

MARCELO DE MACEDO

**AVALIAÇÃO FARMACOCINÉTICA DO COMPLEXO DE INCLUSÃO
SUFENTANIL-2-HIDROXIPROPIL- β CICLODEXTRINA**

BRAGANÇA PAULISTA

2012

MARCELO DE MACEDO

**AVALIAÇÃO FARMACOCINÉTICA DO COMPLEXO
DE INCLUSÃO SUFENTANIL-2-HIDROXIPROPIL- β
CICLODEXTRINA**

Orientadora:

Profa. Dra. GIOVANA TOFOLI

Dissertação apresentada ao
Curso de Pós-Graduação Stricto
Sensu em Ciências da Saúde da
Universidade São Francisco para
obtenção do título de Mestre em
Ciências da Saúde.

BRAGANÇA PAULISTA

2012

QV 40
M122a

Macedo, Marcelo de.

Avaliação farmacocinética do complexo de inclusão sufentanil-2-hidroxiopropil- β ciclodextrina / Marcelo de Macedo. -- Bragança Paulista, 2012.

89 p.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco.

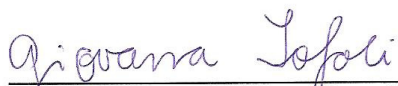
Orientação de: Giovana Tofoli.

1. Sufentanil. 2. Ciclodextrina. 3. Opióides.
4. Complexos de inclusão. 5. Farmacocinética.
6. Fármacos de liberação controlada. I. Tofoli, Giovana.
II. Título.

Ficha catalográfica elaborada pelas bibliotecárias do Setor de
Processamento Técnico da Universidade São Francisco.



MACEDO, Marcelo de. “Avaliação Farmacocinética do complexo de inclusão Sufentanil-2-Hidroxiopropil- β Ciclodextrina” Dissertação defendida e aprovada no programa de Pós Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco em vinte e oito de Fevereiro de 2012 pela Banca examinadora constituída pelos professores:



Prof. Dra. Giovana Tofoli- Orientadora e Presidente
Universidade São Francisco - USF



Prof. Dr. Mario Angelo Claudino - Examinador
Universidade São Francisco - USF



Prof. Dra. Cintia Maria Saia Cereda - Examinadora
Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

CÂMPUS DE BRAGANÇA PAULISTA Av. São Francisco de Assis, 218 - CEP 12916-900 Fone (11) 4034-8000 - FAX (11) 4034-1825
CÂMPUS DE CAMPINAS Rod. Gen. Milton Tavares de Lima, 1572 - CEP 13083-680 - Distrito de Barão Geraldo - Fone: (19)3754-3300
CÂMPUS DE ITATIBA Rua Alexandre Rodrigues Barbosa, 45 - CEP 13251-900 Fone (11) 4534-8000 - FAX (11) 4524-1933
CÂMPUS DO PARI - SÃO PAULO Rua Hannemann, 352 - Pari - CEP 03031-040 Fone (11) 3315-2000 - FAX (11) 3315-2036

AGRADECIMENTOS:

Há tantos a agradecer, por tanto se dedicarem a mim, não somente por terem ensinado, mas também por terem me feito aprender! A palavra *Mestre*, nunca fará justiça a todos os quais devo meu eterno respeito, admiração e orgulho.

A esta Universidade e seus professores, que oportunizaram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior, eivado pela mais acendrada confiança no mérito e ética aqui presentes. O *Muito Obrigado*, é mísero, por tamanha competência.

Aos professores da pós-graduação desta escola, sobretudo à professora que me orienta neste trabalho, nos quais me espelho em respeito, profissionalismo e competência.

A meus pais, que durante todos os meus anos acadêmicos, sempre me fizeram entender, através de seus honrosos exemplos de vida, que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente, no esforço e no sacrifício.

A minha esposa que, ao meu lado, nos momentos de alegria e dificuldades, sempre me estimulou, lembrando-me a virtude da humildade.

A FAPESP, que disponibilizou suporte financeiro para este trabalho (Proc.2009/17715-7).

Aos diversos funcionários da instituição que, de forma discreta, porém atenciosa, participaram da elaboração de diversas etapas deste estudo.

Por final, a Aquele que me permitiu tudo isso, ao longo de toda a minha vida e não somente nestes anos como acadêmico, a meu DEUS, obrigado, reconheço cada vez mais em todos os meus momentos, que és o maior mestre que uma pessoa pode conhecer e reconhecer!

“Eu te invoquei, ó Deus, pois me queres ouvir; inclina para mim os teus ouvidos, e escuta as minhas palavras.

Faze maravilhosas as tuas beneficências, ó tu que livras aqueles que em ti confiam dos que se levantam contra a tua destra.”

Salmos 17:6-7

RESUMO:

O desenvolvimento de formulações de longa duração com ciclodextrinas (CDs) tem sido investigado em todo o mundo há décadas. O uso das CDs permite modular a solubilidade, a estabilidade e a eficiência de incorporação de um fármaco, contribuindo para melhorar a biodisponibilidade e alterar a farmacocinética de substâncias ativas. Assim, o objetivo deste estudo, cego e randomizado, foi avaliar a farmacocinética em coelhos e em suínos do complexo de inclusão sufentanil-hidroxiopropil- β -ciclodextrina (SUF_{HP- β -CD}) comparada com o sufentanil livre (SUF). Doze coelhos (2500-3000g) albinos, da raça Nova Zelândia, foram divididos em dois grupos (n=6) que receberam por via intramuscular 10 μ g/Kg de SUF ou SUF_{HP- β -CD}. Amostras de sangue (3 mL) foram coletadas com um cateter heparinizado da veia marginal da orelha nos seguintes tempos pré-dose 0 min, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420 e 480 após a injeção das formulações. Vinte porcos (25-30 Kg), da raça Landrace, foram divididos em quatro grupos (n=5) que receberam por via intramuscular ou intravenosa 5 μ g/Kg de SUF ou SUF_{HP- β -CD}. Amostras de sangue (5 mL) foram coletadas com um cateter heparinizado da veia mamária nos mesmos tempos descritos anteriormente. Logo após a coleta das mostras dos animais o plasma foi separado e armazenado a -70°C. O equipamento utilizado para a dosagem do SUF foi um espectrômetro de massas triplo-quadrupolar em sequência com fonte de ionização por eletrospray (Micromass Quattro LC®) com um cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu LC 20 AD acoplado. Os dados obtidos foram submetidos análise estatística com teste t bicaudal não pareado ($p < 0,05$). A concentração plasmática de SUF após a injeção das formulações em coelhos e porcos foi maior que a obtida com a formulação de SUF_{HP- β -CD} em praticamente todos os períodos analisados ($p < 0,05$). C_{max}, ASC₀₋₄₈₀ e ASC_{0- ∞} obtidos após a injeção de SUF em coelhos foram maiores do que os valores obtidos com SUF_{HP- β -CD} ($p < 0,05$). O tratamento por via intravenosa em porcos induziu maiores valores de C_{max} e ASC₀₋₄₈₀ após a injeção com SUF ($p < 0,05$). Após a injeção intramuscular em porcos não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros farmacocinéticos obtidos com as duas formulações ($p > 0,05$). As formulações com CDs apresentam concentrações plasmáticas menores e mais constantes quando comparadas com formulações livres, sugerindo que essa complexação promove atraso da transferência do local de aplicação para a circulação sanguínea, o que demonstra a ocorrência de liberação sustentada/prolongada do fármaco das CDs.

PALAVRAS CHAVE: sufentanil; ciclodextrina; complexos de inclusão; opióides; farmacocinética; fármacos de liberação controlada.

ABSTRACT:

The development of long duration Cyclodextrin (CD) formulation has been investigated around the world for decades. The use of CDs allows modulate the solubility, stability and drug incorporation efficacy, providing better bioavailability and modify pharmacokinetics of drugs. Thus, the purpose of this study was to evaluate the pharmacokinetics induced by SUF:HP- β -CD in comparison with its aqueous formulation (SUF) in rabbits and pigs. Twelve New Zealand White rabbits (2500-3000g) were divided in two groups (n=6) and treated by intramuscular route with SUF or SUF_{HP- β -CD} complex (10 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). Blood samples (2 mL) from an ear vein were collected via a heparinised cannula pre dose (0 min) and at 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420 and 480 minutes after the injection of formulations. Twenty Landrace pigs (25-30 kg) were divided in four groups (n=5) and treated by intramuscular or intravenous route with SUF or SUF_{HP- β -CD} complex (5 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). Blood samples (5 mL) from a mammary vein were collected via a heparinised cannula in the same periods. Immediately after each blood collection, plasma was separated and stored at -70°C until analysis. Sufentanil plasma levels were determined using a Waters® HPLC system (2795) coupled to a Micromass Quattro Premier XE triple stage quadrupole mass spectrometer (CLAE-EM/EM), equipped with an API electrospray source. Data were submitted to statistical analysis two-tailed unpaired t-test ($p < 0,05$). Sufentanil induced higher plasma concentrations than SUF_{HP- β -CD} at almost periods of time after the administration in rabbits and pigs ($p < 0,05$). Pharmacokinetic analysis showed that the maximum plasma concentration (C_{max}) and the areas under the curves (AUC_{0-480} and $\text{AUC}_{0-\infty}$) after SUF:HP- β -CD injections were smaller ($p < 0,05$) when compared to SUF in rabbits. C_{max} and AUC_{0-480} were bigger after the intravenous injection in pigs when compared to SUF_{HP- β -CD} ($p < 0,05$). The pharmacokinetics after both intramuscular treatments in pigs presented no statistically significant differences ($p > 0,05$). The cyclodextrin formulations showed smaller and constant plasma concentrations compared to SUF. Suggesting that the cyclodextrin -based drug-delivery system of sufentanil was effective to reduce the absorption of the drug, due to the sustained release of sufentanil from cyclodextrins.

