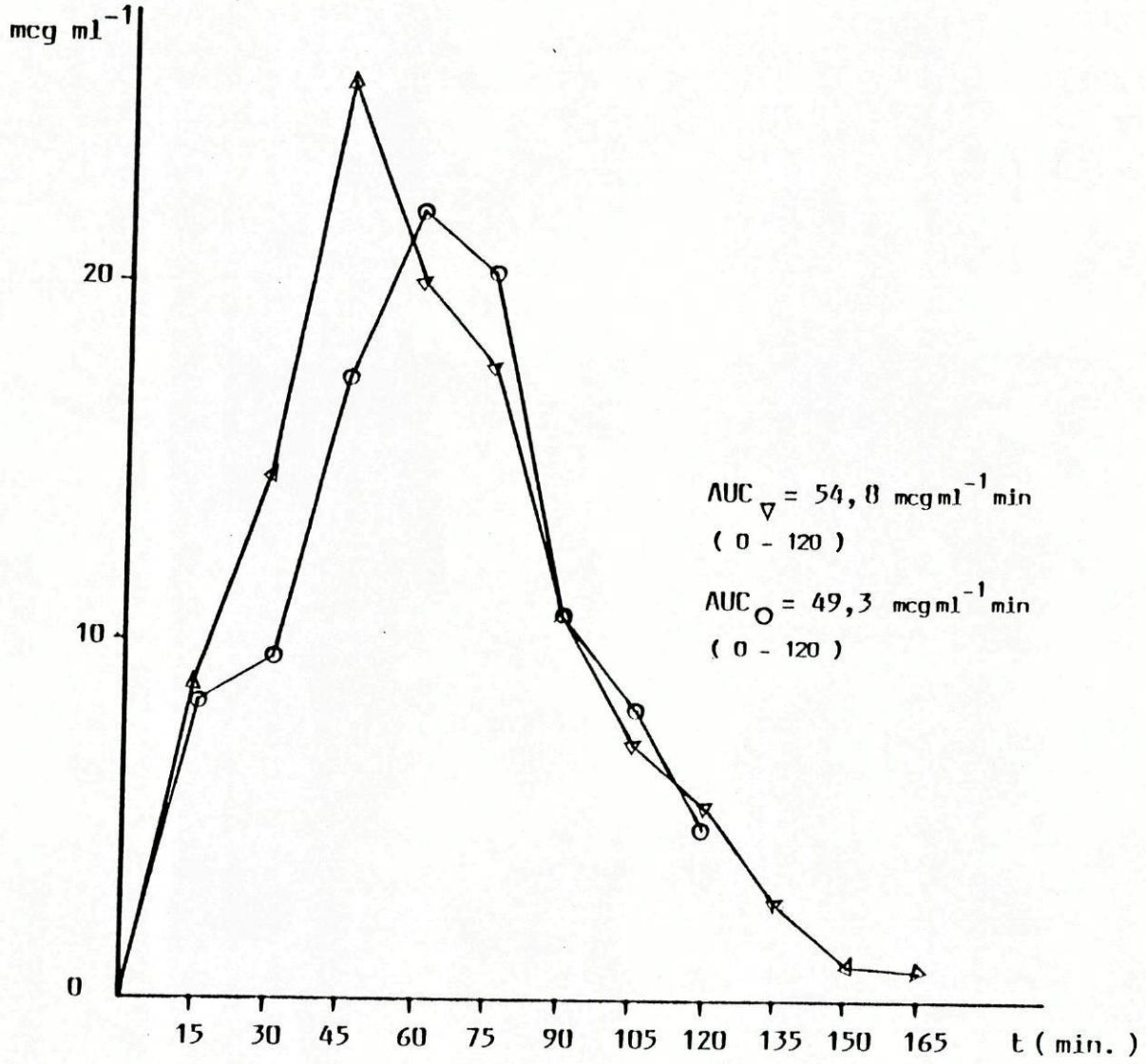


Fig.46 - Concentrações médias plasmáticas de ciclacilina após administração oral de cápsulas (50 mg / Kg) a coelhos.

O - administração em jejum.

∇ - administração pós - prandeal.

QUADRO XIV - Níveis plasmáticos de ciclacilina (mcg/ml) após administração oral de cápsulas (50 mg/Kg) em jejum a coelhos machos e fêmeas.

Tempo (min)	machos (mcg/ml ± s)	(n)	fêmeas (mcg/ml ± s)	(n)
15	14,5 ± 20,9	(5)	6,0 ± 7,0	(14)
30	18,1 ± 8,3	(3)	6,3 ± 8,7	(8)
45	19,3 ± 30,9	(5)	14,6 ± 15,9	(4)
60	21,7 ± 11,6	(8)	22,8 ± 23,2	(20)
75	32,1 ± 37,0	(4)	10,9 ± 12,8	(5)
90	16,6 ± 6,5	(6)	7,2 ± 3,5	(10)
105	12,1 ± 14,7	(3)	7,0 ± 3,7	(10)
120	9,2 ± 4,9	(3)	3,7 ± 1,5	(11)

(n)-número de experiências registadas; s-desvio padrão.

QUADRO XV - Constantes de velocidade aparente de absorção, constantes de velocidade aparente por unidade de peso metabólico e áreas sob a curva referentes à administração oral de cápsulas de ciclacilina (50 mg/Kg) em jejum a coelhos machos e fêmeas.

	machos	(n)	fêmeas	(n)
pm ± s Kg	3,875 ± 0,347	(10)	3,414 ± 0,550	(24)
Kapp min^{-1}	0,41 x 10^{-2}		1,28 x 10^{-2}	
Vapp $min^{-1}Kg^{-1}$	1,48 x 10^{-3}		5,09 x 10^{-3}	
AUC mcg $ml^{-1}min$ (0-120)	68,6		38,1	

(n)-número de coelhos pesados; pm-peso médio dos coelhos; s-desvio padrão.

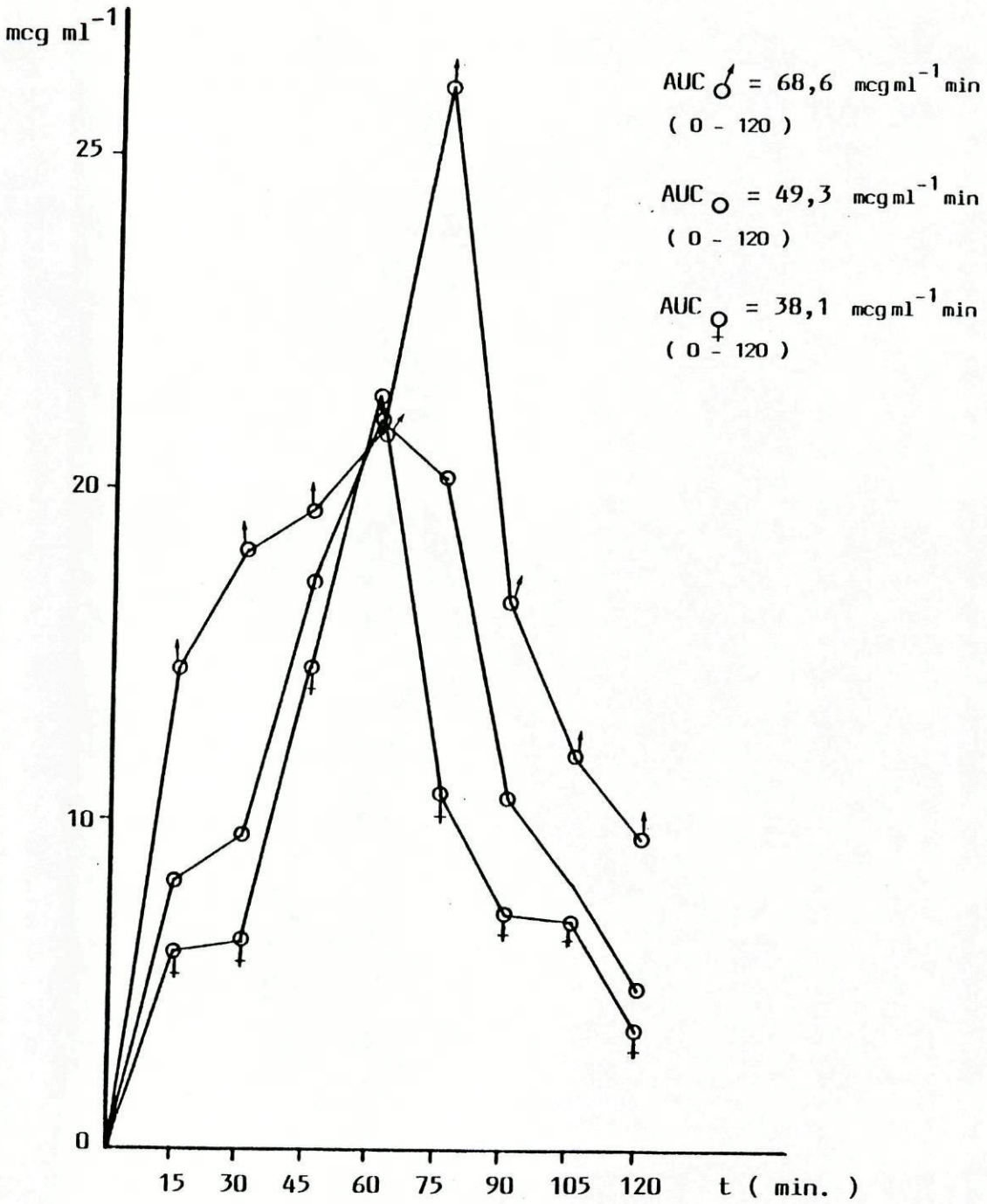


Fig. 47 - Concentrações médias plasmáticas de ciclacilina atingidas após administração oral em jejum de cápsulas de ciclacilina (50 mg / Kg) a coelhos machos e fêmeas.

♂ - concentrações plasmáticas de ciclacilina nos machos.

○ - concentrações plasmáticas ponderadas.

♀ - concentrações plasmáticas de ciclacilina nas fêmeas.

QUADRO XVI - Níveis plasmáticos de ciclacilina (mcg/ml) após administração oral de cápsulas (50 mg/Kg) pós-prandeal a coelhos machos e fêmeas.

Tempo (min)	machos (mcg/ml ± s)	(n)	fêmeas (mcg/ml ± s)	(n)
15	7,5 ± 7,5	(18)	10,6 ± 14,8	(14)
30	13,3 ± 12,3	(11)	15,4 ± 12,9	(14)
45	24,9 ± 15,4	(22)	26,1 ± 20,0	(22)
60	22,5 ± 14,8	(21)	17,3 ± 12,7	(19)
75	21,3 ± 10,9	(16)	14,3 ± 10,3	(22)
90	13,2 ± 8,4	(17)	8,8 ± 5,7	(21)
105	9,0 ± 5,8	(4)	6,5 ± 4,5	(7)
120	8,2 ± 5,3	(4)	2,5 ± 1,0	(4)
135	3,1 ± 1,9	(4)	1,5 ± 1,1	(6)
150	2,1	(1)	0,7 ± 0,7	(3)
165	1,2	(1)	0,7 ± 0,4	(2)

(n)-número de experiências registadas; s-desvio padrão.

QUADRO XVII - Constantes de velocidade aparente de absorção, constantes de velocidade aparente por unidade de peso metabólico e áreas sob a curva referentes à administração oral de cápsulas de ciclacilina (50 mg/Kg) pós-prandeal a coelhos machos e fêmeas.

	machos	(n)	fêmeas	(n)
pm ± s Kg	3,775 ± 0,347	(23)	3,214 ± 0,520	(26)
Kapp min^{-1}	1,73 x 10^{-2}		1,30 x 10^{-2}	
Vapp $min^{-1}Kg^{-1}$	6,40 x 10^{-3}		5,41 x 10^{-3}	
AUC mcg $ml^{-1}min$ (0-165)	62,5		51,8	

(n)-número de coelhos pesados; pm-peso médio dos coelhos; s-desvio padrão.

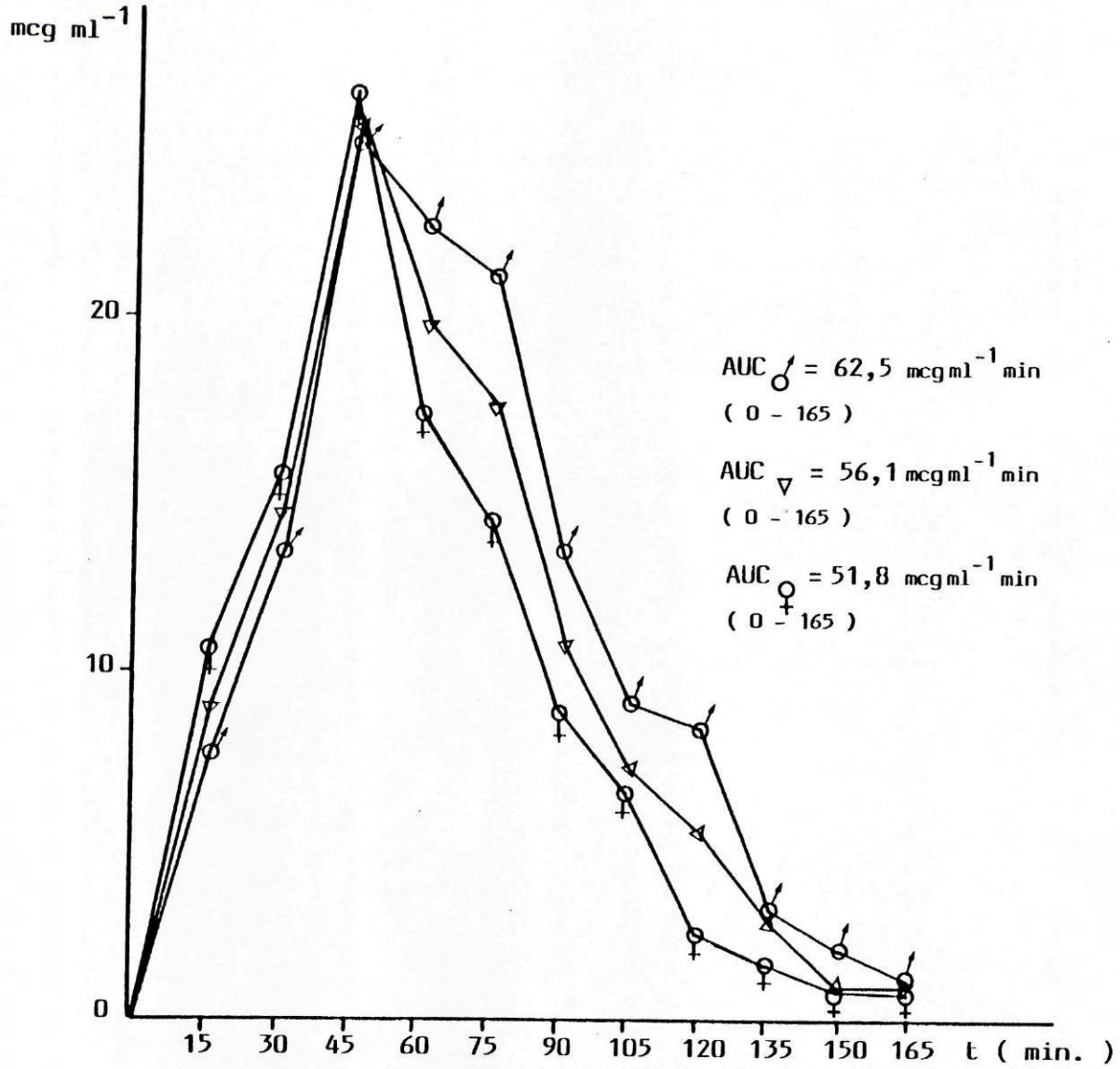


Fig.48 - Concentrações médias plasmáticas atingidas após administração oral pós-prandeal de cápsulas de ciclacilina (50 mg/Kg) a coelhos machos e fêmeas.

♂ - concentrações plasmáticas de ciclacilina nos machos.

▽ - concentrações plasmáticas ponderadas.

♀ - concentrações plasmáticas de ciclacilina nas fêmeas.

QUADRO XVIII - Níveis plasmáticos de ciclacilina (mcg/ml) após coadministraçâo oral de cápsulas (50 mg/Kg), glucose (500 mg/Kg) e glicina (500 mg/Kg) a coelhos.

Tempo (min)	ciclac.+glucose (mcg/ml ± s)	(n)	ciclac.+glicina (mcg/ml ± s)	(n)
15	3,3 ± 2,7	(6)	2,3 ± 2,7	(9)
30	7,5 ± 6,2	(9)	9,6 ± 12,5	(8)
45	10,2 ± 8,0	(3)	11,4 ± 13,9	(14)
60	13,1 ± 8,1	(12)	16,7 ± 14,7	(15)
75	13,0 ± 8,5	(6)	17,7 ± 16,9	(10)
90	12,9 ± 6,9	(12)	18,5 ± 13,6	(16)
105	12,6 ± 8,8	(7)	18,2 ± 14,7	(10)
120	8,2 ± 6,5	(14)	15,0 ± 9,8	(16)
135	7,3 ± 5,3	(5)	5,6 ± 6,0	(9)
150	5,7 ± 5,8	(5)	5,1 ± 4,2	(8)
165	3,9 ± 3,3	(2)	3,9 ± 3,9	(10)

(n)-número de experiências registadas; s-desvio padrâo.

QUADRO XIX - Constantes de velocidade aparente de absorção, constantes de velocidade aparente por unidade de peso metabólico e áreas sob a curva referentes à coadministraçâo oral de cápsulas de ciclacilina (50 mg/Kg), glucose (500 mg/Kg) e glicina (500 mg/Kg) a coelhos.

	ciclac.+glucose (n)	ciclac.+glicina (n)
pm ± s Kg	3,613 ± 0,214 (20)	3,586 ± 0,253 (31)
Kapp min^{-1}	1,63 x 10^{-2}	2,31 x 10^{-2}
Vapp $min^{-1}Kg^{-1}$	6,22 x 10^{-3}	8,88 x 10^{-3}
AUC mcg $ml^{-1}min$ (0-165)	48,2	62,2

(n)-número de coelhos pesados; pm-peso médio dos coelhos; s-desvio padrâo.

