JOSÉ MANUEL CORREIA NEVES DE SOUSA LOBO

CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DA TECNOLOGIA DE FABRICO, ESTABILIDADE E BIODISPONIBILIDADE DE FORMAS FARMACÊUTICAS CONTENDO DIPIRONA

PORTO
1989

JOSÉ MANUEL CORREIA NEVES DE SOUSA LOBO

Assistente da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DA TECNOLOGIA DE FABRICO, ESTABILIDADE E BIODISPONIBILIDADE DE FORMAS FARMACÊUTICAS CONTENDO DIPIRONA

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 - 1989

À

Memória dos meus Pais

À Ni

Ao Zé Pedro

Ao Professor Doutor **Luís Vasco Nogueira Prista** agradeço não só a valiosa orientação concedida, que possibilitou a execução deste trabalho, mas também o entusiasmo que me incutiu em algumas fases de desânimo. Pela amizade e confiança que sempre me demonstrou, exprimo também a minha mais profunda gratidão.

Ao Professor Doutor **Rui Manuel Ramos Morgado** agradeço o contínuo apoio que me prestou, em particular na fase respeitante à preparação de formas sólidas. O seu precioso auxílio e as suas sugestões contribuíram, de modo decisivo, para uma adequada montagem dos dispositivos utilizados.

À Professora Doutora **Maria Fernanda Coelho Guedes Bahia**, agradeço a colaboração prestada na realização de alguns ensaios e a amizade que sempre me dispensou.

Ao Dr. **Edmundo Caldas Vilar**, meu colega e amigo, agradeço o auxílio que me concedeu e o incentivo que frequentemente me transmitiu.

À Drª. **Alda Fernanda Loureiro de Albuquerque Pinho**, pelas suas palavras amigas e sempre animadoras, exprimo o meu agradecimento e amizade.

Ao Dr. **Domingos de Carvalho Ferreira** e ao Dr. **Delfim Fernando Gonçalves dos Santos** agradeço o apoio dispensado durante o processamento do texto.

Ao Dr. **Carlos Maurício Gonçalves Barbosa**, que me auxiliou durante um longo período na realização da parte experimental deste trabalho, agradeço o cuidado e boa vontade que sempre manifestou.

À Srª. D. **Adelina Fiel**, agradeço o apoio prestado na preparação de reagentes diversos e na execução de alguns ensaios.

Ao Sr. **João Manuel Parente da Silva**, agradeço o trabalho prestado e, especialmente, a montagem do dispositivo utilizado na avaliação do diâmetro dos poros dos comprimidos.

À Srª. D. **Maria Clara Soares de Castro** e ao Sr. **Joaquim Ribeiro** manifesto a minha gratidão pelo trabalho que prestaram.

No Sector de Toxicologia realizei todo o trabalho de cromatografia líquida de alta pressão. Pela longa e intensa utilização do cromatógrafo, agradeço encarecidamente à Professora Doutora Maria de Lourdes Pinho de Almeida Souteiro Bastos e ao Professor Doutor Fernando Morais de Sena Esteves.

Agradeço também ao Professor Doutor Francisco José Amorim de Carvalho Guerra e às suas colaboradoras Drª. Maria Palmira Dias Martins e Srª. D. Maria Luísa Fernandes Maia Rodrigues o auxílio prestado durante a realização dos ensaios biológicos.

Ao Professor Doutor Alberto Moreira Roque da Silva e à Drª. Aida Maria Soares de Spínola Roque da Silva, agradeço a colaboração e o interesse que me demonstraram. Quero ainda agradecer à Drª. Maria Isabel de Almeida Cardoso o ânimo e o entusiasmo que sempre me imprimiu.

Durante um determinado período da parte experimental utilizei o espectrofotómetro do Sector de Bromatologia. Por isso, e também pelo auxílio que me facultou, agradeço à Professora Doutora Margarida Alice Ferreira.

À Professora Doutora Madalena Maria Magalhães Pinto, agradeço o apoio concedido e a possibilidade que me deu de utilizar material diverso do Sector de Química Orgânica.

Ao Dr. Carlos Manuel Magalhães Afonso devo a realização de inúmeros gráficos e figuras. Por isso, e também pela colaboração prestada em várias fases do trabalho e, em particular, durante a execução dos ensaios cromatográficos, manifesto o meu reconhecimento e a minha amizade.

Ao Serviço de Iconografia, agradeço os serviços prestados na composição de algumas figuras deste trabalho.

Aos Serviços Administrativos, e em especial à Srª. D. Maria Noémia Lopes Machado de Sousa e à Srª. D. Maria do Céu Marinho Pires de Lima, agradeço o apoio e as facilidades que me concederam.

Agradeço também aos voluntários que permitiram a realização do ensaio "in vivo".

A todos os que, de algum modo, contribuíram para a realização deste trabalho, agradeço a sua disponibilidade.

Ao Engº. **Paulo Jorge Damião e Cunha**, agradeço os serviços prestados na elaboração dos "softwares" e do conversor de sinal utilizados na avaliação das forças de compressão.

Agradeço também ao Doutor Engº. **José Roberto Tinoco Cavalheiro** a cedência do transdutor de deslocamento.

À **empresa Hoechst**, que possibilitou a realização dos ensaios cromatográficos através do envio gratuito dos padrões, exprimo a minha gratidão.

Ao **Instituto Pasteur de Lisboa**, agradeço a cedência do oxazepam que utilizei durante a execução da análise cromatográfica.

Agradeço também à Drª. **Rosa Pinho**, da Secretaria Geral do Ministério da Saúde, à Drª. **Maria Helena Dias Nogueira**, dos Serviços Farmacêuticos do Hospital de S. João, e às Drªs. **Maria Teresa de Oliveira Barrosa** e **Ana Maria da Costa Marques**, dos Serviços Farmacêuticos do Hospital de Santo António, a cedência das informações respeitantes ao consumo hospitalar de dipirona.

Ao **Centro de Informação do Medicamento da Ordem dos Farmacêuticos**, agradeço, na pessoa da Drª. **Maria Aurora Simón Martín**, a rápida e eficiente colaboração na pesquisa bibliográfica que realizei.

Aos **Laboratórios Bial** agradeço a consulta bibliográfica ao banco de dados Dialog que me foi facultada gratuitamente.

Ao **Instituto Luso-Fármaco**, que me possibilitou a consulta ao ficheiro Medline, manifesto também o meu agradecimento.

À **Ni** devo, em grande parte, a realização deste estudo. Auxiliou-me continuamente durante a parte experimental, colaborou comigo ao longo da redacção, processou pacientemente o texto e contribuiu, de modo decisivo, para a elaboração definitiva do trabalho. Por tudo isso quero manifestar a minha gratidão e o meu apreço profundos.

Agradeço ao **Instituto Nacional de Investigação Científica** o apoio financeiro concedido para a execução do trabalho, que 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.

PREFÁCIO

Os analgésicos e antipiréticos são provavelmente dos fármacos mais utilizados, podendo afirmar-se que, em Portugal, o ácido acetilsalicílico, o paracetamol e a dipirona constituem os exemplos mais representativos daquele grupo de compostos. Todavia, a consulta às principais revistas de âmbito farmacêutico permite concluir que são escassos os trabalhos directamente relacionados com os problemas galénicos da preparação de formas farmacêuticas contendo dipirona.

Pelo contrário, qualquer dos outros dois compostos foi já utilizado na realização de estudos diversos, quer de índole tecnológica, quer respeitantes à estabilidade e à biodisponibilidade. Deste modo, a dipirona reunia melhores condições para constituir o tema do trabalho.

Mas aos derivados pirazolónicos têm sido atribuídos riscos de utilização elevados, pois provocam perturbações hematológicas graves. Por isso foram retirados do mercado em alguns países ou dispensados mediante a apresentação de receita médica, como acontece em Portugal. Contudo, os valores de risco calculados eram díspares. E a posterior divulgação dos resultados preliminares de um estudo epidemiológico internacional comprova que, na realidade, a taxa de incidência dos efeitos secundários é significativamente inferior às anteriormente publicadas.

Por outro lado, pretendia-se estudar não só um determinado composto, mas também as características de compressibilidade de pós ou granulados através da aplicação de dispositivos apropriados para a medição das forças desenvolvidas durante a compressão. A realização de um ensaio prévio demonstrou que a dipirona apresentava algumas das propriedades necessárias para a realização deste objectivo, pois origina facilmente comprimidos.

Atendendo, pois, aos três factores mencionados, foi a dipirona o composto seleccionado como objecto de estudo.

CAPITULO I

CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1.- OS ANALGÉSICOS

1.1.1.- HISTóRIA

Os produtos habitualmente designados por Analgésicos, dos quais alguns apresentam ainda propriedades antipiréticas ou anti-inflamatórias, foram certamente das primeiras drogas cuja acção terapêutica foi descoberta pelo Homem.

De facto, sendo a dor e a febre manifestaçôes primárias de um grande número de estados patológicos e sendo também a Medicina Primitiva essencialmente paliativa, encontram-se já referências a medicaçôes deste tipo na mais antiga fonte histórica a que o estudioso da evolução da Farmácia pode recorrer. Assim, nas placas argilosas designadas por Formulário Sumério e datadas de cerca de 2000 aC, inscreve-se a seguinte receita (1):

> "Se um homem quer urinar e nâo pode, esmaga em cerveja sementes de dormideira e dá-lhe a beber. Ferve resina de gálbano em óleo, coa e sopra o líquido obtido, com o auxílio de um tubo de bronze, para o interior da uretra."

Trata-se de um modo de proceder simples e conciso que revela, no entanto, indícios de um certo saber farmacológico, ou seja, eram já conhecidos o efeito sedativo do álcool etílico, a actividade analgésica das sementes de dormideira, o poder lubrificante dos óleos e a acção antiespasmódica do gálbano.

Mas é curioso realçar que nesta "tintura de dormideira", verdadeiro antepassado do Cocktail de Brompton utilizado actualmente no tratamento da dor em doentes oncológicos, se recorre à cerveja, e nâo à água, para veicular as substâncias activas. Obtinha-se, assim, nâo só uma adição ou potenciação dos efeitos farmacológicos do álcool etílico e da morfina no sistema nervoso central, como

também, porventura, uma melhor estabilidade microbiológica da preparação, uma mais eficaz solubilização dos alcalóides e, consequentemente, um maior rendimento extractivo.

Em documentos de épocas posteriores é citado, de igual modo, o uso de medicamentos de acção analgésica, desde os preparados egípcios para aplicação externa, contidos no Papiro de Ebers, até aos propostos por Hipócrates e Galeno, ou descritos pelos médicos árabes e pelos monges europeus nos primeiros séculos da Era Medieval. Durante a Baixa Idade Média surgem inúmeras fórmulas deste tipo, mencionando-se como exemplo a Teriaga Magna de Andrómaco, mistura complexa que, além de ser administrada com outras 36 finalidades, era também utilizada no tratamento da dor (1).

O Renascimento e o consequente movimento expansionista promovem o contacto das naçôes europeias com novas civilizaçôes, novos povos, novas drogas e novos usos das já conhecidas. Paracelso, na primeira metade do século XVI, advoga o uso generalizado do ópio (2), e Tomé Pires, em carta a El-rei D. Manuel datada de 1516, refere o consumo deste fármaco na India (3). Também Garcia de Orta o descreve nos "Colóquios dos Simples" (4), e Cristóvão da Costa, no "Tratado das Drogas e Medicinas das Indias Orientais" (5), cita a sua acção analgésica e os perigos do seu uso indiscriminado.

É ainda nesta época que os Espanhóis contactam, no Peru, com uma planta dotada de notáveis propriedades febrífugas e já conhecida das populaçôes autóctones: a quina. As curas são de tal modo fulgurantes que o uso do fármaco, entretanto levado para a Europa, se generaliza, sendo a Farmacopeia de Londres, em 1677, a primeira a incluí-lo (6).

Ao mesmo tempo, o ópio é cada vez mais utilizado e Sydenham considera-o, em finais do século XVII, o medicamento mais universal e eficaz (2). Em Portugal, a dormideira e o respectivo suco são referidos no Inventário da Botica do Mosteiro de Grijó, datado de 1770 (7), continuando, no entanto, a ser empregues fórmulas diversas e bizarras contra as dores, como o Bálsamo de Cachorros

composto, aconselhado para mitigar a ciática e citado na Farmacopeia Tubalense de 1735 (8). Em meados do século XVIII, o Reverendo Edmund Stone associa a acção farmacológica da casca de salgueiro, droga usada com fins terapêuticos desde a Era Clássica, à da quina, admitindo então, com base na identidade de sabor, a semelhança entre os princípios activos de ambos os fármacos (9).

Paralelamente, os conhecimentos em Química e em Técnica Laboratorial vão evoluindo e a série de alteraçôes culturais, invençôes e descobertas que, após a Revolução Francesa, caracterizou o século XIX irá ter uma repercussão fundamental na evolução da terapia da dor e da febre.

Tainter (10), ao sistematizar a história da medicação analgésica, divide-a em quatro grandes eras, estendendo-se a primeira desde o aparecimento do Homem até ao princípio do século XIX e durante a qual se descobriram as propriedades analgésicas de várias drogas, que passaram assim a ser incluídas na preparação de formas farmacêuticas. O isolamento de compostos químicos definidos e a verificação da respectiva acção farmacológica marcam o início da segunda época, correspondendo a terceira à obtenção , por síntese química, não só de compostos idênticos aos extraídos das diferentes drogas, mas também de novas moléculas dotadas de acção antiálgica. No quarto período, devido à aplicação das recentes descobertas na área da farmacologia, ao estudo das relaçôes estrutura química/actividade farmacológica e ao aparecimento das novas metodologias de avaliação das propriedades terapêuticas, surgem finalmente os modernos e potentes analgésicos.

O citado contributo do Reverendo Stone para o melhor conhecimento dos fármacos febrífugos marca o final da primeira era e estabelece a transição para a segunda, pois corresponde já a uma tentativa de análise da actividade farmacológica das drogas conhecidas. Mas é o alemão Friedrich Sertürner quem, em 1806, inicia o segundo período ao conseguir extrair do ópio o primeiro alcalóide alguma vez isolado a partir de drogas vegetais. A acção do composto foi

ensaiada pelo próprio químico que, em homenagem a Morfeu, o denomina morfina (11). Nesse mesmo ano, no decurso das Guerras Napoleónicas, a casca de salgueiro é utilizada pela primeira vez como antipirética (12).

Posteriormente, são isolados o salicilato de metilo, a salicina e o ácido salicílico. E é este o primeiro analgésico conhecido a ser sintetizado laboratorial e industrialmente por Kolbe em 1860 e 1873, respectivamente , marcando assim o início da terceira época (13).

Na segunda metade do século XIX um dos febrífugos mais vulgarizados foi a quinina, pelo que a síntese laboratorial de compostos quimicamente semelhantes foi ensaiada por vários investigadores, admitindo-se à partida que a analogia estrutural acarretaria também identidade de acção farmacológica. Ludwig Knorr sintetiza, em 1884, uma nova molécula, à qual atribui erradamente uma estrutura química semelhante à da quinoleína e a designação de dimetiloxiquinizina. Mas o cientista alemão detecta rapidamente o erro, estabelece a verdadeira fórmula de estrutura do composto e, devido às propriedades antipiréticas entretanto detectadas, denomina-o antipirina (14).

Em 1886 é descoberta acidentalmente a acção febrífuga da acetanilida, quando é involuntariamente incluída, em vez de naftaleno, numa formulação magistral. Em consequência da cura do doente, realizaram-se ensaios confirmativos e o composto foi rapidamente introduzido na terapêutica com o nome de antifebrina (15). Entretanto, a empresa Bayer, fundada em 1863 e dedicada à produção industrial de corantes, procurava encontrar um processo rentável de recuperação das grandes quantidades de p-aminofenol resultante, como produto secundário, da síntese de alguns corantes. O químico Carl Duisberg estuda o problema e, associando talvez a tentativa de obtenção de novos antipiréticos à semelhança estrutural entre o referido composto e a acetanilida, sintetiza, em 1887, a fenacetina (16).

O paracetamol é introduzido na prática clínica por Von Mering em 1893. No entanto, só virá a conhecer uma

utilizaçâo terapêutica alargada a partir de 1943, depois de Brodie e Axelrod terem descoberto que é o principal metabolito activo da fenacetina (12).

Todavia, a pesquisa e a avaliaçâo de novas moléculas continuam a ser realizadas. Em 1897 o farmacologista Filehene, atribuindo a acçâo analgésica da morfina ao átomo de azoto terciário existente na molécula, solicita à indústria química a síntese de um derivado da antipirina que possuísse também uma amina terciária directamente ligada ao núcleo pirazolónico. O composto obtido foi denominado piramido, verificando-se depois que apresentava uma acçâo superior à da própria antipirina (17).

Simultaneamente, Felix Hoffmann descobre a actividade farmacológica do ácido acetilsalicílico, composto já preparado em 1853 por Gerhardt mas que nunca fora utilizado. Em 1899, após experimentaçâo clínica, é introduzido na terapêutica com a designaçâo de aspirina, e a sua comercializaçâo constitui um dos mais relevantes marcos da história da medicaçâo analgésica (13).

Em 1911 sâo sintetizados dois novos derivados pirazolónicos: a melubrina, assim denominada em homenagem à empresa alemâ Meister Lucius Bruning (que posteriormente alteraria o nome para Hoechst), e a dipirona (17). Dotados de acçôes farmacológicas idênticas às do piramido, apresentam no entanto maior hidrofilia, permitindo assim uma utilizaçâo mais segura em formulaçôes líquidas para administraçâo parentérica.

O quarto e último período da história dos analgésicos inicia-se em 1938, quando Eislab e Schaumann, ao avaliarem a esperada acçâo antiespasmódica de um derivado da piperidina por eles preparado, verificaram que os ratos utilizados na experiência apresentavam, como efeito da droga administrada, a erecçâo das caudas (13). Este fenómeno, ou reacçâo de Straub, era já conhecido e tido como característico dos compostos com estrutura semelhante à da morfina, e a acçâo analgésica da petidina, pois era este o fármaco em ensaio, foi posteriormente confirmada. Surgia assim o primeiro

analgésico de alta potência farmacológica que nâo apresentava, do ponto de vista estrutural, qualquer relaçâo com a morfina.

Paralelamente ensaiam-se novas vias de administraçâo para os compostos já conhecidos. A forte acçâo do piramido tornou-o particularmente aconselhado no tratamento de manifestaçôes reumáticas, equacionando-se então a possibilidade da administraçâo parentérica deste fármaco.

Atendendo à baixa hidrofilia do mesmo e à utilizaçâo corrente, naquela época, de hidrótropos com composiçâo química semelhante à dos fármacos a veicular, é lançada no mercado uma soluçâo injectável contendo piramido e o respectivo promotor da solubilizaçâo, a 4-butil-1,2-difenil-pirazolidina-3,5-diona. Esta preparaçâo farmacêutica apresentou, surpreendentemente, uma acçâo anti-inflamatória muito superior à do próprio fármaco, passando, em 1951, a usar-se o referido adjuvante como substância activa com a designaçâo de fenilbutazona (17).

Nas últimas três décadas têm sido comercializados compostos de potência diversa, alguns predominantemente analgésicos, outros essencialmente anti-inflamatórios. Assim, e para nomear apenas alguns dos mais importantes, surgem nos anos sessenta a glafenina, o ácido mefenâmico, a indometacina, o ibuprofeno, a oxifenbutazona e a probenecida, e na década seguinte o diflunisal, o cetoprofeno, o sulindac, o diclofenac e o etofenamato. Finalmente, nos anos oitenta destacam-se a orgoteína, o zomepirac, o pirprofeno, o sufentanil e o fentiazac.

Legítimo será presumir que o aparecimento de novas moléculas, apresentando diferentes aplicaçôes e também algumas contra-indicaçôes, prosseguirá certamente, pois traduz apenas a busca do analgésico ideal, dotado de máxima eficácia e toxicidade nula, e por isso de difícil, senâo mesmo impossível, obtençâo.

1.1.2.- DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO

Poder-se-á definir como Analgésico qualquer composto cuja acção farmacológica principal se traduz numa insensibilização à dor por interferência, directa e específica, no respectivo processo fisiológico.

Este fenómeno compreende, tal como qualquer outro resultante da estimulação sensorial, um mecanismo aferente de transmissão da percepção dolorosa ao sistema nervoso central e a consequente emissão de uma resposta efectora. Nestas circunstâncias, os compostos analgésicos poderão actuar por dois mecanismos diferentes, ou seja, predominantemente a nível periférico, interferindo na transmissão do estímulo aferente, ou a nível central, afectando a natureza da reacção eferente.

É precisamente nesta dupla possibilidade de modos de acção que se baseiam as classificações dos analgésicos propostas nos diferentes artigos de revisão e tratados de Farmacologia ou de Química Farmacêutica (9,13,15,18). Assim, Castro Tavares (19) inclui num primeiro grupo os fármacos dotados de acção central como a morfina e outros Analgésicos Opiáceos, enquanto os compostos de acção essencialmente periférica e de menor potência são designados por Analgésicos, Antipiréticos e Anti-Inflamatórios. A denominação deste segundo grupo de fármacos faz menção às três acções farmacológicas que, com maior ou menor intensidade, grande parte dos compostos deste tipo apresentam, sendo alguns deles essencialmente analgésicos e antipiréticos, de fraca acção anti-inflamatória, ao passo que noutros é este o efeito que prevalece. Por isso pareceu ser a designação mais adequada, ao contrário de outras também utilizadas, mas aparentemente mais restritivas (Anti-Inflamatórios não Esteróides) ou mais vagas (Fármacos Semelhantes à Aspirina - "Aspirin-like Drugs").

Os Analgésicos Opiáceos são classificados, consoante a sua origem, em naturais e sintéticos, enquanto os Analgésicos, Antipiréticos e Anti-Inflamatórios se dividem, de

acordo com a respectiva estrutura química, em cinco subgrupos: os derivados do ácido salicílico, dos ácidos arilalcanóicos, da anilina e do núcleo pirazólico, e os ácidos N-arilantranílicos.

A classificaçâo geral dos Analgésicos encontra-se esquematizada no Quadro I, no qual se indicam exemplos de alguns dos compostos mais significativos de cada tipo, sublinhando-se os que constam do Formulário Nacional de Medicamentos (20).

Finalmente, os fármacos anti-inflamatórios designados por Corticosteróides nâo sâo mencionados por nâo possuirem acçâo analgésica directa, ficando, deste modo, automaticamente excluídos desta classificaçâo. E se é sabido que a actividade anti-inflamatória por eles apresentada se deve a um mecanismo semelhante ao dos Analgésicos, Antipiréticos e Anti-Inflamatórios, é também verdade que o processo de actuaçâo é complexo e as acçôes farmacológicas múltiplas e diversas. Sâo, por isso, responsáveis por inúmeros efeitos secundários cuja magnitude levou a uma progressiva diminuiçâo do seu consumo.

QUADRO I

CLASSIFICAÇÃO DOS ANALGÉSICOS

GRUPO	SUBGRUPO	COMPOSTOS
ANALGÉSICOS OPIÁCEOS	Naturais	Morfina
	Sintéticos	Petidina, Fentanil
ANALGÉSICOS, ANTIPIRÉTICOS E ANTI - - INFLAMATÓRIOS	Derivados do ácido salicílico	Ácido acetilsalicílico, Diflunisal
	Derivados da anilina	Fenacetina, Paracetamol
	Derivados pirazólicos	Antipirina, Piramido, Dipirona, Fenilbutazona, Oxifenbutazona
	Ácidos N- arilantranílicos	Ácido Flufenâmico, Glafenina
	Derivados de ácidos arilalcanóicos	Indometacina, Sulindac, Cetoprofeno, Naproxeno, Diclofenac, Ibuprofeno, Piroxicam, Fentiazac

1.2.- OS ANALGÉSICOS, ANTIPIRÉTICOS E ANTI-INFLAMATóRIOS

1.2.1.- FISIOLOGIA

1.2.1.1.- A DOR (19,21,22,23,24)

A fisiologia da dor corresponde a um mecanismo complexo, já que envolve nâo apenas a transmissâo de uma informaçâo sensorial e da subsequente resposta, mas também vários factores de ordem individual e subjectiva que se manifestam, principalmente, na intensidade da sensaçâo dolorosa. Por isso foi, durante décadas, objecto de interpretaçôes essencialmente teóricas. No entanto, o isolamento e a identificaçâo de duas encefalinas, realizados por Hughes et al. em 1975 (25), e a posterior descoberta dos receptores opióides e do sistema antiálgico endógeno permitiram conhecer com maior profundidade o fenómeno e explicar mais correcta e cientificamente a acção dos analgésicos.

De um modo esquemático e resumido, sabe-se que qualquer processo álgico resulta - senâo na totalidade, pelo menos na maior parte dos casos - da libertaçâo local de substâncias químicas provocada por estímulos nóxios de natureza mecânica, eléctrica, térmica ou química. Estes compostos originam dor quer directamente, activando os nociceptores ou potenciando a acção algogénica de outros produtos, quer indirectamente, causando alteraçôes vasculares locais ou espasmos da musculatura lisa.

É conhecido, de facto, o poder álgico das soluçôes fortemente ácidas ou alcalinas, hiper ou hipotónicas ou com concentraçôes relativamente elevadas de potássio. Verifica-se, ainda, que a dilataçâo dos vasos sanguíneos do cérebro e a tracçâo sofrida por este mesmo órgâo, após a realizaçâo de uma punçâo lombar, sâo susceptíveis de provocar dor. Mas está também comprovado que a histamina, a 5-hidroxitriptamina, as cininas plasmáticas e as prostaglandinas sâo compostos algesiógenos e/ou hiperalgésicos. Admite-se, portanto, que sâo estes, na grande maioria das situaçôes e

actuando por si só ou em conjunto, os responsáveis pela estimulação directa dos nociceptores e pela génese do influxo nervoso.

A mensagem nociceptiva é, então, enviada para o sistema nervoso central através de fibras total ou parcialmente desmielinizadas e dotadas de diferentes velocidades de condução, sendo ao nível dos cornos dorsais da espinal medula que os respectivos axónios contactam, através da primeira sinapse deste sistema, com os neurónios transmissores do influxo sensorial para o tálamo e outras zonas encefálicas.

Nestas estruturas encontra-se a segunda sinapse do sistema, actuando o terceiro neurónio como condutor da sensação nóxia até ao hipotálamo, ao córtex parietal e ao sistema límbico. E é aí que a informação adquire os aspectos individuais e emocionais próprios, desencadeando o conjunto de reacções comportamentais características.

Na maioria dos casos, a mediação sináptica parece ser feita pela substância P, peptídeo existente nos neurónios aferentes, em vesículas e em grande quantidade. No entanto, admite-se também que este papel seja desempenhado, em algumas regiões do sistema nervoso central, pelas prostaglandinas.

Mas as alterações reflexas ou de comportamento que se seguem à sensação dolorosa são apenas uma pequena parte da resposta do organismo a este tipo de agressão. Simultaneamente, e nas várias estruturas do sistema nervoso central directamente implicadas no fenómeno nóxio, libertam-se os denominados peptídeos opióides endógenos (como as endorfinas, as encefalinas e as dinorfinas) que, fixando-se nos diferentes receptores opióides existentes também em maior número naquelas regiões, provocam a despolarização das fibras aferentes e, consequentemente, a inibição da mediação sináptica.

Esta acção depressora da mensagem dolorosa não se circunsceve apenas às regiões corticais. De facto, sabe-se actualmente que os cornos dorsais da espinal medula não contêm apenas as sinapses nervosas anteriormente referidas;

também neles existem numerosos interneurónios que, além de serem ricos em peptídeos opióides endógenos, contactam também com as fibras aferentes. E são estes peptídeos que vão impedir, por um mecanismo semelhante ao anteriormente descrito, a propagação da sensação nóxia.

Verifica-se, assim, que o processo estímulo doloroso/ /resposta central é constituído por dois vectores opostos em sentido e natureza de acção: a um sistema aferente, de características nociceptivas, contrapõe-se um outro, eferente e antinociceptivo. De igual modo, as substâncias químicas responsáveis pela activação de cada um deles são diferentes: o processo álgico parece ser provocado por alguns autacóides, como as prostaglandinas e as cininas plasmáticas, ao passo que a reacção antiálgica é mediada, essencialmente, pelos peptídeos opióides endógenos.

1.2.1.2.- A FEBRE (26,27)

O Homem, como animal homeotérmico que é, possui um sistema regulador da temperatura corpórea que assegura a manutenção da mesma dentro de limites relativamente estreitos.

O hipotálamo é o órgão responsável por esta função reguladora, pois é a partir dele que são desencadeados, perante os estímulos aferentes captados pelos termorreceptores periféricos ou centrais, os mecanismos fisiológicos necessários para aumentar ou diminuir as trocas de calor entre o corpo humano e o meio ambiente. Este órgão funciona, assim, como um verdadeiro termostato orgânico, originando vasoconstrição periférica e aumentos do tónus muscular esquelético e do metabolismo celular quando o meio ambiente é frio; pelo contrário, a vasodilatação periférica, o relaxamento da musculatura esquelética e a dimimuição do metabolismo celular são algumas das reacções fisiológicas ao aumento da temperatura ambiente .

A febre é uma das reacções de defesa e protecção do organismo, constituindo parte integrante dos fenómenos que acompanham as respostas imunitárias específicas e não

específicas. No entanto, o aumento da temperatura corporal pode ter outras origens, como, por exemplo, a acção directa de certas hormonas e respectivos precursores, ou a introdução de pirogéneos exógenos na corrente circulatória.

Correspondendo, em termos práticos, a uma subida do nível térmico para o qual o hipotálamo se encontra normalmente regulado, a febre é uma consequência da libertação do chamado pirogéneo endógeno pelos fagócitos activados, sendo esta alteração fagocitária mais um dos fenómenos que constituem a resposta imunitária. A principal acção deste pirogéneo endógeno é a activação, no hipotálamo, da síntese de um determinado tipo de prostaglandina que é, então, a responsável directa pela alteração do valor da temperatura de referência do centro termorregulador.

1.2.1.3.- A INFLAMAÇÃO (27,28,29)

A inflamação é uma reacção do organismo à presença de elementos estranhos provenientes, quer do meio exterior, como os microrganismos, quer do próprio corpo, como os tecidos lesados ou destruídos em consequência de qualquer agressão física, térmica ou química, ou os elementos celulares anormais surgidos por motivos vários. Caracterizada pelo aparecimento, na região afectada, de rubor, calor, edema e dor, não deve ser definida apenas como um mecanismo de defesa, já que à eliminação do agente responsável pela afecção se segue, na grande maioria dos casos , a reparação dos danos causados e a reconstituição tecidular.

A principal finalidade do processo inflamatório é a destruição dos referidos elementos por fagocitose, pelo que todas as manifestações fisiológicas que o constituem se destinam a possibilitar a chegada das células fagocitárias existentes no sangue às zonas inflamadas, o mais rapidamente possível e em número suficiente.

Por isso se verifica inicialmente uma vasodilatação e um aumento de fluxo sanguíneo locais . Paralelamente, a permeabilidade vascular é modificada, facultando a saída de

proteínas plasmáticas e de líquido circulante para os fluidos vizinhos. Estas alteraçôes antecedem e propiciam, então, a passagem de fagócitos, especialmente neutrófilos e monócitos, para os líquidos extravasculares, onde se realiza a eliminaçâo dos agentes perturbadores.

Os processos mencionados sâo desencadeados e controlados por vários mediadores químicos libertados por células danificadas ou estimuladas, como os mastócitos, ou provenientes da activaçâo enzimática de moléculas existentes na corrente circulatória e nos fluidos intersticiais. Como exemplos deste tipo de compostos citam-se a histamina, a 5-hidroxitriptamina, as cininas plasmáticas, as prostaglandinas, os leucotrienos e alguns dos produtos que constituem o sistema do complemento. Mas a acçâo específica e o papel real desempenhado por cada um deles nâo se encontram ainda totalmente esclarecidos, certamente devido à complexidade do fenómeno.

Sabe-se, no entanto, que a maior parte possui poder vasodilatador. E se se atribui uma maior capacidade de alteraçâo da permeabilidade capilar à histamina, à 5-hidroxitriptamina, às cininas plasmáticas e às prostaglandinas, já a acçâo quimiotáctica se deve, em especial, aos leucotrienos e às proteínas do sistema do complemento (30). Além disso, as cininas e a histamina apresentam acçâo algogénica e as prostaglandinas provocam hiperalgesia.

Por outro lado, os diferentes mediadores podem interferir mutuamente nos respectivos processos de formaçâo e activaçâo, ou resultar da acçâo de outros produtos, como é o caso das cininas, cujo aparecimento se deve à activaçâo da calicreína plasmática pelo factor XII da coagulaçâo sanguínea.

Todos estes fenómenos se verificam na inflamaçâo como resposta imunitária nâo específica a agressôes de natureza diversa. A resposta imunitária específica é, pelo contrário, um mecanismo de protecçâo que pressupôe um contacto prévio com os elementos estranhos. No entanto, a reacçâo desencadeada após uma segunda exposiçâo é basicamente semelhante ao processo inespecífico, diferindo apenas

porque, além de se revestir de maior amplitude, adquire maior eficácia devido à presença de anticorpos e de linfócitos sensibilizados.

1.2.2.- FARMACOLOGIA

Devido ao carácter dúplice da fisiologia da dor, os analgésicos apresentam, como foi referido em 1.1.2, dois modos de acção distintos. Assim, os Analgésicos Opiáceos actuam fundamentalmente como agonistas dos peptídeos opióides endógenos, activando os mecanismos eferentes de inibição da mensagem nociceptiva. Poderão ser considerados analgésicos puros, já que o seu efeito farmacológico principal, forte e potente, se traduz apenas na anulação da dor.

A esta estimulação do sistema antinociceptivo contrapõe-se o papel essencialmente depressor do sistema nociceptivo apresentado pelos Analgésicos, Antipiréticos e Anti-Inflamatórios, devendo sublinhar-se que os efeitos deste tipo de compostos não se circunscrevem apenas à acção antiálgica, mais fraca que a manifestada pelos Analgésicos Opiáceos, estendendo-se também ao combate à febre e, por vezes, ao alívio de estados inflamatórios.

O mecanismo de actuação destes fármacos permaneceu praticamente desconhecido até aos finais dos anos sessenta. E é apenas a partir de 1971, quando Vane descobre o poder inibidor da síntese das prostaglandinas apresentado por alguns compostos deste grupo (31), que o seu modo de acção começa a ser progressivamente elucidado.

1.2.2.1.- AS PROSTAGLANDINAS, OS TROMBOXANOS E OS LEUCOTRIENOS (30,32,33,34)

As prostaglandinas, os tromboxanos e os leucotrienos são produtos do metabolismo dos ácidos gordos essenciais ingeridos na dieta normal, nomeadamente, e atendendo aos hábitos alimentares das populações ocidentais, do ácido araquidónico. Não existem habitualmente nos tecidos humanos,

mas todos os tipos de células contêm as enzimas e o substrato necessários para a respectiva formaçâo, que constitui um exemplo típico de uma síntese "de novo".

O ácido araquidónico (*) é um constituinte dos fosfolipídeos das membranas celulares e de outros complexos lipídicos, aos quais se encontra ligado por esterificaçâo. A estimulaçâo (física, térmica, química, hormonal ou bacteriana) dos diferentes tipos de células, e em particular dos mastócitos, provoca perturbaçôes membranares que originam, por sua vez, a activaçâo da fosfolipase A_2. Esta enzima é a responsável pela libertaçâo daquele ácido, que é entâo rapidamente transformado, por acçâo da cicloxigenase, em endoperóxidos cíclicos instáveis, as prostaglandinas G_2 e H_2. Finalmente, sâo estes compostos intermediários que originam, por acçâo de diferentes sintetases e isomerases, as prostaglandinas D_2, E_2, $F_{1\alpha}$, $F_{2\alpha}$ e I_2, e os tromboxanos A_2 e B_2. Contudo, o ácido araquidónico apresenta ainda uma outra via metabólica, pois a acçâo da lipoxigenase leva à formaçâo dos leucotrienos A_4, B_4, C_4, D_4, E_4 e F_4. A Figura 1 esquematiza a biossíntese dos diferentes tromboxanos e prostaglandinas, citando-se apenas o nome da enzima indutora da dos leucotrienos.

Correspondendo a estruturas químicas diferentes, estas três classes de autacóides nâo apresentam acçôes farmacológicas idênticas. De facto, a ciclizaçâo da cadeia carbonada induzida pela cicloxigenase confere às prostaglandinas e aos tromboxanos características completamente diversas das dos leucotrienos; por outro lado, a posterior inclusâo de um átomo de oxigénio no referido ciclo diferencia os dois grupos inicialmente mencionados.

Refere-se, ainda, que as próprias estruturas químicas de compostos pertencentes aos mesmos grupo e tipo dependem

---

(*) - Designar-se-á deste modo o ácido gordo essencial, pois no Ocidente é o precursor mais comum destes compostos e constitui, por isso, a base de grande parte dos trabalhos de investigaçâo relacionados com esta matéria .

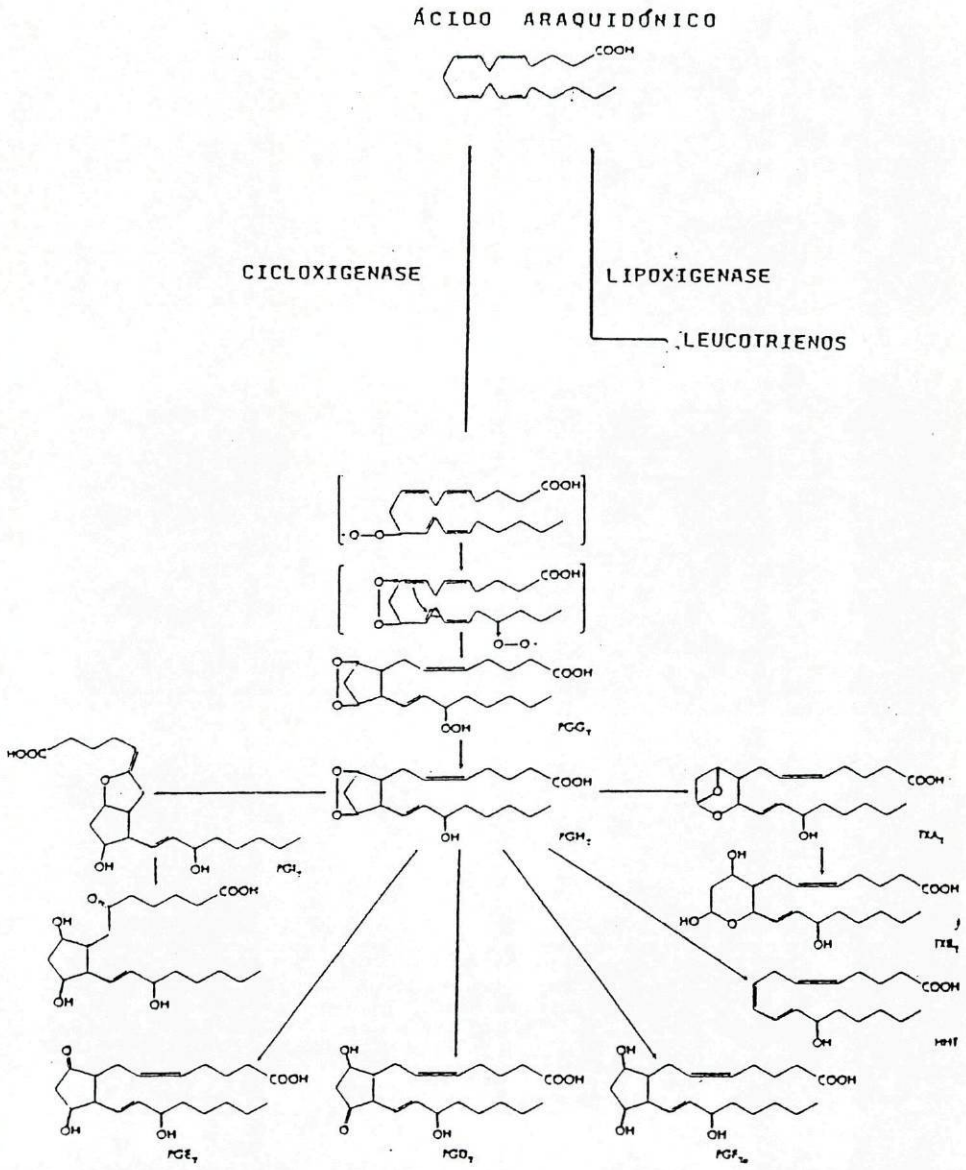


Fig. 1 - Biossíntese das Prostaglandinas e Tromboxanos.
PG - prostaglandina
TX - tromboxano
HHT - ácido 12-hidroxi-5,8,10-heptadecatrienóico

do grau de insaturaçâo do ácido precursor. Por vezes estas diferenças nâo têm significado (todas as prostaglandinas do tipo E sâo vasodilatadoras), mas noutros casos originam efeitos farmacológicos opostos: a agregaçâo das plaquetas sanguíneas é potenciada por baixas concentraçôes de prostaglandina E_2, mas é inibida pela prostaglandina E_1 (34).

De qualquer modo, os efeitos que provocam sâo inúmeros, admitindo-se que exercem funçôes reguladoras dos sistemas endócrino, reprodutor, nervoso, digestivo, cardiovascular e hemostático, ou acçôes mediadoras essenciais em estados anormais, como a resposta imunitária, a génese do influxo álgico e a regulaçâo da temperatura corporal.

Assim, é no hipotálamo que é libertada, em consequência da presença do pirógeneo endógeno na corrente sanguínea, a prostaglandina E_2, cuja acçâo principal é a modificaçâo da temperatura de referência do centro termorregulador (27).

Por outro lado, algumas das muitas acçôes fisiológicas que apresentam podem causar dor: as prostaglandinas do tipo E, além de neutralizarem o efeito vasoconstritor de várias substâncias como a noradrenalina e a angiotensina, sâo vasodilatadores potentes e de longa duraçâo da rede circulatória cutânea e superficial . Sabe-se também que a respectiva administraçâo intradérmica origina dor, sendo esse efeito de intensidade média mas duradoura ; e é igualmente conhecido o seu poder hiperálgico, pois baixam o limiar da dor nas regiôes onde sâo libertadas, tornando-as assim mais susceptíveis aos estímulos álgicos (9). Além disso, admite-se actualmente que a algogenia e a hiperalgesia nâo sâo provocadas apenas no local inflamado, mas também no sistema nervoso central , onde as prostaglandinas E_2 e $F_{2\alpha}$ actuariam como mediadoras nas sinapses nervosas (35).

Todavia, as prostaglandinas nâo actuam apenas directamente na génese do influxo álgico, pois acentuam o poder algogénico de diversas substâncias, especialmente das cininas plasmáticas. A potenciaçâo é de tal modo intensa que

a inibição da síntese daqueles compostos assegura a analgesia, mesmo quando as cininas estão a ser produzidas em quantidade apreciável (21).

O processo inflamatório é, porém, o fenómeno no qual estes três tipos de autacóides desempenham papéis de maior ou menor relevância. Os tromboxanos parecem causar apenas a agregação das plaquetas sanguíneas, mas os leucotrienos e as prostaglandinas encontram-se já directamente relacionados com as manifestações características da inflamação. Os primeiros, alterando a permeabilidade vascular, promovem a formação de edema e a passagem de leucócitos para os tecidos lesados; as segundas, além de potenciarem a exsudação plasmática devida à histamina e ao leucotrieno B_4 (36), provocam vasodilatação, aumento de temperatura, dor e hiperalgesia.

O Quadro II apresenta, em síntese, os diferentes efeitos provocados pelos leucotrienos, prostaglandinas e tromboxanos no processo inflamatório.

No entanto, pensa-se que as prostaglandinas constituem o grupo de mediadores químicos mais importante da reacção imunitária não específica. Assim, os antagonistas de mediadores como a histamina e a 5-hidroxitriptamina não são anti-inflamatórios. Pelo contrário, a inibição da síntese das prostaglandinas provoca a atenuação do processo inflamatório, muito embora se continue a verificar a formação dos leucotrienos.

1.2.2.2.- MODO DE ACÇAO

De um modo geral, os Analgésicos, Antipiréticos e Anti-Inflamatórios são inibidores da síntese das prostaglandinas e dos tromboxanos por actuarem directamente, com maior ou menor intensidade, sobre a cicloxigenase (31). Admite-se, pois, ser esta a propriedade responsável pelos seus efeitos farmacológicos.

No entanto, não se encontram ainda totalmente esclarecidas algumas questões directamente relacionadas com

QUADRO II

EFEITOS PROVOCADOS PELOS LEUCOTRIENOS, PROSTAGLANDINAS E TROMBOXANOS NO PROCESSO INFLAMATÓRIO

MEDIADORES	EFEITOS
LTC_4, LTD_4 e LTE_4	Exsudação plasmática Contracção da musculatura lisa Broncoconstrição
LTB_4	Exsudação plasmática Quimiotaxia
TXA_4	Agregação plaquetária
PG_2	Vasodilatação Algesia e hiperalgesia Potenciação da acção álgica das cininas Potenciação da exsudação plasmática originada pela histamina e pelo LTB_4

LT = Leucotrieno
TX = Tromboxano
PG = Prostaglandina

o verdadeiro mecanismo de actuaçâo destes compostos. Assim, embora à grande diversidade de estruturas químicas corresponda uma certa homogeneidade de acções farmacológicas, existem diferenças reais na natureza do efeito provocado: alguns subgrupos químicos sâo predominantemente analgésicos ou antipiréticos, ao passo que outros sâo essencialmente anti-inflamatórios. E até mesmo moléculas estruturalmente semelhantes apresentam intensidades de acção diferentes, variando estas ainda com o tipo de tecido afectado.

De modo a explicar esta relativa disparidade de efeitos, e independentemente de qualquer variaçâo pontual na estrutura das iso-enzimas, supõe-se que a interacção destes compostos com os respectivos receptores requer, apenas, uma pequena especificidade química. Além disso, pensa-se também que, devido às diferenças de conformaçâo molecular, os fármacos dos diversos subgrupos apresentam afinidade para diferentes locais da molécula enzimática, originando então vários tipos de inactivaçâo da cicloxigenase (37).

Perante esta diversidade de comportamentos, é apenas o modo de actuaçâo dos Analgésicos, Antipiréticos e Anti-Inflamatórios de caracter ácido (ácidos arilantranílicos e derivados dos ácidos salicílico ou arilalcanóicos) que se encontra parcialmente fundamentado.

De facto, estes compostos sâo inibidores potentes da síntese das prostaglandinas e dos tromboxanos, acumulando-se nos tecidos inflamados. Por isso, as acções analgésica e anti-inflamatória apresentadas parecem ser predominantemente de origem periférica, o que é ainda confirmado pelo facto de as doses terapêuticas convencionais originarem níveis de fármaco muito baixos no sistema nervoso central (38). Todavia, é aceite por alguns autores que, além da acçâo antipirética, também aí provocam analgesia (22).

Mas estes compostos possuem também uma elevada afinidade para algumas estruturas orgânicas, como a medula óssea, o sangue, o rim, o fígado e a mucosa gastro-intestinal. E é nestes locais que, como será discutido em 1.4.3, se manifestam grande parte dos respectivos efeitos secundários (39).

Pelo contrário, os fármacos "básicos" sâo inibidores da síntese das prostaglandinas e dos tromboxanos apenas em concentraçôes elevadas e que nâo se atingem após a administraçâo das doses terapêuticas no homem. Apresentam ainda uma grande homogeneidade de distribuiçâo nos líquidos orgânicos, o que exclui, à partida, uma possível acumulaçâo nas zonas onde se manifestam as respectivas acçôes farmacológicas (40). Nestas circunstâncias, pensa-se que os derivados da anilina, que nâo sâo anti-inflamatórios, possuem acçâo analgésica e antipirética devido a interacçôes específicas ocorridas no sistema nervoso central, e especialmente no hipotálamo (27).

De igual modo propôs-se também um mecanismo de actuaçâo semelhante para os derivados pirazólicos "básicos", já que o seu poder inibidor da cicloxigenase cerebral é superior ao manifestado em qualquer outro tipo de tecido (41). Esta hipótese é parcialmente confirmada pelos ensaios "in vitro" e "in vivo" realizados por Brune et al., que determinaram, em relaçâo a vários derivados pirazólicos, as concentraçôes inibitórias da síntese das prostaglandinas em macrófagos (42) e as quantidades necessárias para impedir a formaçâo de edema, em ratinhos, após a administraçâo de carragenina (43).

Os resultados da primeira experiência foram praticamente idênticos aos obtidos com microssomas cerebrais, e verificou-se também que o grau de inibiçâo era proporcional às concentraçôes de fármaco ensaiadas. Mas os valores inibitórios "in vivo" eram, uma vez mais, superiores (cerca de 10 vezes) às concentraçôes plasmáticas resultantes da administraçâo de doses terapêuticas.

Recentemente, demonstrou-se que a dipirona deprime a actividade neuronal talâmica (44) e activa os mecanismos descendentes antinociceptivos desencadeados a partir da substância cinzenta periaquedutal (45,46). Deste modo, supôe-se que os efeitos manifestados por estes fármacos nâo se devem circunscrever apenas à inibiçâo da síntese das prostaglandinas, existindo certamente outro mecanismo, independente ou conjugado, que os explique (43).

1.3.- OS DERIVADOS PIRAZóLICOS

1.3.1.- CLASSIFICAÇÃO

Constituindo um dos cinco subgrupos químicos em que se dividem os Analgésicos, Antipiréticos e Anti-Inflamatórios, os derivados pirazólicos subdividem-se, de acordo com a configuraçâo do respectivo núcleo, em duas grandes categorias, às quais correspondem, também, acções farmacológicas e usos terapêuticos diferentes. Assim, os compostos resultantes da introdução de diferentes radicais no anel pirazolínico sâo essencialmente analgésicos e antipiréticos, ao passo que os derivados do anel pirazolidínico apresentam forte acção anti-inflamatória (13).

Como exemplos de compostos pertencentes ao primeiro grupo citam-se a antipirina ou fenazona, o piramido ou amidopirina, a melubrina, a propifenazona, a isopirina e a dipirona, podendo esta última apresentar-se sob a forma de sal de sódio ou de magnésio. A fenilbutazona e a oxifenbutazona sâo os principais fármacos obtidos a partir do núcleo pirazolidínico.

No Quadro III encontram-se representados os compostos referidos.

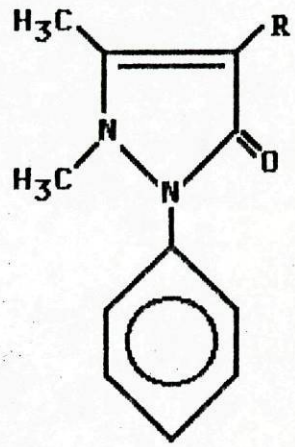
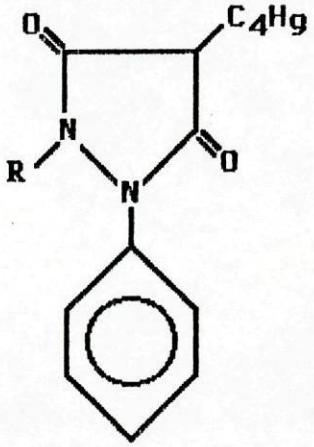
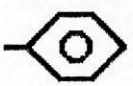
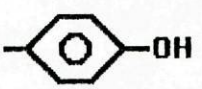
1.3.2.- USO TERAPEUTICO

Ao contrário dos Analgésicos Opiáceos, cujos efeitos sâo potentes no alívio de qualquer tipo de dor e independentes da intensidade ou origem da mesma , os Analgésicos, Antipiréticos e Anti-Inflamatórios sâo particularmente eficazes em dores moderadas e de origem somática, quer ao nível da pele, quer das articulações e músculos esqueléticos (47).

Mas os compostos pirazolónicos, aos quais será circunscrita esta dicussão, apresentam características farmacodinâmicas e farmacológicas próprias que os diferenciam dos restantes subgrupos. De facto, sâo inibidores da síntese

QUADRO III

DERIVADOS PIRAZÓLICOS UTILIZADOS NA PRÁTICA CLÍNICA

DERIVADOS DO NÚCLEO PIRAZOLÍNICO		DERIVADOS DO NÚCLEO PIRAZOLIDÍNICO	
			
R	**NOME**	**R**	**NOME**
$-H$	Antipirina		
$-N(CH_3)(CH_3)$	Piramido	$-H$	Mofebutazona
$-N(CH_3)(CH_2SO_3Na)$	Dipirona		Fenilbutazona
$-CH(CH_3)(CH_3)$	Propifenazona		Oxifenbutazona
$-NH-CH(CH_3)(CH_3)$	Isopirina		
$-NH-CH_2SO_3Na$	Melubrina		

das prostaglandinas e dos tromboxanos apenas em concentrações elevadas, e a anulação da dor proveniente dos estados inflamatórios é conseguida apenas à custa de grandes quantidades de fármaco. Além disso, as doses necessárias para eliminar o edema provocado pela administração parentérica de carragenina, em animais de experiência, são também elevadas. Contudo, são particularmente eficazes na anulação de dores de natureza espasmódica e no combate à febre (40).

Esta diferença de efeitos encontra-se esquematizada no Quadro IV, onde se indicam, para compostos-tipo de três subgrupos químicos dos Analgésicos, Antipiréticos e Anti-Inflamatórios, as concentrações inibitórias da síntese das prostaglandinas "in vitro". Referem-se, ainda, as doses necessárias para, em ensaios com animais, impedir o aparecimento do edema provocado pela carragenina, anular a dor de natureza inflamatória e bloquear a sensação dolorosa de origem espasmódica. Finalmente, citam-se também as doses mínimas que provocam acção antipirética no Homem.

O piramido não apresenta, em experiências "in vivo", uma acção febrífuga superior às manifestadas pelo ácido acetilsalicílico e pelo paracetamol (48). Os ensaios clínicos realizados com dipirona demonstram, porém, que o abaixamento da temperatura ocorre rapidamente, mantendo-se ainda ao fim de 5 horas (49). A acção deste fármaco foi recentemente confirmada num ensaio de dupla ocultação realizado em doentes com febre tifóide. Comparando a dipirona com o paracetamol, os autores verificaram que o efeito provocado por aquela se manifestava mais rapidamente e durante um período de tempo mais longo (50).

Devido à intensa analgesia provocada em processos espasmolíticos, os derivados pirazolónicos são particularmente aconselhados no tratamento de cólicas dos aparelhos digestivo, genital feminino e renal. Miralles et al. verificaram a eficácia da dipirona neste último tipo de afecção (51), e Lloret et al. demonstraram que os efeitos obtidos após a administração de doses elevadas do fármaco simples ou associado a compostos espasmolíticos eram idênticos (52).

QUADRO IV

COMPARAÇÃO DAS ACÇÕES FARMACODINÂMICAS DE ANALGÉSICOS, ANTIPIRÉTICOS E ANTI-INFLAMATÓRIOS

	ÁCIDO ACETILSALICÍLICO	DIPIRONA	PARACETAMOL
CI_{50} da síntese das prostaglandinas *in vitro*	10^{-5} mole/L	10^{-4} mole/L	10^{-3} mole/L
Inibição do edema provocado pela carragenina (a)	90 mg/Kg	> 150 mg/Kg	> 150 mg/Kg
Analgesia na dor inflamatória (a)	50 mg/Kg	> 400 mg/Kg	> 400 mg/Kg
Analgesia na dor espasmódica (a)	60 mg/Kg	10 mg/Kg	> 200 mg/Kg
Acção antipirética (b)	10 mg/Kg	5 mg/Kg	10 mg/Kg

(a) - Doses mínimas efectivas em ensaios em animais.

(b) - Doses mínimas efectivas em ensaios no Homem.

As pirazolonas sâo também utilizadas no tratamento de quase todos os fenómenos álgicos, como os processos infecciosos agudos, as cefaleias, as odontalgias ou as dores artríticas; sâo, ainda, eficazes no tratamento da dor em doentes oncológicos (53). Além disso, comprovou-se já que a dipirona, cuja relaçâo entre a dose e o efeito analgésico foi estudada por Rohdewald e Neddermann (54), pode ser utilizada com eficácia durante e após a cateterizaçâo percutânea da artéria braquial (55) ou no período pós-operatório (56), apresentando até uma acçâo analgésica superior à do ácido acetilsalicílico e do paracetamol na episiotomia (57).

Finalmente, refere-se ainda que parece nâo existir qualquer diferença entre os efeitos terapêuticos desencadeados pelos sais de sódio e de magnésio da dipirona (58).

1.4.- A DIPIRONA

1.4.1.- FORMAS FARMACEUTICAS. ASSOCIAÇÕES MEDICAMENTOSAS. DOSAGEM.

Os derivados pirazolónicos sâo compostos cuja eficácia terapêutica se encontra sobejamente confirmada, pois alguns deles sâo utilizados como analgésicos e antipiréticos há pelo menos um século.

Assim, já o Nouveau Formulaire Magistral, de 1900 (59), se refere ao piramido e à antipirina, da qual apresenta fórmulas para uso oral, como hóstias, pós, poções e elixires, ou para aplicaçâo hipodérmica. Algumas das formas sólidas citadas sâo compostas, encontrando-se a antipirina associada a fármacos de acção farmacológica semelhante, como a fenacetina ou a acetanilida, ou a estimulantes do sistema nervoso central, como a cafeína.

Vinte anos depois, as mesmas pirazolonas sâo também referidas no Formulaire Thérapeutique (60), mas descrevem-se já fórmulas para aplicaçâo rectal e cutânea, e associações medicamentosas com antitússicos, como a codeína e o bálsamo do Peru, ou com espasmolíticos, como o xarope de beladona.

Curiosamente, a consulta a quaisquer formulários ou índices de medicamentos actuais permite concluir que as pirazolonas sâo administradas por via oral, rectal e parentérica. E as formas farmacêuticas compostas sâo, também, semelhantes às anteriormente mencionadas, contendo habitualmente:

- analgésicos, antipiréticos e anti-inflamatórios (incluindo outras pirazolonas e derivados pirazolidínicos);
- hipnóticos;
- anti-histamínicos;
- antitússicos;
- estimulantes do sistema nervoso central;
- espasmolíticos.

Em relaçâo à dipirona salienta-se, pela importância

terapêutica que apresenta, a associação com a butilescopolamina, cujo poder espasmolítico é coadjuvado pela acção particularmente eficaz da pirazolona no alívio da dor de natureza espasmódica.

As formas farmacêuticas simples contendo dipirona e destinadas a administração oral são comprimidos doseados a 300 e 500 mg, correspondendo a primeira à quantidade indicada no Formulário Nacional de Medicamentos (20).

Para aplicação parentérica, intramuscular ou endovenosa, utiliza-se a respectiva solução a 50% acondicionada em ampolas de 2 ml (também referida naquele Formulário) e, mais raramente, de 5 ml, ou seja, em doses superiores às administradas por via oral.

Os supositórios para aplicação em adultos contêm 500 e 1000 mg de dipirona, sendo de 300 e 150 mg as doses contidas nos supositórios infantis e para lactentes, respectivamente.

As diferentes apresentações são medicamentos de acção imediata. Todavia, a dipirona pode ser veiculada em formas farmacêuticas de acção prolongada, o que é comprovado pelos trabalhos de Prista et al. (61,62) realizados com supositórios e comprimidos.

A associação medicamentosa butilescopolamina/dipirona é administrada por aquelas três vias, contendo as drageias 10 mg/250 mg, os supositórios para adultos 10 mg/1000 mg e os supositórios infantis 7,5 mg/300 mg. Por via intramuscular e endovenosa as doses são também maiores que as utilizadas por via oral ou rectal: 20 mg de espasmolítico e 2500 mg de pirazolona em 5 ml de veículo aquoso. É esta a única forma de apresentação do medicamento que é citada no Formulário Nacional de Medicamentos.

A dose diária de dipirona varia entre 1 e 3 g e é habitualmente administrada em três fracções (63). A dose mínima letal corresponde a 5 g, mas a intoxicação aguda raramente provoca a morte (63,64).

1.4.2.- FARMACOCINÉTICA

Alguns dos primeiros trabalhos respeitantes ao comportamento farmacocinético da dipirona foram executados por processos radiológicos. Assim, Christ et al. (65), ensaiando dipirona-[$^{14}C_3$] em humanos, verificaram que o fármaco é rápida e totalmente absorvido pela mucosa gastro-intestinal, atingindo concentraçôes séricas máximas (13,5 $\mu g.ml^{-1}$) 30 a 90 minutos após a administraçâo. Além disso, distribui-se uniformemente nos diferentes tecidos e órgâos e apresenta valores de tempos de semi-vida sérica e urinária de 7 e 10 horas, respectivamente. A excreçâo processa-se essencialmente por via urinária (cerca de 90%).

No entanto, os ensaios deste tipo apresentam, à partida, uma limitaçâo significativa, já que nâo possibilitam o estudo dos diferentes metabolitos, farmacologicamente activos ou nâo, originados pelo composto. Este condicionalismo é ainda maior quando os referidos métodos sâo aplicados a fármacos instáveis e facilmente decomponíveis, como o ácido acetilsalicílico e, mais concretamente, a dipirona.

De facto, este composto apresenta características químicas próprias, pois se a introduçâo do radical sulfónico lhe confere maior solubilidade em água, também a susceptibilidade ao ataque hidrolítico se encontra agravada.

Nestas circunstâncias, a descriçâo do comportamento farmacocinético da dipirona principiará, ao contrário do que é habitual, pela indicaçâo da respectiva metabolizaçâo, expondo-se em seguida a absorçâo, a distribuiçâo e a eliminaçâo.

1.4.2.1.- METABOLIZAÇÃO

A primeira transformaçâo que a dipirona sofre nâo corresponde a uma metabolizaçâo "activa", devida a qualquer fenómeno enzimático, mas sim a um processo hidrolítico "passivo", ocorrido apenas porque o composto se encontra dissolvido nos fluidos orgânicos. Em consequência deste

fenómeno, libertam-se hidroximetilsulfonato de sódio e 4-metilaminoantipirina que é, como se pode ver na Figura 2, o primeiro metabolito activo da dipirona (*).

Posteriormente, a 4-metilaminoantipirina origina, por N-desmetilação, 4-aminoantipirina, molécula de polaridade mais acentuada cuja formação corresponde já a uma característica reacção da fase I da biotransformação da dipirona. A 4-aminoantipirina é depois acetilada, surgindo o primeiro composto inactivo (40) desta cadeia, a 4-acetilaminoantipirina.

Todavia, no decorrer da metabolização da dipirona forma-se ainda 4-formilaminoantipirina, também desprovida de acção farmacológica (40), e que se julgava resultar da formilação da 4-aminoantipirina por um mecanismo de conjugação idêntico ao da acetilação. Noda et al. (66) provaram, no entanto, que a introdução do radical formilo se devia, não a uma reacção de adição característica da fase II do metabolismo como até aí se pensava, mas sim, a um processo incompleto de N-desmetilação da 4-metilaminoantipirina.

Admite-se, finalmente, que a 4-aminoantipirina possa originar pequenas quantidades de 4-hidroxiantipirina. No entanto, não existem ainda dados suficientes e conclusivos acerca do assunto (14).

De modo a adaptar os resultados radiológicos a uma análise mais correcta das características farmacocinéticas da dipirona, Volz e Kellner (67) determinaram o contributo percentual dos sete metabolitos que separaram para a radioactividade total medida durante o ensaio. Verificaram, então, que a 4-metilaminoantipirina, a 4-aminoantipirina, a 4-formilaminoantirina e a 4-acetilaminoantipirina representavam 77% da radioactividade total do soro durante as primeiras 8 horas e 66% da radioactividade total da urina nas primeiras 24 horas.

(*) - A hidrólise da dipirona será discutida com mais pormenor nos capítulos seguintes, pois constitui um dos assuntos que foi objecto de estudo neste trabalho.

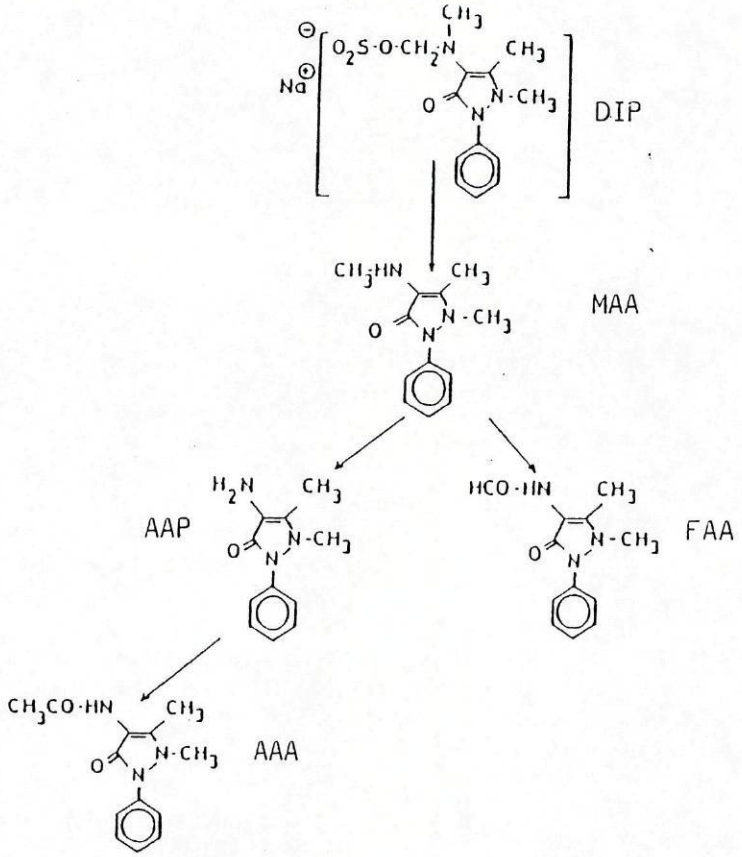


Fig. 2 - Metabolizaçâo da dipirona
DIP - dipirona
MAA - 4-metilaminoantipirina
AAP - 4-aminoantipirina
FAA - 4-formilaminoantipirina
AAA - 4-acetilaminoantipirina

Os quatro metabolitos encontram-se perfeitamente identificados e caracterizados, e são referidos na literatura como os principais produtos da biotransformação da dipirona (63). De igual modo, o estudo da variação das respectivas concentrações sanguíneas em função do tempo constituiu o objectivo de vários trabalhos de investigação, permitindo definir as características de absorção, distribuição e eliminação daquele composto, e concluir que o respectivo comportamento farmacocinético obedece a um modelo de 1 compartimento (68).

1.4.2.2.- ABSORÇÃO E DISTRIBUIÇÃO

Após administração oral, a dipirona não é detectada na corrente circulatória, admitindo-se que sofra um intenso efeito pré-sistémico de primeira passagem. Por isso, alguns autores afirmam que a absorção é precedida pela hidrólise completa do composto, sendo então a 4-metilaminoantipirina rápida e totalmente absorvida pela mucosa gastro-intestinal.

Deste modo, é este o metabolito predominante durante as 6 horas subsequentes à ingestão de 1 grama de dipirona, considerada a dose diária habitual. Seguindo uma cinética de absorção de ordem 1 (68), origina níveis séricos máximos entre 8 e 15 $\mu g.ml^{-1}$ ao fim de 30 a 90 minutos (64,68,69,70). Paralelamente, as concentrações dos outros metabolitos vão também aumentando, embora nunca ultrapassem valores compreendidos entre 2 e 4 $\mu g.ml^{-1}$. Notam-se, no entanto, variações interindividuais significativas nos níveis de 4-aminoantipirina e 4-acetilaminoantipirina.

Mas os valores dos tempos de semi-vida biológica ($T1/2, \beta$) dos quatro compostos, calculados por Sistovaris et al. (64), são significativamente diferentes. De facto, para a 4-metilaminoantipirina e a 4-aminoantipirina são cerca de 3 e 6 horas, respectivamente, ao passo que para a 4-acetilaminoantipirina e a 4-formilaminoantipirina apresentam valores semelhantes entre si e próximos de 10 horas.

Nestas circunstâncias, são estes os metabolitos que,

8 a 10 horas após a administraçâo do fármaco, surgem em maior quantidade na corrente circulatória.

Em relaçâo às características de distribuiçâo, os resultados obtidos nos diferentes trabalhos confirmam a conclusâo de Christ et al.: os 4 metabolitos distribuem-se de um modo homogéneo e regular pelos diferentes órgâos e tecidos humanos (40) e apresentam uma reduzida capacidade de ligaçâo às proteínas plasmáticas e tecidulares.

A administraçâo parentérica de dipirona origina concentraçôes sanguíneas diferentes das anteriormente referidas. Weiss et al. (70), estudando em paralelo o comportamento farmacocinético daquele fármaco após aplicaçâo intramuscular e oral, verificaram que os níveis plasmáticos máximos de 4-metilaminoantipirina, alcançados em ambas as situaçôes uma hora após a administraçâo, eram significativamente maiores no primeiro caso (12 $\mu g.ml^{-1}$ e 8 $\mu g.ml^{-1}$, respectivamente). No entanto, a partir da segunda hora nâo se notava qualquer diferença entre as duas formas de aplicaçâo.

Também neste estudo nâo se detectou dipirona na corrente circulatória, o que poderá ser explicado pelos trabalhos de Tamura et al. (71). Estes autores, depois de administrarem soluçâo a 50% daquele fármaco por via intramuscular em ratos, concluiram que a variaçâo da concentraçâo em dipirona (como molécula íntegra) no músculo obedecia a uma cinética de ordem 1, cujo tempo de semi-vida era de 7,9 minutos. Deste modo, se a remoçâo do fármaco é extremamente rápida, também os níveis sanguíneos máximos sâo maiores; no entanto, a elevada susceptibilidade à hidrólise provoca a decomposiçâo completa da dipirona, mesmo após administraçâo intramuscular.

1.4.2.3.- ELIMINAÇÃO E EXCREÇÃO

Tal como foi anteriormente referido a propósito dos ensaios radiológicos executados por Christ et al. (65), a dipirona é quase totalmente excretada por via urinária. Mas, dos diferentes produtos resultantes da sua biotransformação, são os metabolitos inactivos que apresentam tempos de semi-vida maiores e próximos de 10 horas. Por isso, ao fim de 24 horas, cerca de 70% do fármaco encontra-se já eliminado (63), essencialmente sob a forma de 4-acetilaminoantipirina e 4-formilaminoantipirina (64), surgindo a 4-metilaminoantipirina em quantidades insignificantes (68).

A excreção dos fármacos processa-se também através da glândula mamária activa. Como os compostos analgésicos e antipiréticos são frequentemente utilizados no período pós-parto, Zylber-Katz et al. (72) avaliaram os teores dos diferentes metabolitos da dipirona no leite e no plasma de lactantes às quais havia sido administrado 1 grama de fármaco. Verificaram então que, para os metabolitos inactivos, as razões entre as concentrações láctica e plasmática eram praticamente iguais à unidade. Pelo contrário, a 4-metilaminoantipirina e a 4-aminoantipirina, moléculas de características mais alcalinas, apareciam em maior quantidade no leite, apresentando as referidas relações os valores de 1,37 e 1,15, respectivamente.

Finalmente, Flusser et al. (73) compararam os parâmetros farmacocinéticos dos diferentes metabolitos da dipirona após administração em jejum ou juntamente com alimentos. Embora a concentração plasmática máxima de 4-metilaminoantipirina fosse alcançada mais rapidamente quando o fármaco era ingerido em jejum, não surgiam quaisquer alterações dos valores das áreas sob a curva, das concentrações plasmáticas máximas e das velocidades de eliminação. Concluiram, pois, que a absorção da dipirona não é afectada pela ingestão simultânea de alimentos.

1.4.2.4.- CONDICIONALISMOS GENÉTICOS DA METABOLIZAÇÃO DA DIPIRONA

Como acontece com muitos outros compostos utilizados na terapêutica, a metabolização da dipirona apresenta variações interindividuais significativas.