KEY-WORDS: sufentanil, cyclodextrin, inclusion complexes, opioids, pharmacokinetics, controlled-release drugs.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS:

2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina	HP- β -CD
Área sob a curva	ASC
Ciclodextrina	CD
Ciclodextrina- α -glicosiltransferase	CGTase
Clearence ou depuração	CL
Colégio Brasileiro de Experimentação Animal	COBEA
Concentração máxima	Cmax
Food and Drug Administration	FDA
Índice terapêutico	IT
Limite de quantificação	LQ
Meia vida de distribuição	$t_{1/2 \alpha}$
Meia vida de eliminação	$t_{1/2 \beta}$
Monitoramento de Reações Múltiplas	MRM
Padrão interno	PI
Receptor delta	δ
Receptor Epsilon	E
Receptor kapa	κ
Receptor mu	μ
Receptor sigma	Σ
Tempo médio de permanência no plasma (Mean Residence time)	MRT
Tempo para atingir a Cmax	Tmax
Volume de distribuição	Vd

LISTA DE TABELAS E FIGURAS:

	página
Tabela 1. Classificação dos receptores opióides associado ao Mecanismo de analgesia	20
Tabela 2. Índice Terapêutico – IT	23
Tabela 3. Perfil Físico-Químico dos Opióides	25
Tabela 4. Farmacocinética Comparativa	26
Figura 1. Efeitos Farmacológicos dos Opióides	28
Figura 2. Início do artigo de Villier em Comptes Rendus da Academia de Ciências de 1891	34
Figura 3. A capa do livro de Friedrich Cramer “ <i>Einschlussverbindungen</i> ” (compostos de inclusão), publicado em Berlim em 1954	35
Figura 4. A primeira página das duas primeiras patentes de ciclodextrinas intitulada “Métodos para a preparação de compostos de inclusão de compostos orgânicos fisiologicamente ativos”	36
Figura 5. Estrutura das Moléculas de α , β , δ Ciclodextrinas	38
Figura 6. Representação esquemática da estrutura funcional das Ciclodextrinas	38
Tabela 5. Propriedades físico-químicas de ciclodextrinas naturais	41
Tabela 6. Propriedades físico-químicas de derivados da β -ciclodextrina	43
Tabela 7. Dados sobre metabolismo e toxicidade de ciclodextrinas	44
Figura 7. Formação de complexos de inclusão entre fármacos e ciclodextrina, nas proporções de 1:1 e 1:2 e representação da complexação 1:2.	47
Figura 8. Representação esquemática da formação do complexo de inclusão.	49
Figura 9. Complexo de inclusão fármaco- α -ciclodextrina.	50
Figura 10. (A) Espectro de massas na função EM e (B) Espectro de EM/EM para SUF	59

Figura 11. (A) Espectro de massas na função EM e (B) Espectro de EM/EM para lamivudina PI	60
Figura 12. (A), (C), (E) Cromatograma referente ao branco do analito (plasma normal). (B), (D), (F) Branco do padrão interno (plasma normal); (G) branco do analito (plasma lipêmico); (H) branco do padrão interno (plasma lipêmico); (I) Branco do analito (plasma hemolisado); (J) branco do padrão interno (plasma lipêmico)	63
Tabela 8. Curva de Calibração (Linearidade) - FASE I	64
Tabela 9. Curva de Calibração (Linearidade)- FASE II	65
Tabela 10: Resultados das análises intra-lote do controle de qualidade LQ – FASE I	66
Tabela 11. Resultados inter-lotes do controle de qualidade LQ – FASE I	66
Tabela 12. Resultados das análises intra-lote do controle de qualidade LQ – FASE II	67
Tabela 13. Resultados inter-lotes do controle de qualidade LQ – FASE II	67
Quadro 1: Concentração (média \pm desvio padrão) de sufentanil (ng/mL) medida no plasma de coelhos após a injeção intramuscular das diferentes formulações (SUF e SUF _{HP-β-CD})	68
Figura 13: Concentração plasmática média (\pm erro padrão) <i>versus</i> tempo após a injeção das duas formulações de sufentanil	69
Tabela 14. Parâmetros farmacocinéticos [média \pm desvio padrão] após a injeção intramuscular das diferentes formulações (SUF, SUF _{HP-β-CD}) em coelhos	70
Quadro 2. Concentração (média \pm desvio padrão) de sufentanil (ng/mL) medida no plasma de porcos após a injeção intramuscular das diferentes formulações (SUF e SUF _{HP-β-CD})	72
Figura 14: Concentração plasmática média (\pm erro padrão) <i>versus</i> tempo após a injeção intramuscular das duas	

formulações de sufentanil em suínos	72
Quadro 3: Concentração (média \pm desvio padrão) de sufentanil (ng/mL) medida no plasma de porcos após a injeção endovenosa das diferentes formulações (SUF e SUF _{HP-β-CD})	73
Figura 15: Concentração plasmática média (\pm erro padrão) <i>versus</i> tempo após a injeção intravenosa das duas formulações de sufentanil em suínos	74
Tabela 15. Parâmetros farmacocinéticos [média \pm desvio padrão] após a injeção intramuscular das diferentes formulações (SUF, SUF _{HP-β-CD}) em porcos	75
Tabela 16. Parâmetros farmacocinéticos [média \pm desvio padrão] após a injeção endovenosa das diferentes formulações (SUF, SUF _{HP-β-CD}) em porcos	75

SUMÁRIO:

	página
1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVOS	51
3. MATERIAL E MÉTODOS	52
4. RESULTADOS	59
5. DISCUSSÃO	76
6. CONCLUSÕES	83
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
8. ANEXO 1	94

1. INTRODUÇÃO

1.1 HISTÓRIA DA DOR:

Nos últimos dez anos foram publicados mais de 110.000 artigos sobre dor, o que representa mais de 40 novos artigos por cada dia (Singh et al., 2011). É inegável que o progresso das modernas técnicas de neurofisiologia, biologia molecular e imaginologia, possibilitaram numerosos e fundamentais avanços do conhecimento em neurociências, na medicina e, sobretudo, no estudo da dor.

A compreensão do fenômeno doloroso sempre preocupou a humanidade. Conhecer a trajetória histórica das inúmeras tentativas para compor as peças deste complicado quebra-cabeças permite refletir sobre as bases do conhecimento que culminaram nas teorias e conceitos modernos (Merskey, 1995).

Para os homens primitivos as doenças dolorosas ou causadas por objetos estranhos eram atribuídas a fluídos mágicos, demônios e espíritos (Jessell et al., 1991), e seu tratamento resumia-se na retirada de possíveis objetos estranhos e uso de amuletos, conjurações e feitiçarias para apaziguar ou afugentar os demônios que causavam a dor (Gatchel e Turk, 1999).

A idéia de que o coração era o centro das sensações originou-se no antigo Egito, onde se acreditava que a dor era causada por influência dos deuses e dos espíritos dos mortos e onde uma rede de vasos chamada “metu” levava o sopro da vida e as sensações ao coração (Dubner et al., 1999).

Na Grécia antiga, Hipócrates postulou a existência de quatro humores: sangue, flegma, bile amarela e bile negra que, quando desequilibrados, resultavam em dor (Jessell et al., 1991). Para Platão e Aristóteles, dor e prazer eram sensações opostas, residiam no coração e eram paixões da alma (Dubner et al., 1999).

As idéias de Hipócrates foram disseminadas por todo o mundo então conhecido, especialmente em Alexandria, no Egito, quando a permissão da prática da dissecação permitiu a Herófilo e Erasistrato encontrarem evidências

anatômicas de que o cérebro era parte do sistema nervoso e que possuía dois tipos de nervos: motores e sensitivos (Gatchel et al., 1999).

Quatro séculos mais tarde, na Roma antiga, estes conhecimentos abriram caminho para o trabalho de Galeno (século II), que estudou a fisiologia sensorial e reafirmou a importância do sistema nervoso central e periférico (Jessell et al.,1991). Para Galeno, a dor era um sinalizador da existência de alterações nos órgãos internos ou no ambiente externo e possuía, portanto, a função de alertar e proteger os seres vivos (Gatchel et al., 1999).