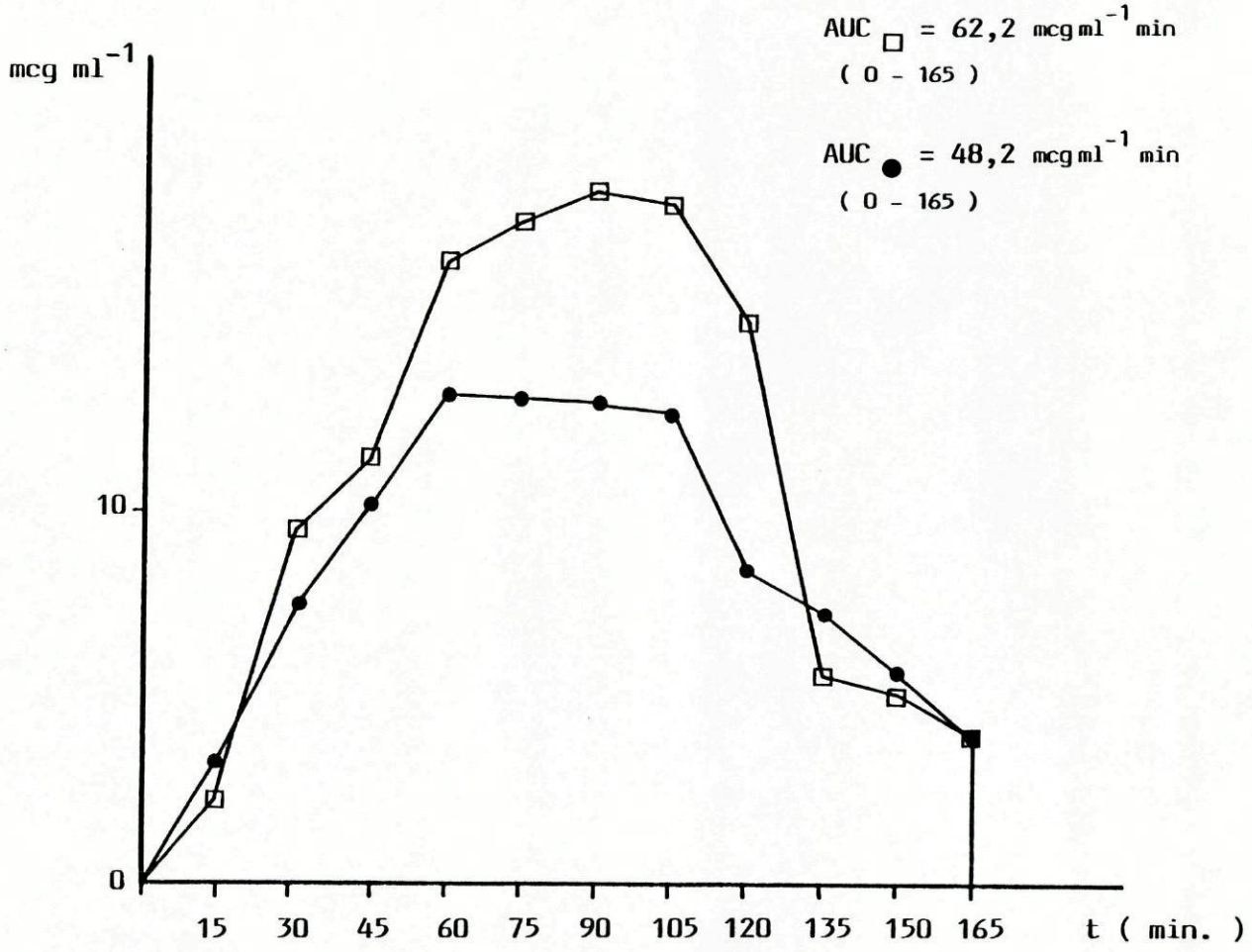


Fig.49- Concentrações médias plasmáticas atingidas após administração oral de cápsulas de ciclacilina (50 mg/Kg), glucose (500 mg/Kg) e glicina (500 mg/ Kg) a coelhos.

□ - concentrações plasmáticas de ciclacilina quando administrada com glicina.

● - concentrações plasmáticas de ciclacilina quando administrada com glucose.

QUADRO XX - Níveis plasmáticos de ciclacilina (mcg/ml) após coadministração oral de cápsulas (50 mg/Kg) e glucose (500 mg/Kg) a coelhos machos e fêmeas.

Tempo (min)	machos (mcg/ml ± s)	(n)	fêmeas (mcg/ml ± s)	(n)
15	2,1 ± 1,4	(3)	4,5 ± 3,5	(3)
30	6,3 ± 5,1	(3)	8,2 ± 7,1	(6)
45	10,2 ± 8,0	(3)	———	—
60	13,0 ± 10,3	(3)	13,2 ± 8,0	(9)
75	13,2 ± 10,4	(3)	12,6 ± 4,1	(3)
90	14,0 ± 9,6	(3)	12,5 ± 6,5	(9)
105	12,7 ± 8,5	(4)	12,5 ± 5,3	(3)
120	10,4 ± 10,1	(4)	7,4 ± 4,8	(10)
135	9,6 ± 8,1	(2)	4,8 ± 4,5	(3)
150	9,6 ± 8,1	(2)	3,1 ± 2,7	(3)
165	6,3	(1)	1,5 ± 0,9	(3)

(n)-número de experiências registadas; s-desvio padrão.

QUADRO XXI - Constantes de velocidade aparente de absorção, constantes de velocidade aparente por unidade de peso metabólico e áreas sob a curva referentes à coadministração oral de cápsulas de ciclacilina (50 mg/Kg) e glucose (500 mg/Kg) a coelhos machos e fêmeas.

	machos	(n)	fêmeas	(n)
pm ± s Kg	3,771 ± 0,201	(8)	3,508 ± 0,224	(12)
Kapp min^{-1}	2,28 x 10^{-2}		1,18 x 10^{-2}	
Vapp $min^{-1} Kg^{-1}$	8,44 x 10^{-3}		4,60 x 10^{-3}	
AUC mcg $ml^{-1} min$ (0-165)	52,5		45,3	

(n)-número de coelhos pesados; pm-peso médio dos coelhos; s-desvio padrão.

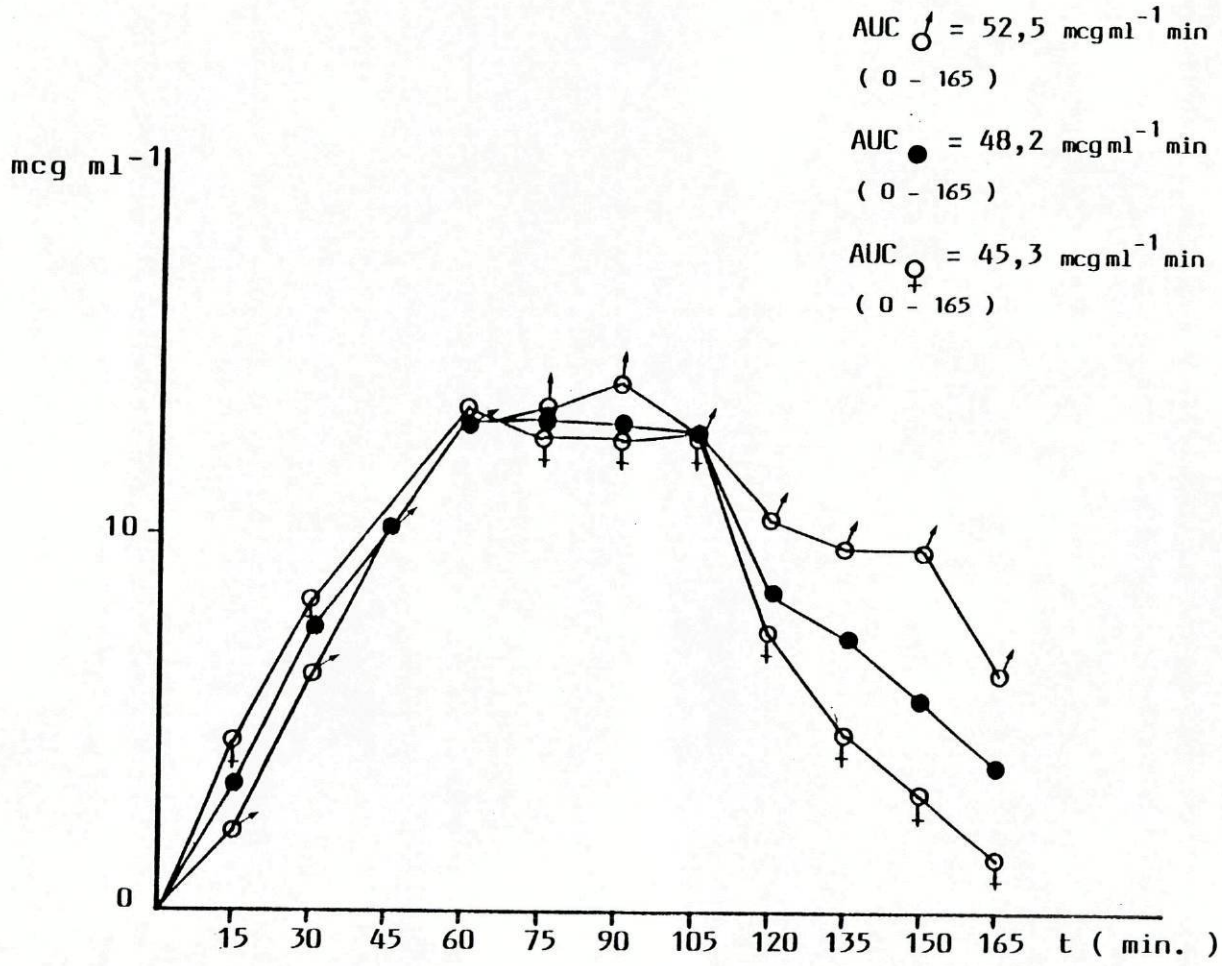


Fig.50 - Concentrações médias plasmáticas atingidas após administração oral de cápsulas de ciclacilina (50 mg / Kg) e de glucose (500 mg / Kg) a coelhos machos e fêmeas.

♂ - concentrações plasmáticas de ciclacilina nos machos.

● - concentrações plasmáticas ponderadas.

♀ - concentrações plasmáticas de ciclacilina nas fêmeas.

QUADRO XXII - Níveis plasmáticos de ciclacilina (mcg/ml) após coadministraçâo oral de cápsulas (50 mg/Kg) e glicina (500 mg/Kg) a coelhos machos e fêmeas.

Tempo (min)	machos (mcg/ml ± s)	(n)	fêmeas (mcg/ml ± s)	(n)
15	3,6 ± 3,1	(5)	0,7 ± 0,6	(4)
30	7,0 ± 8,9	(3)	11,2 ± 15,0	(5)
45	15,3 ± 15,2	(6)	8,6 ± 12,1	(8)
60	23,4 ± 17,3	(7)	13,0 ± 13,0	(10)
75	24,2 ± 16,3	(5)	———	—
90	24,1 ± 14,4	(4)	16,5 ± 13,3	(12)
105	22,8 ± 15,0	(7)	———	—
120	21,7 ± 11,0	(4)	12,8 ± 8,7	(12)
135	8,1 ± 8,2	(4)	4,2 ± 2,3	(5)
150	6,0 ± 5,8	(4)	3,9 ± 3,0	(4)
165	5,1 ± 4,8	(4)	3,1 ± 3,4	(6)

(n)-número de experiências registadas; s-desvio padrâo.

QUADRO XXIII - Constantes de velocidade aparente de absorçâo, constantes de velocidade aparente por unidade de peso metabólico e áreas sob a curva referentes à coadministraçâo oral de cápsulas de ciclacilina (50 mg/Kg) e glicina (500 mg/Kg) a coelhos machos e fêmeas.

	machos	(n)	fêmeas	(n)
pm ± s Kg	3,767 ± 0,202	(13)	3,474 ± 0,210	(18)
Kapp min^{-1}	2,09 x 10^{-2}		3,62 x 10^{-2}	
Vapp $min^{-1}Kg^{-1}$	7,75 x 10^{-3}		14,22 x 10^{-3}	
AUC mcg $ml^{-1}min$ (0-165)	79,6		51,7	

(n)-número de coelhos pesados; pm-peso médio dos coelhos; s-desvio padrâo.

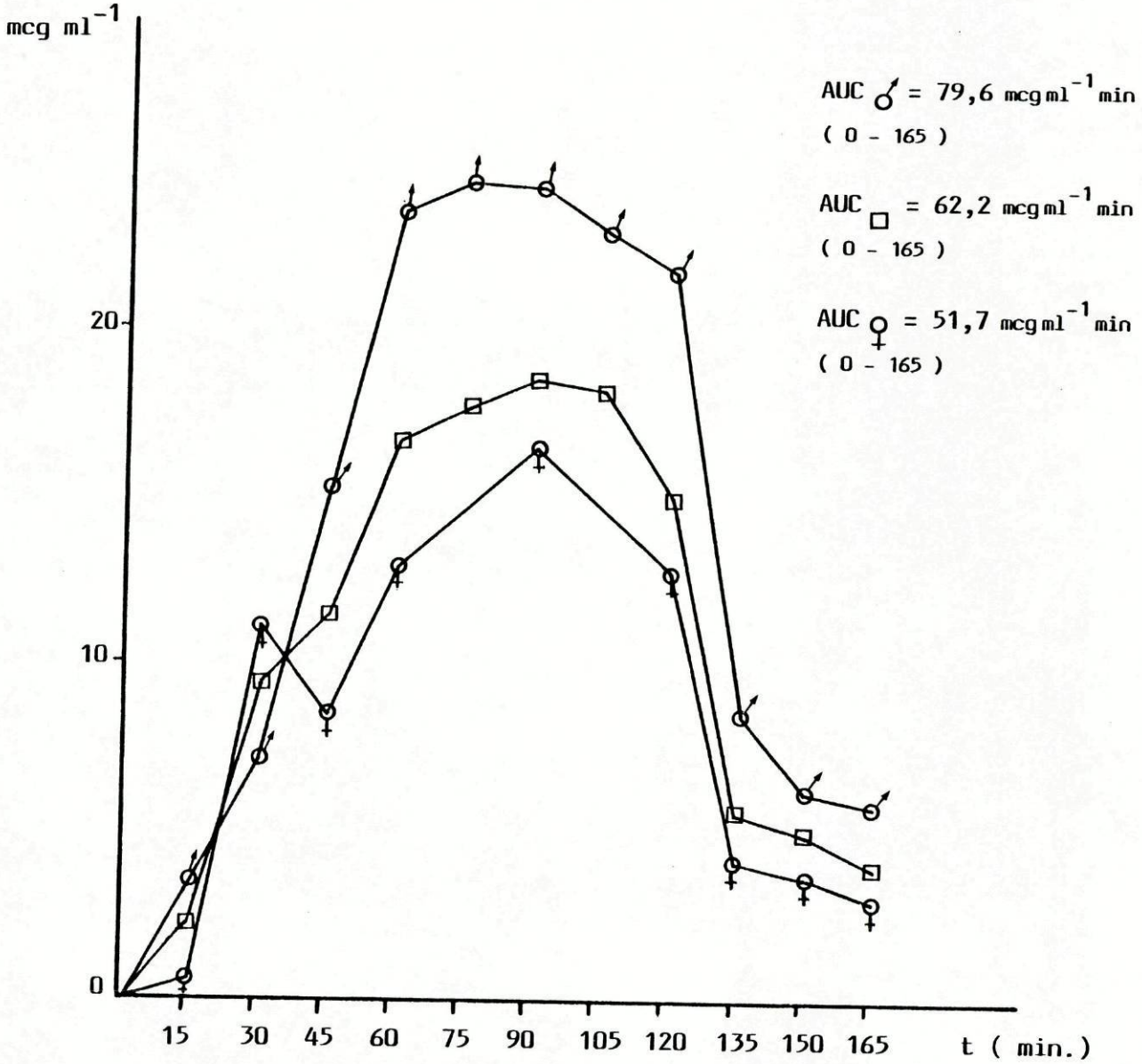


Fig. 51 - Concentrações médias plasmáticas atingidas após administração oral de cápsulas de ciclacilina (50 mg/ Kg) e glicina (500 mg/ Kg) a coelhos machos e fêmeas.

♂ - concentrações plasmáticas de ciclacilina nos machos.

□ - concentrações plasmáticas ponderadas.

♀ - concentrações plasmáticas de ciclacilina nas fêmeas.

4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

a) Influência do conteúdo gástrico na absorção da ciclacilina: Pelos dados experimentais registados nos QUADROS XII, XIII e Fig.46 é nítida a diferença de absorção da ciclacilina com o estômago vazio (jejum provocado 24 horas antes da experiência) ou com pressuposto conteúdo estomacal (alimentação normal até à hora da experiência). O pico sérico é atingido aos 45 minutos no pós-prandeal e só uma hora após administração em jejum. Também os valores inscritos nos QUADROS XIV, XVI e Fig.47 e 48 reflectem este facto vantajoso.

Entende-se que a diversidade de valores encontrados para cada caso (desvios padrão) será resultante sobretudo de factores individuais.

A conjugação dos factores fisiológicos como o tipo de alimentação, o próprio volume de alimentos e esvaziamento gástrico certamente concorrem no sentido de incrementar a velocidade e quantidade de ciclacilina absorvida pós-prandeal. Poderá acontecer também que algum constituinte alimentar exerça influência no processo de absorção.

No que concerne à velocidade verifica-se também incremento no pós-prandeal (>Kapp e Vapp, QUADRO XIII).

b) Influência dos adjuvantes na absorção da ciclacilina: As formas medicamentosas sólidas contêm adjuvantes que se contam entre os materiais designados inertes. Sabe-se, porém, que essa inércia é teórica e, assim, poderá pensar-se na possível interferência na absorção.

A escolha recaiu sobre a glucose e glicina pela sua representatividade dos grupos de substâncias energéticas e plásticas, respectivamente, que fazem parte das cadeias alimentares naturais e medicamentosas.

Quer os alimentos ou adjuvantes podem interferir por reacção provável de complexação entravando ou promovendo a absorção.

A atenção aos QUADROS XII, XVIII e Fig.46 e 49 denota influência daqueles adjuvantes na absorção, pois tanto a glucose como a glicina coadministradas com a ciclacilina em jejum não aumentam a amplitude da absorção do antibiótico, pelo que os níveis plasmáticos nunca são muito elevados.

No caso da glucose poderá acontecer haver competição na passagem da membrana sendo preferido o açúcar, ou então desenvolver-se um processo de saturação do meio no local da absorção, diminuindo a velocidade de dissolução da ciclacilina após uma primeira fase. Durante este tempo poderá eventualmente ocorrer também alguma degradação do antibiótico, baixando a concentração efectiva.

As constantes registadas no QUADRO XIII (coluna da direita) comparadas com as do QUADRO XIX são bem diferentes; este mostra claramente maior velocidade de absorção em presença dos adjuvantes. As velocidades aparentes mais altas são encontradas quando intervém a glicina. É, pois, de considerar a hipótese do aminoácido incrementar o transporte através da membrana ou mesmo por aumento do mecanismo activo do antibiótico.

A observação das áreas sob as curvas relativamente aos dois adjuvantes revela que estas são praticamente iguais para a coadministração com glucose (Fig.49) comparada com a cápsula de antibiótico tomada em jejum (Fig.46). É nitidamente superior a área sob a curva referente à coadmistração com glicocola (Fig.49). Porém, a contribuição, para este facto não é tanto o ramo ascendente mas sim o descendente da curva, mostrando a manutenção de níveis mais altos no sangue.

Se estes dados forem extrapolados para o plano alimentar, parecerá, então, que os componentes da dieta dos grupos dos hidratos de carbono e aminoácidos simples não serão os responsáveis directos pela maior amplitude de absorção no pós-prandeal.

c) <u>O efeito do sexo na absorção da ciclacilina</u>: não se prende directamente com a velocidade de absorção nem com a

magnitude desta, porquanto os valores quantitativos das concentraçôes plasmáticas, Kapp e Vapp nâo sâo sempre mais altos no mesmo género em todos os casos (nos QUADROS XV e XXIII sâo mais altos para as fêmeas, nos QUADROS XVII e XXI sâo mais altos para os machos).

As diferenças a assinalar nas experiências realizadas dâo como resultado o que se verifica nos QUADROS anteriormente referidos e nas Fig.47, 48, 50 e 51 no que respeita às áreas sob as curvas.