Levy et al. (74), ao avaliarem as propriedades farmacocinéticas do fármaco, verificaram que os níveis séricos de 4-metilaminoantipirina e 4-formilaminoantipirina eram semelhantes, obtendo valores de concentrações máximas e de tempos de semi-vida concordantes em todos os ensaios. Pelo contrário, a 4-aminoantipirina e a 4-acetilaminoantipirina não apresentavam aquela homogeneidade de características, notando-se variações significativas nas concentrações máximas de ambas, nos intervalos de tempo ao fim dos quais eram atingidas e, também, nos respectivos valores de tempo de semi-vida.

A análise dos resultados permitiu dividir o grupo de voluntários em dois subgrupos numericamente iguais e caracterizados por diferentes actividades acetilantes hepáticas. Assim, e à semelhança do que sucede com a isoniazida, a N-acetiltransferase dos acetiladores rápidos apresenta uma capacidade de reacção elevada, transformando prontamente a 4-aminoantipirina no respectivo acetilderivado. Já a menor quantidade de acetilcoenzima A existente nos acetiladores lentos confere menor reactividade à N-acetiltransferase, originando então maiores níveis máximos de 4-aminoantipirina, que são alcançados mais tardiamente e cujo decréscimo é caracterizado por um tempo de semi-vida maior.

Perante os resultados do estudo, em que até a relação entre acetiladores rápidos e lentos é coincidente com a frequência de distribuição das duas variantes em grande parte dos grupos humanos, os referidos autores propuseram a inclusão da dipirona na lista de fármacos (como a isoniazida, a cafeína ou a sulfametazina) utilizados no despiste dos diferentes fenótipos da acetilação.

1.4.2.5.- A METABOLIZAÇÃO DOS DERIVADOS PIRAZOLÓNICOS

Embora sejam compostos com grandes afinidades estruturais, os derivados pirazolónicos não apresentam cadeias metabólicas semelhantes, podendo ser divididos em dois grandes grupos.

Assim, a dipirona e os restantes compostos que possuem o grupo amina na posição 4 são metabolizados por processos simples, em que as reacções da fase I se traduzem, em regra, por N-desmetilações ocorridas naquele radical. Deste modo, alguns dos metabolitos iniciais são também produzidos no decorrer da biotransformação dos outros compostos do mesmo grupo (as primeiras reacções metabólicas do piramido (75) e da isopirina (14) originam, respectivamente, 4-metilaminoantipirina e 4-aminoantipirina), provocando o aparecimento de produtos de conjugação idênticos (os quatro metabolitos principais da dipirona são também metabolitos do piramido).

Pelo contrário, as vias metabólicas da antipirina e das outras pirazolonas que não apresentam o grupo amina na posição 4 são mais complexas, processando-se em regra através da introdução de radicais hidroxilo na molécula, de modo a permitir a posterior formação de compostos conjugados com o ácido glicurónico (14). Devido ao carácter predominantemente oxidativo da metabolização da antipirina e ao facto de ser rapidamente absorvida e uniformemente distribuída, não se ligando praticamente às proteínas plasmáticas e tecidulares, é utilizada na avaliação da capacidade hepática de metabolização oxidativa (76,77,78).

1.4.3.- EFEITOS SECUNDARIOS

Os Analgésicos, Antipiréticos e Anti-Inflamatórios constituem um grupo de fármacos de fácil aquisição e elevado consumo. Por isso, os efeitos secundários que provocam devem ser objecto de estudos cuidadosos, de modo a permitir um melhor esclarecimento dos profissionais da Saúde e dos doentes em relação aos potenciais perigos da sua utilização.

A recente introdução de uma advertência ao consumidor nos rótulos dos anti-inflamatórios vendidos nos Estados Unidos da América constitui, pois, uma das inúmeras vias possíveis para a concretização desse objectivo (79). Deste modo, é possível minimizar o carácter especulativo de algumas notícias surgidas na Imprensa e que, embora cientificamente fundamentadas, não deixam de apresentar um certo cariz sensacionalista (80).

Alguns dos efeitos secundários que provocam podem ser atribuídos ao poder inibidor da síntese das prostaglandinas e dos tromboxanos: são, de um modo geral, bloqueadores da agregação das plaquetas sanguíneas e provocam, especialmente os compostos de carácter ácido, perturbações gastro-intestinais de intensidade variável (81). Além disso, e à semelhança de outros fármacos, são responsáveis por reacções alérgicas de intensidade diversa, como as erupções cutâneas ou o choque anafilático. É ainda conhecida a asma brônquica desencadeada em doentes hipersensíveis a este grupo de medicamentos(82). Também os indivíduos deficientes em desidrogenase da G-6-P constituem um grupo de risco, desenvolvendo frequentemente anemias hemolíticas após a ingestão deste tipo de compostos(83). Paralelamente, os derivados da anilina e do ácido salicílico originam disfunções renais (84) e estes últimos são também hepatotóxicos (85).

De igual modo, também às pirazolonas se atribui a capacidade de formação de nitrosaminas (86) por reagirem, em meio ácido forte, com o ácido nitroso proveniente dos nitritos existentes nos alimentos ou na saliva humana. Esta propriedade, que é apresentada também por outros fármacos contendo aminas secundárias ou terciárias, foi demonstrada "in vitro" para a dipirona (87).

Mas é aos derivados pirazolónicos que se associam riscos superiores aos dos outros analgésicos e antipiréticos, pois causariam agranulocitose e anemia aplástica. E à incidência deste tipo de anomalias foram atribuídos valores de tal modo elevados, que estes fármacos acabaram por ser retirados do mercado em alguns países, como nos Estados Unidos

da América, em 1977, na Grã-Bretanha e na Suécia (88).

No entanto, e como será discutido em 1.4.3.2.2., os estudos epidemiológicos mais recentes parecem desmentir os valores de risco anteriormente calculados, embora confirmem uma inequívoca relação entre o aparecimento de agranulocitose e o consumo de um daqueles compostos: a dipirona.

Os efeitos secundários apresentados por alguns dos Analgésicos, Antipiréticos e Anti-Inflamatórios encontram-se esquematizados no Quadro V, que contém também as respectivas incidências.

1.4.3.1.- INIBIÇÃO DA AGREGAÇÃO PLAQUETARIA E IRRITAÇÃO DA MUCOSA GASTRO-INTESTINAL.

Os Analgésicos, Antipiréticos e Anti-Inflamatórios são inibidores da agregação plaquetária. No entanto, este efeito parece depender da natureza química do composto, notando-se, uma vez mais e como se referiu em 1.2.2.2., diferenças significativas entre os vários subgrupos químicos.

Assim, os compostos de carácter ácido provocam um bloqueio irreversível da cicloxigenase existente nas plaquetas sanguíneas e, consequentemente, uma duração de acção maior (40). Pelo contrário, a inibição causada pelos derivados pirazolónicos é reversível e, por isso, mais fugaz (89).

Também a irritação causada na mucosa gastro-intestinal varia consoante a natureza química dos analgésicos. De um modo geral, é aos compostos ácidos que se atribui maior poder indutor de lesões e hemorragias gástricas, certamente devido ao efeito de acumulação intracelular resultante do carácter ácido das moléculas e das diferenças de pH existentes entre o lúmen gástrico e os líquidos orgânicos (9). Além disso, é também conhecido o papel desempenhado pelas prostaglandinas na activação dos mecanismos de secreção do muco protector das células gástricas (90). E a ausência de efeitos manifestada pelos derivados pirazolónicos, que não apresentam afinidade particular para esta mucosa, parece comprovar aquela hipótese (40).

QUADRO V

EFEITOS SECUNDÁRIOS DE ANALGÉSICOS, ANTIPIRÉTICOS E ANTI-INFLAMATÓRIOS

FREQUÊNCIA (%)	ÁCIDO ACETILSALICÍLICO	DIPIRONA	PARACETAMOL
> 10	Perturbações gastro-intestinais	—	—
0,01 a 10	Erupções cutâneas	Erupções cutâneas	Erupções cutâneas
< 0,01	Perturbações renais Choque anafilático Ulceração gastro-intestinal	Agranulocitose Choque anafilático	Lesões hepáticas Choque anafilático

1.4.3.2.- REACÇÕES IMUNITARIAS.

1.4.3.2.1.- MANIFESTAÇÕES CUTÂNEAS E ASMA BRÔNQUICA.

Os derivados pirazolónicos podem também originar reacções imunológicas diversas, como eritemas multiformes(91), erupções cutâneas fixas (92) ou manifestações asmáticas em indivíduos que apresentam hipersensibilidade aos analgésicos e antipiréticos (40). Estes ataques de asma podem ser desencadeados, em parte, por uma síntese exagerada de leucotrienos provocada, por sua vez, pela acumulação de ácido araquidónico não biotransformado devido à inibição da cicloxigenase (82). A dipirona apresenta, ainda, a capacidade de induzir tolerância cruzada em doentes deste tipo, após a administração de pequenas quantidades do agente sensibilizador (ácido acetilsalicílico) (93).

1.4.3.2.2.- AGRANULOCITOSE E ANEMIA APLASTICA.

Aos derivados pirazolónicos tem sido atribuída uma elevada capacidade indutora da agranulocitose e da anemia aplástica, pensando-se inicialmente que seriam provocadas pela acção directa daqueles fármacos na produção dos elementos figurados do sangue na medula óssea (94).

No entanto, admite-se actualmente que aquelas doenças se revestem de carácter imunológico, pois obrigam a um contacto prévio com o fármaco sensibilizador (95). De facto, o desencadear de processos daquele tipo em indivíduos que nunca os haviam manifestado, e ocorridos após a administração de sangue de doentes sensibilizados, parece confirmar o carácter destrutivo dos leucócitos e das hemácias já formados, e não uma eventual inibição da sua formação (96).

Os primeiros estudos em que se procurou determinar a incidência da agranulocitose provocada pelos derivados pirazolónicos foram realizados por Discombe em 1952 (97) e por Huguley em 1964 (96). Nos artigos significativamente intitulados "Agranulocytosis caused by amidopyrine: an

avoidable cause of death" e "Agranulocytosis induced by dipyrone, a hazardous antipyretic and analgesic", aqueles autores afirmam que 0,86% e 0,79%, respectivamente, dos doentes aos quais havia sido administrado piramido durante 14 ou mais dias apresentavam a referida doença, admitindo ainda Huguley que o risco era extensivo à dipirona.

Posteriormente, Böttiger e Westerholm, em 1973, obtêm um valor de risco de 1:3000 (98). Mas, em 1975, Sollero situa-o em 1:500000 (99), Ovtcharov et al.,em 1978, atribuem-lhe o valor de 1:200000 (100) e Varonos et al., em 1979, admitem ser próximo de 1:133000 (101).

Perante esta disparidade de resultados, iniciou-se em 1980 um estudo epidemiológico internacional, financiado pelos Laboratórios Hoechst, cuja finalidade era relacionar, com segurança, o aparecimento da agranulocitose e da anemia aplástica com a utilizaçâo de medicamentos analgésicos, antipiréticos e anti-inflamatórios (102).

Atendendo à raridade deste tipo de doenças hematológicas e de modo a aumentar o significado estatístico dos resultados, nele participam cidades ou regiôes de diversos países como Israel, a Espanha (Barcelona), a República Federal da Alemanha (Ulm e Berlim Ocidental), a Itália (Milâo), a Hungria (Budapeste), a Bulgária (Sofia) e a Suécia (Estocolmo), prevendo-se ainda a inclusâo dos Estados Unidos da América (103). A extensâo a estes dois últimos países, onde as pirazolonas se encontram retiradas do mercado, permite avaliar mais correctamente a relaçâo entre o uso de outros analgésicos e as referidas anomalias.

A metodologia adoptada foi retrospectiva, de caso--controlo, e os autores procuraram identificar todos os casos de agranulocitose e de anemia aplástica ocorridos naquelas regiôes, abrangendo assim um total de 22,3 milhôes de indivíduos.

Os resultados preliminares respeitantes aos 4 primeiros anos foram publicados em finais de 1986 (104), quando já haviam sido detectados 422 casos de agranulocitose e 168 de anemia aplástica nos 300 hospitais das diferentes regiôes

dos 7 países envolvidos no projecto.

Os autores concluem que, em algumas zonas, o aparecimento de agranulocitose está directamente relacionado com o uso da dipirona. Verifica-se, de facto, e apenas para o caso deste fármaco, uma grande variaçâo regional nos valores dos riscos relativos calculados: 23,7 para zonas de maior incidência, como Berlim Ocidental e Barcelona, e apenas 0,8 para outras, como Israel e Budapeste. De qualquer modo, o risco absoluto calculado a partir do valor de risco relativo maior é, apenas, de 1,1:1000000, significativamente inferior a todos os valores anteriormente calculados. Os outros compostos cujos riscos relativos apresentam valores elevados, mas inferiores ao máximo obtido para a dipirona, sâo a indometacina e as butazonas.

Curiosamente, os riscos relativos calculados para as restantes pirazolonas (antipirina, piramido e propifenazona) sâo próximos da unidade e inferiores, até, aos valores correspondentes aos derivados do ácido salicílico.

Em relaçâo à anemia aplástica, nâo foi detectada qualquer ligaçâo com o consumo da dipirona ou dos derivados pirazolónicos, já que os riscos relativos calculados se aproximam da unidade.

Polémico ainda antes da publicaçâo do relatório preliminar (105,106), o estudo foi objecto de um editorial no JAMA e elogiado por alguns autores, que realçaram o interesse dos resultados e o cuidado com que fora executado (107,108). Pelo contrário, os valores numéricos obtidos foram postos em causa por outros investigadores (109,110), pois nâo haviam sido calculados em funçâo dos volumes de vendas daquele fármaco nos diferentes países ou da respectiva dose diária definida , fixada em 3 g (111).

Nas respostas a estas críticas, os responsáveis pelo estudo publicaram novos valores, muito baixos e próximos dos anteriormente determinados, mas calculados já em relaçâo àqueles factores (112,113). Laporte e Carné (113), relacionando os valores de risco calculados até 1980 com o consumo de dipirona nos diferentes países, calcularam também

o número de casos de agranulocitose que, na realidade, deveriam ter ocorrido. Os resultados obtidos, por demasiado excessivos, não correspondem minimamente à incidência real da doença.

De qualquer modo, e atendendo ao valor de risco relativo determinado na República Federal da Alemanha, a Secretaria da Saúde daquele país aconselhou a inclusão da dipirona na lista de medicamentos vendidos apenas por receita médica (114,115,116), o que foi aceite e ratificado pelo Governo (117).

1.4.4.- CONSUMO EM PORTUGAL

A dipirona é um dos analgésicos e antipiréticos cuja utilização terapêutica é mais antiga, encontrando-se actualmente comercializada em cerca de 60 países (50).

Em Portugal, as fórmulas simples mais representativas têm constituído, no último decénio, 10 a 15% do número de unidades vendidas contendo analgésicos não narcóticos e antipiréticos, e 1 a 2% do total nacional de medicamentos.

Os dados referidos encontram-se esquematizados no Quadro VI, no qual se verifica que aquelas percentagens vão diminuindo ao longo do intervalo de tempo considerado, atingindo no ano de 1987 os valores de 10,2 e 0,92%, respectivamente. Neste caso, os valores parecem acompanhar os decréscimos também verificados na relação existente entre o número de unidades vendidas de medicamentos contendo analgésicos não narcóticos e antipiréticos e o total nacional de medicamentos. Refere-se ainda que as percentagens indicadas, ao englobarem apenas alguns dos medicamentos simples contendo o fármaco em questão, são certamente inferiores aos valores reais.

De qualquer modo, a dipirona representa uma parte significativa do mercado deste tipo de compostos, o que é confirmado pelo facto de um dos medicamentos simples citados ocupar sempre, entre 1978 e 1986, um dos primeiros sete lugares do "ranking" em unidades relativo ao total nacional

de medicamentos.

A dipirona é, também, um dos analgésicos e antipiréticos incluídos no Formulário Nacional de Medicamentos (20), em formas farmacêuticas simples e compostas destinadas à administraçâo oral e parentérica. Deste modo, procurou-se avaliar o consumo hospitalar deste tipo de preparaçôes, comparando-o com o de outros dois compostos dotados de acçâo terapêutica semelhante e também referidos naquele Formulário: o ácido acetilsalicílico e o paracetamol.

No Quadro VII apresentam-se os números de unidades das formas farmacêuticas contendo aqueles três fármacos e que foram submetidos a concurso público, entre 1983 e 1988, pela Direcçâo dos Serviços de Aprovisionamento da Secretaria Geral do Ministério da Saúde (118). A análise dos valores referidos permite concluir que a dipirona se encontra na última posiçâo, representando 6,5 a 13,7 por cento do total de unidades.

Mas o consumo hospitalar de medicamentos nâo pode ser avaliado apenas através destas indicaçôes, pois os concursos públicos promovidos pela referida Secretaria Geral nâo sâo o único meio de fornecimento de medicamentos a que os Serviços Farmacêuticos dos diferentes hospitais podem recorrer.

Nos quadros VIII e IX indicam-se os números de unidades das formas farmacêuticas contendo ácido acetilsalicílico, dipirona e paracetamol adquiridas, nos últimos três anos e meio, pelos Serviços Farmacêuticos dos dois grandes Hospitais Centrais da Regiâo Norte, o Hospital de S.Joâo e o Hospital Geral de Santo António (119,120).

É apenas no primeiro semestre de 1988 que se nota uma nítida preponderância da dipirona, especialmente sob a forma composta, nas aquisiçôes realizadas pelos Serviços Farmacêuticos do Hospital de S.Joâo (66,4 por cento do total de medicamentos contendo os três fármacos selecionados). No entanto, os valores percentuais respeitantes àquele composto sâo sempre superiores aos que correspondem à aquisiçâo feita através do concurso público da Secretaria Geral do Ministério da Saúde.

Pelo contrário, no Hospital de Santo António a dipirona ocupa sempre a primeira posição, ultrapassando até os 50% em 1986 e 1987. E este lugar cimeiro é mantido, nos três últimos anos, até mesmo se se considerarem apenas as respectivas formas farmacêuticas simples.

QUADRO VI

FORMAS FARMACÊUTICAS SIMPLES CONTENDO DIPIRONA

PERCENTAGENS NACIONAIS DE VENDAS

ANOS	$\frac{\text{ANALGÉSICOS}}{\text{TOTAL MED.}} \times 100$	$\frac{\text{DIPIRONA}}{\text{ANALGÉSICOS}} \times 100$	$\frac{\text{DIPIRONA}}{\text{TOTAL MED.}} \times 100$
1978	12.1	14.9	1.8
1979	12.4	14.7	1.8
1980	12.1	15.3	1.9
1981	12.0	14.9	1.8
1982	12.3	14.6	1.8
1983	11.1	13.7	1.5
1984	11.1	12.1	1.3
1985	11.4	11.7	1.3
1986	10.3	12.5	1.3
1987	9.0	10.2	0.9
1988	8.5	7.2	0.6

ANALGÉSICOS = Número de unidades vendidas de analgésicos não narcóticos e antipiréticos.
TOTAL MED. = Número total de unidades vendidas de medicamentos.
DIPIRONA = Número de unidades vendidas de medicamentos simples contendo dipirona considerados mais significativos.

Nota: Os valores apresentados para 1988 referem-se aos 3 primeiros trimestres.

QUADRO VII

FORMAS FARMACÊUTICAS CONTENDO ÁCIDO ACETILSALICÍLICO, DIPIRONA E PARACETAMOL POSTAS A CONCURSO PÚBLICO PELO MINISTÉRIO DA SAÚDE

ANOS	ÁC. ACETIL-SALICÍLICO		DIPIRONA						PARACETAMOL	
	Total	%	F.F. Simples	%	F.F. Compostas	%	Total	%	Total	%
1983	1509500	72.4	27000	1.3	108000	5.2	135000	**6.5**	440000	21.1
1984	1992000	70.5	57500	2.0	230500	8.2	288000	**10.2**	544000	19.3
1985	1430500	61.5	64500	2.8	254000	10.9	318500	**13.7**	578000	24.8
1986	2154000	66.0	59000	1.8	248000	7.6	307000	**9.4**	804000	24.6
1987	2364000	61.8	59000	1.5	225000	5.9	284000	**7.4**	1178000	30.8
1988	2381622	60.0	53990	1.4	234680	5.9	288670	**7.3**	1301236	32.7

Nota: As formas farmacêuticas simples e compostas são as que constam no Formulário Nacional de Medicamentos.

QUADRO VIII

FORMAS FARMACÊUTICAS CONTENDO ÁCIDO ACETILSALICÍLICO, DIPIRONA E PARACETAMOL ADQUIRIDAS PELO HOSPITAL DE S. JOÃO (PORTO)

ANOS	ÁC. ACETIL-SALICÍLICO		DIPIRONA						PARACETAMOL	
	Total	%	F.F. Simples	%	F.F. Compostas	%	Total	%	Total	%
1985	1349348	76.1	18205	1.0	404603	22.9	422868	**23.9**	-	-
1986	2227436	72.4	34293	1.1	564591	18.4	598884	**19.5**	250300	8.1
1987	114704	46.8	7127	2.9	17252	7.1	24379	**10.0**	105879	43.2
1988	95496	26.5	45850	12.7	193541	53.7	239391	**66.4**	25548	7.1

QUADRO IX

FORMAS FARMACÊUTICAS CONTENDO ÁCIDO ACETILSALICÍLICO, DIPIRONA E PARACETAMOL ADQUIRIDAS PELO HOSPITAL DE SANTO ANTÓNIO (PORTO)

ANOS	ÁC. ACETIL-SALICÍLICO		DIPIRONA						PARACETAMOL	
	Total	%	F.F. Simples	%	F.F. Compostas	%	Total	%	Total	%
1985	64100	40.0	61346	38.3	14500	9.1	75846	**47.4**	20200	12.6
1986	59100	31.7	87164	46.8	12790	6.9	99954	**53.7**	27184	14.6
1987	83050	36.2	102520	44.7	13440	5.8	115960	**50.5**	30570	13.3
1988	44550	34.7	54095	42.1	7380	5.7	61475	**47.8**	22490	17.5

Nota: As formas farmacêuticas simples e compostas são as que constam no Formulário Nacional de Medicamentos.
Os valores apresentados para 1988 referem-se apenas ao 1º semestre.

CAPITULO II

PRÉ-FORMULAÇÃO

2.1.- INTRODUÇÃO

Destinada a fundamentar cientificamente a preparação de formas farmacêuticas estáveis e eficazes, a pré-formulação consiste na obtenção de informações consideradas relevantes e directamente relacionadas com as propriedades do fármaco a veicular. Deste modo, é usual dividir os ensaios realizados em dois grandes grupos, consoante se procura identificar apropriadamente a matéria-prima ou avaliar as respectivas características de solubilidade e de estabilidade (121,122).

Os ensaios englobados no primeiro grupo são habitualmente de índole física ou físico-química, podendo citar-se como exemplos a análise granulométrica e a determinação da densidade aparente de um pó, ou as avaliações dos respectivos coeficiente de partilha e constante(s) de acidez.

As características de solubilidade são apreciadas em relação a solventes de constantes dieléctricas diversas ou a soluções aquosas ácidas, neutras e alcalinas. A análise da estabilidade é feita em soluções de diferentes valores de pH ou em amostras sólidas e implica, necessariamente, o recurso a métodos de doseamento seguros e específicos.

A pré-formulação adquire importância capital quando o produto em estudo corresponde a uma molécula de concepção recente e, por isso, sumária e incompletamente descrita na literatura.

A dipirona é, porém, um fármaco cuja síntese foi patenteada há quase oitenta anos. No entanto, na literatura consultada não se encontrou qualquer referência a algumas das características habitualmente citadas em monografias de outros fármacos. Nestas circunstâncias, far-se-á inicialmente uma breve resenha das propriedades físicas e químicas da dipirona, bem como dos respectivos mecanismos de decomposição e métodos de doseamento descritos na literatura, apresentando-se em seguida os objectivos desta fase do trabalho e a correspondente parte experimental.

2.1.1.- CARACTERíSTICAS FíSICAS E QUíMICAS. SíNTESE.

A dipirona é o N-(2,3-dimetil-1-fenil-5-oxopirazolina--4-il)-N-metilaminometanossulfonato de sódio, atribuindo-se--lhe outras designaçôes como novaminsulfonato de sódio, metampirona, analgina, metamizol ou sulpirina. Ocorrendo normalmente sob a forma mono-hidratada, à qual corresponde a fórmula empírica $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S,H_2O$ e a massa molecular de 351,4, apresenta a seguinte estrutura (63):

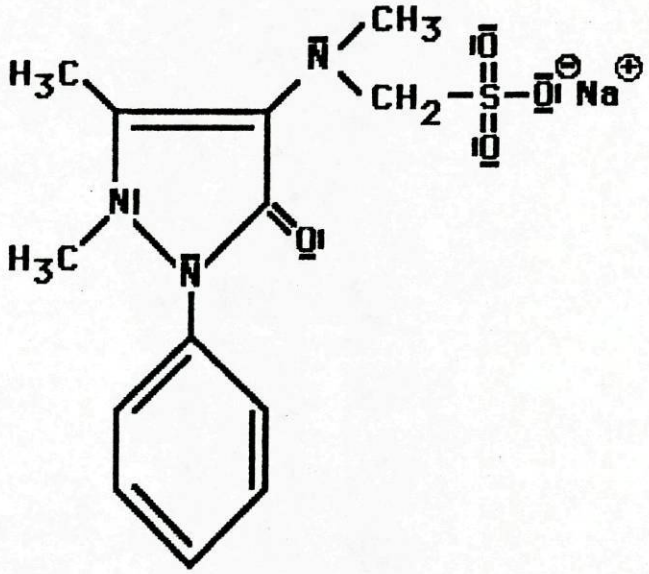


Fig. 3 - Estrutura química da dipirona

Encontra-se descrita em várias Farmacopeias, como as do Japâo, da U.R.S.S., da India, Alemâ, Austríaca, Jugoslava, Romena, Húngara, Polaca, Argentina, Nórdica, Helvética, Turca, Chinesa e Brasileira (123).

É um pó inodoro e amargo, branco ou ligeiramente amarelado, cuja solubilidade decresce à medida que diminui a polaridade dos solventes utilizados: é muito solúvel na água (1:1,5) e no metanol, solúvel no etanol (1:30) e praticamen-

te insolúvel no éter, na acetona, no benzeno e no clorofórmio (124,125).

A respectiva solução aquosa é amarela e neutra ao tornassol. Após aquecimento à fervura, em meio ácido, desenvolvem-se cheiros sulfuroso e a formaldeído. A solução a 4,65% é isosmótica com o soro sanguíneo.

Devido às suas características estruturais, reage com grande parte dos reagentes gerais de alcalóides, quer os iodados, como o iodomercurato de potássio, quer os poliácidos minerais complexos e os ácidos sulfónicos orgânicos, como os ácidos fosfomolíbdico e 1,2-naftoquinona-4-sulfónico, respectivamente. Além disso, forma também compostos corados com alguns reagentes cromáticos dos alcalóides, como o p-dimetilaminocinamaldeído.Reage com os nitritos e é oxidada pelos metais pesados, como o ferro e o cobre, e pelos halogéneos, como o iodo e o bromo. De igual modo, também as enzimas oxidantes a decompõem, conhecendo-se a incompatibilidade que apresenta ao ser adicionada a mucilagens de goma arábica preparadas a frio.

Algumas destas reacções constituem o fundamento de métodos de doseamento propostos por diversos autores, pelo que serão discutidas com pormenor em 2.1.3.

A dipirona é sintetizada a partir da melubrina que, por sua vez, é preparada a partir da antipirina. Existem vários processos de obtenção desta última molécula, mas a técnica mais comum, proposta por Ludwig Knorr, baseia-se na condensação da fenilhidrazina com o acetoacetato de etilo. A 1-fenil-3-metil-5-pirazolona assim obtida é posteriormente metilada, por reacção com o cloreto de metilo, surgindo então a antipirina.

A introdução do grupo amina no carbono 4 do anel pirazolónico realiza-se através da redução da nitrosoantipirina resultante da reacção da antipirina com o ácido nitroso. Adicionando bissulfito de sódio à 4-aminoantipirina, na presença de formaldeído, forma-se melubrina que, por metilação, origina finalmente a dipirona (17,126).

2.1.2.- CARACTERíSTICAS DE ESTABILIDADE

Um dos processos a que se pode recorrer para aumentar a hidrossolubilidade dos fármacos é a preparaçâo, por introduçâo de radicais metil ou etilsulfonados em moléculas aminadas, de derivados alquilsulfónicos, descrevendo-se compostos deste tipo resultantes de sulfamidas, da anilina ou da isoniazida. No entanto, decompôem-se facilmente por hidrólise (127,128).

Por outro lado, os derivados pirazólicos alteram-se habitualmente por via oxidativa. Obtida com a finalidade de aumentar a hidrofilia do piramido, a dipirona é um derivado pirazólico metilsulfonado, degradando-se, por isso, segundo os dois mecanismos que ocorrem com maior frequência nos produtos farmacêuticos: a oxidaçâo e a hidrólise.

2.1.2.1.- VIAS DE DECOMPOSIÇAO

As vias degradativas encontram-se esquematizadas na Figura 4 e foram propostas por Wagner (129,130), Pechtold (131,132,133) e Ono et al. (134), tendo estes autores concluído que a molécula íntegra pode originar, consoante as condiçôes do meio de dissoluçâo e a natureza do fenómeno químico, 3 compostos diferentes.

Assim, devido à quebra da ligaçâo covalente existente entre o átomo de azoto e o carbono ao qual se encontra ligado o radical sulfonilo, formam-se inicialmente 4-metilaminoantipirina e hidroximetilsulfonato de sódio. A esta hidrólise reversível associa-se uma outra, ocorrida essencialmente em meio ácido, e que se traduz na quebra da ligaçâo existente entre os átomos de carbono e enxofre, libertando-se entâo 4-(N-hidroximetil-N-metil)aminoantipirina e bissulfito de sódio. A oxidaçâo directa da molécula de dipirona provoca, por sua vez, o aparecimento de 4--formilaminoantipirina.

Mas a 4-metilaminoantipirina é também oxidável, originando 4-aminoantipirina e 4-hidroxiantipirina. E a

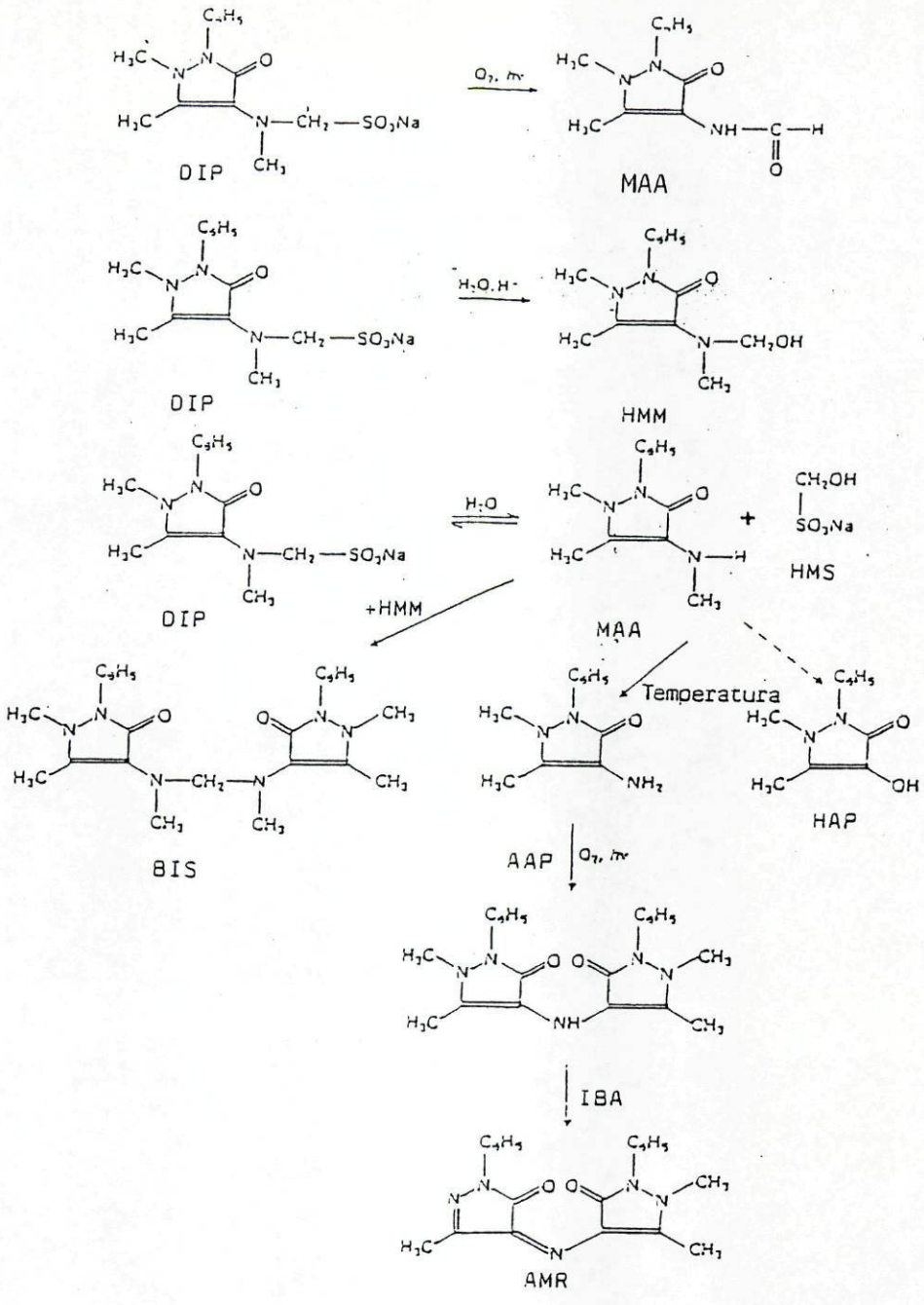


Fig. 4 - Vias de decomposição da dipirona

DIP - dipirona
MAA - 4-metilaminoantipirina
HMS - hidroximetilsulfonato de sódio
HMM - 4-(N-hidroximetil-N-metil)aminoantipirina
FAA - 4-formilaminoantipirina
AAP - 4-aminopirina
HAP - 4-hidroxiantipirina
IBA - iminobisantipirina
AMR - ácido metilrubazónico
BIS - bismetilantipirinilmetano

posterior oxidaçâo do primeiro destes compostos conduz à formação, por conjugação, de iminobisantipirina e, numa segunda fase, de ácido metilrubazónico.

Admite-se, ainda, que a 4-metilaminoantipirina se possa conjugar com a 4-(N-hidroximetil-N-metil)aminoantipirina, originando então o bismetilantipirinilmetano.

As velocidades das várias reacções sâo diferentes. Deste modo, os fenómenos oxidativos sâo aparentemente mais lentos, ao passo que os produtos resultantes da hidrólise surgem rapidamente e em quantidades que dependem das condiçôes do meio de dissolução.

É esta uma das conclusões dos trabalhos de Yoshioka et al., que estudaram em pormenor a hidrólise da dipirona em soluçôes ácidas, neutras e alcalinas (135,136), a respectiva decomposição oxidativa em solução (137) e o mecanismo de alteração no estado sólido (138). A este conjunto de estudos será feita, nos subcapítulos seguintes, uma referência mais circunstanciada, pois os resultados obtidos pelos autores, que propôem novas vias degradativas e esclarecem a cinética de alguns dos processos químicos ocorridos, afiguram-se pertinentes para o posterior desenvolvimento do trabalho.

2.1.2.2.- HIDRóLISE

Confirmando parcialmente o mecanismo proposto por Samejima et al. (139), Yoshioka et al. (135) admitem que, para valores de pH superiores a 7, o fenómeno hidrolítico é reversível, atingindo-se um equilíbrio complexo entre as moléculas de dipirona, 4-metilaminoantipirina, 4-(N-hidroximetil-N-metil)aminoantipirina e bismetilantipirinilmetano.

De facto, e tal como se encontra esquematizado na Figura 5, as reacções de formação da 4-metilaminoantipirina e da 4-(N-hidroximetil-N-metil)aminoantipirina, e a consequente libertação de hidroximetilsulfonato de sódio e de bissulfito de sódio, sâo processos reversíveis. Por outro

lado, aquelas duas moléculas encontram-se também em equilíbrio, pois são interconvertíveis por captação ou libertação de uma molécula de aldeído fórmico. Paralelamente, o hidroximetilsulfonato de sódio origina também bissulfito de sódio e aldeído fórmico.

Na fase final, e por um mecanismo que os autores admitem corresponder a uma desidratação simples, a 4-metilaminoantipirina reage com a 4-(N-hidroximetil-N-metil)aminoantipirina, originando então o bismetilantipirinilmetano.

De modo a caracterizar a cinética deste fenómeno, os autores admitiram que a decomposição da dipirona ocorria, até se atingir o referido equilíbrio (uma hora após a dissolução e nas condições do ensaio), a uma velocidade específica "aparente" e correspondente, na realidade, ao somatório das velocidades "reais" dos dois processos hidrolíticos mencionados.

A avaliação daquela grandeza, executada em soluções de concentrações inferiores ou iguais a 1,5% e tamponadas para valores de pH compreendidos entre 7 e 13, permitiu concluir que a hidrólise se processa, globalmente , segundo uma cinética de ordem 1, cuja velocidade específica não é afectada pelo pH do meio. Por outro lado, e uma vez estabelecido o equilíbrio químico, também as proporções relativas dos diferentes compostos se mantêm constantes para qualquer dos valores de pH ensaiados.

Já em meio ácido (136) o comportamento é diferente, embora o fenómeno hidrolítico seja, tal como indica a Figura 6, semelhante ao anterior. No entanto, e contrariando as hipóteses propostas por Wagner (129,130) e Ono et al. (134), não foi detectado bismetilantipirinilmetano. Além disso, refere-se também que o hidroximetilsulfonato de sódio não se decompõe a pH inferior a 7.

Perante os resultados obtidos, os autores admitem que a decomposição ocorrida em soluções cujos valores de pH estejam compreendidos entre 3 e 7 é reversível e conduz, essencialmente, à formação de 4-metilaminoantipirina, sendo

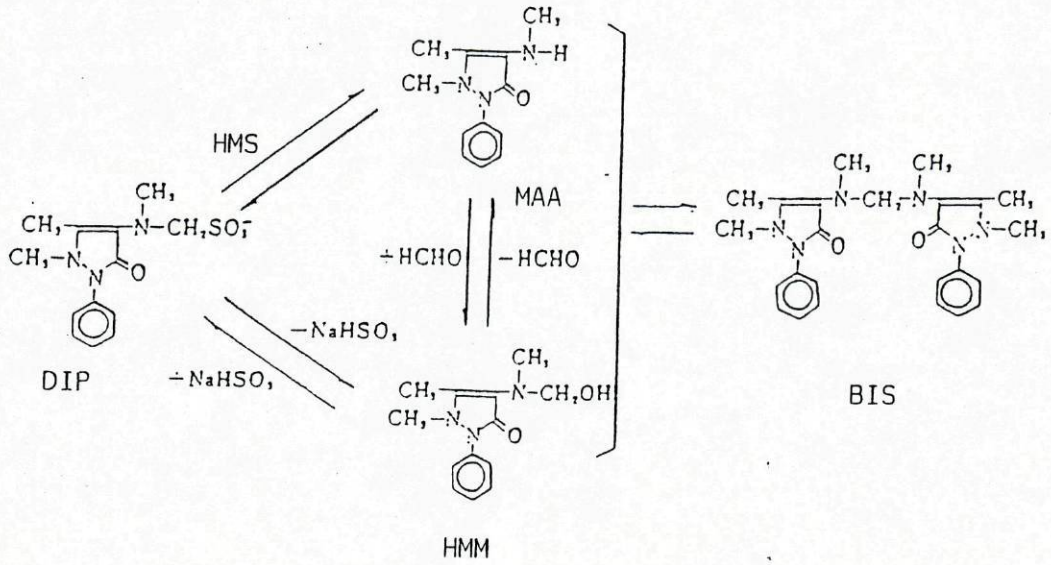


Fig. 5 - Hidrólise da dipirona em meio alcalino.

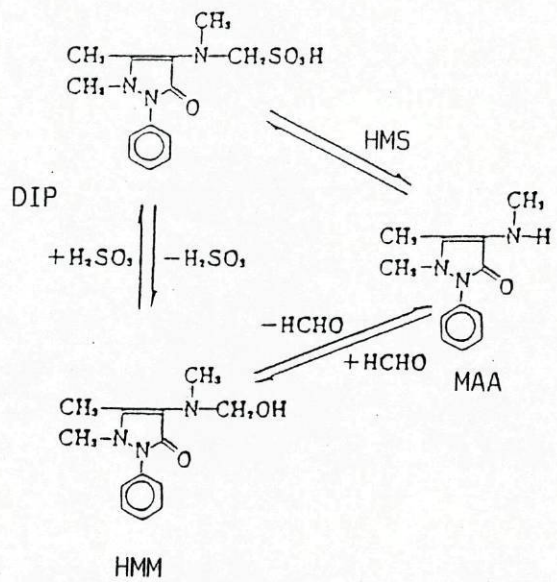


Fig. 6 - Hidrólise da dipirona em meio ácido.

DIP - dipirona
MAA - 4-metilaminoantipirina
HMS - hidroximetilsulfonato de sódio
HMM - 4-(N-hidroximetil-N-metil)aminoantipirina
BIS - bismetilantipirinilmetano

insignificante a quantidade de 4-(N-hidroximetil-N-metil)--aminoantipirina existente. Mas este equilíbrio, atingido ao fim de 4 ou 5 horas nas condiçôes do ensaio, é sensível às variaçôes de pH, pois as quantidades de dipirona íntegra sâo tanto maiores quanto mais elevados forem aqueles valores. De igual modo, também a velocidade "aparente" de hidrólise aumenta à medida que aumenta o pH do meio.

Em soluçôes de pH inferior a 3 o processo hidrolítico é irreversível, nâo se atingindo qualquer equilíbrio entre as concentraçôes dos reagentes e dos produtos das reacçôes. Processando-se segundo uma cinética de ordem 1, conduz ainda, e ao contrário do caso anterior, à formaçâo de quantidades significativas de 4-(N-hidroximetil-N-metil)-aminoantipirina.

A variaçâo das constantes de equilíbrio em funçâo do pH foi também avaliada por Coste et al. (140). Ensaiando soluçôes a 1% de dipirona marcada com carbono 14 no radical metilsulfonilo e preparadas com soluçôes tampâo de pH compreendido entre 3 e 9, os autores concluiram também que as quantidades de molécula íntegra existentes naquela situaçâo eram tanto menores quanto mais baixo fosse o pH do meio.

Mas, ao estudarem soluçôes contendo entre 0,003 e 1,5% de dipirona, Yoshioka et al. verificaram que as quantidades de molécula íntegra no equilíbrio dependiam nâo só da concentraçâo hidrogeniónica do meio, mas também das concentraçôes iniciais de fármaco, sendo tanto maiores quanto mais concentrada fosse a soluçâo. Este facto era já conhecido (141,142,143), tendo Pechtold (144) situado o grau de hidrólise entre 26,9 e 4,9% consoante a concentraçâo inicial da soluçâo fosse 1 ou 50%, respectivamente.

2.1.2.3.- OXIDAÇAO EM SOLUÇAO AQUOSA

Como foi anteriormente referido, Yoshioka et al. (137) estudaram também a fase inicial da degradaçâo oxidativa da dipirona em soluçôes cuja concentraçâo estava compreendida

entre 0,002 e 0,2%, e utilizaram o iâo cúprico como catalisador da reacção.

O mecanismo de decomposição proposto, indicado na Figura 7, demonstra que a origem de todo o processo oxidativo nâo é a dipirona, mas a 4-metilaminoantipirina. De facto, é a partir desta molécula que se formam a 4-formilaminoantipirina e a 4-aminoantipirina, podendo ainda esta última ser oxidada a antipirinil-4-peróxido.

Os resultados obtidos nâo permitiram avaliar a ordem das diferentes reacções oxidativas, embora se pudesse concluir que a mais rápida correspondia à formação de 4--aminoantipirina. Os autores verificaram ainda que a velocidade deste processo é máxima em soluções cujo pH seja próximo de 6, diminuindo quer a pH ácido (certamente devido à protonação da 4-metilaminoantipirina), quer a pH alcalino (o que é atribuído à diminuição da solubilidade do iâo cúprico).

Além disso, e como para valores de pH superiores a 5 a velocidade de formação da 4-metilaminoantipirina é inferior à da respectiva oxidação, é a hidrólise que condiciona o desenvolvimento de todo o processo. Em soluções cujo pH seja inferior a 4, a velocidade de oxidação é, pelo contrário, inferior à da hidrólise, passando então aquela a regular a velocidade global do fenómeno.

2.1.2.4.- DECOMPOSIÇAO NO ESTADO SóLIDO

Yoshioka et al. estudaram também a estabilidade da dipirona no estado sólido (138), provocando a degradação acelerada do produto por aquecimento e manutenção em atmosfera de oxigénio contendo diferentes percentagens de humidade.

O fármaco mantém-se praticamente inalterado em atmosfera anidra e apresenta graus de hidrólise e oxidação cada vez maiores à medida que aumenta o teor de humidade presente no meio ambiente.

Os mesmos autores verificaram também que a decomposição

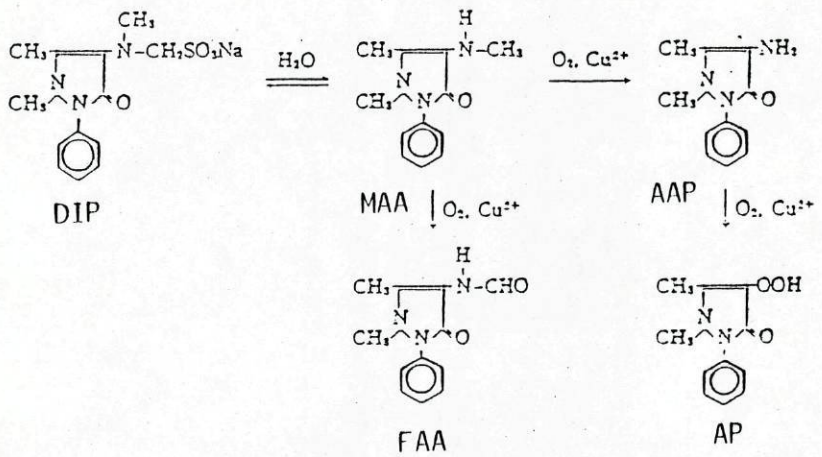


Fig. 7 - Oxidação da dipirona em solução aquosa

DIP - dipirona

MAA - 4-metilaminoantipirina

FAA - 4-formilaminoantipirina

AAP - 4-aminoantipirina

AP - antipirinil-4-peróxido

obedecia a uma cinética de ordem 1 e encontraram os seguintes produtos de degradação: piramido, 4-aminoantipirina, 4-formilaminoantipirina e 4-formilmetilaminoantipirina. O mecanismo de formação destes compostos está representado na Figura 8, admitindo-se que, numa primeira fase, a 4--metilaminoantipirina perde, por rotura da ligação covalente, o átomo de hidrogénio do grupo amina ligado ao carbono 4. Forma-se, deste modo, um radical livre altamente instável que, por rearranjo do grupo metilo adjacente, dá origem quer ao piramido, quer à 4-aminoantipirina.

No entanto, a captação de oxigénio por aquele composto intermediário conduz à formação de um outro produto, isolado pelos autores mas cuja estrutura não foi estabelecida, que origina então, por oxidação do grupo metilo, a 4-formilaminoantipirina.

Por outro lado, a 4-formilmetilaminoantipirina resultaria também de um mecanismo semelhante, mas ocorrido num dos grupos metilo da molécula do piramido.

2.1.3.- MÉTODOS DE DOSEAMENTO

Os métodos utilizados para dosear a dipirona são inúmeros, reflectindo a evolução dos processos de análise ocorrida nos últimos decénios. Assim, encontram-se descritas técnicas volumétricas, como a iodimetria ou a anidrovolumetria, espectrofotométricas, nas regiões do visível ou do ultravioleta, e cromatográficas, quer em camada fina, quer em fases gasosa ou líquida. Paralelamente, alguns autores propõem, ainda, a análise por polarografia ou por espectrometria de ressonância magnética nuclear.

No entanto, alguns destes métodos não são específicos da molécula íntegra, o que restringe, num estudo sobre a estabilidade do produto, o elevado número de opções oferecidas ao analista.

Nestas circunstâncias, serão discutidos os fundamentos das diferentes técnicas propostas, procurando-se assim justificar os critérios utilizados para eliminar algumas

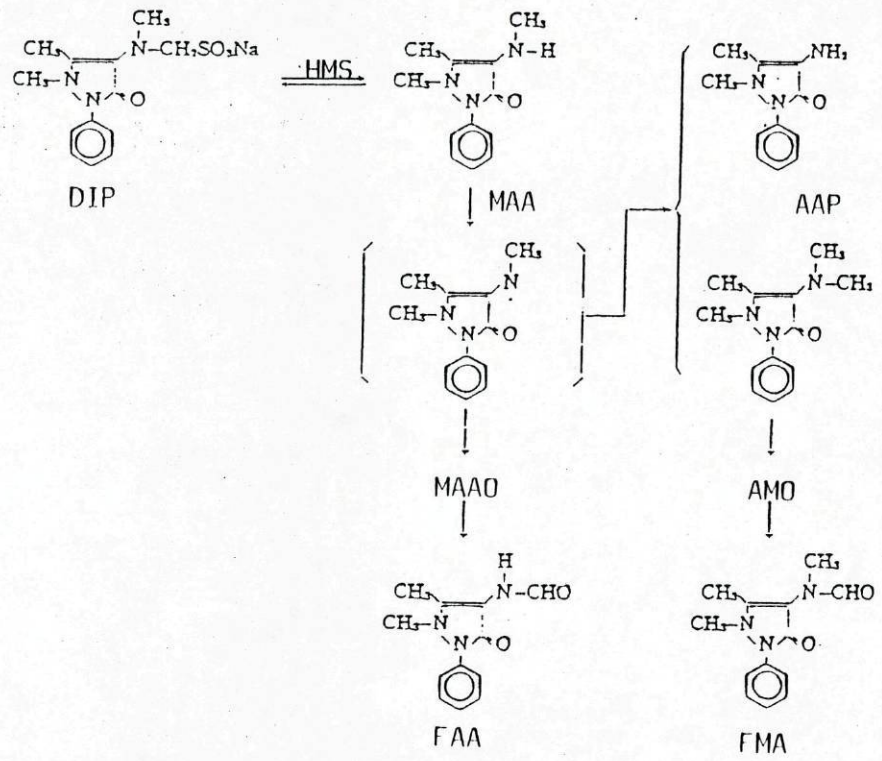


Fig. 8 - Decomposição da dipirona no estado sólido

DIP - dipirona

HMS - hidroximetilsulfonato de sódio

MAA - 4-metilaminoantipirina

AAP - 4-aminoantipirina

PIR - piramido

FAA - 4-formilaminoantipirina

FMA - 4-formilmetilaminoantipirina

MAAO e AMO - produtos intermediários de estrutura química desconhecida.

delas e, pelo contrário, seleccionar as que parecem mais adequadas à finalidade do trabalho.

2.1.3.1.- TÉCNICAS VOLUMÉTRICAS

A iodimetria é, talvez, a mais antiga técnica de doseamento da dipirona (145,146). Simples e de fácil execução, continua ainda a ser muito utilizada, constituindo o processo proposto por várias Farmacopeias como as da URSS e da India (147), Helvética (148) e do Japão (149), que a inclui apenas na monografia correspondente à matéria-prima.

Atendendo ao facto de outros derivados pirazolónicos, como a antipirina e o piramido, reagirem com o iodo (150), admitiu-se que o mecanismo da reacção consistia na fixação de dois átomos de iodo nos carbonos 3 e 4 da dipirona, formando-se assim um derivado bi-iodado de núcleo saturado.

Mas a titulação decorre em meio ácido, pelo que o grau de hidrólise se encontra aumentado. Por isso se sugere que o iodo reage, de facto, com o bissulfito de sódio libertado após a hidrólise e não com a molécula íntegra da dipirona (151). E os resultados obtidos por Kigasawa et al. (152), que verificaram a formação quantitativa do ião sulfato e o abaixamento do pH da solução durante a titulação, parecem comprovar esta hipótese.

Deste modo, processando-se a reacção por qualquer dos mecanismos acima mencionados ou por uma eventual sobreposição parcial de ambos (o que poderia explicar os teores superiores a 100% frequentemente referidos em trabalhos em que o doseamento da dipirona é feito por esta técnica (153,154)), a iodimetria parece não constituir processo adequado para a análise da estabilidade deste fármaco. De facto, o bissulfito de sódio resulta, por si só, da decomposição da dipirona. E, embora a molécula seja quimicamente instável, nunca perde a dupla ligação existente entre os carbonos 3 e 4 do núcleo pirazolónico, podendo admitir-se, então, que também os produtos de decomposição fixariam iodo.

Contudo, a dipirona reage, por fenómenos de oxidaçâo - - redução, não só com os halogéneos, mas também com os iões metálicos de valência superior ou com moléculas oxidantes orgânicas. Assim, Srivastava et al. (155) propoêm uma volumetria cujo fundamento é a reacção ocorrida, em meio ácido, entre aquele fármaco e o hexacianoferrato (III) de potássio. Admitindo que o grupo metilo ligado ao carbono 3, que existe também em vários produtos de decomposição, é totalmente oxidado e origina um radical carboxilo, os autores nâo aludem à eventual hidrólise da dipirona. De qualquer modo, a reacção nâo parece ser, também, característica da molécula íntegra.

Rizk e Zakhari (156) utilizam, por sua vez, a 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona como oxidante. O ponto final da titulação, que decorre também em meio ácido, é avaliado visualmente. No entanto, o mecanismo da reacção proposto pelos autores é semelhante ao já indicado para o caso do iodo: o oxidante reagiria com o bissulfito de sódio resultante da hidrólise da dipirona. Uma vez mais, não se procede à determinação real do fármaco.

O método proposto por Denöel (157) corresponde a uma técnica volumétrica completamente diferente, pois é uma acidimetria em que se titula, após aquecimento à ebulição e em meio ácido, a base extraída pelo clorofórmio e redissolvida em água. Trata-se, igualmente, da determinação de um (ou alguns) dos produtos de decomposição da dipirona. Também a anidrovolumetria proposta por Kashima (158), realizada em meio acético e utilizando ácido perclórico como titulante, não parece ser específica da molécula íntegra.

2.1.3.2.- TÉCNICAS ESPECTROFOTOMÉTRICAS

Como se afirmou em 2.1.1., a dipirona apresenta características estruturais que lhe conferem uma elevada reactividade química. Deste modo, a selecção adequada de determinados tipos de reagentes possibilita a obtenção de compostos corados facilmente doseáveis por colorimetria.

A este artifício recorrem Claeys e Pijck (159,160,161) que, baseados no poder redutor do fármaco em relação aos halogéneos, adicionam dipirona a um excesso de solução de ácido iódico. O iodeto proveniente da redução daquele ácido reage, por sua vez, com o iâo iodato em excesso, originando iodo. Além de apresentarem este mecanismo explicativo da técnica adoptada, os autores propõem ainda que o halogéneo seja rapidamente extraído para um solvente orgânico no qual se procede, então, à leitura da absorvência em 523 nm. O recurso à extracção líquido-líquido deve-se ao facto de o iodo "reagir prontamente com a molécula orgânica, alterando deste modo o carácter quantitativo da reacção" (160). Esta advertência e a elevada acidez do meio sugerem, uma vez mais, que a redução do ácido iódico se deve à presença do bissulfito de sódio resultante da hidrólise da dipirona.

A avaliação da coloração amarela surgida após a reacção do fármaco com os sais cúpricos é proposta por Guadagnini e Sekules (162). No entanto, os autores afirmam ainda que a antipirina e o piramido apresentam também aquela característica.

Mas a capacidade de redução dos iões metálicos constitui, ainda, o fundamento de outras técnicas colorimétricas, já que a inclusão de diferentes indicadores de oxidação-redução possibilita a formação de diversos complexos corados. Buhl e Hachula (163) recorrem ao sulfato férrico amoniacal e avaliam a intensidade da cor do complexo formado entre o iâo ferroso e o 2,2'-dipiridilo ou a 1,10-fenantrolina. Além destas duas técnicas, aqueles autores propõem ainda uma outra (164) em que utilizam cério (IV) como oxidante e arsenazo (III) como complexante. E é também o cério que, no método sugerido por Fujita et al. (165), é reduzido e complexado com a orto-hidroxi-hidroquinonoftaleína. Podendo atribuir-se a redução dos iões metálicos à acção do bissulfito de sódio proveniente da hidrólise da dipirona, também estes métodos não parecem ser específicos do fármaco em estudo.

O método proposto por Morita (166) baseia-se na reacção

da dipirona com o ácido fosfomolíbdico em meio fortemente ácido, fenómeno que, como foi referido em 2.1.1., é uma das reacções características das aminas, não apresentando a especificidade adequada.

A reacção da dipirona com os sais sódico ou potássico do ácido 1,2-naftoquinona-4-sulfónico, ou reagente de Folin, é também utilizada, como propõem Maggiorelli e Conti (167) e Ono et al. (168), na obtenção de derivados doseáveis por colorimetria. A referida naftoquinona, além de reagir facilmente com aminas primárias e secundárias, origina também derivados instáveis e corados com aminas terciárias. No entanto, não reage com o piramido, pelo que os autores atribuem ao radical metilsulfónico uma eventual activação do grupo amina da dipirona e a consequente formação do produto corado. Porém, Kawamura (169) estuda a natureza dos produtos das reacções ocorridas entre o reagente de Folin e a dipirona, a 4-metilaminoantipirina e a 4-aminoantipirina. E os resultados dos trabalhos, executados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear, permitiram concluir que o derivado naftoquinónico não reage com a dipirona, mas com a 4-metilaminoantipirina.

Kató et al. (170) recorrem à capacidade de reacção das aminas com os aldeídos e utilizam, como reagente de coloração, o p-dimetilaminocinamaldeído. O processo decorre a pH ácido e o composto formado, alaranjado, é doseado por leitura da absorvência em 510 nm. A técnica foi oficializada pela Farmacopeia do Japão (149) e é referida nas monografias correspondentes à solução injectável e aos comprimidos. A uma reacção semelhante recorrem Verma et al. (171), embora utilizem p-dimetilaminobenzaldeído como promotor da coloração. No entanto, parece haver vantagem em utilizar o reagente proposto pelos investigadores japoneses, já que as características de absorção no visível do composto resultante permitem um melhor doseamento do produto (172). Fernandes Martins et al. (173), aperfeiçoando o método proposto por Shingbal e Shirsat (174), utilizam citral em meio ácido e procedem à leitura das absorvências em 360 nm.

Nenhum dos autores sugere qualquer mecanismo para a formação do composto corado, afirmando apenas Verma et al. (171) que as aminas aromáticas resultantes da hidrólise da dipirona se condensam com o aldeído e originam bases de Schiff.

A reacção de diazotação com os nitritos, em meio fortemente ácido, é a característica do fármaco em que se baseia o método proposto por Abdine et al. (175). Porém, a nitrosamina obtida, cuja cor amarela é intensificada pela alcalinização do meio de dissolução, resulta da reacção do ácido nitroso com a 4-metilaminoantipirina proveniente da hidrólise do composto.

Recorrendo à redução dos compostos tetrazólicos em meio alcalino e à consequente obtenção de formazanos corados, Vassilieva-Alexandrova e Shismanov (176) sugerem a utilização de cloridrato de neotetrazólio no doseamento da dipirona.

O fundamento do método proposto por El-Sayed e Mohamed (177) consiste na formação, em meio ácido, de um complexo corado entre a dipirona e o azul de bromofenol, avaliando-se posteriormente a intensidade da cor do extracto clorofórmico. Devido à capacidade de reacção da dipirona com o nitrato de uranilo, Grabowicz (178) sugere outro processo de doseamento colorimétrico. Todavia, refere também a interferência do piramido.

Uno e Yamamoto (179), baseando-se na reacção da dipirona com a quinonodiclorodiimida, propõem que seja doseada por fluorimetria. No entanto, e ao contrário do piramido, as aminas primárias e secundárias, como a 4-aminoantipirina e a melubrina, podem ser doseadas por este processo.

Além da colorimetria, também a espectrofotometria no ultravioleta é utilizada no doseamento da dipirona. Abdine et al. (180) propõem a análise diferencial em dois comprimentos de onda (268 e 326 nm), mas as leituras das absorvências são realizadas depois de se ter procedido à oxidação da dipirona pelo bromo. Vegh et al. (181) utilizam solução aquosa de dipirona e recorrem ao comprimento de on-

da de 250 nm. Pelo contrário, nos métodos propostos por Varcl (182) e Bradford (183) os solventes utilizados são o ácido clorídrico 0,1 N e o ácido bórico 0,2 M e as leituras são feitas em 260 e 253 nm, respectivamente.

Todavia, este tipo de espectrofotometria não parece aconselhável para a execução de um estudo de estabilidade, pois verificar-se-á certamente a interferência dos diferentes produtos de degradação. Nestas circunstâncias, o emprego deste método implica, necessariamente, a separação prévia dos vários compostos existentes na amostra.

A técnica de doseamento proposta por Oi (184) recorre à espectrofotometria no infravermelho e utiliza a banda de absorção específica dos sulfonatos localizada em 8,5 μm. A 4- -metilaminoantipirina é praticamente transparente neste com-primento de onda, e a relação entre as absorvências lidas e as concentrações de dipirona é linear. No entanto, e inde-pendentemente doutros condicionalismos, é um processo complexo e restrito, possibilitando apenas a determinação da molécula sulfonada.

2.1.3.3.- TÉCNICAS ELECTROQUíMICAS

Os métodos electroquímicos são também aplicáveis ao doseamento da dipirona. Deste modo, o ponto final da volumetria (oxidação da dipirona pelo 2,3-dicloro-3,6-diciano-1,4-benzoquinona) proposta por Rizk e Zakhari (156) pode também ser avaliado potenciometricamente. Alessandro et al. (185) sugerem, de igual modo, uma titulação em que o ponto final da reacção é avaliado por condutimetria. O fundamento do processo consiste na oxidação total da dipirona em presença de um excesso de solução de peróxido de hidrogénio e posterior adição de acetato de bário. Trata-se, pois, de uma determinação indirecta do fármaco.

Baseando-se na capacidade de reacção dos derivados pirazolónicos com os halogéneos, Nikolic et al. (186) propõem um método coulombimétrico em que a dipirona reage

com o bromo gerado na célula electrolítica. O método é, no entanto, aplicável a outras pirazolonas, como a antipirina e o piramido.

Noninski e Sobowaka (187) recorrem à polarografia e utilizam o eléctrodo giratório de ouro como eléctrodo de referência. O método é sensível e reprodutível, podendo ser utilizado na análise de formas farmacêuticas compostas contendo dipirona ou piramido.

2.1.3.4.- TÉCNICAS CROMATOGRáFICAS

A cromatografia é um dos mais eficazes processos de separação dos diferentes constituintes de misturas complexas, podendo ser aplicada, com segurança, à análise de amostras contendo compostos quimicamente semelhantes. Além disso, a posterior associação a técnicas quantitativas permite ainda o doseamento dos vários produtos isolados. Nestas circunstâncias, é este o método no qual se baseiam os já referidos trabalhos respeitantes ao estudo da estabilidade da dipirona: Wagner (129,130), Pechtold (131,132,133) e Ono et al. (134) utilizam, respectivamente, a cromatografia em papel, em camada fina e em coluna. O primeiro destes autores procede apenas à separação e identificação dos diferentes produtos de decomposição, doseando-os Pechtold por análise espectrofotométrica dos extractos etéreos das diferentes manchas e Ono et al. por iodimetria.

Coste et al. (140) recorreram também à cromatografia em papel e o doseamento é executado, após isolamento das manchas, por avaliação da radioactividade, já que os autores utilizaram dipirona-^{14}C marcada no carbono ligado ao radical sulfonilo.

Os métodos propostos por Fabre et al. (188), Ebel e Rost (143), Krötsch et al. (142) e Bühler (189) baseiam-se na separação prévia por cromatografia em camada fina e posterior doseamento dos diferentes compostos por espectrofotometria no ultravioleta.

Buhl e Hachula aplicam o método colorimétrico que haviam concebido (163) à cromatografia em camada fina (190), revelando as placas, antes da introduçâo no espectrodensitómetro, com soluçôes de sulfato férrico amoniacal e de 2,2'-dipiridilo.

A técnica de análise da estabilidade adoptada por Eddine et al. (191) é a cromatografia líquida de alta pressâo em fase reversa. O processo é isocrático, a fase móvel é constituída por metanol, água e trietilamina (50:50:0,025), e a detecçâo é feita por espectrofotometria em 254 nm. A este comprimento de onda recorrem também Yoshioka et al. (137,138), que empregam, no entanto, fases móveis constituídas por metanol e água em diferentes proporçôes (73:27 e 90:10).

Finalmente, a cromatografia em fase gasosa é o método utilizado por Pellerin e Letavernier (141). Procedendo, em intervalos de tempo previamente estabelecidos, à liofilizaçâo das soluçôes de dipirona conservadas em diferentes condiçôes, os autores retomam as amostras em clorofórmio e injectam-nas num cromatógrafo munido de um detector de ionizaçâo de chama.

2.1.3.5.- OUTRAS TÉCNICAS

A espectrometria de ressonância magnética nuclear é o método proposto por El-Fatatry (192), que o aconselha apenas para a análise da matéria-prima ou de formas farmacêuticas sólidas cujos excipientes sejam insolúveis em água. Pelo contrário, nâo é aplicável a fórmulas líquidas, já que os adjuvantes hidrossolúveis interferem no processo.

2.2.- OBJECTIVOS

A análise das características da dipirona apresentadas em 2.1.1. permite concluir que alguns dos parâmetros habitualmente indicados, e de importância capital em estudos de biodisponibilidade, nâo sâo mencionados na literatura consultada. De facto, nâo se encontraram quaisquer valores respeitantes às constantes de acidez e às características de partilha do fármaco.

Apresentando na sua estrutura um radical sulfonilo, a dipirona é, em solução aquosa, a base conjugada de um ácido forte. Paralelamente, a amina terciária que se encontra ligada ao carbono 4 do núcleo pirazolónico confere-lhe características básicas. Nestas circunstâncias, e embora o ensaio apresente alguns condicionalismos, pareceu útil tentar determinar a respectiva constante de acidez.

A espectrofotometria e a potenciometria sâo os processos mais indicados para avaliar esta grandeza (121). No entanto, as características de estabilidade da dipirona e as baixas concentraçôes utilizadas impossibilitam o recurso à primeira daquelas técnicas, pois coexistirâo nas diferentes soluçôes os pares conjugados ácido/base correspondentes à molécula íntegra e aos vários produtos resultantes da decomposição.

A determinaçâo por potenciometria parece mais viável, muito embora apresente também limitaçôes consideráveis: a soluçâo é complexa e a própria variaçâo de pH oorrida durante a titulaçâo irá certamente afectar as proporçôes relativas de dipirona e dos diferentes produtos de aleraçâo. De qualquer modo, foi este o método seleccionado; e atendendo a esta causa de erro, aliás dificilmente eliminável, designar-se-á o ensaio por avaliaçâo da constante "aparente" de acidez.

É paradoxal falar em coeficiente de partilha de um fármaco como a dipirona, tâo solúvel em água e insolúvel nos solventes orgânicos utilizados neste tipo de determinaçâo, como o n-octanol e o clorofórmio (121). No entanto, sabe-se

também que a respectiva decomposição origina compostos dotados de maior lipofilia. Nestas circunstâncias, procurou-se avaliar as características de partilha do conjunto dipirona/bases resultantes da decomposição, e estudar a respectiva variação em função do pH da solução aquosa e do tempo de contacto entre ambos os solventes.

O processo adoptado para dosear o conteúdo da fase orgânica foi a espectrofotometria no ultravioleta. A técnica de doseamento das soluções aquosas impõe, porém, uma explicação prévia, já que se procurou seleccionar um método aplicável em fases subsequentes deste trabalho.

A maior parte dos métodos referidos em 2.1.3. não são específicos da molécula da dipirona, baseando-se frequentemente na reacção dos respectivos produtos de hidrólise com reagentes de diversos tipos. Porém, no caso concreto do estudo das características de partilha, pretendia-se dosear o fármaco, íntegro e hidrolisado, que havia permanecido na fase aquosa, podendo pois recorrer-se à maior parte das técnicas mencionadas. Mas a dipirona é facilmente oxidada, pelo que é frequente associar antioxidantes às respectivas fórmulas líquidas. Como se procurou adoptar um processo que pudesse ser utilizado posteriormen-te, todas as técnicas fundamentadas em processos oxidativos foram, à partida, rejeitadas.

Além das volumetrias ácido-base, das técnicas cromatográficas e de outras de execução prática complexa, poder-se-ia recorrer, então, às colorimetrias baseadas nas reacções com os aldeídos ou com o ácido nitroso. Nestas circunstâncias, seleccionou-se o método oficializado pela Farmacopeia do Japão (149) e que utiliza, como reagente de coloração, o p-dimetilaminocinamaldeído. Paralelamente, avaliou-se a especificidade do método, de modo a tentar esclarecer, na medida do possível, o respectivo fundamento.

Já a análise da estabilidade da dipirona apresenta outros requisitos e implica, como condição necessária, a determinação da molécula íntegra. Além disso, o doseamento simultâneo dos produtos de decomposição possibilita ainda o

eventual estudo das cinéticas de alteraçâo. Por estes motivos, recorreu-se à cromatografia líquida de alta pressâo, pois é um método rápido, versátil, sensível e específico. No entanto, e por uma questâo de ordenaçâo do trabalho, o desenvolvimento e a aplicaçâo desta técnica serâo expostos apenas no capítulo 3.

2.3.- PARTE EXPERIMENTAL

A dipirona comercial foi a matéria-prima utilizada na execução de todas as fases deste trabalho e os respectivos ensaios de verificação, indicados no Anexo I, basearam-se na monografia incluída na Farmacopeia do Japão (149): características físicas, reacções de identificação e de avaliação da pureza e doseamento. O método adoptado para a determinação da água foi o citado na Farmacopeia Portuguesa V (193). Paralelamente, registou-se o respectivo espectro no infravermelho e procedeu-se à análise granulométrica do pó, também apresentados no Anexo I.

2.3.1.- AVALIAÇAO DA CONSTANTE "APARENTE" DE ACIDEZ

A determinação da constante de acidez de um fármaco por titulação potenciométrica é um processo complexo e sujeito a inúmeras causas de erro. Segundo Benet e Goyan (194), qualquer resultado cujos limites de confiança sejam superiores a $\pm$ 0,04 é considerado duvidoso e os valores determinados a partir do ponto de semi-neutralização deverão ser denominados "constantes aparentes de dissociação" por, no seu cálculo, se ignorar a correcção devida à actividade iónica. Como referem os citados autores, esta rectificação é necessária sempre que a escala do potenciómetro utilizado permita apenas leituras superiores ou iguais a 0,01 unidades de pH, as concentrações das soluções ensaiadas estejam compreendidas entre 0,01 e 0,1 M, ou se proceda à adição de um sal destinado a garantir uma força iónica constante. De modo a minorar as eventuais causas de erro, deve executar-se o ensaio em atmosfera de azoto e a temperatura constante, usando soluções isentas de dióxido de carbono.

As condições disponíveis para a realização do ensaio afastavam-se, em certa medida, destes requisitos. Além disso, a solução de dipirona é, por si só, de natureza complexa e composição variável, podendo conter, no mínimo, três compostos diferentes. E a própria decomposição do

produto permitia apenas recorrer ao método gráfico de determinação do ponto de semi-neutralização.