A Idade Média foi dominada em parte pela filosofia aristotélica, porém, principalmente, pelos ensinamentos de Galeno (Jessell et al.,1991). A partir do século XII, o Cristianismo passou a influenciar de maneira ambígua a preocupação com relação à dor: por um lado era vista como uma forma de provação divina que deveria ser estoicamente tolerada; por outro a encarnação de Cristo e seus tormentos na cruz faziam com que as preocupações se voltassem para o sofrimento físico, tão bem registrado através dos trabalhos artísticos da época (Gatchel et al., 1999).

Na Renascença, século XVI, o pensamento científico seguiu os conceitos de Leonardo da Vinci sobre a anatomia e fisiologia das sensações: o centro da dor localizava-se no terceiro ventrículo do cérebro, os nervos eram considerados estruturas tubulares, a coluna espinhal um condutor que transmitia as sensações ao cérebro e a sensibilidade à dor era estritamente relacionada ao tato (Dubner et al, 1999).

Na Idade Clássica (século XVII) a medicina aderiu ao mecanicismo e passou a ver o corpo humano como uma máquina complexa. Descartes (1596-1650) seguiu a filosofia Galênica e considerou os nervos como tubos contendo um grande número de finos filamentos que formavam sua medula e conectavam a substância própria do cérebro com as terminações nervosas na pele e em outros tecidos. Os estímulos sensoriais eram transmitidos ao cérebro através desses filamentos (Jessell et al.,1991; Dubner et al, 1999).

Durante o Iluminismo, na metade final do século XVIII, os principais manuais de medicina continham os trabalhos de Hipócrates e Aristóteles, portanto,

a idéia de que o coração era o centro das sensações continuou paralela à teoria de que o cérebro era o centro da percepção sensorial (Kenshalo e Willis, 1991). A medicina, porém, começou a se basear na observação, o que permitiu a compreensão de como as sensações eram produzidas e transmitidas. As tentativas de definição e mensuração da sensibilidade fizeram com que a dor passasse a ser vista como sinal de alarme e o interesse voltou-se para os tipos de dor, sua localização, avaliação, mecanismos e também para os relatos dos doentes (Jessell et al.,1991).

No início do século XIX, os textos médicos davam grande atenção à relação entre “dor física” e “dor mental” (Dubner et al, 1999), entretanto os avanços na neuropatologia e medicina experimental geraram grande quantidade de fatos sobre as características da sensibilidade à dor. O interesse pelos aspectos concretos da dor e o seu valor semiológico foi consequência do desenvolvimento clínico, que precedeu o importante período de medicina experimental (Jessell et al.,1991). O pensamento dominante, ao longo de todo o século, permaneceu o da estrutura geral da “Teoria da Especificidade”, que postulava que um sistema especializado de transmissão levaria mensagens dos receptores dolorosos periféricos até o centro da dor no cérebro. (Merskey, 1991).

1.2 CONCEITOS DE DOR

1.2.1 DEFINIÇÃO:

Vários autores tentam conceituar a dor. Para Engel (1975) a dor é como uma sensação basicamente transmitida ao corpo, que representa o sofrimento induzido pela percepção psíquica de uma agressão real, eminente ou fantasiada. Gyton (1981) determina o objetivo da dor como um mecanismo protetor para o organismo, ela ocorre sempre que qualquer tecido está sendo lesado e faz com que o indivíduo reaja para retirar o estímulo doloroso. Segundo Bonica Knoplich (1983), “*a dor é um dos fenômenos mais dramáticos, complexos e universalmente difundidos*”. Kandel et al (1991), fazem uma distinção entre nocicepção e dor. A

nocicepção refere-se à recepção de sinais do SNC evocados pela ativação de receptores sensoriais especializados, que fornecem informação sobre o tecido lesado, no entanto nem todos os estímulos que ativam nociceptores são necessariamente vivenciados como dor. É a percepção de uma sensação aversiva ou desagradável que se origina em uma região específica do corpo. Portanto a dor é mais que uma manifestação da experiência sensorial que alerta sobre o perigo. Kitchen e Bazin (1998) afirmam que a dor é uma sensação necessária para o funcionamento normal do organismo. Ela combina sensações subjetivas que acompanham a ativação de nociceptores, proporcionando informações quanto à localização e intensidade dos estímulos nocivos e potencialmente lesivos aos tecidos. Estas sensações variam em termos de qualidade, e podem ter efeitos sérios no bem estar físico e emocional do indivíduo. Para Delgado et al (1998), *“a dor se diferencia dos outros tipos de sensações por ultrapassar o próprio conceito de sensação. É uma experiência que inclui um estado que não é uniforme, nem desencadeia atitudes uniformes, ainda que se tenha uma dimensão específica e diferenciada do resto das sensações”*.

Para a “International Association for the Study of Pain” (IASP), a dor foi conceituada, em 1994, como:

“... uma experiência sensorial e emocional desagradável, associada a lesões reais ou potenciais, ou descrita em termos de tais lesões. (...) A dor é sempre subjetiva. Cada indivíduo aprende a utilizar este termo através de suas experiências prévias, relacionadas a danos”.

Nesta concepção, a dor é considerada um fenômeno multifatorial, cuja sensação e percepção irão variar individualmente, de acordo com a influência de fatores biológicos, psicológicos e sociais. A inclusão desses fatores demonstra a impossibilidade de uma relação direta e proporcional entre dor e lesão tecidual (Peschanski, 1987, Rang et al., 2007).

Devido ao seu caráter essencialmente desagradável, a dor tem a função adaptativa de alarme, que obriga o indivíduo a evitar e a reconhecer objetos e situações que possam causá-la, prevenindo o agravamento ou surgimento de novas lesões (Peschanski, 1987; Rey 1995). Além disso, as dores que são

provenientes de doenças ou de lesões, induzem o indivíduo a diminuir o seu nível de atividade física, evitando um agravamento do mal e permitindo a ação de recursos naturais de cura do organismo (Merskey e Bogduk, 1994; Rang et al., 2007).

1.2.2 DOR AGUDA:

A dor aguda é causada por uma ameaça de lesão tecidual ou pela própria lesão tecidual. O paciente descreve precisamente a localização, o padrão, a qualidade, a frequência e a duração da dor. Tem por função alertar para o dano tecidual e forçar o repouso do tecido em recuperação. E tem como consequências uma ativação autonômica e neuroendócrina excessivas. Se não for adequadamente tratada, pode ser tão lesiva como uma doença e pode evoluir para a dor crônica (Gilmam et al.,1985; Rang et al., 2007).

Costuma ser acompanhada de alterações neurovegetativas e pode ser influenciada por fatores psicológicos, embora estes raramente tenham um papel primário na sua ocorrência (Peschanski, 1987; Rey 1995). Como sua fisiopatologia, diagnóstico e controle são mais bem conhecidos, costuma desaparecer após o tratamento correto do processo patológico (Rey 1995).

1.2.3 DOR CRÔNICA:

Considera-se dor crônica aquela que persiste além do tempo razoável para a cura de uma lesão ou que está associada a processos patológicos crônicos, que causam dor contínua ou recorrente em intervalos de meses ou anos (Gilmam et al.,1985; Rang et al., 2007).

É causada por uma lesão tecidual continuada, por fatores ambientais, sensibilização dos neurônios da via nociceptiva e por disfunção dos sistemas endógenos de controle da dor. O paciente não consegue descrevê-la claramente. Mais que um sintoma, deixa de ter a função biológica de alerta e frequentemente dá origem a alterações fisiológicas (como distúrbios do sono, apetite), emocionais

(depressão, ansiedade), comportamentais, incapacitação física, dependência de terceiros e sociais (conflitos familiares, problemas ocupacionais, econômicos e legais) (Peschanski, 1987; Rang et al., 2007). São frequentes alterações nas atividades físicas, no cotidiano de vida, no sono, na vida sexual, modificações do humor, baixa autoestima, pensamentos negativos, apreciação desesperançada da vida, alterações familiares, de trabalho e do lazer (Teixeira e Pimenta, 1994). A dor prolongada torna-se o foco primário de atenção do doente e atrapalha grande parte das atividades. Representa uma das principais causas de absenteísmo ao trabalho, licenças médicas, aposentadoria por doença, indenizações trabalhistas e baixa produtividade. É um problema de saúde pública, pela prevalência, alto custo e impacto negativo que pode causar na qualidade de vida de pacientes e de suas famílias (Peschanski, 1987; Rang et al., 2007).