Depois de atingidos os níveis máximos (absorçâo, distribuiçâo e alguma metabolizaçâo) a eliminaçâo faz-se com um grau diferente.

Ainda hoje nâo se sabe ao certo os mecanismos que envolvem precisamente estas diferenças, mas perante condiçôes iguais impostas a machos e fêmeas da espécie utilizada para experiência (dieta controlada, dose de antibiótico e coadministraçôes) fica a certeza de que nos machos a ciclacilina permanece em circulaçâo em maior quantidade e por mais tempo.

Provavelmente a velocidade do fluxo sanguíneo, filtraçâo glomerular e o comando hormonal serâo os factores que terâo influência nos resultados obtidos.

Ao contrário de outros antibióticos como a gentamicina e a oxitetraciclina as penicilinas nâo estâo identificadas como drogas interferentes na espermatogénese. Nâo se verificando este efeito secundário (211),a permanência da ciclacilina por mais tempo no sangue dos machos será benéfica.

De uma maneira geral, com base nas experiências realizadas podem tirar-se as seguintes conclusôes:

- a ciclacilina administrada por via oral a coelhos é melhor e mais rapidamente absorvida quando existe conteúdo estomacal do que com o estômago vazio.

- a glucose e a glicina, quando coadministradas oralmente com a ciclacilina a coelhos, incrementam

a velocidade específica aparente de absorção GI e a velocidade específica aparente por unidade de peso metabólico. Os níveis plasmáticos são menos elevados quando é feita a coadministração do que quando o antibiótico é tomado isoladamente e em jejum.

- De uma maneira geral, o efeito do sexo nos leporídeos sobre a absorção GI propriamente dita da ciclacilina não é evidenciado. Contudo, a fase de eliminação mostrou ser mais activa nas fêmeas, pelo que os níveis de antibiótico circulante são mais elevados nos machos e, consequentemente, também $t_{1/2\beta}$.

V - ESTUDO DA ABSORÇÃO RECTAL DE AMINOPENICILINAS

1. CONSIDERAÇÕES GERAIS
2. A ESCOLHA DO EXCIPIENTE PARA SUPOSITORIOS
3. O EFEITO DOS TENSIOACTIVOS NA ABSORÇÃO RECTAL
4. PROBLEMAS RELATIVOS AO ENVELHECIMENTO DOS SUPOSITORIOS
5. MATERIAL E MÉTODOS
6. RESULTADOS
6.1. RESULTADOS DA EXPERIMENTAÇÃO EM ANIMAIS
6.2. RESULTADOS DA EXPERIMENTAÇÃO EM HUMANOS
6.3. RESULTADOS DA CONSERVAÇÃO DOS SUPOSITORIOS EM DIVERSAS CONDIÇÕES DE ARMAZENAGEM
6.3.1. IMPORTANCIA DA CONSERVAÇÃO DOS SUPOSITORIOS SOBRE AS CARACTERISTICAS BIOGALENICOS
7. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

V - ESTUDO DA ABSORÇAO RECTAL DE AMINOPENICILINAS

1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A produção de supositórios assenta basicamente na mistura dos princípios activos com os excipientes, segundo os métodos de fusão ou compressão. Como regra geral, os supositórios obedecem a tamanhos e formas mais ou menos padronizados e apresentam-se sem fissuras e chaminés quando o fabrico decorreu em boas condições (212). A aparência homogénea denota uniformidade de mistura mas estão sujeitos a pequenas variações de peso, ponto de fusão ou dispersão e resistência.

Cada fármaco ao ser incorporado numa determinada forma física fica sujeito a um transporte determinado mercê da liberação por parte dos excipientes (213). A biodisponibilidade das formas rectais é, pois, dependente da formulação na qual a natureza dos excipientes influencia a dissolução das substâncias activas nos fluidos orgânicos ou as quantidades necessárias para a sua absorção. Este relevante factor junta-se a outros, como os métodos de preparação e, naturalmente, as características do princípio activo e a conservação (214).

Regra geral, os princípios activos com características lipófilas são incorporados em bases hidrófilas e os fármacos hidrófilos usam-se com bases gordas.O objectivo é,pois, conseguir uma liberação favorável para os fluidos rectais. Estes, dentro dos valores de pH 6,8 e 7,4 têm capacidade tam-

pão muito limitada e consideravelmente influenciada pela solubilidade dos fármacos e tampões adicionados às massas. Uma vez que as moléculas não ionizadas são mais prontamente absorvidas do que as ionizadas, normalmente só os ácidos e bases fracas são bem absorvidos por via rectal. Se os fármacos têm características ácidas ou básicas mais fortes e se pretenda absorção, então esta terá que ser incrementada com substâncias tampão que alterem o pH da ampola rectal.

Se a cedência do antibiótico for rápida, a mucosa rectal tem condições fisiológicas para o rápido transporte e mesmo contando com a presença das β-lactamases a velocidade de absorção é de tal modo rápida que pode considerar-se insignificante a fracção de antibiótico inactivada (215).A teoria pH-partilha tem perfeito cabimento como mecanismo da absorção rectal (190). As veias hemorroidais superiores abrem na veia hepatotioportal e as médias e inferiores entram na circulação global. 50-70% dos fármacos podem não ser metabolizados no fígado por se furtarem ao efeito da primeira passagem e consequentemente à extracção por aquele órgão.

Uma vez que não se trata de formas extemporâneas, estabelece-se íntimo contacto desde a preparação entre os excipientes e fármacos. Dispõe-se de uma grande variedade de massas naturais e semi-sintéticas com características diferenciadas que permitem quase uma escolha para cada caso (216).

A corrente biofarmacêutica actual pretende cada vez mais ser exigente com os produtores dos glicerídeos semi-sintéticos no que respeita aos seus valores de pontos de fusão e solidificação, índices de hidroxilo, acidez, iodo e saponificação, características reológicas e polimórficas. Todos estes factores se relacionam com a distribuição das cadeias gordas no glicerol, sendo por consequência os parâmetros susceptíveis de influenciar a cedência dos fármacos contidos nos supositórios (217).Têm também influência na resistência ao envelhecimento para poderem proporcionar igual biodisponibilidade após período que medeia entre a produção e o consumo.

2. A ESCOLHA DO EXCIPIENTE

Na absorção rectal os excipientes têm uma importância mais incisiva do que na absorção gastro-intestinal. Basta comparar o menor espaço da ampola rectal onde fundem os supositórios com a enorme superfície do estômago e intestino, além das quantidades dos líquidos presentes.

Segundo os critérios de ordem galénica, a escolha do excipiente visa obter supositórios de forma estável e homogénea. A homogeneidade será mais facilmente conseguida se o princípio activo utilizado tiver dimensões regulares de partícula, solubilidade e dose apropriadas.

Se o princípio activo só for solúvel no excipiente às temperaturas de fusão ou liquefação, haverá certamente problemas durante o armazenamento, pois à temperatura ambiente poderá ocorrer a recristalização. Este fenómeno pode produzir-se mais ou menos ao acaso conduzindo a cristais em agulha que podem ser a causa de irritações rectais.

Na maioria dos casos o princípio activo não é solúvel no excipiente, torna-se pulverulento e de granulometria mais ou menos fina.

Os principais parâmetros a tomar em consideração são a densidade do pó e a dimensão de partícula. Sempre que as densidades dos fármacos e das massas forem afastadas, torna-se necessário o cálculo da quantidade de excipiente a utilizar de forma a assegurar a dosagem. Para isso, recorre-se ao factor de deslocameno ou à densidade aparente de cada fármaco em relação ao excipiente (218). No caso de densidade elevada e granulometria grosseira (>100μ) é mais difícil obter homogeneidade. Com agitação durante a preparação é possível melhorar a qualidade final do produto. Convém fazer o enchimento dos moldes à temperatura o mais baixa possível, mas em estado semi-líquido suficientemente fluido para poder escorrer e em estado não newtoniano com alguma rigidez para obstar à sedimentação.

A instabilidade fisico-química foi razão do abandono da

manteiga de cacau. As bases de hoje contêm menor percentagem de ácidos gordos insaturados. O problema actual da instabilidade química é proveniente da interacção princípio activo-excipiente. Esta precaução, embora necessária, não é suficiente e as condições de fabrico têm um papel também importante. Para as substâncias que facilmente se hidrolisam, não basta escolher um excipiente com baixo índice de hidroxilo tem também que se trabalhe em atmosfera de grau de humidade baixo.

No caso de antibióticos termolábeis, devem ser juntos a uma temperatura próxima da do ponto de fusão, que deve ser baixo, verificando-se neste caso que o sobreaquecimento da massa não é inconveniente, pois permite baixar a temperatura de envazamento.

Quanto à estabilidade física, além do ponto de fusão, deve pensar-se também no tempo de liquefação, resistência ao esmagamento, viscosidade à temperatura fisiológica e capacidade de extensibilidade.

O princípio activo pode não ter efeito algum sobre o ponto de fusão do excipiente, mas pode baixá-lo ou elevá-lo. Outros índices tais como o de acidez podem afectar o ponto de fusão durante o período de armazenagem. Pela importância deste factor há necessidade, por vezes, de adicionar às massas os "correctores do ponto de fusão". Sempre que se justifique, podem ser também misturados conservantes, agentes emulsivos e "auxiliares de distribuição" (219).

Do ponto de vista puramente tecnológico a escolha do excipiente tem como objectivo conseguir o melhor preço de venda com o mínimo de custos e em conformidade com as exigências de estabilidade e homogeneidade já apontadas.

Um dos problemas de fabricação mais comuns é a percentagem de substâncias pulverulentas e o fenómeno de endurecimento das misturas. Algumas vezes o aumento da viscosidade torna impossível o escoamento das massas. O primeiro reflexo tecnológico em tal situação seria aumentar a temperatura de mistura, o que conduz ao efeito contrário do pretendido em

muitas ocasiões. O espessamento explica-se por uma forma de gelificação que se produz logo que o princípio activo é ligeiramente solúvel na base lipófila e ocorre tanto mais facilmente quanto mais fina for a granulometria dos pós. O teor em água dos princípios activos parece desempenhar papel importante no fenómeno.

O escoamento para os alvéolos faz-se melhor se for automático do que com equipamento manual ou semi-automático, além de ser respeitado o plano das Normas de Boa Fabricação.

Os excipientes utilizados para envazamento directo não são exactamente os mesmos dos processos manuais. Os supositórios de enchimento directo não precisam de ser desmoldados; assim,um fraco coeficiente de retracção da massa ao arrefecimento não é tão importante. Em alguns casos é necessário obter uma rápida solidificação, o que permite reduzir o tempo de arrefecimento no túnel e evitar fendilhamentos sobre os alvéolos que podem ocorrer no momento da soldadura. Convém escolher excipientes que apresentem pontos de solidificação o mais perto possível do ponto de fusão, baixo índice de hidroxilo e velocidade de cristalização rápida.

Em função dos critérios biofarmacêuticos, a escolha dos excipientes reflecte-se na utilização dos supositórios. A sua acção pode ser de dois tipos bem distintos: local ou sistémica.

A acção local pode ser levada a efeito por processo mecânico (laxativos) ou químico (anti-hemorroidários).

A acção sistémica pretendida via supositórios é ainda um pouco contestada e por isso os relatórios de ensaios clínicos de laboratórios privados ou outras publicações devem demonstrar sem ambiguidades as vantagens da via rectal para determinado princípio activo. Por vezes os resultados são controversos e daí se gera a fraca credibilidade da forma supositório.

A escolha do excipiente deve ser feita em função das propriedades fisico-químicas do supositório acabado. Além dos parâmetros universalmente citados, a procura de melhora-

mento da absorção deve ser tentada por meio de aditivos - solventes, triglicerídeos com curtas cadeias ou tensioactivos. É possível procurar excipientes com grupos hidrófilos obtidos por misturas ou por síntese directa, os quais têm um EHL mais elevado do que as bases lipófilas usuais. Pensa-se que a influência destas bases na biodisponibilidade destas bases é devida à sua maior capacidadede de se espalhar sobre as mucosas.

3. O EFEITO DOS TENSIOACTIVOS NA ABSORÇÃO RECTAL

Após fusão dos supositórios, quanto maior área for contactada pelas massas mais rápida será a absorção, ajudada em muitos casos pela presença de um agente tensioactivo ou emulsivo. Estes podem exercer também um efeito sobre o muco que reveste a membrana incrementando a absorção por redução da espessura da camada de difusão, facilitando-a.

A absorção rectal pode ser influenciada pela adição de tensioactivos não iónicos, aniónicos e catiónicos, mercê das interacções que modificam as taxas de absorção, verificando-se a sua promoção ou diminuição.

Quando se verifica aumento de absorção pela presença de um agente tensioactivo atribui-se o facto, sobretudo, à modificação da permeabilidade das membranas e também à facilidade de formação de um sistema disperso.

Nos casos contrários, crê-se no aprisionamento das moléculas pelas micelas do agente e/ou acção deletéria sobre o antibiótico.

Para o estudo desta matéria tem que ser considerado o EHL do tensioactivo e a sua concentração associada à natureza estrutural do antibiótico. Em concentrações de agente abaixo da sua concentração micelar crítica, o valor do EHL não se apresenta como primeiro factor de influência na absorção. Para concentrações próximas das concentrações micelares o EHL parece já ser importante quanto à amplitude do

efeito do incremento da absorção.

Um dos factores que influencia a passagem através das membranas biológicas na presença de tensioactivos é a interacção droga-adjuvante (ligação por pontes hidrogénio geralmente reversível e complexos suficientemente solúveis nos fluidos biológicos). As propriedades das substâncias complexadas (solubilidade, difusão, Ko/a) podem diferir bastante da forma livre. Estas diferenças podem ser responsabilizadas pela não travessia das membranas ou perda de actividade. A porção complexada se se encontrar em equilíbrio com a forma livre, não será absorvida e a concentração efectiva será menor que a concentração total.

O Tween 80 e o sulfato de laurilo e sódio diminuem a absorção rectal do iodofórmio e do triiodofenol mas aumentam a do iodo. A diminuição de absorção é atribuida à complexação, o aumento diz-se devido à acção de limpeza dos tensioactivos sobre a superfície de mucosa (220).

Quando a solubilidade nos lípidos é baixa não será de esperar a incorporação da substância nas micelas do tensioactivo.

O retardamento da absorção pressupõe a formação de uma solução micelar que consiste em duas fases que obrigam à partilha das moléculas entre as micelas e a fase aquosa. Essa distribuição é constante e independente da concentração da substância a absorver (221,22,223). A absorção da parte incorporada nas micelas é insignificante, desde que as micelas não sejam absorvidas e, portanto, a concentração efectiva torna-se menor que a concentração aparente e verifica-se a diminuição da velocidade e grau de absorção.

$$k = \frac{fw\ k_{Df}}{C_s K_m + fw}$$

Esta equação relaciona a velocidade específica de absorção do fármaco (k) na solução micelar e a concentração do tensioactivo (C_s); fw representa a fracção de volume da

fase aquosa na solução total; k_{Df} é a velocidade específica de absorção do fármaco no estado livre; K_m é a constante de distribuição do fármaco na soluçâp micelar. Esta constante pode ser determinada pela fórmula

$$K_m = \frac{D_m \; f_W}{D_f \; C_{s\,m}}$$

onde D_m significa a quantidade de fármaco na fase micelar; D_f a quantidade de fármaco livre; $C_{s\,m}$ a concentração de tensioactivo que forma a micela.

Quando $C_{s\,m}$ é elevado torna-se praticamente igual a C_s.

Há substâncias que alteram as características de transporte das membranas biológicas. Os agentes quelantes podem aumentar a absorção intestinal de substâncias insolúveis nos lípidos e a deplecção do cálcio das membranas é uma razão apontada (224).

Os tensioactivos são também capazes de modificar as propriedades biológicas das membranas por mecanismos distintos - efeitos tóxicos e efeitos molhantes e solubilizantes sobre as estruturas fosfolipídicas das paredes dos capilares.

Em relação à classe de tensioactivos, Lenzotti e Mattocks encontraram um aumento na taxa de diálise peritoneal da ureia e creatinina em coelhos na presença de agentes tensioactivos segundo a ordem catiónicos > aniónicos >> não iónicos.

4. PROBLEMAS RELATIVOS AO ENVELHECIMENTO DOS SUPOSITORIOS

Com o decorrer do tempo de armazenagem e ainda que as condiçôes de temperatura sejam normais, os supositórios sâo susceptíveis de mudar as suas características físicas e/ou o seu teor em pincípio activo. Embora este possa nâo baixar grandemente, o endurecimento, modificaçôes no tempo de liquefacção e aumento do ponto de fusâo sâo os fenómenos que geralmente ocorrem e podem modificar mais ou menos a biodisponibilidade inicial das formas (225,226,227).

A armazenagem a temperaturas superiores a 25 °C incrementa o ponto de fusâo com os problemas subjacentes. Com o decorrer das semanas observa-se que a temperaturas mais elevadas(≈ 30 °C) os supositórios demoram menos a fundir do que outros conservados a temperaturas mais baixas. Explica-se este fenómeno pela fusâo parcial de parte da base gorda quando guardada a 30 °C. Após 6 meses de armazenagem no frigorífico (≈ 4 °C) nâo se operam modificaçôes.

O endurecimento está ligado ao polimorfismo dos triglicerídeos, mas até hoje ainda nâo foi possível caracterizar as supostas diferenças nas estruturas cristalinas das gorduras sólidas e relacioná-las com as formas α, β' e β dos triglicerídeos puros.

Outra hipótese sugere ser devido mais ao aumento na ordem cristalina do que à transiçâo polimórfica.

Mudanças de natureza química sâo apontadas também como prováveis durante a armazenagem e a transesterificaçâo é tida como causa do endurecimento.

A análise por difracçâo aos raios X mostra comportamento diferente (aumento de cristalinidade) durante o período de armazenagem (228).

Com a ajuda da análise térmica diferencial dá-se conta das formas de transiçâo acompanhadas da mudança do ponto de fusâo que por vezes se situa acima da temperatura rectal. Estes processos demoram meses ou anos consoante a tempera-

tura de armazenagem (229).

Depende da temperatura de solidificação a demora do arrefecimento das massas, a porção de gordura sólida cristalizada na forma α (simetria hexagonal) que é instável e é convertida na forma β' (simetria ortorrômbica) dentro de minutos a temperatura superior a 7 °C.

Há algumas possibilidades práticas para estabilizar o tempo de fusão, como seja a utilização de masas com baixos pontos de fusão e a adição de agentes estabilizantes, como a lecitina de soja a 2% .

O armazenamento de supositórios a temperaturas de 4 °C ou acondicionamento após preparação a temperatuira de 25 °C por algumas semanas já não são tão facilmente praticados, pois carecem de câmaras frigoríficas ou estufas, o que na indústria se repercute até na parte económica.

Os valores dos pontos de fusão ascendentes, iguais ou superiores a 36,5 °C, são só notados após envelhecimento nos excipientes com índice de hidroxilo maior do que 25.Isto não implica necessariamente uma correspondência biunívoca.

As determinações quantitativas e qualitativas dos ácidos gordos dos mono, di e triglicerídeos que constituem os excipientes não permitem explicar as diferenças na evolução das características físicas entre as várias bases ao longo do envelhecimento.