Tendo em atenção os objectivos pretendidos, e de modo a verificar se os resultados obtidos apresentavam desvios significativos em relação aos valores reais, procedeu-se inicialmente à avaliação de uma constante de acidez descrita na literatura: o pK_{a2} do ácido fosfórico, cujo valor é 7,198 (195). De modo a tornar mais nítidas as inflexões da curva, utilizaram-se soluções 0,1 M.

2.3.1.1.- MATERIAL E MÉTODOS

As matérias-primas utilizadas foram dipirona comercial, fosfatos mono, di e trissódicos p.a. (Merck) e hidróxido de sódio p.a. (Merck).

A água destilada é produzida por termocompressão em destilador Ponzini (modelo BD / E - SA) e a respectiva resistividade está compreendida entre 0,8 e 1,0 MΩ.

As avaliações do pH e da diferença de potencial entre os eléctrodos indicador (de vidro) e de referência foram feitas num potenciómetro Metrohm AG 9100. A menor divisão da escala do referido aparelho correspondia a 0,05 unidades de pH ou 2 mV.

As curvas de titulação foram obtidas num registador Tarkan, modelo 610022, e o ritmo da titulação (2,5 ml/min) foi regulado com o auxílio de uma bomba peristáltica A.R.F., modelo MX-3. A agitação da solução foi feita com agitador magnético Heidolph (modelo 50710) à velocidade de 300 rpm.

As soluções a titular, de titulante e de tampão eram 0,1 M e o volume das tomadas de ensaio foi 50,0 ml.

2.3.1.2.-RESULTADOS

a) <u>Verificação da linearidade da relação pH/diferença de potencial entre os eléctrodos</u>

Determinaram-se, por cálculo, as quantidades de ácido

fosfórico, de ácido fosfórico e fosfato monossódico, de fosfatos mono e dissódicos, de fosfatos di e trissódicos, e de hidróxido de sódio necessárias para preparar soluções 0,1 M de pH 2,0; 4,5; 7,0; 9,0 e 12,0, respectivamente.

Os valores reais de pH e de diferenças de potencial entre os eléctrodos são os que constam no Quadro X e o gráfico correspondente encontra-se inscrito na Figura 9.

b) Determinação do pK_{a2} do ácido fosfórico

As curvas obtidas, de que se apresenta um exemplo na Figura 10, correspondem à titulação de 50,0 ml de solução de fosfato dissódico 0,1 M com ácido clorídrico 0,1 N.

Os valores do pk_{a2}, determinados por avaliação gráfica do ponto de semi-neutralização, foram 7,10 e 7,15.

c) Determinação da constante de acidez da dipirona

Os registos resultantes da titulação directa de 50,0 ml de solução de dipirona 0,1 M não apresentavam qualquer patamar correspondente a zonas de baixa variação de pH. Deste modo, utilizaram-se 50,0 ml de solução de dipirona 0,1 M adicionada, antes de se perfazer o volume pretendido, de 2,0 ml de solução de hidróxido de sódio N.

A determinação foi feita por quatro vezes e os pontos de semi-neutralização, obtidos também por avaliação gráfica, correspondiam aos valores de pH de 5,20; 5,40; 5,25 e 5,20.

Na Figura 11 é apresentada uma das referidas curvas de titulação.

2.3.1.3.- DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A obtenção de uma só zona da curva de titulação em que se verifica uma lenta variação das diferenças de potencial entre os eléctrodos permite apenas calcular um ponto de semi-neutralização. No entanto, existem em solução:

- dipirona, molécula anfotérica que possui carácter á-

QUADRO X

VALORES DE pH E DIFERENÇAS DE POTENCIAL ENTRE OS ELÉCTRODOS

pH	Diferenças de potencial (mV)
2,35	+271
4,65	+136
7,10	- 10
9,15	-124
11,80	-284

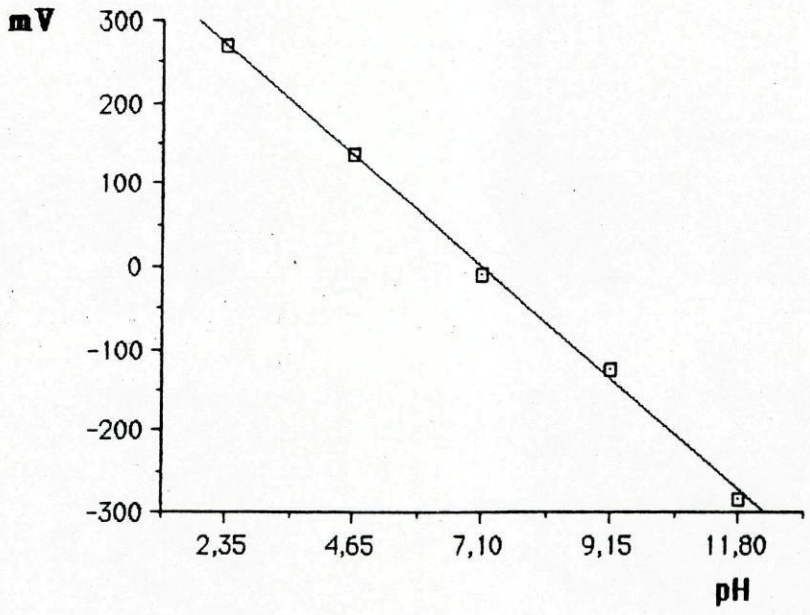


Fig. 9 - Relação gráfica pH/ diferença de potencial entre os eléctrodos

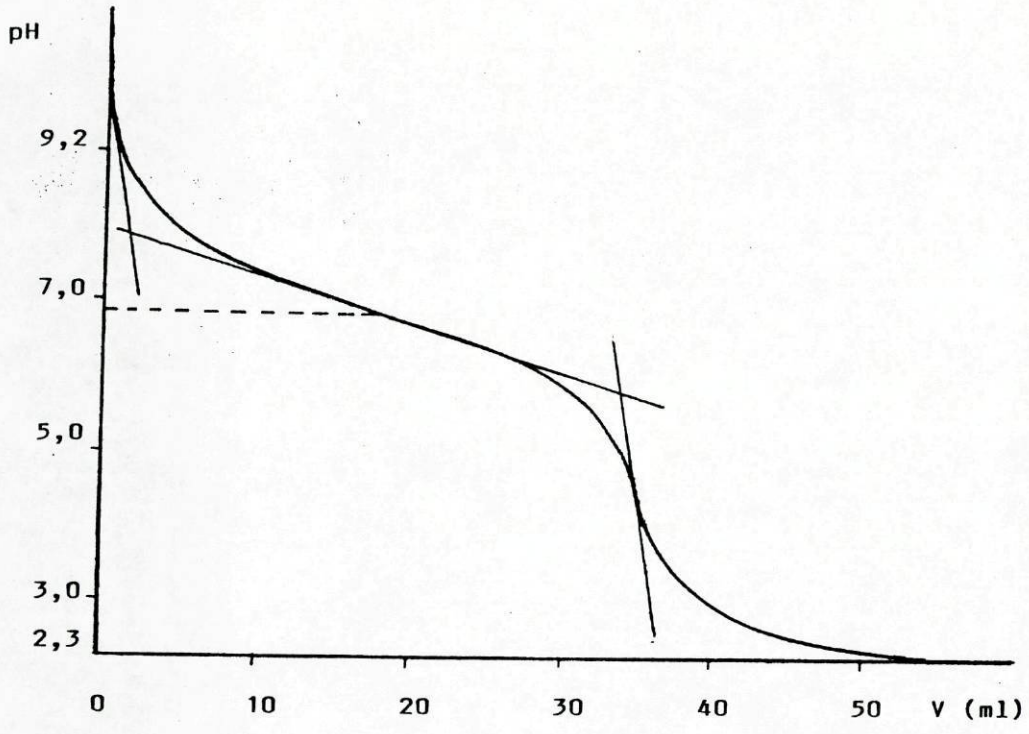


Fig. 10 - Titulação potenciométrica de fosfato dissódico

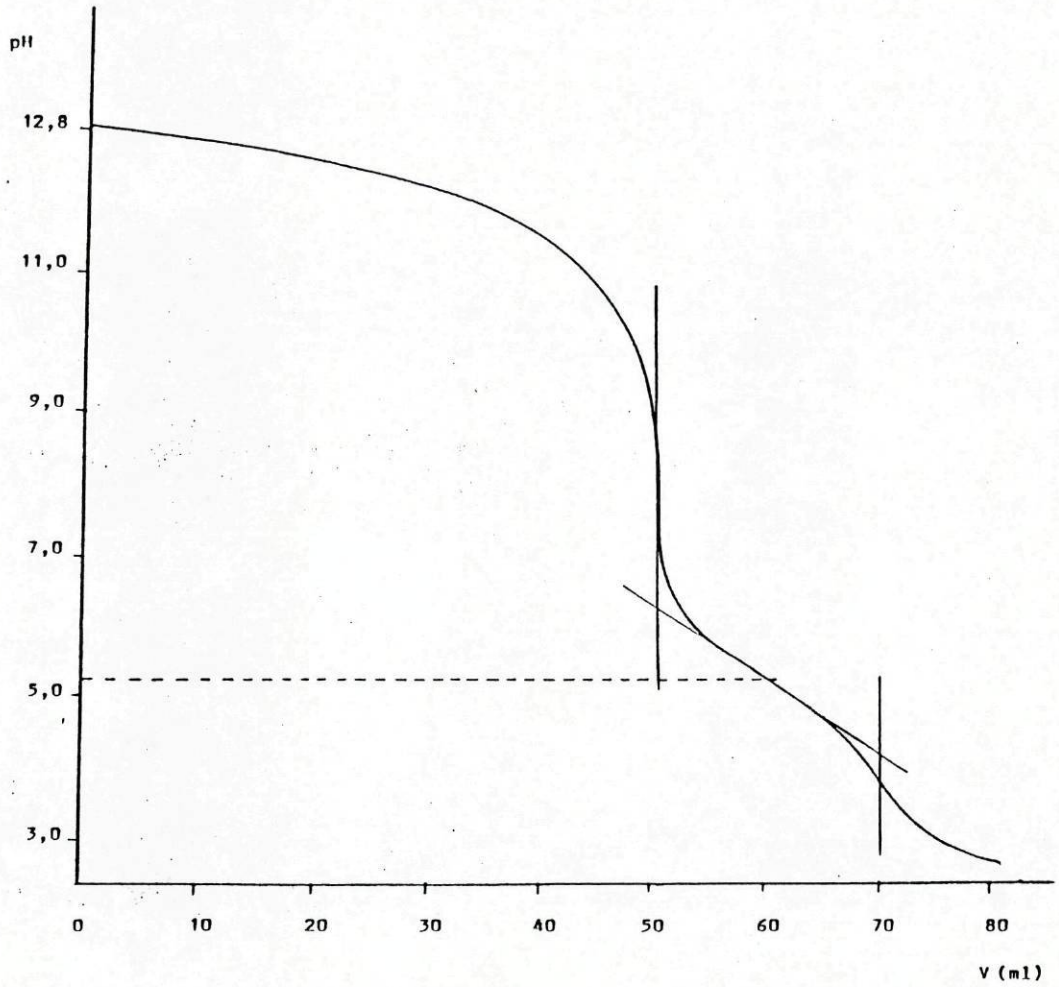


Fig. 11 - Titulação potenciométrica de dipirona

cido, devido ao radical sulfonilo, e básico, conferido pela amina terciária existente na posição 4,

- 4-metilaminoantipirina, também com características básicas, e

- hidroximetilsulfonato de sódio, base conjugada de uma partícula ácida.

Os ácidos sulfónicos são, de um modo geral, ácidos fortes, apresentando valores de pKa inferiores a 2 (195). Poder-se-á admitir, então, que o pKa da dipirona correspondente à protonação do radical sulfonilo seja também inferior àquele valor.

O ácido hidroximetilsulfónico deverá apresentar, por sua vez, um valor de pKa muito baixo. De facto, o pKa do ácido metilsulfónico descrito na literatura é -1,20 (195). E atendendo ao efeito -I do grupo hidroxilo poder-se-á pressupor, então, que o ácido hidroximetilsulfónico seja ainda mais forte que aquele composto.

Também em relação à 4-metilaminoantipirina não se encontrou, na literatura consultada, qualquer valor exacto de constante de dissociação. Apenas Yoshioka et al. (136) referem que o respectivo pKa é cerca de 4,0, aproximando-se, em certa medida, dos resultados obtidos.

Finalmente, e a respeito da ionização do grupo amina terciária da dipirona, serão consideradas duas hipóteses alternativas: ou é suficientemente afastado do valor determinado, sendo claramente superior a 9 ou inferior a 2, ou é próximo de 5. Neste último caso, poder-se-á admitir, então, que na referida zona do gráfico se verifica, simultaneamente, a protonação da 4-metilaminoantipirina e da dipirona.

A questão será deixada em aberto, já que os resultados obtidos em ensaios posteriores fornecem algumas indicações úteis para a sua resolução.

2.3.2.- ESTUDO DO MÉTODO COLORIMÉTRICO DE DOSEAMENTO DA DIPIRONA

A técnica proposta pela Farmacopeia do Japão (149) para o doseamento da dipirona em formas farmacêuticas baseia-se na reacção do fármaco com o p-dimetilaminocinamaldeído em meio fortemente ácido. Os aldeídos, devido à função carbonilo que possuem, reagem com grande parte das moléculas aminadas, originando iminas ou enaminas na presença de aminas primárias e secundárias, respectivamente(196). A reacção com aminas terciárias corresponde apenas a uma salificação (197).

De modo a verificar a especificidade do método, estudou-se a reactividade dos produtos de decomposição da dipirona com o referido reagente. E não tendo sido possível adquirir comercialmente padrões correspondentes a todos eles, utilizaram-se os três compostos gentilmente enviados pelos Laboratórios Hoechst e que são considerados, pela casa produtora, como os principais produtos resultantes da degradação do fármaco: 4-metilaminoantipirina, 4-aminoantipirina e 4-hidroxiantipirina.

Nestas circunstâncias, a técnica indicada foi aplicada a soluções destes compostos em concentrações próximas da aconselhada pela Farmacopeia do Japão, procedendo-se à localização dos respectivos máximos de absorção e à determinação das diferentes absorvências específicas.

2.3.2.1.- MATERIAL E MÉTODOS

Além da dipirona comercial e da água destilada, já referidas em 2.3.1.1., utilizou-se p-dimetilaminocinamaldeído (Sigma), etanol absoluto p.a. (MercK) e ácido acético glacial p.a. (Merck).

Os estudos colorimétricos foram realizados em espectrofotómetro Hitachi, modelo U-2000.

As pesagens foram realizadas em balança Mettler AE 163.

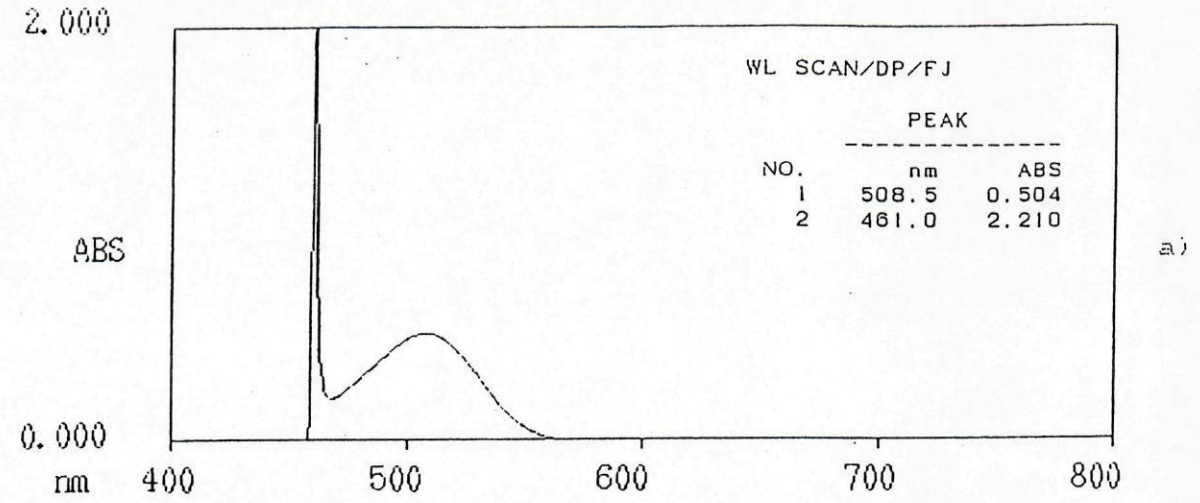
2.3.2.2.- RESULTADOS

A realização de um ensaio prévio, em que se utilizaram soluções com concentrações próximas das indicadas na técnica mencionada, permitiu concluir que a dipirona, a 4-metilaminoantipirina e a 4-aminoantipirina reagiam com o p-dimetilaminocinamaldeído.Como se pode verificar na figura 12, as duas primeiras soluções apresentam máximos de absorção a cerca de 508 nm e a terceira em 513,5 nm. Refere-se, no entanto, que a coloração das soluções de dipirona e de 4-metilaminoantipirina era alaranjada, ao passo que na de 4-aminoantipirina se verificava o desenvolvimento de cor vermelha.

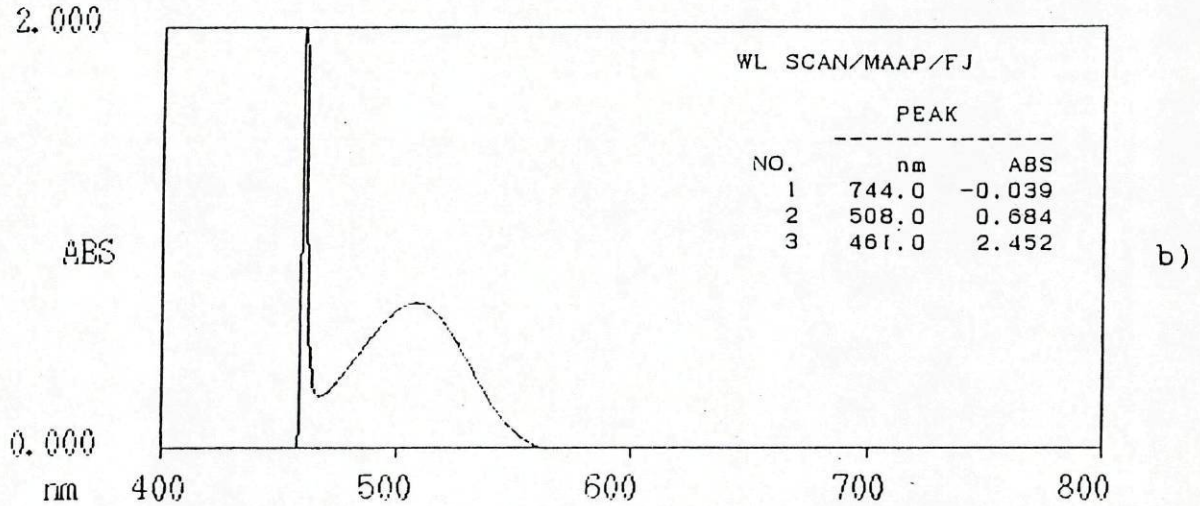
A solução contendo 4-hidroxiantipirina conservava, pelo contrário, a cor amarela característica do reagente e as respectivas absorvências eram nulas.

Nestas circunstâncias, prepararam-se soluções-problema daqueles três compostos com concentrações compreendidas entre 0,050 e 0,400 mg/100 ml. Na Figura 13 apresentam-se os gráficos que relacionam as absorvências determinadas com as concentrações utilizadas. Os valores das respectivas absorvências específicas, que correspondem à média dos dois resultados indicados entre parêntesis, são os seguintes:

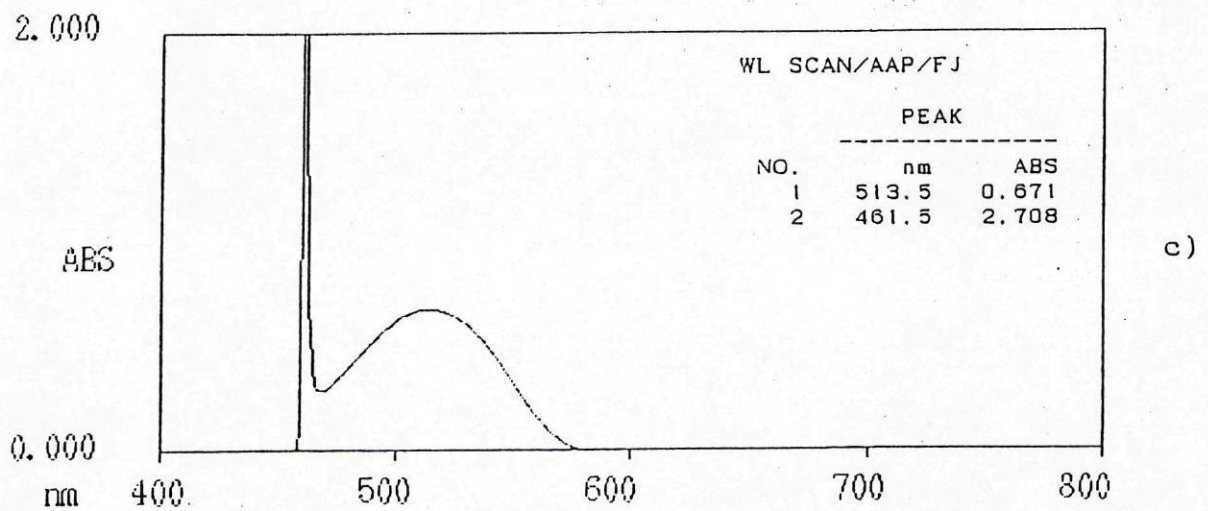
COMPOSTO	$A^{1\%}_{1cm}$	
DIPIRONA	2 396	(2418;2373)
4-METILAMINOANTIPIRINA	3 790	(3760;3821)
4-AMINOANTIPIRINA	3 050	(3033;3066)



a)

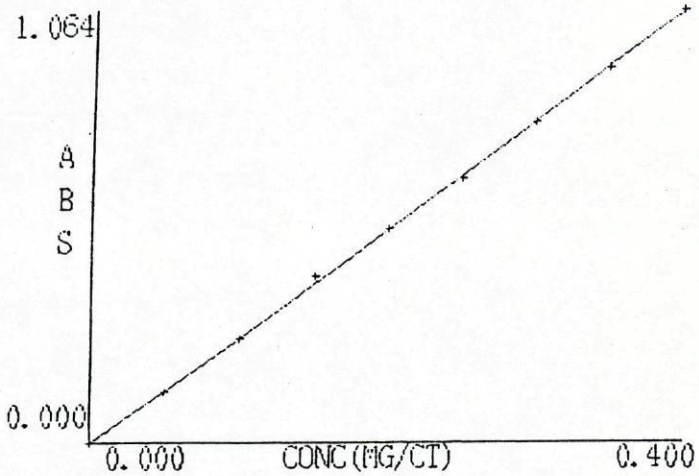


b)



c)

Fig. 12 - Espectros de absorção dos produtos de coloração de
a) dipirona
b) 4-metilaminoantipirina
c) 4-aminoantipirina

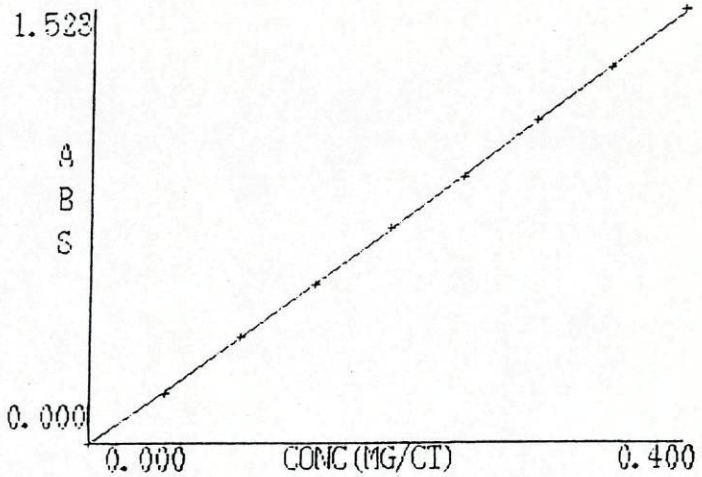


PHOTOMETRY/DIP/FJ

ID	ABS	CONC
STD 1	0.000	0.000
STD 2	0.134	0.050
STD 3	0.266	0.100
STD 4	0.415	0.150
STD 5	0.533	0.200
STD 6	0.658	0.250
STD 7	0.794	0.300
STD 8	0.925	0.350
STD 9	1.064	0.400

K= 0.378 A0= 0.003

a)

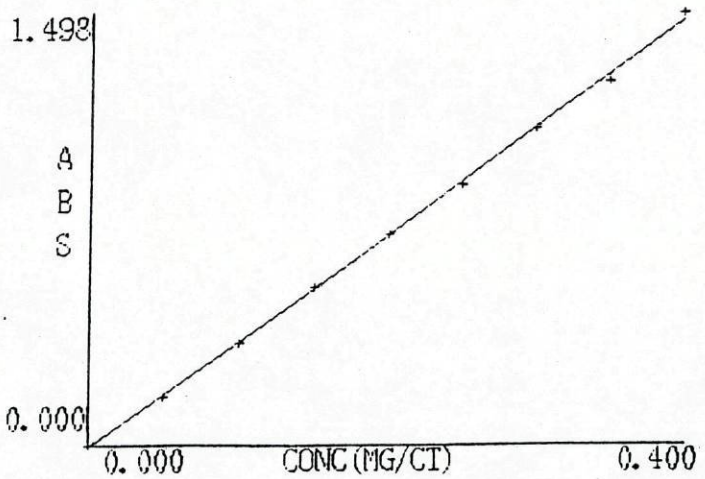


PHOTOMETRY/MAAP/FJ

ID	ABS	CONC
STD 1	0.000	0.000
STD 2	0.180	0.050
STD 3	0.381	0.100
STD 4	0.563	0.150
STD 5	0.759	0.200
STD 6	0.937	0.250
STD 7	1.135	0.300
STD 8	1.320	0.350
STD 9	1.523	0.400

K= 0.263 A0= -0.004

b)



PHOTOMETRY/AAP/FJ

ID	ABS	CONC
STD 1	0.000	0.000
STD 2	0.171	0.050
STD 3	0.359	0.100
STD 4	0.557	0.150
STD 5	0.737	0.200
STD 6	0.907	0.250
STD 7	1.102	0.300
STD 8	1.266	0.350
STD 9	1.498	0.400

K= 0.270 A0= -0.008

c)

Fig. 13 - Relaçôes gráficas entre as absorvências e as concentraçôes de:

a) dipirona (em 508,0 nm)

b) 4-metilaminoantipirina (em 508,0 nm)

c) 4-aminoantipirina (em 513,5 nm)

2.3.2.3.- DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

O desenvolvimento de coloração nos ensaios em que se utilizaram padrões correspondentes a alguns dos produtos de decomposição da dipirona comprova, de facto, que o método não é específico da molécula. E o p-dimetilaminocinamaldeído reage apenas, nas condições do ensaio, com o grupo amina ligado ao carbono 4 do núcleo pirazolónico, pois não há desenvolvimento de cor ao adicionar o reagente à 4-hidroxiantipirina. A falta de reactividade dos dois átomos de azoto existentes no anel pirazolónico dever-se-á certamente à sua total substituição, já que a reacção de um aldeído semelhante, o p-dimetilaminobenzaldeído, com os alcalóides indólicos constitui o fundamento de técnicas colorimétricas de doseamento deste último grupo de compostos (198).

Por outro lado, as colorações obtidas nos ensaios com dipirona e com 4-metilaminoantipirina são idênticas. Além disso, os compostos corados resultantes da reacção com o p-dimetilaminocinamaldeído originam espectros semelhantes e apresentam máximos de absorção em igual comprimento de onda. Nestas circunstâncias, poder-se-á admitir que a reacção química ocorrida é a mesma, sendo precedida, no caso concreto da dipirona, pela hidrólise total do produto.

Mas a formação de compostos corados iguais implica, necessariamente, que as intensidades de radiação absorvida sejam também as mesmas. E se a comparação das absorvências específicas não é legítima, já o confronto das absortividades molares permite tirar conclusões mais seguras. De facto, as absortividades molares da dipirona e da 4-metilaminoantipirina, calculadas teoricamente a partir das respectivas absorvências específicas, são 84070 e 82390, respectivamente. Os valores são muito próximos (e afastados do correspondente à 4-aminoantipirina: 61992), o que reforça a hipótese anteriormente admitida.

2.3.2.4.- CONCLUSÕES

1ª - O método de doseamento da dipirona baseado na reacção com o p-dimetilaminocinamaldeído nâo é específico da molécula íntegra.

2ª - Nas condições do ensaio, a 4-metilaminoantipirina proveniente da hidrólise da dipirona reage com o p-dimetilaminocinamaldeído.

3ª - Nas condições do ensaio, a 4-aminoantipirina proveniente da oxidação da 4-metilaminoantipirina reage também com o p-dimetilaminocinamaldeído.

4ª - Os resultados obtidos sugerem que os produtos de coloração resultantes das reacções da dipirona e da 4-metilaminoantipirina com o p-dimetilaminocinamaldeído sâo idênticos, podendo assim admitir-se a realização de estudos posteriores destinados a confirmar esta hipótese.

2.3.3.- AVALIAÇÃO DAS CARACTERISTICAS DE PARTILHA

As características de distribuição de um fármaco em líquidos imiscíveis exprimem-se numericamente através do denominado coeficiente de partilha, ou seja, da relação entre as quantidades de composto não dissociado existentes em ambas as fases depois de se atingir o equilíbrio de concentrações (121). De modo a possibilitar a avaliação do coeficiente de partilha de produtos ionizáveis, Martin (199) refere um processo matemático e complexo que pressupõe, no entanto, o prévio conhecimento do pKa do composto e a existência de um só fármaco em solução.

A dipirona é uma molécula fortemente polar, pelo que qualquer referência ao seu coeficiente de partilha se encontra, à partida, desprovida de fundamento científico. No entanto, a rápida alteração ocorrida em solução aquosa conduz ao aparecimento de compostos dotados de propriedades químicas completamente diferentes: são aminas secundárias e terciárias, podendo admitir-se, então, que participam em processos de partilha líquido-líquido.

Como foi referido em 2.1.2., a natureza dos produtos resultantes da hidrólise varia consoante o pH da fase aquosa, sabendo-se que nas soluções cujo pH esteja compreendido entre 3 e 7 se forma essencialmente 4-metilaminoantipirina em quantidades tanto maiores quanto menor for o pH das soluções. Já em meio mais ácido se verifica que, além daquele composto, aparece também 4-(N-hidroximetil-N-metil)aminoantipirina.

Devido à complexidade das soluções, não foi possível determinar o coeficiente de partilha de qualquer dos produtos de degradação, pelo que se avaliou a capacidade de partilha do conjunto dipirona/bases resultantes da decomposição, estudando-se o efeito da acidez nas características de distribuição do fármaco e dos respectivos produtos de degradação.

Mas as moléculas básicas constituem parte integrante de um equilíbrio químico que está permanentemente a ser

destruído. Nestas circunstâncias, não se estudou a partilha apenas como processo estático, mas também como fenómeno dinâmico. Por isso se recorreu a um aparelho da marca Desaga Resomat, avaliando-se assim a velocidade de passagem do fármaco para a fase orgânica e a respectiva variação em função do pH.

É habitual recorrer-se, no estudo de fenómenos de partilha, aos pares água/1-octanol e água/clorofórmio (121). No entanto, a utilização do referido aparelho condicionou a natureza do solvente apolar seleccionado, pois a sua concepção implica, como condição necessária, o uso de uma fase orgânica mais densa que a água: o clorofórmio.

O doseamento da dipirona na fase aquosa foi executado pelo processo colorimétrico incluído na Farmacopeia do Japão (149) e o conteúdo da fase clorofórmica foi avaliado por espectrofotometria no ultravioleta.

A composição dos extractos clorofórmicos foi analisada por cromatografia em camada fina, em dois tipos de eluentes básicos e dotados de diferentes características de polaridade: metanol:amónia (100:1,5) (63) e clorofórmio: isopropilamina (97:3) (200). Por não se ter encontrado qualquer referência ao comportamento espectrofotométrico da solução clorofórmica de 4-metilaminoantipirina, que, em princípio, seria o composto existente em maior quantidade, procedeu-se também à determinação dos respectivos máximos de absorção no ultravioleta e à avaliação da absorvência específica no comprimento de onda seleccionado.

2.3.3.1.- MATERIAL E MÉTODOS

Além da dipirona comercial e da água destilada, já referidas em 2.3.1.1., utilizaram-se os seguintes produtos: clorofórmio p.a., metanol p.a. (Merck), amónia p.a. (Merck), isopropilamina p.a. (BDH), cloreto de potássio p.a. (Merck), ácido clorídrico p.a. (Merck), biftalato de potássio p.a. (Merck), hidróxido de sódio p.a. (Merck), fosfato monossódico p.a. (Merck) e sulfato de sódio anidro

p.a. (Merck).

A análise cromatográfica em camada fina foi executada em placas de alumínio revestidas com gele de sílica 60 F_{254} (Merck) e usaram-se câmaras Camag previamente saturadas durante 24 horas.

Para a localizaçâo das manchas utilizou-se uma lâmpada de luz ultravioleta da marca Camag, modelo 29200, em 254 nm.

As leituras das absorvências dos ensaios colorimétricos foram obtidas em espectrofotómetro Cecil, modelo CE 292, e os espectros no ultravioleta em espectrofotómetro Hitachi, modelo 150-20.

A avaliaçâo da velocidade de passagem para a fase orgânica foi realizada em aparelho Desaga Resomat, modelo 14 70 00.

As soluçôes tampâo utilizadas foram as da USP XX/NF XV (201) e seleccionaram-se os seguintes valores de pH : 1,5 ; 3,0 ; 4,5 ; 6,0 e 7,2.

Ensaio de avaliaçâo das características de partilha

Técnica:- Para uma ampola de decantaçâo de 250 ml meça 50,0 ml de clorofórmio. Pese rigorosamente cerca de 0,300 g de dipirona, dissolva em 25,0 ml de soluçâo tampâo e junte ao clorofórmio. Lave o balâo com 25,0 ml de soluçâo tampâo e junte-os ao clorofórmio.

Agite a ampola de decantaçâo, em intervalos de tempo de 10 minutos, por 10 vezes. Ao fim de 30 minutos, separe a fase clorofórmica e seque-a com 0,5 g de sulfato de sódio anidro. Filtre.

Determinaçâo da velocidade de passagem para a fase orgânica

Técnica:- Para o recipiente exterior do aparelho Desaga Resomat meça 200 ml de clorofórmio. Pese rigorosamente cerca de 0,300 g de dipirona, dissolva em 25,0 ml de soluçâo tampâo e verta no recipiente interno do aparelho. Lave o

balão com 25,0 ml de solução tampão e verta também no referido recipiente.

Durante 75 minutos, em intervalos de tempo de 5 minutos, retire 5 ml da fase orgânica e, utilizando o dispositivo apropriado existente no aparelho, reponha o volume inicial adicionando 5 ml de clorofórmio.

2.3.3.2.- RESULTADOS

a) Verificação da composição dos extractos clorofórmicos.

A análise cromatográfica em camada fina das soluções clorofórmicas dos 3 padrões permitiu calcular os respectivos valores de Rf. Assim, no sistema metanol:amónia (100:1,5) aqueles valores eram 0,66; 0,59 e 0,56 para a 4-metilaminoantipirina, a 4-aminoantipirina e a 4-hidroxiantipirina, respectivamente. Quando se utilizava como eluente clorofórmio adicionado de isopropilamina (97:3), os valores de Rf dos três compostos eram, pela mesma ordem, 0,66; 0,46 e 0,09. Qualquer destes valores corresponde à média de 2 ensaios cujos resultados eram, para cada caso, muito semelhantes.

Os extractos clorofórmicos resultantes da agitação com soluções de dipirona de diferentes valores de pH originavam apenas uma mancha localizada a uma altura idêntica à da obtida, em ambos os sistemas, com a solução clorofórmica de 4-metilaminoantipirina padrão.

b) Avaliação da absorvência específica da solução clorofórmica de 4-metilaminoantipirina.

O estudo espectrofotométrico da solução clorofórmica de 4-metilaminoantipirina a 0,001% (m/v) permitiu concluir que apresentava um máximo de absorção em cerca de 258 nm.

De modo a compensar eventuais deslocações ou variações dos máximos de absorção provocadas pela alteração do pH das soluções aquosas, procedeu-se ao registo dos espectros e à

determinaçâo das absorvências da 4-metilaminoantipirina em clorofórmio que havia sido submetido a um tratamento idêntico ao indicado no parágrafo "Ensaio de avaliação das características de partilha". Os espectros eram semelhantes, apresentando-se na Figura 14 os correspondentes às soluções obtidas com clorofórmio que contactara com soluções tampão de pH 1,5 ; 3,0 e 6,0.

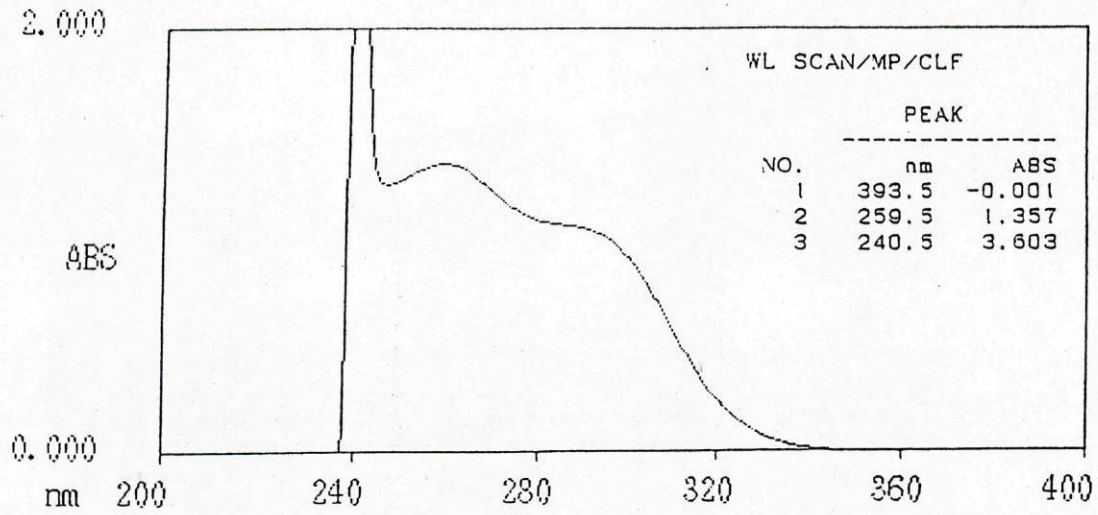
Procedeu-se, então, ao cálculo da absorvência específica das soluções clorofórmicas de 4-metilaminoantipirina e determinaram-se as absorvências correspondentes às concentrações de 0,25 ; 0,50 ; 0,75 ; 1,00 ; 1,25 ; 1,50 ; 1,75 e 2,00 mg/100 ml.

A relaçâo entre estas duas variáveis corresponde, em todos os casos, à equaçâo de uma recta, apresentando-se na Figura 15 os gráficos obtidos após agitaçâo com soluções tampão de pH 1,5 ; 3,0 e 6,0. Depois de se comprovar a lei de Lambert-Beer, no intervalo de concentrações seleccionado, calcularam-se as respectivas absorvências específicas. Realizaram-se 2 ensaios e os resultados estão indicados no Quadro XI. O valor médio é 576,4 $\pm$ 31,7 (P = 0,95).

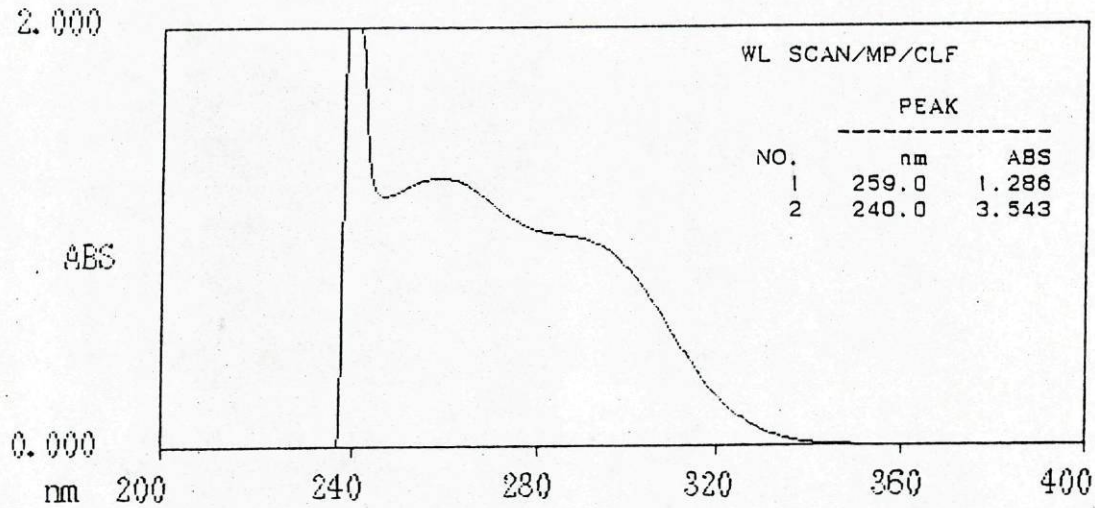
c) Ensaio de avaliaçâo das características de partilha.

As soluções de clorofórmio que haviam contactado com as fases aquosas de pH 3,0, 4,5, 6,0 e 7,2 originavam espectros no ultravioleta semelhantes, e dos quais se apresentam dois exemplos na Figura 16. Verifica-se, em todos eles, que o máximo de absorçâo é idêntico e igual ao das soluções de 4-metilaminoantipirina em clorofórmio.

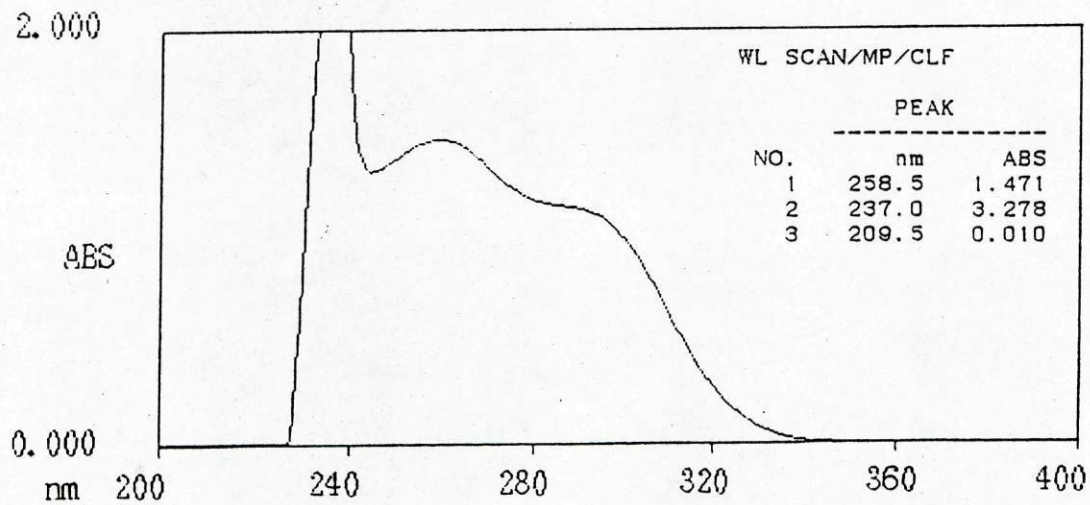
Já o espectro correspondente à fase clorofórmica que contactara com o tampão de pH 1,5 era, como se pode verificar na mesma figura, diferente dos restantes e também do espectro obtido dissolvendo 4-metilaminoantipirina em clorofórmio tratado com a mesma soluçâo tampão (Figura 14). No entanto, a análise cromatográfica de todas as soluções revelou, em ambos os eluentes, apenas uma mancha cujos valores de Rf coincidiam com o da 4-metilaminoantipirina.



a)

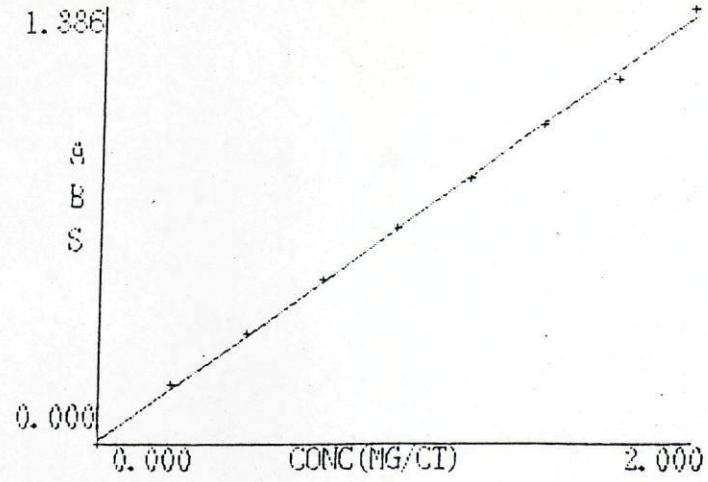


b)



c)

Fig. 14 - Espectros de absorção da 4-metilaminoantipirina em clorofórmio que contactara com soluções tampão de pH: a) 1,5; b) 3,0; c)6,0.

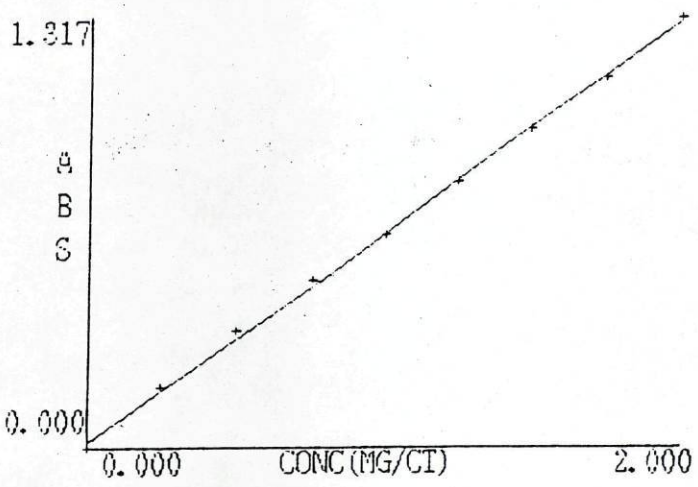


PHOTOMETRY/MP/CLF

ID	ABS	CONC
STD 1	0.000	0.000
STD 2	0.192	0.250
STD 3	0.356	0.500
STD 4	0.525	0.750
STD 5	0.688	1.000
STD 6	0.849	1.250
STD 7	1.017	1.500
STD 8	1.166	1.750
STD 9	1.386	2.000

K= 1.482 A0= 0.012

a)

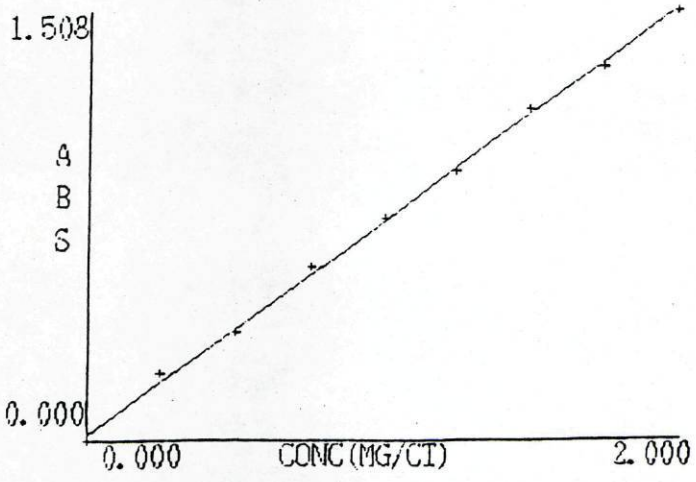


PHOTOMETRY/MP/CLF

ID	ABS	CONC
STD 1	0.000	0.000
STD 2	0.191	0.250
STD 3	0.364	0.500
STD 4	0.519	0.750
STD 5	0.661	1.000
STD 6	0.819	1.250
STD 7	0.979	1.500
STD 8	1.139	1.750
STD 9	1.317	2.000

K= 1.554 A0= 0.022

b)



PHOTOMETRY/MP/CLF

ID	ABS	CONC
STD 1	0.000	0.000
STD 2	0.235	0.250
STD 3	0.385	0.500
STD 4	0.606	0.750
STD 5	0.781	1.000
STD 6	0.941	1.250
STD 7	1.163	1.500
STD 8	1.318	1.750
STD 9	1.508	2.000

K= 1.341 A0= 0.025

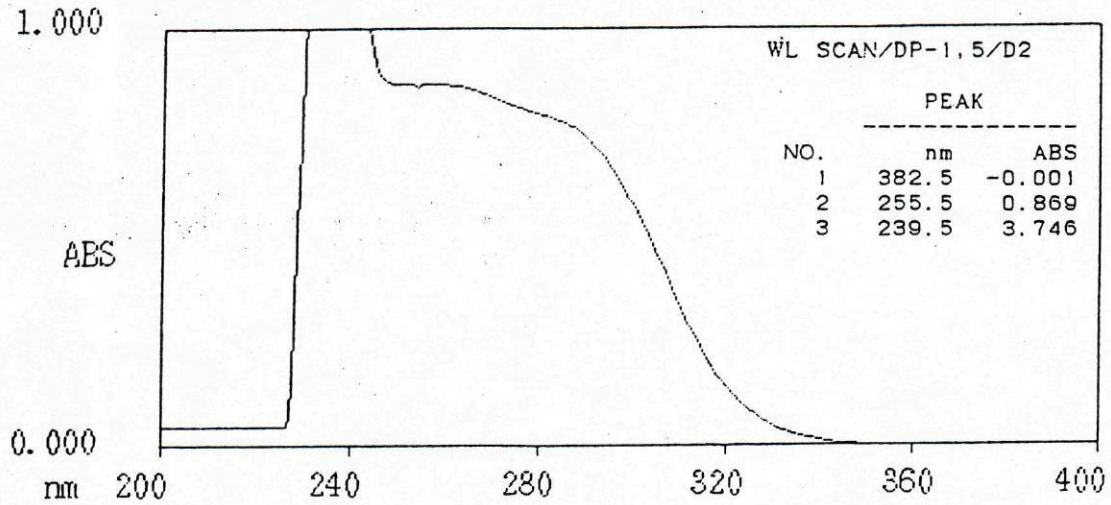
c)

Fig. 15 - Relações gráficas entre as absorvências, em 258 nm, e as concentraçôes de 4-metilaminoantipirina em clorofórmio que contactara com soluçôes tampão de pH: a) 1,5; b) 3,0; c) 6,0.

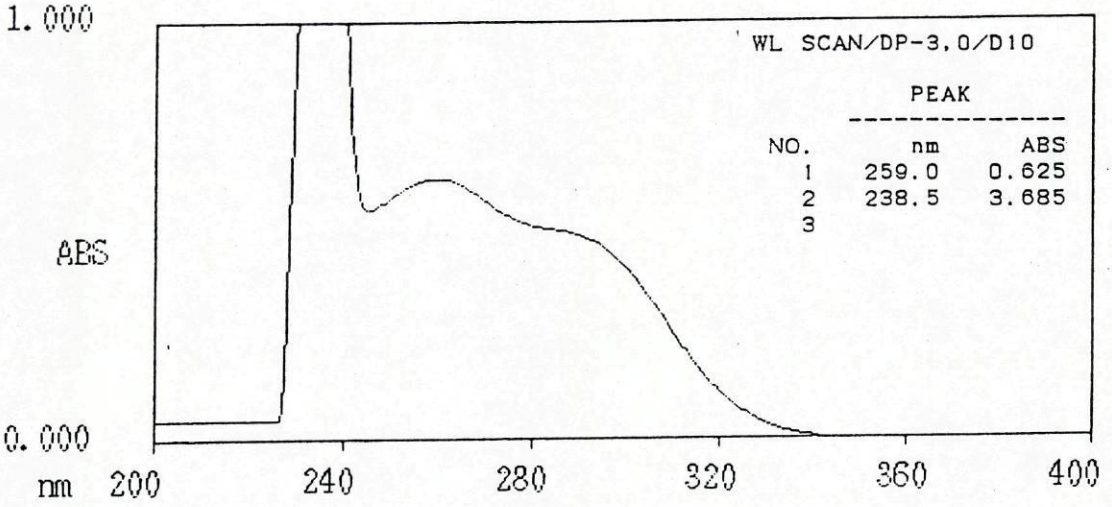
QUADRO XI

ABSORVENCIAS ESPECíFICAS DAS SOLUÇÖES DE 4-METILAMINOANTIPIRINA EM CLORÓFORMIO

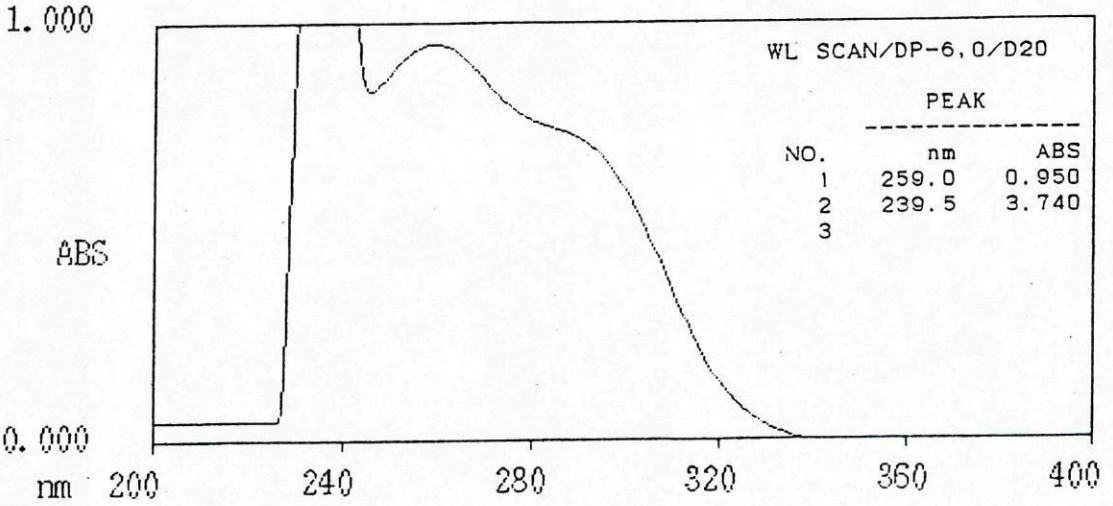
pH	$E^{1\%}_{1cm}$
1,5	572,5
	576,7
3,0	556,0
	584,0
4,5	560,0
	597,0
6,0	598,0
	569,0
7,2	570,0
	581,0



a)



b)



c)

Fig. 16 - Espectros de absorção dos extractos clorofórmicos que haviam contactado com soluções de dipirona a pH: a) 1,5; b) 3,0; c) 6,0.

De qualquer modo, e admitindo uma eventual interferência de outro composto no ensaio a pH 1,5, procedeu-se apenas à determinação do conteúdo da fase clorofórmica, expresso em 4-metilaminoantipirina, nos ensaios executados com as outras soluções tampão.

Os resultados obtidos encontram-se resumidos no Quadro XII, no qual se indicam os conteúdos das fases clorofórmicas, expressos em 4-metilaminoantipirina (médias de 4 resultados), os valores correspondentes, em mg de dipirona, e as quantidades de fármaco existentes nas fases aquosas (médias de 4 ensaios).

Ao relacionar, num sistema de eixos coordenados, os conteúdos das fases clorofórmicas e o pH, obteve-se uma recta cuja expressão gráfica se apresenta na Figura 17.

d) Determinação da velocidade de difusão da dipirona para a fase orgânica.

Pelos motivos indicados na alínea anterior, procedeu-se apenas à avaliação da velocidade de difusão da dipirona para a fase orgânica a partir de soluções de pH 3,0 ; 4,5 ; 6,0 e 7,2.

No Quadro XIII apresentam-se os resultados obtidos, indicando-se os conteúdos das fases clorofórmicas, expressos em 4-metilaminoantipirina.

Os gráficos que relacionam os conteúdos das fases clorofórmicas com o tempo encontram-se nas Figuras 18, 19, 20 e 21 (individualizados), e 22 (em conjunto), e apresentam duas fases distintas: à primeira, mais lenta, segue-se outra, mais rápida e linear.

As inclinações das rectas, que correspondem às velocidades de difusão respeitantes à totalidade da área da interfase, encontram-se esquematizadas no Quadro XIV.

Finalmente, e como se pode verificar na Figura 23, há uma relação linear entre as velocidades de difusão para a fase orgânica e o pH da solução aquosa.

QUADRO XII

CONTEúDO DAS FASES CLOROFóRMICA, EXPRESSO EM 4-METILAMINOANTIPIRINA, E AQUOSA, EXPRESSO EM DIPIRONA

pH	FASE CLOROFóRMICA MAAP (mg) <> DIP (mg)	FASE AQUOSA DIP (mg)
3,0	3,64 ± 0,32 <> 5,89 ± 0,52	295,81 ± 2,26
4,5	5,36 ± 0,93 <> 8,67 ± 1,50	291,84 ± 4,84
6,0	7,56 ± 1,59 <> 12,22 ± 2,63	286,25 ± 3,19
7,2	9,45 ± 1,37 <> 15,28 ± 2,21	286,31 ± 5,40

MAAP - 4-metilaminoantipirina
DIP - dipirona
P = 0,95

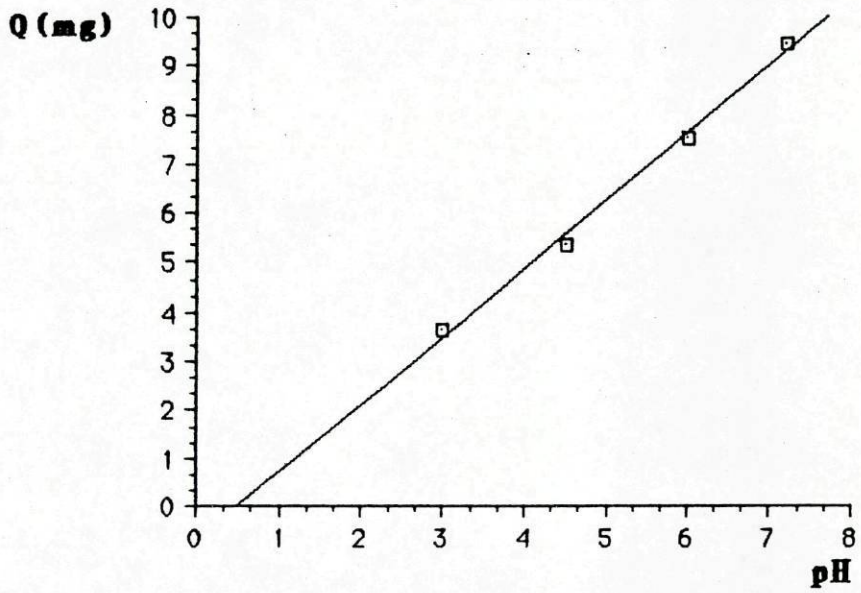


Fig. 17 - Relação entre o conteúdo da fase clorofórmica e o pH da solução de dipirona

QUADRO XIII

VARIAÇÃO DO CONTEúDO DA FASE CLOROFóRMICA EM FUNÇÃO DO pH E DO TEMPO

TEMPO (min)	Conteúdo da fase clorofórmica, em mg de 4-metilaminoantipirina			
	pH 3,0	pH 4,5	pH 6,0	pH 7,2
5	0,00	0,74 ± 0,12	0,50 ± 0,09	0,10 ± 0,31
10	0,11 ± 0,03	1,05 ± 0,11	0,89 ± 0,10	0,57 ± 0.08
15	0,13 ± 0,03	1,11 ± 0,08	1,13 ± 0,08	1,17 ± 0,10
20	0,19 ± 0,01	1,31 ± 0,08	1,60 ± 0,03	1,99 ± 0,06
25	0,28 ± 0,04	-	1,88 ± 0,06	2,81 ± 0,05
30	0,26 ± 0,13	2,28 ± 0,10	2,35 ± 0,02	3,92 ± 0,09
35	0,27 ± 0,02	2,60 ± 0,17	3,35 ± 0,05	4,65 ± 0,09
40	0,40 ± 0,05	3,00 ± 0,08	4,34 ± 0,05	5,32 ± 0,08
45	0,46 ± 0,06	3,46 ± 0,17	5,07 ± 0,05	7,08 ± 0,15
50	0,48 ± 0,05	4,08 ± 0,29	6,02 ± 0,07	10,63 ± 0,29
55	0,56 ± 0,04	4,73 ± 0,20	6.56 ± 0,11	9,88 ± 0.09
60	0,58 ± 0,09	5,41 ± 0,18	7,96 ± 0,11	11,84 ± 0,12
65	0,65 ± 0,06	6,09 ± 0,23	8,87 ± 0,11	12,06 ± 0,10
70	0,69 ± 0,05	-	9,76 ± 0,12	13,29 ± 0,24
75	0,77 ± 0,04	-	10,88 ± 0,20	15,26 ± 0,15

P = 0,95

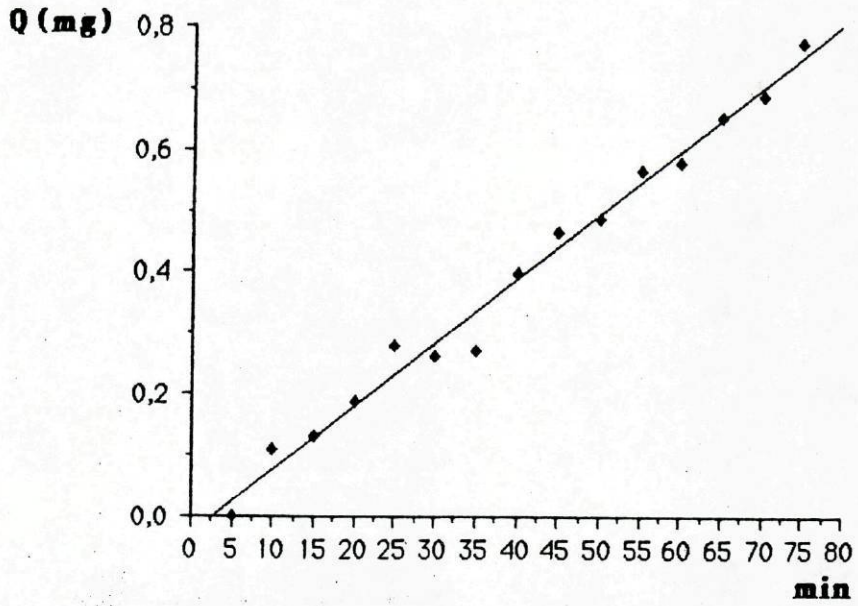


Fig. 18 - Conteúdo da fase clorofórmica em função do tempo (pH=3,0)

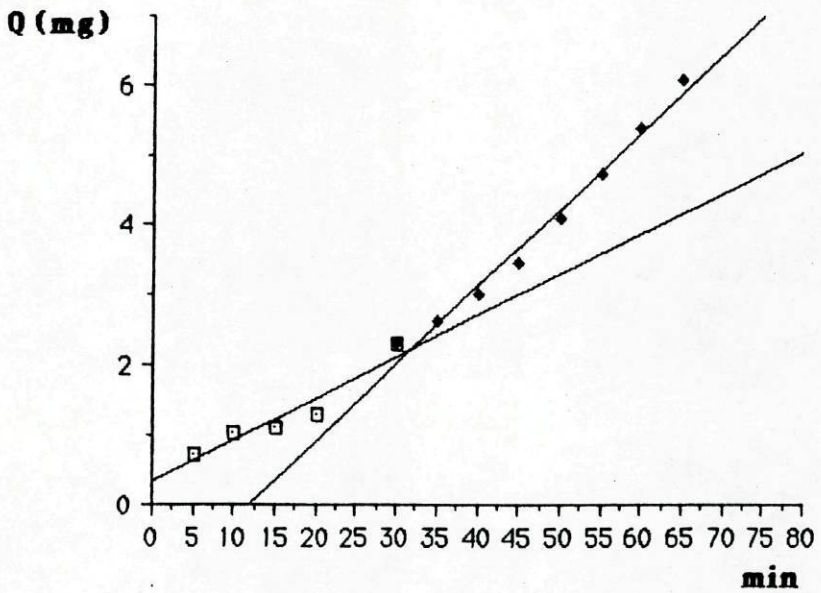


Fig. 19 - Conteúdo da fase clorofórmica em função do tempo (pH=4,5)

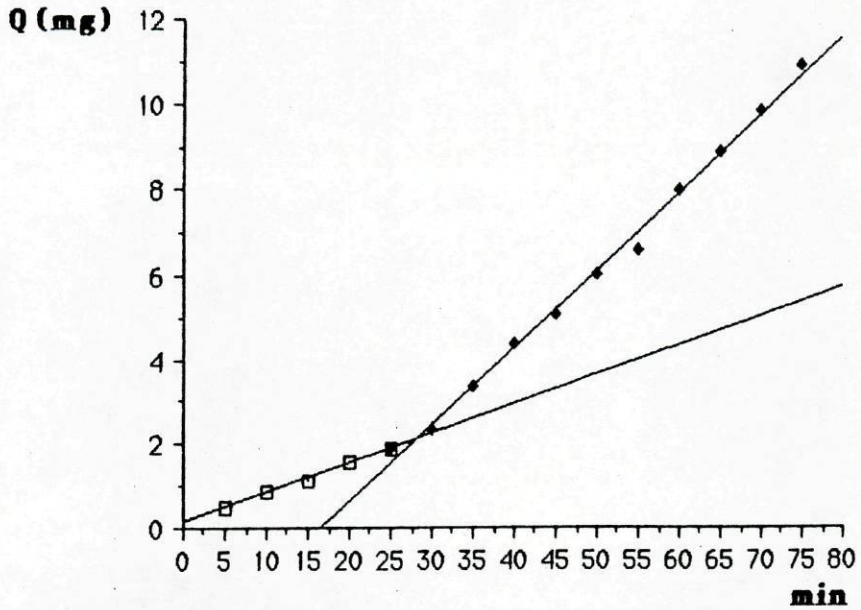


Fig. 20 - Conteúdo da fase clorofórmica em função do tempo (pH=6,0)

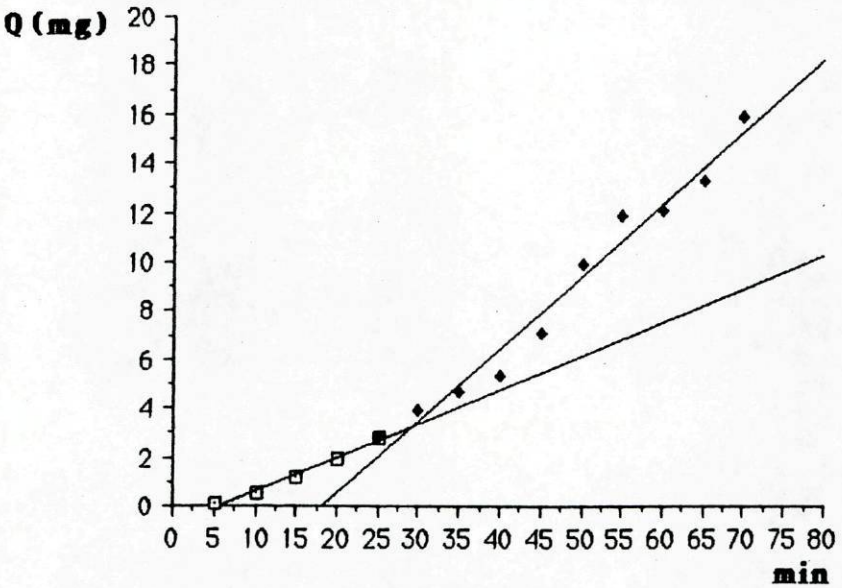


Fig. 21 - Conteúdo da fase clorofórmica em função do tempo (pH=7,2)

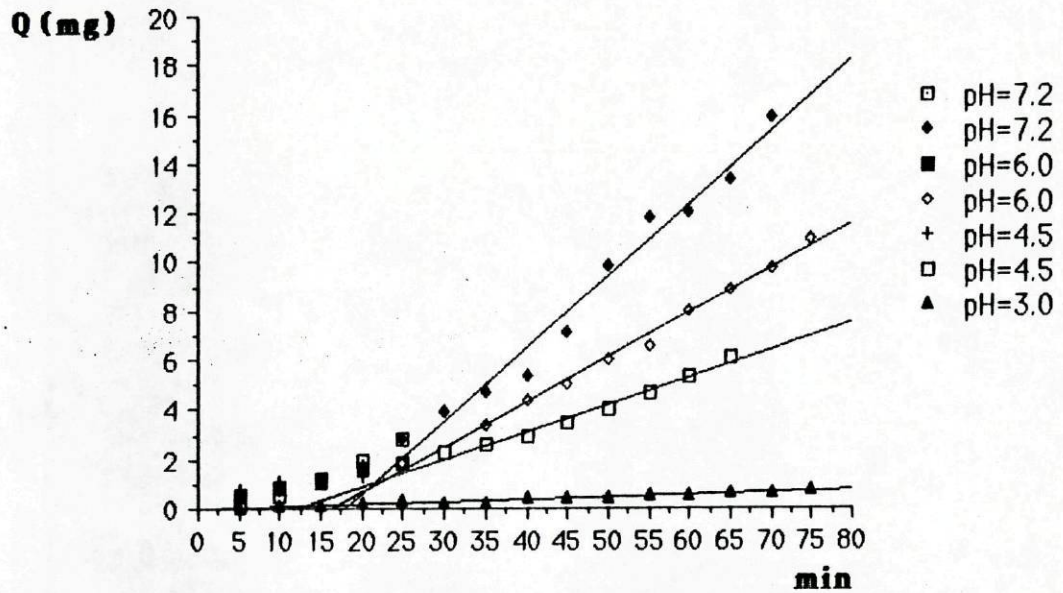


Fig. 22 - Variação do conteúdo das fases clorofórmicas em função do tempo e do pH

QUADRO XIV

VELOCIDADES DE DIFUSÃO EM FUNÇÃO DO pH

pH	VELOCIDADE ($mg.min^{-1}$)
3,0	0,010
4,5	0,111
6,0	0,182
7,2	0,294

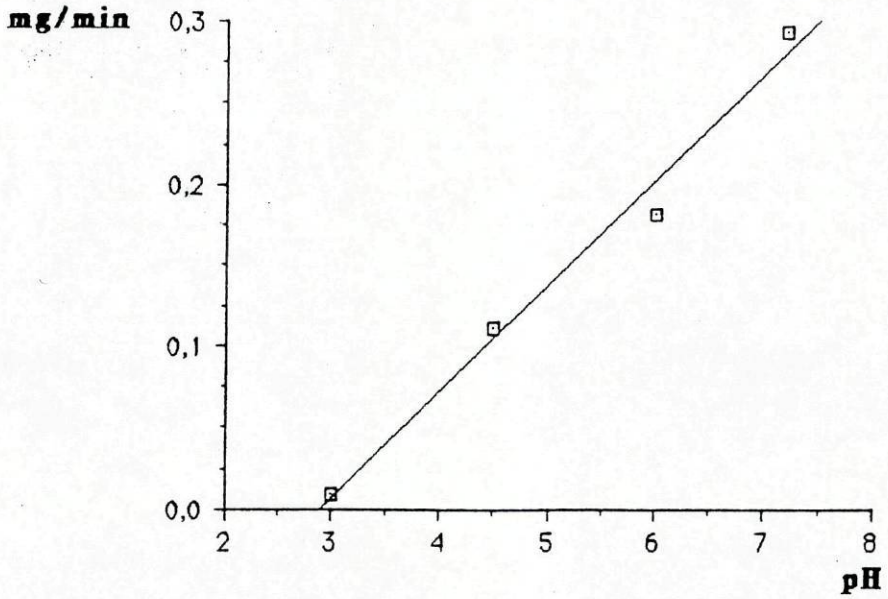


Fig. 23 - Velocidades de difusão em função do pH

2.3.3.3.- DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Os resultados da verificação da composição dos extractos clorofórmicos são concordantes com os trabalhos de Yoshioka et al. (136) segundo os quais os produtos resultantes da hidrólise da dipirona variam consoante o pH do meio. De facto, a análise cromatográfica em camada fina demonstra que, para os valores de pH compreendidos entre 3,0 e 7,2 inclusivé, se forma essencialmente 4-metilaminoantipirina ; obtêm-se realmente manchas com um valor de Rf igual ao da substância padrão e os espectros no ultravioleta são semelhantes aos obtidos com o referido composto.