Os conhecimentos acumulados através da história, que culminam na criação da Teoria da Comporta da Dor e no esclarecimento dos processos fisiológicos envolvidos na sua transmissão e modulação, permitem que o atual conceito de dor inclua fatores sensoriais, emocionais, cognitivos, comportamentais e sociais (Merskey, 1991). Esses modelos ganharam impulso no final da década de 60 e início da década de 70, amparados pela Teoria da Comporta da Dor, desenvolvida por Melzak e Wall na década de 60 (Teixeira e Pimenta, 1994). A Teoria da Comporta da Dor explicou a integração de estímulos periféricos aos fenômenos corticais e afetivos. O impulso doloroso advindo da periferia projeta-se na medula espinhal e, desta, ascende para estruturas do tronco cerebral, sistema límbico, tálamo e diversas regiões do córtex (frontal, sensitiva, motora, inespecífica) (Merskey, 1991). Dessas múltiplas projeções resultam diversos fenômenos, dos quais interessa destacar a *agregação* do componente emocional desagradável à experiência dolorosa pelas conexões do impulso com o sistema límbico, e a *agregação* de elementos cognitivos como crenças, expectativas e atenção à dor, pelas conexões do impulso com diversas estruturas corticais (Peschanski, 1987; Rang et al., 2007).

1.3 FISILOGIA DA DOR:

1.3.1 TEORIAS EXPLICATIVAS DA DOR:

Os ensinamentos de Aristóteles e Galeno permaneceram ao longo da história. A sede das sensações, porém, passou do coração ao cérebro, e a relação entre dor física e sofrimento psíquico vem sendo estudada ainda hoje (Peschanski, 1987; Rang et al., 2007). A partir do século XIX e ao longo do século XX, uma série de teorias foi postulada, na tentativa de elucidar os mecanismos e integrar as diversas facetas do fenômeno doloroso (Merskey, 1991). Essas teorias são, essencialmente, tentativas de solucionar um problema. O conhecimento adquirido sobre os mecanismos da dor representa um conjunto de informações, cujas interrelações dinâmicas ainda estão por serem estabelecidas integralmente. Ao final do século XIX, duas teorias sobre os mecanismos fisiológicos da dor já tinham sido sugeridas: a Teoria da Especificidade e a Teoria da Intensidade (Rey, 1995; Rang et al., 2007).

A Teoria da Especificidade propunha que um sistema especializado de transmissão carregaria mensagens dos receptores de dor na pele até um centro de dor no cérebro. A dor seria uma sensação específica, com uma aparelhagem sensorial própria e independente dos outros sentidos, o que implicava na existência de uma relação direta e invariável entre o estímulo físico e a sensação percebida pelo indivíduo, portanto, a intensidade da dor seria proporcional à extensão do dano tecidual (Teixeira e Pimenta, 1994; Rang et al., 2007). Apesar dos inúmeros avanços que esta teoria permitiu, a possibilidade de um sistema nervoso funcionando através de vias diretas e fixas sugeria que toda a tarefa de interpretação do estímulo ocorresse inteiramente ao nível do receptor. Esta teoria não previa que as fibras nociceptivas fossem capazes de modular a transmissão dolorosa e negava a influência das variáveis psicológicas na dor (Rey, 1995).

A Teoria da Intensidade sugeria que todo estímulo sensorial seria capaz de produzir dor, uma vez que alcançasse intensidade suficiente (Teixeira e Pimenta, 1994). A informação sensorial periférica seria acumulada no corno dorsal, e a

mensagem dolorosa só seria transmitida para o cérebro se o nível de estimulação excedesse um determinado limiar. Haveria, portanto especialização e não especificidade (Rey, 1995; Teixeira e Pimenta, 1994; Rang et al., 2007).

Uma terceira teoria, não fisiológica, também foi proposta. Segundo a Teoria Afetiva, a dor não possuía apenas uma qualidade sensorial, mas também uma qualidade afetiva, que influenciava todos os eventos sensoriais e conduzia o indivíduo à ação (Peschanski, 1987). O desenvolvimento tecnológico do século XX enfatizou o conceito de dor enquanto sensação, relegando os processos afetivos e motivacionais a um segundo plano. A interação entre estes sistemas, entretanto, é evidente. No final do século XIX as teorias sobre a natureza da dor representavam conceitos conflitantes, sendo que a oposição entre a Teoria da Especificidade, a mais dominante, e a da Intensidade se estendeu pela primeira metade do século XX, gerando novas teorias (Way et al. 1998; Peschanski, 1987).

Teoria do Padrão foi o nome geral de uma série de teorias cujos conceitos se iniciaram no século XVIII e se consolidaram no século XIX (Rey, 1995), as quais, basicamente, sugeriram que todas as terminações nervosas livres eram semelhantes e não específicas, e consideravam a dor como resultante da excessiva estimulação periférica, o que produziria um padrão temporal e espacial de impulsos nervosos, interpretado no cérebro como dor. Estas teorias ignoravam as evidências sobre o alto grau de especialização das fibras receptoras (Way et al. 1998; Peschanski, 1987).

A Teoria da Interação Sensorial baseava-se na existência de dois sistemas de transmissão da dor: (a) um sistema lento de fibras não mielinizadas e fibras mielinizadas de pequeno calibre, responsável pela condução dos impulsos nervosos de dor, e (b) um sistema rápido de fibras mielinizadas de grande calibre, responsáveis pela inibição da transmissão da dor (Merskey e Bogduk, 1994). Diante de condições patológicas, o sistema lento prevaleceria sobre o rápido, resultando em hiperalgesia.

Cada uma das teorias produzidas até meados do século XX geraram informações essenciais para a elucidação do fenômeno doloroso, entretanto, tal como peças isoladas de um quebra-cabeça, não integravam todos os diversos

aspectos envolvidos. Foi a partir de 1965, com a criação da Teoria da Comporta de controle da dor, proposta por Ronald Melzack, um psicólogo e Patrick Wall, um fisiologista, que estas peças começaram a se encaixar, por que a nova teoria passou a levar em consideração todas as evidências sobre especificidade, padronização e modulação dos impulsos, assim como a influência dos fatores psicológicos (Teixeira e Pimenta, 1994).

A Teoria da Comporta de controle da dor propôs que os mecanismos neuronais no corno dorsal da medula espinhal atuassem como uma comporta, capazes de aumentar ou diminuir o fluxo de impulsos nervosos que vinham das fibras periféricas e se projetavam para o cérebro (Way et al. 1998). Todas as informações somáticas estariam sujeitas à modulação da comporta, antes que pudessem evocar a percepção e resposta à dor (Teixeira e Pimenta, 1994; Rang et al., 2007).

Os componentes da comporta de controle da dor eram as fibras de grande e pequeno calibre, que se projetam na substância gelatinosa, responsáveis pela modulação da transmissão central dos impulsos. Ou seja, as células T, que se encontram na substância gelatinosa e que responderiam pela transmissão de aspectos sensoriais e emocionais da dor, e as estruturas cerebrais, onde o estímulo doloroso seria processado (Peschanski, 1987).

O funcionamento da comporta seria influenciado, entre outros, pelos impulsos transmitidos pelas fibras de grande calibre que, ao se projetarem para a substância gelatinosa, inibiriam a atividade das células T, isto é, elas “*fechariam a comporta*” para a dor (Way et al. 1998). Os impulsos transmitidos pelas fibras de pequeno calibre, mielinizadas e não mielinizadas, inibiriam a modulação e ativariam as células T, “*abrindo a comporta*” e permitindo a transmissão da dor. Os processos do sistema nervoso central também atuariam transmitindo mensagens inibitórias à medula espinhal (Peschanski, 1987).

A falta de argumentos clínicos, anatômicos e fisiológicos que subsidiassem a Teoria da Comporta para o controle da dor, não implicou no comprometimento de seu valor, pelo contrário, a Teoria da Comporta forneceu bases conceituais e eletrofisiológicas que constituíram elementos fundamentais para a construção do

conceito de interação sensorial, segundo o qual, diferentes unidades do sistema nervoso interagem entre si, com a finalidade de integrar informações sensoriais, relacioná-las à experiências prévias e gerar comportamentos adaptados e mais adequados ao relacionamento do organismo com seus ambientes exteriores e interiores (Teixeira e Pimenta, 1994). Esta teoria conflui com o conceito de operação integrada do sistema nervoso como unidade, o que justificaria o fato do medo e a ansiedade evocados pela dor alimentar e manter as anormalidades funcionais que afloram, magnificam ou modificam as várias dimensões das experiências sensoriais (Peschanski, 1987; Rang et al., 2007).

Virtualmente, todas as estruturas cerebrais possuem um papel na dor, mesmo atividades cerebrais aparentemente não relacionadas à dor, tais como visão, audição e pensamento são importantes: tudo contribui para a dor (Teixeira e Pimenta, 1994).

1.3.2 MECANISMOS DA DOR:

A dor geralmente se inicia através de um estímulo potencialmente nocivo nos tecidos. Ao atingir os tecidos, provoca a liberação de substâncias denominadas algogênicas (principalmente acetilcolina, prostaglandinas, histamina, serotonina, bradicinina, leucotrieno, substância P, tromboxano, fator de ativação plaquetário, radicais ácidos e íons potássio) (Rey, 1995). Tais substâncias ativam receptores sensoriais especializados, os nociceptores, que se encontram nas terminações livres das fibras nervosas localizadas nas estruturas superficiais e profundas do organismo (Peschanski, 1987; Rang et al., 2007).