O conhecimento da composição em triglicerídeos tem revelado que nos corpos gordos caracterizados por pontos de fusão ascendentes, os mais elevados após armazenagem são também aqueles que contêm maior quantidade de triglicerídeos de peso molecular elevado. Só um conhecimento da repartição exacta das moléculas de ácidos gordos sobre o glicerol poderia fornecer a explicação do comportamento diferenciado dos excipientes.

Os processos de fabricação dos glicerídeos semi-sintéticos feitos por glicerólise, interesterificação ou ainda por transesterificação das gorduras naturais hidrogenadas permitem a repartição estatística e obter,assim, excipientes

que apresentam as propriedades de fusão e reológicas convenientes. Posto isto, parece lógico admitir que os excipientes que apresentam aquelas propriedades inadequadas após envelhecimento não tenham uma composição química suficientemente homogénea, correspondendo à melhor repartição estatística. Assim, os excipientes em vez de glicerídeos de peso molecular e ponto de fusão baixos,contêm glicerídeos de alto peso molecular caracterizados por pontos de fusão mais elevados (230).

5. MATERIAL E MÉTODOS

a) Preparação dos supositórios: Foram preparados por fusão vários lotes de supositórios (peso médio≈0,8 g) fazendo variar a forma da respectiva aminopenicilina com vários excipientes:

- ciclacilina anidra (lote 617) e ciclacilina sódica [vd. Ap.1] em manteiga de cacau e em massa Novata E [vd. Ap.5].
- ciclacilina sódica em massa Novata 299 [vd. Ap.5] com várias percentagens de sulfato de laurilo e sódio.
- ampicilina anidra (lote 4310) e ampicilina sódica (lote 6A065) [vd. Ap.1] em massa Novata 299.
- ampicilina anidra e ampicilina sódica em massa Novata 299 e 0,25% de sulfato de laurilo e sódio.
- amoxicilina trihidrato (lote 209) e amoxicilina sódica (lote 5L005) [vd.Ap.1] em massa Novata 299.
- amoxicilina trihidrato e amoxicilina sódica em massa Novata 299 e 0,25% de sulfato de laurilo e sódio.

Fórmula geral:

Antibiótico ..... 100 mg
Excipiente ..... q.b.p. ..... 1 supositório

Cada lote foi preparado com uma sobrecarga de 10% .

A ciclacilina sódica foi obtida a partir da ciclacilina dissolvida numa soluçâo tampâo de fosfatos pH 8, congelada a -70 °C e liofilizada [vd.Ap.6]. Uma fórmula correspondente a esta operaçâo de modo a assegurar o sal sódico após fusâo do supositório é a seguinte:

Ciclacilina	100 mg
Fosfato monossódico	1,2 mg
Fosfato dissódico	27 mg
Excipiente .... q.b.p.	1 supositório

b) Administraçâo dos supositórios: Para as experiências com supositórios foram utilizados coelhos sâos de ambos os sexos. Nâo foram impostas quaisquer restriçôes à dieta usual. A reciclagem de cada animal submetido à experiência era geralmente de uma semana.

O número de supositórios administrados era funçâo do peso (≈ 2 sup. por animal). Esta dose é praticamente igual à administrada por via oral. Corresonde também o regime diário empregado em pediatria para tratamento de otite média aguda. O estudo clínico descrito na bibliografia estabelece critéios de eficácia para comparar efeitos entre a ciclacilina amoxicilina (231). Antes da aplicaçâo procedia-se à limpeza prévia da parte terminal do recto. Após introduçâo dos supositórios eram aplicadas pinças anais para assegurar a nâo expulsâo. Caso se verificasse a expulsâo de alguma quantidade de massa fundida no final da experiência, esta nâo seria registada.

Em intervalos de tempo convenientes eram retiradas amostras de sangue da veia marginal da orelha e prosseguia-se o tratamento anteriormente descrito em IV - 2.a).

Foi também realizado um ensaio clínico em voluntários adultos saudáveis de ambos os sexos. Os supositórios administrados foram de amoxicilina sódica (250 mg) com peso unitário médio de 2 g.

Após um ensaio piloto em um dos voluntários submetido a quatro colheitas de sangue para averiguar o tempo de absorção máxima, submeteram-se os restantes a duas administraçôes intervaladas de uma semana, respectivamente com e sem tensioactivo.As colheitas de sangue foram realizadas aos 30 minutos e 2 horas após administração rectal.

c) Doseamento do antibiótico no plasma: Ensaios microbiológicos como descrito em IV - 2.b).

d) Conservaçâo dos supositórios: Para efeito de averiguar o envelhecimento e o comportamento biogalénico, alguns dos supositórios dos vários lotes preparados foram conservados em estufa climatizada com 30 °C de temperatura e 80% de humidade relativa; outros foram postos a 30 °C e ainda outros submetidos à luz e temperatura do laboratório, acondicionados em frascos de antibiótico de vidro incolor, reciclados, lavados e fechados com rolhas de borracha [vd.Ap.3].

Em períodos de tempo diferentes foi analisado quantitativamente o teor de antibiótico por supositório, segundo a técnica da hidroxilamina [vd.Ap.1].

Foram anotadas as modificaçôes físicas ocorridas durante a armazenagem.

Nos supositórios de ampicilina foi efectuado um ensaio biológico após 1 semana em estufa climatizada [vd.Ap.6].

Estas condiçôes foram estabelecidas por analogia com um trabalho anterior com a meticilina (56).

6. RESULTADOS

6.1. RESULTADOS DA EXPERIMENTAÇÃO EM ANIMAIS

QUADRO XXIV - Níveis plasmáticos de ciclacilina (mcg/ml ± s) em coelhos após administração de supositórios (≈50 mg/Kg).

Tempo (min)	FORMAS DE CICLACILINA + EXCIPIENTE			
	Anidra M. cacau	Sal sódico M. cacau	Anidra Novata E	Sal sódico Novata E
15	2,4 ± 1,0	30,2 ± 4,2	1,3 ± 1,1	0,6 ± 0,2
45	1,7 ± 0,6	12,0 ± 4,8	1,1 ± 0,9	1,1 ± 0,6
75	1,3 ± 1,7	5,9 ± 3,3	2,1 ± 1,4	2,3 ± 1,7
105	0,9 ± 0,3	2,9 ± 1,8	0,5 ± 0,1	2,3 ± 1,8
	(n = 5)	(n = 5)	(n = 4)	(n = 5)

s - desvio padrão; Novata E - massa Novata com IOH 25-45; (n) - número de experiências registadas.

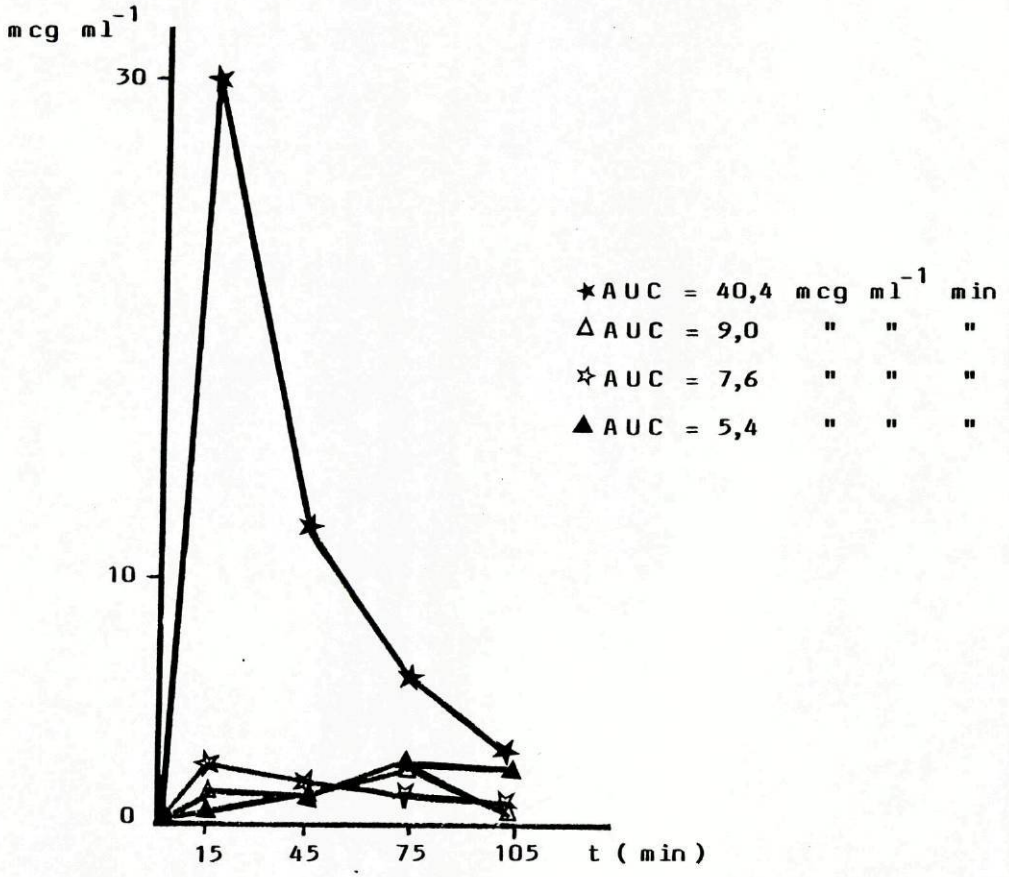


Fig. 52- Níveis plasmáticos de ciclacilina após administração de supositórios. ★ sal sódico + manteiga de cacau; Δ anidra + Novata E; ☆ anidra + manteiga de cacau; ▲ sal sódico + Novata E.

QUADRO XXV - Níveis plasmáticos de ciclacilina (mcg/ml ± s) em coelhos após administração de supositórios (≈50 mg/Kg) com diferentes percentagens de tensioactivo.

Tempo (min)	CICLACILINA SODICA + EXCIPIENTE			
	N.299 SLS (0%)	N.299 SLS (0,05%)	N.299 SLS (0,1%)	N.299 SLS (0,25%)
15	17,6 ± 13,1	19,2 ± 1,8	34,9 ± 6,2	58,4 ± 32,1
45	13,5 ± 20,5	7,8 ± 2,6	5,5 ± 1,9	12,1 ± 7,4
75	11,8 ± 21,4	3,9 ± 2,1	3,3 ± 3,2	4,3 ± 1,4
105	7,3 ± 13,7	1,7 ± 4,7	1,7 ± 1,5	2,3 ± 1,0
	(n = 5)	(n = 4)	(n = 4)	(n = 4)

s - desvio padrão; N.299 - massa Novata com IOH < 2; SLS - sulfato de laurilo e sódio; (n) - número de experiências registadas.

N.299 SLS (0,5%)
14,3 ± 7,9
2,6 ± 1,7
0,6 ± 0,6
0,2 ± 1,9
(n = 7)

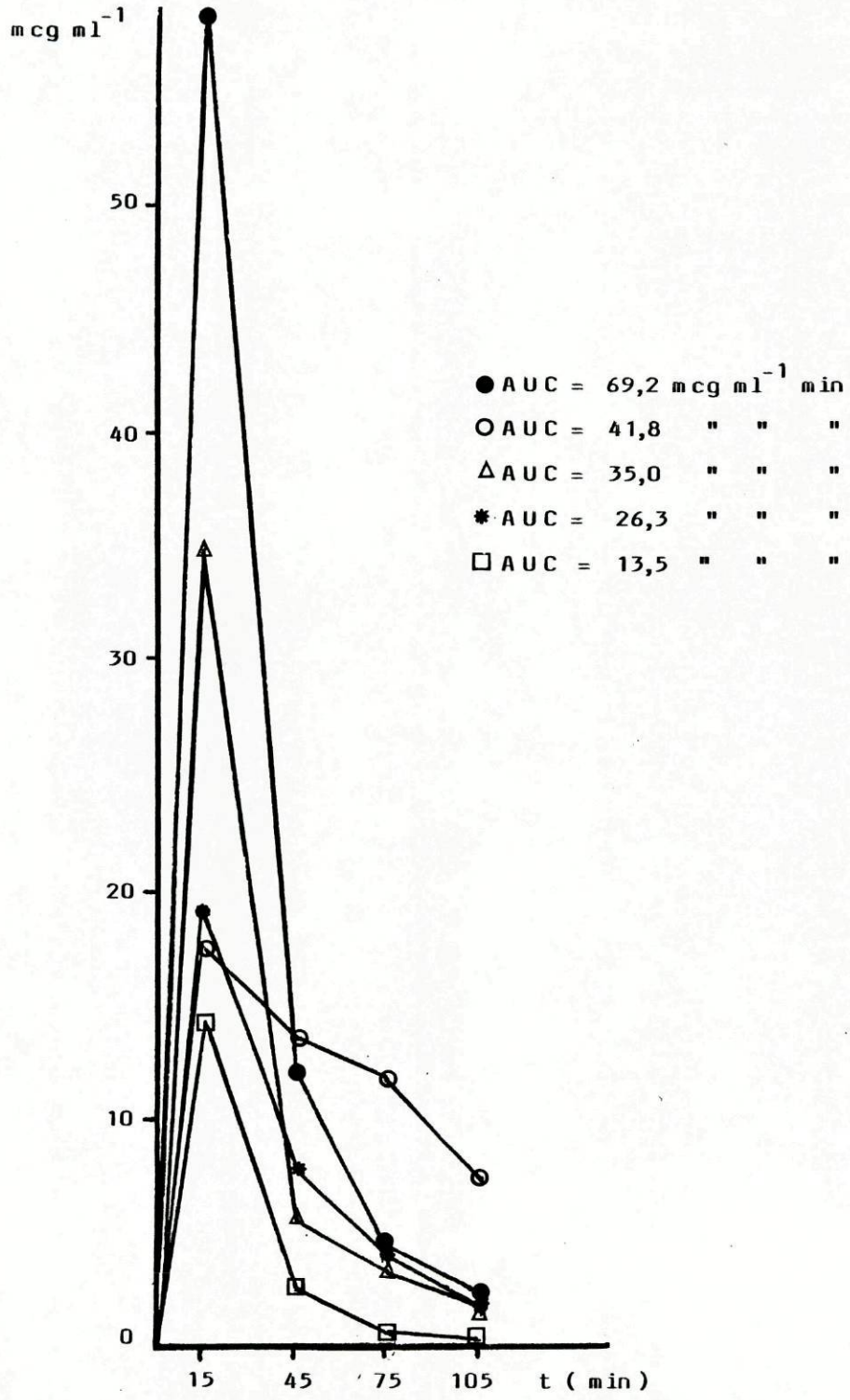


Fig. 53 - Níveis plasmáticos de ciclacilina após administração de supositórios; ● sal sódico + N.299 + 0,25% SLS; △ sal sódico + N.299 + 0,1% SLS; ✱ sal sódico + N.299 + 0,05% SLS; □ sal sódico + N.299 + 0,5% SLS; ○ sal sódico + N.299 + 0% SLS

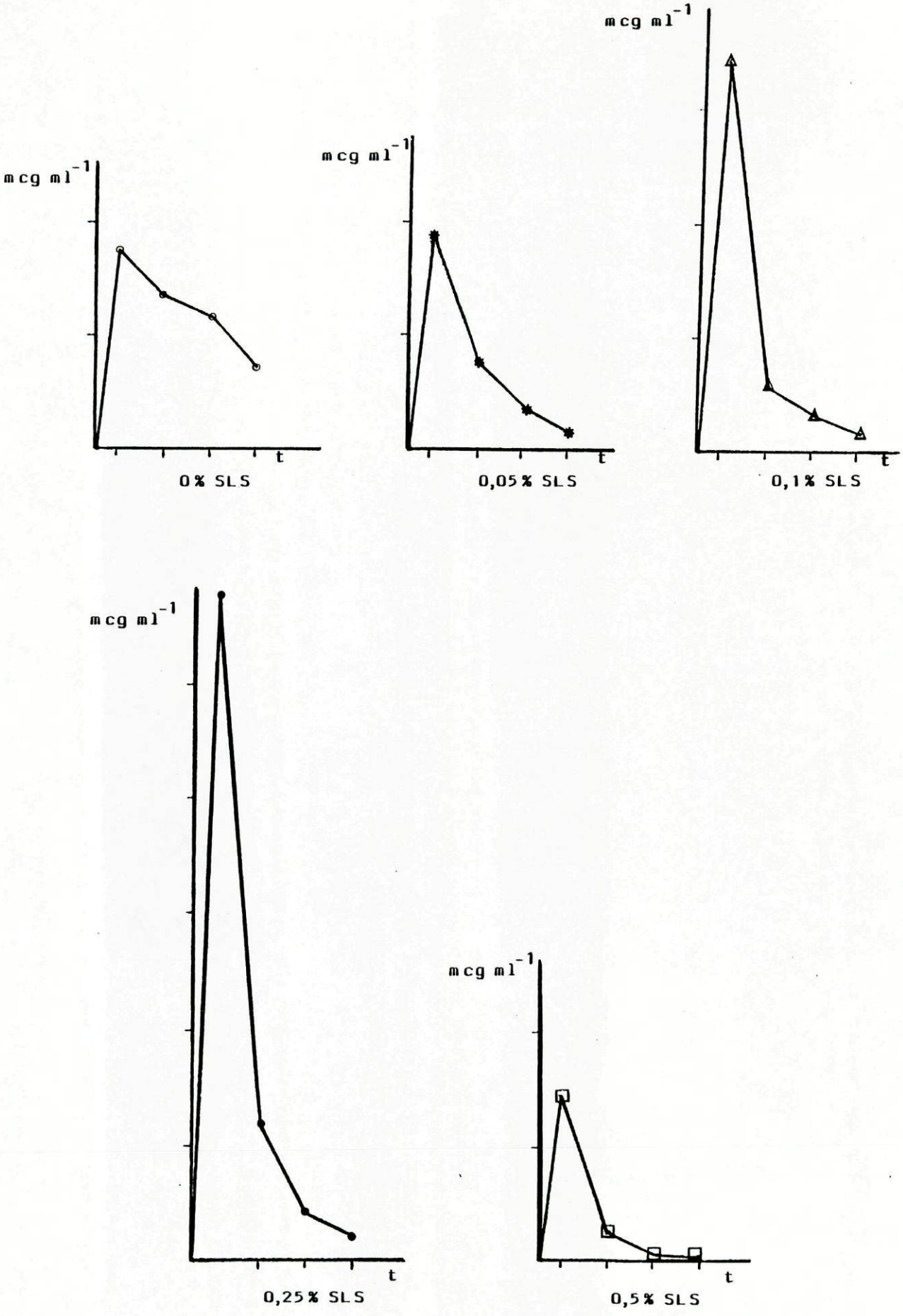


Fig. 53 A - Diferença de níveis plasmáticos de ciclacilina em relação á quantidade de SLS contido no excipiente dos supositórios.

QUADRO XXVI - Influência do sulfato de laurilo e sódio na absorção rectal da ciclacilina.

P_{SLS}/P_{sup} (%)	SLS/animal (mM x 10^{-3})	Picos séricos (mcg/ml)	incremento abs. (x)
0,0	0	17,6	1
0,05	2,8	19,2	1,1
0,1	5,6	34,9	2
0,25	13,8	58,4	3,3
0,5	28	14,3	0,8

% - peso de sulfato de laurilo e sódio relativamente ao peso médio dos supositórios (0,8 g); x - pico sérico com tensioactivo/pico sérico sem tensioactivo.