Pelo contrário, o ensaio realizado com dipirona dissolvida em tampão de pH 1,5 não permitiu realizar qualquer doseamento, já que, embora não se notassem diferenças significativas na análise cromatográfica, o espectro no ultravioleta era diferente do espectro obtido por tratamento da solução tampão de pH 1,5 com clorofórmio e posterior solubilização da 4-metilaminoantipirina. Este facto sugere a interferência de, pelo menos, outro produto.

Os resultados da avaliação das características de partilha do par dipirona/bases resultantes da decomposição demonstram, por outro lado, que o pH da fase aquosa é um factor determinante do grau de lipossolubilidade, cujo aumento acompanha a subida de pH. Paralelamente, existe também linearidade entre o pH e o conteúdo da fase clorofórmica, expresso em 4-metilaminoantipirina. Nestas circunstâncias, poder-se-á concluir que é a influência da concentração hidrogeniónica na percentagem de moléculas básicas existentes sob a forma não iónica que condiciona a lipossolubilidade, parecendo anular o efeito da acidez no grau de hidrólise da dipirona (recorde-se que, no equilíbrio hidrolítico, a quantidade de dipirona existente sob a forma íntegra é tanto menor quanto menor for o pH do meio).

Os resultados obtidos na determinação da velocidade de lipossolubilização das moléculas básicas permitem verificar esta estreita correlação entre o valor do pH da fase aquosa

e a quantidade de "fármaco" cedido para a fase clorofórmica. Mas a própria temporização dos ensaios demonstra que, a uma primeira fase de lipossolubilização lenta, se segue uma outra, rápida e regular. Embora a variação do conteúdo da fase orgânica seja, no decorrer dos primeiros 20 a 25 minutos, aparentemente linear (as rectas inscritas nos diferentes gráficos foram obtidas a partir deste pressuposto), considerou-se que os valores dos correspondentes coeficientes de correlação não garantiam o grau de certeza adequado. De qualquer modo, é nítida a inflexão verificada nos gráficos obtidos a partir das soluções aquosas de pH 4,5, 6,0 e 7,2.

Com a finalidade de tentar explicar esta variação brusca da velocidade de passagem do fármaco para o clorofórmio, convirá recordar que, na fase aquosa, existem dipirona, molécula ionizada e lipoinsolúvel, e moléculas básicas sob a forma ionizada e não ionizada. Assim, a passagem das bases para a fase orgânica, que decorre a uma determinada velocidade, depende da velocidade de alteração da dipirona e do equilíbrio químico, variável consoante o pH do meio, entre as formas iónica e não iónica das referidas bases.

Em fenómenos que envolvem dois processos cujas velocidades sejam diferentes, qualquer inflexão no respectivo registo gráfico corresponde, em regra, a um ponto em que aquelas se igualam. Nestas circuntâncias, poder-se-á admitir que a primeira fase corresponde a um período de tempo durante o qual o equilíbrio hidrolítico entre a dipirona e a 4-metilaminoantipirina ainda não havia sido alcançado. A este propósito, deve notar-se que a inflexão ocorre ao fim de 25 a 30 minutos e que o referido equilíbrio se verifica apenas, segundo Yoshioka et al. (136), ao fim de 4 a 5 horas. Além disso, a lipossolubilização não depende apenas da velocidade de alteração da dipirona, mas também do equilíbrio químico en-tre as formas ionizada e não-ionizada das moléculas básicas.

O fenómeno poderá ser explicado se se atender, não à alteração da dipirona ou à dissociação das moléculas

básicas, mas à velocidade a que se estabelece o gradiente de concentraçôes em formas nâo-ionizadas existente entre ambas as fases. De facto, no tempo zero nâo existe, em termos absolutos, qualquer diferença entre as concentraçôes de ambas as fases, pois a soluçâo aquosa contém, apenas, um composto lipoinsolúvel: a dipirona. Contudo, e à medida que o fármaco se decompôe, a diferença de concentraçôes vai aumentando. A velocidade inicial de variaçâo do gradiente é baixa (inferior à velocidade de passagem do fármaco para o clorofórmio) e condiciona a velocidade global do processo. Ao fim de um determinado tempo, ambos os fenómenos ocorrem a velocidade igual, verificando-se então a inflexâo do gráfico. A partir desta altura, é a velocidade de lipossolubilizaçâo (inferior à velocidade de variaçâo do gradiente de concentraçôes em moléculas básicas nâo-ionizadas) que regula a cinética geral do fenómeno.

Sabe-se que, em ensaios deste tipo, a velocidade de difusâo se deveria processar de acordo com uma equaçâo de ordem um, pois a quantidade de fármaco lipossolubilizado vai aumentando e a quantidade de produto existente na fase aquosa diminui.

Mas, durante o período de realizaçâo do ensaio, o gradiente aumenta, já que o equilíbrio químico entre a dipirona e a 4-metilaminoantipirina ainda nâo foi alcançado. Assim, a capacidade de difusâo para o clorofórmio encontra-se "saturada" e o processo adquire uma cinética de ordem zero. Todavia, e até mesmo depois de se atingir o referido equilíbrio químico, pode admitir-se que a difusâo obedece também a uma cinética de ordem zero, pois a passagem da molécula básica para a fase orgânica destruí-lo-á permanentemente. Deste modo, nova fracçâo de dipirona será hidrolisada, mantendo praticamente constante a quantidade de 4-metilaminoantipirina existente na fase aquosa e transformando, assim, um processo de ordem 1 numa cinética aparente de ordem zero.

2.3.3.4.- CONCLUSÕES

1ª - A absorvência específica da solução de 4-metilaminoantipirina em clorofórmio é de 576,4 ± 31,7.

2ª - No sistema água/clorofórmio, nas condições do ensaio e para valores de pH compreendidos entre 3,0 e 7,2, verifica-se a lipossolubilização do principal produto resultante da hidrólise da dipirona, a 4-metilaminoantipirina.

3ª - No sistema água/clorofórmio, nas condições do ensaio e para valores de pH compreendidos entre 3,0 e 7,2, existe uma relação linear, de inclinação positiva, entre o conteúdo da fase clorofórmica, expresso em 4-metilaminoantipirina, e o pH da solução aquosa de dipirona.

4ª - No sistema água/clorofórmio, nas condições do ensaio e para valores de pH compreendidos entre 3.0 e 7,2, existe uma relação linear, de inclinação positiva, entre a velocidade de lipossolubilização das moléculas básicas provenientes da decomposição da dipirona e o pH do meio aquoso onde esta se encontra dissolvida.

CAPITULO III

SOLUÇOES INJECTAVEIS

3.1.- INTRODUÇAO

Como se indicou no Prefácio, a bibliografia consultada e respeitante à estabilidade das formas injectáveis de dipirona é escassa e, por vezes, contraditória.

Perante a insuficiência de referências disponíveis, a estrutura da parte introdutória deste capítulo será diferente da utilizada anteriormente, nâo se fazendo qualquer resenha teórica inicial a partir da qual se delineariam os objectivos a alcançar. Pelo contrário, a finalidade desta fase do trabalho é já conhecida e consiste na avaliaçâo da estabilidade de diferentes fórmulas da soluçâo injectável. Assim, a apresentaçâo da parte experimental será precedida por um estudo teórico de formulaçâo no qual se justificarâo os critérios adoptados para a selecçâo dos adjuvantes, da técnica de preparaçâo e do material de acondicionamento.

Por outro lado, sabe-se também que as soluçôes de dipirona de elevada concentraçâo apresentam uma coloraçâo amarela característica cuja intensidade é fortemente atenuada pela esterilizaçâo, sendo habitual associar-se a perda de cor a uma maior estabilidade da preparaçâo. Este fenómeno foi também objecto de estudo, pois pode ser utilizado para fundamentar um método simples, mas eficaz, de verificaçâo do cumprimento das normas de fabrico da fórmula.

A cromatografia líquida de alta pressâo foi, como se referiu e justificou no capítulo anterior, o método adoptado para a análise da estabilidade da soluçâo injectável de dipirona. Pelos motivos expostos em 3.2.1., as condiçôes de separaçâo utilizadas sâo diferentes das descritas na literatura. E atendendo ao facto de, durante o desenvolvimento da técnica, terem surgido situaçôes imprevisíveis e complexas, far-se-á também referência detalhada à afinaçâo do método. Além disso, a análise de cromatogramas obtidos a partir de amostras semelhantes, mas submetidas a condiçôes de eluiçâo diferentes, fornece algumas indicaçôes úteis para a posterior discussâo dos resultados.

3.1.1.- ESTUDO DE FORMULAÇÃO

A preparação de qualquer forma farmacêutica deve garantir, entre outras características, a estabilidade química do(s) fármaco(s) incorporado(s). Com esta finalidade, e perante os resultados do trabalho de pré-formulação, procede-se a um estudo comparativo das acções desempenhadas por diferentes tipos de adjuvantes na manutenção, durante um período de tempo o mais lato possível, da integridade da(s) molécula(s) activa(s).

Mas os compostos utilizados nos ensaios de formulação não poderão circunscrever-se apenas àquele tipo, pois a própria natureza física da forma farmacêutica e a via de administração adoptada implicam, frequentemente, a inclusão de outros produtos.

A solução injectável de dipirona é um sistema líquido homogéneo, pelo que a possibilidade de decomposição do fármaco se encontra aumentada. No entanto, apresenta uma característica que a diferencia das formas farmacêuticas para administração parentérica usualmente preparadas: é uma solução altamente concentrada. Além disso, ao primeiro produto de degradação do fármaco é atribuído papel relevante na eficácia terapêutica da preparação.

Nestas circunstâncias, serão estas as condicionantes do estudo teórico de formulação. De igual modo, constituirão também os parâmetros considerados fundamentais para a posterior análise dos resultados.

3.1.1.1.- FORMULAÇÃO DA SOLUÇÃO INJECTAVEL

As soluções injectáveis devem apresentar um conjunto de características destinadas a proporcionar ao doente, durante e após a administração, o menor risco e a maior comodidade. Por isso se exige que sejam estéreis, apirogénicas, isentas de partículas em suspensão, isotónicas e dotadas de um pH próximo da neutralidade (202).

Para a realização dos três primeiros objectivos, recor-

re-se à utilização de matérias-primas de elevada qualidade, à preparação em condiçôs ambientais adequadas e à execução, na altura devida, das operaçôes tecnológicas apropriadas. Pelo contrário, é à adição de adjuvantes diversos, como os isotonizantes e os correctores de pH, que se deve a concretização dos outros dois requisitos. Finalmente, os conservantes eventualmente incluídos na formulação destinam-se a complementar, em algumas situaçôes, a acção da esterilização ou das condiçôes ambientais de fabrico na garantia da esterilidade da preparação.

Todavia, a importância relativa de cada uma destas características é variável: qualquer preparação injectável deve ser estéril, mas os respectivos valores de osmolaridade ou de pH podem variar entre limites mais ou menos amplos e dependentes do volume de líquido a administrar ou do efeito terapêutico pretendido.

A solução injectável de dipirona é uma preparação cuja osmolaridade se afasta significativamente do valor fisiológico. De facto, a principal vantagem deste composto em relação ao piramido é a circunstância de ser cerca de 14 vezes mais solúvel em água (123), possibilitando a administração de doses elevadas de fármaco (1 g) em pequenos volumes de líquido. Deste modo, a concentração habitualmente utilizada em fórmulas injectáveis é de 50%, à qual corresponde uma osmolaridade física próxima de 2,850 osm/l, ou seja, cerca de 10 vezes superior à do soro sanguíneo.

A elevada concentração do fármaco poderia ainda dificultar um eventual ajustamento do pH da solução, pois a quantidade de sistema tampão a adicionar deveria ser também elevada, o que agravaria ainda mais a hiperosmolaridade da fórmula. No entanto, o pH da solução aquosa de dipirona a 50% é 6,95, pelo que não é necessário, considerando apenas a compatibilidade com os líquidos orgânicos, incluir um corrector de pH.

A presença de conservantes depende das condiçôes adoptadas para garantir a esterilidade da fórmula, e é obrigatório utilizá-los sempre que se processem a temperatura in-

ferior ou igual a 100ºC (193). Atendendo ao facto de a esterilizaçâo pelo calor húmido a 121ºC proporcionar maior eficácia (202), foi esta a temperatura escolhida e prescindiu-se da adiçâo de conservantes. A discussâo do binómio temperatura-tempo de esterilizaçâo será concluída em 3.1.1.3. e 3.1.2., pois os valores seleccionados dependem também da estabilidade da molécula perante o calor e da atenuaçâo da cor da soluçâo.

3.1.1.2.- ESTABILIZAÇÃO DA SOLUÇÃO DE DIPIRONA

Os trabalhos respeitantes à estabilidade da dipirona, já mencionados em 2.1.2., foram realizados em soluçôes de baixa concentraçâo: Yoshioka et al. (135,136,137) e Ono et al. (134) utilizaram soluçôes cujo teor em fármaco nâo ultrapassou 1,5%, tendo Pechtold (131,132,133) estudado a decomposiçâo de soluçôes a 5%.

No entanto, também naquele subcapítulo se refere que o grau de hidrólise do fármaco é tanto menor quanto maior fôr a concentraçâo da soluçâo. Este fenómeno havia já sido detectado por Yoshioka et al. (135,136) e foi estudado por Samejima (139), em soluçôes de concentraçâo compreendida entre 0,5% e 5%, e por Pechtold (144), que recorreu a valores situados entre 1 e 50%. Krötsch et al. (142) e Ebel e Rost (143) estudaram, por cromatografia em camada fina e posterior quantificaçâo espectrofotométrica no ultravioleta, a estabilidade de soluçôes simples de dipirona a 50%, e Pellerin e Letavernier (141) recorreram a soluçôes a 37,5% e avaliaram o respectivo grau de decomposiçâo por cromatografia em fase gasosa.

Os resultados obtidos nestes quatro últimos trabalhos sâo concordantes e traduzem uma elevada resistência do produto à hidrólise. De facto, as percentagens de dipirona íntegra encontradas sâo sempre superiores a 94%. E embora Pechtold (144) nâo tenha procedido ao estudo da variaçâo do grau de hidrólise em funçâo do tempo, Ebel e Rost (143) determinaram graus máximos de hidrólise da ordem dos 4% em

soluções conservadas à temperatura ambiente durante 5 anos. Por sua vez, Krötsch et al. (142) situaram em 95% a percentagem de molécula íntegra avaliada, ao fim de 12 anos, em soluções mantidas também à temperatura ambiente.

Ao aumento da concentração de dipirona poder-se-á associar uma maior estabilidade do produto, já que a diferença entre concentração molar e concentração activa será cada vez maior.

De qualquer modo, Dubash e Moore (200) aconselham a utilização de antioxidantes e catalisadores negativos na preparação das respectivas fórmulas líquidas. Por outro lado, Samejima (139) conclui também que as soluções de dipirona contendo bissulfito de sódio e formol são mais estáveis que as soluções simples. Refere-se, no entanto, que estes autores fundamentam as suas conclusões em estudos realizados com soluções de baixa concentração (3,5% e 1%, respectivamente).

Verifica-se, assim, que o estudo da estabilidade das soluções a 50% se circunscreveu apenas às soluções simples, ao passo que a proposta de inclusão de adjuvantes diversos destinados a evitar a eventual alteração do fármaco se baseou em ensaios executados com soluções de baixa concentração. Nestas circunstâncias, pareceu útil avaliar o contributo real da presença de alguns compostos na estabilização da solução injectável de dipirona. Atendendo a que o grau de hidrólise das soluções simples a 50% é baixo e a 4-metilaminoantipirina é dotada de intensa actividade terapêutica, foi a alteração oxidativa da molécula que se pretendeu diminuir. Por isso, os primeiros adjuvantes ensaiados foram os antioxidantes e os agentes sequestrantes.

A selecção do tipo de antioxidante a utilizar foi condicionada pela estrutura química da molécula e pelo respectivo mecanismo de alteração. Recorde-se que a dipirona é uma molécula sulfonada cuja hidrólise origina hidroximetilsulfonato de sódio, podendo ainda este composto decompor-se, consoante as características do meio de dissolução, em al-

deído fórmico e bissulfito de sódio. Deste modo, a adição de um derivado do ácido sulfuroso poderia induzir, por efeito do iâo comum, uma melhoria da estabilidade da fórmula.

Os sulfitos, bissulfitos e metabissulfitos constituem um dos grupos de antioxidantes mais utilizados em sistemas aquosos, embora se possa recorrer, com igual finalidade, à tioureia, ao ácido ascórbico ou aos ésteres do ácido gálhico de menor peso molecular. Todavia, apresentam a limitação de poderem reagir com a(s) substância(s) activa(s) ou com outros compostos existentes na solução, o que anula a respectiva acção estabilizante e aumenta o grau de alteração do(s) fármaco(s) (203). De facto, as moléculas que contêm grupos carbonílicos, e especialmente os aldeídos, originam, na presença deste tipo de compostos, os respectivos derivados sulfónicos. Neste caso concreto, pelos motivos anteriormente referidos e além do efeito do iâo comum, a eventual reacção com o formaldeído resultante da hidrólise da dipirona seria, pelo contrário, benéfica e traduziria uma diminuição do grau de hidrólise do fármaco.

Os valores de pKa do ácido sulfuroso sâo 1,89 e 7,21 (195). De acordo com as recomendações de Schroeter (204), e atendendo ao pH da solução de dipirona a 50%, admitiu-se que a utilização de um sulfito se traduziria, em certa medida, por uma repetição do ensaio com bissulfito. De igual modo, também o metabissulfito origina, após dissolução em água e consoante o pH do meio, sulfito e bissulfito. Todavia, a cada um destes iões correspondem diferentes teores percentuais de SO_2 (50,8, 61,6 e 67,4% para o sulfito, o bissulfito e o metabissulfito sódicos (205)) e, consequentemente, diferentes graus de actividade antioxidante. Por isso se optou pelo estudo comparativo dos dois sais que, teoricamente, apresentariam maior eficácia: o bissulfito e o metabissulfito. Por outro lado, poder-se-iam utilizar, no decurso da parte experimental do trabalho, os respectivos sais sódicos, potássicos ou amoniacais. De modo a nâo introduzir diferentes catiões na fórmula, a escolha final recaiu sobre o bissulfito e o metabissulfito de sódio.

Os derivados do ácido sulfuroso são utilizados, habitualmente, em concentraçôes inferiores ou iguais a 0,1 ou 0,2% (203). Mas a selecção da quantidade de anti-oxidante baseou-se na própria natureza da forma farmacêutica ensaiada, já que se pretendia preparar uma solução injectável de dipirona a 50% acondicionada em ampolas de 2 ml. Segundo os cálculos indicados por Schroeter (204), e partindo do pressuposto de que o volume vazio da ampola é 1 ml, poder-se-á concluir que os 8,56 x 10^{-3} milimoles de oxigénio aí existentes consumirão, após oxidação total, cerca de 1,778 mg de bissulfito de sódio. Seria necessário, portanto, que a concentração final de bissulfito de sódio existente na solução injectável fosse próxima de 0,09%. A quantidade de metabissulfito de sódio equivalente, do ponto de vista estequiométrico, àquele volume de oxigénio seria menor, pois o respectivo teor percentual em SO_2 é maior. Nestas circunstâncias, a concentração de antioxidante utilizada nas diferentes formulaçôes foi de 0,1% .

Com o objectivo de anular o efeito de catálise oxidativa dos iões metálicos eventualmente presentes, é usual incluir também nestas fórmulas os denominados agentes sequestrantes, como ácidos hidroxilados (cítrico ou tartárico), derivados dos ácidos aminopolicarboxílicos (EDTA) ou compostos sulfurados de estrutura química diversa (monotiossorbitol ou tioureia). Porém, os sais do ácido etilenodiaminotetracético contêm seis átomos coordenadores, o que lhes confere um elevado poder quelante de iões metálicos de diferentes valências. Além disso, apresentam também um grau de inocuidade adequado à utilização em soluções injectáveis de pequeno volume (203). Assim, o catalisador negativo ensaiado foi o sal dissódico do ácido etilenodiaminotetracético e adoptou-se a concentração de 0,01%, já que corresponde ao valor habitualmente aconselhado para este tipo de compostos.

3.1.1.3.- PREPARAÇÃO E ACONDICIONAMENTO

A técnica de preparação da solução injectável de dipirona deverá obedecer aos cuidados inerentes à manipulação de produtos facilmente oxidáveis: utilização de água isenta de oxigénio e enchimento das ampolas, quando executado pelo vazio, em atmosfera de gás inerte. A estas recomendações se referem Pellerin e Letavernier (141) e Dubash e Moore (200), que demonstraram a aceleração da degradação oxidativa das soluções de dipirona a 3,5 % acondicionadas em ampolas em que o ar não havia sido substituído por azoto.

Deste modo, utilizou-se como solvente água destilada recentemente fervida e resfriada, e procedeu-se à dissolução do fármaco depois de solubilizar os diferentes estabilizantes ensaiados. Porém, a substituição do ar existente no volume vazio da ampola apresentou maiores dificuldades de execução laboratorial: a utilização de anidrido carbónico poderia eventualmente afectar a acidez da fórmula e aumentar o grau de hidrólise da dipirona, ao passo que o recurso ao azoto, devido à sua densidade, obrigaria a cuidados técnicos adicionais, de difícil reprodutibilidade e baixa segurança. Assim, e atendendo ainda à elevada estabilidade descrita para as soluções de dipirona, não se utilizou qualquer gás inerte durante a manipulação da solução.

Refere-se, finalmente, que o método de enchimento adoptado foi o unitário, pois a lavagem dos colos da ampolas cheias por vazio se afigurava, devido à elevada concentração da solução, de difícil realização, podendo até falsear os resultados da avaliação da estabilidade.

A selecção do tipo de vidro destinado a acondicionar a solução merece uma justificação mais pormenorizada. Optou-se, à partida, por um vidro do tipo II, pois é o mais resistente ao ataque hidrolítico das soluções neutras ou ácidas (208). Todavia, poder-se-ia utilizar ainda um vidro transparente ou corado. De facto, a luz apresenta um efeito catalisador dos processos oxidativos e é referida por alguns

autores como um dos responsáveis pela alteração da dipirona (131,132,133,200). No entanto, a coloração do vidro resulta da inclusão, na sua estrutura, de diferentes tipos de sais metálicos que são, por sua vez, poderosos catalisadores de reacções de oxidação-redução. Paralelamente, o ataque à superfície interna do vidro, durante a armazenagem à temperatura ambiente ou no decorrer da esterilização, é tanto mais acentuado quanto maior fôr a concentração da solução.

Perante um eventual agravamento da cedência dos metais existentes nas ampolas de vidro corado, e de acordo com as recomendações gerais de alguns autores (202,207), foi o vidro transparente o primeiro material ensaiado, devendo a solução ser conservada ao abrigo da luz. Esta opção, que corresponde de facto às condições experimentais (manutenção das ampolas no interior de estufas em ensaios de decomposição acelerada), poderia eventualmente ser alterada consoante os resultados experimentais obtidos.

O processo de esterilização seleccionado foi, como se referiu em 3.1.1.1., o calor húmido sob pressão à temperatura de 121°C, pois constitui um método seguro de destruição dos microrganismos em solução aquosa (208). Além disso, as informações contidas na bibliografia consultada e respeitantes à termossensibilidade do fármaco não ofereciam qualquer limitação à utilização de uma temperatura desta ordem de grandeza. Por razões que serão expostas em 3.1.2., o tempo de esterilização adoptado foi de 30 minutos.

3.1.2.- INCOMPATIBILIDADES. ACÇÃO TERAPEUTICA.

Certamente devido à sua elevada osmolaridade, a solução injectável de dipirona origina, quando administrada directamente por via endovenosa, lesões circulatórias nas regiões próximas do local de aplicação. Deste modo, é frequente diluí-la em injectáveis de grande volume. Todavia, e embora a molécula seja dotada de elevada reactividade, só se encontrou um estudo respeitante a incompatibilidades do fármaco.

De facto, Yoshioka et al. (209) estudaram o comportamento da dipirona na presença da glucose e isolaram e identificaram três produtos de reacção: a formilmetil-aminoantipirina, a N-[2-(5-hidroximetil-2,3,4,5-tetrahidro-2,3,4-trihidroxi)furil]-metil-N-metilantipirina, que se passará a designar por "metilamino-antipirina-glucose", e o piramido, que resulta da hidrólise da "metilaminoantipirina-glucose".

Os mesmos autores estudaram ainda (210) a acção terapêutica da "metilaminoantipirina-glucose" e concluiram que a molécula apresenta cerca de 60% da acção analgésica da dipirona. Nesse trabalho, Yoshioka et al. avaliaram também a acção de outros produtos de decomposição da dipirona na anulação da dor e verificaram que as potências analgésicas do antipirinil-peróxido e da 4-metilaminoantipirina correspondem, respectivamente, a cerca de 50 e 140% da da dipirona. Perante este último valor, os autores admitiram que a acção farmacológica da dipirona seria causada pela 4-metilaminoantipirina e não pela molécula íntegra, dependendo a potência analgésica das velocidades de cedência e de hidrólise do fármaco.

3.1.3.- A COLORAÇÃO DA SOLUÇÃO INJECTAVEL

As soluções aquosas de dipirona apresentam uma coloração amarela cuja intensidade depende não só da concentração do fármaco e das características do meio de dissolução, mas também das condições de conservação. Assim, Dubash e Moore (200) referem a progressiva intensificação da cor da solução ao longo do tempo e Erbe (211) verifica que as soluções de dipirona contendo os ácidos etilenodiamino-tetracético e cítrico permaneciam incolores ao fim de vários dias de exposição à luz, enquanto as soluções simples adquiriam cor amarela apenas ao fim de 18 horas.

Embora Béguin e Engel (212) atribuam a coloração da solução à presença de uma impureza na matéria-prima, o fenómeno é habitualmente relacionado com as características de estabilidade da dipirona. De facto, a iminobisantipirina, o

bismetilantipirinilmetano e o ácido metilrubazónico (composto vermelho responsável pela alteração da cor da urina humana (17)) resultam da degradação do fármaco e contribuiem, provavelmente, para o progressivo amarelecimento das soluções.

Mas as soluções injectáveis de dipirona apresentam ainda uma outra característica: tornam-se praticamente incolores após a esterilização. Descrita na literatura (200) mas nunca justificada, a atenuação da cor é associada, por oposição ao fenómeno anterior, a uma melhoria das condições de estabilidade da forma farmacêutica. Este facto é mencionado por Béguin e Engel (212), que se referem também à relação entre o binómio temperatura/tempo de esterilização e o grau de descoloração.

Nestas circunstâncias, avaliaram-se algumas características da solução injectável antes e depois de ser submetida às condições necessárias para provocar a máxima atenuação da cor. Por isso se aqueceu a solucão a 121°C durante 30 minutos, período de tempo que, atendendo ao volume de líquido contido em cada ampola, se afigura excessivo para conseguir apenas um efeito esterilizante.

3.2.- PARTE EXPERIMENTAL

A apresentação do trabalho experimental respeitante a este capítulo será dividida em três partes, correspondendo a primeira à exposição do desenvolvimento da técnica cromatográfica e as restantes à indicação dos resultados obtidos na avaliação da estabilidade e no estudo da cor das soluções injectáveis contendo dipirona.

3.2.1.- ANALISE CROMATOGRAFICA

O recurso à cromatografia líquida de alta pressão como método de análise da dipirona já foi anteriormente justificado: além de ser o processo mais seguro de doseamento da molécula íntegra, permite também a avaliação simultânea dos respectivos produtos de decomposição. Encontraram-se descritas, na literatura consultada, três técnicas deste tipo e com esta finalidade: as de Yoshioka et al. (137,138) e a de Eddine et al. (191).

O modo operatório proposto por Eddine é em fase reversa e isocrático, sendo o eluente constituído por metanol:água: :trietanolamina (50:50:0,025). A detecção é feita em 254 nm e o padrão interno é a fenacetina. A metodologia adoptada pelos autores foi a de obtenção das melhores condições de separação de uma mistura de padrões contendo o próprio fármaco e os 3 compostos considerados como principais produtos de degradação: 4-metilaminoantipirina, 4-aminoantipirina e 4-hidroxiantipirina. A análise é rápida, pois a fenacetina, que é o composto com maior tempo de retenção, é detectada ao fim de 12 minutos. Os autores aplicam posteriormente o método à análise de formas farmacêuticas comercializadas, sólidas e líquidas, e concluem que apresentam elevada estabilidade.

Yoshioka et al., ao estudarem a decomposição oxidativa da dipirona em solução aquosa (137), doseiam a 4-metilaminoantipirina e a 4-aminoantipirina também em fase reversa e utilizando um eluente constituído por metanol e água nas

proporções de 90:10. Já no estudo da decomposição do fármaco no estado sólido (138), a fase movél é constituída por aqueles dois líquidos em percentagens diferentes (73 para 27) e os cromatogramas obtidos são mais demorados (cerca de 35 minutos). Refere-se, contudo, que os autores identificam dipirona, 4-metilaminoantipirina, 4-formilaminoantipirina, 4--formilmetilaminoantipirina, piramido e 4-metilaminoantipirinilperóxido. Em ambos os casos a detecção é feita em 254 nm.

Como se referiu em 2.1.2 a alteração da dipirona em solução aquosa pode originar nove produtos de decomposição. Atendendo aos factos de as amostras a ensaiar poderem eventualmente corresponder a uma mistura de todos estes compostos e de se dispor apenas de 4 padrões, não se adoptou a metodologia seguida por Eddine et al. (191). Pelo contrário, e depois de se ter verificado que a técnica proposta por Yoshioka et al. (138) não fornecia resultados satisfatórios quando se utilizu o material disponível, optou-se por seleccionar novas condições cromatográficas que permitissem separar o maior número de constituintes de uma solução de dipirona artificialmente degradada. Posteriormente, procedeu-se à identificação e ao doseamento dos diferentes produtos para os quais se dispunha de padrões. Para garantir maior exactidão dos resultados, o método escolhido para a análise quantitativa foi o do padrão interno (213).

De acordo com os critérios de selecção das condições de trabalho em cromatografia líquida de alta pressão (213), e sabendo que os pesos moleculares dos compostos a separar eram inferiores a 2000, foi a cromatografia em fase reversa a ténica adoptada. O enchimento da coluna era constituído por partículas de sílica revestidas, em fase ligada, por cadeias lipófilas em C_{18}. Devido ao relativo grau de pureza da solução, não se recorreu a qualquer tipo de pré-coluna.

O cromatógrafo utilizado na realização do trabalho estava munido de um detector espectrofotométrico no ultravioleta, sistema que, de acordo com a literatura consultada

(213), é adequado para o estudo deste tipo de compostos. E embora o aparelho possibilitasse a análise em qualquer comprimento de onda, a detecção foi feita em 254 nm, permitindo assim a posterior aplicação do método a outros cromatógrafos cujos sistemas de detecção não fossem tão versáteis. Depois de se fixarem as condições de separação, procedeu-se também à verificação da lei de Lambert-Beer, em 254 nm, para os diversos padrões disponíveis.

Durante o período de acerto da técnica, os cromatogramas foram obtidos num registador. Quando se iniciaram os ensaios quantitativos, passou a utilizar-se um integrador, já que a precisão dos resultados fornecidos é de 0,5 % (213).

O desenvolvimento da técnica baseou-se na metodologia geral descrita por Johnson e Stevenson (213) e os critérios adoptados visavam a utilização preferencial do sistema metanol/água como fase móvel (por razões económicas) e de condições isocráticas de separação (conferindo então maiores versatilidade e reprodutibilidade à técnica escolhida). No entanto, a complexidade da solução, quer devido ao número de compostos eventualmente presentes, quer devido à natureza dos mesmos (moléculas ácidas, básicas e anfotéricas), sugeria o recurso à eluição em gradiente e à fixação da respectiva concentração hidrogeniónica.

Ao procurar afinar o método modificando apenas a composição da fase móvel, todas as outras variáveis foram arbitrariamente fixadas em valores considerados "usuais" na literatura (213). Assim, estabeleceu-se que a velocidade de fluxo seria 1 $ml.min^{-1}$; o valor de sensibilidade introduzido no cromatógrafo no decorrer dos ensaios com o registador foi 0,05 $AUFS.mV^{-1}$, enquanto a atenuação escolhida para o trabalho com o integrador foi de 8.

De igual modo, também o diâmetro das partículas que constituem a fase estacionária deveria ter sido previamente fixado. Todavia, e atendendo ao facto de esta característica se relacionar com a eficácia da separação, procedeu-se ainda ao estudo comparativo de duas colunas cujo enchimento

apresentava diferentes dimensões: 5 e 10 μm. Ensaiaram-se, também, dois valores (3 e 6) de sensibilidade de detecção à largura de pico e optou-se pela utilização do segundo.

Refere-se, finalmente, que se seleccionou um conjunto de condições que possibilitassem maior rapidez de análise. No entanto, embora não se tivesse procedido a qualquer ensaio "in vivo" com a solução injectável de dipirona, pretendia-se também aplicar o método à determinação de alguns dos metabolitos activos após administração oral. Nestas circunstâncias, o tempo de retenção dos diferentes compostos deveria ser superior a 5 minutos, de modo a evitar a interferência de outros produtos eventualmente presentes no soro sanguíneo e que são detectados, em regra, nos primeiros minutos do cromatograma.

3.2.1.1.- MATERIAL E MÉTODOS

A dipirona utilizada obedecia às características indicadas no Anexo I e os padrões de 4-metilaminoantipirina, 4-aminoantipirina e 4-hidroxiantipirina foram já referidos em 2.3.2.1.

A fenacetina (Merck), o piramido (Sigma) e a nicotinamida (Merck) eram reagentes p.a. O oxazepam (lote 600910) foi gentilmente cedido por Instituto Pasteur de Lisboa.

A água foi obtida em desionizador Elga, modelo S.A. Elgastat Spectrum R.O., apresentando resistividades compreendidas entre 15 e 18 MΩ.

O metanol, o álcool isopropílico e o acetonitrilo eram de qualidade Lichrossolv (Merck), e a amónia e o acetato de amónio eram reagentes p.a. (Merck).

Utilizou-se um cromatógrafo Varian 5000 munido de um injector Rheo-Dyne, ao qual havia sido aplicado um "loop" de 20 μl, e de um detector espectrofotométrico no ultravioleta, de comprimento de onda variavel. Os cromatogramas foram obtidos num registador Tarkan, modelo 610022, e num integrador Varian, modelo 4290.

A coluna cujo enchimento era constituído por partí-

culas de 10 µm de diâmetro era da marca Perkin-Elmer, C-18 SIL-X-10, modelo 409028, de 4,6 mm de diâmetro interno e 25 cm de comprimento. A coluna contendo partículas de 5 µm de diâmetro apresentava dimensões idênticas, mas era da marca Merck, modelo Lichrospher-100-CH-18/2.

A verificação da lei de Lambert-Beer foi executada num espectrofotómetro Hitachi, modelo U-2000.

As soluções-tampão de acetatos foram filtradas por filtros da marca Schleicher & Schüll, modelo HE 25/21, de 0,45 µm de diâmetro de poro. Para a obtenção da pressão negativa, o recipiente que conteria o filtrado foi ligado a uma bomba Millipore, modelo XX-6022050.

Os eluentes foram desgaseificados por imersão em banho de ultra-sons, da marca Sonorex e modelo RK-100-H, durante 15 minutos.

As pesagens foram efectuadas em balanças Mettler, modelos H-31-AR e AE-163.

3.2.1.2.- SELECÇÃO DAS CONDIÇÕES CROMATOGRAFICAS

As amostras a ensaiar correspondiam a duas soluções de dipirona de diferentes concentrações e submetidas a condições diversas: a amostra A, a 0,01%, era recentemente preparada e a degradação do fármaco havia sido acelerada pelo aquecimento à fervura durante 1 hora; a amostra B, a 50%, fora conservada a 80 °C durante 6 meses. Durante a afinação da técnica, verificou-se que a amostra B estava mais alterada e originava maior número de picos, pelo que foi esta que passou a ser utilizada. Além disso, durante o tempo necessário para a acerto da técnica, quer as soluções, quer as respectivas diluições, foram mantidas à temperatura ambiente e expostas à luz.

De modo a proporcionar uma panorâmica geral dos ensaios executados, que serão posteriormente expostos e justificados, far-se-á a prévia enumeração das diferentes fases da selecção do eluente e da coluna

I- SELECÇÃO DAS CONDIÇÕES DE SEPARAÇÃO

1- Amostra artificialmente degradada
Eluição isocrática (partículas de 10 μm) com
metanol / água
metanol / tampão de pH 4,6
isopropanol / água
acetonitrilo / metanol
metanol / tampão de pH 5,1
metanol / tampão de pH 5,6
Eluição em gradiente (partículas de 10 μm) com
metanol / tampão de pH 5,6
Eluição em gradiente (partículas de 5 μm) com
metanol / tampão de pH 5,6
2- Amostra constituída pela mistura de padrões
Eluição em gradiente (partículas de 10 μm) com
metanol / tampão de pH 5,6
metanol / tampão de pH 4,6
metanol / tampão de pH 6,1
3- Selecção do padrão interno: eluição em gradiente (partículas de 10 μm) com metanol / tampão de pH 6,1
fenacetina
piramido
nicotinamida
oxazepam
4- Amostra contendo os padrões e o padrão interno
Eluição em gradiente (partículas de 10 μm) com
metanol / tampão de pH 6,6
metanol / tampão de pH 3,6

II- ANALISE QUANTITATIVA DAS AMOSTRAS CONTENDO OS PADRÕES

1- Selecção das concentraçôes a utilizar
2- Verificação da lei de Lambert-Beer em 254 nm
3- Determinação dos tempos de retenção
4- Determinação dos factores de resposta

As condições ensaiadas inicialmente foram isocráticas e utilizaram-se como eluentes as misturas de metanol e água em proporções compreendidas entre 20 e 95% de metanol. Os cromatogramas obtidos com fases móveis mais polares apresentavam apenas, como se pode verificar na Figura 24, um ou dois picos muito próximos e com tempos de retenção inferiores a 5 minutos; já nos registos obtidos com concentrações mais elevadas de metanol se notava uma certa distanciação dos picos, que pareciam resultar da detecção quase simultânea de vários compostos. Nesta fase do trabalho, ensaiaram-se condições muito semelhantes às propostas por Yoshioka et al. (138) e os resultados obtidos não foram satisfatórios.

Como numa das técnicas descritas (191) se procede ao acerto do pH da fase móvel, ensaiou-se então um eluente constituído por metanol e tampão de acetatos de pH 4,6. De facto, é frequente recorrer-se, em cromatografia líquida de alta pressão, a sistemas tampão de diversos tipos, como os de fosfatos ou de acetatos (213). No entanto, sabe-se também que aqueles originam mais facilmente sais insolúveis, provocando então a pogressiva obstrução das colunas e o consequente aumento da pressão interna do sistema . Por isso se optou pelo tampão de acetatos, ensaiando-se em primeiro lugar a solução dotada de capacidade tampão máxima, ou seja, de pH 4,6, praticamente coincidente com o valor de pKa do ácido acético(195). Como é aconselhado também na literatura respeitante a este tipo de cromatografia (213), preparou-se uma solução aquosa cuja molaridade total fosse 0,01.

Ensaiaram-se novamente condições isocráticas semelhantes às anteriores (concentrações de metanol compreendidas entre 30 e 70%) e os cromatogramas obtidos eram, como se pode verificar na Figura 24 , significativamente diferentes dos anteriores, apresentando já picos mais individualizados e com tempos de retenção maiores (até cerca de 15 minutos). Nestas circunstâncias, concluiu-se que o recurso a um sistema tampão permitia uma maior facilidade de análise.

De qualquer modo, a fixação da concentração hidrogeniónica do eluente é um processo que obriga a cuidados adicio-

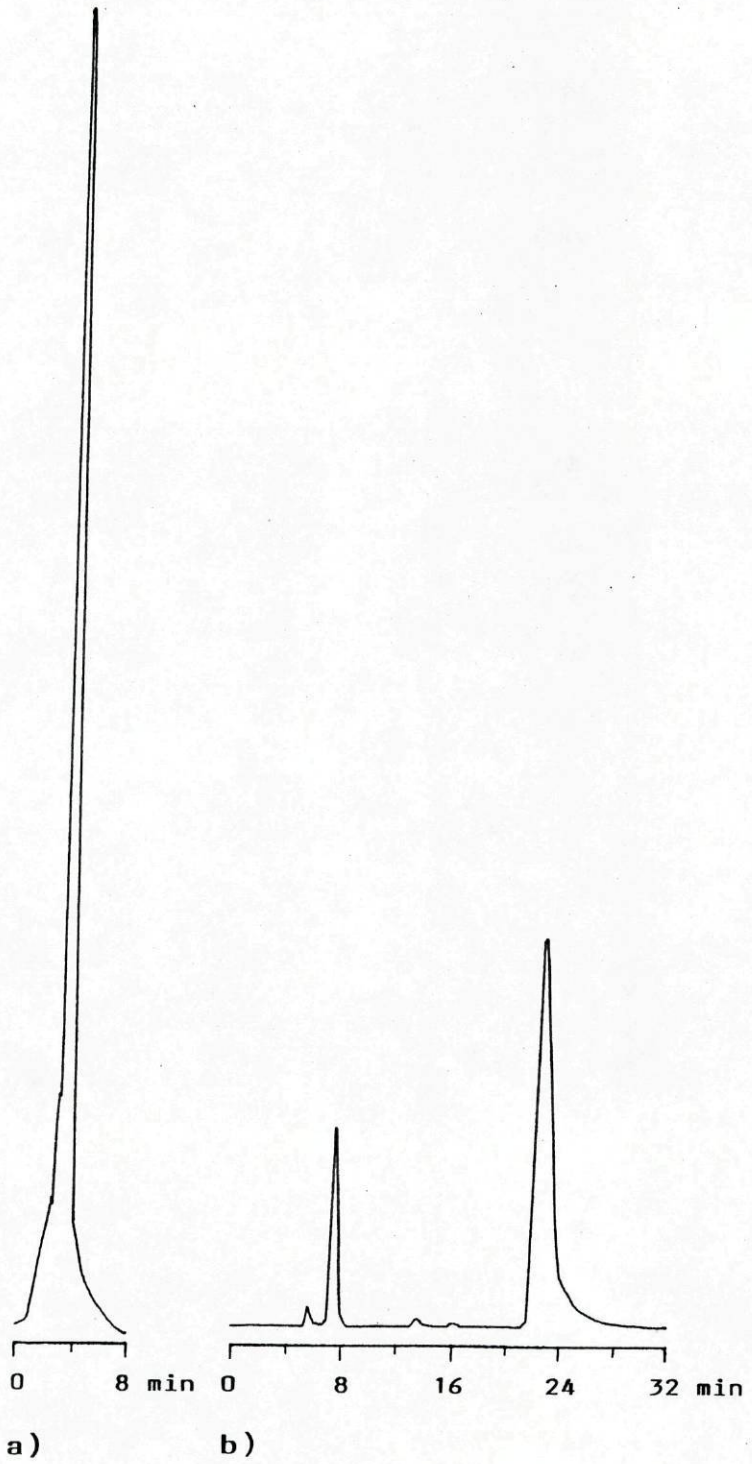


Fig. 24 - Cromatogramas obtidos a partir da amostra A:
a) 30% de metanol e 70% de água
b) 30% de metanol e 70% de tampão de pH 4,6

nais, quer respeitantes à manutençâo do aparelho (lavagem periódica devido à eventual cristalizaçâo de sais dissolvidos), quer relativos à precisâo dos resultados (utilizaçâo de soluçôes com iguais valores de pH e de força iónica). Por isso se ensaiou ainda um outro eluente, de polaridade mais baixa e constituído pela mistura de água e isopropanol. No entanto, os cromatogramas apresentavam uma resoluçâo inferior à dos obtidos com metanol/tampâo de acetatos. Paralelamente, ensaiou-se também o par aceto-nitrilo/metanol, mas o respectivo poder de separaçâo era semelhante ao do sistema isopropanol/água. Nestas circunstâncias, o recurso a eluentes constituídos por misturas de líquidos puros foi completamente posto de parte, e optou-se pelo aperfeiçoamento das condiçôes de separaçâo utilizando a mistura metanol/tampâo de acetatos.

A eluiçâo isocrática com tampâo de pH 4,6 nâo fornecia resultados satisfatórios. Assim, se as elevadas concentraçôes de metanol provocavam a rápida detecçâo de um grande número de produtos, já o aumento da quantidade de fase aquosa originava ligeiras alteraçôes nos tempos da retençâo de alguns compostos e aumentos significativos nos de outros. Por isso se ensaiaram novos tampões de acetatos, com molaridades idênticas à anterior, mas cujos valores de pH eram superiores em 0,5 e 1 unidade. Os cromatogramas obtidos com eluentes constituídos por metanol/tampâo de pH 5,1 eram semelhantes aos anteriores, enquanto o recurso à soluçâo de pH 5,6 ocasionava, como se pode verificar na Figura 25, melhores condiçôes de separaçâo.

De qualquer modo, a resoluçâo parecia nâo ser ainda suficiente, pelo que, com a finalidade de acelerar a detecçâo dos compostos com maior tempo de retençâo, se ensaiou a eluiçâo em gradiente. Assim, a uma primeira fase de eluiçâo isocrática seguia-se um gradiente linear em que se diminuia progressivamente a quantidade de tampâo de pH 5,6 existente na fase móvel.

Da análise dos cromatogramas realizados concluiu-se que aos primeiros produtos eluídos correspondiam sempre tempos

de retenção inferiores a 5 minutos, o que contrariava um dos pressupostos inicialmente estabelecidos: detecção de compostos apenas ao fim de, pelo menos, 5 minutos. No entanto, e perante a impossibilidade de se conseguir esse objectivo, estabeleceram-se as condições que permitiam uma melhor separação desses compostos: eluição isocrática, durante 5 minutos, com 10% de metanol. Em seguida, e de modo a diminuir o tempo de retenção dos restantes, procedia-se à eluição em gradiente, fazendo passar a concentração de metanol de 10 para 55% durante 20 minutos. O cromatograma obtido nestas condições encontra-se representado na Figura 25, apresentando a Figura 26 o esquema de eluição utilizado.

O enchimento da coluna utilizada em todos os ensaios era constituído por partículas de 10 μm de diâmetro. De modo a alcançar melhores características de separação, aplicou-se então a eluição em gradiente, nas condições seleccionadas, a uma coluna contendo microsferas de 5 μm de diâmetro. Todavia, os resultados obtidos foram praticamente idênticos aos anteriores. Este facto, aliado ainda a uma série de problemas técnicos ocasionados certamente pelo aumento da pressão interna do sistema (sucessivas fugas de líquido pelas várias ligações existentes ao longo do circuito do eluente), determinou a opção definitiva pela coluna inicialmente ensaiada.

Antes de aplicar as condições de separação assim fixadas à análise dos padrões disponíveis, procedeu-se à localização dos picos correspondentes à dipirona e à 4-metilaminoantipirina. Com esta finalidade, preparou-se uma solução a 50% do primeiro daqueles compostos, admitindo, de acordo com as informações teóricas referidas em 2.1.2, que a quantidade de 4-metilaminoantipirina existente seria insignificante. A injecção de uma diluição contendo uma quantidade teórica de dipirona próxima de 1 mg % originou o cromatograma apresentado na Figura 27, no qual se observam apenas dois picos: o primeiro, cujo tempo de retenção é de cerca de 17 minutos, apresentava uma área maior e deveria corresponder, teoricamente, ao composto mais polar, a dipirona; o segundo,

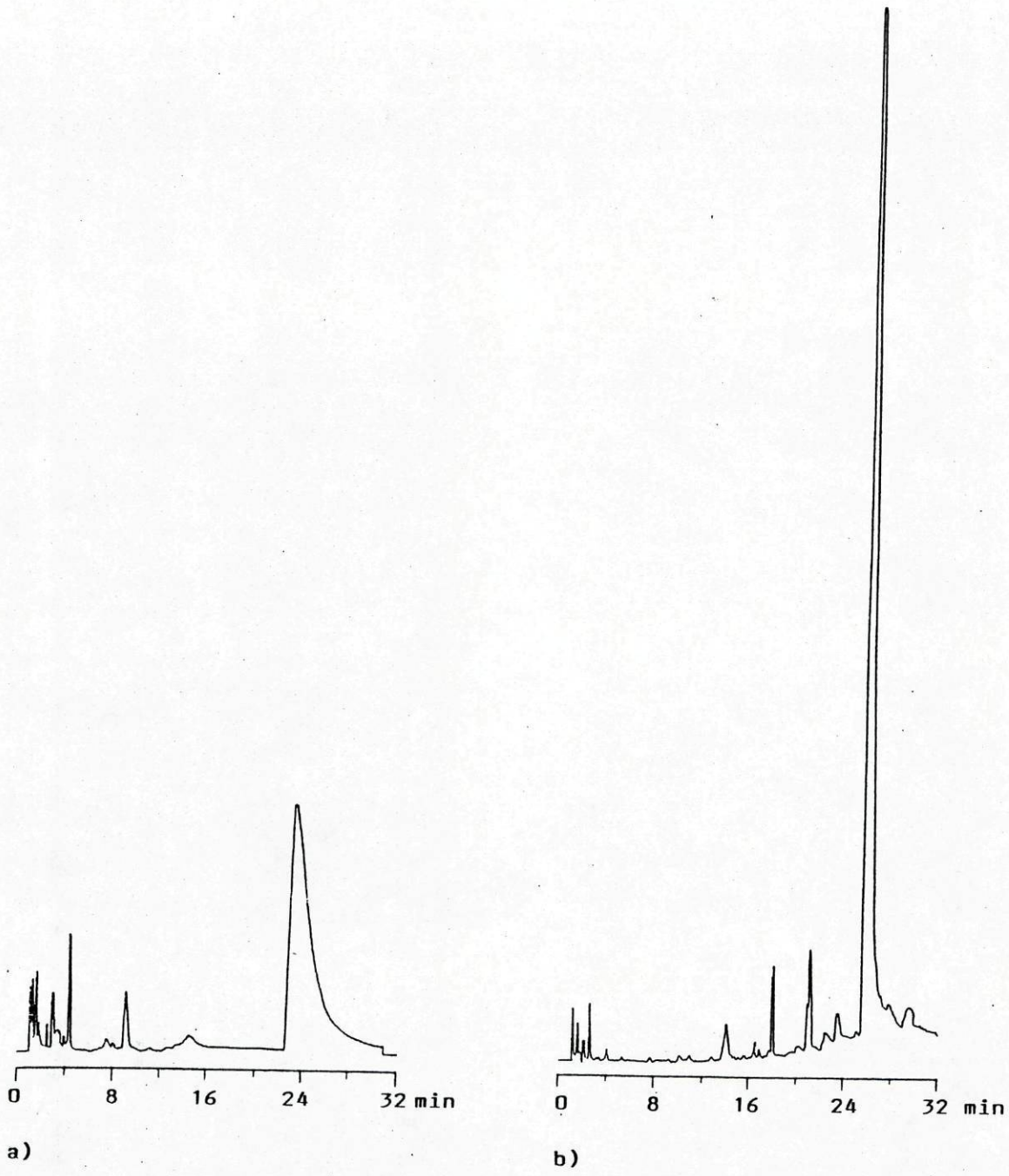


Fig. 25 - Cromatogramas obtidos a partir da amostra B:
a) 30% de metanol/70% de tampão de pH 5,6
b) eluição em gradiente segundo o esquema indicado na Figura 26

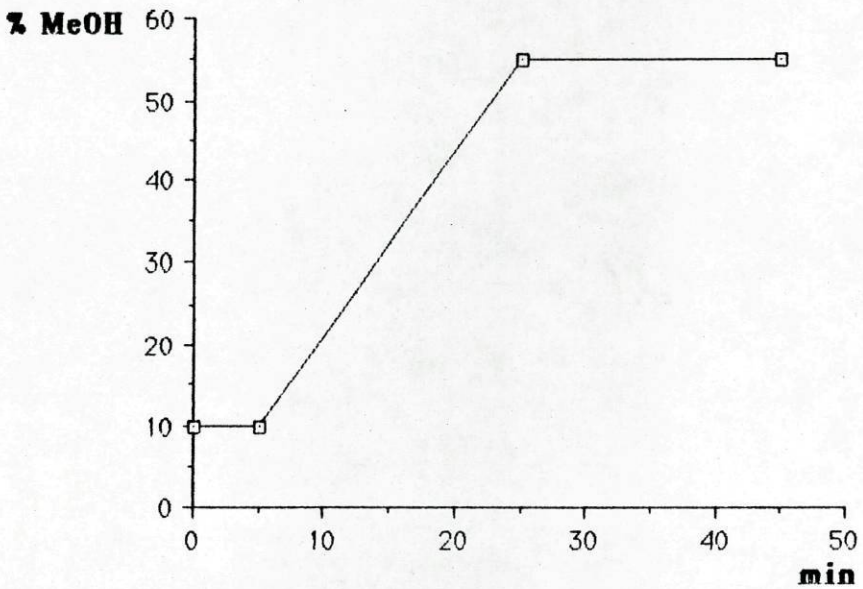


Fig. 26 - Gradiente utilizado no estudo da estabilidade da dipirona em solução aquosa

detectado ao fim de 26 minutos, corresponderia, por exclusão de partes, à 4-metilaminoantipirina.

Mas, de acordo com o estudo de decomposição hidrolítica referido, o equilíbrio químico entre as duas moléculas ainda não teria sido alcançado, pois a injecção tinha sido realizada logo após a preparação da diluição. Atendendo ao facto de a composição quantitativa da solução se alterar ao longo do tempo, procedeu-se a novas injecções da mesma diluição, mas realizadas 90, 180 e 360 minutos após a respectiva preparação. Nos cromatogramas obtidos, representados também na Figura 27, nota-se, de igual modo, a presença de apenas dois produtos; mas a progressiva diminuição da altura do pico cujo tempo de retenção era menor e o correspondente aumento do outro parecem confirmar a hipótese formulada (os registos apresentados correspondem a uma repetição do ensaio executado posteriormente).

Assim, e depois de se ter uma ideia aproximada dos tempos de retenção da dipirona e da 4-metilaminoantipirina, procedeu-se à análise da solução aquosa dos diferentes padrões nas condições de eluição em gradiente previamente estabelecidas.

Ao iniciar esta fase dos trabalhos, e como se referiu anteriormente, substituiu-se o registador utilizado por um integrador. A metodologia adoptada consistia em determinar, nas condições de eluição previamente fixadas, os tempos de retenção dos diferentes padrões, procedendo-se inicialmente à injecção de soluções simples e, depois, à da correspondente mistura. De modo a confirmar a existência de um só composto, injectar-se-iam ainda as soluções simples em duas condições diferentes de eluição em gradiente.

Todavia, e ao contrário do que se previa, os cromatogramas obtidos após a injecção das soluções simples dos padrões apresentavam sistematicamente, como se pode verificar na Figura 28, dois picos fundidos cujos tempos de retenção eram muito próximos; também após a injecção de soluções contendo os 4 padrões se observava um fenómeno idêntico.

Atribuindo o formato dos picos a uma eventual detecção

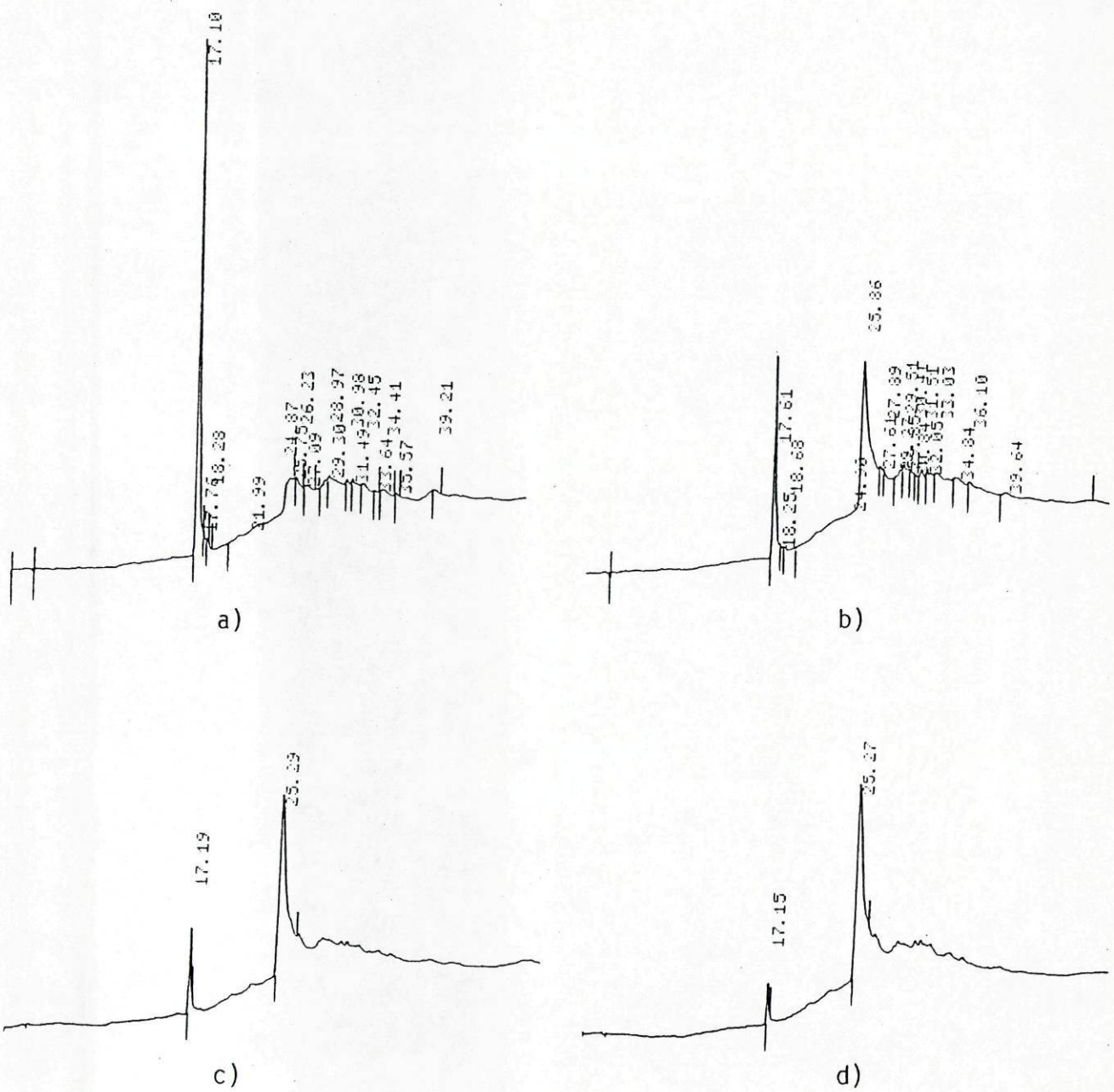


Fig. 27 - Cromatogramas obtidos a partir da mesma diluição de uma solução a 50% de dipirona e realizados 10 (a), 90 (b), 180 (c) e 240 (d) minutos após a preparação da amostra

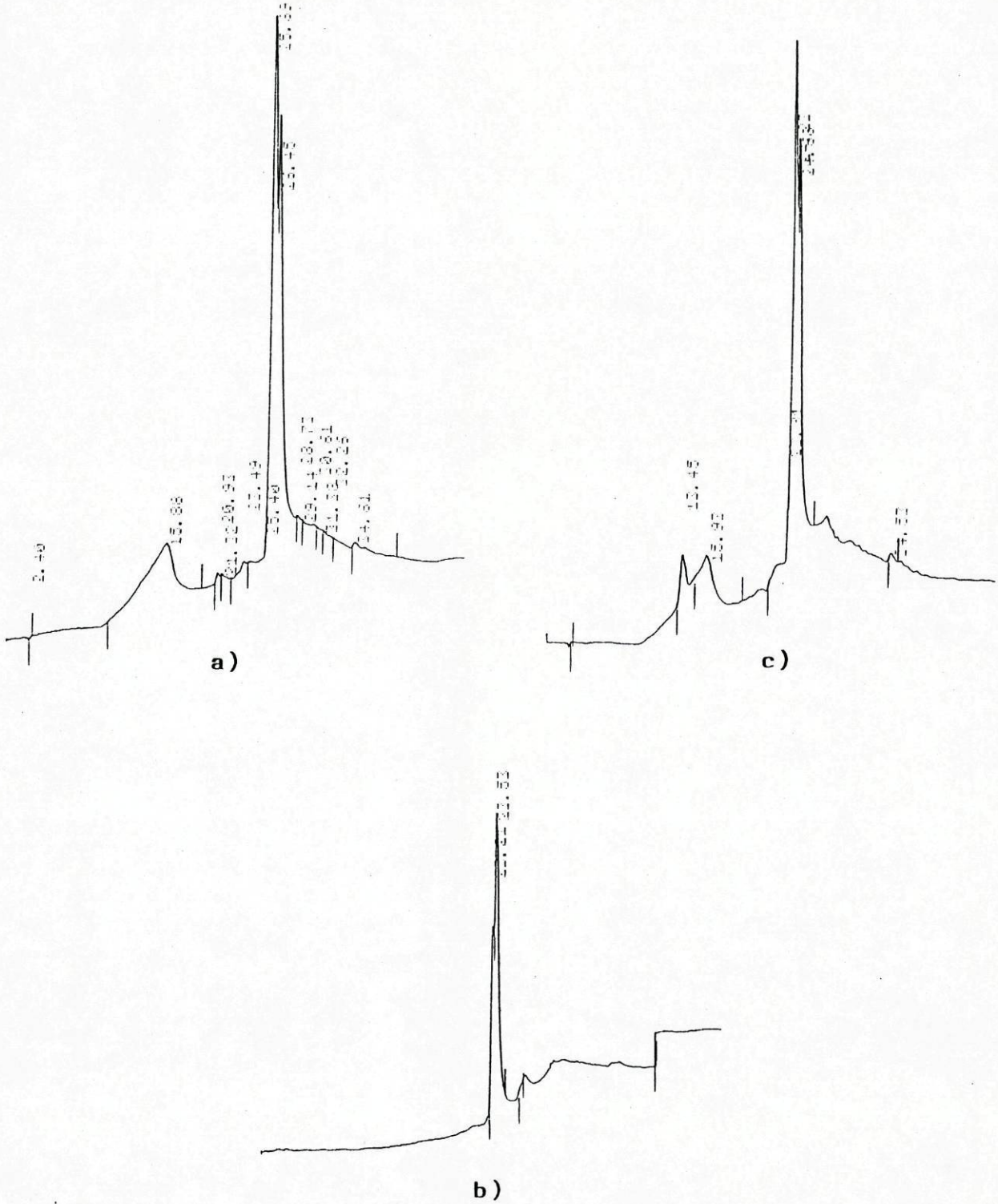


Fig. 28 - Cromatogramas obtidos a partir de soluções simples dos padrões:
a) 4-metilaminoantipirina
b) 4-aminoantipirina
c) 4-hidroxiantipirina

das formas ionizada e não ionizada dos compostos, ensaiaram-se as mesmas condições de eluição em gradiente, mas utilizando tampões de acetatos de pH 4,6 e 6,1. No primeiro caso, surgiram novamente picos fundidos; a utilização de eluente mais neutro parecia resolver parcialmente o problema em relação aos três produtos de decomposição, muito embora se notasse a existência de um pico adjacente ao da dipirona.

Ao mesmo tempo, e utilizando o tampão de pH 6,1, procurou-se seleccionar o produto a utilizar como padrão interno e ensaiou-se em primeiro lugar a fenacetina, já usada por Eddine et al. (191) com essa finalidade. Porém, o respectivo tempo de retenção era, nas condições do ensaio, praticamente coincidente com o da 4-metilaminoantipirina. Nestas circunstâncias, era necessário seleccionar um novo produto.

Os padrões internos utilizados em cromatografia líquida de alta pressão devem obedecer a um determinado conjunto de requisitos, como serem dotados de elevada estabilidade em solução e apresentarem semelhança estrutural com as moléculas a dosear. O piramido não está descrito como um dos produtos de degradação da dipirona em solução aquosa, embora Yoshioka et al. (138) o refiram como resultante da decomposição no estado sólido. Além disso, a utilização da respectiva solução requereria cuidados adicionais, já que alguns dos produtos provenintes da sua oxidação poderiam interferir na análise da estabilidade das soluções de dipirona. De qualquer modo, por ser o único produto disponível e quimicamente semelhante à dipirona, procedeu-se à realização de um ensaio prévio. Todavia, o tempo de retenção era, nas condições adoptadas, praticamente coincidente com o da 4-metilaminoantipirina.

Perante estes resultados, optou-se então pela utilização de um padrão interno de estrutura química completamente diferente da dos compostos a dosear. A primeira experiência foi realizada com nicotinamida, molécula hidrossolúvel de fácil aquisição e cujas características de estabilidade obedecem ao requisito exigido. No entanto, o respectivo tempo de retenção era muito baixo (próximo de 7 minutos), contra-

riando assim outra propriedade que o padrão interno deve apresentar: a eluição em tempos semelhantes, mas não idênticos, aos dos produtos em análise.

Em seguida, ensaiou-se o oxazepam, mas a sua insolubilidade em água provocou uma ligeira alteração na técnica de preparação das soluções a injectar. Assim, o composto foi previamente solubilizado em metanol, adicionando-se volumes iguais desta solução à diluição final das amostras. O tempo de retenção desta benzodiazepina era elevado (cerca de 35 minutos), não interferindo com a detecção dos padrões. Além disso, os picos obtidos apresentavam áreas muito semelhantes, pelo que o rigor da análise não seria afectado. Nestas circunstâncias, optou-se então pela utilização deste composto como padrão interno.

Todavia, em todos os cromatogramas se notava ainda, como se pode verificar na Figura 29, o aparecimento sistemático de um pico adjacente ao da dipirona. Substituiu-se a solução tampão de pH 6,1 por outra de pH 6,6, mas os registos eram idênticos.

Nesta fase dos ensaios, e admitindo uma vez mais o eventual efeito da ionização da molécula na separação, experimentou-se outro valor de pH completamente diferente.

De facto, a natureza do enchimento das colunas utilizadas em cromatografia líquida em fase reversa permite apenas o emprego de eluentes cujos valores de pH estejam compreendidos entre 3 e 7 (213).

Já haviam sido ensaiadas soluções tampão de pH superior ou igual a 4,6. No entanto, e como será referido em 4.1.2., numa das técnicas de doseamento dos metabolitos da dipirona no soro sanguíneo recorre-se a um eluente constituído por metanol e tampão de pH 3,5. Deste modo, pressupôs-se que o uso de um valor de pH mais ácido, mas ainda compatível com a natureza da fase estacionária, poderia melhorar as condições de separação. Ensaiou-se, então, um eluente constituído por metanol e solução tampão de acetatos de pH 3,6. O aspecto geral dos cromatogramas, dos quais se apresenta um exemplo na Figura 30 e onde não se observa qualquer fragmentação

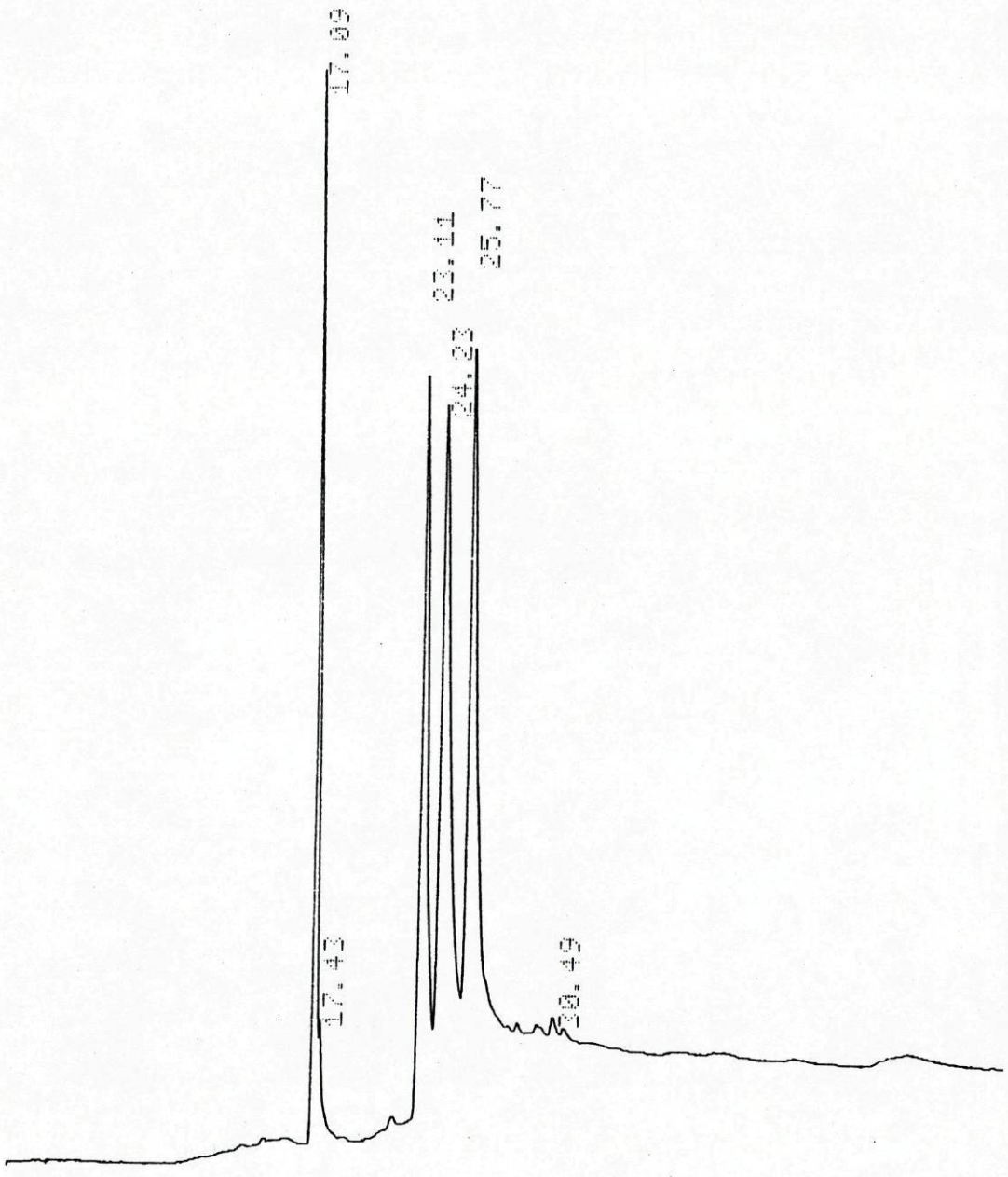


Fig. 29 - Cromatograma obtido a partir da solução dos 4 padrões.
Eluente - metanol e tampão de pH 6,1
17,09 min - dipirona
23,11 min - 4-aminoantipirina
24,23 min - 4-hidroxiantipirina
25,77 min - 4-metilaminoantipirina

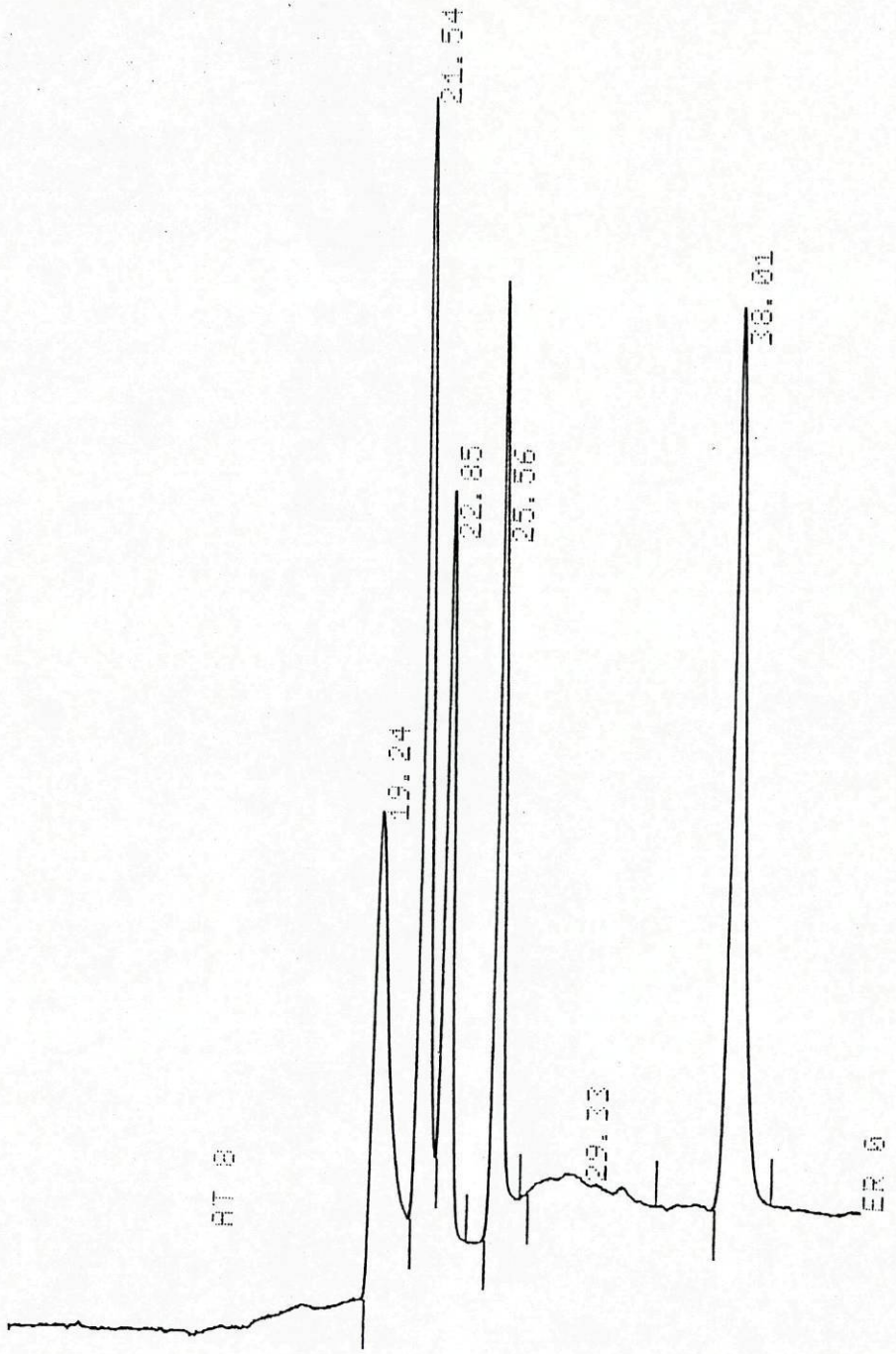


Fig. 30 - Cromatograma obtido a partir da solução contendo os 4 padrões e o padrão interno.
Eluente - metanol e tampão de pH 3,6
19,24 min - 4-metilaminoantipirina
21,54 min - 4-aminoantipirina
22,85 min - dipirona
25,56 min - 4-hidroxiantipirina
38,01 min - oxazepam

dos picos, oferecia maior garantia de precisão, pelo que se optou, em definitivo, pelo uso do tampão de acetatos de pH 3,6.