As substâncias algogênicas, ao ativarem os nociceptores, promovem a despolarização das membranas nervosas, desencadeando potenciais de ação e a geração de impulsos elétricos nas fibras nociceptivas. A sensação dolorosa é, portanto, desencadeada quimicamente e transmitida sob a forma de impulsos elétricos, que trafegam ao longo das fibras nervosas até a medula espinhal (Way et al. 1998).

Os impulsos nervosos são transmitidos para a medula espinhal através de três tipos de fibras nervosas: as fibras A-beta, de grande diâmetro e mielinizadas, que conduzem rapidamente o estímulo doloroso; as fibras A-delta, pequenas e mielinizadas, e as fibras C, pequenas e não mielinizadas, que são responsáveis pela condução lenta do estímulo doloroso (Peschanski, 1987; Dickenson e Besson, 1997).

Para descrever de maneira sintética os mecanismos que ocorrem na medula espinhal, é necessária uma breve descrição de sua contribuição anatômica e fisiológica. A medula espinhal constitui-se em uma sucessão de segmentos, cada qual responsável pela recepção de informações sensitivas e pelo controle da atividade motora de setores periféricos específicos (Gilmam, 1985).

Um corte transversal na medula revelará um canal central e duas zonas concêntricas: a substância cinzenta e a substância branca. As células da substância branca dispõem-se como as asas de uma borboleta que, de acordo com a sua orientação, são denominadas de corno dorsal e corno ventral. Ao redor da substância cinzenta, a substância branca consiste de fibras que se agrupam em grandes feixes ascendentes e descendentes, através dos quais mensagens chegam e partem da medula e do cérebro (Peschanski, 1987; Gilmam, 1985; Rang et al., 2007).

As células da medula espinhal encontram-se dispostas em camadas ou lâminas na direção dorso-ventral, e foram numeradas de I a X, sendo que o corno dorsal contém as lâminas de I a VI. As fibras nervosas que conduzem os impulsos nociceptivos penetram na medula espinhal pela raiz posterior do corno e os transmitem para a medula espinhal (Dickenson e Besson, 1997).

Na medula, parte destes impulsos nervosos irá primeiro passar por uma região denominada substância gelatinosa (lâminas II e III), e é na passagem das fibras sensoriais desta região para os neurônios ascendentes da medula espinhal que estes impulsos poderão ser modulados (Gilmam, 1985; Way et al. 1998; Rang et al., 2007).

Uma vez transmitidos para os neurônios da medula espinhal, os impulsos nervosos serão projetados para o cérebro ao longo de fibras nervosas. Algumas

destas fibras continuam para o tálamo, formando o trato espinotalâmico. A maioria, porém, penetra na camada central da parte mais baixa do cérebro, chamada de formação reticular, formando o trato espinoreticular (Way et al. 1998). A formação reticular possui sistemas altamente especializados e dela se originam uma série de diferentes rotas, por onde os impulsos nervosos serão transmitidos para o sistema límbico e para o córtex (Peschanski, 1987).

Até agora, tratou-se da transmissão dos impulsos nervosos evocados pela ativação de receptores sensoriais especializados que fornecem informações sobre dano tecidual. A partir do momento em que estes impulsos chegam ao cérebro é que podem passar a ser classificados como dor, uma vez que nem todos os estímulos nocivos que ativam os nociceptores são experimentados como tal (Gilman, 1985; Way et al. 1998; Rang et al., 2007).

A dor, propriamente dita, é a percepção de uma sensação aversiva, desagradável, proveniente de alguma região do corpo. Esta percepção se dá a partir da abstração e elaboração de informações sensoriais, que envolvem processos subjetivos. A identificação, atribuição de significado e reação à dor, dependem de fatores ambientais, culturais, históricos e individuais (Pimenta e Teixeira, 1997).

Portanto, embora a percepção de dano físico e a sensação de dor estejam relacionadas, o conteúdo proposto pela percepção não é necessariamente idêntico ao proposto em termos de sensação (Peschanski, 1987; Rang et al., 2007).

1.3.3 MODULAÇÃO DA DOR:

As informações codificadas sobre os estímulos nociceptivos são transmitidas desde os tecidos periféricos até as estruturas cerebrais. Entretanto, ao longo do trajeto, seu conteúdo sofre a influência de mecanismos moduladores, capazes de influenciar a qualidade e intensidade da experiência dolorosa. Estes mecanismos constituem o sistema supressor de dor (Dickenson e Besson, 1997).

A cada sinapse das fibras pelas quais transitam, os impulsos nervosos estão sujeitos à modulação. Na medula espinhal, as mensagens transmitidas pelas fibras que convergem para o corno dorsal são “filtradas” pela substância gelatinosa. Na formação reticular, as informações que provêm de diferentes áreas do corpo somam-se e se interagem (Peschanski, 1987).

Nos diversos centros cerebrais (tálamo, sistema límbico, córtex) as informações são processadas e transitam por fibras ascendentes e descendentes, que as modulam continuamente, facilitando o fluxo de algumas e inibindo o de outras (Peschanski, 1987; Dickenson e Besson, 1997).

A presença de receptores de morfina nas estruturas do sistema nervoso central (SNC), por onde as informações nociceptivas transitam, demonstrou a existência do sistema opióide endógeno (Samuelson, 1991) responsável pela produção de substâncias bioquímicas (endorfinas) cuja ação assemelha-se a da morfina (Jessell, 1993). A ativação desse sistema é influenciada por fatores socioculturais, cognitivos e emocionais, que podem atenuar ou ampliar a dor percebida (Samuelson, 1991).

Em síntese, a ocorrência da dor resulta do desequilíbrio entre a quantidade e a qualidade da estimulação nociceptiva e a ativação do sistema supressor (Peschanski, 1987).

Foi apenas a partir da Teoria da Comporta de controle da dor e do esclarecimento sobre seus mecanismos fisiológicos de transmissão e modulação que foi possível produzir um conceito de dor suficientemente abrangente para incluir todos os avanços conquistados (Gilman, 1985; Way et al. 1998; Rang et al., 2007).

1.4 CONTROLE DA DOR:

O controle da dor é essencial para a assistência integral ao paciente, visto que estímulos dolorosos prolongados parecem predispor maior sofrimento, complicações e prejuízo na qualidade de vida (Jessell, 1993). Para o controle da dor é indicada a abordagem multimodal, que inclui as técnicas farmacológicas e

não-farmacológicas. O objetivo é bloquear a geração, transmissão, percepção e apreciação dos estímulos nociceptivos, o que pode ser feito em diferentes níveis do sistema nervoso central e periférico (Rey, 1995).

Para a abordagem farmacológica, dispõe-se de analgésicos de ação periférica e central, e, também, de anestésicos para uso em bloqueios peridurais e periféricos. As prescrições de analgésicos devem ser regulares e em esquema, "se necessário" (Treede e Magerl, 1995). Tal esquema propicia constância do nível plasmático e oferta para episódios de picos de dor (Rey, 1995).

Dentre as principais técnicas não farmacológicas, temos as terapias físicas (aplicação de calor e frio, massagem, estimulação elétrica transcutânea e acupuntura) que, por meio da ativação do sistema sensitivo-discriminativo, estimulam o sistema supressor de dor, e técnicas cognitivo-comportamentais (relaxamento, técnicas de distração, imaginação dirigida, hipnose e biofeedback) que, possivelmente, promovem relaxamento muscular, distração da atenção e sugestão, o que interfere na apreciação do estímulo doloroso (Jessell, 1993).

Os princípios que norteiam o controle da dor aguda são a seleção de drogas e doses adequadas, a escolha da via e sistema de infusão apropriado, a investigação de possíveis efeitos adversos, a educação do doente, o uso de medidas físicas e comportamentais, a avaliação da eficácia analgésica e da incapacidade oriunda da dor (Jessell, 1993). Tais fatores são, também, a chave para a retroalimentação do sistema (Rey, 1995).

Há de se destacar o desenvolvimento de sistemas de liberação e de infusão de fármacos (Löwenstein et al., 1969). O uso de bombas de infusão para a Analgesia Controlada pelo Paciente (ACP) (Shafer et al., 1992) e a analgesia por cateter peridural com opióides, associados ou não às drogas anestésicas, são consideradas técnicas sofisticadas, que envolvem alta tecnologia (Stoltzfus e Durbin, 1997). No entanto, há dúvidas sobre a superioridade desses métodos em relação aos tradicionais (analgesia intravenosa, intramuscular e por via oral), no que se refere ao alívio da dor, à ocorrência de efeitos colaterais, ao número de complicações e ao custo (Stoltzfus e Durbin, 1997; Shafer et al., 1992). Há interesse em se compararem os métodos disponíveis para analgesia,

considerando-se que os dados existentes em literatura não são conclusivos (Shafer et al., 1992).