QUADRO XXVII - Níveis plasmáticos de ampicilina (mcg/ml ± s) em coelhos após administração de supositórios (≈50 mg/Kg).

Tempo (min)	FORMAS DE AMPICILINA + EXCIPIENTE			
	Anidra N.299	Anidra N.299 + SLS	Sal sódico N.299	Sal sódico N.299 + SLS
15	1,1 ± 1,3	24,0 ± 20,6	50.5 ± 28,5	50,9 ± 30,4
45	0,8 ± 0,3	15,4 ± 12,7	32,0 ± 26,9	27,5 ± 25,1
75	0,9 ± 0,8	7,6 ± 6,5	9,8 ± 5,0	8,2 ± 8,4
105	1,9 ± 2,9	5,2 ± 5,0	5,6 ± 4,8	3,9 ± 4,0
	(n = 4)	(n = 4)	(n = 8)	(n = 8)

N.299 - massa Novata com IOH < 2 ; SLS - sulfato de laurilo e sódio a 0,25%; (n) - número de experiências registadas.

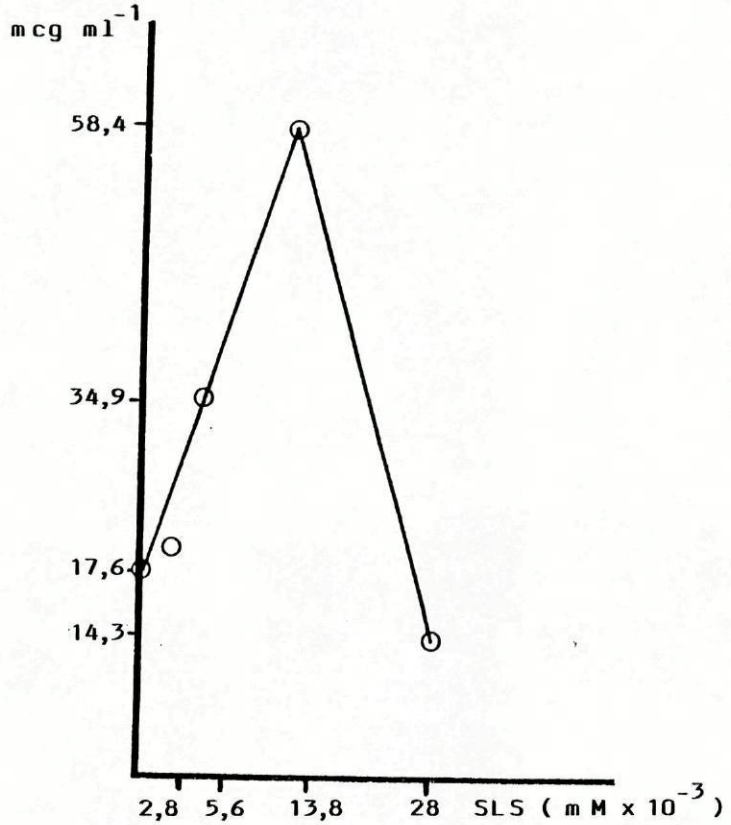


Fig. 54 - Picos séricos de ciclacilina quantidade de SLS.

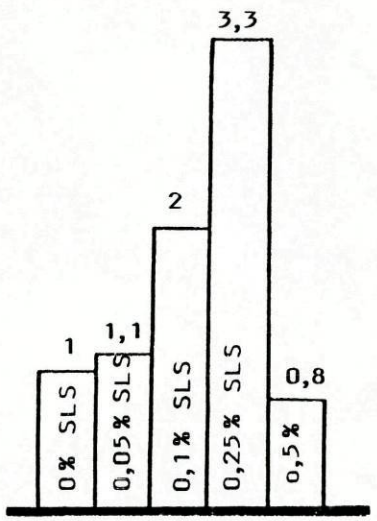


Fig. 55 - Incremento da absorção da ciclacilina pela presença de SLS% por supositório.

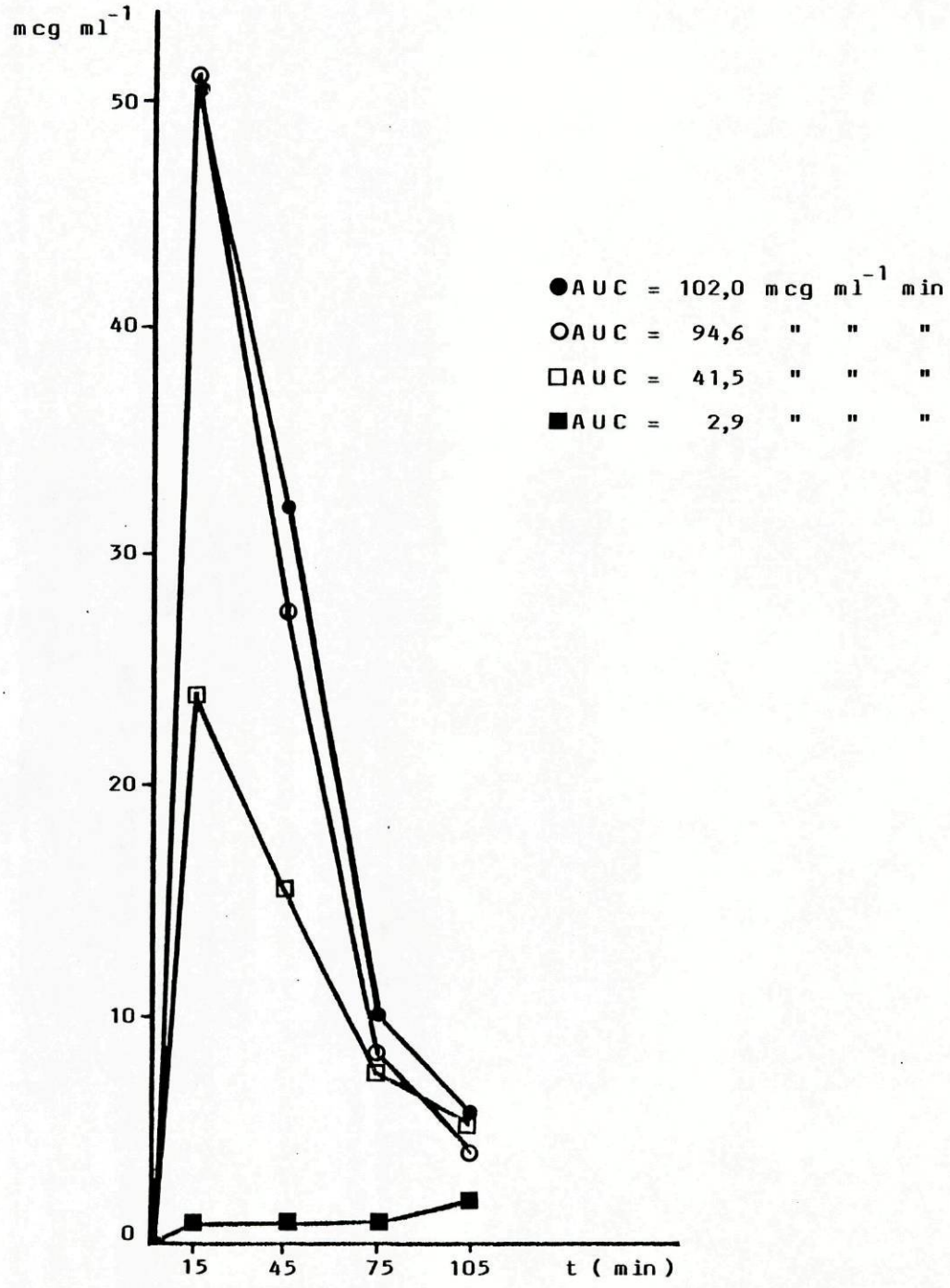


Fig.56 - Níveis plasmáticos de ampicilina após administração de supositórios. ● sal sódico + N.299; ○ sal sódico + N.299 + SLS; □ anidra + N299 + SLS; ■ anidra + N.299

QUADRO XXVIII-Níveis plasmáticos de amoxicilina (mcg/ml ± s) em coelhos após administração de supositórios (≈50 mg/Kg).

Tempo (min)	FORMAS DE AMOXICILINA + EXCIPIENTE			
	Trihidrato N.299	Trihidrato N.299 + SLS	Sal sódico N.299	Sal sódico N.299 + SLS
15	1,2 ± 0,6	6,3 ± 1,6	37,5 ± 6,9	29,0 ± 9,5
45	0,9 ± 0,2	6,2 ± 2,1	11,8 ± 2,4	16,3 ± 7,8
75	1,0 ± 0,9	4,9 ± 3,4	7,1 ± 3,3	4,4 ± 1,6
105	0,9 ± 0,6	3,8 ± 3,0	1,7 ± 0,8	2,9 ± 2,2
	(n = 3)	(n = 4)	(n = 3)	(n = 4)

s - desvio padrão; N.299 - massa Novata com IOH < 2; SLS - sulfato de laurilo e sódio a 0,25%; (n) - número de experiências registadas.

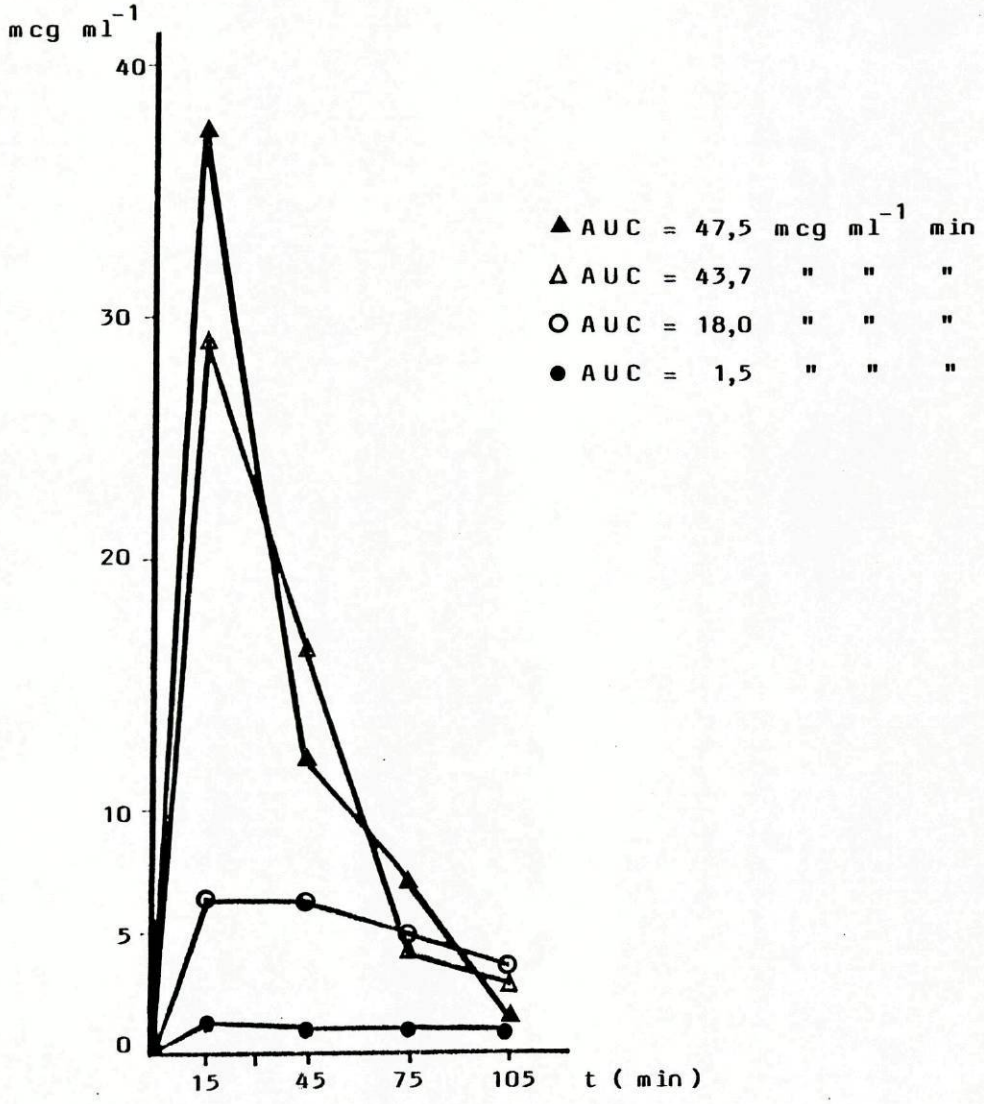


Fig.57- Níveis plasmáticos de amoxicilina após administração de supositórios. ▲ sal sódico + N.299; Δ sal sódico + N299 + SLS; O trihidrato + N299 + SLS; + SLS; ● trihidrato + N.299

6.2. RESULTADOS DA EXPERIMENTAÇÃO EM HUMANOS

QUADRO XXIX - Condiçôes de experiência em adultos voluntários saudáveis.

SEXO	IDADE (anos)	PESO (Kg)	JEJUM (a./d.)	DEJECÇÃO (a. /d.)	MEDICAÇÃO (24 h a.)	OBS.
M.	20-30	59	N / N	2 h / N	——	N
M.	30-40	51	S / N	2 h / N	Tr + V.	N
M.	50-60	68	S / S	2 h / N	Tr.	N
M.	30-40	63	N / N	12 h / S	Pr.	N
M.	30-40	62	N / N	? / N	——	N
M.	20-30	44	S / N	12 h / N	——	N
H.	20-30	63	N / N	1 h / N	——	N
H.	20-30	77	N / N	12 h / N	——	N
H.	40-50	94	S / S	2 h / N	——	N
H.	20-30	70	S / N	12 h / N	——	N

OBS. - manifestação de ardência, irritação, dor ou hipersensibilidade e alergia; a. - antes da experiência; d. - durante a experiência; M. - mulheres; H. - homens; N - resposta negativa; S - resposta afirmativa; Tr. - tranquilizantes; V. - vitaminas; Pr. - prostaglandinas.

NOTA: o inquérito foi efectuado no termo da última experiência.

QUADRO XXX - Níveis plasmáticos de amoxicilina (mcg/ml) em adultos após administraçâo de supositórios sem SLS (250 mg).

Tempo	1/2 hora	2 horas	(n)
Mulheres	1,2 ± 0,9	0,3 ± 0,3	(4)
Homens	0,5 ± 0,6	0,03 ± 0,20	(4)
MÉDIA	0,85 ± 0,75	0,17 ± 0,25	(8)

SLS - sulfato de laurilo e sódio;(n) - número de experiências registadas.

QUADRO XXXI - Níveis plasmáticos de amoxicilina (mcg/ml) em adultos após administraçâo de supositórios com 0,25% de SLS (250 mg).

Tempo	1/2 hora	2 horas	(n)
Mulheres	5,6 ± 3,8	0,6 ± 0,2	(6)
Homens	1,6 ± 0,8	0,3 ± 0,3	(4)
MÉDIA *	4,0 ± 2,6	0,5 ± 0,2	(10)

SLS - sulfato de laurilo e sódio;(n) - número de experiências registadas; * - média ponderada.

6.3. RESULTADOS DA CONSERVAÇÃO DOS SUPOSITORIOS EM DIVERSAS CONDIÇÕES DE ARMAZENAGEM

QUADRO XXXII - Avaliação do teor da ciclacilina em supositórios (sal sódico + N.299 + SLS) após períodos de armazenagem à temperatura ambiente.

	SLS			
	0,05%	0,1%	0,25%	0,5%
Peso médio (g ± s)	0,80±0,01	0,81±0,00	0,80±0,00	0,81±0,00
Ciclacilina (mg/sup.)				
Após prep.	87±4	89±10	91±10	98±17
Após 8 meses	92±17	75±7	———	89±5
Após 2 anos	———	———	51	———

N.299 - massa Novata com IOH < 2; SLS - sulfato de laurilo e sódio; s - desvio padrão.

NOTA: Após dois anos de conservação nas condições mencionadas, nota-se que os supositórios endurecem.

QUADRO XXXIII - Avaliação do teor da amoxicilina em supositórios após períodos de armazenagem à temperatura ambiente.

	FORMAS DE AMOXICILINA + EXCIPIENTE		
	Trihidrato N.299	Trihidrato N.299 + SLS	Sal sódico N.299 + SLS
Peso médio (g ± s)	0,80±0,00	0,79±0,03	0,76±0,06
amoxicilina (mg/sup.)			
Após prep.	85	85	92
Após 19 meses	92	83,5±3,5	70±18

N.299 - massa Novata com IOH < 2; SLS - sulfato de laurilo e sódio; s - desvio padrão.

NOTA: Após 19 meses de conservação nas condições mencionadas, nota-se os supositórios com manchas à superfície esbranquiçadas e de aspecto pulverulento. Os supositórios apresentam-se mais duros.

QUADRO XXXIV - Avaliação do teor da ampicilina em supositórios submetidos a diferentes condições de conservação.

	FORMAS DE AMPICILINA + EXCIPIENTE		
	Anidra N.299	Sal sódico N.299 + SLS	Sal sódico N.299
Peso médio (g ± s) ampicilina (mg/sup.)	0,77±0,00	0,79±0,00	0,79±0,00
Após prep.	——	109	92
Após 6 meses	74±7,9	——	——
Após 19 meses	——	74	69
1 semana			
Em exsicador	——	——	84
A 30 °C	——	——	67
A 30 °C; 80% H	——	——	47

N.299 - massa Novata com IOH < 2; SLS - sulfato de laurilo e sódio; s - desvio padrão.

NOTA: Os supositórios após 19 meses nas condições mencionadas amarelecem. Quando conservados a 30 °C e 80% de humidade deformam-se e amolecem.

6.3.1. IMPORTANCIA DA CONSERVAÇÃO DOS SUPOSITORIOS SOBRE AS CARACTERISTICAS BIOGALENICAS

QUADRO XXXV- Níveis plasmáticos de ampicilina (mcg/ml ± s) em coelhos após administraçâo de supositórios (≈50 mg/Kg) logo após preparaçâo e depois de uma semana conservados em estufa climatizada (30 °C e 80% de humidade relativa).

Tempo (min)	AMPICILINA SODICA + N.299	
	Após preparaçâo	Após uma semana
15	50,5 ± 28,5	5,5 ± 3,5
45	32,0 ± 26,9	4,7 ± 4,0
75	9,8 ± 5,0	1,5 ± 1,1
105	5,6 ± 4,8	0,7 ± 0,7
	(n = 8)	(n = 4)

s - desvio padrâo; N.299 - massa Novata com IOH < 2; (n) - número de experiências registadas.