No decorrer dos ensaios com os tampões de vários valores de pH, verificou-se que os tempos de retenção da dipirona sofriam alterações consideráveis. Este fenómeno era também observado, embora em menor escala, quando se utilizavam soluções com pH idêntico mas força iónica diferente. Por isso se preparou uma solução-mãe cujas quantidades de ácido acético e de acetato de amónio haviam sido previamente calculadas e ajustadas de modo a, depois de convenientemente diluídas, originarem o eluente com as características pretendidas.

Definidas as condições e seleccionado o tipo de eluente, estabeleceu-se em seguida, do ponto de vista quantitativo, a técnica final de doseamento.

A partir dos resultados fornecidos anteriormente pelo integrador, sabia-se que a concentrações de solução injectada próximas de 1 mg % correspondiam, para os três produtos de degradação, áreas de cerca de 400.000; pelo contrário, só se obtinham valores desta ordem de grandeza quando a concentração de dipirona era de 2 mg %. Assim, acertou-se a quantidade de padrão interno a adicionar a cada amostra de modo a originar áreas semelhantes. Após a realização de várias experiências, concluiu-se que a injecção de soluções de oxazepam a 1 mg % satisfazia o requisito estabelecido.

Paralelamente, procedeu-se à verificação da lei de Lambert-Beer para cada um dos padrões e em 254 nm. As soluções ensaiadas apresentavam, para os três produtos de degradação, concentrações compreendidas entre 0,25 e 1,00 mg %; no caso da dipirona, os valores utilizados situavam-se entre 0,5 e 2,00 mg %. A estas percentagens correspondiam sempre alturas de pico que não atingiam nunca, para a atenuação estabelecida, o valor máximo do sinal electrónico do integrador.

O solvente utilizado nos ensaios espectrofotométricos

deveria apresentar, teoricamente, uma composição idêntica à da fase móvel, o que apenas seria viável se a eluição fosse isocrática. Assim, e embora os tempos de retenção dos padrões fossem inferiores a 25 minutos, adoptou-se como meio de dissolução a mistura de composição igual à da fase terminal da eluição - a solução de metanol em tampão de acetatos de pH 3,6 a 55%. Os gráficos obtidos, de que se apresentam dois exemplos na Figura 31, demonstram que existe uma relação linear entre os valores das concentrações das soluções, no intervalo considerado, e as respectivas absorvências.

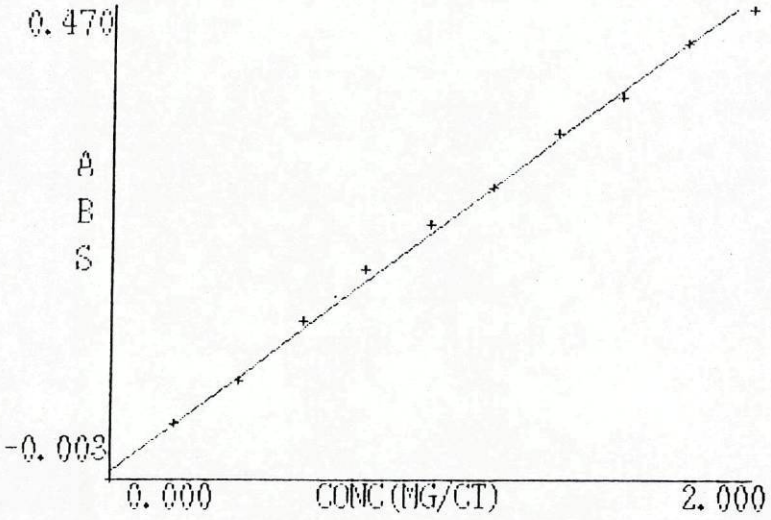
Procedeu-se, em seguida, à determinação dos tempos de retenção dos padrões. As concentrações das soluções ensaiadas variavam entre 0,25 e 1,00 mg % ou 0,50 e 2,00 mg %, consoante a natureza do composto, e no Quadro XVI apresentam-se os valores obtidos (médias de 14 resultados).

Antes de se expôr a metodologia adoptada para o doseamento dos produtos em análise, convirá salientar que a elevada susceptibilidade da dipirona à hidrólise não permitia a utilização da mesma solução em injecções sucessivas. Por isso, não foi possível determinar a reprodutibilidade do método. Pelo mesmo motivo, utilizaram-se sempre, no cálculo dos factores de resposta dos padrões, soluções recentemente preparadas.

De modo a aumentar a precisão dos resultados, ensaiaram-se 14 soluções contendo diferentes quantidades dos padrões (compreendidas entre 0,25 e 1,00 mg % ou 0,50 e 2,00 mg %, consoante a natureza do composto), às quais se adicionava, antes de se completar o volume pretendido, igual quantidade de padrão interno.

Como se pode verificar na Figura 32, existe, para todos os compostos, uma relação linear entre as áreas dos picos e as concentrações das soluções. No Quadro XV, apresentam-se os correspondentes tempos de retenção e factores de resposta (médias de 14 resultados).

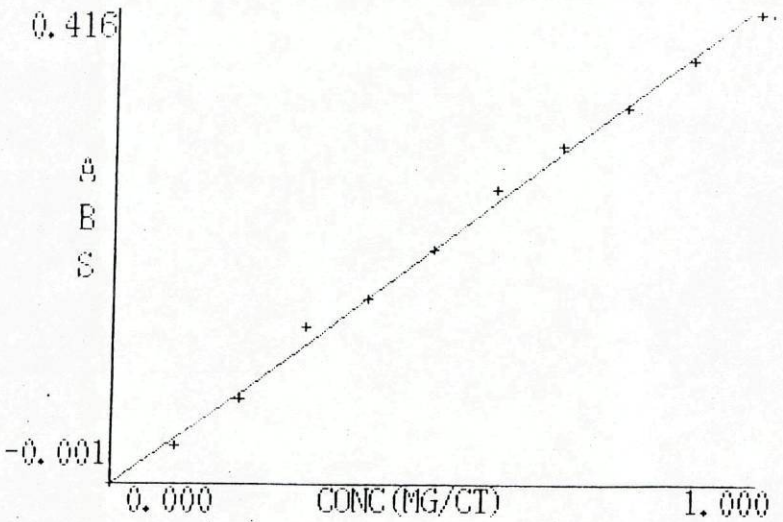
A técnica encontrava-se, pois, totalmente definida e será exposta, em pormenor, no subcapítulo seguinte.



PHOTOMETRY/DIPIRONA

ID	ABS	CONC
STD 1	-0.003	0.000
STD 2	0.052	0.200
STD 3	0.097	0.400
STD 4	0.156	0.600
STD 5	0.207	0.800
STD 6	0.253	1.000
STD 7	0.291	1.200
STD 8	0.345	1.400
STD 9	0.381	1.600
STD10	0.436	1.800
STD11	0.470	2.000

K= 4.208 AO= 0.006



PHOTOMETRY/MAAP

ID	ABS	CONC
STD 1	-0.001	0.000
STD 2	0.034	0.100
STD 3	0.078	0.200
STD 4	0.142	0.300
STD 5	0.167	0.400
STD 6	0.210	0.500
STD 7	0.263	0.600
STD 8	0.301	0.700
STD 9	0.335	0.800
STD10	0.376	0.900
STD11	0.416	1.000

K= 2.366 AO= 0.000

Fig. 31 - Relaçôes gráficas entre as concentraçôes das soluçôes e as absorvências em 254 nm.
a) dipirona
b) 4-metilaminoantipirina

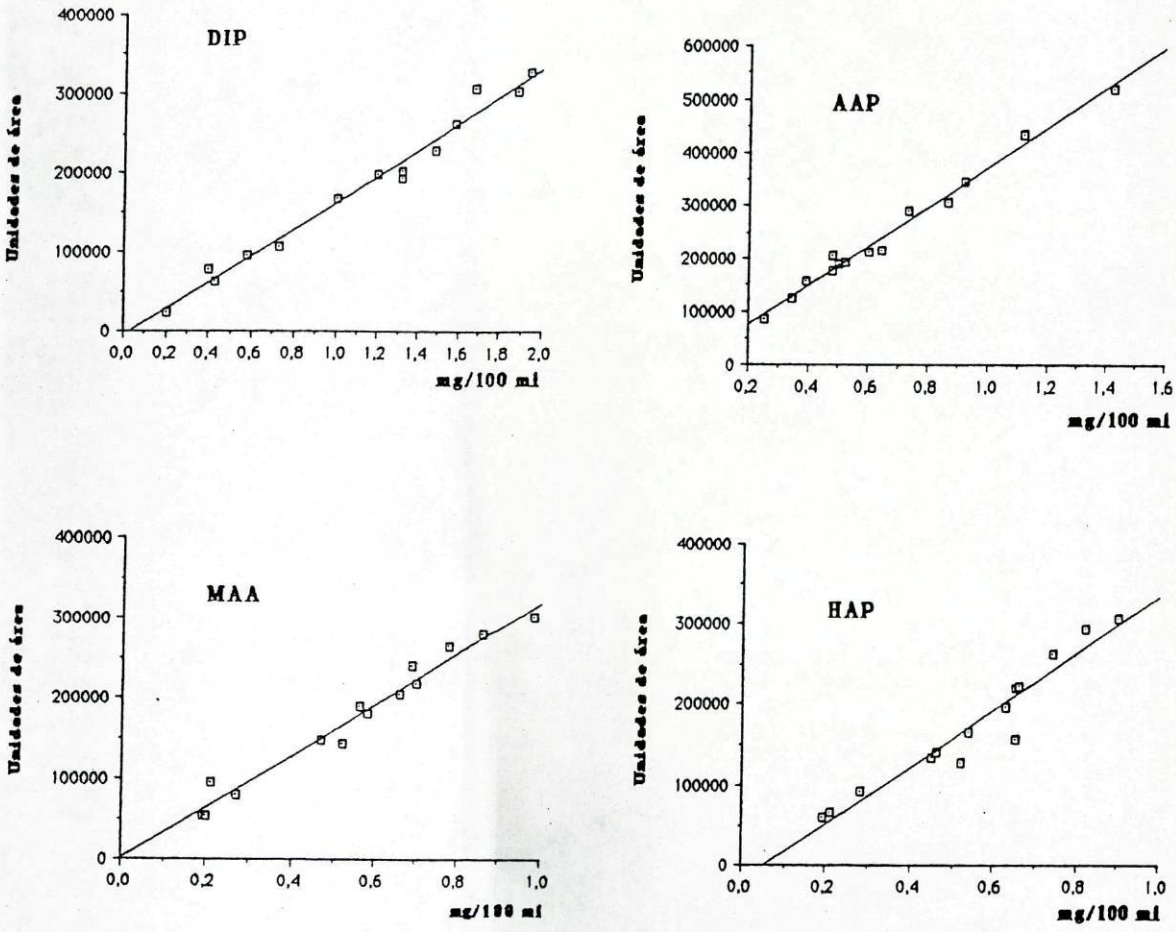


Fig. 32 - Relações gráficas entre as áreas dos picos e as concentrações.

DIP - dipirona

MAA - 4-metilaminoantipirina

AAP - 4-aminoantipirina

HAP - 4-hidroxiantipirina

QUADRO XV

TEMPOS DE RETENÇÃO E FACTORES DE RESPOSTA DOS PADRÕES

Padrão	Tempos de retenção (min)	Factores de resposta
4-metilaminoantipirina	19,40 ± 0,57	1,3979 ± 0,3130
4-aminoantipirina	21,59 ± 0,38	1,1935 ± 0,2108
dipirona	22,81 ± 0,41	2,7817 ± 0,4334
4-hidroxiantipirina	25,53 ± 0,43	1,4221 ± 0,4058

3.2.1.3.- TÉCNICA ANALíTICA

I- PREPARAÇAO DAS SOLUÇÕES

Solução-mãe de ácido acético e acetato de amónio

Num balão marcado de 100 ml junte 1,925 g de acetato de amónio e 27,2 ml de ácido acético glacial. Complete o volume com água desionizada. Conserve a solução em frigorífico.

Solução tampão de acetatos de pH 3,6

Para um balão marcado de 1000 ml meça 1,0 ml da solução-mãe de ácido acético e acetato de amónio. Complete o volume com água desionizada. Filtre a solução, a pressão negativa, por membrana filtrante de 0,45 µm de diâmetro. O pH do filtrado deve estar compreendido entre 3,55 e 3,65. Desgaseifique a solução mantendo-a, durante 15 minutos, em banho de ultra-sons.

Solução de padrão interno

Pese rigorosamente 100,0 mg de oxazepam, dissolva em metanol e complete o volume de 500 ml com o mesmo solvente.

Solução padrão

Pese rigorosamente quantidades compreendidas entre 0,25 e 1,00 mg de 4-aminoantipirina, 4-hidroxiantipirina e 4-metilaminoantipirina, e entre 0,50 e 2,00 mg de dipirona. Dissolva em água, junte 5,0 ml da solução de padrão interno e complete 100,0 ml com mais água.

Solução problema

Para um balão marcado de 100 ml meça 0,2 ml de solução injectável de dipirona a 50 % e complete o volume com água desionizada. Para um balão marcado de 100 ml, pipete 1,0 ml da diluição anterior, junte 5,0 ml de solução de padrão interno e complete o volume com água desionizada.

II- ENSAIO CROMATOGRAFICO

Condiçôes de análise

coluna- Perkin-Elmer C-18 SIL-X-10, modelo 409028, com 4,6 mm de diâmetro interno e 25 cm de comprimento; enchimento com partículas de 10 μm de diâmetro.

volume de líquido injectado- 20 μl.

composiçâo do eluente- nos primeiros 5 minutos, eluição isocrática com 10 % de metanol em tampão de pH 3,6;
entre o 5º e o 25º minuto, eluição em gradiente linear, passando a concentraçâo de metanol de 10 para 55 %;
a partir do 25º minuto, eluição isocrática com 55 % de metanol.

velocidade de fluxo- 1,0 $ml.min^{-1}$.

detecçâo- espectrofotométrica em 254 nm.

acerto automático do zero- no tempo zero.

sistema de registo- integrador Varian, modelo 4290.

atenuaçâo- 8.

sensibilidade de detecçâo à largura de pico- 6.

velocidade do papel- 0,25 $cm.\ min^{-1}$.

Programaçâo do integrador

O programa introduzido no integrador é apresentado na Figura 33.

```
FI= 3

MN=  2.        REM  FE=  3.        CH= "A"  PS=  1.

NM   = "DIPIR"     NM(1)= "ONA   "

FW   = 6.          PT   = 67.          RN   = 83.
IX   = 1.          OD   = 1.           PH   = 0.
TB   = 0.          CW   = 0.1          CZ   = 5.
LS   = 0.          NV   = 0.           SI   = 0.
RC   = 0.          CI   = 999.         RA   = 1.
SP   = 84.         IP   = 3.

TT(1)=    0.       TF(1)="AT"      TV(1)=    8.
TT(2)=    0.       TF(2)="CS"      TV(2)=    0.25
TT(3)=   45.       TF(3)="ER"      TV(3)=    0.

RT(1)=   19.43     CN(1)= "MAAP  "
RF(1)=    1.3979

RT(2)=   21.65     CN(2)= "AAP   "
RF(2)=    1.1935

RT(3)=   23.33     CN(3)= "DIP   "
RF(3)=    2.7817

RT(4)=   25.46     CN(4)= "HAP   "
RF(4)=    1.4221

RT(5)=   38.15     CN(5)= "OWAZ  "
RF(5)=    1.

RP   = 5.          RW   = 0.1          CW   = 0.1

AN   = "SOUSA"     AN(1)= " LOBO"      AN(2)= "      "

CU   = "      "    CU(1)= "MG % "
```

Fig. 33 - Programação do integrador.

3.2.2.- AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DA SOLUÇÃO INJECTAVEL

As já mencionadas informaçôes bibliográficas (142,143) respeitantes às características das soluçôes de dipirona a 50% indicam que o produto é dificilmente alterável quando conservado à temperatura ambiente. Deste modo, a análise da estabilidade das soluçôes injectáveis foi realizada por decomposição acelerada e segundo o método isotérmico proposto por Garrett (214). Esta opção baseou-se nos factos de ser um processo facilmente realizável do ponto de vista prático e de o Sector de Tecnologia Farmacêutica da Faculdade de Farmácia do Porto o utilizar habitualmente em trabalhos desta índole, tratando-se, por isso, de uma técnica ensaiada e conhecida. Além disso, o método nâo isotérmico de Rogers (215) revestia-se de maiores dificuldades de execução e parecia nâo ser adequado, à partida, para a análise de formas farmacêuticas dotadas de elevada estabilidade.

De modo a evitar os desvios à equação de Arrhenius que ocorrem a temperaturas elevadas, Garrett aconselha os 70°C como valor limite máximo. No entanto, Colombo et al. (216,217,218), ao estabelecerem o denominado Programa Limitado de Estabilidade, conduzem os ensaios a temperaturas superiores (80; 90 e 100°C) e os resultados são praticamente coincidentes, para as formas farmacêuticas estudadas, com os obtidos de acordo com o método proposto por Garrett.

Assim, as temperaturas seleccionadas para a realização dos ensaios foram 60 e 80°C, o que traduz uma solução de compromisso entre o método isotérmico e a técnica proposta pelos autores italianos. Admitia-se, pois, que a elevada estabilidade do produto implicaria o recurso a condiçôes mais drásticas, muito embora se corresse o risco de alterar a cinética de decomposição do fármaco.

As fórmulas ensaiadas e a técnica de preparação das soluçôes encontram-se indicadas em seguida e foram elaboradas de acordo com os critérios referidos em 3.1.1..

3.2.2.1.- MATERIAL E MÉTODOS

A dipirona apresentava as características indicadas no Anexo I e a água destilada utilizada na preparação das soluções injectáveis era idêntica à referida em 2.3.1.1., tendo sido previamente fervida, durante 30 minutos.

Utilizou-se metabissulfito de sódio p.a. (Merck), bissulfito de sódio p.a. (J.T.Baker) e edetato dissódico p.a. (Merck). As ampolas de vidro incolor, de 2 ml, obedeciam ao ensaio de resistência hidrolítica incluído na Farmacopeia Portuguesa V (193) para o vidro do tipo II.

A esterilização foi realizada em autoclave eléctrica da empresa José dos Santos Monteiro, Lda.

As estufas utilizadas eram da marca Heraeus, modelo FB--420, e da marca Elektro-Helios, modelo 284-54-C.

O material, os métodos e as técnicas utilizados na realização dos ensaios cromatográficos estão indicados em 3.2.1.1. e em 3.2.1.3..

Fórmulas ensaiadas

Fórmula A

Dipirona ..... 50,0 g
Agua destilada q.b.p. 100,0 ml

Fórmula B

Dipirona ..... 50,0 g
Metabissulfito de sódio .. 0,1 g
Agua destilada q.b.p. 100,0 ml

Fórmula C

Dipirona ..... 50,0 g
Bissulfito de sódio ..... 0,1 g
Agua destilada q.b.p. 100,0 ml

Fórmula D

Dipirona	50,0 g
Metabissulfito de sódio ..	0,1 g
Edetato dissódico	0,01 g
Agua destilada q.b.p.	100,0 ml

Fórmula E

Dipirona	50,0 g
Bissulfito de sódio	0,1 g
Edetato dissódico	0,01 g
Agua destilada q.b.p.	100,0 ml

Técnica de preparação das soluções injectáveis

Em parte da água, recentemente fervida e resfriada, dissolva os adjuvantes mencionados na fórmula. Junte a dipirona e complete o volume pretendido com mais água. Filtre por membrama filtrante de 0,45 µm. Encha unitariamente 20 ampolas de 2 ml e feche-as à chama. Esterilize a 121°C durante 30 minutos.

3.2.2.2.- RESULTADOS

As determinações das concentrações iniciais das soluções injectáveis foram executadas em dois tempos diferentes. Assim, de modo a avaliar o efeito da temperatura no grau de hidrólise da dipirona, procedeu-se ao doseamento do fármaco e da 4-metilaminoantipirina antes e depois da esterilização, cujos resultados estão indicados no Quadro XVI.

As ampolas correspondentes a cada fórmula foram, em seguida, divididas em dois grupos e colocadas no interior de estufas cujas temperaturas tinham sido previamente reguladas para 60 e 80°C.

Devido à elevada estabilidade do produto, a avaliação

QUADRO XVI

VARIAÇÃO DO TEOR DE DIPIRONA COM A ESTERILIZAÇÃO

Fórmula	Percentagem de dipirona	
	Antes da esterilizaçâo	Depois da esterilizaçâo
A	95,76 ± 4,92	96,19 ± 5,73
B	96,23 ± 5,26	96,10 ± 6,54
C	95,83 ± 5,46	96,84 ± 7,62
D	95,84 ± 5,53	96,29 ± 6,25
E	95,69 ± 7,84	96.09 ± 5,24

da variação das concentrações foi realizada em intervalos de tempo cada vez maiores.

Os resultados obtidos, que correspondem a médias de 4 determinações, estão agrupados no Quadro XVII, apresentando-se na Figura 34 os gráficos relativos à variação da concentração de dipirona das 5 fórmulas ensaiadas.

A constância dos teores de dipirona verificada em todas as fórmulas mantidas a 60 °C impedia, à partida, qualquer aplicação da equação de Arrhenius. Todavia, também a variação da concentração de fármaco verificada a 80°C não correspondia a qualquer cinética conhecida, tendo-se experimentado, algébrica e graficamente, as cinéticas de ordem zero, um, dois e três. Admitiu-se ainda que poderia existir uma relação linear entre a variação das concentrações e a raiz quadrada do tempo. No entanto, os valores de velocidade calculados apresentavam uma disparidade elevada, pelo que se rejeitou também esta hipótese.

Assim, o estudo comparativo da estabilidade das 5 fórmulas de solução injectável de dipirona a 50 % limita-se apenas à apresentação dos resultados, pois não foi possível calcular outros parâmetros que, embora de âmbito predominantemente teórico, poderiam complementar as informações práticas obtidas.

3.2.2.3.- DISCUSSAO DOS RESULTADOS

Os ensaios executados confirmam a elevada estabilidade da solução simples de dipirona a 50 % e os graus de hidrólise determinados, após a manutenção do produto a 60°C durante um ano, aproximam-se dos valores respeitantes à temperatura ambiente e citados anteriormente (141,142,143, 144). Presume-se, pois, que a respectiva solução injectável apresente, quando conservada ao abrigo da luz, um prazo de validade elevado e provavelmente superior aos 5 anos preconizados pelos organismos competentes como limite máximo de utilização das formas farmacêuticas após o fabrico.

Paralelamente, e além de as percentagens de fármaco

QUADRO XVII

VARIAÇÃO DO TEOR DE DIPIRONA EM AMOSTRAS AQUECIDAS A 60 E 80°C

Fórmula	°C	Percentagem de dipirona		
		Inicial	6 meses	12 meses
A	60	96,19 ± 5,73	96,15 ± 6,38	96,35 ± 5,15
	80		38,02 ± 4,45	16,20 ± 4,41
B	60	96,10 ± 6,54	96,10 ± 4,93	95,80 ± 5,32
	80		17,90 ± 5,58	10,70 ± 7,57
C	60	96,84 ± 7,62	95,90 ± 6,62	96,10 ± 4,25
	80		24,20 ± 4,22	10,90 ± 4,42
D	60	96,29 ± 6,25	95,80 ± 6,05	95,60 ± 6,18
	80		32,80 ± 7,72	23,50 ± 7,97
E	60	96,09 + 5,24	95,60 ± 4,45	95,20 ± 5,23
	80		14,30 ± 7,42	8,10 ± 3,83

P = 0,95

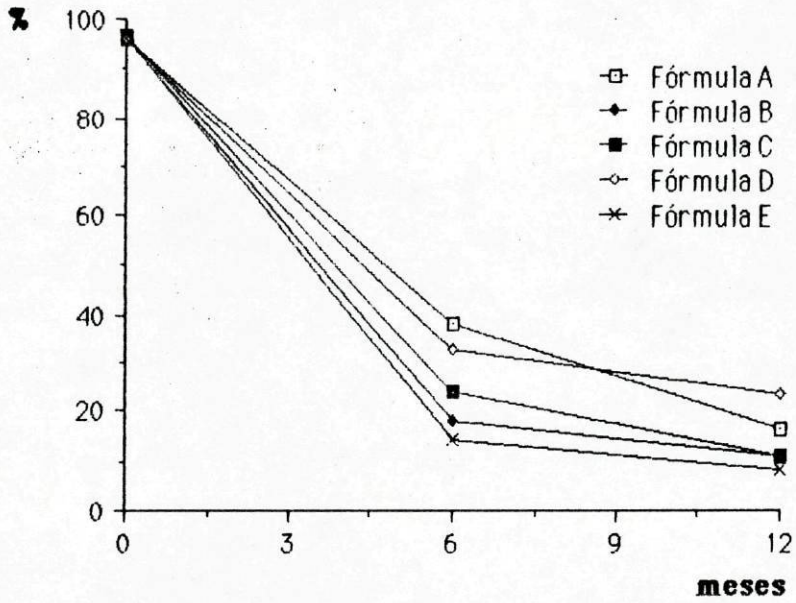


Fig. 34 - Relações gráficas entre os teores de dipirona e os tempos de conservação a 80°C

íntegro determinadas serem compatíveis com as quebras de teor admitidas na determinaçâo dos prazos de validade das formas farmacêuticas, refere-e que ao único produto de decomposiçâo detectado é atribuída, por certos autores, a eficácia terapêutica do fármaco (68,69). Pode-se afirmar, assim, que a potência analgésica da fórmula se mantém inalterável.

Por outro lado, a obtençâo de percentagens de hidrólise praticamente idênticas à temperatura ambiente e a 60°C, e o progressivo aumento ocorrido a 80°C, sugerem que as características de decomposiçâo do fármaco se alteram a partir de um determinado valor de temperatura. De facto, Garrett aconselha a nâo se ultrapassar, ao utilizar o processo isotérmico, a temperatura de 70°C. E que uma das críticas mais frequentes a este método é, como refere Calcinari, o facto de "as temperaturas elevadas utilizadas para acelerar os mecanismos de decomposiçâo constituem, na realidade, condiçôes fictícias de conservaçâo a que a forma farmacêutica nunca se encontrará submetida e que poderiam até activar reacçôes de degradaçâo que nâo se verificam à temperatura ambiente" (219).

Além destas consideraçôes respeitantes à soluçâo simples de dipirona a 50 %, verifica-se também que a presença de antioxidantes e de agentes sequestrantes nâo provoca qualuer melhoria das características de estabilidade do fármaco, pois os teores em dipirona encontrados em qualquer das fórmulas, antes ou depois da esterilizaçâo e ao longo do tempo de duraçâo do trabalho, sâo semelhantes.

Com a finalidade de encontrar uma possível explicaçâo para este fenómeno, recorde-se que se ensaiaram soluçôes injectáveis acondicionadas em ampolas, ou seja, em sistemas fechados contendo um determinado volume vazio de ar. De acordo com os cálculos indicados em 3.1.1.2., a quantidade de bissulfito de sódio necessária para reagir com a totalidade de oxigénio existente nesse volume vazio deveria corresponder a uma concentraçâo final próxima de 0,09 % .

Mas sabe-se também que a hidrólise da dipirona liberta

hidroximetilsulfonato de sódio. E referiu-se em 2.1.2. que este composto se decompõe em aldeído fórmico e bissulfito de sódio apenas, segundo Yoshioka et al. (135), a pH superior a 7. No entanto, fundamentam esta conclusão em ensaios realizados à temperatura ambiente.

Ora as soluções injectáveis de dipirona foram esterilizadas a 121°C, podendo admitir-se, então, que o hidroximetilsulfonato de sódio resultante da hidrólise natural do fármaco se decompõe quando é submetido a condições drásticas de aquecimento. Nestas circunstâncias, o próprio fármaco conteria já, em estado de "latência", o agente antioxidante. E seria durante a fase de esterilização que o bissulfito de sódio "endógeno" consumiria o oxigénio existente no interior da própria ampola.

A quantidade de oxigénio existente no volume vazio da ampola é muito baixa e, como se indicou em 3.1.1.2., próxima de 8,56 x 10^{-3} milimole. Pelo contrário, o peso de bissulfito de sódio que poderia eventualmente resultar da hidrólise da dipirona é mais elevado. De facto, o resultado do doseamento da água na matéria-prima foi de 5,28%, pelo que a concentração da solução injectável, expressa em produto anidro, era de 47,36 % . Por outro lado, o grau de hidrólise determinado foi de 4%, a que corresponde uma concentração de dipirona hidrolisada de 1,9 % . Atendendo a que cada molécula de dipirona pode originar 1 molécula de bissulfito de sódio, conclui-se então que daquela quantidade de fármaco hidrolisado pode resultar uma concentração de bissulfito de sódio igual a 0,6 % . Este teor é significativo e é cerca de 6 vezes e meia superior à concentração de bissulfito necessária para reagir completamente com a quantidade de oxigénio existente no interior da ampola. Nestas circunstâncias, a adição à solução do que se poderia denominar como bissulfito de sódio "exógeno" torna-se irrelevante e, em termos numéricos, pouco significativa. Além disso, e na ausência de oxigénio, também a presença de catalisadores negativos seria inútil.

Todavia, a hidrólise da dipirona é um equilíbrio químí-

co, pelo que o consumo de um dos produtos da reacção implicaria necessariamente um abaixamento da concentração dos reagentes. Deste modo, as soluções simples contendo dipirona deveriam apresentar uma concentração de fármaco íntegro inferior à das fórmulas contendo antioxidantes.

No entanto, a quantidade de oxigénio existente no interior da ampola é muito pequena, pelo que a concentração de bissulfito de sódio necessária para o consumir totalmente é também muito baixa (cerca de 0,09%, como se referiu anteriormente). Sabendo que a concentração de dipirona hidrolisada equivalente a 1,9% pode originar 0,6% de bissulfito de sódio, então a quantidade de dipirona equivalente ao teor de bissulfito consumido pelo oxigénio seria apenas de 0,285%, valor muito baixo cuja repercussão na variação do grau de hidrólise do fármaco (cerca de mais 0,6%) é também pequena.

Em resumo, a dipirona seria, e adaptando a terminologia terapêutica à formulação de formas farmacêuticas, um verdadeiro "pró-estabilizante", já que libertaria o antioxidante necessário para consumir totalmente a quantidade de oxigénio existente no interior da ampola. Este processo não implicaria, por outro lado, um aumento significativo do grau de hidrólise do fármaco, já que o volume vazio da ampola é também pequeno. O sistema ficaria assim praticamente desprovido de oxigénio, tornando despropositada a adição de agentes quelantes.

3.2.2.4.- CONCLUSÕES

1ª - As soluçôes injectáveis ensaiadas contêm cerca de 96% da quantidade inicial de fármaco, quando conservadas ao abrigo da luz e a 60ºC durante 1 ano.

2ª - As soluçôes injectáveis de dipirona a 50 % contendo apenas a substância activa apresentam, quando conservadas ao abrigo da luz, um prazo de validade elevado.

3ª - A adição de metabissulfito ou de bissulfito sódicos, na concentraçâo de 0,1%, nâo produz uma melhoria significativa da estabilidade das soluçôes injectáveis ensaiadas, quando conservadas ao abrigo da luz.

4ª - A adição do sal dissódico do ácido etilenodiaminotetracético, na concentraçâo de 0,01%, nâo provoca um aumento significativo da estabilidade das soluçôes injectáveis en-saiadas, quando conservadas ao abrigo da luz.

5ª - O método cromatográfico utilizado é adequado ao estudo da estabilidade das soluçôes injectáveis de dipirona.

3.2.3.- ESTUDO DA VARIAÇAO DE COR DA SOLUÇAO INJECTAVEL

Com a finalidade de avaliar a variaçâo de cor do injectável de dipirona a 50 %, procedeu-se ao estudo espectrofotométrico das soluçôes antes e depois da esterilizaçâo. Os espectros foram registados entre 420 e 440 nm, zona de comprimentos de onda característica da absorçâo dos compostos amarelos (220).

As diferenças de coloraçâo eram visíveis a olho nu. No entanto, ao manusear a soluçâo já esterilizada, de modo a lavar e a encher as tinas do espectrofotómetro, verificou-se que tornava a amaralecer.

Admitindo que a intensificaçâo da cor resultasse da rotura de qualquer equilíbrio entre as fracçôes solubilizada e livre de algum gás, a transferência da soluçâo esterilizada para o interior das tinas de quartzo foi executada com o auxílio de uma seringa.

Mas se o fenómeno era provocado, de facto, pela libertaçâo de um gás dissolvido, seria provável que ocorresse, ao mesmo tempo, uma variaçâo da concentraçâo hidrogeniónica da soluçâo. Por isso se determinou também o pH.

Para avaliar esta característica sem transvasar a soluçâo, procedeu-se ao enchimento de ampolas cuja capacidade permitisse a leitura do pH por introduçâo directa do eléctrodo na soluçâo contida na ampola. O volume escolhido foi 10 ml.

Os resultados expostos no subcapítulo anterior demonstravam que as condiçôes de esterilizaçâo utilizadas nâo originavam qualquer alteraçâo qualitativa e quantitativa da composiçâo da soluçâo injectável. De qualquer modo, atendendo à discussâo dos resultados anteriores e como se havia modificado o volume das ampolas, procedeu-se de novo à determinaçâo, por cromatografia líquida de alta pressâo, dos graus de hidrólise da soluçâo antes e depois da esterilizaçâo. As soluçôes ensaiadas correspondiam às 5 fórmulas já indicadas em 3.2.2.1..

Refere-se, finalmente, que a soluçâo de compensaçâo

utilizada nos ensaios espectrofotométricos foi a água destilada, já que os ensaios prévios realizados com soluçôes contendo os adjuvantes usados, em concentraçôes idênticas às das fórmulas estabelecidas, se apresentaram transparentes na zona de comprimentos de onda seleccionada.

3.2.3.1.- MATERIAL E METODOS

O material, os métodos e as técnicas utilizados na preparação das soluçôes injectáveis e na execução dos ensaios cromatográficos estão indicados em 3.2.2.1., e em 3.2.1.1. e 3.2.1.3., respectivamente.

As ampolas de vidro incolor, de 10 ml, obedeciam ao ensaio de resistência hidrolítica incluído na Farmacopeia Portuguesa V (193) para o vidro do tipo II.

O estudo colorimétrico foi realizado em espectrofotómetro Hitachi, modelo U-2000.

As determinaçôes de pH foram feitas em potenciómetro Metrohm, modelo E-56, munido de um eléctrodo de vidro Metrohm, modelo AG 9100.

3.2.3.2.- RESULTADOS

Na Figura 35 apresentam-se, em paralelo, os espectros registados antes e depois da esterilizaçâo a partir de 3 das 5 fórmulas estudadas.

Os graus de hidrólise da dipirona, os valores de pH das soluçôes e as absorvências correspondentes ao comprimento de onda de 430 nm encontram-se reunidos no Quadro XVIII. Atendendo ao facto de os registos das diferentes soluçôes nâo apresentarem máximos na zona seleccionada do espectro, adoptou-se como valor de referência o comprimento de onda médio.

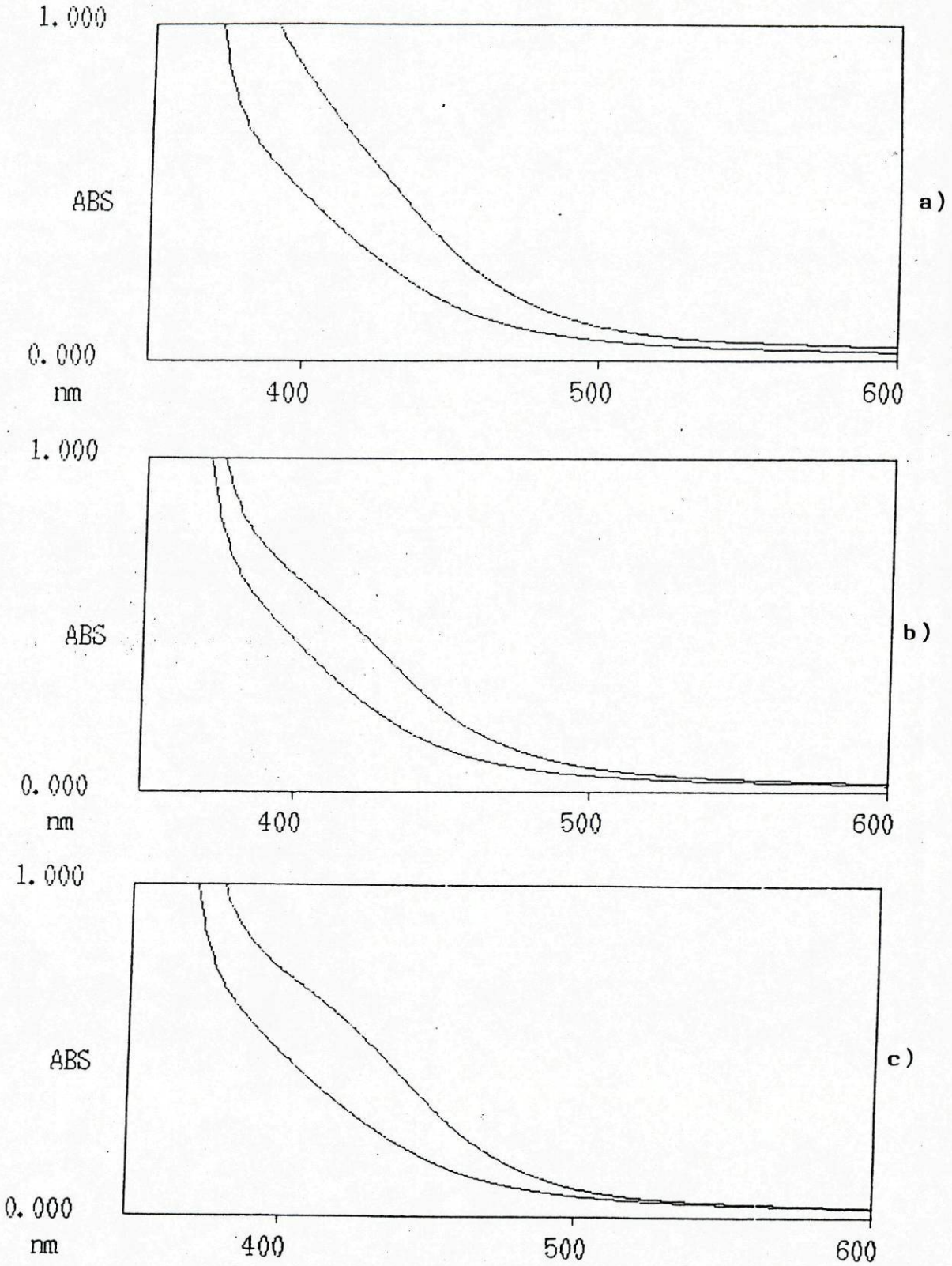


Fig. 35 - Espectros no visível registados antes e depois da esterilização.

a) fórmula A

b) fórmula C

c) fórmula E

QUADRO XVIII

TEORES EM DIPIRONA, ABSORVENCIAS E VALORES DE pH DE SOLUÇOES INJECTAVEIS ANTES E DEPOIS DA ESTERILIZAÇÃO

	pH		cor		%	
FORMULA	AE	DE	AE	DE	AE	DE
A	7,12	6,45	0,558	0,266	96,3	97,0
B	6.98	6,38	0,433	0,293	95,4	96,5
C	7,10	6,45	0,525	0,271	96,8	97,2
D	6,80	6,20	0,313	0,180	97,0	96,5
E	6,78	6,33	0,406	0,232	97,2	96,3

3.2.3.3.- DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Os cromatogramas executados antes e depois da esterilização das diferentes fórmulas são semelhantes, traduzindo graus de hidrólise baixos (4%) e, talvez por se manter a relação volume vazio/volume de líquido acondicionado, idênticos aos obtidos com ampolas de 2 ml. Contudo, embora sejam qualitativa e quantitativamente equivalentes, as soluções apresentam valores de pH e intensidades de coloração diferentes.

A perda de cor poderia ser explicada pela conhecida acção descorante dos derivados do ácido sulfuroso, pois o denominado bissulfito "endógeno" é produzido, como se indicou em 3.2.2.3., em quantidades muito superiores á necessária para reagir com a totalidade do oxigénio existente na ampola. De qualquer modo, esta justificação só seria viável se algum produto de decomposição da dipirona pudesse actuar, contrariamente ao que se encontra descrito na literatura, como oxidante.

Por outro lado, a descoloração poderia resultar também da decomposição do fármaco. Porém, a pequena quantidade de 4-metilaminoantipirina formada, que nem sequer é detectada em alguns cromatogramas, não justificava uma atenuação de cor tão acentuada.

Mas outra explicação possível relaciona-se directamente com o fenómeno responsável pela existência da própria cor. Assim, a solução recentemente preparada de dipirona é amarela, o que poderá ser atribuído certamente à conjugação de duplas ligações e de pares de electrões livres existentes na molécula. Todavia, a presença do radical sulfonilo parece desempenhar papel fundamental na formação da cor, já que as soluções de piramido são incolores.

De modo a avaliar a importância do grupo cromóforo, procedeu-se à realização de um ensaio orientador em que se compararam as colorações de soluções simples contendo quantidades iguais de dipirona, 4-metilaminoantipirina e piramido. Atendendo a que não era possível preparar soluções a

50 %, devido à exiguidade da quantidade disponível de padrão e às características de solubilidade, foi 1 % o valor de concentração seleccionado. Como se previa, a solução de dipirona era amarela e qualquer uma das outras era incolor.

Nesta altura, recorde-se que, de acordo com os resultados da avaliação da constante de acidez da dipirona indicados em 2.2.3., se atribuiu ao pKa correspondente à ionização do grupo amina ligado ao carbono 4 do anel pirazolónico um valor próximo de 5.

Ora a variação de pH ocorrida durante a esterilização, e provocada eventualmente pela reacção do bissulfito de sódio com o oxigénio molecular, aproxima-se daquele valor. E é para concentrações hidrogeniónicas próximas do pKa de qualquer composto que a variação percentual entre as respectivas formas ionizada e não ionizada é mais sensível. Poder-se-á admitir, então, que no decorrer da esterilização se verifica um aumento significativo do grau de ionização da molécula de dipirona.

Como se indica na Figura 36, a cedência do par de electrões livres da função amina quebra a conjugação de duplas ligações e de dupletos livres responsáveis pela coloração da solução, isolando o radical sulfonilo num dos extremos da molécula. Ou seja, enquanto a forma não ionizada da função amina da dipirona apresenta todas as condições necessárias para originar uma molécula corada, já a forma ionizada poderá ser praticamente incolor.

Esta hipótese é perfeitamente compatível não só com alguns dados mencionados na literatura consultada, mas também com outros resultados obtidos no decurso do trabalho experimental.

Assim, referiu-se já que a constante de acidez da 4-metilaminoantipirina é próxima de 4 (136), ao passo que a do piramido é 5 (221). Nestas circunstâncias, é possível que a constante de dissociação correspondente àquela função apresente valores desta ordem de grandeza.

Também as variaçôs dos tempos de retenção da dipirona e da 4-metilaminoantipirina em função do pH do eluente utili-

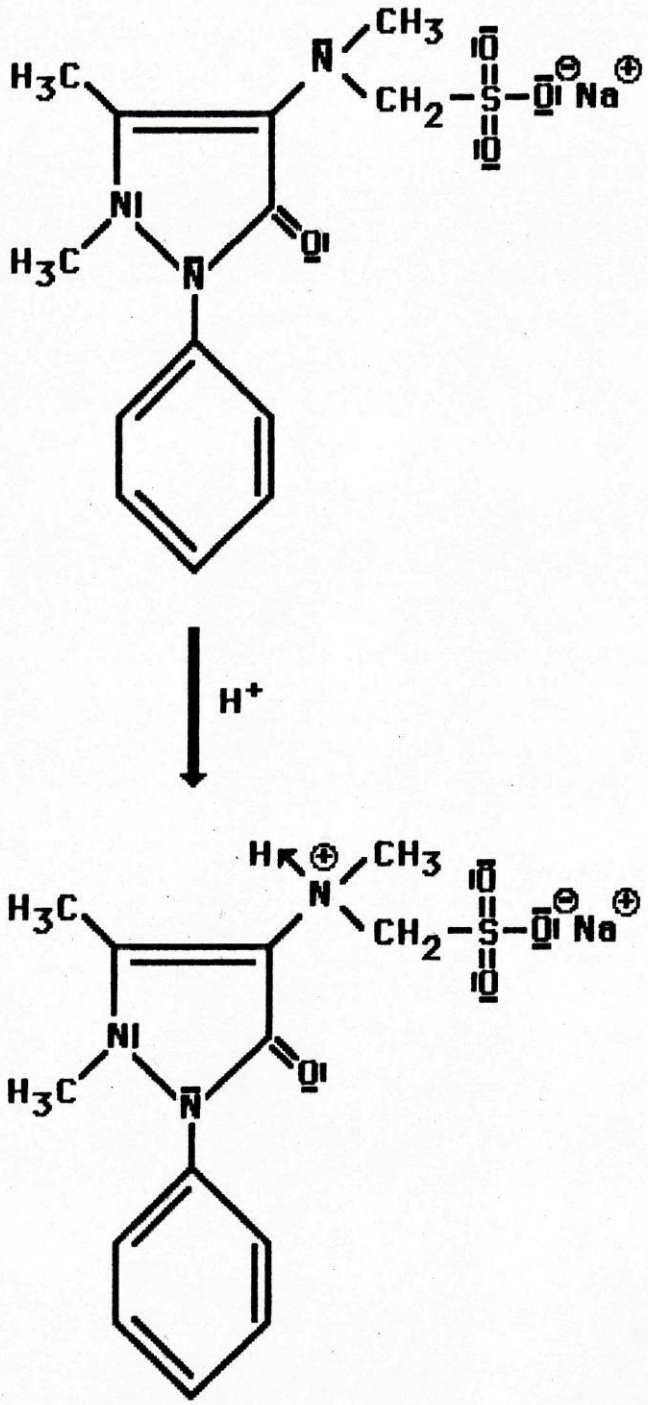
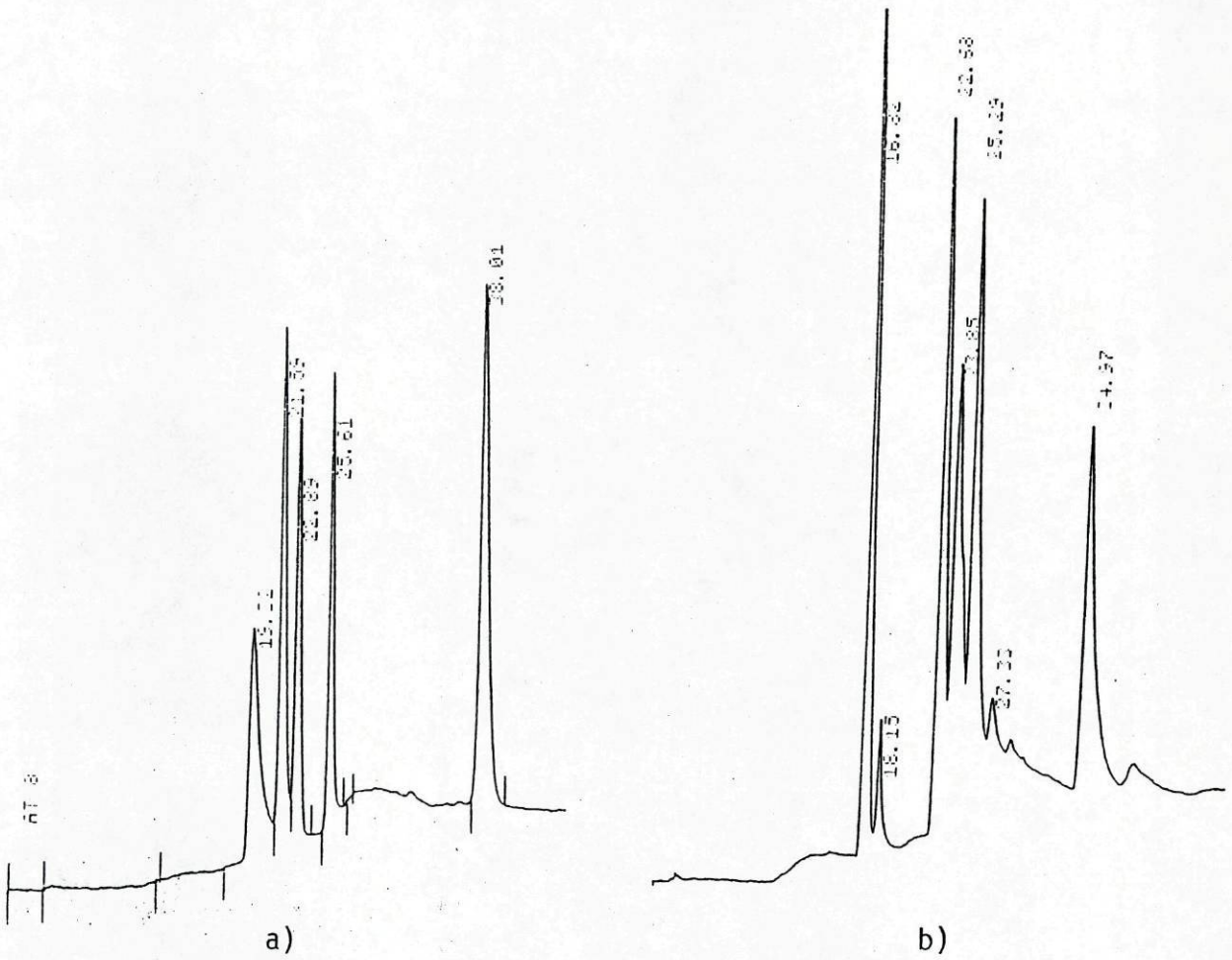


Fig. 36 - IONIZAÇÃO DO GRUPO AMINO DA DIPIRONA

zado durante o acerto da técnica cromatográfica (ensaiaram-se tampões com valores de pH compreendidos entre 3,6 e 6,6) são acentuadas. Como se pode verificar na Figura 37, os tempos de retenção da 4-metilaminoantipirina com os tampões de pH 3,6 e 6,6 são próximos de 19 e 26 minutos, respectivamente. De igual modo, também os tempos de retenção da dipirona são, pela mesma ordem, de cerca de 23 e 17 minutos, sugerindo uma alteração das características de polaridade da molécula anfotérica resultante, em parte, dos diferentes graus de ionização da função amina ligada ao carbono 4 do núcleo pirazolónico.



a) b)

Fig. 37 - Cromatogramas obtidos a partir de soluções contendo os quatro padrões.

a) metanol e tampão de pH 3,6
   19,32 min - 4-metilaminoantipirina
   22,89 min - dipirona

b) metanol e tampão de pH 6,6
   16,82 min - dipirona
   25,29 min - 4-metilaminoantipirina

3.2.3.4.- CONCLUSÕES

1ª - O grau de hidrólise da dipirona nas soluções injectáveis ensaiadas não é afectado pela esterilização a 121°C durante 30 minutos.

2ª - A atenuação da cor dos injectáveis ensaiados, ocorrida durante a esterilização a 121°C durante 30 minutos, é acompanhada pela acidificação da solução.

3ª - Os resultados sugerem que a esterilização a 121°C durante 30 minutos das soluções injectáveis ensaiadas provoca reacções diversas cujas consequências directas parecem ser a acidificação da solução e a alteração significativa do grau de ionização da molécula íntegra.

CAPITULO IV

COMPRIMIDOS

4.1.- INTRODUÇÃO

A forma farmacêutica comprimido constitui, juntamente com a solução injectável, uma das mais frequentes apresentações da dipirona. Todavia, é também pouco estudada do ponto de vista tecnológico, pelo que a estruturação desta introdução deveria ser semelhante à do capítulo 3: apresentação prévia da finalidade do trabalho e posterior justificação dos critérios de selecção dos materiais e métodos utilizados.

Mas os objectivos a alcançar são, neste caso, mais latos e diferentes: analisar o efeito da formulação nas propriedades físicas e biofarmacêuticas do produto. Com essa finalidade, procurar-se-ia determinar o maior número de características tecnológicas de comprimidos produzidos, numa primeira fase, segundo técnicas de preparação diversas, avaliando-se ao mesmo tempo as respectivas capacidades de dissolução e desagregação. Em seguida, e consoante os resultados obtidos, proceder-se-ia ao estudo de fórmulas estruturalmente semelhantes, mas contendo diferentes adjuvantes do mesmo tipo, e à realização de ensaios biofarmacêuticos.

Por outro lado, as fórmulas sólidas revestem-se de características peculiares, pois são sistemas heterogéneos dotados de propriedades específicas e dependentes de um elevado número de factores, o que confere sempre maior complexidade a qualquer interpretação teórica dos fenómenos ocorridos durante a sua preparação.

De facto, a própria índole de certas determinações, como por exemplo a avaliação das forças de compressão exercidas durante a produção de comprimidos, parece justificar uma exposição teórica mais pormenorizada, permitindo uma melhor fundamentação dos critérios de selecção dos métodos utilizados e complementando adequadamente a discussão dos resultados.

Atendendo, pois, à natureza da forma farmacêutica e à multiplicidade de parâmetros em questão, a estruturação da

introdução será diferente da de qualquer um dos capítulos anteriores, pois alguns dos assuntos serão discutidos mais profundamente. Em seguida, far-se-á a descrição circunstanciada dos objectivos a atingir, já abreviadamente enumerados, e a apresentação da parte experimental desta última fase do trabalho.

4.1.1.- ESTUDO DE FORMULAÇÃO

4.1.1.1.- ESTABILIZAÇÃO DA DIPIRONA

A alteração química dos constituintes de formas famacêuticas sólidas processa-se segundo regras complexas e pouco conhecidas. Sabe-se, no entanto, que é significativamente condicionada pelo conteúdo hídrico da fórmula, ocorrendo essencialmente nas microssoluções resultantes da solubilização dos diferentes compostos na água residual (222,223).

A decomposição da dipirona no estado sólido foi estudada, como se referiu em 2.1.2.4., por Yoshioka et al. (138), que confirmaram a relação existente entre o teor de humidade do pó e o grau de alteração do fármaco. Além disso, demonstraram também que a decomposição oxidativa implica a hidrólise prévia da molécula, processando-se a partir da 4--metilaminoantipirina (137).

Assim, a estabilização da dipirona em formas farmacêuticas sólidas parece relacionar-se mais directamente com os cuidados de preparação, acondicionamento e conservação destinados a evitar a hidrólise, do que propriamente com a eventual adição de antioxidantes e/ou agentes sequestrantes. Por outro lado, de modo a diminuir o número de variáveis intervenientes nas características finais do produto, pretendia-se que os comprimidos ensaiados fossem simples e constituídos pelo menor número de compostos. Nestas circunstâncias, não se incluiram nas fórmulas quaisquer adjuvantes destinados a impedir a oxidação da dipirona.

4.1.1.2.- FORMULAÇÃO DOS COMPRIMIDOS

Qualquer material destinado à preparação de comprimidos deve apresentar um conjunto de propriedades físicas que possibilitem a elaboração de formas farmacêuticas dotadas de características adequadas. Assim, deve ser constituído por partículas sólidas cujo peso possibilite o livre escoamento do distribuidor para a matriz; ao mesmo tempo, as características de fluxo devem ser constantes, provocando o enchimento homogéneo e regular da câmara de compressão. Além disso, não deve aderir aos punções ou à matriz da máquina de comprimir e deve apresentar a capacidade de agregação necessária para, após a compressão, se manter convenientemente aglutinado (224).

Raros são os compostos que obedecem simultaneamente a estes requisitos. Por outro lado, as doses terapêuticas de grande parte dos fármacos correspondem a quantidades pequenas e, por isso, incompatíveis com a execução prática de fórmulas contendo apenas a substância activa.

De modo a melhorar as características de escoamento e de aglutinação, ou ainda para aumentar o peso total do produto a comprimir, recorre-se habitualmente à adição de adjuvantes diversos e à realização de operações preliminares, como a granulação.

A esta perspectiva essencialmente prática da formulação, em que a selecção dos materiais e métodos utilizados é frequentemente empírica, contrapõe-se uma outra, mais fundamentada teoricamente, em que se procura analisar a acção de cada um dos inúmeros factores intervenientes no fenómeno da compressão, relacionando-os posteriormente com as características finais do produto.

Segundo Marshall (225), a formação de um comprimido a partir de uma determinada quantidade de pó corresponde, na realidade, a uma redução da energia livre de superfície, traduzindo assim uma diminuição do grau de heterogeneidade do sistema, que passaria a apresentar algumas das propriedades específicas do estado sólido. Nestas

circunstâncias, o processo, designado pelo autor como compactação, resultaria do somatório de dois fenómenos distintos: a compressão, em que ocorrem alterações físicas de natureza diversa cujo resultado é o aumento do grau de contacto entre as partículas, e a consolidação, durante a qual se estabelecem então as ligações sólido/sólido.

Um pó é um sistema bifásico sólido/gás, pelo que a primeira fase da compressão é a eliminação parcial da fase gasosa. A facilidade de remoção do ar depende de vários factores, mas a forma e as dimensões dos grânulos são certamente dos mais importantes. Assim, a forma condiciona as características gerais de empilhamento, embora se saiba que a maior parte das partículas utilizadas na preparação de comprimidos não apresenta a ideal forma cúbica. Correspondendo em geral a misturas de várias substâncias, são irregulares e originam empilhamentos desordenados contendo ainda uma certa percentagem de ar. Todavia, este grau de desordem é relativamente compensado pela existência de uma determinada percentagem de partículas de menores dimensões.

A esta fase de simples rearranjo espacial segue-se uma outra em que, devido ao progressivo aumento da pressão exercida, ocorrem alterações da própria configuração das partículas. Assim, as que apresentam comportamento elástico ou plástico deformam-se, adaptando-se aos contornos das partículas anexas e aumentando ainda mais o grau de contacto mútuo. Ao mesmo tempo, a deformação provoca também a eliminação do ar existente no interior dos grânulos, diminuindo a já reduzida porosidade do material comprimido. Pelo contrário, as partículas duras e dificilmente deformáveis manifestam maior tendência para a rotura, sofrendo fracturas e originando pequenos fragmentos de menor tamanho. Também nesta fase a já referida percentagem de partículas de reduzidas dimensões, que se encontra eventualmente aumentada devido à rotura dos materiais rígidos, desempenha papel de relevo pois, independentemente das características do produto, apresenta elevado grau de

plasticidade.

Estão criadas, então, as condições para se verificar o abaixamento da energia livre de superfície. E embora a natureza das ligações sólido/sólido dependa da composição química do produto e da fragmentação ou fricção ocorridas, são as forças de Van der Waals as principais responsáveis, em grande parte dos casos, pela coesão e/ou adesão das partículas. Os compostos iónicos constituem uma excepção, pois podem apresentar cumulativamente um efeito de polarização superficial.

A agregação entre as partículas pode também ser aumentada através da formação de pontes sólidas resultantes quer da fusão parcial de algumas substâncias, quer da cristalização de compostos dissolvidos no líquido de granulação ou na própria humidade residual do produto. A este respeito, refira-se que a solubilização pode ser aumentada em pontos submetidos a pressões elevadas, sabendo-se também que a incorporação de compostos hidrossolúveis facilita a posterior produção de comprimidos (225).

Poucas foram as referências bibliográficas encontradas e relacionadas com aspectos tecnológicos da preparação de comprimidos contendo dipirona. Porém, num dos trabalhos procede-se precisamente ao estudo da compressibilidade do composto (226), baseado na avaliação da resistência dos comprimidos obtidos. O autor não refere as características físicas da matéria-prima ensaiada, mas conclui que a dipirona, à semelhança do ácido acetilsalicílico, apresenta um comportamento predominantemente plástico e deformável, atingindo densidades relativas próximas da unidade a pressões relativamente baixas.

Atendendo ao desconhecimento da dimensão das partículas e do teor de humidade do pó estudado no referido trabalho, realizaram-se dois ensaios prévios utilizando directa e exclusivamente a dipirona fornecida pela empresa distribuidora. O primeiro destinou-se a avaliar as características de escoamento da matéria-prima e consistiu

na determinação do Indice de Compressibilidade, I, (225). Este factor é calculado a partir da equação

$$I = [\ 1 - \frac{V}{Vo}\ ] \ .\ 100$$

em que V é o volume aparente do pó, depois de submetido a um número padronizado de batimentos contra uma superfície rígida, e Vo é o volume inicial.

Trata-se, portanto, de uma determinação indirecta do volume percentual de ar, aceitando-se que a valores inferiores a 15% ou superiores a 25% correspondem, respectivamente, boas ou más características de escoamento.

O pó foi lançado para uma proveta de 100 ml, a altura da queda foi 2 a 3 cm e o número de batimentos foi 100. Fizeram-se 4 ensaios utilizando diferentes pesos de pó (10, 15, 20 e 25 g); os valores de V_o e V foram, respectivamente, 28, 44, 61 e 75 ml, e 19, 26, 35 e 45 ml. Os Indices de Compressibilidade calculados foram 32, 41, 43 e 40 %, aos quais corresponde o valor médio de 39 %.

Os resultados confirmaram, pois, a previsão feita a partir não só da assinalável redução de volume ocorrida durante a introdução do pó no recipiente utilizado para a preparação da solução injectável simples a 50 %, mas também da análise granulométrica indicada no Anexo I. De facto, para dimensões desta ordem de grandeza as interacções de natureza eléctrica sobrepõem-se significativamente ao efeito da gravidade (227).

A finalidade do segundo ensaio era a verificação do comportamento da matéria-prima na máquina de comprimir. Teoricamente, a dipirona reune algumas das características necessárias para originar comprimidos dotados de um grau de coesão adequado.

Assim,

- é um composto iónico, pelo que a capacidade de atracção entre as partículas poderá ser superior à de outros compostos;

- apresenta um teor de água, residual ou de solvataçâo, que poderá actuar como lubrificante interno da própria massa (228);
- é dotado de elevada hidrossolubilidade, apresentando por isso maior capacidade de formaçâo de pontes sólidas;
- é um composto plástico, nâo exigindo forças de compressâo elevadas para a respectiva compactaçâo (227).

A câmara de compressâo foi regulada de modo a originar comprimidos com um peso próximo de 300 mg, já que é esta a quantidade unitária aconselhada pelo Formulário Nacional de Medicamentos (20). De modo a distinguir melhor as características de escoamento e a capacidade de coesâo do produto, o enchimento da matriz foi feito manual e automaticamente.

O ensaio permitiu concluir que a matéria-prima disponível nâo podia ser directamente utilizada na preparaçâo desta forma farmacêutica. De facto, e embora os comprimidos obtidos depois de se ter procedido ao enchimento manual da câmara de compressâo apresentassem um grau de consolidaçâo elevado e nâo aderissem aos punções ou à matriz, o pó nâo fluía livre e regularmente do distribuidor durante o fabrico automático.

De um modo geral, sâo dois os processos utilizados para conferir ao material a comprimir as necessárias características tecnológicas: adiçâo de adjuvantes diversos e posterior granulaçâo da mistura obtida, ou junçâo dos denominados adjuvantes para compressâo directa. É este o fundamento do processo adoptado pelos Serviços Farmacêuticos de um hospital suíço onde os comprimidos de dipirona sâo fabricados segundo a fórmula (229):

Dipirona	500,0 g
Celutab	200,0 g
Avicel	60,0 g
Estearato de sódio	60,0 g
Primojel	40,0 g

A técnica de preparação é a compressão directa e o peso de cada comprimido é de 860 mg. Todavia, a fórmula é complexa, contrariando uma das premissas inicialmente estabelecidas: comparar fórmulas simples contendo o menor número de substâncias. Além disso, o recurso a adjuvantes para compressão directa não parece ser o método de fabrico mais adequado para estudos desta natureza em comprimidos contendo dipirona. Na realidade, estes compostos não provocam uma melhoria efectiva das deficientes propriedades físicas da substância activa, pois actuam fundamentalmente por diluição, atenuando ou anulando os efeitos das mesmas durante a produção. Por outro lado, a dipirona, além de apresentar boa capacidade de coesão, é utilizada em doses significativas, pelo que o conhecimento do respectivo comportamento durante a compressão se reveste da maior importância. Nestas circunstâncias, a citada técnica de fabrico não foi utilizada e procurou-se melhorar, por outros processos, as características gerais da matéria-prima.

A baixa capacidade de escoamento de um pó pode ser corrigida quer diminuindo o coeficiente de fricção, através da adição de um lubrificante adequado, quer aumentando a dimensão das partículas, o que implica a granulação prévia do material. Todavia, a mistura de dipirona com 4 % de talco continuava a não encher convenientemente a matriz, apresentando um comportamento semelhante ao da matéria-prima. Por isso, e embora se pudesse aumentar ainda mais a quantidade de lubrificante, optou-se em definitivo pela granulação.

A dipirona é um composto facilmente hidrolisável, pelo que as granulações a seco e a húmido com soluções ou solventes não aquosos parecem ser as técnicas mais indicadas. Mas, atendendo às disponibilidades materiais, a granulação a seco implicava a compressão do produto que, como se referiu, não apresentava boas características de escoamento. Contudo, a regulação do volume da câmara de compressão para valores elevados atenuou a irregularidade do enchimento, possibilitando a obtenção, a partir da mistura

de dipirona com 4% de talco, de comprimidos que apresentavam a resistência adequada.

Já a escolha do líquido de humedecimento obriga a uma justificação mais criteriosa e fundamentada. Assim, poder-se-ia optar, numa primeira fase, pela utilização de um líquido simples ou de uma solução contendo um aglutinante. Todavia, sabe-se que os solventes puros originam granulados friáveis e pouco resistentes (208). Por outro lado, alguns dos compostos habitualmente utilizados como aglutinantes são macromoléculas que aumentam em geral o tempo de desagregação do comprimido (208), sendo este efeito mais notório em fórmulas contendo fármacos pouco solúveis em água. Em contrapartida, as macromoléculas são facilmente deformáveis e apresentam um comportamento plástico (225), possibilitando a utilização de forças de compressão mais baixas. Ora a dipirona é dotada de elevada hidrossolubilidade, o que atenuaria certamente qualquer efeito retardador da desagregação. Nestas circunstâncias, e embora o próprio fármaco seja um composto facilmente deformável, considerou-se que a adição deste tipo de aglutinante poderia melhorar as características gerais do pó.

Das várias macromoléculas utilizadas na preparação de comprimidos poder-se-ão citar os diversos tipos de amidos, a gelatina, a polivinilpirrolidona ou os derivados da celulose. O composto escolhido foi a polivinilpirrolidona, não só por se pretender utilizar uma solução não aquosa, mas também por algumas das suas propriedades o justificar.

Assim, sabe-se que o amido, além de apresentar um teor de humidade residual elevado, é incorporado sob a forma de soluções de elevada viscosidade, dificultando a mistura sólido/líquido (230,231). Pelo contrário, às concentrações a que a polivinilpirrolidona é habitualmente utilizada correspondem viscosidades mais baixas. Além disso, a retenção molecular de água, ocorrida durante o aumento de volume dos grãos de amido, parece ser responsável pela baixa velocidade de penetração do líquido, cujo valor é significativamente inferior aos obtidos com derivados da celulose (232). Poder-

-se-á admitir, então, que também a polivinilpirrolidona apresenta um comportamento semelhante ao dos materiais celulósicos. Paralelamente, a polivinilpirrolidona e os derivados da celulose originam granulados mais resistentes do que o amido ou a gelatina (233). Deste modo, era necessário escolher um daqueles aglutinantes.

Mas a polivinilpirrolidona apresenta um certo grau de elasticidade (234), facilitando a compressão e contrariando, como demonstraram Nyström et al. (235), a eventual tendência para o "capping" manifestada por alguns materiais. Por isso foi este o aglutinante seleccionado, dissolvido em álcool isopropílico e a 20 %, correspondendo este valor à média das concentrações preconizadas na literatura (208).

A adição da polivinilpirrolidona à dipirona foi feita quer sob a forma de solução isopropanólica, quer a seco, procedendo-se depois ao humedecimento do pó com o solvente puro. Esta última técnica foi ensaiada por permitir uma melhor homogeneização da mistura, já que a baixa viscosidade do álcool isopropílico facilita ainda mais o contacto entre as duas fases.