Apenas por questões didáticas, os agentes mais frequentemente utilizados em sedação e analgesia foram divididos em grupos: barbitúricos (notadamente o tiopental sódico), benzodiazepínicos (incluindo o midazolam, o diazepam e o lorazepam, este não disponível no Brasil para infusão parenteral), derivados fenólicos (propofol), neurolépticos (limitados em sedação exclusivamente ao haloperidol), AINE e os analgésicos opióides (incluindo a morfina e o fentanil e seus derivados) e agentes inalatórios (particularmente o isoflurano) (Society of Critical Care Medicine, 1998).

1.5 ANALGÉSICOS OPIÓIDES:

O extrato de papoula, composto opióide mais antigo utilizado em medicina, foi descrito no século 3 a.C. O ópio, substância original desse grupo farmacológico, é extraído da papoula, nome popular do *Papaver somniferum*, uma das muitas espécies da família das Papaveráceas, que se caracteriza por apresentar folhas solitárias e frutos capsulados (Gozzani, 1994). O *Papaver somniferum* provavelmente evoluiu de uma espécie silvestre nativa da Ásia Menor, ou de uma espécie denominada *Papaver setegirum*, que crescia nas terras em torno do Mediterrâneo (Booth, 1998; Baraka, 2000). Das várias espécies de papoula conhecidas, somente o *Papaver somniferum* e o *Papaver bracteatum* produzem ópio em quantidade significativa. Contudo, esta última é destituída de expressão comercial (Gozzani, 1994).

O processo de obtenção do ópio não sofreu grandes variações no decorrer dos séculos. De um modo geral, a descrição feita por Cohen et al., ainda é obedecida. Em resumo, o processo é iniciado duas semanas após a queda das folhas, quando as cápsulas que contêm as sementes endurecem. Ao anoitecer, a cápsula é escarificada com incisões rasas permitindo fluir o látex. Deixa-se então que ele se adense, graças à evaporação, na própria superfície da cápsula, do que resulta uma goma marrom que é removida, na manhã seguinte, com um

instrumento de ferro com a forma de uma pá de pedreiro pequena. Essa goma é então transformada em pó (Booth, 1998; Baraka, 2000).

O ópio teve grande importância na civilização romana, simbolizando o sono e a morte. Agripina, a última esposa do Imperador Cláudio, adicionou essa droga ao vinho que ofereceu a Britânico, seu enteado, para permitir que Nero, seu próprio filho, herdasse o trono. Plínio, o velho, descreveu a semente da papoula como um hipnótico, e Virgílio, poeta romano, tanto na *Eneida* quanto nas *Geórgicas*, confere ao ópio as mesmas propriedades. Coube a Paracelso, médico suíço que viveu entre 1493 e 1541, portanto no alvorecer da Renascença, o mérito de reintroduzir o uso médico do ópio na Europa Ocidental (Gozzani, 1994; Booth, 1998; Baraka, 2000).

Pode-se dizer que o fato mais importante do início do século XIX foi a descoberta da morfina, obtida por Friedrich Serturmer, um alemão, assistente de farmacêutico, que trabalhou no isolamento de princípios ativos do ópio. Serturmer iniciou os seus trabalhos em 1803 e publicou os primeiros resultados em 1806 no *Journal of Pharmacies*. O próprio Serturmer denominou essa substância de *morphium* em homenagem ao Deus grego do sono e, em 1816, apresentou detalhes da investigação química e farmacológica dessa droga (Booth, 1998; Baraka, 2000).

Sabe-se hoje que um quarto do peso do pó de ópio é constituído por pelo menos 25 alcalóides, que foram classificados em dois grupos distintos, por razões de ordem química e farmacológica. O grupo mais importante é representado pelos derivados do fenantreno, que exercem suas ações, primariamente, sobre o SNC. A morfina, protótipo desse grupo, representa 10% dos alcalóides do ópio. A codeína (metil-morfina) foi isolada por Robiquet, em 1832, e a tebaína (dimetil-morfina) foi isolada por Pelletier e Thibouméry, em 1835. A codeína e a tebaína representam, respectivamente, 0,5% e 0,2% dos alcalóides do ópio (Gozzani, 1994; Booth, 1998; Baraka, 2000).

Semanas antes da primeira demonstração pública de anestesia, conduzida pelo Dr. William Thomas Green Morton no Massachusetts General em Boston em 16 de outubro de 1846, Smilie publicou no Boston Medical and Surgical Journal

suas observações sobre as propriedades analgésicas de uma solução de ópio aquecida, que agia por via inalatória (Flacke, 1985).

A guerra civil americana criou uma grande oportunidade para o emprego maciço tanto do ópio por via oral quanto da morfina por via subcutânea nos soldados feridos em combate e, como consequência, houve registro de diversos casos de dependência física, gerando um problema social para os Estados Unidos. Os soldados britânicos que lutaram na guerra da Criméia também utilizaram morfina injetável para ajudá-los a suportar as terríveis condições dos campos de batalha. O mesmo sucedeu com os soldados prussianos na guerra de 1870 entre a França e a Alemanha (Smith e Meek, 2011).

Todavia, os conceitos de tolerância, dependência psíquica e física, bem como os de vício, somente no século XX passaram a ser amplamente discutidos. Em tese foram aceitas as seguintes definições (Basile, 1991): *tolerância* é um estado de responsividade diminuído ao efeito de uma droga, tornando-se necessário o emprego de doses crescentes para a manutenção do mesmo efeito (Basile, 1991). *Dependência psíquica* é o estado no qual uma droga promove uma satisfação capaz de propiciar o uso periódico ou continuado dessa droga, em busca da mesma sensação de prazer (Basile, 1991). É um estado de adaptação, que se manifesta pelo aparecimento de transtornos físicos, qualificados como “*síndrome de abstinência*” quando se interrompe o uso da droga (Basile, 1991). O *vício* foi definido por um Comitê da Organização Mundial de Saúde como “um estado de intoxicação periódico ou crônico, prejudicial ao indivíduo e à sociedade, produzido pelo uso repetido de uma droga”. Tem como características: necessidade absoluta de continuar a utilizar a droga (*compulsão*) e de obtê-la por qualquer meio e, ainda, tolerância, dependência psíquica e, às vezes, dependência física (Basile, 1991). Esse Comitê não configura a obrigatoriedade do último atributo, enquanto o Comitê de Adição a Drogas do Ministério da Saúde do Reino Unido enfatiza a presença obrigatória da dependência física, com o aparecimento da síndrome de abstinência, quando da supressão da droga (Basile, 1991).

A nomenclatura dos componentes deste grupo de fármacos tem se alterado no decorrer dos anos. Inicialmente, foram designados como narcóticos. Este termo, porém, incluía não só as substâncias derivadas da morfina, mas também outras que produziam sonolência. Passou-se então a designar os derivados naturais de opiáceos e os derivados sintéticos de opióides. Entretanto a tendência atual é designar todo o grupo, de forma genérica, como agentes opióides. A racionalização no uso de opióides derivou do conhecimento dos receptores, e, portanto, esclarecimento de seu principal mecanismo de ação (Gozzani, 1994; Smith e Meek, 2011).

Em 1939 surgiu a meperidina, o primeiro opióide inteiramente sintético, iniciando a série de derivados da fenilpiperidina (Murphree, 1969). Vários outros representantes dessa série foram sintetizados. Em 1956 foi lançada a dextromoramida, e em 1957 a fenoperidina, analgésicos potentes que estimularam as investigações de Janssen e col. sobre novos derivados da fenilpiperidina. O fentanil, primeiro desses novos opióides, tornou-se disponível a partir de 1960. Entre 1974 e 1976, foram desenvolvidos os seguintes análogos do fentanil: carfentanil (1974), sufentanil (1974), lofentanil (1975), alfentanil (1976) (Janssen, 1982; Smith e Meek, 2011).

Todos esses novos derivados da fenilpiperidina são agonistas de receptores μ e destinados, preferentemente, à prática anestesiológica e à analgesia e sedação de pacientes internados em UTI. Todos os efeitos dos opióides, inclusive os adversos, são consequentes a complexas interações entre essas drogas e receptores específicos, identificados ao longo do sistema ascendente de transmissão da dor e do sistema descendente inibitório (Janssen, 1982).

A identificação de receptores opióides na década de 70 foi também acompanhada da identificação de substâncias endógenas que se ligavam a eles. Estas substâncias são peptídeos, divididos em três famílias, cada uma delas originada de um gene distinto. Estes genes orientam o código de síntese de uma grande proteína precursora a partir da qual os vários peptídeos ativos são separados. Uma destas proteínas precursoras é a pro-opiomelanocortina que dá

origem ao hormônio melanocítico estimulante, ACTH e β -endorfina. O segundo grupo de peptídeos opióides deriva do precursor pro-encefalina, que dá origem a metionina encefalina (metencefalina) e à leucina encefalina (leu-encefalina). O terceiro precursor é a pro-dinorfina que origina as dinorfinas (com cadeias de aminoácidos de diferentes comprimentos) (Eguchi, 2004).