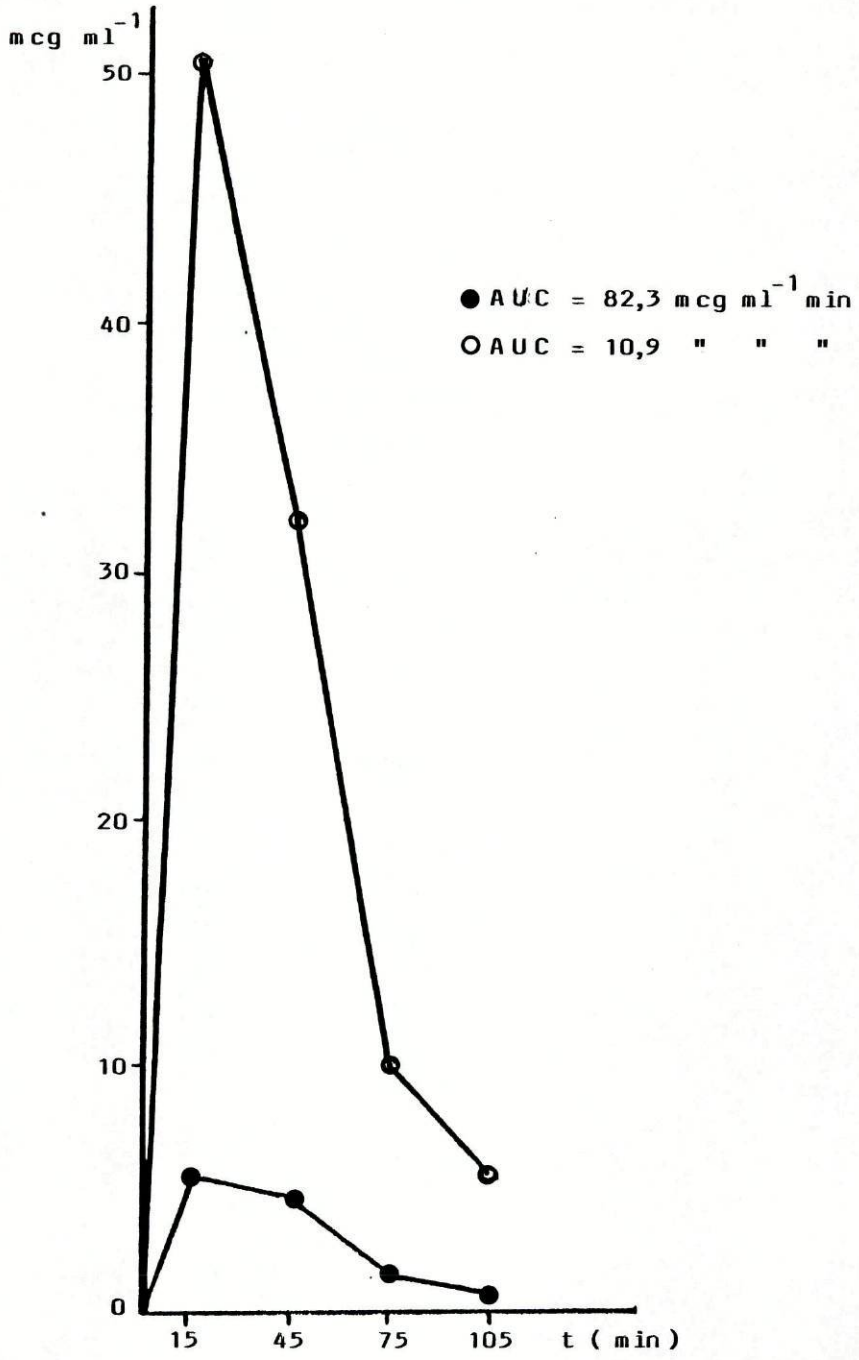


Fig. 58 - Níveis plasmáticos de ampicilina após administração de supositórios. ● após preparação; ○ após conservação a 30° C e 80% de humidade.

7. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

a) Escolha do excipiente e forma do antibiótico: A primeira aminopenicilina experimentada foi a ciclacilina nas formas anidra e sal sódico em manteiga de cacau e em mistura de glicerídeos semi-sintéticos com índice de hidroxilo elevado. O QUADRO XXIV e Fig.52 mostra as diferenças obtidas, não havendo quaisquer dúvidas àcerca da mais rápida liberação do antibiótico (sal sódico) pela manteiga de cacau, processando-se a absorção imediatamente.

Devido às conhecidas desvantagens oferecidas pela manteiga de cacau foi experimentada a massa Novata 299 (índice de hidroxilo menor que 2) [vd.Ap.5], que teoricamente se apresenta com probabilidades para se conseguir um alto potencial termodinâmico. A verdade é que não se conseguiram misturas capazes de proporcionar os níveis plasmáticos tão elevados como sucedia com o excipiente natural (QUADRO XXV - coluna da esquerda).

b) Tensioactivo como promotor da absorção: O sulfato de laurilo e sódio (SLS) foi misturado à massa tendo em vista o possível incremento da absorção, uma vez que sendo um agente tensioactivo poderoso tem probabilidades de actuação nas diferentes etapas para interferir na absorção rectal. O QUADRO XXV explicita as diferenças encontradas nos níveis de ciclacilina no sangue dos coelhos após aplicação dos supositórios apenas diferentes na concentração de SLS. Os picos séricos são crescentes e verifica-se, além disso, haver linearidade até certa quantidade de SLS entre as duas grandezas (Fig.54). A partir desse quantitativo já não é incrementada a absorção mas sim diminuída (Fig.53, 53A e 55).

A explicação para este facto não será só deva a um factor único. Crê-se na interferência do SLS como dispersante aumentando a liberação do antibiótico a partir do excipiente e proporcionando contacto com maior superfície da mu-

cosa. O efeito da diminuição da viscosidade do muco é aditivo ao benefício da dispersão. Também a própria acção directa sobre a permeabilidade da membrana onde se difunde a aminopenicilina se soma aos efeitos anteriores resultando uma elevada velocidade de absorção.

Quando a concentração de SLS é de tal modo que as moléculas não se mantêm mais individualizadas na ampola rectal, dá-se a formação de micelas que englobam determinada quantidade de moléculas de ciclacilina que muito dificilmente serão absorvidas.Neste estado, as micelas pelo seu volume formam obstáculo ao acesso à mucosa da fracção molar de antibiótico que se encontre na forma livre.

Tende a haver um equilíbrio da substância a absorver na solução micelar, isto é, entre a parte que se dissolve na água que circunda as micelas e a quantidade adsorvida por estas. Tem cabimento considerar a constante de distribuição micelar (K_m) pela indicação sobre a redução de absorção. Quanto maior for o K_m menor será o efeito na absorção.

Por se encontrarem resultados animadores no que respeita ao incremento da absorção da ciclacilina (QUADRO XXVI e Fig.55) sobretudo na presença de 13,8 x 10^{-3} mM de SLS, efectuaram-se ensaios paralelos com ampicilina e amoxicilina. Os resultados obtidos e registados nos QUADROS XXVII e XXVIII e Figs.56 e 57 indicam, como era de esperar, ser o sal sódico (mais hidrossolúvel) a forma preferível para dispersar no excipiente gordo, criando potencial termodinâmico mais elevado. O aumento relativo à absorção não se verifica da mesma maneira. No caso da ampicilina,a grande promoção da absorção pelo efeito do tensioactivo dá-se com a forma anidra e é indiferente usar ou não SLS naquela concentração com o sal sódico.Em termos quantitativos absolutos,porém, os níveis séricos são bastante mais elevados nestes últimos casos (AUC 102 e 94,6 mcg ml^{-1} min.).

Quanto à amoxicilina,também se verificou incremento com o trihidrato na presença de SLS e curiosamente a absorção é algo diminuída quando os supositórios são preparados com um

sal sódico englobado na mistura de N.299 e 0,25% de SLS em relação ao peso.

O ensaio clínico veio comprovar a validade da escolha do SLS como adjuvante potencializador da absorção. Esta aumentou cerca de cinco vezes, para as condições de experiência (QUADROS XXIX, XXX e XXXI) num ensaio com amoxicilina sódica (250 mg) e 0,25% de SLS em relação ao peso do supositório ($17,3 \times 10^{-3}$ mM).

Assim se reforça a ideia de que se consegue mostrar, sem ambiguidades, a eficácia da absorção rectal desde que, depois da escolha certa da base excipiente e da forma a administrar (213), se encontre a concentração total de tensioactivo conjugada com um baixo coeficiente de distribuição micelar.

Também os estudos em indivíduos sãos permitem precocemente estabelecer parâmetros de referência e confrontar os dados obtidos com animais. A utilização de doses únicas com variações no excipiente permite averiguar a linearidade da cinética plasmática do medicamento, aproveitando o estudo da biodisponibilidade.

c) Envelhecimento dos supositórios e consequências biogalénicas: Como formas industrializadas, os supositórios têm um tempo mais ou menos longo de conservação. Durante este acontece certamente quebra de teor em antibiótico e outros problemas de deterioração e modificações que contribuem para o envelhecimento das formas.

Os resultados das análises efectuadas nos supositórios, que propositadamente se deixaram em más condições de conservação, estão registados nos QUADROS XXXII, XXXIII e XXXIV.

Sobretudo o QUADRO XXXV dá ideia concreta do malefício da humidade nos supositórios de ampicilina confirmado na quebra de cerca de 90% de absorção (Fig.58) correspondente a uma baixa de teor de 50% (QUADRO XXXIV).

Com base nos resultados obtidos em todas as experiências realizadas podem tirar-se as seguintes conclusões:

- As aminopenicilinas são bem absorvidas por via rectal desde que sejam utilizadas na forma de sal sódico em base de glicerídeos semi-sintéticos com baixo índice de hidroxilo.

- O sulfato de laurilo e sódio pode ajudar a incrementar a absorção rectal desde que seja determinada a quantidade a constar nas formulações em cada caso.

- A utilização de supositórios contendo sulfato de laurilo e sódio, nas condições da experiência, não será causa responsável do abandono da medicação.

- Os supositórios, quando acondicionados em moldes que os protejam da humidade, ficam com validades razoáveis para formas industrializadas.

- Os supositórios de aminopenicilina serão formas bem aceites com aplicação em pediatria, especialmente para os casos de faringites, otites e bronquites.

VI – APÊNDICES

APENDICE 1

CARACTERIZAÇÃO DOS ANTIBIOTICOS ENSAIADOS

CICLACILINA, Lote 533

DESCRIÇÃO: pó cristalino, inodoro, homogéneo.
SOLUBILIDADE: soluçâo completamente límpida em água a 2% e em água a 10% + NH_3.
HUMIDADE: 0,1% (KF).
TITULO: 97,5% (ensaio iodométrico U.S.P. XXI).
pH: 5,3 (C = 1% em água destilada).
$[\alpha]^{D}_{20}$ = +309,2° (C = 1% em água destilada).

CICLACILINA, Lote 617

DESCRIÇÃO: pó cristalino, inodoro, homogéneo.
SOLUBILIDADE: soluçâo completamente límpida em água a 2% e em água a 10% + NH_3.
HUMIDADE: 0,3% (KF).
TITULO: 99,0% (ensaio iodométrico U.S.P. XXI).
pH: 4,9 (C = 1% em água destilada).
$[\alpha]^{D}_{20}$ = +310,2° (C = 1% em água destilada).

CICLACILINA, Lote 563

DESCRIÇÃO: pó cristalino, inodoro, homogéneo.
SOLUBILIDADE: soluçâo completamente límpida em água a 2% e em água a 10% + NH_3.
HUMIDADE: 0,5% (KF).
TITULO: 98,0% (ensaio iodométrico U.S.P. XXI).
pH: 5,1 (C = 1% em água destilada).
$[\alpha]^{D}_{20}$ = +306° (C = 1% em água destilada).

CICLACILINA SODICA (obtida a partir da CICLACILINA Lote 617)

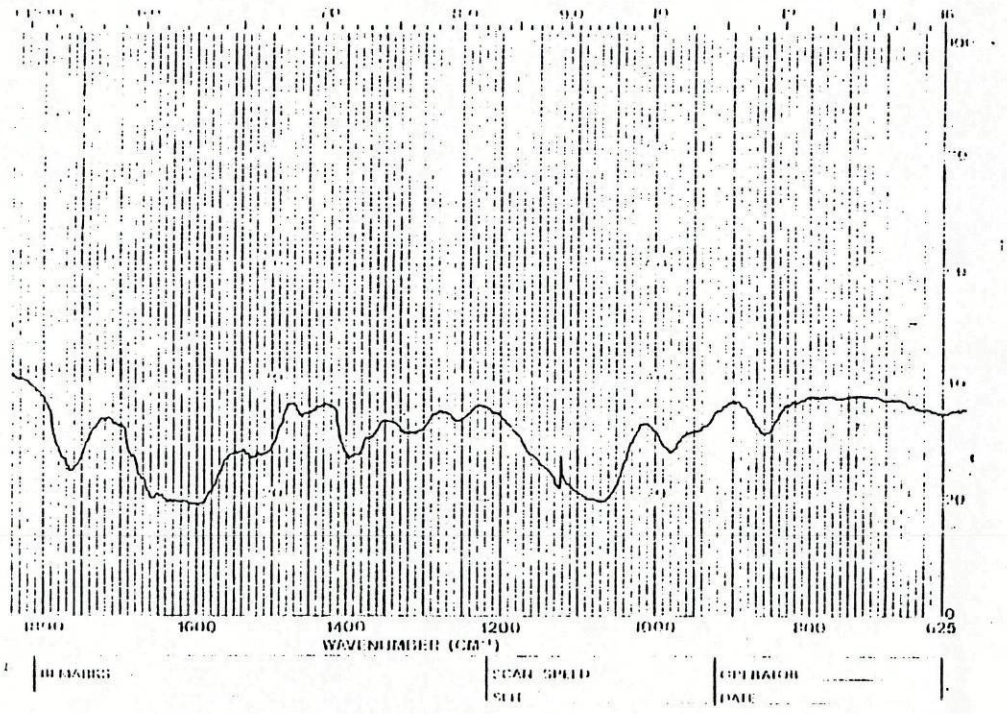
OBTENÇÃO: dissolver a ciclacilina em solução tampão de fosfatos de pH 8. De seguida, distribuir por frascos próprios para adaptar ao liofilizador e de modo a encher cerca de 1/3 da capacidade. Fechar os frascos com "parafilm" e congelar a -70 °C. Adaptar os frascos com as soluções congeladas ao liofilizador com P = 20 μm Hg, manter o condensador a -50 °C e secar as soluções à temperatura ambiente. Depois de retirada a água, fechar os frascos hermeticamente e colocar em excicador.

DESCRIÇÃO: liofilizado branco, com aspecto homogéneo, mais leve do que a ciclacilina de origem.

HUMIDADE: 15% (Infra-Tester)

TITULO: 92% (ensaio microbiológico)

pH: 7,25 (C = 1% em água destilada)



ESPECTRO I.V.- Substância: ciclacilina sódica; Solvente: KBr; Concentração: 1 mg/200 mg Kbr; velocidade média.

AMOXICILINA TRIHIDRATO, Lote 209

DESCRIÇÃO: pó branco sem vestígios de contaminação.
HUMIDADE: 12,7%
TITULO: 85,0% (ensaio biológico).
pH: 4,4 (C = 0,2% em água destilada).

AMOXICILINA TRIHIDRATO, Lote 112

DESCRIÇÃO: pó branco sem vestígios de contaminação.
HUMIDADE: 12,5%
TITULO: 83,5% (ensaio biológico).
pH: 3,7 (C = 0,2% em água destilada).

AMOXICILINA SODICA, Lote 5L055

DESCRIÇÃO: pó ligeiramente róseo, homogéneo, estéril e apirogénico.
HUMIDADE: 1,9%
TITULO: 93,35% (ensaio iodométrico U.S.P. XXI).
pH: 8,75

AMPICILINA ANIDRA, Lote 35355

DESCRIÇÃO: pó branco cristalino, menos de 10 bactérias/grama, menos de 10 fungos/grama.
HUMIDADE: 0,3% (KF)
TITULO: 98,6% (ensaio iodométrico U.S.P. XXI).
pH: 4,9
$[\alpha]_D^{20} = +295^\circ$

AMPICILINA ANIDRA, Lote 4310

DESCRIÇÃO: pó branco cristalino, menos de 10 bactérias/ grama, menos de 10 fungos/grama.
HUMIDADE: 0,3% (KF)
TITULO: 99,1% (ensaio iodométrico U.S.P. XXI).
pH: 4,8
$[\alpha]_D^{20} = +296^o$

AMPICILINA SODICA, Lote 6A065

DESCRIÇÃO: pó branco cristalino, estéril e apirogénico.
HUMIDADE: 0,2% (KF)
TITULO: 92,0% (ensaio iodométrico U.S.P. XXI).
pH: 9,4

DOSEAMENTO DAS AMINOPENICILINAS PELO MÉTODO DA HIDROXILAMINA

A - Reagentes

1. Soluçâo tampâo - Dissolver 17,3 g de hidróxido de sódio e 2,06 g de acetato de sódio anidro em água destilada q.b.p. 100 ml.

2. Soluçâo de sulfato férrico amoniacal - Dissolver 272 g de sulfato férrico amoniacal com 12 moléculas de água de cristalizaçâo em 800 ml de água. Adicionar 26 ml de ácido sulfúrico concentrado, arrefecer e diluir até 1000 ml com água destilada.

NOTA: conserva-se ao abrigo da luz durante 1 semana.

3. Soluçâo de cloridrato de hidroxilamina - Dissolver 350 ml de cloridrato de hidroxilamina em água destilada q.b.p. 1000 ml.

3.1. Reagente cloridrato de hidroxilamina - Misturar volumes iguais de soluçâo tampâo e de soluçâo de cloridrato de hidroxilamina e ajustar a pH 7,0 com soluçâo tampâo ou com ácido clorídrico 2 N, se necessário. A 1 volume desta soluçâo neutra adicionar 2 volumes de álcool e 8 volumes de água destilada.

NOTA: esta soluçâo hidroalcoólica deve ser preparada todos os dias.

4. Soluçâo tampâo de fosfatos de pH 6,0.

5. Soluçâo padrâo - Preparar uma soluçâo da penicilina de referência em tampâo de fosfatos de pH 6,0 contendo o equivalente a 1 mg/ml, pesando rigorosamente (pureza p%).

6. Preparação das soluções problema.

6.1. Suspensões - A solução problema foi obtida após filtração conforme o descrito em II-2.b).

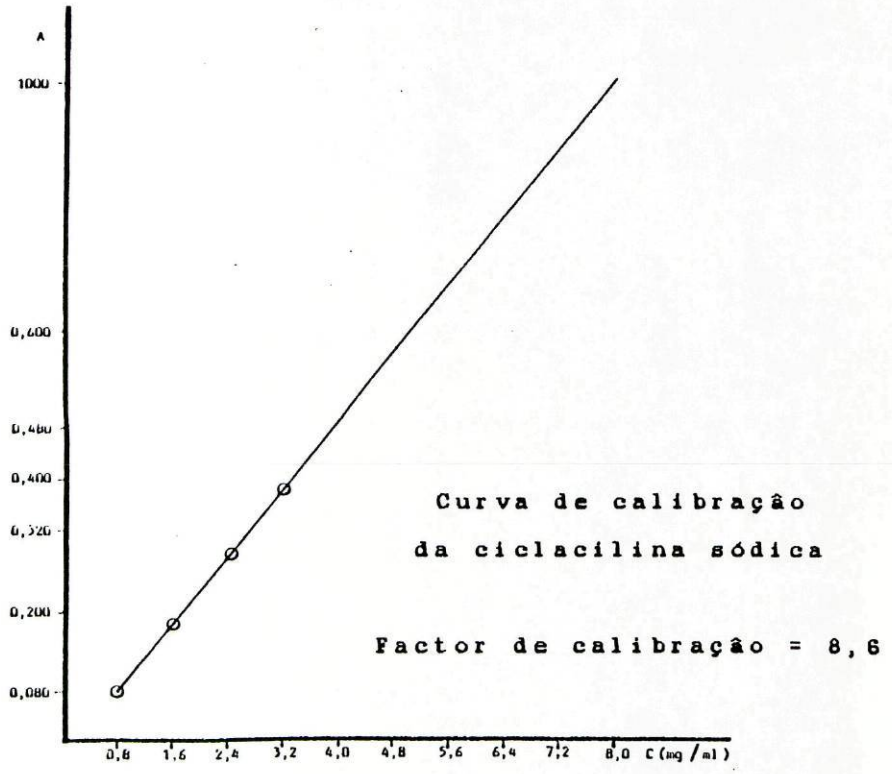
Os teores de antibiótico, depois de efectuada a técnica descrita em B, foram calculados aplicando a seguinte equação resolvente:

$$\text{mcg antib./mg amostra} = D_a \times P / D_P \times a$$

sendo D_a a absorvência da amostra; P mcg/ml da solução padrão; D_P a absorvência da solução padrão; a mg/ml da amostra.