Além do talco, adicionou-se aos granulados estearato de magnésio, pois apresenta uma acção lubrificante quase ideal (236) que parece não ser afectada pela má distribuição do composto (237). Por outro lado, admitiu-se que o aumento do tempo de desagregação resultante da sua hidrofobia (238) seria anulado ou diminuído pela hidrossolubilidade do fármaco.

4.1.1.3.- MODO DE PREPARAÇÃO

As técnicas de fabrico estão descritas, assim como as fórmulas ensaiadas, em 4.3.1.1. e foram elaboradas de acordo com os princípios gerais de preparação de comprimidos. Refere-se apenas que, atendendo à natureza do solvente utilizado, a secagem do granulado obtido por via húmida decorreu à temperatura ambiente e que, de modo a obter partículas com dimensões adequadas, a calibração foi feita

em tamiz de 10 malhas. cm^{-1}.

Mas as técnicas nâo mencionam um parâmetro que, para a manipulaçâo da dipirona, apresenta alguma importância: a cadência da máquina. De facto, a deformaçâo das partículas sólidas é funçâo do tempo de aplicaçâo da força responsável pelo fenómeno (225). Assim, os produtos plásticos originam frequentemente comprimidos menos resistentes quando a velocidade de compressâo aumenta, ao passo que a resistência dos comprimidos obtidos a partir de materiais rígidos e fragmentáveis nâo é praticamente afectada. O problema já foi objecto de diversos estudos (239,240,241,242,), tendo Pitt e Newton (243) demonstrado que as propriedades dos comprimidos de ácido acetilsalicílico dependiam significativamente do ritmo da compressâo.

A dipirona é um composto plástico e apresenta características de compressibilidade semelhantes às do ácido acetilsalicílico (226). Por isso, a cadência da máquina foi regulada para 30 compressões por minuto, valor baixo e que parece garantir, à partida, a obtençâo de comprimidos dotados do grau de consolidaçâo apropriado.

4.1.2.- CARACTERISTICAS FISICAS

A caracterizaçâo adequada dos produtos a comprimir nâo pode restringir-se aos ensaios habituais de pós ou granulados, pois o seu comportamento durante a compressâo é condicionado por um número elevado de factores e só é correctamente avaliado "in loco". A grandeza física determinada nestes ensaios é a força exercida em qualquer dos punções ou nas paredes da matriz e cujos valores reflectem já algumas das propriedades do material. No entanto, é o estudo da variaçâo da força em funçâo do tempo e da deslocaçâo do punçâo superior que permite calcular alguns índices directamente relacionados com as características de compressâo e consolidaçâo do produto.

Os referidos estudos fornecem ainda indicações úteis cerca do próprio comprimido, justificando mais correctamen-

te algumas das suas propriedades físicas, como a dureza, ou realçando a importância de outras que nâo sâo habitualmente avaliadas, como a porosidade.

4.1.2.1.- FORÇA DE COMPRESSÃO

A determinaçâo da força exercida durante a preparaçâo de um comprimido é uma avaliaçâo indirecta em que, à custa de determinados tipos de transdutores, se converte proporcionalmente aquela grandeza num sinal eléctrico de fácil mediçâo e registo. Os transdutores utilizados podem ser de resistividade ou piezoeléctricos, consoante o sinal detectado corresponde à alteraçâo da resistência de pequenos filamentos metálicos, ou à emissâo de uma corrente provocada por modificaçôes da estrutura cristalina de certas substâncias, como o quartzo (225).

Os transdutores de resistividade foram utilizados por Higuchi nos seus pioneiros trabalhos sobre esta matéria (244,245). No entanto, sâo sensíveis às variaçôes de temperatura e à deformaçâo das peças da máquina às quais se encontram ligados, pelo que sâo habitualmente instalados aos pares e segundo o clássico circuito da ponte de Wheatstone (246,247,248). Além disso, a calibraçâo é delicada e a montagem é praticamente irreversível, pois passam a fazer parte integrante do jogo de punçôes / matriz utilizado (225, 249).

Os transdutores piezoeléctricos, que foram pela primeira vez aplicados em ensaios destas natureza por Marshall (249), têm vindo a ser cada vez mais utilizados (250,251, 252) pois nâo apresentam aquelas desvantagens. Assim, a intensidade da corrente nâo é praticamente afectada pela temperatura ou pela deformaçâo mecânica e a montagem é reversível, podendo ser facilmente adaptados a outros jogos de punçôes da mesma ou de outra máquina. Além disso, sâo adquiridos já calibrados e o acerto do zero pode ser feito, independentemente de qualquer carga suportada, através de uma simples ligaçâo à terra (225,249).

O sinal elécrico, de fraca intensidade, é entâo ampli-

ficado e medido em aparelhos apropriados, como os osciloscópios (253,254). Todavia, o recente desenvolvimento da electrónica possibilita a ligaçâo do amplificador a um microcomputador, obrigando apenas à introduçâo no circuito de um conversor de sinal analógico em digital. O registo dos gráficos é assim facilitado, e o tratamento dos resultados é mais completo e, especialmente, mais consentâneo com os objectivos do trabalho, pois depende apenas do software introduzido no microcomputador (255).

Na Figura 38 apresenta-se uma montagem deste tipo, em que T é o transdutor, A o amplificador, C o conversor do sinal analógico em digital e M o microcomputador.

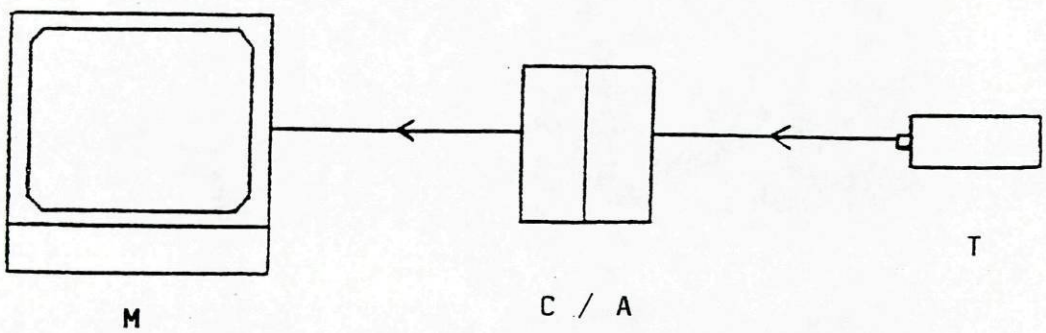


Fig. 38 - Montagem utilizada na mediçâo e registo das forças de compressâo.

Embora os transdutores possam ser instalados em máquinas rotativas (256,257,258), é às máquinas alternativas que se recorre mais frequentemente (247,250,252), pois a montagem é simples e a distribuição de forças (225), como se indica na Figura 39, é melhor definida. De facto, F_S e F_I são as forças exercidas pelos punções superior e inferior, respectivamente; F_M é também uma força axial e corresponde ao atrito verificado entre as paredes da matriz e o sólido; F_R é a única força radial, traduzindo a maior ou menor tendência de expansão horizontal do produto comprimido.

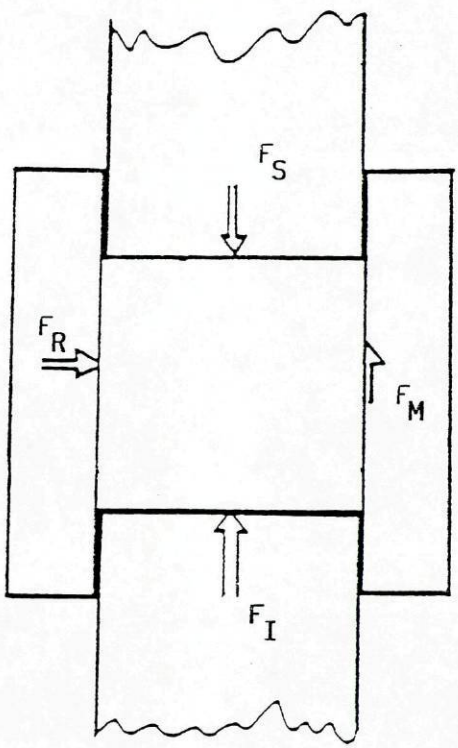


Fig. 39 - Distribuição de forças durante a compressão.

A montagem de transdutores nos punções superior e inferior ou na matriz permite determinar os valores de F_S, F_I e F_R; o valor de F_M é calculado a partir da diferença entre F_S e F_I, já que o balanço vertical das forças deve ser nulo.

A aplicação prática mais conhecida deste tipo de ensaios é a determinação do coeficiente de lubrificação (259), definido como a relação numérica entre os valores máximos das forças exercidas pelos punções inferior e superior, e que deve naturalmente aproximar-se da unidade. Por outro lado, a força máxima exercida pelo punção superior traduz, em certa medida, o grau de compressão necessário para obter um comprimido dotado de determinadas propriedades. Por isso é utilizada também em trabalhos cuja finalidade é comparar diferentes técnicas de fabrico, ou relacionar características físicas de comprimidos preparados a partir da mesma fórmula com o grau de compressão a que foram submetidos.

Mas é possível obter também os denominados ciclos de compressão força/tempo, registando os sucessivos valores de força a que o material é submetido e relacionando-os graficamente com a duração do processo. Os ciclos têm o aspecto indicado na Figura 40 e apresentam, segundo Jones (260,261), 5 períodos diferentes:

TC - tempo de consolidação;
TM - tempo de aplicação da força máxima de compressão, ou "dwell time";
TF - tempo de contacto com a força de compressão;
TM - tempo de permanência do comprimido na matriz;
TE - tempo de ejecção.

Alguns destes valores apresentam, por si só, importância relevante, como se referiu já em 4.1.1.3. a propósito da regulação da cadência da máquina. Além disso, o próprio formato da curva é característico do tipo de material. Refere-se, finalmente, que o interesse da avaliação da força não se circunscreve apenas ao estudo do comportamento dos pós

durante a compressão. De facto, a força máxima exercida depende, para um determinado volume da câmara de compressão, do peso do pó comprimido, possibilitando assim a elaboração de cartas de controlo de produção em que o peso teórico e os limites superior e inferior de peso sejam substituídos pelos correspondentes valores máximos de força de compressão.

Já Higuchi verificara, em 1953 (245), que existia uma relação logarítmica entre a densidade aparente dos comprimidos e a força de compressão. Contudo, os estudos realizados posteriormente conduziram a resultados contraditórios: alguns autores (262) afirmam que a relação entre o peso e a força máxima não é linear, ao passo que outros admitem a existência de linearidade em intervalos relativamente amplos (263).

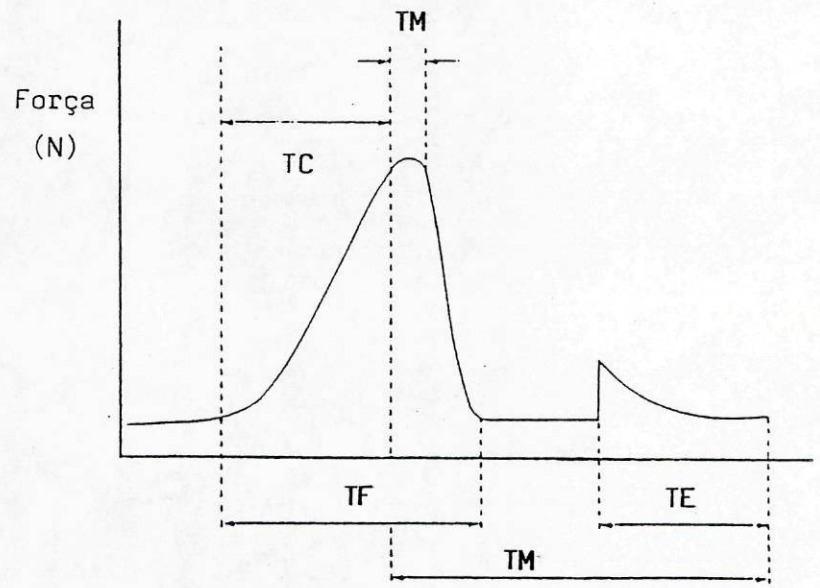


Fig. 40 - Períodos do ciclo de compressão força/tempo.

4.1.2.2.- DESLOCAÇÃO DO PUNÇÃO SUPERIOR

No subcapítulo anterior referiu-se que o estudo do comportamento dos materiais durante a compressão é habitualmente realizado em máquinas alternativas, pois a montagem dos dispositivos de medida é simples e a distribuição de forças é melhor definida. Mas este tipo de máquinas apresenta ainda outra vantagem: a compressão resulta apenas do movimento do punção superior. Deste modo, e desde que se determine a respectiva deslocação em função do tempo, é possível conhecer os sucessivos graus de compressão a que o material é submetido durante o percurso descendente daquela peça. Por outro lado, a força que é exercida sobre o punção durante o movimento ascendente corresponde à recuperação de volume da massa comprimida e depende do maior ou menor grau de elasticidade do produto.

A avaliação da deslocação é feita recorrendo aos denominados transdutores de deslocamento, representados esquematicamente na Figura 41. O núcleo móvel deve estar ligado ao punção superior, pelo que a respectiva deslocação altera proporcionalmente a diferença de potencial existente no circuito ligado ao sistema de detecção (225).

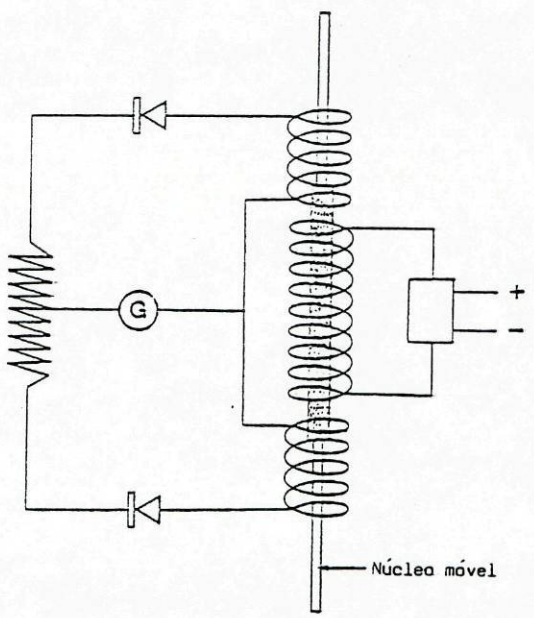


Fig. 41 - Transdutor de deslocamento.

Estudados por diversos autores (251,264,265,266,267), os gráficos obtidos têm o aspecto indicado na Figura 42 e são constituídos por 3 curvas e um segmento de recta (225): as curvas AB e DB correspondem às variaçôes de força no punção superior durante os percursos descendente e ascendente, respectivamente; a curva EB relaciona a força exercida no punçâo inferior com a deslocaçâo descendente do punçâo superior; o segmento de recta BC traduz a situaçâo desejável do comprimido cuja massa apresenta um comportamento plástico ideal.

Obtêm-se, assim, diversos valores de área sob a curva que têm sido utilizados para comparar as energias dispendidas durante a compressâo. Deste modo, a área da zona compreendida entre os pontos A, B e C corresponderia à energia total fornecida pelo punçâo superior, E_S, ou energia bruta. No entanto, segundo Juslin e Jaervinen (268) e Doelker (269), é possível dividir aquela área nos seguintes componentes:

- área da zona compreendida entre os pontos E, B e C (energia transmitida ao punçâo inferior, E_I);
- área da zona compreendida entre os pontos A, B e E (energia de fricçâo, E_{FR}, utilizada para vencer o atrito manifestado entre as paredes da matriz e o material a comprimir, e que é numericamente igual à diferença entre E_S e E_I);
- área da zona compreendida entre os pontos D, B e C (energia de expansâo, E_{EXP}, armazenada sob a forma de energia elástica pelo comprimido e que é libertada durante o movimento ascencional do punçâo superior);
- área da zona compreendida entre os pontos A, B e D (energia líquida aparente, E_{LA}, que corresponde à energia de formaçâo real do comprimido e que é numericamente igual à diferença entre E_S e E_{EXP}.

Stamm e Mathis (270) utilizam estes valores para calcular outra característica da massa a comprimir. Assim, de acordo com a definiçâo indicada das diferentes áreas, o Indice de Plasticidade corresponde à relaçâo percentual entre as áreas ABD e ABC, adquirindo valores tanto maiores quan-

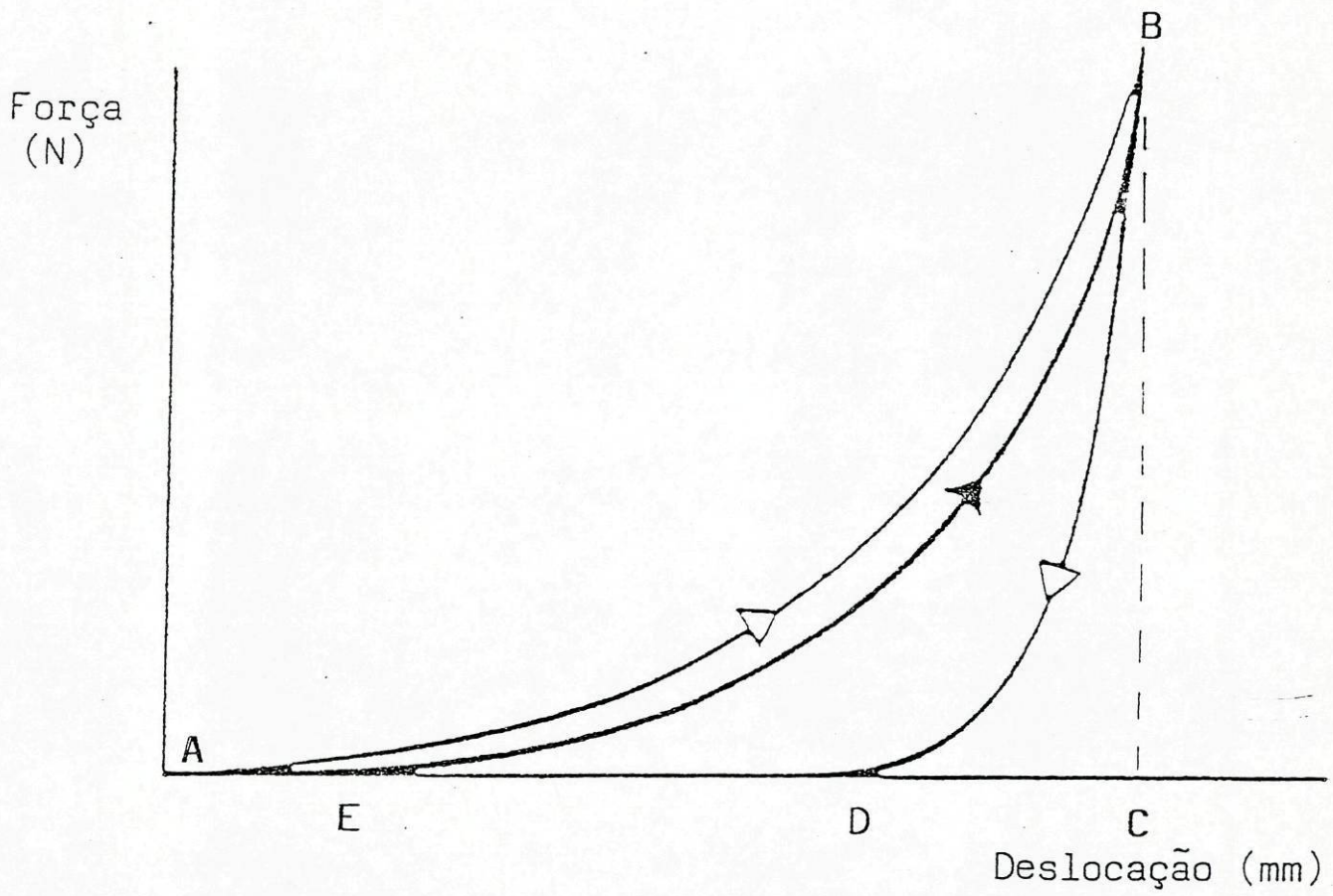


Fig. 42 - Curva de compressão força/deslocação.

to menor for a recuperação de volume ocorrida depois de se ter atingido o valor máximo de compressão. Deste modo, é calculado a partir da fórmula

$$PL = 100 \times \frac{E_{LA}}{E_S} = 100 \times \frac{E_S - E_{EXP}}{E_S}$$

em que as letras correspondem às áreas sob a curva acima indicadas.

O registo gráfico das curvas pode ser obtido directamente, através de montagens complexas ou de programas específicos introduzidos em computador (271), ou elaborado manualmente a partir das curvas de compressão força/tempo. De facto, a deslocação do punção superior das máquinas alternativas processa-se segundo a equação de uma parábola (272),

$$d = a + b.t + c.t^2$$

em que d é a deslocação do punção ao fim de um determinado tempo t.

Aplicando o processo descrito por Gomez Amoza (249), é possível calcular as constantes a, b e c conhecendo apenas os valores do tempo e da deslocação correspondentes à compressão máxima. De facto, a determinação da deslocação só deve ser iniciada quando o punção começa a penetrar na matriz. Deste modo, d será igual a zero quando t é igual a zero, pelo que o valor da constante a é também nulo. Por outro lado, o tempo ao fim do qual se exerce a força máxima de compressão ($t_{máx}$) corresponde à deslocação máxima ($d_{máx}$); mas a variação da deslocação do punção em função do tempo é parabólica, pelo que ao fim de um tempo cujo valor seja duplo de $t_{máx}$ o punção deverá estar novamente a rasar a matriz, ou seja, o valor da deslocação será novamente nulo.

Estes enunciados traduzem-se matematicamente pelas equações

$$d_{máx} = b \cdot t_{máx} + c \cdot (t_{máx})^2$$

e

$$0 = b \cdot (2 \times t_{máx}) + c \cdot (2 \times t_{máx})^2$$

cuja resolução conjunta permite calcular os valores das constantes b e c, definindo-se assim a equação correspondente à deslocação do punção superior em função do tempo. O valor de $t_{máx}$ é calculado a partir das curvas de compressão força/tempo; o valor de $d_{máx}$ é determinado por leitura directa no detector de sinal ligado ao transdutor de deslocamento.

Refere-se, finalmente, que a partir da medição da altura do produto ensaiado em diferentes pontos do ciclo de compressão se pode determinar a denominada Plastoelasticidade (273). A fórmula de cálculo é

$$\tau = \frac{H_0}{H_{máx}} \cdot \frac{H_r - H_{máx}}{H_0 - H_{máx}}$$

em que τ é a plastoelasticidade e H_0, $H_{máx}$ e H_r correspondem às alturas da massa a comprimir antes da compressão, no ponto de compressão máxima e na ejecção, respectivamente.

4.1.2.3.- POROSIDADE

Como se pode verificar pela descrição da compactação exposta em 4.1.1.2., o volume de ar existente num pó ou granulado varia significativamente durante todo o processo. Este fenómeno foi também estudado por Higuchi (245,274) e os resultados obtidos permitiram concluir que existe uma relação linear, para uma determinada zona de forças de compressão, entre a densidade aparente de um comprimido e o logaritmo da força de compressão.

Marshall (225), adoptando a interpretação de Train (275), considera que a variação da porosidade durante um

ciclo de compressão se pode dividir em 4 períodos. Assim, e como se indica na Figura 43, à primeira fase (I), de curta duração e que corresponde ao reordenamento espacial das partículas, segue-se uma outra (II), também rápida e em que, devido à formação de estruturas sólidas em coluna ou em abóbada, o material apresenta características elásticas, adaptando-se ao aumento da força e originando um decréscimo mais lento da porosidade. Todavia, logo que o valor de cedência do material é ultrapassado (III), as referidas estruturas são destruídas, o comportamento passa a ser plástico e a diminuição da porosidade é então acentuada, variando linearmente em função do logaritmo da força exercida. O último período (IV) corresponde, finalmente, à própria compressão da estrutura sólido/sólido formada entre as partículas.

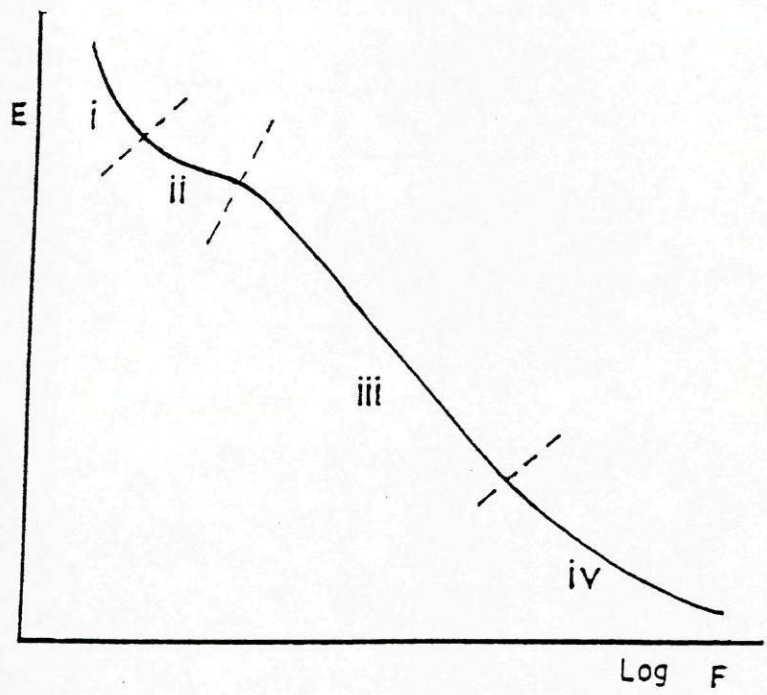


Fig. 43 - Variação da porosidade em função da força de compressão.

A equação de Heckel (225) traduz matematicamente a relação entre a variação da porosidade do comprimido, E, e a pressão aplicada, P. Assim:

$$\log \frac{1}{E} = K_y \cdot P + K_r$$

em que K_y e K_r são constantes.

A pressão exercida é calculada a partir da equação

$$P = \frac{4\ F}{\pi\ D^2}$$

em que F é a força aplicada e D o diâmetro do comprimido.

A porosidade é obtida a partir da equação

$$E = 100\ [\ 1 - \frac{4W}{\sigma_T\ .\ \pi\ .\ D^2\ .\ H}\ ]$$

em que W é a massa do comprimido, σ_T a densidade real do produto a comprimir, D é o diâmetro do comprimido e H a respectiva altura num determinado ponto da compressão. O valor de H é facilmente obtido a partir da medição da deslocação do punção superior e a densidade real é avaliada a partir das dimensões de um comprimido para cuja preparação se utilizaram forças de compressão elevadas, pelo que a respectiva porosidade será nula (225).

Ao relacionar graficamente o logaritmo do inverso da porosidade com a pressão obtêm-se então os denominados gráficos de Heckel, cuja configuração depende do comportamento do material durante a compressão. Assim, os produtos deformáveis originam curvas semelhantes às do tipo A da Figura 44, em que à rápida fase inicial de reordenamento espacial se segue uma diminuição progressiva e gradual da porosidade. Pelo contrário, os materiais rígidos exibem, como se verifica nas curvas do tipo B da mesma Figura, uma primeira fase mais longa. Todavia, a diminuição da porosidade ocorre apenas até se atingir um determinado valor de pressão e man-

tém-se em seguida praticamente constante, sugerindo assim um baixo grau de deformação e uma tendência elevada para que a consolidação se realize após a fragmentação das partículas.

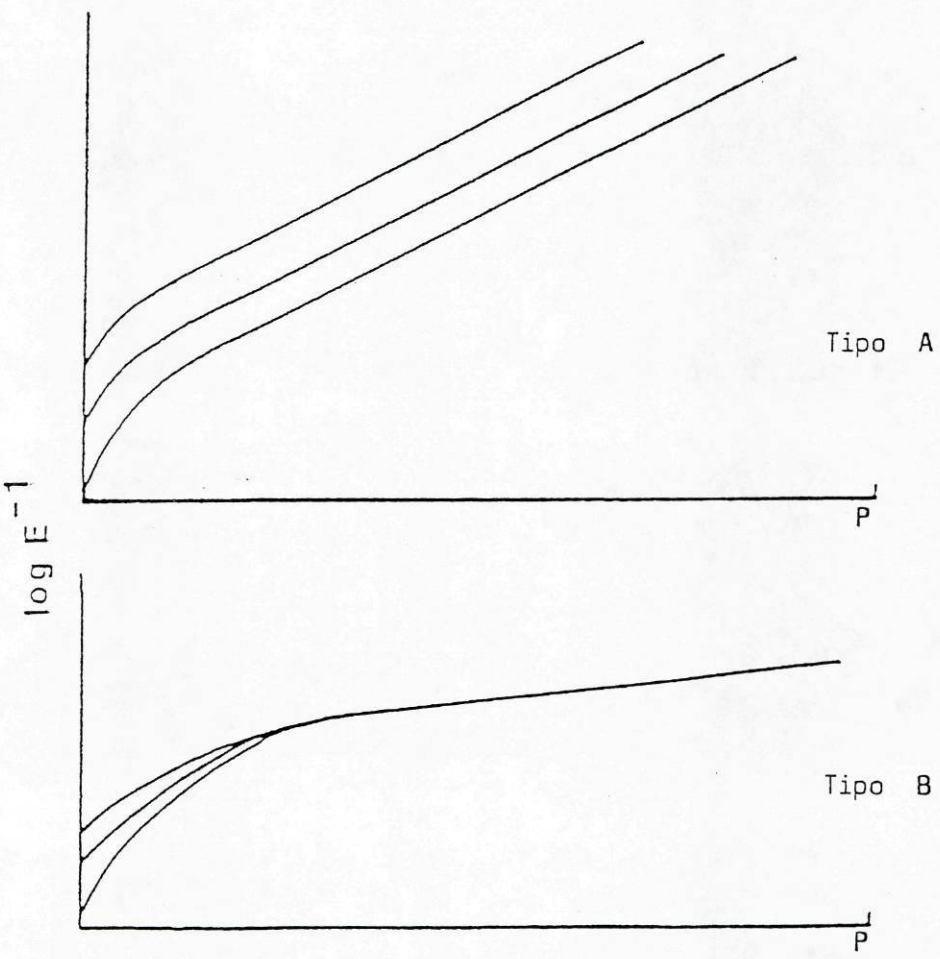


Fig. 44 - Gráficos de Heckel.

Para avaliar o diâmetro médio dos poros de um comprimido, Lowenthal e Burrus (276) adaptam a equação de Kozeny e Carman à passagem de ar através da placa porosa que aquela forma farmacêutica constitui e propõem a utilização do aparelho indicado na Figura 45.

Numa fase inicial, a abertura superior da matriz deve estar fechada, isolando assim o dispositivo e possibilitando a criação, no seu interior, de um determinado grau de vazio. A desobstrução da matriz implica necessariamente a abertura do sistema, cuja pressão interna vai aumentando lentamente devido à passagem de ar através do comprimido. No entanto, o posicionamento adequado das torneiras de 3 vias limita este aumento de pressão ao interior da proveta, provocando deste modo a passagem de um determinado volume de água, $\underline{V}$, durante um período de tempo $\underline{t}$, para o balão de duas tubuladuras.

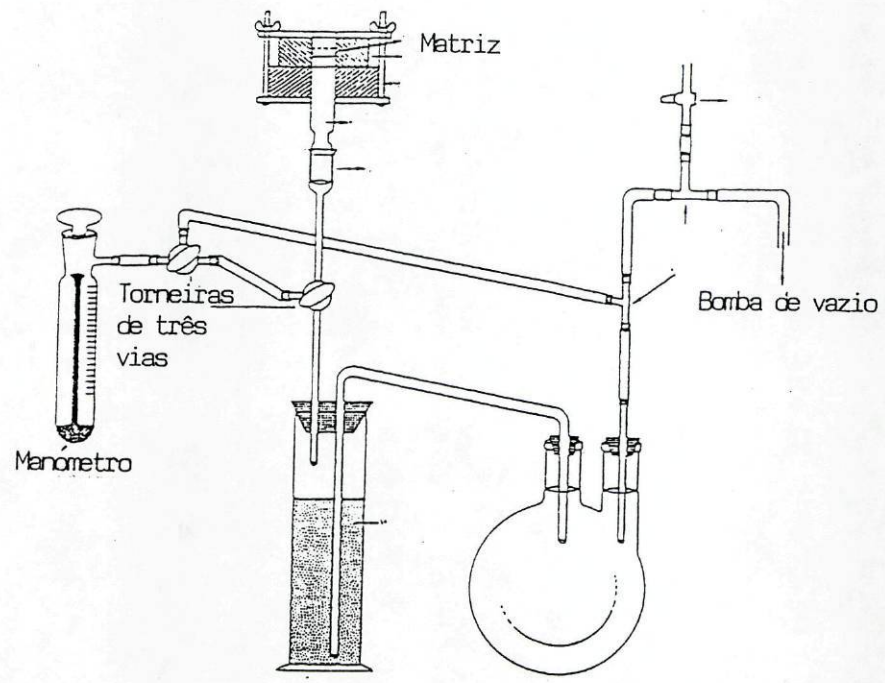


Fig. 45 - Dispositivo para avaliar o diâmetro médio dos poros de um comprimido.

O diâmetro médio dos poros, $\underline{D}$, é determinado então a partir da equação

$$D = \frac{2}{7}\sqrt{\frac{\eta \cdot L \cdot V}{P \cdot A \cdot t \cdot E}}$$

em que $\underline{V}$ e $\underline{t}$ têm os significados já referidos, η é a viscosidade do ar à temperatura da experiência, P é a diferença de pressão existente entre as duas faces do comprimido e $\underline{A}$, $\underline{L}$ e $\underline{E}$ correspondem às respectivas área da secção horizontal, altura e porosidade.

A porosidade do comprimido é calculada, por sua vez, a partir da fórmula

$$E = 1 - \frac{\text{densidade aparente}}{\text{densidade real}}$$

ou, para comprimidos com diâmetro idêntico,

$$E = 1 - \frac{\text{altura do comprimido à densidade real}}{\text{altura do comprimido à densidade aparente}}$$

A densidade real e a altura do comprimido à densidade real são avaliadas, como se referiu a propósito da equação de Heckel, a partir das dimensões de um comprimido de porosidade nula.

4.1.3.- CARACTERíSTICAS BIOFARMACEUTICAS

A biodisponibilidade de uma forma farmacêutica administrada por via oral só pode ser convenientemente avaliada "in vivo". Todavia, algumas das características físicas dos comprimidos, como o ensaio de dissolução (277) e, em certos casos, a determinação do tempo de desagregação, fornecem já indicações úteis acerca da facilidade de cedência da substância activa. Por outro lado, o aparecimento de membranas sintéticas semelhantes às biológicas permitiu estudar, "in vitro", a cinética de absorção dos fármacos. De qualquer mo-

do, nenhuma destas determinaçôes substitui a experimentaçâo "in vivo", pois os resultados obtidos afastam-se, frequentemente, do comportamento real da forma farmacêutica no tracto gastro-intestinal (278).

4.1.3.1.- ENSAIOS "IN VITRO"

A capacidade de dissoluçâo dos fármacos em meios aquosos depende de inúmeros factores, quer inerentes à natureza química ou às características físicas do composto, quer respeitantes às propriedades da forma farmacêutica ou do meio de dissoluçâo. Variando em funçâo do tempo de acordo com a equaçâo de Noyes - Whitney modificada (208), a velocidade de dissoluçâo é um parâmetro que adquire particular importância no estudo de comprimidos contendo fármacos dotados de baixa hidrossolubilidade e para os quais a determinaçâo do tempo de desagregaçâo nâo apresenta, do ponto de vista biofarmacêutico, qualquer significado. Pelo contrário, este último ensaio reveste-se já de maior interesse em fórmulas que veiculam substâncias activas hidrossolúveis em quantidades significativas.

Grande parte dos sistemas utilizados no estudo da absorçâo "in vitro" sâo constituídos por dois compartimentos que contactam entre si através de uma membrana semipermeável e nos quais se colocam fases aquosas diferentes: uma delas contém a forma farmacêutica, ou o fármaco a analisar, e a outra é constituída apenas por um líquido de dissoluçâo. O gradiente de concentraçôes existente provoca então a passagem do fármaco através da membrana, de cuja constituiçâo depende o tipo de mecanismo de transporte em estudo.

Assim, segundo Galer e Rondelet (279), as membranas compostas utilizadas em ensaios de difusâo passiva podem ser constituídas por impregnaçôes lipídicas em septos filtrantes de natureza celulósica ou poliamídica (280,281,284,) ou obtidas por evaporaçâo do solvente de soluçôes lipídicas às quais se adiciona previamente um composto macromolecular, como o colódio (285) ou a etilcelulose (286). As primeiras

são as mais vulgarmente utilizadas em alguns dos simuladores de absorção comercializados, como os aparelhos das marcas Sartorius ou Desaga.

Mas as velocidades de dissolução e de absorção de qualquer composto variam significativamente com o pH das soluções contidas em ambos os compartimentos. Por isso, as fases aquosas que contêm inicialmente o fármaco apresentam valores de pH semelhantes aos do suco gástrico ou entérico, ao passo que o pH do líquido existente no outro compartimento deve ser próximo do plasmático.

Os sucessivos doseamentos do fármaco em ambos os compartimentos, realizados em intervalos de tempo previamente estabelecidos, possibilita a construção de gráficos que, como refere Stricker (287,288), apresentam três fases distintas: à primeira, praticamente linear e de inclinação negativa no compartimento que contém o fármaco e positiva no outro, segue-se uma outra em que a velocidade de passagem vai diminuindo progressivamente. O gráfico deixa de ser linear e a curvatura atenua-se lentamente até originar, na terceira e última fase, uma recta praticamente paralela ao eixo das abcissas (no qual se inscrevem os tempos), atingindo-se então o equilíbrio de concentrações entre ambos os líquidos.

Como propõe aquele autor, é possível calcular duas velocidades específicas: a de difusão e a de absorção.

A partir dos resultados correspondentes à primeira fase do processo, a velocidade específica de difusão, Kd, é determinada aplicando a seguinte adaptação da lei de Fick:

$$Kd = \frac{C_{R2} - C_{R1}}{T_2 - T_1} \cdot \frac{1}{C_{D0}} \cdot \frac{V_{R0}}{F}$$

- em que C_{R2} e C_{R1} são as concentrações de fármaco no compartimento "receptor" ao fim dos tempos T_2 e T_1, respectivamente;

- V_{R0} é o volume de líquido contido no compartimento "receptor" no início do ensaio;
- F é a superfície da membrana;
- C_{D0} é a concentraçâo inicial do fármaco no compartimento "dador".

A velocidade especifica de absorçâo, Ka, é calculada a partir da equaçâo

$$Ka = G\ (Kd - Kdo)$$

em que Kd é a velocidade específica de difusâo e Kdo é um factor de correcçâo cujo valor depende da natureza da membrana; G é uma constante de proporcionalidade empírica que, em humanos com um peso médio de 70 Kg, tem os valores de 4,3 e 10,0 cm^{-1} consoante se trata da regiâo gástrica ou intestinal, respectivamente.

4.1.3.2.- ENSAIOS "IN VIVO"

A realizaçâo de ensaios "in vivo" com dipirona requer, devido às características próprias da molécula, cuidados especiais na selecçâo da técnica de doseamento a adoptar. Já ao descrever o comportamento farmacocinético do composto, em 1.4.2., se referiu que é rapidamente absorvido ao nível da mucosa gastro-intestinal, apresentando uma biodisponibilidade elevada (65,67,68,73,74). No entanto, estas conclusões baseiam-se sempre no doseamento da 4-metilaminoantipirina, pois a molécula íntegra nunca é detectada após a administraçâo oral (67,68,69,70,72). Pelo contrário, Tanabe et al. (289,290) doseiam dipirona, se bem que em quantidades baixas e durante um curto espaço de tempo, após a administraçâo de supositórios a coelhos.

Vários sâo os processos utilizados para dosear os metabolitos no plasma, desde os métodos radiológicos (65,67) ou colorimétricos (291) até aos diferentes tipos de cromatografia (64,68,69,70). Este último grupo de técnicas, contudo,

parece ser o mais adequado, pois permite o doseamento simultâneo dos diferentes metabolitos.

Mas o recurso a ensaios cromatográficos obriga ao tratamento prévio das amostras de soro ou plasma a analisar. Assim, Sistovaris e Pola (64), Asmardi e Jamali (68) e Zylber Katz e Granit (69) adoptam como método de purificaçâo a extacçâo líquido/líquido com solventes diversos, como o clorofórmio ou o metanol. Pelo contrário, Weiss et al. (70) desproteinizam o plasma com etanol, procedendo em seguida à evaporaçâo do solvente e à dissoluçâo do resíduo em água. Em qualquer dos trabalhos se procura dosear dipirona, ou os respectivos metabolitos, após administraçâo oral e em nenhum deles se detecta a molécula íntegra.

A precipitaçâo das proteínas com metanol é o único tratamento prévio realizado por Tamura et al. (71) nas amostras utilizadas para estudar a variaçâo da concentraçâo de dipirona no músculo do rato, após administraçâo intramuscular da respectiva soluçâo injectável. A técnica analítica é a cromatografia líquida de alta pressâo e os autores doseiam o fármaco íntegro nas diferentes amostras de homogeneizados tecidulares. Itoh et al. (292) aplicam também este método cromatográfico à análise do plasma de coelhos aos quais haviam administrado dipirona por via endovenosa. A desproteinizaçâo é feita com acetonitrilo e os autores verificam que a concentraçâo da dipirona decresce rapidamente, apresentando valores insignificantes ao fim de uma hora.

Em resumo, os trabalhos consultados e respeitantes à absorçâo oral do fármaco foram feitos a partir de extractos de natureza diversa e nos quais é pouco provável existir dipirona; além disso, a única técnica nâo extractiva é demorada e obriga à evaporaçâo do líquido desproteinizante, o que nâo parece ser aconselhável devido à própria natureza do composto. No entanto, a dipirona atravessa a mucosa rectal e é detectada, após administraçâo parentérica, em amostras cujo tratamento prévio é rápido e executado por processos nâo extractivos.

4.2.- OBJECTIVOS

O objectivo principal do trabalho foi comparar, do ponto de vista tecnológico e biofarmacêutico, fórmulas de comprimidos contendo dipirona e preparadas de modo diverso. As técnicas de fabrico seleccionadas corresponderiam às clássicas granulaçôes a seco e a húmido, e os adjuvantes adicionados limitar-se-iam à polivinilpirrolidona, ao talco e ao estearato de magnésio.

De modo a aumentar o número de características físicas ensaiadas, instalaram-se na máquina de comprimir dispositivos que possibilitassem a avaliaçâo quer das forças exercidas por ambos os punçôes, quer da deslocaçâo do punçâo superior.

No primeiro caso, a detecçâo dos sinais seria feita electronicamente e solicitou-se a elaboraçâo de um programa de computador que possibilitasse o registo nâo só dos valores de força exercidos durante um ciclo de comopressâo, mas também das curvas de compressâo força/tempo. Ao mesmo tempo, procedeu-se à montagem do aparelho proposto por Lowenthal e Burrus.

Assim, poder-se-ia determinar, em relaçâo às diversas fórmulas, a dureza, a friabilidade, a plasticidade, a porosidade do comprimido e o diâmetro médio dos poros.

Além disso obter-se-iam também os gráficos de Heckel e as curvas de compressâo força/tempo e força/deslocaçâo, permitindo ainda estas últimas comparar a partir das respectivas áreas sob a curva, a energia total fornecida pelo punçâo superior, a transmitida ao punçâo inferior, a líquida aparente e a de expansâo.

O estudo das características de cedência restringir-se-ia, numa primeira fase, aos ensaios físicos de desagregaçâo e dissoluçâo. Paralelamente, e atendendo à influência do pH na hidrólise da dipirona, proceder-se-ia também ao estudo da estabilidade do fármaco em soluçôes cujos valores de pH fossem semelhantes aos existentes ao longo do tracto gastro-intestinal, ou seja, estivessem compreendidos entre 1,5 e

7,2.

A partir da análise dos resultados obtidos nestes ensaios, seleccionar-se-ia a fórmula dotada de melhores características, procedendo-se à avaliação da respectiva velocidade específica de absorção "in vitro" e à realização de ensaios "in vivo".

Finalmente, e utilizando uma vez mais a fórmula seleccionada, estudar-se-ia a relação entre a força de compressão e o peso dos comprimidos, possibilitando assim a criação de um processo de controlo durante a produção baseado apenas na avaliação da força máxima de compressão. Com esta finalidade, foi também solicitada a elaboração de um programa de computador que possibilitasse o registo destas cartas de controlo.

4.3.- PARTE EXPERIMENTAL

Perante a sequência de trabalho indicada anteriormente, a parte experimental respeitante ao estudo de comprimidos será dividida em três partes. A primeira englobará as determinaçôes executadas em todas as fórmulas ensaiadas e em cujos resultados se baseou a selecção da fórmula dotada de melhores características. Os ensaios de índole biofarmacêutica e realizados "in vitro" e "in vivo" serão apresentados na segunda parte, na qual se inclui também, devido à similitude do método de análise adoptado, a avaliaçâo da estabilidade da dipirona em funçâo do pH. Na terceira e última parte será abordado o processo electrónico de controlo de produçâo, aplicando-o também à fórmula seleccionada.

4.3.1.- CARACTERíSTICAS FíSICAS

4.3.1.1.- MATERIAL E MÉTODOS

Preparaçâo dos comprimidos

A dipirona utilizada obedecia às características indicadas no Anexo I e a polivinilpirrolidona, o talco e o estearato de magnésio eram do tipo comercial. O álcool isopropílico era p.a. (Merck).

O granulado preparado por via húmida foi obtido em dispositivo Erweka, modelo FA-G, utilizando o disco perfurado nº 24 (orifícios com 2 mm de diâmetro); a secagem foi executada, à temperatura ambiente, em estufa de circulaçâo forçada de ar da marca S & P, modelo CDB-95.

Os comprimidos resultantes da primeira compressâo, na granulaçâo por via seca, e os aglomerados obtidos após a secagem do granulado preparado por via húmida foram fragmentados em granulador de cilindros Erweka, modelo TG 2.

Os granulados foram calibrados em tamis de 10 malhas. $.cm^{-1}$.

A compressâo foi realizada em máquina alternativa Korsch, modelo 9048-71.

Fórmulas ensaiadas e técnicas de preparação

Fórmula A

Dipirona ..... 150 g

Misture a dipirona com 4 % de talco e comprima de modo a obter comprimidos de dureza elevada; triture os comprimidos assim obtidos em granulador de cilindros e calibre o granulado por tamis de 10 malhas.cm^{-1}. Adicione 4% de talco e 1% de estearato de magnésio, misture e faça comprimidos de 328 mg.

Fórmula B

Dipirona	150,0 g
Polivinilpirrolidona ...	30,0 g
Alcool isopropílico	120,0 g
Talco	6,0 g
Estearato de magnésio ..	1,5 g

Dissolva a polivinilpirrolidona no álcool isopropílico e humedeça a dipirona com a referida soluçâo. Granule a massa assim obtida em disco perfurado e seque em estufa à temperatura ambiente. Fragmente a massa seca em granulador de cilindros e calibre-a por tamis de 10 malhas.cm^{-1}. Adicione o talco e o estearato de magnésio, misture e faça comprimidos de 375 mg.

Fórmula C

Dipirona	150,0 g
Polivinilpirrolidona ...	30,0 g
Alcool isopropílico	65,0 g
Talco	6,0 g
Estearato de magnésio ..	1,5 g

Misture a dipirona com a polivinilpirrolidona e humedeça a mistura com o álcool isopropílico. Granule a massa assim obtida por disco perfurado e seque em estufa à temperatura ambiente. Fragmente a massa seca em granulador de cilindros e calibre-a por tamis de 10 malhas.cm^{-1}. Adicione o talco e o estearato de magnésio, misture e faça

comprimidos de 375 mg.

Ensaios de resistência

As avaliaçôes da dureza e da friabilidade foram executadas em aparelhos da marca Erweka, modelos TBT/S e TAP, respectivamente.

Ensaios de desagregaçâo e dissoluçâo

O aparelho de desagregaçâo utilizado foi o descrito na USP XXI / NF XVI (201). Para o ensaio de dissoluçâo, adoptou-se o sistema 3 descrito na USP XX / NF XV (295).

Avaliaçâo das forças de compressâo

Os transdutores piezoeléctricos e o amplificador de sinal são da marca Kistler, modelos 9041 e 5041-B, respectivamente.

O computador utilizado era da marca Amstrad, modelo PC 1512 DD, acopulado a uma impressora EPSON, modelo FX-85.

Avaliaçâo da deslocaçâo do punçâo superior

Utilizou-se um transdutor de deslocamento da marca Bourns (Pat. n.º 3.378.805).

As determinaçôes das dimensôes dos comprimidos foram realizadas com uma craveira Mitutoyo, modelo Diamond.

4.3.1.2.- RESULTADOS

No início da produçâo de qualquer das 3 fórmulas, a deslocaçâo do punçâo superior foi regulada de modo a originar comprimidos com durezas compreendidas entre 5 e 6Kg, adoptando-se assim a correspondência dureza/peso utilizada nos ensaios de verificaçâo com o aparelho de Strong-Cobb (208). Ao mesmo tempo, prepararam-se também, aplicando forças de compressâo elevadas a cada um dos granulados em estudo, comprimidos de porosidade nula. Além disso e procedendo ao enchimento manual da câmara de compressâo, obtiveram-se ainda comprimidos constituídos exclusivamente por dipirona.

Os resultados das determinaçôes da dureza, da friabilidade e do tempo de desagregaçâo estâo indicados no Quadro XIX.

Em cada uma das fórmulas ensaiadas verifica-se sempre que o aumento da força de compressâo nâo ocasiona diferenças significativas nos tempos de desagregaçâo. Por isso, os comprimidos de porosidade nula nâo foram utilizados na avaliaçâo da velocidade de dissoluçâo. Para a realizaçâo destes ensaios, escolheu-se a água como meio de dissoluçâo e as colheitas das amostras a dosear foram feitas de 30 em 30 segundos. O método de doseamento adoptado foi o incluído na Farmacopeia do Japâo (149), já que se pretendia apenas dosear a quantidade total de fármaco dissolvido, sob a forma íntegra ou hidrolisada, ao fim de um determinado período de tempo. Além disso, as colheitas foram feitas em intervalos de tempo muito curtos, impossibilitando assim a aplicaçâo do método cromatográfico.

O Quadro XX contém as velocidades de dissoluçâo determinadas, apresentando-se na Figura 46 os gráficos respeitantes a um ensaio de cada uma das fórmulas.

A densidade real dos sólidos e a porosidade dos comprimidos foram determinadas a partir das respectivas dimensôes. Na Figura 47 apresenta-se o aparelho, baseado na montagem proposta por Lowenthal e Burrus, com o qual se avaliou o diâmetro médio dos poros dos comprimidos, e o Quadro XXI contém os resultados da avaliaçâo destas 3 grandezas. Refere-se, ainda, que os comprimidos de porosidade nula foram ensaiados neste dispositivo, verificando-se que nâo ocorria qualquer variaçâo da pressâo interna do sistema durante 30 minutos.

A determinaçâo das forças exercidas durante a compressâo foi executada aplicando transdutores piezoeléctricos a um jogo de punçôes especialmente concebido para o efeito. De modo a realizar um tratamento adequado dos sinais emitidos, procedeu-se à ligaçâo dos transdutores a um microcomputador, intercalando no circuito um amplificador e um conversor de sinal analógico em digital. Nas Figuras 48, 49, 50 e 51

QUADRO XIX

DUREZA, FRIABILIDADE E TEMPO DE DESAGREGAÇÃO

FÓRMULA	DUREZA (Kg)	FRIABILIDADE (%)	TEMPO DE DESAGREGAÇÃO (min)
A	4,6	0,26	2,8
porosidade nula	-	-	4,25
B	4,8	0,12	4,9
porosidade nula	-	-	6,1
C	4,8	0,19	4,7
porosidade nula	-	-	5,9
100% Dipirona	3,6	0,37	2,6
porosidade nula	-	-	2,8

QUADRO XX

VELOCIDADES DE DISSOLUÇÃO

FÓRMULA	VELOCIDADES DE DISSOLUÇÃO $\mu g.ml^{-1}.s^{-1}$
100% DIPIRONA	2,17 ± 0,19
A	2,34 ± 0,25
B	1,57 ± 0,16
C	2,06 ± 0,14

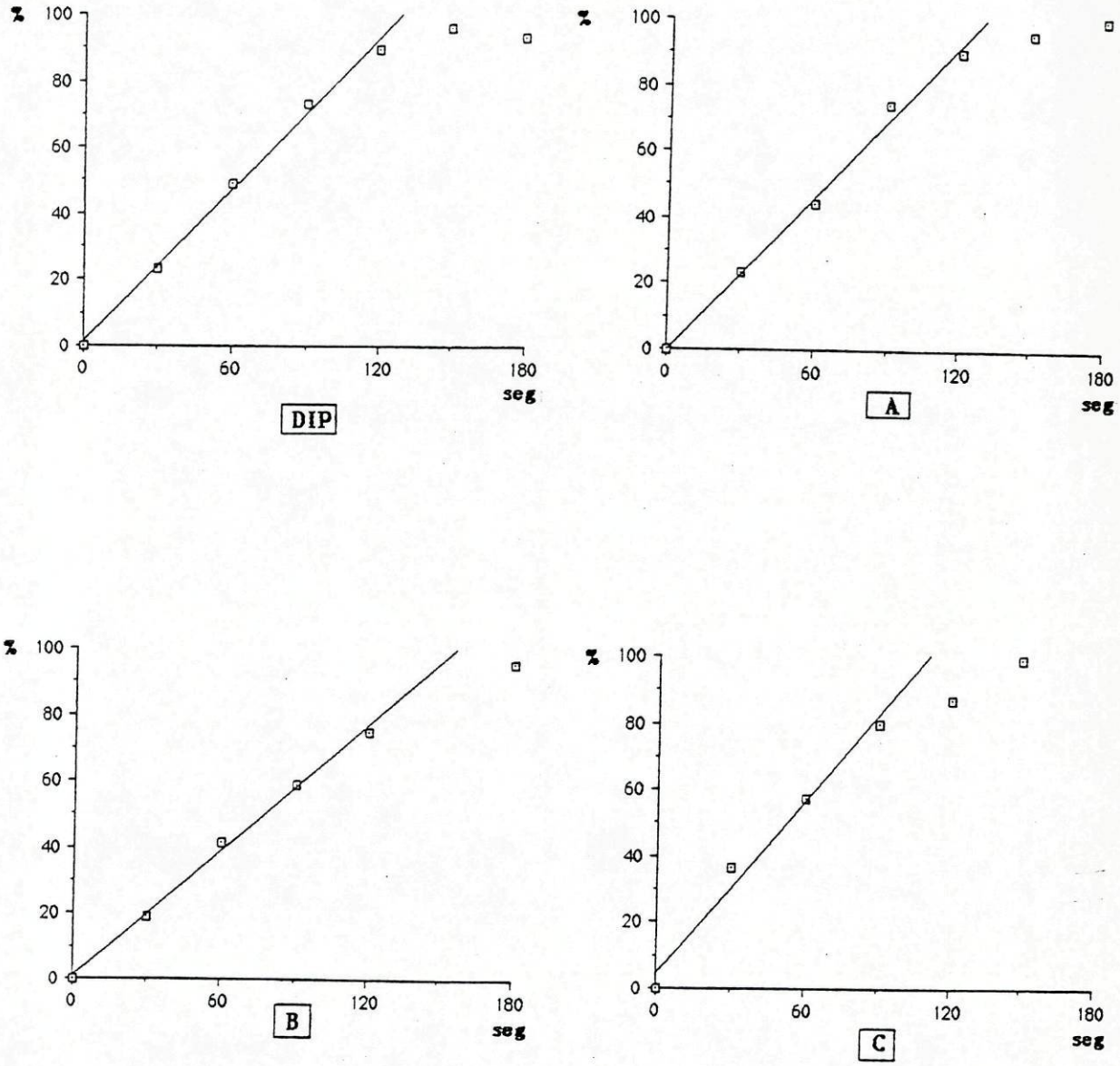


Fig. 46 - Ensaios de dissolução
DIP - 100% dipirona
A, B e C - fórmulas A, B e C, respectivamente

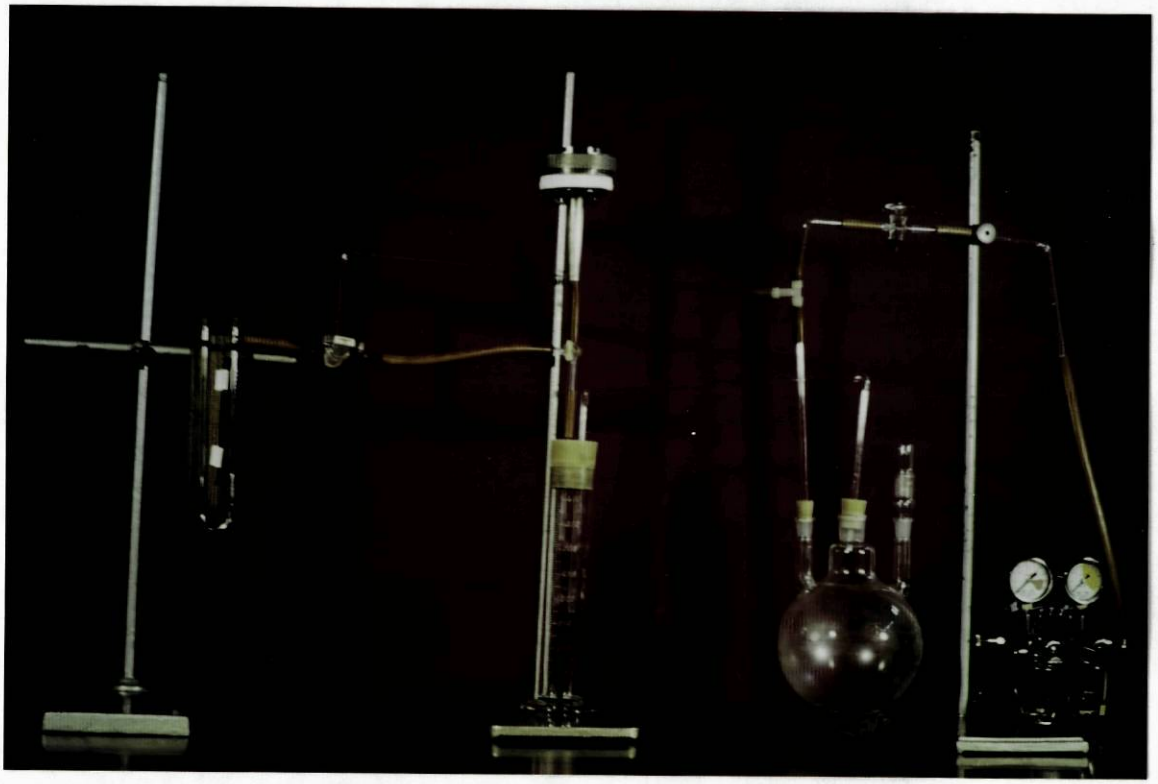


Fig. 47 - Dispositivo utilizado para avaliar o diâmetro dos poros dos comprimidos.

QUADRO XXI

DENSIDADE REAL, POROSIDADE E DIÂMETRO DOS POROS

FÓRMULA	DENSIDADE REAL	POROSIDADE (%)	DIÂMETRO DOS POROS (μm)
100% DIPIRONA	1,129	14,9	0.059 ± 0,009
A	1,449	14,3	0,062 ± 0,008
B	1,297	21,8	0,074 ± 0,012
C	1,152	15,7	0,090 ± 0,010

apresentam-se imagens do sistema usado, cujo esquema geral de montagem é idêntico ao indicado na Figura 38.

O software introduzido no microcomputador possibilitava a obtenção de 3 tipos diferentes de informação, consoante se visualizavam

- as curvas de compressão força-tempo,
- os valores dos sinais eléctricos, crescentes e decrescentes, emitidos ao longo de vários ciclos de compressão e
- os valores dos sinais eléctricos correspondentes às forças máximas de compressão exercidas no decorrer da produção de um número determinado de comprimidos.

Nas Figuras 52 e 53 apresentam-se os registos obtidos na impressora e respeitantes a cada uma das opções indicadas.

A partir dos valores registados, do factor de amplificação utilizado e das características referentes à calibração dos transdutores fornecidas pelo fabricante, determinaram-se então as forças de compressão exercidas pelo punção superior ou transmitidas ao punção inferior.

A montagem de um transdutor de deslocamento permitiu, por seu turno, avaliar o percurso do punção superior em função do tempo, sendo o sinal eléctrico emitido detectado num voltímetro. Mas a localização do transdutor na própria máquina de comprimir deve ser objecto de uma justificação prévia. De facto, a medição correcta da deslocação deve ser feita ligando o núcleo móvel ao punção superior e o corpo do transdutor ao punção inferior, compensando assim qualquer deslocação que este último possa sofrer à medida que a força de compressão aumenta. Juslin e Porenen (294), ao comparar os valores de deslocação obtidos pelos dois métodos, verificam que o erro é independente do diâmetro dos punções utilizados e é tanto maior quanto maior for a força de compressão, apresentando valores de 0,2 a 0,3 mm para forças compreendidas entre 5000 e 20000 N. No entanto, admitem que uma das causas de erro é a localização do transdutor, pois é frequentemente instalado a distâncias significa-



Fig. 48 - Aspecto geral da montagem usada na medição das forças de compressão.

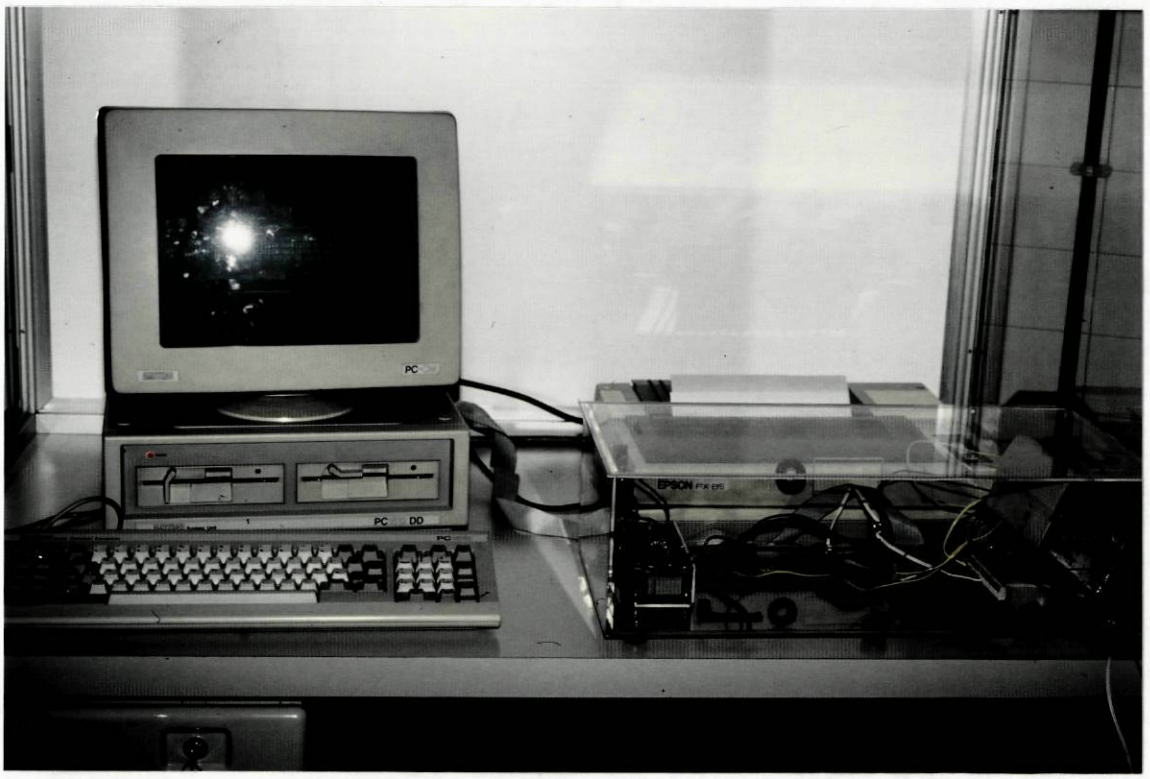


Fig. 49 - Microcomputador, amplificador e conversor do sinal analógico em digital.

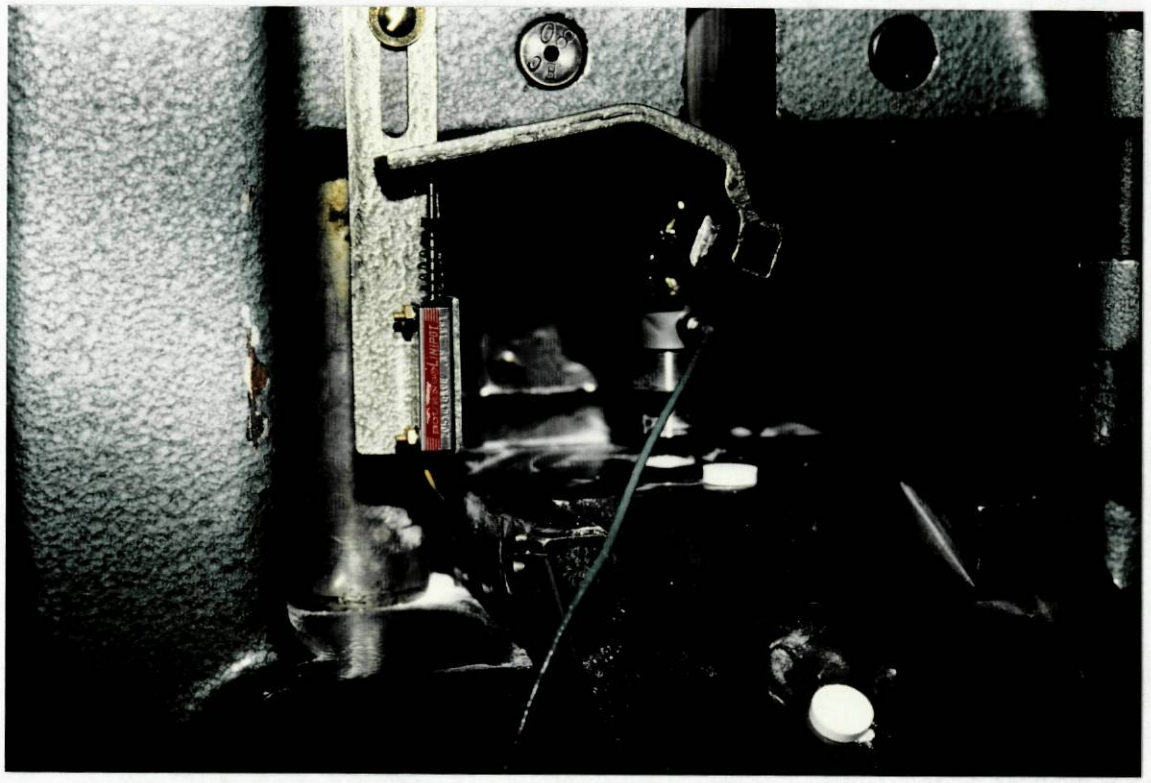


Fig. 50 - Transdutores aplicados ao punção superior.

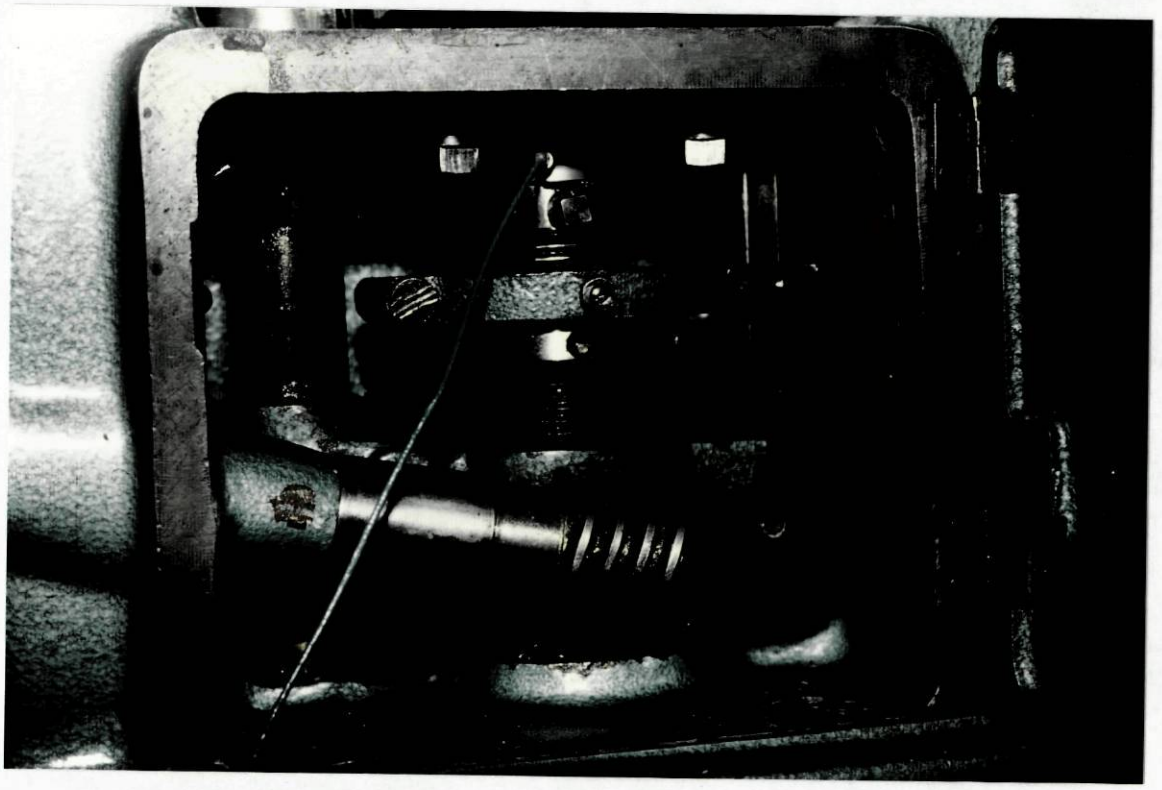


Fig. 51 - Transdutor aplicado ao punção inferior.