Os ligantes endógenos dos receptores opióides não são só diferentes em suas origens genéticas, mas aparecem em células e áreas diversas do sistema nervoso central. A β -endorfina está presente na hipófise anterior, lobo intermediário, em núcleos do hipotálamo basal e medial e células do núcleo do trato solitário (centro simpático primário para os arcos reflexos dos baro e quimiorreceptores). As encefalinas são encontradas no sistema nervoso central e na periferia, como medula adrenal, no trato gastrointestinal (especialmente no plexo mioentérico), medula espinhal (lâminas I e II de Rexed), diversas regiões supraespinhais do sistema nervoso central, em particular corpos celulares do globo pálido, núcleos supra-ópticos e paraventriculares do hipotálamo, amígdala e neocórtex. Por sua ampla distribuição supõe-se um grande número de funções para as encefalinas, mas suas projeções estão ainda incompletamente mapeadas (Jaffe e Marin, 1985). As dinorfinas foram identificadas no intestino, hipotálamo, hipófise posterior, tronco encefálico e medula espinhal. Antes que estes agonistas endógenos fossem completamente identificados, sugeriu-se a existência de diferentes classes de receptores. Muitos receptores foram propostos. Entretanto, a maioria dos autores da área trabalha com 3 bem estabelecidos: μ dividido em 2 subclasses μ_1 e μ_2 , δ e κ ; os receptores epsilon e sigma não parecem ter papel relevante no mecanismo de analgesia. As ligações com o receptor μ são feitas pela β -endorfina, metencefalina e dinorfina A1-13; o receptor δ liga-se com β -endorfina, leuencefalina e dinorfina A1-8; o receptor kappa é o alvo principal de ligação das dinorfinas (Jaffe e Marin, 1985).

Tabela 1. Classificação dos receptores opióides associado ao mecanismo de analgesia

Receptor	Efeito	Agonista	Antagonista
μ (mu)	analgesia supra- espinhal depressão ventilatória euforia dependência miose	β endorfina dinorfina A1-13	Naloxona
δ (delta)	modulação m analgesia depressão ventilatória	leu-encefalina β endorfina dinorfina A 1-8	Naloxona
κ (kapa)	analgesia espinhal depressão ventilatória sedação Miose	Dinorfina morfina nalbufina	Naloxona

(Adaptado de Simon et al., 1991).

Os receptores μ estão amplamente distribuídos em todo o encéfalo, e sua função relaciona-se com a integração motora-sensorial e percepção dolorosa. Os receptores δ são mais limitados em sua distribuição e encontram-se nas áreas relacionadas à olfação, neocórtex, caudado-putamen, núcleo acumbens e amígdala. Parecem ter papel na integração motora, olfação e função cognitiva (Jaffe e Marin, 1985).

Os receptores κ são observados nos núcleo caudado-putamen, acumbens, amígdala, hipotálamo, neurohipófise, eminência média e núcleo do trato solitário.

Suas prováveis funções relacionam-se com balanço hídrico, ingesta alimentar, percepção dolorosa e atividade neuroendócrina (Gilman et al., 1985).

1.5.1 MECANISMO DE AÇÃO DOS OPIÓIDES:

Os opióides ligam-se aos receptores, tanto no sistema nervoso central como em outros tecidos. Somente a forma levo-rotatória possui atividade agonista. A existência da forma ionizada é necessária para a interação com o ligante aniônico do receptor. A ligação de um opióide endógeno ou exógeno com o receptor promove a inibição do segundo mensageiro, altera o transporte do cálcio na membrana celular e atua pré sinapticamente impedindo a liberação de neurotransmissor (Eguchi, 2004).

A analgesia dos opióides é mediada por uma interação complexa entre os receptores μ , delta e kappa. Em relação à ação supra-espinhal os receptores μ parecem ter a influência mais importante, enquanto que os receptores δ e κ estão envolvidos com a analgesia espinhal. Através do uso de antagonistas seletivos de μ_1 (naloxonazina e naloxozona) foi possível concluir que os receptores μ_1 estão relacionados com a analgesia supra-espinhal; pelos estudos realizados os receptores μ_2 não parecem ter grande importância na ação analgésica. A analgesia medular envolve outros receptores. Neste local os ligantes delta específicos são cerca de cinco vezes mais potentes que a morfina (Leon-Casasola et al., 2008).

Os receptores opióides, pertencem à família dos receptores acoplados à proteína G, inibem a adenilato ciclase, reduzindo assim o conteúdo intracelular de cAMP. Todos os receptores opióides estão ligados através das proteínas G à inibição da adenilato ciclase. Além disso, facilitam a abertura dos canais de K^+ (causando hiperpolarização) e inibem a abertura dos canais de Ca^{2+} (inibindo a ação de transmissores).

Todos os tipos de receptores exercem esse efeito, além de exercerem efeitos sobre os canais iônicos através de um acoplamento direto da proteína G ao canal. Através desse mecanismo, os opióides promovem a abertura dos canais de

potássio e inibem a abertura dos canais de cálcio regulados pela voltagem (Smith e Meek, 2011).

Esses efeitos sobre a membrana reduzem tanto a excitabilidade neuronal (visto que o aumento da condutância ao potássio provoca hiperpolarização da membrana) quanto à liberação de transmissores (devido à inibição da entrada de cálcio). Por isso, o efeito global ao nível cerebral é inibitório (Smith e Meek, 2011).

1.5.2 CLASSIFICAÇÃO DOS OPIÓIDES:

A capacidade que determinada substância tem em ativar o receptor ao qual está ligada é sua atividade intrínseca ou eficácia. Este conceito pode ser expresso pela fórmula:

$$E = k \frac{R_o}{R_t} E_{max}$$

E é o efeito; Emax é o efeito máximo; Ro são os receptores ocupados; Rt o número total de receptores e k a atividade intrínseca (Flacke, 1985).

Quando a atividade intrínseca é 1, isto significa que o agonista é puro, a ocupação de todos os receptores (Ro=Rt) produz a resposta máxima (E= Emax). O antagonista tem atividade intrínseca zero, portanto não produz efeito, independente da ocupação dos receptores. Os compostos agonistas parciais e agonistas/ antagonistas têm atividade intrínseca entre zero e um (Gilman et al., 1985; Flacke, 1985).

De acordo com a ação no receptor (Smith e Meek, 2011), os opióides classificam-se em:

* **Agonistas:** morfina, meperidina, alfaprodina, fentanil, alfentanil, sufentanil, fenoperidina, codeína, hidromorfona, oximorfona, metadona e heroína.

* **Antagonistas:** naloxona e naltrexona.

* **Agonista parcial:** buprenorfina.

* **Agonistas/Antagonistas:** (agonista κ /antagonista μ) nalbufina, nalorfina, levalorfan, pentazocina, butorfanol e dezocina.

1.5.3 FARMACOLOGIA DOS OPIÓIDES:

O índice terapêutico (DL50/DE50) é a relação entre a dose de uma droga que produz efeitos letais em 50% dos animais testados e a dose que produz os efeitos desejados em 50% dos animais. Os opióides possuem, em geral, uma ampla margem de segurança (índice terapêutico) quando testados em modelos animais (Eguchi, 2004).

Tabela 2. Índice Terapêutico - IT

Droga	Índice Terapêutico
Morfina	69,5
Meperidina	4,8
Fentanil	277,0
Alfentanil	1080,0
Sufentanil	25211,0

(Adaptado de Sebel e Bovil, 1987).

Para que um fármaco produza seu efeito, necessita atravessar membranas e alcançar o receptor. A velocidade e extensão com as quais um fármaco penetra através de membranas são determinadas por seu peso molecular, solubilidade

lipídica, ligação a proteínas plasmáticas e grau de ionização. Uma molécula pequena tende a passar mais rapidamente através das membranas celulares. A maior solubilidade lipídica permite ao fármaco passar pelo conteúdo lipídico das membranas biológicas, inclusive a barreira hemato-encefálica, com maior facilidade. A ligação às proteínas plasmáticas e membranas das hemácias deixa menos fármaco livre para penetrar e alcançar os receptores (Flacke, 1985). Da mesma forma, a ionização de um fármaco diminui sua habilidade de atravessar membranas; moléculas carregadas serão repelidas por cargas iguais nas membranas ou atraídas por cargas oposta; em ambos os casos a efetividade de atravessá-las e ligar-se ao receptor diminui (Eguchi, 2004). Os opióides têm, de forma geral, um pequeno tamanho molecular. A solubilidade lipídica (coeficiente octanol/água) é de 1,4 para a morfina, 813 para o fentanil, 145 para o alfentanil e 1778 para o sufentanil (Flacke, 1985; Smith e Meek, 2011).