6.2. Colírios - A solução problema de ciclacilina foi obtida conforme o descrito em II-2.1.b), utilizando as próprias soluções em estudo diluídas (1:1) em tampão de fosfatos de pH 6,0.

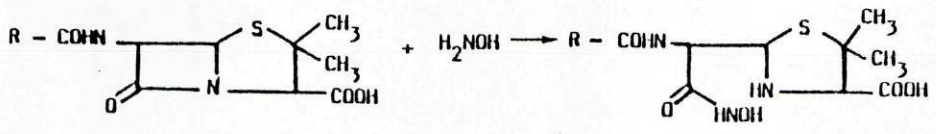
O teor de ciclacilina em cada amostra foi encontrado mediante a curva de calibração a seguir indicada, segundo a técnica referida em B.



6.3. Supositórios - A extracção da aminopenicilina é feita em ampola de decantação. Juntar 100 ml de clorofórmio a 1 supositório e deixar em contacto algum tempo agitando de vez em quando. Logo que não haja vestígios da forma sólida, juntar fracções de solução tampão de fosfatos de pH 6,0 de modo a totalizar 100 ml. Agitar convenientemente. Deixar em repouso e após separação das fases recolher a fase aquosa e filtrar. Desprezar os primeiros 10 ml de filtrado e deixar alguns minutos ao ar até a solução não cheirar a clorofórmio.

B - Técnica

Dispondo de 3 tubos de ensaio, adicionar 4,0 ml de gua destilada ao primeiro, 2,0 ml de solução padrão e 2,0 ml de àgua destilada ao segundo tubo e 2,0 ml de soluçâo problema e 2,0 ml de água destilada ao terceiro. Adicionar 1,25 ml de solução hidroalcoólica de hidroxilamina a cada tubo. Aguardar 5 minutos e juntar 1,25 ml de solução de sulfato férrico amoniacal. Passados 3 minutos, determinar a absorvência no comprimento de onda de 480 nm, utilizando o primeiro tubo como ensaio em branco. O teor de aminopenicilina existente no supositório é avaliado em referência à absorvência obtida pela leitura da solução problema em relação à solução padrão.



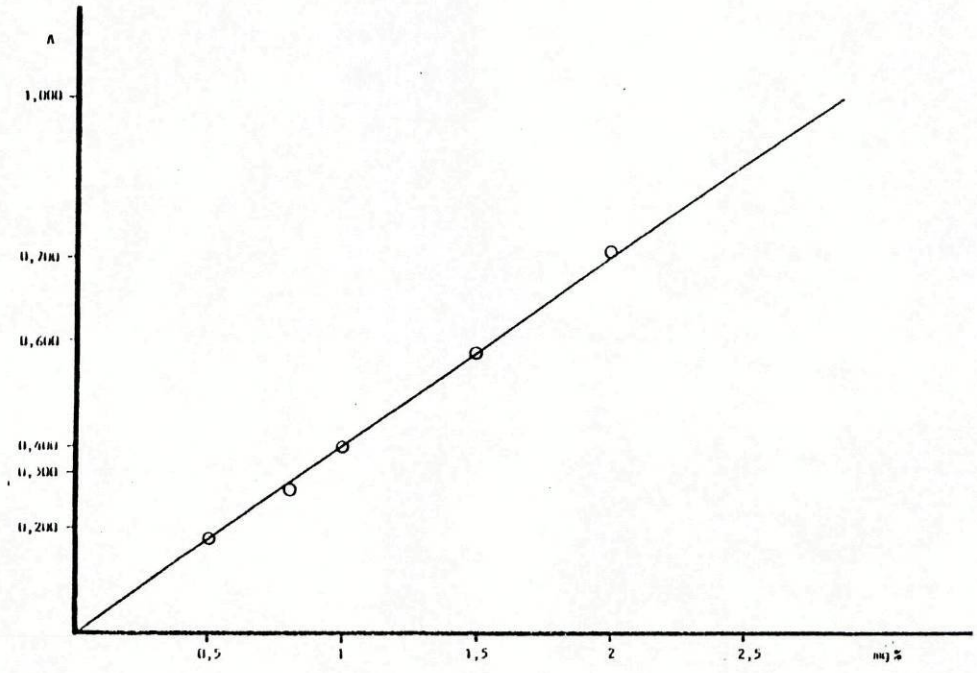
APENDICE 2

ERITROSINA E TARTRAZINA

ERITROSINA

Consta da lista dos corantes orgânicos sintéticos.
Nº CEE - E 127

Curva de calibraçâo: preparar 250 ml de soluçâo de eritrosina na concentraçâo de 10 mg%. A soluçâo é rosa salmâo. Proceder às respectivas diluiçôes de modo a obterem-se soluçôes de concentraçôes: 0,5 mg%, 0,8 mg%, 1,0 mg%, 1,5 mg% e 2,0 mg%. Determinar as absorvências em 524 nm.



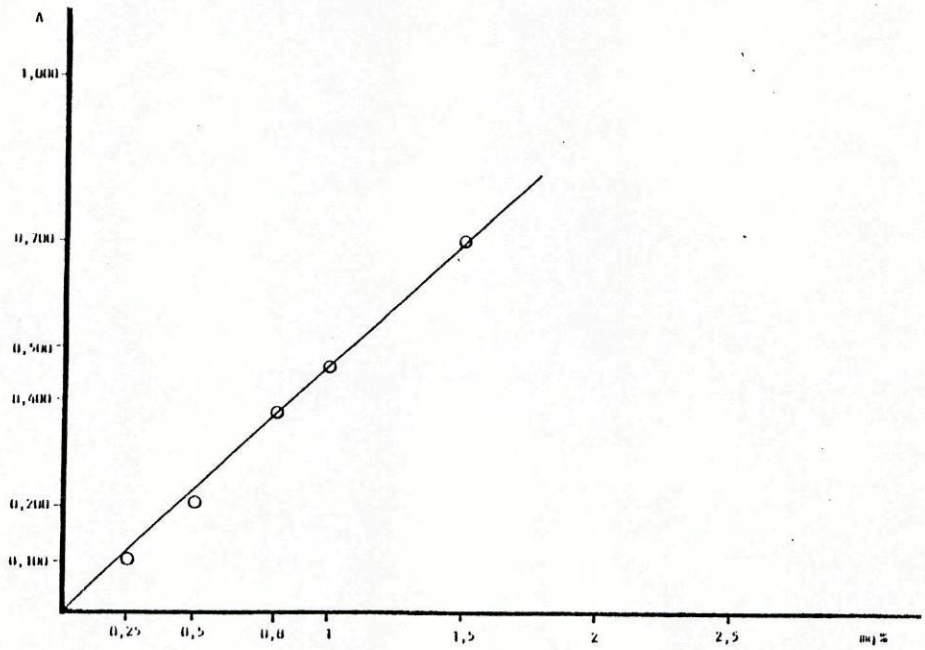
Curva de calibração da eritrosina

Factor de calibração = 2,87

TARTRAZINA

Consta da lista dos corantes orgânicos sintéticos.
Nº CEE - E 102

Curva de calibraçâo: preparar 250 ml de soluçâo de tartrazina na concentraçâo de 10 mg%. A soluçâo é amarela. Proceder às respectivas diluiçôes de modo a obterem-se soluçôes de concentraçôes: 0,25 mg%, 0,5 mg%, 0,8 mg%, 1,0 mg% e 1,5 mg%. Determinar as absorvências em 428 nm.



Curva de calibraçâo da tartrazina

Factor de calibraçâo = 2,15

APENDICE 3

MATERIAIS DE EMBALAGEM

- Frascos de vidro escuro sódico-cálcico não tratado, com capacidade de 100 ml, reciclados, previamente lavados com detergente, passados por água destilada e secos na estufa a 100 °C.

- Frascos de vidro incolor, tipo III para acondicionamento de pós para soluções injectáveis, reciclados, previamente lavados com detergente, passados por água destilada e secos na estufa a 100 °C.

- Frascos de polietileno, reciclados, previamente lavados com detergente, passados por água destilada e secos com um pano.

- Rolhas de borracha e tampas de plástico, recicladas, previamente lavadas com detergente, passadas por água destilada e secas à temperatura ambiente sobre papel de filtro.

- Cápsulas de gelatina nº2 Parke Davis

APENDICE 4

MEIOS DE CULTURA

1 - Meio líquido ICC:

Infuso de cérebro	200 g
Infuso de coração de boi	250 g
Proteose peptona, Difco	10 g
Bacto dextrose	2 g
Cloreto de sódio	5 g
Fosfato dissódico	2,5 g

Esterilizar a 121 °C durante 15 minutos.
(pH 7,4±0,2 a 25 °C)

2 - Meio gelosado nutritivo:

Triptona	6 g
Extracto de levedura	3 g
Agar	15 g
Agua destilada	1000 ml

Esterilizar a 121 °C durante 15 minutos.
(pH 7,2)

3 - Meio α) caldo nutritivo:

Peptona	5 g
Extracto de levedura	1,5 g
Extracto de carne	1,5 g
Cloreto de sódio	3,5 g
Glicose	1 g
Fosfato monopotássico	1,32 g

Fosfato dipotássico ..... 3,68 g
Agua destilada ....q.b.p... 1000 ml

Esterilizar a 115 ºC durante 15 minutos.
(pH 7)

4 - Meio β) camada-base:

Peptona ..... 6 g
Extracto de levedura ..... 3 g
Extracto de carne ..... 1,5 g
Gelose ..... 20 g
Agua destilada ..... 1000 ml

Esterilizar a 115 ºC durante 15 minutos.
(pH 6,5)

5 - Meio τ) camada de sementeira:

Peptona ..... 6 g
Digesto pancreático de caseína .... 4 g
Extracto de levedura ..... 3 g
Extracto de carne ..... 1,5 g
Glicose ..... 1 g
Gelose ..... 20 g
Agua destilada ..... 1000 ml

Esterilizar a 115 ºC durante 15 minutos.
(pH 6,5)

APENDICE 5

MASSA PARA SUPOSITORIOS IV NOVATA

(Mistura de triglicerídeos, diglicerídeos e monoglicerídeos de ácidos gordos saturados ($C_{11}H_{23}COOH$ a $C_{17}H_{35}COOH$)

Características	Novata E	N.299
Ponto de fusão (°C)	34-36	33,5-35,5
Ponto de solidificação (°C)	0,955-0,975	0,955-0,975
Indice de refracção (nD 40)	≈1,4500	≈1,4490
Indice colorimétrico	<3	<3
Indice de acidez	<1	<0,3
Indice de saponificação	215-230	240-255
Indice de iodo	<3	<3
Indice de hidroxilo	45-60	<2
Insaponificável %	<2	<0,3

APENDICE 6

MATERIAL E APARELHAGEM

- Balança Mettler H 31AR
- Balança OHAUS
- Bomba de vazio - NGN-PSR/1
- Calculadora - SHARP
- Centrífugadora - ECCO E II/11
- Computador - Amstrad PC 1512 DD
- Congelador - GFL
- Espectrofotómetro IV - Perkin Elmer - 257
- Espectrofotómetro UV - CE 299 Digital
- Estufa - Elektro Hélios
- Estufa climatizada - Vötsch
- Fotocopiadora - Ricoh FT 3020
- Friforífico - AGNI - N-Formigal 80
- Infra-Tester OHAUS
- Liofilizador Multi-Dry, FTS Systems, Inc. (modelo de junção múltipla)
- Microscópio - Nikon Type 104
- Moldes metálicos para supositórios
- pH-Meter E 516 Titriskop
- Planímetro KOIZUMI KP-27
- Polarímetro - Atago
- Seringas plásticas Inserpor
- Tubos de ensaio plásticos para colheitas de sangue - F/R 12x75 mm

VII – BIBLIOGRAFIA

VII - BIBLIOGRAFIA

1. Fleming, A., J.A.M.A., 552 (1945)
2. Bjergaard, P.K., Tonnesen, M., Svensk. Farm. Tidskr. 55, 239 (1951), Ref.: J. Pharm. Belg., 9-10, 462 (1952)
3. Paul, R.M.N., Gailliot, P., Baget, J., Ann. Pharm. Franç., 7, 524 (1949)
4. Cayre, I.V., Sellés, E., Gal. Acta, 3, 192 (1950)
5. Trumper, M., Thompson, G.J., J.A.M.A., 130, 627 (1946), Ref.: Orenga, R., Poso, A.D., Gal. Acta, 5, 305 (1952)
6. Roufanov, I.G., Feldmann, A.I., Med. e Hyg. Ref.: De Press Méd., 20 Juin, 888 (1951)
7. Maurice, M., Janot, M., Ann. Pharm. Franç. 8, 46 (1950)
8. Carvalho, L.S.,Penicilina,Coimbra Editora, pag. 423, 1949
9. Joubert, M.L., Chambon, P., Ann. Pharm. Franç., 17, 543 (1959)
10. Joubert, M.L., Chambom, P., ibid., 18, 545 (1960)
11. Buchï, J., Pharm. Acta Helv., 21, 1 (1946)
12. Romansky, M.J., Rittman, G.E., Am. J. Med., 1, 395 (1946) De Orenga, R., Pozo, D.A.,Gal. Acta, 5,305 (1952)
13. Chandler, V.L., Romansky, M.J., et al., J.A.P.A. 37, 20 (1948)
14. Gradnik, B., Boll. Chim. Farm., 88, 141 (1949)
15. Diacono, H., Massa, V., Ann. Pharm. Franç., 6, 461 (1948)

16. Ambrosio, G., Maggiora, A., Boll. Chim. Farm., 88, 73 (1949)
17. Thomas, E.W., et al., J.A.M.A., 137, 1517 (1948)
18. Buckwalter, F.H., Dickison, H.L., J.A.P.A., 37, 472 (1948)
19. Fischbach, H., Welch, E., King, E.Q., Levine, J., Price, C.W., Randall, W.A., ibid., 38, 544 (1949)
20. Derwent Belgian Report, N. 9A, Brev. Belgio 537945 538014 Ref.: Fantelli, S., Boll. Chim. Farm., 95, 38 (1956)
21. Leal, A.M., Lopes, M.B.R., Rev. Port. Farm., 6, 103 (1956)
22. Nominé, M.M.G., Mathieu, J., Jequier, R., Bellet, P., Ann. Pharm. Franç., 16, 125 (1958)
23. Mac Gregor, A.B., Long, D.A., Brit. Med. Journ., Nov. 25, 686 (1944)
24. Boymond, P., Pharm. Acta Helv., 21, 47 (1946)
25. Boymond, P., Schmied, E., ibid, 23, 403 (1948)
26. Cutting, W.C., Halpern, R.M., Sultan, E.H., Armstrong, C.D., Collins, C.L., J.A.M.A., 129, 425 (1945)
27. Gyorgy, P., Vandergrift, H.N., Elias, W., Colio, L.G., Barry, F.M., Pilcher, J.D., ibid., 129, 639 (1945)
28. Little, C.J.H., Lumb, G., Lancet, 1, 203 (1945)
29. Ashby, F.W., Muggleton, P.W., Taylor, F., Woodard, W.A., J. Pharm. Pharmacol., 6, 1048 (1954)
30. Buckwalter, F.H., Holleran, R., Antib. Chemoth., 3, 543 (1953)
31. Morgado, R.R., Pinho, A.A., Prista, L.N., An. Fac. Farm. Porto, 30, 47 (1970)
32. Carvalho, S., Santos, M.L.A., Rev. Port. Farm., 4, 237 (1954)
33. Carvalho, S., Santos, M.L.A., ibid, 5, 173 (1955)
34. Carvalho, S., Silva, M.L.P., ibid, 5, 109 (1955)
35. Schweiz. med. Wschrift, 82 (1952) por J. Suisse de

Pharm., 29, 1471 (1952) Ref.: J. Pharm. Belg. 35, 511 (1953)

36. Tzanck, A., Sidi, E., Gautard, J., La P. Med., 59, 713 (1951)
37. Trandafilov, T., Kojouharov, P., Hiristov, K., Harizanova, T., J. Pharm. Belg., 25, 186 (1960)
38. Tol'tsman, T.I., Chem. Abstr., 46, 7707 (1952) Ref.: Kettlitz, V., Boll. Chim. Farm., 91, 418 (1952)
39. Anastasi, A., Mecareli, E., Boll. Chim. Farm., 95, 146 (1956)
40. Ewing, C.O., J.A.M.A., 147, 910 (1951) Ref.: J.A. P.A., 12,680 (1951)
41. Davidson, H.H., Hill, J.H., Eastman, N.J., J.A.M.A 145, 1052 (1951) Ref.: J.A.P.A., 12, 266 (1951)
42. Schuster, G., Dessus, M., Roux-Delimal, Morel, A., Ann. Pharm. Franç., 7, 535 (1949)
43. Fleury, P., Schuster, G., Dessus, M., Roux-Delimal J., Morel, A., ibid, 7, 529 (1949)
44. Coats, L.V., Pashley, M.M., Tattersall, K., J. Pharm. Pharmacol., 13, 620 (1961)
45. Velu, H., Claude, R., Peyré, M., Viennet, R., Ann. Pharm. Franç., 11, 675 (1953)
46. Masquelier, M.J., Bull. Soc. Pharm., 95, 28 (1956)
47. Ruben, C.M., Hanson, J.C.H., Brit. Med. J., June 1, 850 (1946)
48. Sorsby, A., ibid., Aug. 30, 322 (1947)
49. Swintosky, J.V., et al., J.A.P.A., 45, 34 (1956)
50. Swintosky, J.V., et al., ibid., 45, 37 (1956)
51. Schwartz, M.A., Buckwalter, F.H., J. Pharm. Sci., 51 1119 (1962)
52. Doyle, F.P., Nayler, J.H.C., Smith, H., Stove, E.R., Nature, 191, 1091 (1961)
53. Schwarts, M.A., Granatek, A.P., Buckwalter, F.H., J. Pharm. Sci., 51, 523 (1962)
54. Henderson, W.R., Carleton, J., Hamburger, M., Am. J. Med. Sci., 243, 489 (1962)