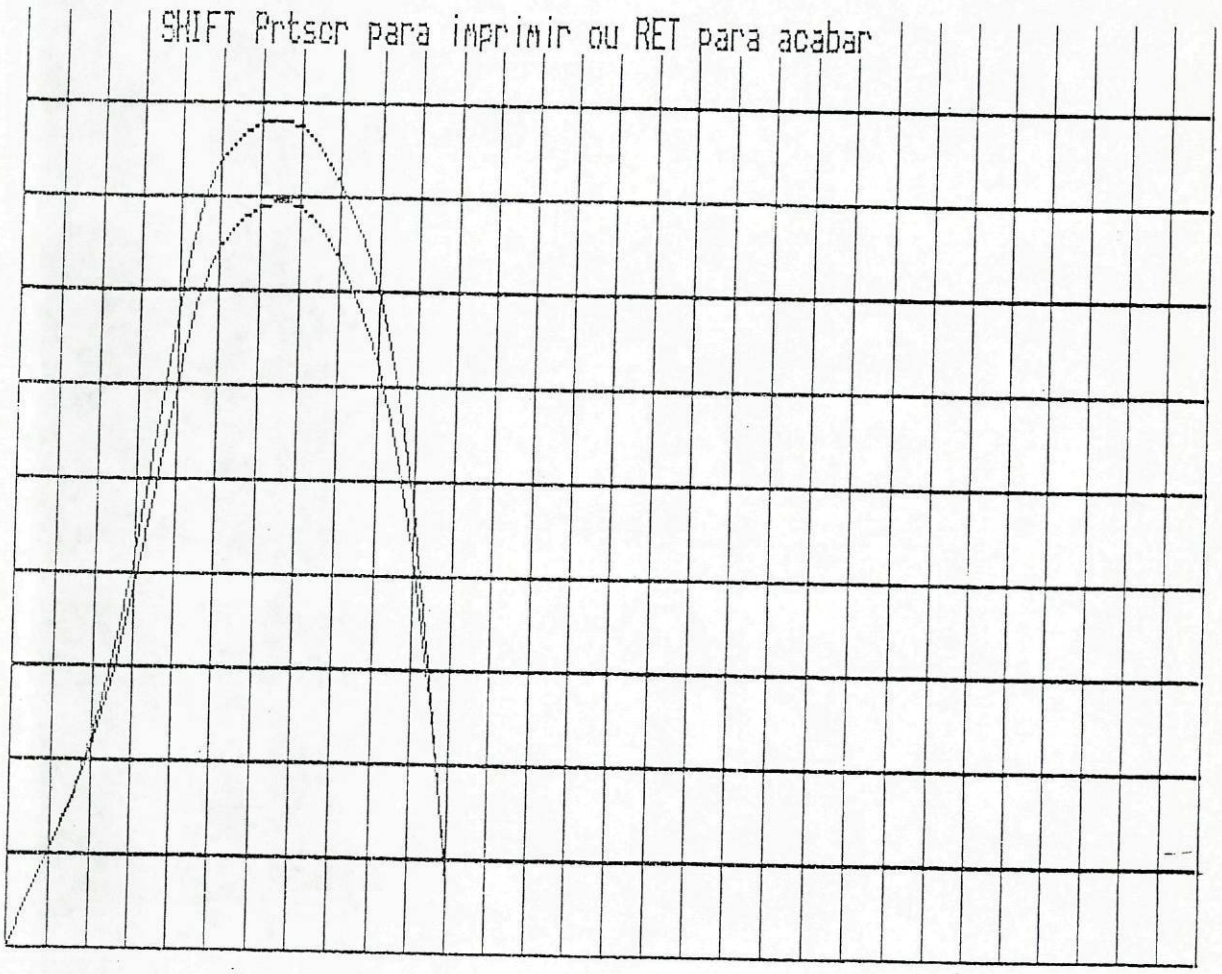


Fig.52 - Registo de dois ciclos de compressão força/ /tempo consecutivos.

529 801 1139 1553 2100 2750 3398 3912 4216 4336 4407 4420 4380 4263 4085 3833 35
08 3039 2365 1465 355 299 529 796 1096 1458 1940 2475 3022 3462 3748 3886 3957 3
991 3950 3853 3689 3441 3125 2697 2101 1353 436 0

a)

1454 1463 1463 1465 1457 1465 1454 1464 1454 1452 1465 1455 1457 1457 1460 1465
1460 1454 1454 1455 1465 1454 1453 1444 1455 1459 1454 1459 1465 1454 1455 1460
1459 1454 1452 1463 1455 1451 1454 1465 1452 1459 1452 1465 1453 1454 1455 1463
1465 1464 1459 1454 1454 1454 1465 1454 1465 1465 1460 1454 1454 1455 1457 1465
1460 1463 1452 1454 1462 1463 1457 1465 1454 1457 1454 1465 1457 1460 1463 1459
1464 1465 1460 1459 1454 1454 1460 1463 1460 1454 1465 1464 1454 1454 1457 1458
1454 1457 1454 1464 1475 1474 1469 1480 1474 1475 1475 1479 1474 1480 1480 1485
1475 1475 1474 1475 1477 1475 1482 1474 1474 1476 1475 1471 1475 1473 1480 1482
1474 1475 1474 1475 1475 1475 1475 1475 1474 1480 1479 1477 1471 1474 1475 1482
1475 1470 1476 1485 1480 1476 1475 1475 1476 1488 1471 1476 1486 1474 1476 1474
1482 1476 1485 1477 1474 1482 1469 1476 1475 1475 1476 1476 1485 1474 1474 1476
1469 1475 1473 1474 1485 1474 1485 1480 1480 1476 1473 1473 1480 1480 1476 1476

b)

Fig. 53 - Registo dos valores do sinal eléctrico detectado durante os ciclos de compressão indicados na Figura 52 (a) ou dos sinais correspontes às forças máximas de compressão exercidas durante uma produção (b).

tivas do punção. Nestas circunstâncias, a peça que provoca a deslocação do núcleo móvel foi ligada, como é apresentado na Figura 50, directamente ao parafuso de fixação do punção superior.

O transdutor de deslocamento foi calibrado com um voltímetro e confirmou-se que havia uma relação linear entre os valores da deslocação do núcleo móvel e as leituras obtidas, como se pode verificar na Figura 54 e no Quadro XXII.

Procedeu-se então à avaliação das características dos materiais a comprimir. A câmara de compressão foi regulada para um volume determinado, que se manteve fixo durante todo o ensaio. Ao mesmo tempo, também o percurso do punção superior foi ajustado de modo a originar comprimidos com um grau de dureza adequado.

Os valores das forças de compressão exercidas pelo punção superior e transmitidas ao punção inferior encontram-se indicados no Quadro XXIII (médias de 10 resultados). Ao mesmo tempo, procedeu-se também ao registo das curvas de compressão força/tempo, de que se apresentam dois exemplos na Figura 55. No Quadro XXIV, indicam-se os valores médios dos diferentes períodos ocorridos durante um ciclo de compressão (média de 5 resultados).

Em seguida, procedeu-se à determinação da deslocação máxima do punção superior, pois, de acordo com o exposto na introdução, a equação da parábola foi estabelecida a partir daquele valor. Realizaram-se 5 determinações, registando-se, ao mesmo tempo, os valores da força de compressão máxima, as curvas de compressão força/tempo e os correspondentes pesos e alturas dos comprimidos. Por interpolação gráfica nas curvas de compressão força/tempo, avaliaram-se então as forças exercidas em determinados períodos de tempo; e aplicando estes mesmos tempos à equação da parábola, calcularam-se os correspondentes valores de deslocação do punção superior. Na Figura 56 apresentam-se dois exemplos das curvas de compressão força/deslocação assim construídas.

A medição das diferentes áreas sob a curva existentes nestas curvas de compressão permitiu comparar os valores das

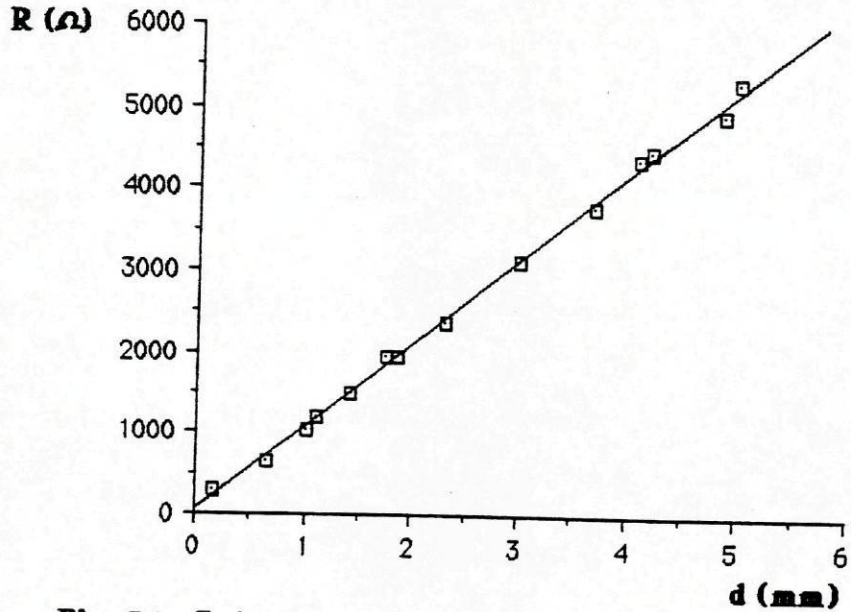


Fig. 54 - Relação gráfica entre a deslocação (d) e a resistência (R) do transdutor

QUADRO XXII

CALIBRAÇÃO DO TRANSDUTOR DE DESLOCAMENTO

DESLOCAÇÃO (mm)	RESISTENCIA (Ω)
0,15	295
0,65	656
1,00	1048
1,10	1218
1,40	1500
1,75	1942
1,85	1962
2,30	2366
3,00	3118
3,70	3780
4,10	4380
4,20	4480
4,85	4910
5,00	5300

QUADRO XXIII

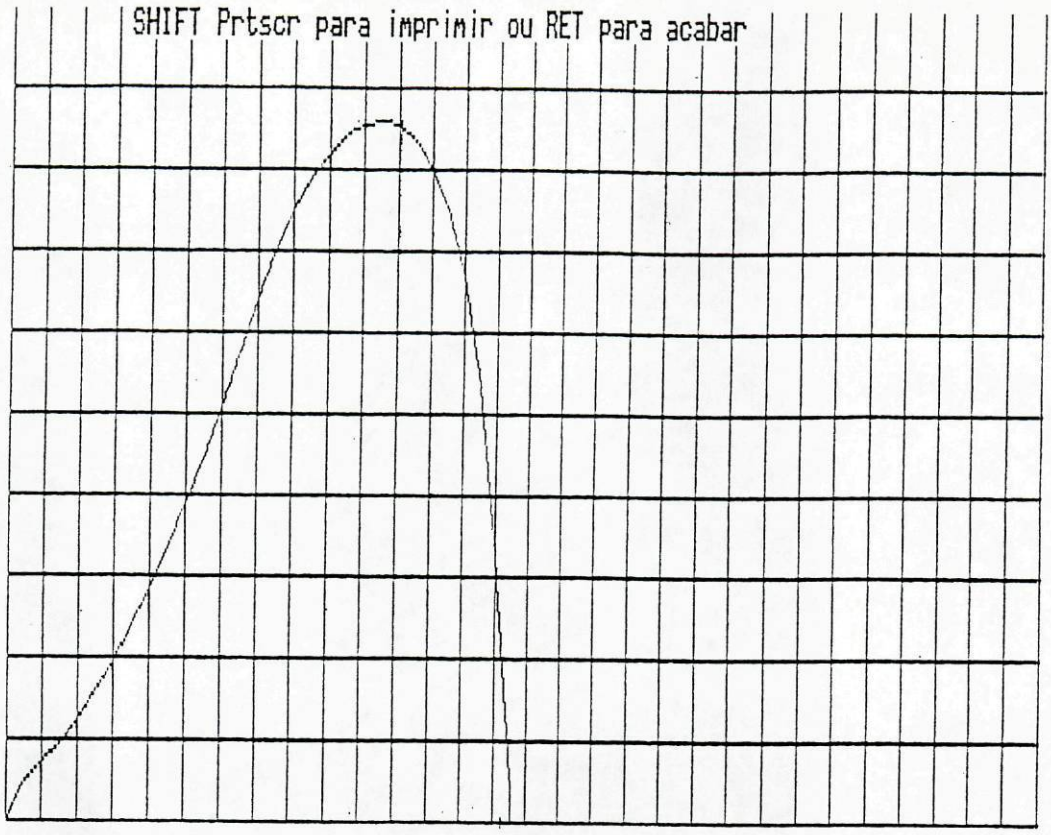
FORÇAS DE COMPRESSÃO

FÓRMULA	Fs (N)	FI (N)
A	23610 ± 952	21354 ± 1122
B	10120 ± 230	9804 ± 390
C	9752 ± 366	8850 ± 242

QUADRO XXIV

PERÍODOS DA CURVA DE COMPRESSÃO FORÇA/TEMPO

FÓRMULA	TEMPO DE CONSOLIDAÇÃO (mseg)	"DWELL TIME"	TEMPO DE CONTACTO
A	85,4 ± 15,9	15,9 ± 3,9	126,2 ± 15,3
B	63,1 ± 17,9	17,3 ± 5,9	103,9 ± 17,3
C	63,0 ± 13,8	24,7 ± 6,1	112,6 ± 13,4



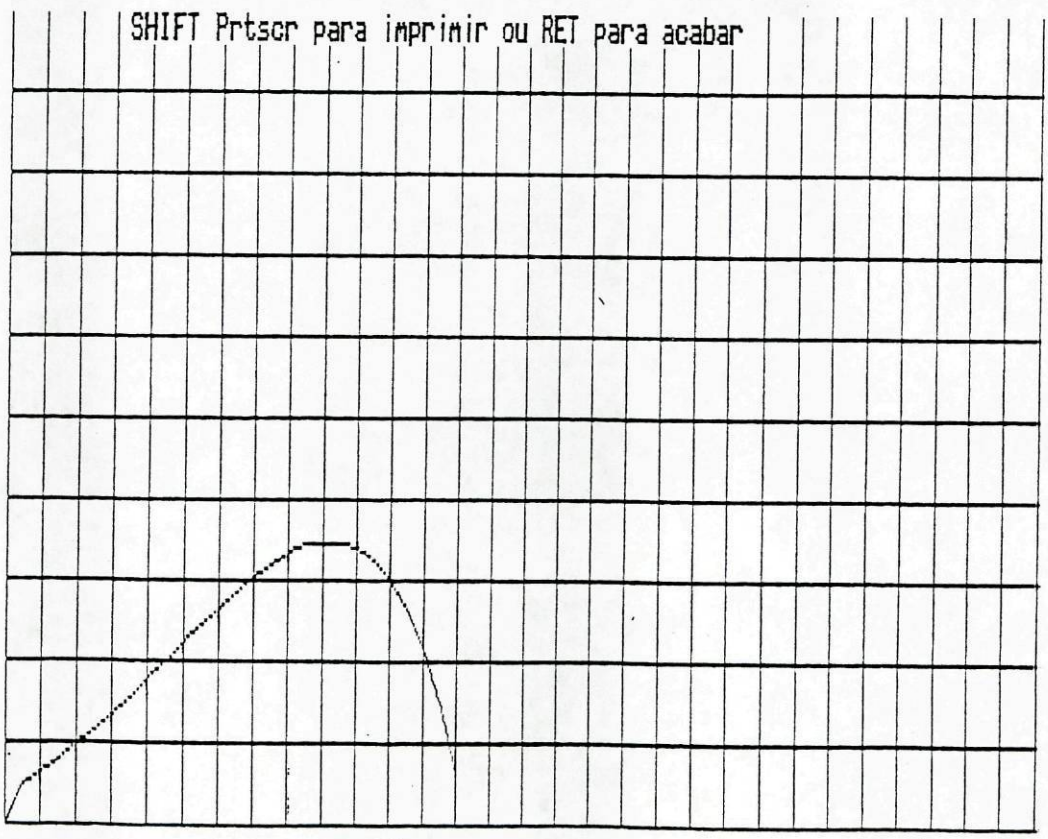


Fig. 55 - Curvas de compressão força/tempo.
a) fórmula A
b) fórmula B

energias fornecida pelo punção superior, E_S, de expansão, E_{EXP}, e líquida aparente, E_{LA}. No Quadro XXV apresentam-se, além das áreas correspondentes às energias referidas, os valores dos índices de plasticidade calculados segundo o processo proposto por Stamm e Mathis (270).

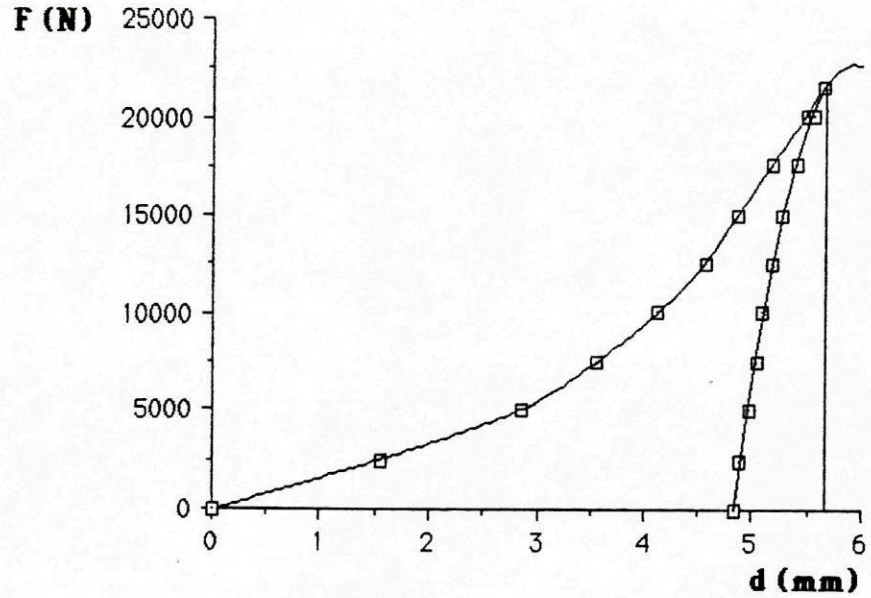
A altura da câmara de compressão foi a última determinação directa executada e permitiu, em conjunto com as curvas força/deslocação, calcular as alturas da massa a comprimir para diferentes valores de força e, consequentemente, de pressão. Não foi possível traçar os gráficos de Heckel, pois a relação determinada entre a pressão e o logaritmo do inverso da porosidade não era linear. Pelo contrário, havia linearidade entre os valores da pressão e as correspondentes alturas do comprimido durante a compressão. Os gráficos obtidos, de que se apresentam dois exemplos na Figura 57, apresentam as inclinações indicadas no Quadro XXVI.

4.3.1.3.- DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A análise dos resultados obtidos nos ensaios de desagregação e dissolução permite concluir que, para qualquer das fórmulas estudadas, é a hidrossolubilidade da dipirona o factor condicionante da cedência e libertação do fármaco. Além disso, são fórmulas contendo elevada percentagem de fármaco (entre 80 e 91,5 %), pelo que a interferência de cada um dos adjuvantes utilizados se encontra diminuída ou anulada.

Por outro lado, a dissolução do fármaco obedece a uma cinética de ordem zero, o que contraria o processo geral de dissolução regido pela lei de Noyes-Whitney modificada (208), cuja expressão matemática é

$$\frac{dc}{dt} = KS\ (Cs - C)$$



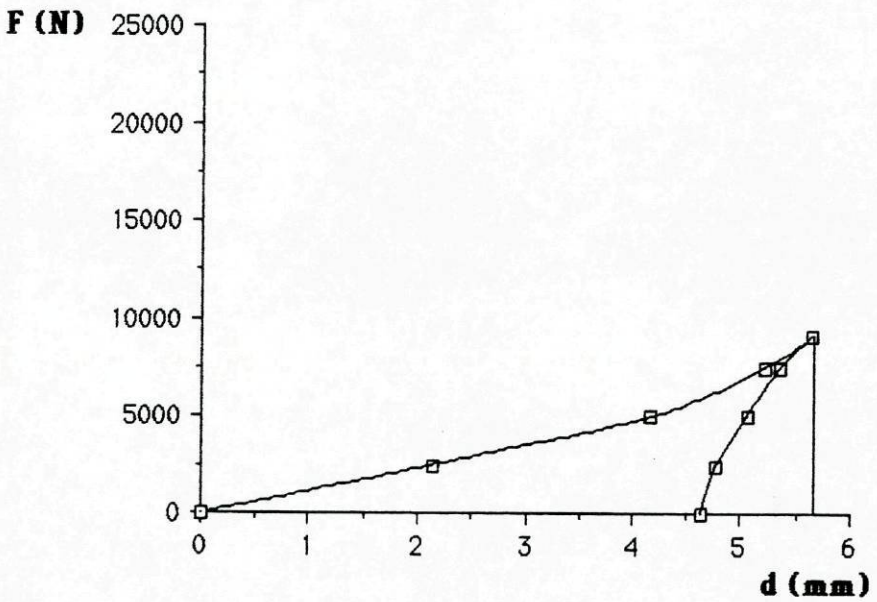


Fig. 56 - Curvas de compressâo força/deslocaçâo.
a) fórmula A
b) fórmula b

QUADRO XXV

AREAS SOB A CURVA CORRESPONDENTES AS ENERGIAS DISPENDIDAS NA COMPRESSÃO E INDICES DE PLASTICIDADE

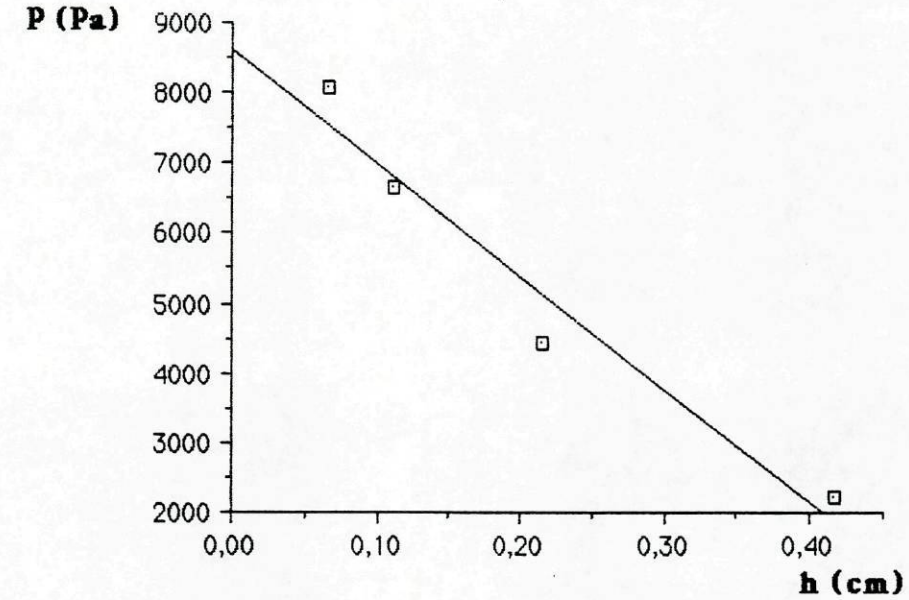
(N/mm)

FÓRMULA	E_S	E_{EXP}	E_{LA}	PL%
A	80,1	22,9	57,2	71
B	40,7	10,5	30,2	74
C	38,2	10,7	27,5	72

QUADRO XXVI

INCLINAÇÕES DAS RECTAS QUE RELACIONAM A PRESSÃO E A ALTURA DO COMPRIMIDO

FORMULA	INCLINAÇÃO
A	- 42533,6
B	- 16114,5
C	- 13361,8



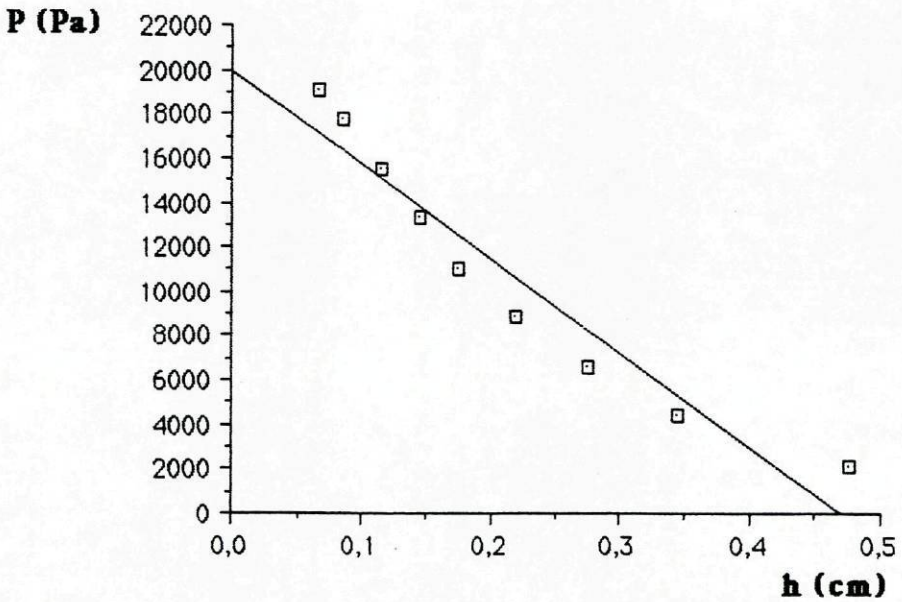


Fig. 57 - Relações gráficas entre a pressão e a altura do comprimido
a) Fórmula A
b) Fórmula B

em que C é a concentraçâo de fármaco dissolvido ao fim do tempo t,

K é a constante de proporcionalidade,

S é a superfície do material a dissolver e

Cs é a concentraçâo de fármaco nas regiões de solvente que contactam com o produto.

Mas, neste caso concreto, C poderá atingir um valor máximo próximo de 0,0003 $g.ml^{-1}$. Pelo contrário, e admitindo que a soluçâo de dipirona a 50 % se encontra praticamente saturada, Cs poderá apresentar valores próximos de 0,5 $g.ml^{-1}$. Deste modo, a diferença entre Cs e C é insignificante durante todo o ensaio, adquirindo valores praticamente constantes durante todo o processo e transformando-o, entâo, numa cinética aparente de ordem zero.

Já os resultados da avaliaçâo das forças de compressâo e da deslocaçâo do punçâo superior nâo sâo tâo uniformes. Assim, a análise dos índices de plasticidade confirma que se trata, de facto, de um composto facilmente deformável cuja compactaçâo resulta de fenómenos plásticos e/ou elásticos, podendo admitir-se até que o simples aumento do diâmetro das partículas do pó lhe conferiria excelentes propriedades de compactaçâo. Por outro lado, o tempo durante o qual se exerce a força máxima de compressâo é elevado, sugerindo também que o material sofre deformaçâo plástica e/ou elástica.

Mas sâo os valores das forças máximas de compressâo que diferenciam as três fórmulas em estudo. De facto, e como se encontra descrito na literatura, a adiçâo de um aglutinante melhora as características de compressibilidade da fórmula, diminuindo significativamente os valores das forças de compressâo exercidas pelo punçâo superior e facilitando a posterior consolidaçâo do produto. Também as áreas sob a curva correspondentes à energia líquida aparente, que reflectem na realidade o trabalho necessário para se obter um comprimido, sâo significativamente mais baixos.

Deste modo, e atendendo apenas às características tec-

nológicas das fórmulas, selecionou-se a fórmula B para a realizaçâo dos ensaios biofarmacêuticos.

4.3.1.4.- CONCLUSÕES

1ª - As fórmulas ensaiadas, que correspondem a técnicas de preparação por granulação a seco e a húmido, apresentam características de cedência do fármaco praticamente idênticas.

2ª - O Indice de Plasticidade dos granulados em estudo permite classificá-los como produtos plásticos.

3ª - Os valores das áreas sob a curva correspondentes ás energias líquidas aparentes utilizadas na compressão dos pós estudados são significativamente diferentes, requerendo a compactação da fórmula preparada por granulação a húmido energias muito menores.

4ª - A montagem dos transdutores utilizada no decorrer dos ensaios é adequada para o registo das curvas de compressão força/tempo e para a determinação das forças de compressão e da deslocação do punção superior, possibilitando assim a comparação das energias exercidas pelo punção superior, de expansão e líquida aparente. Além disso, permite a obtenção das curvas de compressão força/deslocação do punção superior e a determinação dos valores de plasticidade (segundo Stamm e Mathis).

4.3.2.- CARACTERíSTICAS BIOFARMACEUTICAS

4.3.2.1.- MATERIAL E MÉTODOS

Avaliação da estabilidade em função do pH

Os ácidos clorídrico e acético, o hidróxido de sódio, o cloreto de potássio e os fosfatos mono e dissódico utilizados na preparação das soluções tampão foram reagentes p.a. (Merck).

As soluções tampão de pH 1,5 , 6,0 e 7,2 foram as indicadas na USP XXI / NF XVI (201).

As soluções tampão de pH 3,0 e 4,5 foram preparadas do seguinte modo:

"Num balão marcado de 1000 ml dissolva 0,154 g de acetato de amónio (ou 2,464 g) e 2,8 ml (ou 1,03 ml) de ácido acético glacial. Determine o pH por potenciometria, corrigindo-o, à custa da adição de um daqueles compostos, de modo a obter valores compreendidos entre 2,90 e 3,10 (ou entre 4,40 e 4,60)".

A técnica crcromatográfica utilizada foi a indicada em 3.2.1.3., à excepção do respeitante à solução problema, cuja técnica de preparação foi a seguinte:

"Para um balão marcado de 100 ml, pipete 2,5 ml da solução em análise, 5,0 ml da solução de padrão interno e complete o volume com água desionizada".

Ensaios de absorção "in vitro"

O aparelho de simulação da absorção usado é da marca Desaga-Resomat, modelo 14 70 30.

As soluções tampão de pH 1,5 , 6,0 e 7,2 foram também as indicadas na USP XXI / NF XVI (201).

Como septos filtrantes utilizaram-se filtros Sartorius, modelo RS, que foram impregnados nas quantidades de componentes N e Si indicadas nas instruções de preparação de membranas artificiais, gástricas ou intestinais, fornecidas pela empresa produtora. A secagem foi feita em septos filtrantes Sartorius do tipo SM 15713.

A fase superior era constituída por 50 ml de uma solução contendo 300 mg de dipirona em 50 ml de solução tampão de pH 6,0. Como fase inferior, utilizaram-se 200 ml de solução tampão de pH 7,2.

A técnica cromatográfica utilizada foi a indicada em 3.2.1.3., à excepção do respeitante à solução problema, cuja técnica de preparação foi a seguinte:

"Num balão marcado de 100 ml, junte 0,15 ml da fase superior, 5,0 ml da solução de padrão interno e complete o volume com água desionizada".

"Num balão marcado de 5 ml, junte 0,50 ml da fase inferior, 0,1 ml da solução de padrão interno e 1,4 ml de água desionizada. Homogenize".

Ensaios de absorção "in vivo"

Além do material indicado em 3.2.1.1., utilizou-se ainda uma centrífuga Chriss, modelo UJ 1; um homogeneizador Heidolph, modelo RE AX 1 DR, e um dispositivo de filtração Millipore, modelo XX30 012 00, equipado com filtros da marca Millipore, modelo C6P12140.

I - Preparação das soluções

Solução - mãe de ácido acético/acetato de amónio

Num balão marcado de 10 ml junte 7,016 g de acetato de amónio e 0,4 ml de ácido acético glacial. Complete o volume com água desionizada. Conserve a solução no frigorífico.

Solução tampão de acetatos de pH 5,6

Para um balão marcado de 1000 ml meça 1,0 ml de solução-mãe de ácido acético/acetato de amónio. Complete o volume com água desionizada. Filtre a solução, a pressão negativa, por membrana filtrante de 0,45 µm de diâmetro. O pH do filtrado deve estar compreendido entre 5,55 e 5,65. Desgaseifique a solução mantendo-a, durante 15 minutos, em banho de ultra-sons.

Solução - mãe de padrão interno

Pese rigorosamente 28,0 mg de oxazepam e dissolva em tanto metanol quanto baste para perfazer o volume de 1000,0 ml.

Solução de padrão interno

Para um balão marcado de 10 ml meça 1,0 ml de solução - - mãe de padrão interno e complete o volume com metanol.

Solução padrão

Pese rigorosamente quantidades de 4-metilaminoantipirina e 4-aminoantipirina compreendidas entre 0,20 e 1,40 mg, e de dipirona compreendidas entre 0,40 e 2,80 mg. Dissolva-as, num balão marcado de 50 ml, em solução-mãe de padrão interno e complete o volume com a mesma solução. Para um balão marcado de 10 ml, meça 1,0 ml desta solução e complete o volume com metanol. Adicione 3,0 ml desta diluição a 1,0 ml de soro humano. Homogenize em Vórtex e separe o sobrenadante. Filtre, em dispositivo apropriado, por filtro de 0,45 μm.

Solução problema

Deixe em repouso a amostra de sangue e, ao fim de meia hora, centrifugue durante 15 minutos a 3000 r.p.m.. Separe o sobrenadante e a 1,0 ml de soro adicione 3,0 ml de solução de padrão interno. Homogenize em Vortex e separe novamente o sobrenadante. Filtre, em dispositivo apropriado, por filtro de 0,45 μm.

II - Ensaio cromatográfico

Condições de análise:

pré-coluna - Alltech C-18, enchimento com partículas de 30-40 μm de diâmetro.

coluna - Perkin Elmer C-18 SIL-X-10, modelo 409028, com 4,6 mm de diâmetro interno e 25 cm de comprimento; enchimento com partículas de 10 μm de diâmetro.

volume de líquido injectado - 100 µl.

composição do eluente - nos primeiros 5 minutos, eluição isocrática com 10% de metanol em tampão de pH 5,6;
entre o 5º e o 25º minutos, eluição em gradiente linear, variando a concentração de metanol de 10 para 55 %;
a partir do 25º minuto, eluição isocrática com 45% de metanol.

velocidade de fluxo - 1,0 ml.min^{-1}.

detecção - espectrofotométrica em 254 nm.

acerto automático do zero - no tempo zero.

sistema de registo - integrador Varian, modelo 4290.

atenuação - 8.

sensibilidade de detecção à largura do pico - 6

velocidade do papel - 0,25 cm.min^{-1}.

Programação do integrador

O programa introduzido no integrador é o apresentado na Figura 58.

4.3.2.2.- RESULTADOS

Avaliação da estabilidade em função do pH

Devido à variação do grau de hidrólise da dipirona em função da concentração da solução, utilizou-se, nos ensaios de avaliação da estabilidade em função do pH, uma concentração que se aproximasse, tanto quanto fosse possível, do valor real existente no tracto gastro-intestinal. Seleccionou-se, então, o volume gástrico como padrão de referência. O conteúdo do estomâgo, em jejum, é inferior a 100 ml (295), mas a respectiva capacidade está compreendida entre 0,5 e 1

```
PW    = 6.          PT    = 12.          PH    = 0.
TB    = 0.

FI= 2.      FE= 2.      MN= 0.
PRESS 'ENTER' TO SKIP ENTRY
FILE NAME=" DIPIRONA SORO
TIME        FUNCTION  VALUE
TT= 0       TF=" AT   TV= 8
TT= 0       TF=" CS   TV= .25
TT= 45      TF=" ER   TV=
TT=

METHOD NUMBER:MN= 1
IF NV=0 THEN NO CALIB
IF NV=1 THEN NORMAL CALIB
NUMBER OF LEVELS:NV=
COMPONENT TABLE...
RET TIME        RESP FACT        NAME
RT= 16.89       RF= 1.9436       CN=" DIP
RT= 23.91       RF= 1.0566       CN=" AAP
RT= 26.26       RF= 1.1396       CN=" MAAP
RT= 34.59       RF= 1            CN=" OXAZ
RT=
RRT REF PEAK:RP(I)= 34.59
RRT REF PEAK:RP(I)=
RF REF PEAK:IP= 34.59
SAMPLE TABLE...
ANALYST:AN=" SOUSA LOBO
INJECTIONS/SAMPLE:RA= 1
SAMPLES BETWEEN CALIB:CI= 999
CONC UNITS:CU=" MG %
SAM IDX   NAME          SCALE FACTOR
SI=
END OF DIALOG
```

Fig. 58 - Programaçâo do integrador.

litro (296). Deste modo, as soluções foram preparadas dissolvendo a dose habitual de dipirona (300 mg) em 500 ml de solução tampão.

Realizaram-se 5 ensaios para cada um dos valores de pH seleccionados (1,5 , 3,0 , 4,5 , 6,0 e 7,2) e as colheitas foram feitas, em intervalos de tempo variáveis, até se atingirem teores praticamente constantes de dipirona e 4-metilaminoantipirina. Na Figura 59 apresentam-se sequências de cromatogramas obtidos a partir das soluções de pH 1,5 e 7,2. As percentagens de dipirona íntegra existentes, ao fim de 2 e 5 horas, nos diferentes tampões ensaiados encontram-se agrupados no Quadro XXVII.

Uma vez mais, e tal como acontecera na avaliação da estabilidade das soluções injectáveis, não foi possível determinar a ordem da reacção de decomposição. Ensaiaram-se também as equações correspondentes às cinéticas de ordem zero, um, dois e três, mas os valores das velocidades específicas não apresentavam a homogeneidade necessária para se optar por uma das cinéticas.

Refere-se, finalmente, que as soluções tampão utilizadas foram as da USP XXI / NF XVI (201). No entanto, ao ensaiar as soluções de pH 3,0, e como se ilustra na Figura 60, surgia um pico com um tempo de retenção semelhante ao da 4-metilaminoantipirina. A injecção de uma diluição idêntica obtida a partir de uma solução simples de biftalato ácido de potássio demonstrou, como se pode verificar também na mesma Figura, que era este o composto responsável pela interferência. Deste modo, os tampões com aqueles valores de pH foram obtidos a partir dos compostos utilizados na preparação da fase aquosa do eluente: ácido acético glacial e acetato de amónio.

Ensaios de absorção "in vitro"

Ao iniciar este estudo, procedeu-se à realização de um ensaio orientador em que se dissolveu a dipirona em tampão de pH 1,5 e se utilizou uma membrana gástrica artificial. No entanto, os cromatogramas resultantes da injecção directa da fase inferior apresentavam apenas, ao fim de 120 minutos, um

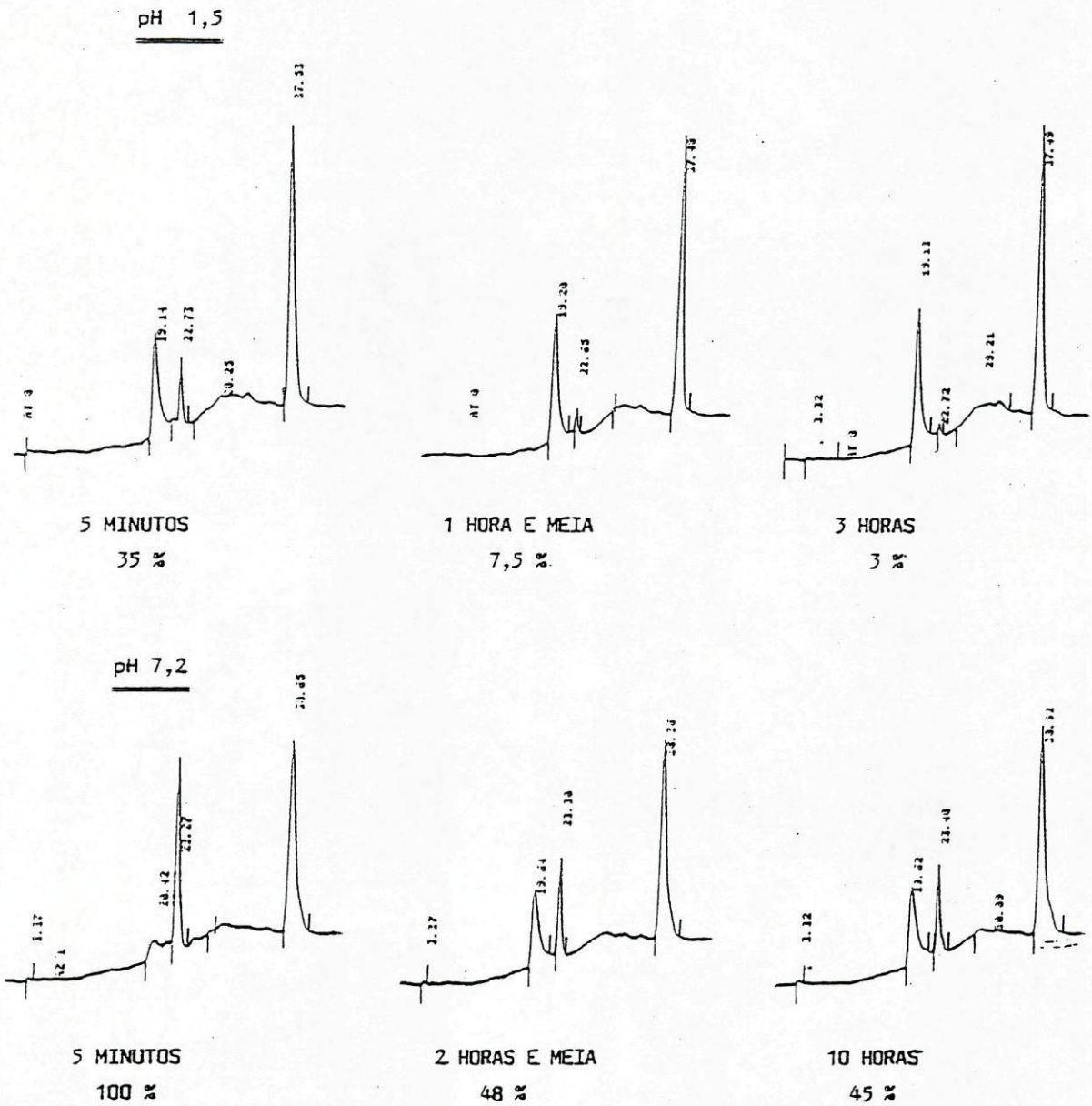


Fig. 59 - Variaçâo da concentraçâo de dipirona a pH 1,5 (a) e 7,2 (b).
19 min - 4-metilaminoantipirina
23 min - dipirona

QUADRO XXVII

PERCENTAGENS FINAIS DE DIPIRONA EXISTENTES EM DIFERENTES SOLUÇÕES TAMPÃO

pH	PERCENTAGEM DE DIPIRONA	
	2 horas	5 horas
1,5	10	0
3,0	40	24
4,5	52	34
6,0	62	42
7,2	72	45

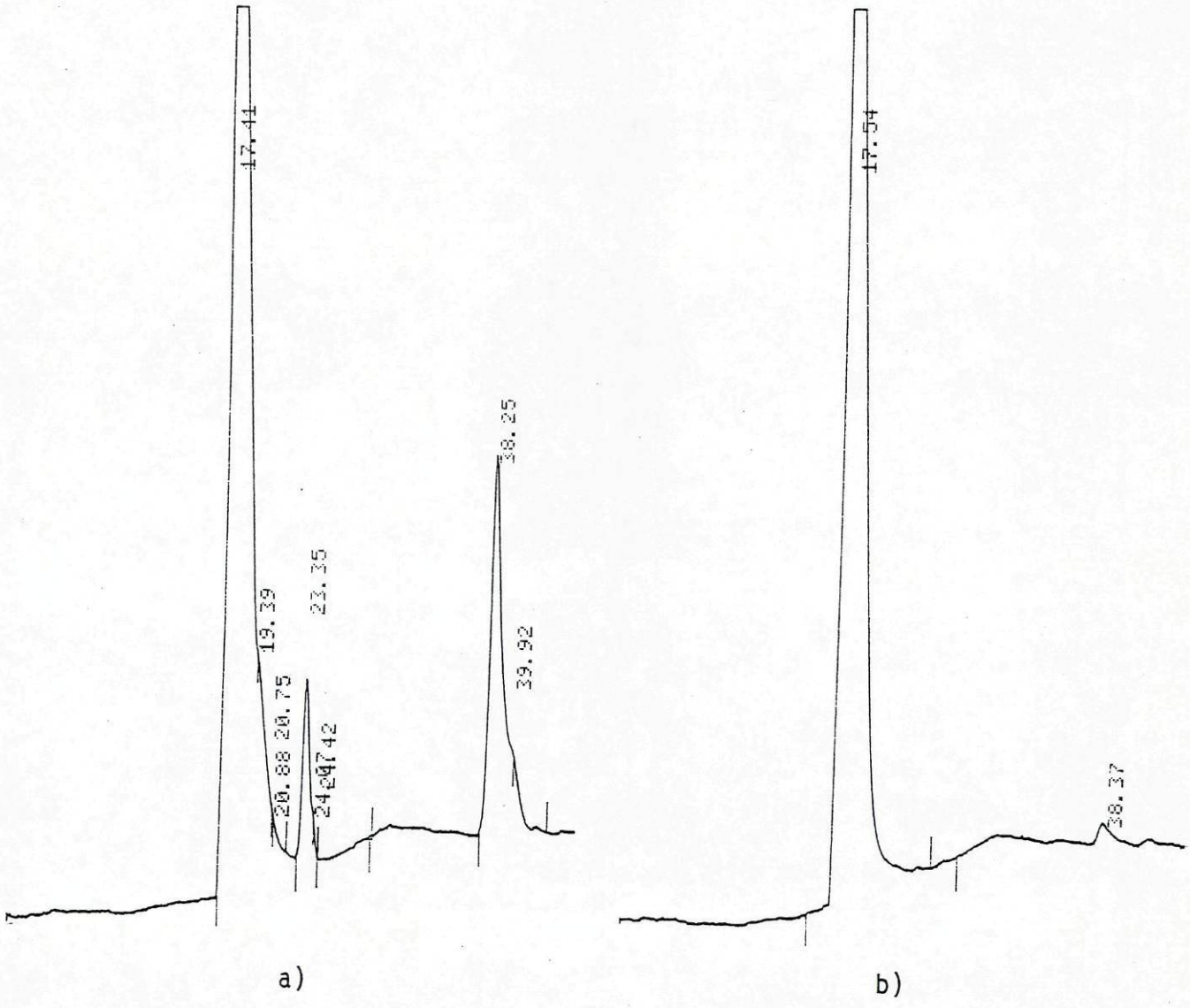


Fig. 60 - Interferência do biftalato ácido de potássio
a) soluçâo de dipirona em tampâo de pH 3,0 (USP XX I/ NF XVI)
b) soluçâo de biftalato ácido de potássio.

pequeno pico cujo tempo de retenção era semelhante ao da 4--metilaminoantipirina e ao qual correspondia uma concentração próxima de 0,20 mg %. Nestas circunstâncias, adicionou--se à fase superior solução de hidróxido de sódio em quantidade suficiente para elevar o pH para cerca de 6,0, o que provocou o imediato amarelecimento do líquido. No cromatograma obtido ao fim dos primeiros 60 minutos, e executado também sem diluição prévia da fase inferior, surgiam picos significativos e correspondentes à 4-metilaminoantipirina, à 4-aminoantipirina e à dipirona.

Perante estes resultados, a avaliação da velocidade específica de difusão e de absorção "in vitro" foi executada com membranas intestinais artificiais, sendo a fase superior constituída por uma solução de dipirona em tampão de pH 6,0, já que a variação de pH ocorrida ao longo do duodeno se situa entre 5 e 7 (297).

A duração de cada ensaio foi de 4 horas e as colheitas foram feitas em intervalos de 1 hora, período de tempo considerado necessário para se obter um cromatograma (45 minutos) e estabilizar novamente a composição inicial do eluente.

Na Figura 61 apresentam-se os quatro cromatogramas obtidos a partir de diluições da fase inferior e respeitantes a um dos ensaios realizados; os gráficos relacionando a variação das concentrações em função do tempo, e respeitantes ao mesmo ensaio, encontram-se nas Figuras 62 e 63. Verifica-se, assim, que os ensaios decorrem durante a primeira fase do processo de absorção "in vitro" descrito por Stricker (289, 290), pois a relação entre aquelas grandezas é linear não só para qualquer dos compostos detectados, mas também para o somatório das concentrações do fármaco e dos outros dois compostos, expressas em dipirona.

Por se conhecer apenas a concentração inicial de dipirona, foi a partir do referido somatório que se calcularam as velocidades específicas de difusão e de absorção "in vitro" da dipirona. Os valores obtidos foram, respectivamente, 0,004082 cm. min^{-1} e 0,03902 cm. min^{-1} (médias de 4 resulta-

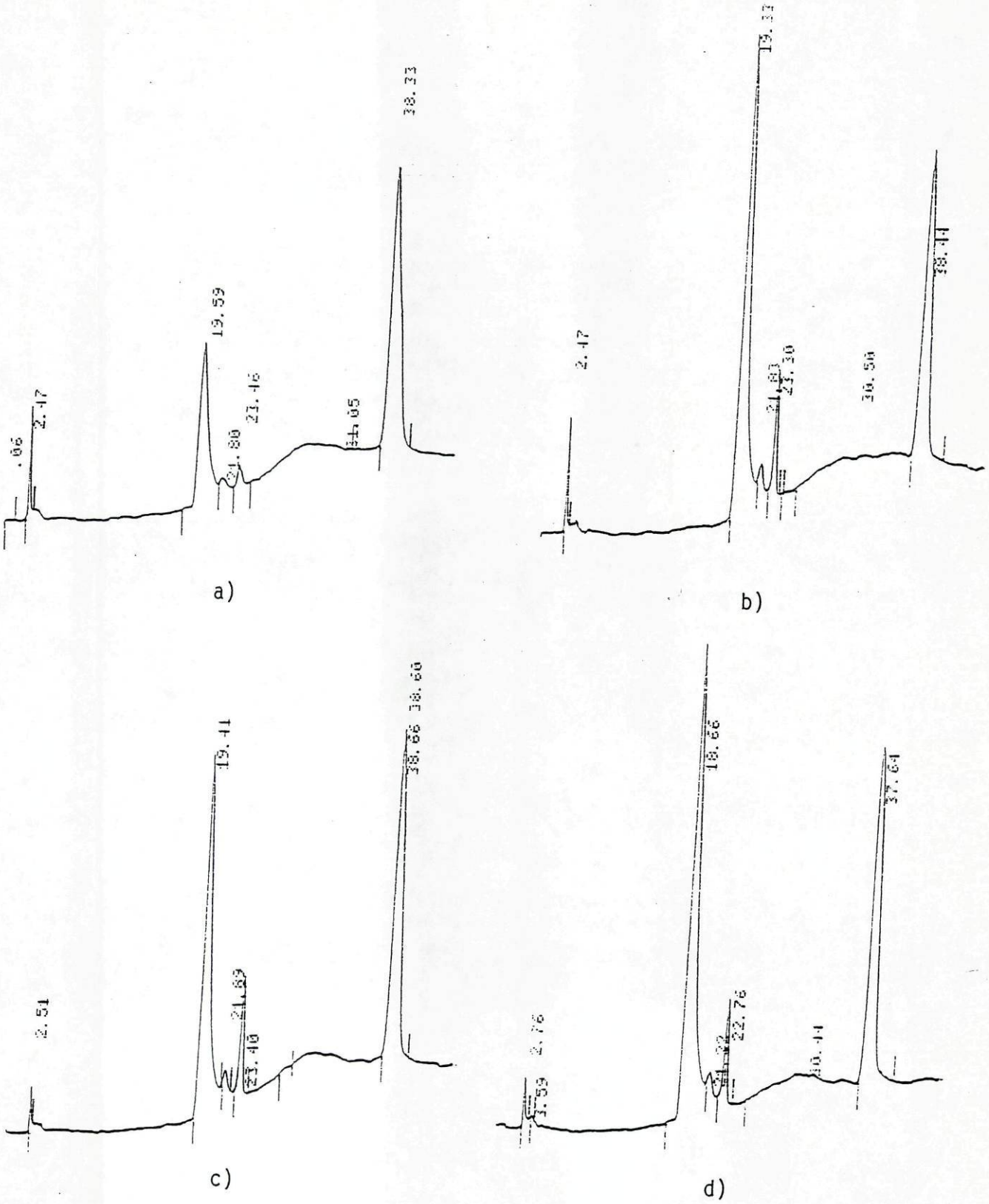


Fig. 61 - Cromatogramas obtidos a partir da fase de pH 7,2 ao fim de 60 (a), 120 (b), 180 (c) e 240 minutos (d).

19 min. - 4-metilaminoantipirina

22 min. - 4-aminoantipirina

23 min. - dipirona

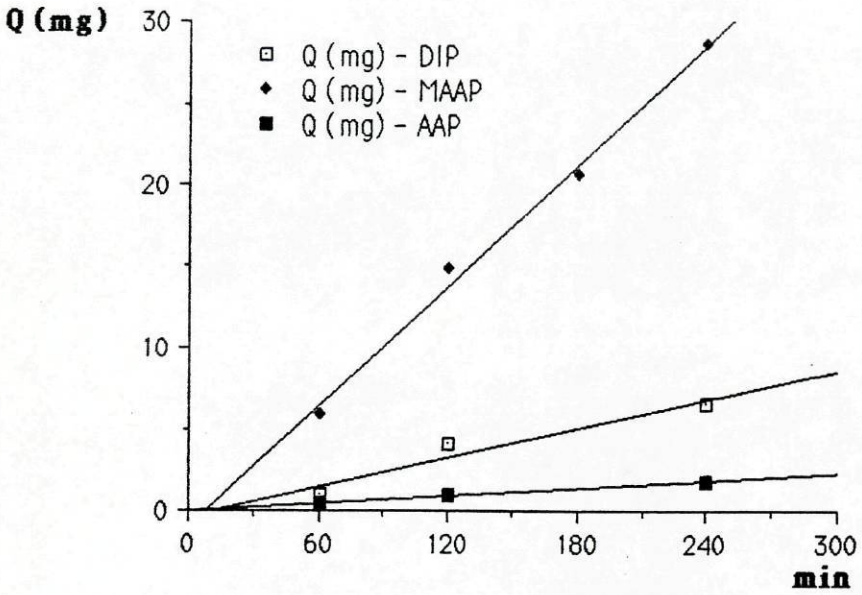


Fig. 62 - Conteúdos da fase de pH = 7,2 em função do tempo

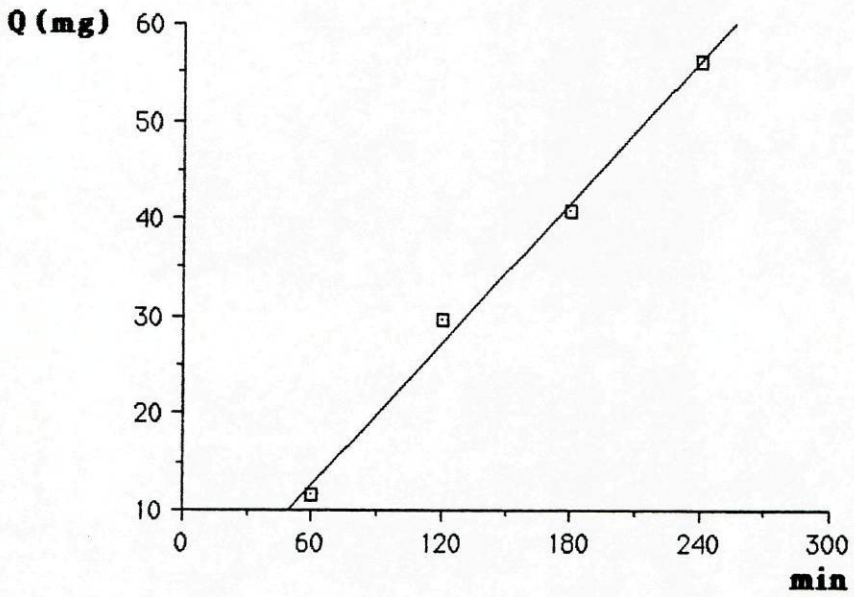


Fig. 63 - Conteúdo total, expresso em dipirona, da fase de pH=7,2 em função do tempo

dos). Já as concentraçôes iniciais de 4-metilaminoantipirina e de 4-aminoantipirina eram desconhecidas; e atendendo ainda à progressiva decomposiçâo da dipirona ao longo do tempo, nâo pareceu legítimo proceder a qualquer determinaçâo respeitante exclusivamente ao fármaco íntegro.

Contudo, a análise comparativa das inclinaçôes das rectas correspondentes a cada um dos compostos, e apresentadas no Quadro XXVIII (médias de 4 resultados), poderá fornecer algumas indicaçôes úteis para a posterior discussâo dos resultados, muito embora a variaçâo das concentraçôes dos 3 compostos ocorrida na fase superior invalide qualquer seriaçâo de natureza quantitativa.

Refira-se, finalmente, que se procedeu à análise cromatográfica da soluçâo de dipirona em tampâp de pH 6,0 no tempo zero e no final do ensaio. Em qualquer dos casos,a concentraçâo de dipirona foi sempre superior à de 4-metilaminoantipirina e nunca foi detectada 4-aminoantipirina.

Ensaios "in vivo"

Como se referiu em 1.4.2., os principais metabolitos da dipirona sâo a 4-metilaminoantipirina, a 4-aminoantipirina, a 4-formilaminoantipirina e a 4-acetilaminoantipirina. Por isso, os ensaios foram realizados apenas com três dos padrôes disponíveis e nâo se utilizou a 4-hidroxiantipirina.

Pelas razôes indicadas na introduçâo deste capítulo, o processo de tratamento das amostras foi a precipitaçâo das proteínas, com metanol, na proporçâo de 1:3 respectivamente, já que o ácido perclórico nâo deve ser empregado em amostras contendo produtos facilmente oxidáveis e aquele álcool, embora apresente um poder desproteinizante inferior ao de outros solventes orgânicos, deve ser preferencialmente utilizado devido à sua baixa toxicidade (298). Além disso, era o solvente do padrâo interno. Usou-se também uma pré-coluna, evitando-se assim a contaminaçâo da coluna propriamente dita.

As primeiras condiçôes cromatográficas ensaiadas foram as descritas em 3.2.1.3., procedendo-se à injecçâo de amos-

QUADRO XXVIII

ENSAIOS DE ABSORÇÃO "IN VITRO": INCLINAÇOES DAS RECTAS CORRESPONDENTES AOS COMPOSTOS DETECTADOS NA FASE INFERIOR

COMPOSTO	INCLINAÇÃO DA RECTA
DIPIRONA	0,038
4-METILAMINOANTIPIRINA	0,120
4-AMINOANTIPIRINA	0,006

tras de soro às quais se haviam adicionado os três padrões dissolvidos em metanol, e em quantidades previamente determinadas de modo a que a soluçâo a injectar apresentasse uma concentraçâo próxima de 2,5 µg. ml^{-1} (os niveis máximos de 4-metilaminoantipirina estâo situados, como se referiu em 1.4.2., entre 8 e 15 µg. ml^{-1}). Os cromatogramas obtidos apresentavam apenas pequenos picos correspondentes aos diferentes compostos, comprometendo assim o rigor da análise. Experimentaram-se ainda valores mais baixos de atenuaçâo e outras proporçôes de soro e desproteinizante (1:1 e 1:2), mas o aspecto geral dos cromatogramas nâo melhorava significativamente. Assim, de modo a aumentar a quantidade de produto injectado, substituiu-se o "loop" de 20 µl por outro de 100 µl.

As áreas obtidas eram maiores mas, talvez devido à alteraçâo da polaridade do solvente, os tempos de retençâo dos compostos variavam e, como se pode verificar na Figura 64, os picos da dipirona e da 4-aminoantipirina apareciam parcialmente sobrepostos. Ensaiaram-se ainda diferentes eluiçôes em gradiente e os resultados obtidos nâo foram satisfatórios.

Mas sabia-se já que a alteraçâo do pH do eluente afectava significativamente os tempos de retençâo da dipirona e da 4-metilaminoantipirina. Assim, ensaiou-se o tampâo de acetatos de pH 5,6. Nos cromatogramas obtidos, dos quais se apresenta um exemplo também na Figura 64, nâo se notava o inconveniente anteriormente detectado e ilustrado na Figura 28. Além disso, a esperada alteraçâo do tempo de retençâo da dipirona provocava uma nítida individualizaçâo dos picos.

Deste modo, procedeu-se ao cálculo dos tempos de retençâo e dos factores de resposta. As amostras injectadas resultaram da adiçâo de 1 ml de soro a 3 ml de metanol contendo diferentes quantidades dos padrões e um peso determinado de padrâo interno. Os valores obtidos encontram-se indicados no Quadro XXIX.

Em seguida realizaram-se os ensaios "in vivo". Atendendo ao facto de os níveis sanguíneos máximos descritos na li-

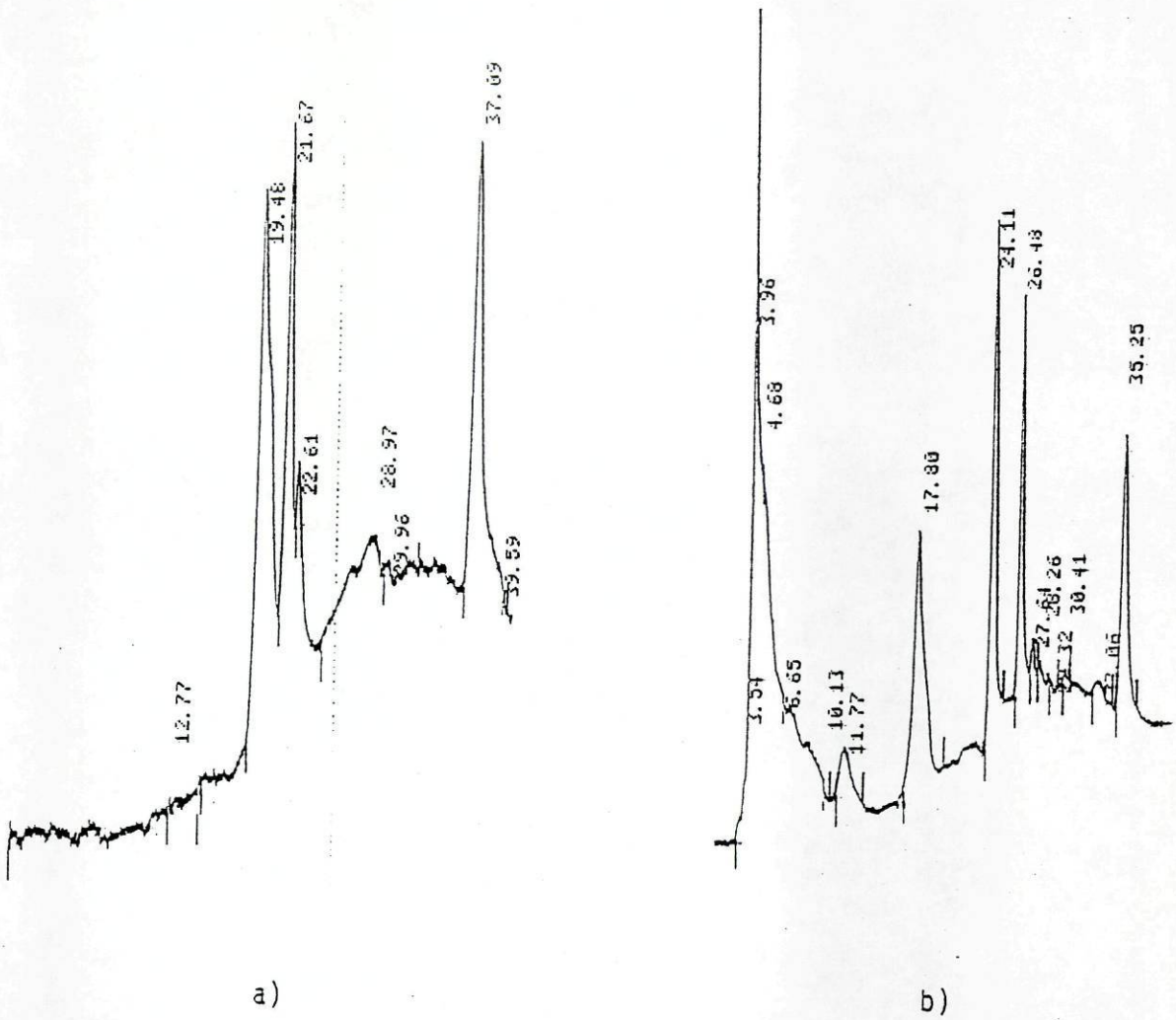


Fig. 64 - Análise cromatográfico dos padrões

a) em soluçâo aquosa e desproteinizante (diluição 1:3)
eluente - metanol e tampâo de pH 3,6
19,48 min. - 4-metilaminoantipirina
21,67 min. - aminoantipirina
22,61 min. - dipirona

b) em soro desproteinizado (diluição 1:3)
eluente - metanol e tampâo de pH 5,6
17,80 min. - dipirona
24,11 min. - 4-aminoantipirina
26,48 min. - 4-metilaminoantipirina

QUADRO XXIX

FACTORES DE RESPOSTA E TEMPOS DE RETENÇAO DOS PADRÕES

DIPIRONA		AMINOANTIPIRINA		4-METILAMINO ANTIPIRINA	
Rf	Tempo de retençâo	Rf	Tempo de retençâo	Rf	Tempo de retençâo
1,943	16,82	1,056	24,05	1,139	26,344

teratura corresponderem à administração oral de 1 g de dipirona, foram 3 os comprimidos ingeridos pelos 4 voluntários. As colheitas de sangue foram executadas ao fim de 1, 3 e 6 horas, e os resultados encontram-se resumidos no Quadro XXX. Na Figura 65, apresenta-se a relação gráfica entre a variação das concentrações de cada um dos metabolitos e o tempo, e na Figura 66 representam-se os 3 cromatogramas obtidos num dos ensaios.

4.3.2.3. - DISCUSSAO DOS RESULTADOS

Os resultados da avaliação da estabilidade em função do pH confirmam que o grau de hidrólise é tanto maior quanto maior for a acidez do meio, atingindo valores próximos de 100% a pH 1,5. No entanto, e para qualquer das condições ensaiadas, a concentração total da solução, expressa em molécula íntegra, vai diminuindo progressivamente. Atribuindo o fenómeno a uma progressiva alteração das características de absorvência da dipirona ou da 4-metilaminoantipirina provocada pela alteração do pH, realizaram-se estudos espectrofotométricos temporizados, em 254 nm e durante 2 horas, em soluções simples daqueles compostos em tampão de pH 1,5. As absorvências, no entanto, mantinham-se praticamente constantes. Admitiu-se, então, que se poderia formar outro composto não detectável nas condições do ensaio. O problema será deixado em aberto e discutido novamente depois da análise da avaliação da absorção "in vitro", já que os resultados obtidos fornecem indicações úteis para uma possível explicação do fenómeno.

A análise das inclinações das rectas obtidas nos ensaios de absorção "in vitro" e correspondentes a cada um dos compostos permite concluir que a 4-metilaminoantipirina é mais rapidamente absorvida do que a dipirona, pois a concentração daquele composto na fase superior é menor e , todavia, a inclinação da recta é maior. Em relação à 4-aminoantipirina não se pode fazer qualquer comparação deste tipo, pois não é detectada na fase superior.

QUADRO XXX

RESULTADOS DOS ENSAIOS "IN VIVO"

ENSAIO	TEMPO (min)	DIPIRONA $\mu g.ml^{-1}$	4-AMINOANTIPIRINA $\mu g.ml^{-1}$	4-METILAMINO-ANTIPIRINA $\mu g.ml^{-1}$
1	60	-	3,55	14,91
	180	-	4,04	8,23
	360	-	2,27	3,86
2	60	-	0,33	18,76
	180	-	0,61	15,75
	360	-	0,36	6,42
3	60	-	-	18,35
	180	-	0,21	21,15
	360	-	-	14,80
4	60	-	1,41	13,15
	180	-	2,23	14,57
	360	-	1,55	8,57

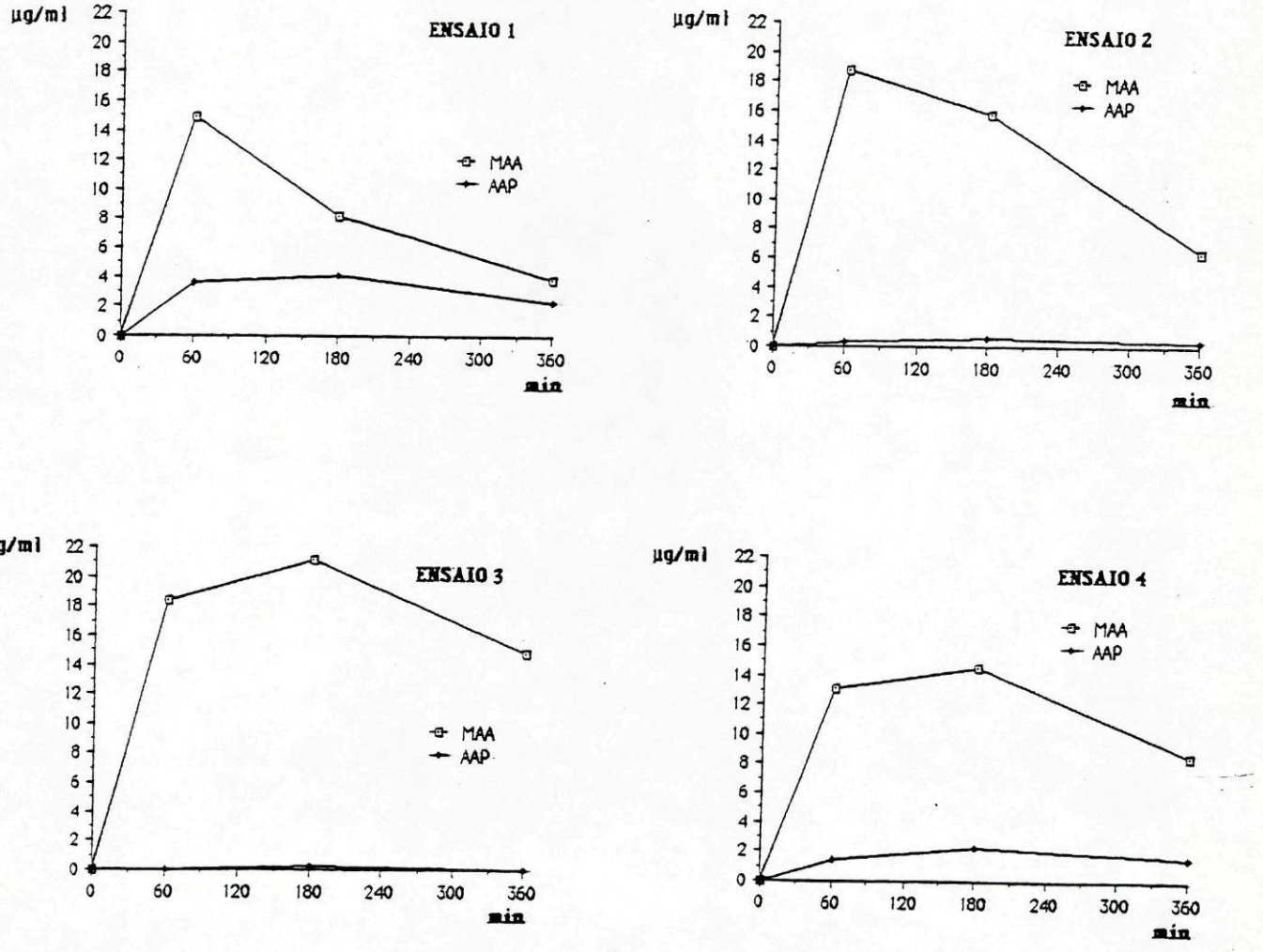


Fig. 65 - Relações gráficas entre as concentrações dos metabolitos e o tempo

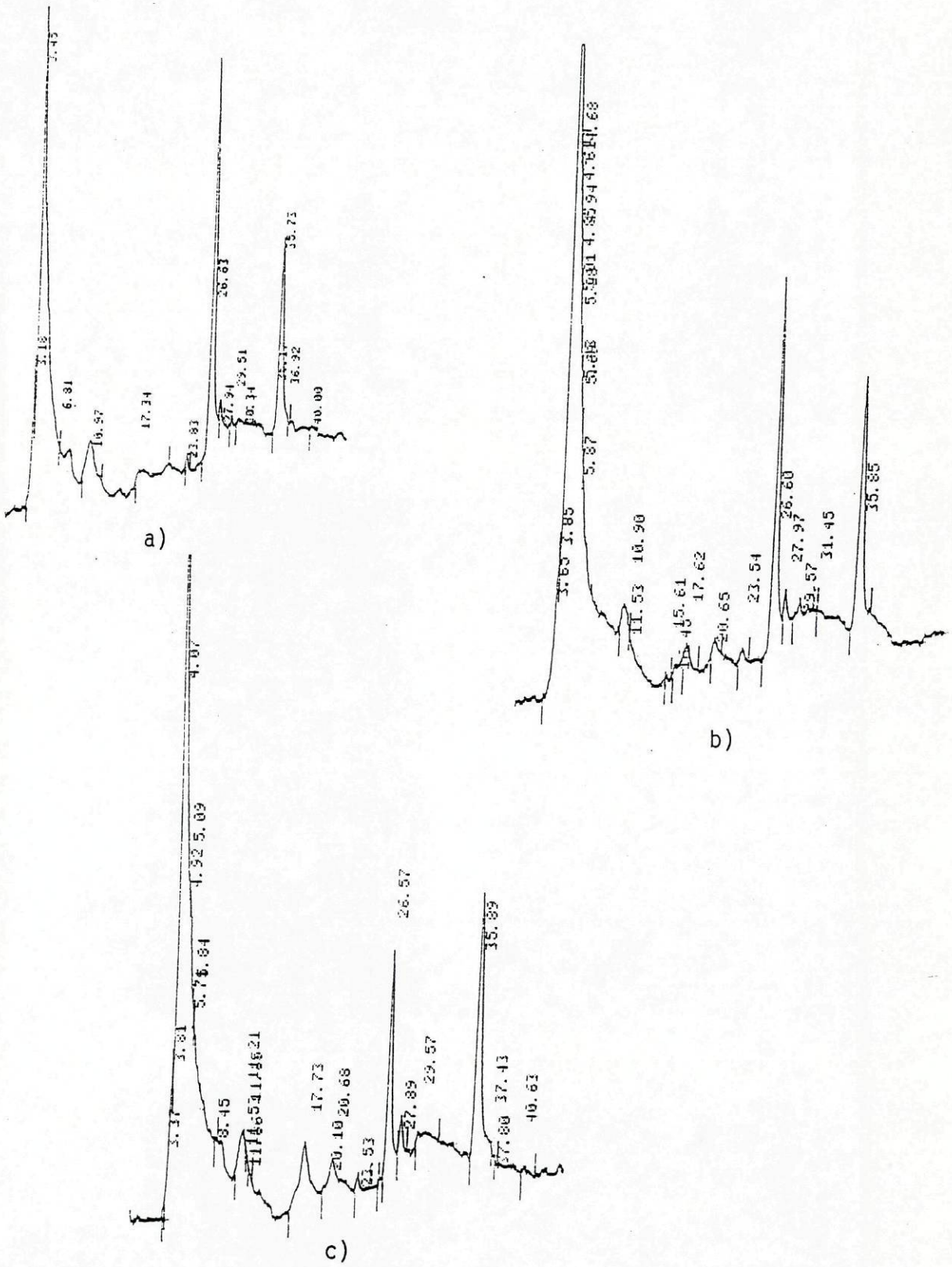


Fig. 66 - Cromatogramas obtidos num dos ensaios "in vivo" ao fim de 60 (a), 180 (b) e 360 minutos (c).

23 min. - 4-aminoantipirina

26 min. - 4-metilaminoantipirina

A este propósito, refere-se que uma das limitaçôes dos ensaios de estabilidade é a diferença de concentraçôes dos vários compostos resultantes da decomposiçâo de um determinado produto. Assim, e sendo pouco provável que a 4-aminoantipirina se forme apenas na fase inferior, já existe na fase superior, mas em quantidades baixas, impossibilitando assim a sua detecçâo após a realizaçâo da diluiçâo da amostra. Perante este facto e o aparecimento do composto na fase inferior, poder-se-à admitir que a 4-aminoantipirina é também rapidamente absorvida.

Mas se a 4-metilaminoantipirina origina 4-aminoantipirina durante as duas horas do ensaio e em soluçôes contendo 300 mg de dipirona em 50 ml de líquido, também nas soluçôes 10 vezes mais diluídas utilizadas na avaliaçâo da estabilidade em funçâo do pH deverá ocorrer um fenómeno idêntico. Este facto poderá explicar, entâo, a progressiva quebra do teor total de dipirona ocorrida nestes ensaios. Refere-se, também, que pela mesma razâo poderá nâo ter sido detectada a 4-[N-hidroximetil-N-metil]aminoantipirina, descrita por Yoshioka et al. (136) como produto da hidrólise da dipirona a pH inferior a 3.

A molécula íntegra nâo é detectada, uma vez mais, nas amostras de soro analisadas nos ensaios "in vivo". Todavia, pode de facto ser absorvida e sofrer rapidamente hidrólise devido à diluiçâo ocorrida logo após a absorçâo. De qualquer modo, os níveis sanguíneos de 4-metilaminoantipirina sâo elevados e coincidem com os valores descritos na literatura, comprovando assim a eficácia terapêutica da fórmula em estudo.

4.3.2.4.- CONCLUSÖES

1ª - A decomposição da dipirona em função do pH é tanto maior quanto menor for o pH do meio de dissolução.

2ª - A velocidade de absorção "in vitro" da 4-aminoantipirina, nas condições de ensaio adoptadas, é maior do que a da dipirona.

3ª - A fórmula utilizada na realização dos ensaios "in vivo" origina níveis sanguíneos semelhantes aos descritos na literatura como terapeuticamente eficazes.

4ª - A técnica cromatográfica utilizada na realização dos ensaios "in vivo" permite dosear os principais metabolitos activos da dipirona descritos na literatura como terapêuticamente activos.

4.3.3.- CONTROLO DURANTE A PRODUÇÃO

Com a finalidade de aplicar o sistema de medição de forças de compressão ao controlo durante a produção, ensaiou-se um programa de computador em que, fixando os valores das forças máximas correspondentes aos limites superior e inferior de peso, se obtêm verdadeiras cartas de controlo de forças máximas de compressão. Os valores-limite de força são programados no início da produção, assim como a periodicidade de leitura pretendida, possibilitando assim o registo de todos os valores de força máxima exercida, ou seja, o controlo indirecto do peso de todos os comprimidos produzidos. Os gráficos são visualizados no "écran" do computador, em "folhas" correspondentes a 120 leituras, e poderão ser registados na impressora em intervalos de tempo adequados. O programa apresenta ainda a vantagem de emitir um sinal sonoro sempre que qualquer valor ultrapasse os limites previamente fixados.

Para verificar a correspondência peso/força máxima, prepararam-se 600 g da fórmula B e, utilizando o volume da câmara de compressão indicado em 4.3.1.2., procedeu-se ao enchimento manual da matriz com quantidades de granulado compreendidas entre os limites de peso, registando-se os correspondentes valores de força máxima. Os resultados do ensaio estão indicados no Quadro XXXI. Como se verifica na Figura 67, existe uma relação linear entre aquelas duas grandezas.

Os valores-limite de força foram então introduzidos no computador e iniciou-se a produção. Os gráficos têm o aspecto indicado na Figura 68, que corresponde a uma folha de controlo unitária da produção.

Concluiu-se, assim, que o "software" elaborado pode ser utilizado no controlo durante a produção em máquinas alternativas.

QUADRO XXXI

FORÇAS MáXIMAS DE COMPRESSÃO E PESO DOS COMPRIMIDOS

PESO (mg)	FORÇA MáXIMA DE COMPRESSÃO (N)
447	11689,6
433	9333,6
432	9007,1
418	7218.7
398	6073,4
408	7058,0
402	6008,1
417	8208,4
431	9549,6
448	11358,1
471	13623,7
492	14759,0
476	12774,7
470	12252,3
471	12387,9
464	11579,1
487	14040,6
484	13643,8
432	8233,5
431	7404,6

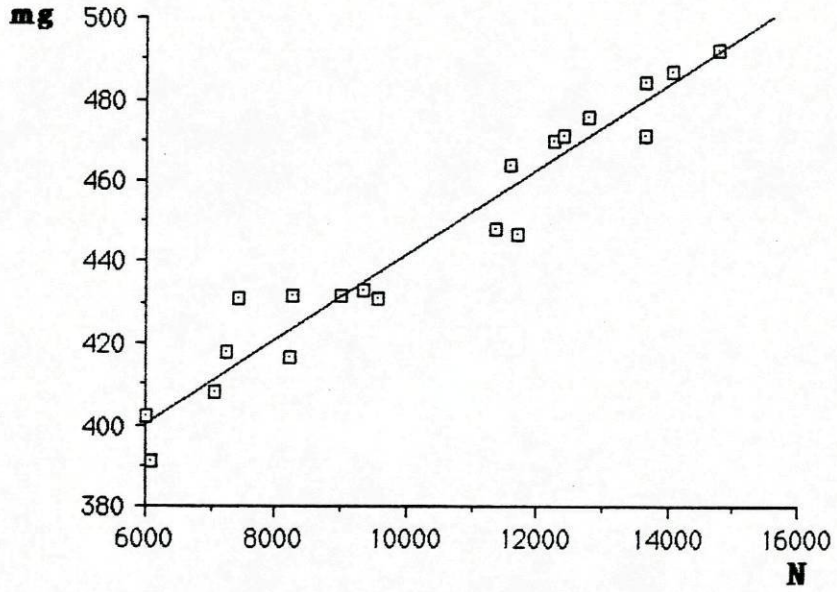


Fig. 67 - Relação gráfica entre a força máxima de compressão e o peso dos comprimidos

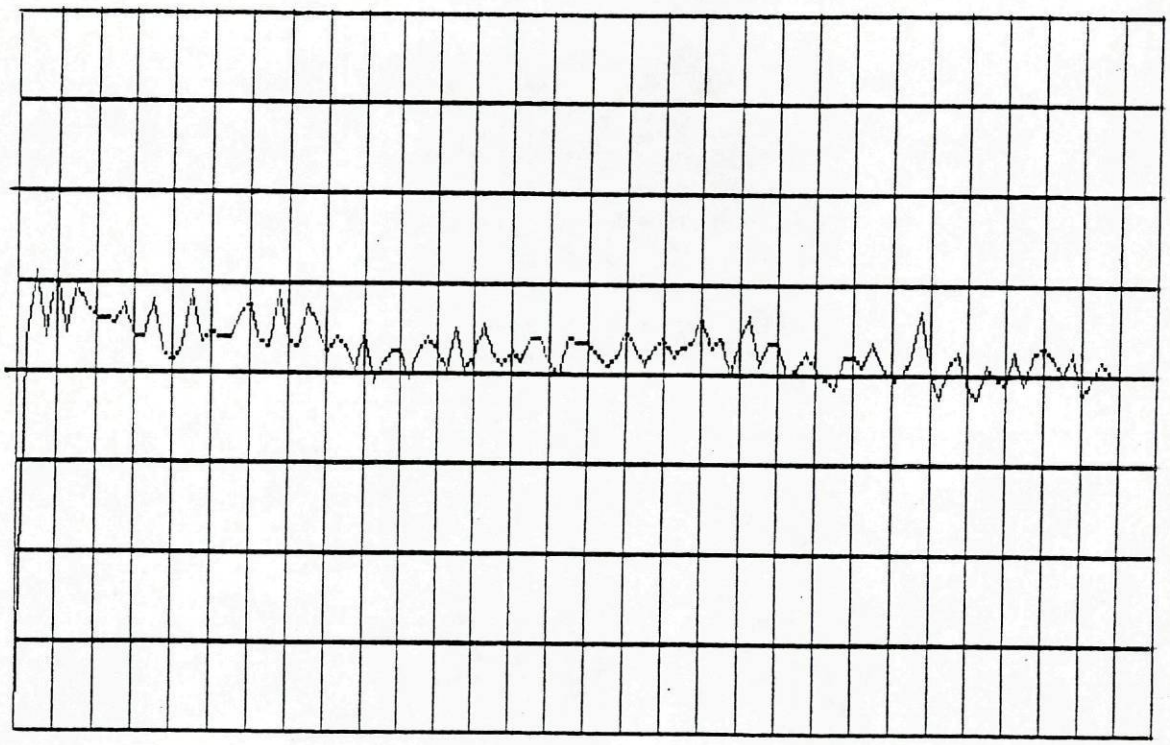


Fig. 68 - Controlo durante a produção

CAPITULO V

CONSIDERAÇÕES FINAIS

5.- CONSIDERAÇÕES FINAIS

As conclusões gerais do trabalho são de índole diversa, reportando-se não só ao próprio fármaco em estudo, mas também a algumas das técnicas executadas. Deste modo, serão apresentadas em dois grupos distintos e totalmente independentes.

5.1.- ENSAIOS COM DIPIRONA

Dos estudos respeitantes à dipirona pode concluir-se o seguinte:

1º - Atendendo à complexidade da composição das soluções aquosas de dipirona, os resultados da avaliação da constante de acidez, por titulação potenciométrica, permitiram calcular, apenas, um ponto de semi-neutralização próximo de 5. Todavia, alguns dos resultados obtidos noutros ensaios, como o estudo da variação de cor provocada pela esterilização, sugerem que uma das constantes de acidez da dipirona é semelhante àquele valor.

2º - A partilha da dipirona entre as fases clorofórmica e aquosa depende do pH desta última, já que o conteúdo da fase orgânica é tanto maior quanto maior for aquele valor. A cinética da lipossolubilização é de ordem zero e existe, para valores de pH compreendidos entre 3 e 7, uma relação linear entre a respectiva velocidade e o pH da fase aquosa.

3º - A estabilidade da solução injectável de dipirona é muito longa, pois os graus de hidrólise determinados em ampolas conservadas durante um ano a 60ºC são praticamente idênticos aos iniciais. Além disso, a adição de derivados do ácido sulfuroso e de edetato dissódico não provoca, nas concentrações utilizadas, uma melhoria

significativa da estabilidade do composto. Estes factos podem ser atribuídos à libertação, a partir da própria molécula de dipirona, de compostos sulfurosos que reagiriam com a totalidade do oxigénio existente no interior da ampola.

4º - As percentagens de dipirona íntegra existentes nas soluções injectáveis ensaiadas não se alteram durante a esterilização. Todavia, o pH das referidas soluções diminui pelo menos meia unidade, ocorrendo simultaneamente uma nítida descoloração. Deste modo, admite-se que o fenómeno pode resultar da eventual alteração das proporções relativas da molécula ionizada e não ionizada da dipirona.

5º - Os comprimidos ensaiados, obtidos por processos clássicos, não apresentam variações significativas das respectivas características de cedência "in vitro", que possivelmente são condicionadas pela elevada hidrossolubilidade do fármaco. No entanto, os parâmetros tecnológicos avaliados, e especialmente a comparação das diferentes áreas sob a curva força-deslocação, diferenciam as preparações obtidas por granulação a seco e a húmido. Neste caso, aqueles valores são mais baixos, podendo admitir-se que as energias líquidas aparentes, envolvidas no processo da compressão, também o são.

6º - As características de compressão avaliadas, como e a plasticidade, permitem afirmar que os granulados ensaiados são produtos em cuja compressão ocorrem, fundamentalmente, fenómenos de deformação.

7º - De acordo com os resultados da avaliação da estabilidade en função do pH, o grau de hidrólise da dipirona é tanto maior quanto menor fôr o pH do meio de dissolução.

8º - A velocidade de absorção "in vitro" da 4-metilaminoan-

tipirina é maior do que a da dipirona. No entanto, a dipirona íntegra aparece também no compartimento inferior, podendo admitir-se que atravessa a membrana entérica artificial.

9º - A avaliação "in vivo" da fórmula ensaiada originou níveis sanguíneos de 4-metilaminoantipirina e de 4-aminoantipirina semelhantes, e até em alguns casos superiores, aos descritos na literatura como terapeuticamente eficazes.

10º - As técnicas cromatográficas apresentadas são adequadas ao estudo da estabilidade da dipirona (permitindo dosear, com segurança, a molécula íntegra) e à determinação dos níveis sanguíneos dos dois principais metabolitos activos: a 4-metilaminoantipirina e a 4-aminoantipirina.

5.2.- AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DE COMPRESSÃO

Os dispositivos utilizados para avaliar algumas das características tecnológicas dos comprimidos apresentam inúmeras potencialidades. Assim, a instalação de transdutores piezoeléctricos e a utilização de um "software" adequado ao tratamento dos sinais emitidos permite avaliar as forças de compressão e obter os registos gráficos dos ciclos de compressão força/tempo. O recurso a um transdutor de deslocamento complementou apropriadamente a montagem anteriormente referida. Deste modo, foi possível obter:

- as curvas de compressão força/tempo,
- as curvas de compressão força/deslocação e

e determinar

- a força de compressão exercida pelo punção superior,
- a força transmitida ao punção inferior,

- a força necessária para vencer o atrito entre as paredes da matriz e o sólido,
- os períodos do ciclo de compressão força/tempo e, em especial, o "dwell time",
- a plasticidade

e, ainda, comparar

- a energia total fornecida pelo punção superior,
- a energia transmitida ao punção inferior,
- a energia de expansão,
- a energia líquida aparente.

Além disso, a elaboração de um segundo "software" permitiu também adaptar este tipo de montagem ao controlo durante a produção, que pode ser executado unitariamente, possibilitando ainda o registo periódico dos gráficos obtidos.

BIBLIOGRAFIA

(1) - Boussel,P., Bonnemain,H., Bové, F., HISTOIRE DE LA PHARMACIE ET DE L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE, Paris, Ed. de la Porte Verte, 1982.

(2) - Jaffe,J.H., Martin,W.R., OPIOID ANALGESICS AND ANTAGONISTS, em GOODMAN AND GILMAN'S THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS, 6ª ed., Nova Iorque, MacMillan Publ. Cº, 1980.

(3) - Correia da Silva, A.C., BOLETIM CULTURAL, Câmara Municipal do Porto, 23: fascículos 3 e 4 (1960).

(4) - Garcia de Orta, Carlos Clúsio, AROMATUM ET SIMPLICIUM ALIQUOT MEDICAMENTORUM APUD INDOS NASCENTIUM HISTORIA, versão portuguesa do epítome latino dos "Colóquios dos Simples", Lisboa, Junta de Investigações do Ultramar, 1964.

(5) - Cristóvão da Costa, TRATADO DAS DROGAS E MEDICINAS DAS INDIAS RORIENTAIS, Lisboa, Junta de Investigações do Ultramar, 1964.

(6) - Costa, A.F.,FARMACOGNOSIA, vol.II, Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 1967.

(7) - Correia da Silva,A.C., AN. FAC.FARM. PORTO, 32 :43--71 (1972).

(8) - Manoel Rodrigues Coelho, PHARMACOPEA TUBALENSE CHYMICO-GALENICA, Lisboa, 1735.

(9) - Flower, R.J., Moncada, S., Vane, J.R., ANALGESICS--ANTIPYRETICS AND ANTI-INFLAMMATORY AGENTS; DRUGS EMPLOYED IN THE TREATMENT OF GOUT, em GOODMAN AND GILMAN'S THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS, 7ª ed., Nova Iorque, MacMillan Publ. Cº, 1985.

(10) - Tainter, M.L., ANN. N. Y. ACAD. SCI., 51:3 (1948), seg. Willette, R.E., ANALGESIC AGENTS, em WILSON AND GISVOLD'S TEXBOOK OF ORGANIC MEDICINAL AND PHARMACEUTICAL CHEMISTRY, 8ª ed., Nova Iorque, J.B. Lippincott Cº, 1982.

(11) - Goodman, L.S., Gilman, A., AS BASES FARMACOLóGICAS DA TERAPEUTICA, vol. 1, Rio de Janeiro, Ed. Guanabara, 1958 (tradução da segunda edição americana de THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS, de

Louis S. Goodman e A. Gilman).
(12) - Haas, H., AM. J. MED., 75(5A): 1-3 (1983).
(13) - Willette, R.E., ANALGESIC AGENTS, em WILSON AND GISVOLD'S TEXBOOK OF ORGANIC MEDICINAL AND PHARMACEUTICAL CHEMISTRY, 8ª ed., Nova Iorque, J.B. Lippincott Cº, 1982.
(14) - Beyer,K.-H., DTSCH. APOTH.. ZTG., 121: 1868-1871 (1981).
(15) - Crossland. J., LEWIS'S PHARMACOLOGY, 5ª ed., Nova Iorque, Churchill Livingstone, 1980.
(16) - Griffenhagen, G., INT. PHARM. J., 2: 152-153 (1988)
(17) - Lespagnol,A., CHIMIE DES MÉDICAMENTS, vol. 1, Paris, Entreprise Moderne d'Édition / Technique et Documentation, 1974.
(18) - Granja, M.A., Brou, M.H., ANALGÉSICOS E ANTI-INFLAMATóRIOS NÃO ESTERóIDES, em CURSO DE RECICLAGEM E ACTUALIZAÇÃO SOBRE FARMACOLOGIA PARA FARMACEUTICOS HOSPITALARES, Lisboa, 1978.
(19) - Castro Tavares, J., INTRODUÇÃO A MEDICAMENTOS DA DOR, em TERAPEUTICA MEDICAMENTOSA E SUAS BASES FARMACOLóGICAS, de J. Garrett e W. Osswald, vol.I , 2ª ed., Porto, Porto Ed., 1986.
(20) - FORMULARIO NACIONAL DE MEDICAMENTOS, 3ª ed., Lisboa, Imprensa Nacional - Casa da Moeda, 1983.
(21) - Hermann,H., Cier,J.F., PRÉCIS DE PHYSIOLOGIE, vol.3, 3ª ed., Paris, Masson et Cº, 1975.
(22) - Mense, S., AM. J.MED., 75 (5A) : 4 - 14 (1983).
(23) - Fontaine,J., J. PHARM. BELG:, 41 : 231 - 238 (1986).
(24) - Besson, J.- M., POUR LA SCIENCE, nº128: 26-37 (Jun. 1988).
(25) - Hughes,J., Smith,T.W., Kosterlitz,H.W., Fothergill, L.A., Morgan,B.A., Morris,H.R., NATURE, 258 : 577--579 (1975).
(26) - Vander, A.J., Sherman, J.H., Luciano, D.S., FISIOLOGIA HUMANA : OS MECANISMOS DA FUNÇÃO DE óRGÃOS E SISTEMAS, 3ª ed, São Paulo, Ed. McGraw-Hill do Brasil, 1981 (tradução da edição americana de HUMAN

PHYSIOLOGY: THE MECHANISMS OF BODY FUNCTION, de 1980).

(27) - Brandão,F., Monteiro, J.G., Araújo, D., ANALGÉSICOS, ANTIPIRÉTICOS E ANTI-INFLAMATÓRIOS, em TERAPêUTICA MEDICAMENTOSA E SUAS BASES FARMACOLóGICAS, de J. Garrett e W. Osswald, vol. I, 2ª ed, Porto, Porto Ed., 1986.

(28) - Foster,R.W., Cox,B., BASIC PHARMACOLOGY, Londres, Butterworth and Cº, 1980.

(29) - Gualde, N., LA RECHERCHE, 17 : 622-635 (1986).

(30) - Smith,M.J.H., Ford-Hutchinson, A. W., Bray, M.A., J. PHARM. PHARMACOL., 32: 517-518 (1980).

(31) - Vane,J.R., NATURE (NEW BIOL.), 231: 232-235 (1971).

(32) - Moncada, S., Flower, R.J., Vane, J.R., PROSTAGLANDINS, PROSTACYCLIN, THROMBOXANE A_2, AND LEUKOTRINES, em GOODMAN AND GILMAN'S THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS, 7ª ed, Nova Iorque, MacMillan Publ. Cº, 1985.

(33) - Koch, H., PHARM. INT., 1 :48-49 (1980).

(34) - Devis, R., J. PHARM. BELG., 36 : 43-72 (1981).

(35) - Bhattacharya, S.K., Das, N., J. PHARM. PHARMACOL., 36 : 766-767 (1984).

(36) - Robinson,D.P., AM. J. MED., 75 (4 A): 26-31 (1983).

(37) - Brune, K., Rainsford, K.D., Wagner,K., Peskar,B.A., NAUNYN - SCHMIEDEBERG'S ARCH. PHARMACOL., 315 : 269--276 (1981).

(38) - Brune, K., REV. THER., 40 : 694-703 (1983).

(39) - Brune, K., AM. J. MED., 75 (5 A) : 19-23 (1983).

(40) - Brune, K., Lanz, R., ARZNEIM. - FORSCH., 34 : 1060--1065 (1984).

(41) - Dembinska - Kiec, A., Zmuda, A., Krupinska, I., INHIBITION OF PROSTAGLANDIN SYNTHETASE BY ASPIRIN--LIKE DRUGS IN DIFFERENT MICROSOMAL PREPARATIONS, em ADVANCES IN PROSTAGLANDIN AND THROMBOXANE RESEARCH, vol.1, Ed. por B. Samuelson e R. Paoletti, Nova Iorque, Raven Press, 1976, segundo Brune, K., Alpermann, H., AGENTS AND ACTIONS, 13 : 360-363

(1983).

(42) - Brune, K., Aheringhaus, V., Peskar, B.A., AGENTS AND ACTIONS, 14 : 729-734 (1984).

(43) - Brune, K., Alpermann, H., AGENTS AND ACTIONS, 13 : 360-363 (1983).

(44) - Carlsson, K.H., Monzel, W., Jurna, I., PAIN, 32 : 313-326 (1988) (AN. 88202959, em MEDLINE-R-1988).

(45) - Carlsson, K.H., Jurna, I., NAUNYN - SCHMIEDEBERG'S ARCH. PHARMACOL., 335 : 154-159 (1987) (AN. 87173090, em MEDLINE-R-1987).

(46) - Carlsson, K.H., Helmreich, J., Jurna, I., PAIN, 27 : 373-390 (1986) (An. 87117209, em MEDLINE-R-1987)

(47) - Castro Tavares, J., Morujão, N., Massada, S., O MÉDICO, 116 : 361-367 (1987).

(48) - Temple, A.R., AM. J. MED., 75 (5 A) : 38-46 (1983).

(49) - Ajgaonkar, V.S., Pinto Ferreira, L.M., CURR. THER. RES., 37 : 440-445 (1985).

(50) - Ajgaonkar, V.S., Marathe, S.N., Virani, A.R., J. INT. MED. RES., 16 : 225-230 (1988).

(51) - Miralles, R., Camí, J., Gutiérrez,J., Torné,J., Garcés,J.M., Badenas,J.M., EUR. J. CLIN. PHARMACOL., 33 : 527-528 (1987).

(52) - Lloret,J., Muñoz,J., Monmany,J., Puig,X., Bonastre, M., Bran,J., Sola,J., Domingo,P., Jane,F., CURR, THER. RES., 42 : 1119-1128 (1987).

(53) - Carmo - Pereira, J., Oliveira Costa, F., Henriques, E., O MÉDICO, 114 : 5-27 (1986).

(54) - Rohdewald, P., Neddermann, E., ANAESTHESIST, 37 : 150-155 (1988) (AN. 88250528, em MEDLINE-R-1988).

(55) - Villari,B., Piscione,F., Bigazzi,M.C., Focaccio,A., Golino,P., Russolillo,E., Chiariello,M., CURR. THER. RES., 44 : 593-600 (1988).

(56) - Bloch, B., Smythe, E., Weeks, R., S. AFR. MED. J., 67 : 325-329 (1985).

(57) - Mehlisch, D., AM. J. MED., 75 (5 A) : 47-52 (1983).

(58) - García, M.I.L., Balsera, A.H., Andrés - Trelles, F., REV. FARMACOL. CLIN. EXP.,5:389-395(1980).

(59) - Bouchardat, A., Bouchardat, G., NOUVEAU FORMULAIRE MAGISTRAL, 32ª ed., Paris, Félix Alcan Ed., 1900.
(60) - Lyon, G., Loiseau, P., FORMULAIRE THÉRAPEUTIQUE, 11ª ed., Paris, Masson et Cº, 1920.
(61) - Prista,L.N., Melo,O.V., Freitas,J.L., AN. DEP. FARM. CENTRO CI. SAúDE, 15: 57-68 (1976).
(62) - Prista,L.N., Montenegro,S.S., Laura,M.V., AN. DEP. FARM. CENTRO CI. SAúDE, 15: 77-88 (1976).
(63) - Clarke,A.J., ISOLATION AND IDENTIFICATION OF DRUGS, 2ª ed., Londres, the Pharmaceutical Press, 1986.
(64) - Sistovaris, N., Pola, W., J. CHROMATOGR. BIOMED. APPL. 274 : 289-298 (1983).
(65) - Christ,O., Kellner, H.-M., Ross, G., Rupp, W., Schwarz, A., ARZNEIM. - FORSCH 23 : 1760-1767 (1973).
(66) - Noda, A., Goromaru, T., Tsubone, N., Matsuyama, K., Iguchi, S., CHEM. PHARM. BULL. 24 : 1502-1505 (1976).
(67) - Volz, M., Kellner, H.-M., BR. J. CLIN. PHARMACOL., 10 : 299 S-308 S (1980).
(68) - Asmardi, G., Jamali, F., J. CHROMATOGR. BIOMED. APPL. 277 : 183-189 (1983).
(69) - Zylber - Katz, E., Granit, L., J. CHROMATOGR. BIOMED. APPL. 305 : 477-484 (1984).
(70) - Weiss, R., Brauer, J., Goertz, U ., Petry, R., ARZNEIM. - FORSCH, 24 : 345-348 (1974).
(71) - Tamura, Z., Nakamura, H., Okuno, Y., Terai, S., Isozaki, S., CHEM. PHARM. BULL., 26 : 3248-3249 (1978).
(72) - Zylber - Katz, E., Linder, N., Granit, L., Levy, M., EUR. J. CLIN. PHARMACOL., 30 : 359-361 (1986).
(73) - Flusser, D., Zylber - Katz, E., Granit, L., Levy, M. EUR. J. ClIN. PHARMACOL., 34 : 105-107 (1988).
(74) - Levy, M., Flusser, D., Zylber - Katz, E., Granit, L., EUR. J. CLIN. PHARMACOL., 27 : 453 - 458 (1984).
(75) - Bast., A., Noordhoek, J., J. PHARM. PHARMACOL., 33 : 14-18 (1981).
(76) - Mehta,M.V., Venkataramanan,R., Burckart,G.J., Ptach-

cinski,R.J., Yang, S.L., Gray,J.A., Van Thiel,D.H., Starzl,T.E., CLIN. PHARMACOL. THER., 39 : 372-377 (1986).

(77) - Wissel, P., Kappas, A., CLIN. PHARMACOL. THER., 41 : 85-87 (1987).

(78) - Svensson, C.K., J. PHARM. PHARMACOL., 39 : 838-839 (1987).

(79) - FUTURO, nº 22 (Novembro de 1988), p. 6

(80) - Jornal de Notícias, 5 de Julho de 1988.

(81) - Ivey, K.J., AM. J. MED., 75 (5A) : 53-64 (1983).

(82) - Szczeklik, A., AM. J. MED., 75 (5A) : 82-84 (1983).

(83) - Horler, A. R., BLOOD DISORDERS, em TEXTBOOK OF ADVERSE DRUG REACTIONS, Ed. por D.M. Davies, Oxford, Oxford University Press, 1977.

(84) - Nanra, R.S., AM. J. MED., 75 (5A) : 70-81 (1983).

(85) - Benson,G.D., AM. J. MED., 75 (5A) : 85-93 (1983).

(86) - Mejstrik,V., Drzkova,L., Sagner,Z., Krampera, F., Matrka,M., CESKOSLOV. FARM., 35:102-104 (1986).

(87) - Sakai, A., Tanimura, A., CHEM. PHARM. BULL., 28 : 1820-1826 (1980).

(88) - Gladtke,E., AM. J. MED., 75 (5A):121-126 (1983).

(89) - Eldor, A., Zylber - Katz, E., Levy, M., EUR. J. CLIN. PHARMACOL. 26 : 171-176 (1984).

(90) - Peskar, B.M., Kleine, A., Pyras, F., Muller, M.K., MED. TOXICOL. 1 (supl. 1) : 39-43 (1986).

(91) - Roujeau, J.C., Koso, M., Andre, C., Revuz, J., Philippoteau, C., Wechsler,J., Binaghi,M., Touraine, R., LANCET, 1 : 609-611 (1985).

(92) - Chan, H.L., INT. J. DERMATOL.,23: 607-609 (1984).

(93) - Morales,M.C., Basomba,A., Villalmanzo,I.G., Peldez, A.,Campos,A., Guerrero,M., J. ALLERGY CLIN. IMMUNOL. 75 : 528 (1985).

(94) - Heit, W.F.W., AM. J. MED., 75 (5A) : 65-69 (1983).

(95) - Miescher,P.A., MED. TOXICOL., 1, (supl. 1): 57-70 (1986).

(96) - Huguley, C.M., JAMA, 189 : 938-941 (1964).

(97) - Discombe, G., BR. MED. J., 1 : 1270-1273 (1952).

(98) - Böttiger,L.E., Westerholm,B., BR. MED. J., 3: 339--343 (1973).
(99) - Sollero,L., INCIDENCE OF AGRANULOCYTOSIS AND THE USE OF DIPYRONE IN BRAZIL, Rio de Janeiro, FAPB, 1975.
(100) - Ovtcharov,R., Pola, W., DIPYRONE SYMPOSIUM 1978, Moscovo, F. K. Schattauer, 1978.
(101) - Varonos,D.D., Santamouris,S., Karambali,S., J. INT. MED. RES., 7: 564-568 (1979).
(102) - The International Agranulocytosis and Aplastic Anemia Study, THE DESIGN OF A STUDY OF THE DRUG ETIOLOGY OF AGRANULOCYTOSIS AND APLASTIC ANEMIA, EUR. J. CLIN. PHARMACOL. 24: 833-836 (1983).
(103) - Laporte, J.R., Tognoni, G., PRINCIPIOS DE EPIDEMIOLOGIA DEL MEDICAMENTO, Barcelona, Salvat Ed., 1983.
(104) - The International Agranulocytosis and Aplastic Anemia Study, RISK OF AGRANULOCYTOSIS AND APLASTIC ANEMIA, JAMA, 256 : 1749-1757 (1986).
(105) - Shapiro, S., LANCET, 1 : 451-452 (1984).
(106) - Shapiro, S., LANCET, 2 : 1471 (1984).
(107) - Faich, G.A., JAMA, 256 : 1788 (1986).
(108) - D'Arcy, P.F., J. PHARM. BELG., 42 : 347-348 (1987).
(109) - CLIN. PHARM., 6 : 6-7 (1987).
(110) - LANCET, 3 : 899-900 (1986).
(111) - NORDIC STATISTICS ON MEDICINES, 1981-1983, volume 1, Nordic Council on Medicines, 1984.
(112) - Levy,M., Shapiro,S., LANCET, 4 : 1033-1034 (1986).
(113) - Laporte, J.- R., Carné, X., LANCET, 2 : 809 (1987).
(114) - LANCET, 3 : 737-738 (1986).
(115) - SCRIP, nº 1150 (29 Outubro 1986), p.8.
(116) - LANCET, 4 : 1450-1451 (1986).
(117) - LANCET, 1 : 95 (1987).
(118) - Informaçâo fornecida pela Direcçâo dos Serviços de Aprovisionamento da Secretaria Geral do Ministério da Saúde, Novembro de 1988.
(119) - Informaçâo fornecida pelos Serviços Farmacêuticos do Hospital de S. Joâo, Novembro de 1988.

(120) - Informaçâo fornecida pelos Serviços Farmacêuticos do Hospital Geral de Santo António, Novembro de 1988.
(121) - Fiese, E.F., Hagen, T.A., PREFORMULATION, em THE THEORY AND PRACTICE OF INDUSTRIAL PHARMACY, de Lachman,H.A. Lieberman, J.L. Kanig, Filadélfia, Lea and Febiger,1986, p. 171-196.
(122) - Motola, S., Agharkar, S., PREFORMULATION RESEARCH OF PARENTERAL MEDICATIONS, em PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS: PARENTERAL MEDICATIONS, vol.2, Nova Iorque, Marcel Dekker, 1986.
(123) - Reynolds,J.E.F.(Ed.), MARTINDALE / THE EXTRA PHARMACOPEIA, 28ª ed., Londres, the Pharmaceutical Press, 1982.
(124) - THE MERCK INDEX, 9ª ed., Rahway, Merck & Cº, 1976.
(125) - Dorvault,F., L'OFFICINE, 20ª ed., Paris, Ed.Vigor, 1978.
(126) - Mondragon, M.C.H., FARMACIA QUíMICA, Madrid, Ed. Alhambra, 1969.
(127) - Ikeda, K., Miyata, K., Iwata,T., Kawata, F., Kurome, K., CHEM. PHARM. BULL., 18 : 440-448 (1970).
(128) - Kurono, Y., Ikeda, K., Uekama, K., CHEM. PHARM. BULL., 23 : 409-415 (1975).
(129) - Wagner, G., ARCH. PHARM. (Weinheim), 289 : 8-15 (1956).
(130) - Wagner, G., ARCH. PHARM. (Weinheim), 289 :121-124 (1956).
(131) - Pechtold, F., ARZNEIM.-FORSCH., 14 : 258-259 (1964).
(132) - Pechtold, F., ARZNEIM.-FORSCH., 14 : 474-475 (1964).
(133) - Pechtold, F., ARZNEIM. - FORSCH., 14 : 1056-1058 (1964).
(134) - Ono,S., Onishi,R., Kawamura,K., YAKUGAKU ZASSHI, 86: 11-19 (1966).
(135) - Yoshioka, S., Ogata, H., Shibazaki,T., Inoue,T., CHEM. PHARM. BULL., 25 : 475-483 (1977).
(136) - Yoshioka, S., Ogata, H., Shibazaki,T., Inoue,T., CHEM. PHARM. BULL., 25 : 484-490 (1977).
(137) - Yoshioka, S., Ogata, H., Shibazaki,T., Ejima,A.,

CHEM. PHARM. BULL., 26 : 2723-2728 (1978).
(138) - Yoshioka, S., Ogata, H., Shibazaki,T., Ejima,A., CHEM. PHARM. BULL., 27 : 2363-2371 (1979).
(139) - Samejima, M., Sugimoto, I., Utsumi, I., YAKUZAIGAKU, 26 : 23-27 (1966).
(140) - Coste, J.M., Chanal,J.L., Marignan,R., TRAV. SOC. PHARM. MONTPELLIER, 29 : 67-72 (1969).
(141) - Pellerin,F., Letavernier,J.-F., ANN. PHARM. FR., 31 : 161-166 (1973).
(142) - Krötsch, U., Kross, W., Trapmann, H., PHARM. ZTG., 120 : 1502-1504 (1975).
(143) - Ebel,S., Rost,D., ARCH. PHARM. (Weinheim), 311 : 914-922 (1978).
(144) - Pechtold,F., ARZNEIM.- FORSCH., 14:1328-1332 (1964).
(145) - Muñoz, A., Schultz, A., ACTAS Y TRABAJOS DEL TERCER CONGRESO PERUANO DE QUíMICA, 1949, p. 458.
(146) - Wirth,C.M.P., PHARM. ACTA HELV., 32 : 383-384(1957).
(147) - Patel, M.J., Mehta, R.C., IND. J. PHARM. SCI., 44 : 77-78 (1982).
(148) - PHARMACOPOEA HELVETICA, Ed. 6ª, 1971.
(149) - THE PHARMACOPOEIA OF JAPAN, 9ª ed., 1974.
(150) - Awe, W., Tracht, H.-G., PHARM. ZTG., 107 : 429-432 (1962).
(151) - Grumbach,P.E., Guerne,R., SCHWEIZ. APOTH. ZTG., 96 : 407-408 (1958).
(152) - Kigasawa, K., Shimizu, H., Watari, S., Ikari, N., Mikubo,H., YAKUGAKU ZASSHI, 84 : 638-641 (1964).
(153) - Silveira, C., Barrosa,M.T., REV. PORT. FARM.,14: 96--104 (1964).
(154) - Baltazar, J., Ferreira Braga, M.M., REV. PORT. FARM., 14 : 116-121 (1964).
(155) - Srivastava, M.K., Ahmad, S., Singh, D., Shukla, I.C., ANALYST, 110 : 735-737 (1985).
(156) - Rizk, M.S., Zakhari, N.A., IL FARMACO (Ed. Prat.), 41 : 75-82 (1986).
(157) - Denoël, M., J. PHARM. BELG., 34 : 544-552 (1952).
(158) - Kashima, T., YAKUGAKU ZASSHI, 74 : 463-466 (1954).

(159) - Pijck, J., Claeys, A., J. PHARM. BELG., 18 : 525-528 (1963).
(160) - Pijck, J., Claeys, A., J. PHARM. BELG., 18 : 33-40 (1964).
(161) - Pijck, J., Claeys, A., J. PHARM. BELG., 18 : 324-326 (1964).
(162) - Guadagnini,G., Sekules, G., BOLL. CHIM. FARM., 103 : 438-441 (1964).
(163) - Buhl, F., Hachula, U., CHEM. ANAL., 29 : 483-489 (1984).
(164) - Buhl, F., Hachula, U., CHEM. ANAL., 26: 395-400 (1981).
(165) - Fujita, Y., Mori I., Kitano, S., BUNSEKI KAGAKU, 33: E383-E388 (1984).
(166) - Morita,M., EISEI SHIKENJO HôKOKU, 77: 113-115(1959).
(167) - Maggiorelli, E., Conti, L., IL FARMACO (Ed. Prat.), 15 : 179-183 (1960).
(168) - Ono, S., Onishi, R., Kawamura, K., YAKUGAKU ZASSHI, 85 : 239-244 (1965).
(169) - Kawamura, K., YAKUGAKU ZASSHI, 87 : 394-400 (1967).
(170) - Kató, K., Umeda, M., Tsubota, S., YAKUZAIGAKU, 24 : 116-119 (1964).
(171) - Verma,K.K., Jain ,A., Patel, N., Sanghi,S.K., IL FARMACO (Ed. Prat.), 42 : 185-192 (1987).
(172) - Tan, H., Shelton, D., J. PHARM. SCI., 63 : 916-919 (1974).
(173) - Fernandes Martins, M.E., Magalhâes, J.F., Santoro, M.I., Martins, J., REV. FARM. BIOQUIM. UNIV. S. PAULO, 20 : 133-144 (1984).
(174) - Shingbal, D.M., Shirsat, P.D., INDIAN J. PHARM. SCI., 37 : 94 (1975), em BOLL. CHIM. FARM. , 115 : 415 (1976).
(175) - Abdine,H., Soliman,S.A., Morcos,M.G., J. PHARM. SCI., 62:1834-1836 (1973).
(176) - Vassileva-Alexandrova, P.S., Shishmanov, S., ANAL. CHEM., 47:1432-1435 (1975).
(177) - El-Sayed,M.A.M., Mohamed, Y., PHARMAZIE, 27:747-749

(1972).

(178) - Grabowicz,W., ACTA POLON. PHARM., 24:315-320 (1967), em INT. PHARM. ABSTR., 4:955 (1967).

(179) - Uno,T., Yamamoto,M., JAPAN ANALYST, 22:1420-1423 (1973).

(180) - Abdine,H., Elsayed,M.A., Abdel-Hamed,M., ACTA PHARM. JUGOSLAV., 28:75-81 (1978).

(181) - Végh,A., Szász,G., Kertész,P., PHARMAZIE, 16: 512--514 (1961).

(182) - Varcl,L., CESKOSLOV. FARM., 16:494-495 (1967).

(183) - Sunshine,I., HANDBOOK OF ANALYTICAL TOXICOLOGY, Florida, CRC Press, 1969.

(184) - Oi,N., YAKUGAKU ZASSHI, 85:1001-1003 (1965).

(185) - Alessandro,G., Dal Brollo, F.,Mecarelli,E., BOLL. CHIM. FARM., 101:34-40 (1962).

(186) - Nikolic,K., Velasevic,K., Medenica,M., ACTA PHARM. JUGOSL., 34:177-182 (1984).

(187) - Noninski,V.C., Sobowale,E.B., SCI. PHARM., 54:105--110 (1986).

(188) - Fabre,H., Eddine,N.H., Bressolle,F., Mandrou,B., ANALYST, 107:61-66 (1982).

(189) - Bühler,V., DTSCH. APOTH. ZTG., 117:1294-1295 (1977).

(190) - Buhl,F., Hachula,U., CHEM.ANAL., 29:627-629 (1984).

(191) - Eddine,N.H., Bressolle,F., Mandrou,B., Fabre,H., ANALYST, 107:67-70 (1982).

(192) - El-Fatatry,H., PHARMAZIE, 38:227-228 (1983).

(193) - FARMACOPEIA PORTUGUESA V - Ediçâo oficial, Parte 1, Lisboa, Imprensa Nacional - Casa da Moeda, 1986.

(194) - Benez,L.Z., Goyan,J.E., J. PHARM. SCI. 56: 665-680 (1967).

(195) - Albert, A. , Serjeant,E.P., THE DETERMINATION OF IONIZATION CONSTANTS, Edimburgo, Chapman and Hall, 1962.

(196) - McMurry,J., ORGANIC CHEMISTRY, Monterey, Brooks/Cole Publishing Cº., 1984.

(197) - March,J., ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY : REACTIONS, MECHANISMS, AND STRUCTURE, Nova Iorque, Mcgraw Hill

Cº, 1968.

(198) - Ferreira, M.A., CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DOS ALCALÓIDES iNDóLICOS DE BURKEA AFRICANA HOOK, Porto, 1971.

(199) - Martin, A.N., PRINCIPIOS DE FISICO-QUIMICA PARA FARMACIA Y BIOLOGIA, Madrid, Ed. Alhambra, 1967, (tradução espanhola de PHYSICAL PHARMACY, Filadelfia, Lea and Febiger).

(200) - Dubash,D.D., Moore,W.E., J. PHARM. SCI., 61:386-389 (1972).

(201) - THE UNITED STATES PHARMACOPEA XXI / NATIONAL FORMULARY XVI, 1985.

(202) - Nogueira Prista, L., Correia Alves, A., Morgado, R.M.R., TÉCNICA FARMACEUTICA E FARMACIA GALÉNICA, III volume, 2ª ed., Lisboa, Fundaçâo Calouste Gulbenkian, 1979.

(203) - Nogueira Prista, L., Correia Alves, A., Morgado, R.M.R., TÉCNICA FARMACEUTICA E FARMACIA GALÉNICA, II volume, 2ª Ed., Lisboa, Fundaçâo Calouste Gulbenkian, 1979.

(204) - Schroeter, L.C., J. PHARM. SCI., 50:891-901 (1961).

(205 - Dischер, C. A., QUIMICA INORGÂNICA FARMACEUTICA, Madrid, Ed. Alhambra, 1966 (tradução da edição americana de MODERN INORGANIC PHARMACEUTICAL CHEMISTRY, Nova Iorque, John Wiley and Sons)

(206) - Pradeau, D., Petiot, J., Bissery, V., Hamon, M., Grangeon, R., Lacaze,M., Chenebaux,J., INT PHARM. J., 2:209-215 (1988).

(207) - Avis, K.E., STERILE PRODUCTS, em THE THEORY AND PRACTICE OF INDUSTRIAL PHARMACY, de L. Lachman, H.A. Lieberman, J.L. Kanig, 3ª ed., Filadélfia, Lea and Febiger, 1986.

(208) - Nogueira Prista, L., Correia Alves, A., Morgado, R.M.R., TÉCNICA FARMACEUTICA E FARMACIA GALÉNICA, I volume, 3ª ed., Lisboa, Fundaçâo Calouste Gulbenkian, 1983.

(209) - Yoshioka, S., Ogata, H., Shibazaki, T., Ejima, A.,

CHEM. PHARM. BULL., 27: 907-915 (1979).
(210) - Yoshioka, S., Ogata, H., Shibazaki, T., Ejima, A., CHEM. PHARM. BULL., 29: 1179-1181 (1981).
(211) - Erbe, S., pat. 41306 (Cl. A61k) (Set.5, 1965), segundo Dubash, D.D., Moore,W.E., J. PHARM.SCI, 61: 386-389 (1972).
(212) - Béguin,M., Engel,M.A., SCHWEIZ. APOTH. ZTG., 96:408--409 (1958).
(213) - Johnson, E. L., Stevenson, R., BASIC LIQUID CHROMATOGRAPHY, Palo Alto, Varian Associates, 1978.
(214) - Garrett,E.R., J. PHARM.SCI., 51:811-833 (1962).
(215) - Rogers, A.R., J. PHARM. PHARMACOL., 15:101T-105T (1963).
(216) - Colombo,B.M., Causa,P., IL FARMACO, ED. PR., 25:95 (1970).
(217) - Colombo,B.M., Causa,P., BOLL. CHIM. FARM., 109:406-416 (1970).
(218) - Colombo,B.M., Causa,P., Primavera,P., Villano,V., IL FARMACO, ED. PR., 27:327(1972).
(219) - Calcinari,R., ARGOMENTI DI TECNOLOGIA FARMACEUTICA, Trieste, Ed. LINT, 1975, p.37.
(220) - Harris, D.C., QUANTITIVE CHEMICAL ANALYSIS, San Francisco, W. H. Freeman & Cª, 1982.
(221) - Gibaldi, M., BIOPHARMACEUTICS, em THE THEORY AND PRACTICE OF INDUSTRIAL PHARMACY, de L. Lachman, H. A. Lieberman e J. L. Kanig, 2ª ed., Filadélfia, Lea and Febiger, 1976.
(222) - Connors,K., Amidon,G., Stella,V., CHEMICAL STABILITY OF PHARMACEUTICALS, Nova Iorque, John Wiley and Sons, 1986.
(223) - Bergisadi,N., Ozsoy,Y., ACTA PHARM. TURCICA, 28:31--34 (1986)
(224) - Le Hir, A., ABRÉGÉ DE PHARMACIE GALÉNIQUE, 2ª ed, Paris, Masson, ed., 1977.
(225) - Marshall , K., THE COMPACTION OF POWDERS, em THE THEORY AND PRATICE OF INDUSTRIAL PHARMACY, de L. Lachman,H.A., Lieberman,J.L., Kanig, 3ª ed,

Filadélfia, Lea and Febiger, 1986.
(226) - Jetzer,W.E., J. PHARM. PHARMACOL., 38:254-258(1986).
(227) - Staniforth, J. N., J. PHARM. PHARMACOL.,39:329-334 (1987).
(228) - Shotton,E., Rees,J.E., J. PHARM. PHARMACOL.,18:160 (1966).
(229) - Schramm,G., Matthaci,M., Trost,S., SCHWEIZ APOTH. ZTG.,_ 112: 631-634 (1974).
(230) - Jaiyeoba,K.T., Spring,M.S., J. PHARM. PHARMACOL.,32: 1-5(1980).
(231) - Reading,S.J., Spring,M.S., J. PHARMA. PHARMACOL.,35: 45 P (1983).
(232) - Nogami,H., Nagai,T., Fukuoka,E., Sonobe,T., CHEM. PHARM. BULL., 17:1450-1455(1969).
(233) - Reading,S.J., Spring,M.S., J. PHARM. PHARMACOL.,36: 421-426(1984).
(234) - Malamataris,S., Pilpel,N., J.PHARM. PHARMACOL.,34: 755-760 (1982).
(235) - Nyström,C., Malmqvist,K., Mazur,J., Alex,W., Hölzer, A.W., ACTA PHARM. SUEC.,15:226-232(1978).
(236) - Baichwal,A.R., Augsburger,L.L., J. PHARM. PHARMACOL. 40:569-571(1980).
(237) - Bolhuis,G.K., Lerk,C.F., J. PHARM. PHARMACOL.,33:790 (1981).
(238) - Hölzer,A.W., Sjögren,J., ACTA PHARM. SUEC.,18:139--148(1981).
(239) - Armstrong,N.A., Blundell,L.P., J. PHARM. PHARMACOL., 37:28 P(1985).
(240) - Armstrong,N.A., Palfrey, L.P., J. PHARM. PHARMACOL., 39:497-501(1987).
(241) - Bateman,S.D., Rubinstein,M.H., Wright,P., J. PHARM. PHARMACOL.,39:66 P(1987).
(242) - Armstrong, N.A., Palfrey, L.P., J.PHARM, PHARMACOL., 41:149-151(1989).
(243) - Pitt,K.G., Newton,J.M., J.PHARM. PHARMACOL., 39:65 P (1987).
(244) - Higuchi,T., Arnold,R.D., Tucker,S.J., Busse,L.W., J.

AM. PHARM. ASS., Sci. Ed., 41:93-97 (1952).

(245) - Higuchi,T., Rao,A.N., Busse,L.W., Swintovsky,J.V., J. AM. PHARM. ASS., Sci. Ed., 42:194-198 (1953).

(246) - Shotton,E., Ganderton,D., J. PHARM. PHARMACOL., 12 :87 T(1960).

(247) - Jungersen,O., Jensen,V.G., DANSK TIDSSKR. FARM., 44: 39-47(1970).

(248) - Armstrong,N.A., Abourida,N.M.A.H., Krijgsman,L., J. PHARM. PHARMACOL., 34:9-13(1982).

(249) - Gomez Amoza, J.L., DISENO DE UN SISTEMA DE REGISTRO DE PRESION PARA MAQUINAS DE COMPRIMIR EXCENTRICAS: APLICACION AL CONTROL DE PRODUCCION Y AL ANALISIS DE CURVAS DE COMPRESION, SANTIAGO DE COMPOSTELA, 1986.

(250) - Lindberg, N.-O., ACTA PHARM. SUECICA, 9: 135-140 (1972).

(251) - Ragnarsson,G., SjÖgren,J., J. PHARM. PHARMACOL.,35: 201-204 (1983).

(252) - Vila Jato,J.L., Martinez,R., Hernández,J.F., Souto, C., CIENCIA IND. FARM., 3 (2ª ep.):277-282(1984).

(253) - Faulí,C., Parera,E., CIENCIA IND. FARM., 5:23-26 (1973)

(254) - Faulí,C., Parera,E., Gabarró,P., CIENCIA IND. FARM., 5:230-239(1973).

(255) - Hoblitzell,J.R., Rhodes,C.T., PHARM. INT., 6:45-50 (1985).

(256) - Shotton, E., Deer, J.J., Ganderton,D., J. PHARM. PHARMACOL., 15:106 T(1963).

(257) - Vezin,W.R.,Khan,K.A.,Pang,H.M., J.PHARM. PHARMACOL., 35:555-558 (1983).

(258) - Miller,R.A., Down,G.R.B., Yates,C.H., Millar,J.F., CAN. J. PHARM. SCI., 15:55-58(1980).

(259) - Nelson,E., Nagui,S.M., Busse,L.W., Higuchi,F., J. AMER. PHARM. ASS., Sci. Ed., 43:596(1954).

(260) - Jones, T.M., FORMULATION FACTORS : DRUGS GIVEN BY ORAL ROUTE, em FORMULATION AND PREPARATION OF DOSAGE FORMS, Ed. por J. Polderman, Elsevier, Amesterdâo, 1977.

(261) - Jones,T.M., INT. J. PHARM. TECH. PROD. MANUF., 2:17--24 (1981), em Armstrong,N.A., INT. J. PHARM., 49 : 1-13 (1989).
(262) - Korsch,W., LABO-PHARMA-PROBL. TECHN., 28:744(1980).
(263) - Knoechel, E.L., Sperry,C.C., Lintner,C.J., J. PHARM. SCI., 56:116(1967).
(264) - Fuhrer,C., DEUTSCH APOTH.-ZTG., 102:827(1988), em Cavaco,A.C.C., REV. PORT. FARM., 21:413(1971).
(265) - Nelson,E., Arndt,J.R., Busse,L.W., J. AMER. PHARM. ASS., Sci.Ed., 46:257(1957).
(266) - Ho,T., Hersey,J.A., J. PHARM. PHARMACOL., 32:160-166 (1980).
(267) - Jungersen,O., Jensen,V.G., DANSK TIDSSKR. FARM., 46: 114-120(1972).
(268) - Juslin,M.J., Jaervinen,M.J., FARM, NOTISBL., 79:1 (1970), segundo Marshall,K., em THE THEORY AND PRACTICE OF INDUSTRIAL PHARMACY, 3ª ed., Filadélfia, Lea and Febiger, 1986.
(269) - Doelker,E., PHARM. ACTA HELV., 53:182(1978).
(270) - Stamm,A., Mathis,C., ANN.PHARM. FR., 33 :641-650 (1975).
(271) - Casahoursat,L., Lemagnen,G., Larrouture,D., Etienne, A., BULL. SOC. PHARM. BORDEAUX, 126:30-48(1987).
(272) - Colombo, P., Conte,U., Caramella,C., La Manna,A., Guyot, J.C., Delacourte,A., Devise,B., Traisnel,M., Boniface,M., FARMACO, Ed. Pr., 33:531(1978).
(273) - Malamataris,S., Bin Baie,S., Pilpel,N., J. PHARM, PHARMACOL., 36:616(1984).
(274) - Higuchi,T., Elowe,L.N., Busse,L.W., J. AM. PHARM. ASS., Sci. Ed., 43:685(1954).
(275) - Train,D., J. PHARM. PHARMACOL., 8:745-761(1956).
(276) - Lowenthal,W., Burruss,R.A., J. PHARM. SCI., 60:1325--1332(1971).
(277) - Buri,P., SCHWEIZ. APOTH.-ZTG, 116:55-62(1978).
(278) - Ahmed, M., Hadgraft,J., Kellaway,I.W., J. PHARM. PHARMACOL., 33:61 P(1981).
(279) - Galer,J., Rondelet,J., J. PHARM. BELG., 31:451-466

(1976).

(280) - Levy,G., Mroszczak,E.J., J. PHARM. SCI., 57:235-239 (1968).

(281) - Aguiar,A.J., Weiner,M.A., J. PHARM. SCI., 58:210-215 (1969).

(282) - Dibbern, H.W., Scholz,G.H., ARZNEIM.-FORSCH., 19: 1140-1145(1969).

(283) - Hayton,W.L., Guttman,D.E., Levy,G., J. PHARM. SCI., 61:356-361(1972).

(284) - Stehle,R.G., Higuchi,W.I., J. PHARM. SCI., 61:1922--1930(1972).

(285) - Misra, A.L., Hunger, A., Keberle, H., J. PHARM. PHARMACOL., 18:531-535(1966).

(286) - Heizog,K.A., Swarbrick,J., J. PHARM. SCI., 59:1759--1763(1970).

(287) - Stricker,H., DRUGS MADE IN GERMANY, 14: 126-140 (1971).

(288) - Stricker,H., DRUGS MADE IN GERMANY, 16:80-83(1973).

(289) - Tanabe,K., Furuichi,Y., Inaba,R., Itoh,S., Takeda, Y., Sawanoi,M., Yamazaki,M., Kamada,A., YAKUZAIGAKU, 45:79-90(1985).

(290) - Tanabe,K., Furuichi,Y., Inaba,R., Takeda, Y., Itoh, S., Sawanoi,M., Yamazaki,M., Kamada,A., YAKUZAIGAKU, 45:91-98(1985).

(291) - Diab,A.M., PHARMAZIE, 32:226-227(1977).

(292) - Itoh,S., Tanabe,K., Furuichi,Y., Suzuka,T., Kubo,K., Yamazaki,M., Kamada,A., CHEM. PHARM. BULL., 32:3194--3198(1984).

(293) - THE UNITED STATES PHARMACOPOEA XX / NATIONAL FORMULARY XV, 1980.

(294) - Juslin, M.J., Paronen, T.P., J. PHARM. PHARMACOL., 32:796-798 (1980)

(295) - REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 16ª ed., Pensilvânia, Mack Publ. Cª, 1980.

(296) - Hally,A.D., Lloyd,S.M., THE GASTROINTESTINAL SYSTEM, em A COMPANION TO MEDICAL STUDIES, de R. Passmore e J. S. Robson, 4ª ed, Oxford, Blackwell Sci.Publ.,

1973.

(297) - Gibaldi, M., INTRODUCCION A LA BIOFARMACIA, Saragoça, Ed. Acribia, 1974 (tradução da edição americana de INTRODUCTION TO BIOPHARMACEUTICS).

(298) - Mehta ,A.C, TALANTA, 33 : 67-73 (1986)

ANEXO I

ANEXO I

DIPIRONA - ENSAIOS DE VERIFICAÇÃO

1.- DESCRIÇÃO - Farmacopeia do Japão (149)

Pó branco ligeiramente amarelado, inodoro e amargo.

2.- IDENTIFICAÇÃO - Farmacopeia do Japão (149)

2.1.- Reacção com o cloro activo em meio ácido: formação de coloração vermelha que passa, em seguida, a amarela.

2.2.- Aquecimento à fervura em meio ácido: desenvolvimento de cheiro a anidrido sulforoso e a formol.

2.3.- Reacção com acetato de uranilo em meio acético e na presença de acetato de zinco: formação de precipitado amarelo.

3.- PUREZA - Farmacopeia do Japão (149)

3.1.- Limpidez da solução a 10% (p/v).

3.2.- Sulfatos - teor inferior a 0,120%.

3.3.- Metais pesados: teor inferior a 20 ppm.

3.4.- Substâncias solúveis em clorofórmio: o peso do resíduo foi inferior ao indicado na monografia (5,0 mg).

4.- DETERMINAÇÃO DA AGUA - Farmacopeia Portuguesa V (193)

A média de 5 determinações foi 5,28%.

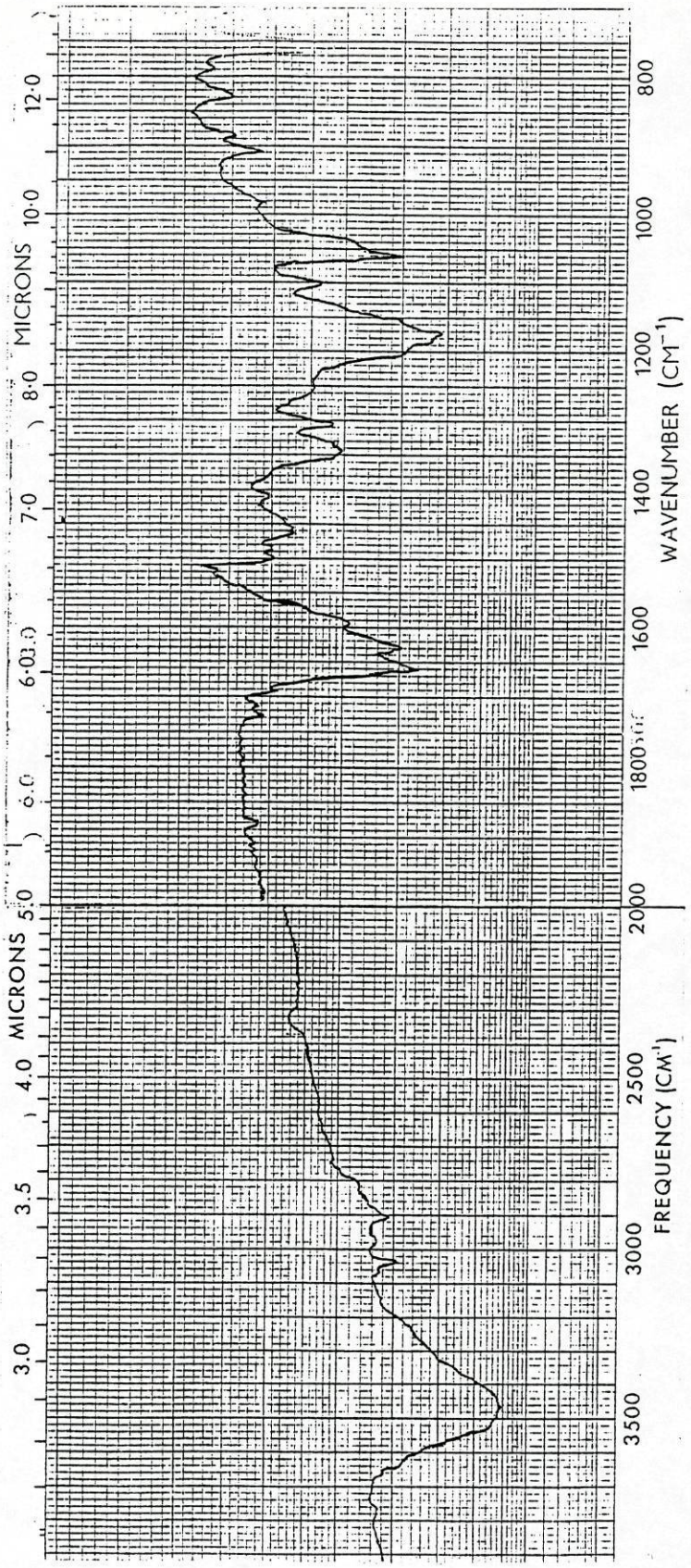
5.- DOSEAMENTO - Farmacopeia do Japão (149)

A média de 5 determinaçôes foi 99,95%.

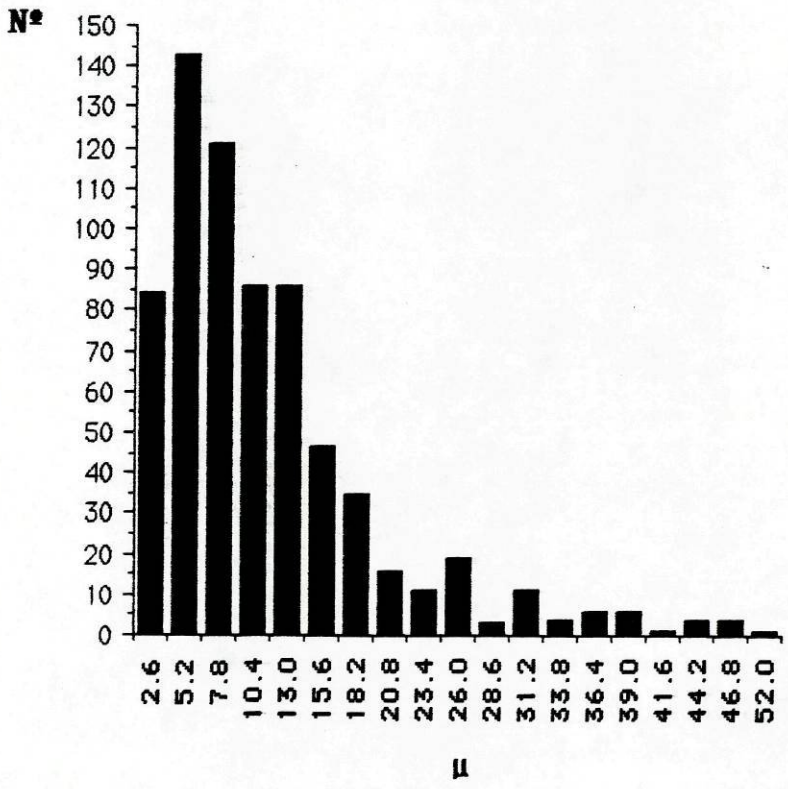
6.- ESPECTRO DE INFRAVERMELHO

Utilizando uma diluição em brometo de potássio, obteve-se o espectro apresentado na página 283.

ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DA DIPIRONA



ANALISE GRANULOMÉTRICA DA DIPIRONA



INDICE

CAPITULO I

CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1.- OS ANALGÉSICOS 2
1.1.1.- História 2
1.1.2.- Definição e classificação 8

1.2.- OS ANALGÉSICOS, ANTIPIRÉTICOS E ANTI-INFLAMATÓRIOS 11
1.2.1.- Fisiologia 11
1.2.1.1.- A dor 11
1.2.1.2.- A febre 13
1.2.1.3.- A inflamação 14
1.2.2.- Farmacologia 16
1.2.2.1.- As prostaglandinas, os tromboxanos e os leucotrienos 16
1.2.2.2.- Modo de acção 20

1.3.- OS DERIVADOS PIRAZÓLICOS 24
1.3.1.- Classificação 24
1.3.2.- Uso terapêutico 24

1.4.- DIPIRONA 29
1.4.1.- Formas farmacêuticas. Associações medicamentosas. Dosagem. 29
1.4.2.- Farmacocinética 31
1.4.2.1.- Metabolização 31
1.4.2.2.- Absorção e distribuição 34
1.4.2.3.- Eliminação e excreção 36
1.4.2.4.- Condicionalismos genéticos da metabolização da dipirona 37
1.4.2.5.- A metabolização dos derivados pirazolonicos 38
1.4.3.- Efeitos secundários 38
1.4.3.1.- Inibição da agregação plaquetária e irritação da mucosa gastro-intestinal 40

1.4.3.2.- Reacções imunitárias 42
1.4.3.2.1.- Manifestaçôes cutâneas e asma brônquica 42
1.4.3.2.2.- Agranulocitose e anemia aplástica 42
1.4.4.- Consumo em Portugal 45

CAPITULO II

PRÉ-FORMULACAO

2.1.- INTRODUCAO 52
2.1.1.- Características fisicas e quimicas. Sintese. 53
2.1.2.- Características de estabilidade. 55
2.1.2.1.- Vias de decomposiçâo. 55
2.1.2.2.- Hidrolise. 57
2.1.2.3.- Oxidaçâo em soluçâo aquosa. 60
2.1.2.4.- Decomposiçâo no estado sólido. 61
2.1.3.- Métodos de doseamento. 63
2.1.3.1.- Técnicas volumétricas. 65
2.1.3.2.- Técnicas espectrofotométricas. 66
2.1.3.3.- Técnicas electroquímicas. 70
2.1.3.4.- Técnicas cromatográficas. 71
2.1.3.5.- Outras técnicas. 72

2.2.- OBJECTIVOS 73

2.3.- PARTE EXPERIMENTAL 76
2.3.1.- Avaliaçâo da constante "aparente" de acidez. 76
2.3.1.1.- Material e métodos. 77
2.3.1.2.- Resultados. 77
2.3.1.3.- Discussâo dos resultados. 78
2.3.2.- Estudo do método colorimétrico de doseamento. 83
2.3.2.1.- Material e métodos. 83
2.3.2.2.- Resultados. 84
2.3.2.3.- Discussâo dos resultados. 87
2.3.2.4.- Conclusôes. 88

2.3.3.- Avaliaçâo das características de partilha. 89
2.3.3.1.- Material e métodos. 90
2.3.3.2.- Resultados. 92
2.3.3.3.- Discussâo dos resultados. 106
2.3.3.4.- Conclusôes. 109

CAPITULO III

SOLUÇÕES INJECTAVEIS

3.1.- INTRODUÇAO 111
3.1.1.- Estudo de formulaçâo. 112
3.1.1.1.- Formulaçâo da soluçâo injectável. 112
3.1.1.2.- Estabilizaçâo da soluçâo de dipirona. 114
3.1.1.3.- Preparaçâo e acondicionamento. 118
3.1.2.- Incompatibilidades. Acçâo terapêutica. 119
3.1.3.- A coloraçâo da soluçâo injectável. 120

3.2.- PARTE EXPERIMENTAL 122
3.2.1.- Análise cromatográfica. 122
3.2.1.1.- Material e métodos. 125
3.2.1.2.- Selecçâo das condiçôes cromatográficas. 126
3.2.1.3.- Técnica analítica. 146
3.2.2.- Avaliaçâo da estabilidade da soluçâo injectável. 149
3.2.2.1.- Material e métodos. 150
3.2.2.2.- Resultados. 151
3.2.2.3.- Discussâo dos resultados. 153
3.2.2.4.- Conclusôes. 159
3.2.3.- Estudo da variaçâo de cor da soluçâo injectável. 160
3.2.3.1.- Material e métodos. 161
3.2.3.2.- Resultados. 161
3.2.3.3.- Discussâo dos resultados. 164
3.2.3.4.- Conclusôes. 169

CAPITULO IV

COMPRIMIDOS

4.1.- INTRODUÇAO 171
4.1.1.- Estudo de formulaçâo 172
4.1.1.1.- Estabilizaçâo da dipirona 172
4.1.1.2.- Formulaçâo dos comprimidos 173
4.1.1.3.- Modo de preparaçâo 180
4.1.2.- Características físicas 181
4.1.2.1.- Força de compressâo 182
4.1.2.2.- Deslocaçâo do punçâo superior 187
4.1.2.3.- Porosidade 191
4.1.3.- Características biofarmacêuticas 196
4.1.3.1.- Ensaios "in vitro" 197
4.1.3.2.- Ensaios "in vivo" 199

4.2.- OBJECTIVOS 201

4.3.- PARTE EXPERIMENTAL 203
4.3.1.- Características físicas 203
4.3.1.1.- Material e métodos 203
4.3.1.2.- Resultados 205
4.3.1.3.- Discussâo dos resultados 222
4.3.1.4.- Conclusôes 228
4.3.2.- Características biofarmacêuticas 229
4.3.2.1.- Material e métodos 229
4.3.2.2.- Resultados 232
4.3.2.3.- Discussâo dos resultados 246
4.3.2.4.- Conclusôes 251
4.3.3.- Controlo durante a produçâo 252

CAPITULO V

CONSIDERAÇÕES FINAIS

5.1.- ENSIAIOS COM DIPIRONA 257

5.2.- AVALIAÇÃO DAS CARACTERíSTICAS DE COMPRESSÃO 259

BIBLIOGRAFIA 262

ANEXO I 281

INDICE 286