55. Costa, A., Guedes, M.F., Prista, L., An. Dep. Farm. Centro Ci. Saúde, Univ. Fed. Pe. Recif., 15, 1-136 (1976)
56. Guedes, M.F., Costa, A., Prista, L., Rev. Port. Farm., 31, 125 (1981)
57. Walford, M.B., Pak. J. Med. Res., 6, 228 (1967)
58. Tsuji, A., Yamana, T., Chem. Pharm. Bull., 22, 2434, (1974)
59. Stavchansky, S., et al., J. Pharm. Sci., 73, 169 (1984)
60. Farina. G., Min. Med., 60, 1999 (1969)
61. Fleischmann, L., Gradnik, B., Guzzon, V., Il Farmaco 26, 106 (1970)
62. Ginochi, G., Min. Med., 60, 2003 (1969)
63. Daehne, W.V., et al., J. Med. Chem., 13, 607 (1970)
64. Sutherland, R., Croydon, E.A.P., Rolinson, G.N., Brit. Med. J., 3, 13 (1972)
65. Tuneval, G., Frisk, R., Antimicrob. Agents Chemother 573 (1967)
66. Dolfini, J.E., et al., J. Med. Chem., 14, 117 (1971)
67. Alburn, H.E., ClarK, D.E., Fletcher, H., Grant, N.H. Antimicrob. Agents Chemother., 586 (1967)
68. Chabbert, Y.A., Horodniceanu, T., Nouv. Prec. Médic. 4, 2437 (1975)
69. Costa, M.N., Amorim, J.M., Actualizaçâo em Antibioterapia, pag. 89 1982
70. Hansson, E., Magni, L., Wahlqvist, S., Antimicrob. Agents Chemother., 568 (1967)
71. Acred, P., et al., Nature, 215, 25 (1967)
72. Kedzierewicz, F., Finance, C., Nicolas, A., Hoffman, M., Pharm. Acta Helv., 62, 109 (1987)
73. Tsuji, A., et al., J. Pharm. Sci., 68, 1259 (1979)
74. Neumen, M., Ars Medici, 33, 73 (1978)
75. Chattopadhyay, B., Hall, I., Curnow, S.R., Curr. Med Res. Opin., 8, 577 (1983)
76. Thabaut, A., Philippon, A., Paul, G., Fleurette, J., La P. Méd., 13, 1455 (1984)

77. Bremner, D.H., Camppell, M.M., Johnson, G., J. C. S. Perkin I, 1918 (1976)
78. Slocombe, B., et al., Antimicrob. Agents Chemother., 20, 38 (1981)
79. Milner, P.H., et al., J. C. S. Chem. Commun., 1335 (1984)
80. Tybring, L., Antimicrob. Agents Chemother., 266 (1975)
81. Wolfe, S., Demain, A. L., Jensen, S.E., WestlaKe, D.W.S., Science, 226, 1386 (1984)
82. Naridasa, M., et al., J. Med. Chem., 22, 757 (1979)
83. Singh, P.D., et al., J. Antibiot., 37, 773 (1984)
84. Vittecoq, D., Philippon, A., Nevot, P., Modai, J., La P. Med., 13, 1462 (1984)
85. Howarth, T.T., Brown, A.G., King, T.J., J.C.S. Chem. Comm., 7, 266 (1976)
86. Reading, C., Cole, M., Antimicrob. Agents Chemother. 11, 852 (1977)
87. Wise, R., Andrews, J.M., Bedford, K.A., ibid., 13, 389 (1978)
88. Abstr. 298-310 - 11th International Congress of Chemotherapy and 19th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1-5 Oct. 1979 Boston
89. Deborah, M., Richards, C., Brogden, R.N., Drugs, 33, 577 (1987)
90. Prous, J. R., Mealy, N. E., Drugs of Today, 19, 326 (1983)
91. Aoki, H., et al., J. Antib., 29, 492 (1976)
92. Nishida, M., Mine, Y., Nonoyama, S., Koyo, H., ibid. 30, 917 (1977)
93. Hashimoto, M., Komori, T., KamiKa, T., ibid., 9, 890 (1976)
94. Sykes, R.B., et al., Nature, 291, 489 (1981)
95. Slusarchyk, W.A., et al., Abst. 140, 24th I.C.A.A.C. 115, 1984 Whashington

96. Marini, D., Balestrieri, F., Sacchini, A., Boll. Chim. Farm., 124, 218 (1985)
97. Blandino, G., Caccamo, F., Bartolo, L., Toscano, M.A., Chemioterapia, Supp. 1, 6, 32 (1985)
98. Harold, C., Neu, M.D., Am. J. Med., 78, 77 (1985)
99. Clark, J.M., et al., Abst. 139, 24th I.C.A.A.C., 115 1984 Wahashington
100. Katayama, N., et al., J. Antib., 38, 1117 (1985)
101. Hida, T., et al., ibid., 38, 1128 (1985)
102. Ingram, G.I.C., Armitage, P., J. Pharm. Pharmacol., 1047 (1952)
103. Ashwin, J., Lynn, B., Pharm. J., 31, 487 (1975)
104. Stjernström, G., Olson, O.T., Nyqvist, H., Lundgren, P., Acta Pharm. Suec., 15, 33 (1978)
105. Bundgaard, H., Larsen, C., Int. J. Pharm., 1, 95 (1978)
106. Gomes, M.A.M., Medicina, 2, 323 (1982)
107. Pardo, A.C., Boncompte, B.M.T., Pous, F.M., Farmácia Clínica, 3, 523 (1986)
108. Schwartz, M. A., Wu, G.M., J. Pharm. Sci., 55, 550 (1966)
109. Schwartz, M.A., ibid., 58, 643 (1969)
110. Isaac, G.S., Thesis, Purden Univ., 1981
111. Dennem, D.W., Davis, W.W., Antimicrob. Agents Chemother., 531 (1961)
112. Degelaen, J.P.,et al., J.C.S., Perkin II, 86 (1979)
113. Blaha, J.M., et al., J. Pharm. Sci., 65, 1165 (1976)
114. Levine, B.B., Nature, 187, 939 (1960)
115. Hou, J. P., Poole, J.N., J. Pharm. Sci., 60, 503 (1971)
116. Schwartz, M.A., Deluce, A.J., ibid., 58, 1137 (1969)
117. Schneider, C.H., Weck, A.L., Helv. Chim. Acta, 49, 1689 (1966)
118. Nielbergall, J.P., Hussar, D.A., Cressman, W.A., Sugita, E.T., Doluisio, J.T., J. Pharm. Pharmacol., 18 729 (1966)

119. Cressman, W.A., Sugita, E.T., Doluisio, J.T., Niebergall, P.J., ibid., 18, 801 (1966)
120. Cressman, W.A., Sugita, E.T., Doluisio, J.T., Niebergall, J.P., J. Pharm. Sci., 58, 1471 (1969)
121. Levine, B.B., Nature, 187, 940 (1960)
122. Dennen, D.W., J. Pharm. Sci., 56, 1273 (1967)
123. Vanderhaeghe, H., Parmentier, G., Evrard, E., Nature, 200, 891 (1963)
124. Walkenstein, S.S., Chumakov, N., Seifter, J., Antibiot. Chemotherapy, 4, 1245 (1954) Ref.: Schwartz, M.A., J. Pharm. Sci., 58, 643 (1969)
125. Bundgaard, H., Acta Pharm. Suec., 13, 9 (1976)
126. Bundgaard, H., ibid., 14, 47 (1977)
127. Bundgaard, H., ibid., 14, 67 (1977)
128. Ojeda, A.D.P., Medicamenta, 24, 125 (1960)
129. Ho, N.F.H., Higuchi, W.I., J. Pharm. Sci., 57, 436 (1968)
130. Rhodes, C.T., Matthews, B.A., ibid., 59, 521 (1970)
131. Dubuc. B., Piché,J.,Darveau, R.,Tawashi, R., Pharm. Acta Helv., 62, 81 (1987)
132. Su, K.S.E., Carstensen, J. T., J. Pharm. Sci., 59, 671 (1970)
133. Ganderton, D., Selkirk, A.B., J. Pharm. Pharmac.,22 345 (1970)
134. Kennon, L., Storz, G.K., The Theory and Practice of Industrial Pharmacy, 2 Ed., Leon Lachman, Hebert A. Lieberman, Joseph L. Kanig, London, pag. 165, 1976
135. Rhods, C.T., Matthews, B.A., Jones, R.D.C., J. Pharm Sci., 59, 518 (1970)
136. Ward,H.T., Kammermeyer,K., Ind. Eng. Chem., 32, 622 (1940) Ref.: 134. pag. 180
137. Prista, L.N., Alves, A.C., Morgado, R.M.R., Técnica Farmacêutica e Farmácia Galénica, 1, 3 Ed. Fundaçâo Calouste Gulbenkian, Lisboa, pag. 1206, 1981
138. Thoman, C.J., J. Pharm. Sci., 75, 983 (1986)
139. Denoel, A., An. Fac. Farm. Porto, 32, 73 (1972)

140. Franck, W., et al., J. Pharm. Sci., 56, 63 (1967)
141. Piccolo, J., Tawashi, R., ibid., 59, 56 (1970)
142. Ref.: 137. pag. 804
143. Morgado,R.R., Pinho,A.A., Azedo,E., An. Fac. Farm. Porto, 30, 55 (1970)
144. Lobo, M.D.S., Rev. Port. Farm., 31, 114 (1981)
145. Sousa, A.,Contribuição ao estudo da estabilidade das vitaminas B1, B2 e B6 sobre as formas comprimidas, Fac. Farm. Int. Europ. Cienc. Farm. Ind., Dissertação, Montpellier, 1977
146. Luz, R.G., Rodrigues, F., Bentes, I., Carvalho, F. D., J. Cienc. Med., 148, 278 (1984)
147. Soos, E., Stability of Pharmaceutical Products, EFTA, Salzburg, 51 (1976)
148. Hui, H.W., Robinson, J.R., J. Pharm. Sci., 75,280 (1986)
149. Ludwig, A., Oeteghem, M.V., Pharm. Acta Helv., 62 56 (1987)
150. Ahmed, I.,Gokhale, R.D., Shah, M.V., Patton, T.F., J. Pharm. Sci., 76, 583 (1987)
151. Grass, G.M., Robinson, J.R., ibid.,73, 1021 (1984)
152. Green, K., Tonjum, A., Am. J. Ophthalm., 72, 897 (1971)
153. Kazmi, S.J.A., Mitchlel, A.G., J. Pharm. Pharmac. 23, 482 (1971)
154. Chrai, S.S., Robinson, J.R., J. Pharm. Sci., 63, 1218 (1974)
155. Patton, T.F., Robinson, J.R., ibid., 64, 1312 (1975)
156. Chrai, S.S., Patton, T.F., Mehta, A., Robinson, J. R., ibid., 62, 1112 (1973)
157. Saettone, M.F., Giannaccini, B., Barattini, F., Tellini, N., Pharm. Acta Helv., 57, 47 (1982)
158. Richards,R.M.E.,J. Pharm. Pharmac., 28, 264 (1976)
159. Sieg, J.W., Robinson, J.R., J. Pharm. Sci., 66, 1222 (1977)

160. Garrett, E.R., Won, C.M., ibid., 62, 1666 (1973)
161. Zhi, J., Nightingale, C.H., Quintiliani, R., ibid. 75, 1063 (1986)
162. Hamano, S., et al., ibid., 73, 1422 (1984)
163. Kohn, S.R., Gershenfeld, L., Barr, M., ibid., 52, 967 (1963)
164. Ooteghem, M.V., Labo-Pharma, 30, 802 (1982)
165. Mackie, M.A.L., Lyall, J., McBride, R.J., Murray, J.B., Smith,G., Pharm. Acta Helv., 61, 333 (1986)
166. Hurwitz, S.J., McCarthy, T.J., J.Pharm. Sci., 75, 912 (1986)
167. Raval, N.N., Parrott, E.L., ibid., 56, 274 (1967)
168. Allwood,M.C., Lamikanara,A., Boydell,S., J. Pharm. Pharmacol., 27, Supp. 21P (1975)
169. Prista, L.N., Rev. Port. Farm., 13, 393 (1963)
170. Saccani, F., Pansera, F., Boll. Chim. Farm., 107, 640 (1968)
171. Hou, J.P., Poole, J.W., J. Pharm. Sci., 58, 1510 (1969)
172. Raffanti, E.F., King, J.C., Am. J. Hosp. Pharm., 31, 745 (1974)
173. Yamana, T., Tsuji, A., Mizukami, Y., Chem. Pharm. Bull., 22, 1186 (1974)
174. Tomlinson, E., Notary,R.E., Byron,P.R., J. Pharm. Sci., 69, 655 (1980)
175. Guedes, M.F., Rev. Port. Farm., 36, 22 (1986)
176. Guedes, M.F., ibid., 36, 29 (1986)
177. Azedo, E., Pinho, N.C., Morgado, R.R., Prista, L. N., An. Fac. Farm. Porto, 33, 31 (1973)
178. Guedes, M.F., Rev. Port. Farm., 31, 120 (1981)
179. Klein,M., Millwood,E.G., Walther,W.W., J. Pharm. Pharmacol., 6, 725 (1954)
180. Prista, L.N., Pinho, A.A., Morgado, R.R., Rev. Port. Farm., 32, 1 (1981)
181. Austin, K.W.B., Marshall, A.C., Smith, H., Nature, 208, 999 (1965)

182. Poole, J.W., Owen, G.,Silverio, J.,Freyhof, J.N., Rosenman, S.B., Curr. Ther. Res., 10, 292 (1968)
183. Tsuji, A., Nakashima, E., Hamano, S., Yamana, T. J. Pharm. Sci., 67, 1059 (1978)
184. Welling, P.G., Koch, P.A., Graig, W.A., Madsen, ibid., 66, 549 (1977)
185. Tsuji, A., Nakashima, E., Kagami, I., Yamana, T. ibid., 70, 768 (1981)
186. Tsuji, A., Nakashima, E., Kagami, I., Yamana, T. ibid., 70, 772 (1981)
187. Tsuji, A., Kubo, O., Miyamoto, E., Yamana, T., ibid., 66, 1675 (1977)
188. Tsuji, A., Miyamoto, E., Kubo, O., Yamana. T., ibid., 68, 812 (1979)
189. Diamond,J.W., Weright, E.M., Proc. Roy. Soc. B172 , 273 (1969) Ref.: Banker, G.S., Rhodes, C.T., Modern Pharmaceutics, Gilbert S. Banker, Cristopher T. Rhodes, Edit., Marcel Dekker, Inc. New York and Basel, pag.34, 1979
190. Shone,P.A., Brodie,B.B., Hogben,C.A.M., J. Pharm. Exper. Ther., 119, 361 (1957)
191. Nook, T., Doelker, E., Buri, P., Pharm. Acta Helv. 62, 274 (1987)
192. Robert, C., Buri, P., ibid., 61, 210 (1986)
193. Galmiche, J.P., et al., J. Pharmacol., 17, Suppl.I 25 (1986)
194. Suzuki, H., Swada, Y., Sugiyama, Y., Iga, T., Hamano,M., J. Pharmacol. Exp. Ther., 242, 660 (1987)
195. Winne, D., Remischovsky, J., J. Pharm. Pharmacol., 22, 640 (1970)
196. Stavchansky, S., Tung, I-L., J. Pharm. Sci., 76, 688 (1987)
197. Bres, J., Wattimena, J.R., Boucard, M., J. Pharm. Clin., 4, 293 (1985)
198. Marget, W., Wagner, M., Med. Klin., 76, 86 (1967)
199. Davis, A.E., Pirola, R.C., Australasian Ann. Med.

17, 63 (1968) Ref.: Banker, G.S., Rhodes, C.T., Modern. Pharmaceutics, Gilbert S. Banker, Cristopher T. Rhodes, Edit., Marcel Dekker, Inc. New York and Basel pag. 72, 1979

200. Nelson, J.D., et al., Clin. Pharmacol. Ther., 13, 879 (1972)
201. Ballard, B.E., J. Pharm. Sci., 55, 515 (1966)
202. Poole, J.W., ibid., 59, 1255 (1970)
203. Gohary, O.A., Lyall, J., Murray, J.B., Pharm. Acta Helv., 62, 66 (1987)
204. Whyatt, P.L., Slywka, G.W.A., Melikian, A.P., Meyer, M.C., J. Pharm. Sci., 65, 652 (1976)
205. Lieberman, H.A., Lachman, L., Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, 2, Hebert, A. Lieberman, Leon Lachman Edit., Marcel Dekker Inc. New York/Basel, pag. 338, 1981
206. Gondon, M.S., Chowhan, Z.P., J. Pharm. Sci., 76, 907 (1987)
207. Mizutani, T., J. Pharm. Pharmacol., 34, 608 (1982)
208. Bowtle, W., Boll. Chim. Farm., 125, 72 (1986)
209. Sousa, J.C.F., Prista, L.V.N., Antibióticos Inibidores da Biossíntese do Peptidoglicano, Ed. Ordem dos Farmacêuticos, Porto, pag. 217, 1988
210. Prieto, J.G., Santos, L., Barrio, J.P., Alonso, M.L. J. Pharm. Sci., 76, 596 (1987)
211. Drife, J.O., Drugs, 33, 610 (1987)
212. Guillot, B.R., Lombard, A.P., Le Suppositoire, Edit. Maloine S.A., Paris, pag. 93, 1973
213. Lassere, Y., Peneva, B., Jacob, M., Puech,A., Pharm. Acta Helv., 59, 77 (1984)
214. Lassere, Y., Peneva, B., Jacob, M., Puech,A., Sabatier, R., ibid., 62, 287 (1987)
215. Richmond, M.H., β-Lactam Antibiotics, Edit. Hoechst Aktiengesellschaft, Frankfurt, pag. 98, 1981
216. Adami, M., Colombo, G., Gallo, M.T., Acta Pharm. Technol., 32, 13 (1986)

217. Moës, A.J., Pharm. Helv. Acta, 55, 307 (1980)
218. Prista, L.N., Alves, A.C., Morgado, R.M.R., Técnica Farmacêutica e Farmácia Galénica, 3, 2ª Ed., Edit. Fundaçâo Calouste Gulbenkian, Lisboa,pag. 1931, 1979
219. Albuquerque, A.A., Administraçâo de Fármacos por Via Rectal, Dissertaçâo, Porto, pag. 176, 1965
220. Gibaldi, M., Feldman, S., J. Pharm. Sci., 59, 579 (1970)
221. Yamada,H., Yamamoto,R., Chem. Pharm. Bull., 13, 1279 (1965)
222. Kakemi, K., Arita, T., Muranishi, S., ibid., 13, 976 (1965)
223. Kakemi,K., Sezaki,H., Muranishi,S., ibid., 17, 1650 (1969)
224. Sakai, K., Kutsuna, T., Nishino, T., Fujihara, Y., Yata, N., J. Pharm. Sci., 75, 387 (1986)
225. Moës, A.J., Rectal Therapy, Edit. J.R.Prous, Barcelona, pag. 49, 1984
226. Thoma, K., Ref.: 225, pag. 27
227. Lassere,Y., Peneva,B., Jacob,M., Puech,A., J. Pharm. Belg., 41, 12 (1986)
228. Coben, L.J., Lordi, N.G., J.Pharm. Sci., 69, 955 (1980)
229. Fini, G.D., Zotto, M.D., Ragazzi, E., Ragazzi, E., Boll. Chim. Farm., 125, 280 (1986)
230. Glas, B., Ref.: 225, pag. 129
231. McLinn, S.E., Kramer, R., Saltstein, E., Bomze, J.P. Deitch, M.W., J. Pediat., 101, 617 (1982)