A morfina possui a menor lipossolubilidade o que resulta numa lenta penetração através das membranas; isto faz com que chegue ao sistema nervoso central lentamente, exibindo um início de ação mais demorado. O sufentanil, fentanil e em menor grau o alfentanil possuem uma alta lipossolubilidade e, portanto, um rápido início de ação após injeção venosa (Eguchi, 2004). A porcentagem de ligação protéica (incluindo albumina e α 1-glicoproteína ácida), em pH 7,4, é de 30 para a morfina, 84 para o fentanil, 92 para o alfentanil e 93 para o sufentanil. O fentanil, alfentanil e sufentanil ligam-se principalmente a α 1-glicoproteína ácida, enquanto que a morfina liga-se, principalmente, à albumina (Flacke, 1985).

Os opióides mais recentes possuem um alto grau de ligação protéica (Smith e Meek, 2011). Consequentemente, uma menor quantidade do fármaco está disponível na forma livre, estado no qual há a penetração no sistema nervoso central e produção do efeito. A alta taxa de ligação protéica também contribui para um menor volume de distribuição e limita a quantidade de droga livre disponível para eliminação pelos sistemas hepático e renal, o que reduz a taxa de depuração (Gozzani, 1994).

A porcentagem de fármaco não ionizado (em pH 7,4) é de 23 para a morfina, 10 para o fentanil, 20 para o sufentanil e 90 para o alfentanil. O pequeno grau de ionização do alfentanil contribui para sua mobilização através das membranas e explica, parcialmente, o seu rápido início de ação (Flacke, 1985; Smith e Meek, 2011).

A solubilidade lipídica também desempenha um papel na eliminação de uma substância. Um fármaco com alto grau de lipossolubilidade será facilmente estocado em tecidos que contenham lipídeos, sendo liberado lentamente destes tecidos para o plasma, resultando numa baixa velocidade de eliminação. Fármacos com altos graus de lipossolubilidade terão meia-vida de eliminação (β) maiores do que aqueles com menor lipossolubilidade. A menor lipossolubilidade do alfentanil contribui para sua meia-vida β menor (Gozzani, 1994).

Tabela 3. Perfil Físico-Químico dos Opióides

	Morfina	Fentanil	Alfentanil	Sufentanil
Tamanho da Molécula	Pequena	Pequena	pequena	Pequena
Solubilidade Lipídica	1,4	813	145	1778
% ligada a Proteínas	30,0	84	92	93
% não ionizada	23,0	10	90	20

(Adaptado de Prys-Roberts et al., 1984)

Tabela 4. Farmacocinética Comparativa

	Morfina	Fentanil	Sufentanil	Alfentanil	Meperidina	Naloxona
Meia-vida de distribuição (α) (min)	10-20	5-10	5-15	5-15	10-20	-
Volume de Distribuição (L/kg)	3,4	4,0	1,7	0,7	4,4	1,8
Depuração (ml/kg/min)	10-20	10-20	10-12	3-8	-	30,1
Meia-vida de eliminação (β) horas	1,7	3,6	2,7	1,6	6,7	1,1

(Adaptado de Stoelting et al., 1987)

Os opióides têm efeitos centrais e periféricos, nomeadamente ao nível cardiovascular, gastrointestinal e na musculatura lisa. Conseguem passar a barreira placentária, causando efeitos no feto, no caso de uma mulher grávida. Os seus efeitos duram 4 a 6 horas. Pode causar rapidamente dependência (física e psicológica), já que este composto tem uma enorme capacidade de ativar sistemas cerebrais e é capaz, quimicamente, de alterar o normal funcionamento desses mesmos sistemas. Causam também tolerância com elevada rapidez (necessidade de aumentar a dose, para se sentir o mesmo efeito). Esta tolerância estabelece-se apenas em relação aos efeitos seus efeitos centrais (Smith e Meek, 2011). No mecanismo de tolerância, a hiper sensibilização da adenilciclase (AC),

após a exposição crônica de opióides, necessita de elevadas concentrações de AMPc, causando falha na sensibilização dos receptores μ (Smith e Meek, 2011).

Os receptores opióides podem ser excitatórios ou inibitórios. No homem predominam os primeiros, o que faz com que o seu efeito final seja, sobretudo, depressor. Como efeitos farmacológicos temos (Flacke, 1985; Smith e Meek, 2011):

- Analgesia central com supressão das dores física e emocional;
- Efeitos no coração;
- Sedação;
- Alívio de dores crônicas e agudas;
- Alívio da ansiedade;
- Diminuição do sentimento de desconfiança;
- Euforia;
- Sensação de bem estar e tranquilidade.



Figura 1. Efeitos Farmacológicos dos Opióides (Adaptado de Garret et al., 1994).

Os opióides agonistas apresentam ações farmacodinâmicas semelhantes, que incluem analgesia, sedação, sonolência, inconsciência, supressão da resposta vegetativa e endócrina ao estresse. A sedação, sonolência e inconsciência dependem da dose, estado físico do paciente, associação com outros depressores do sistema nervoso central e intensidade dos estímulos nociceptivos (Jaffe et al., 1985; Smith e Meek, 2011).

Em relação ao aparelho cardiovascular, os agonistas opióides produzem depressão miocárdica mínima, não sensibilizam o coração à ação de catecolaminas, preservam a autorregulação da circulação cerebral, cardíaca, renal e diminuem a frequência cardíaca (com exceção da meperidina que produz taquicardia) (Leon-Casasola, 2008).

Não há referências em relação à toxicidade hepática ou renal com o uso dos opióides agonistas (Lavinias, 2004).

Quanto aos efeitos no sistema nervoso central, diminuem o fluxo sanguíneo e o metabolismo cerebral, provocam alteração mínima na latência e amplitude dos potenciais evocados somatossensoriais (Jaffe et al., 1985).

Em relação ao aparelho digestivo induzem ao aparecimento de náuseas e vômitos por estimulação direta dos quimiorreceptores da zona de gatilho no assoalho do quarto ventrículo (agindo como agonista parcial do receptor de dopamina). O retardo do esvaziamento e aumento de secreções no trato gastrointestinal são também mecanismos possíveis na gênese desses sintomas associados ao uso de opióides. Os opióides podem aumentar a pressão nas vias biliares; doses equianalgésicas de fentanil, morfina, meperidina e pentazocina aumentam a pressão no ducto biliar em 99, 53, 61 e 15%, respectivamente, acima dos valores anteriores à administração do fármaco. A incidência de espasmo do esfíncter de Oddi é cerca de 3% nos pacientes que recebem fentanil durante anestesia balanceada com anestésicos inalatórios (Leon-Casasola, 2008).

Os opióides agonistas interferem com a função do sistema respiratório levando a depressão respiratória (dose dependente) e possuem propriedades antitussígenas. A depressão da ventilação se expressa por aumento da pressão parcial de dióxido de carbono no sangue arterial e deslocamento da curva de resposta ao CO₂ para a direita, caracterizando sensibilidade diminuída a frações inspiratórias aumentadas de CO₂. Os agonistas opióides agem nos centros que regulam o ritmo respiratório, na região do bulbo, podendo aumentar as pausas entre os movimentos respiratórios e aumentar o tempo expiratório (Lavinias, 2004). A diminuição da sensibilidade ao CO₂ pode ser decorrente da redução de liberação de acetilcolina dos neurônios da área ventilatória, em resposta à hipercarbia (Gilman et al., 1985; Flacke, 1985).

Os opióides podem induzir rigidez muscular, de provável mecanismo central. Na anestesia, os opióides são capazes de bloquear as respostas à laringoscopia e intubação, sendo este efeito dose dependente. Um dos mecanismos específicos propostos para esta ação é o bloqueio dos estímulos provenientes da laringe, uma área muito rica em extremidades nervosas, inervada pelo vago e glossofaríngeo (Stoelting, 1987). Os núcleos desses nervos possuem altíssima concentração de receptores opióides e é provável que esse seja um dos motivos pelos quais os opióides são tão eficazes no bloqueio das respostas decorrente da laringoscopia e intubação (Flacke, 1985).

Algumas variáveis interferem com o comportamento farmacocinético e farmacodinâmico dos opióides: a idade do paciente, função hepática, obesidade, função renal, consumo de drogas com atividade no sistema nervoso central (por exemplo: álcool e tranquilizantes) (Gilman et al., 1985).

A meia-vida de eliminação ($t_{1/2\beta}$) dos opióides está aumentada nos pacientes idosos, provavelmente em decorrência do aumento no volume de distribuição e diminuição da depuração plasmática (Gilman et al., 1985).

O fentanil não mostrou alteração em relação ao volume de distribuição, quando foram comparados pacientes idosos e adultos jovens (Stoltzfus, 1997), portanto prolongamento de sua meia-vida de eliminação nos idosos deve ser decorrente da diminuição da depuração.

Aumento da meia-vida de eliminação e diminuição da depuração também é observado com o uso de alguns opióides (fentanil, sufentanil) em recém nascidos, quando comparados com crianças maiores. Esta modificação farmacocinética pode ser decorrente de redução enzimática ou de fluxo sanguíneo hepático no período neonatal (Treede e Magerl, 1995).

1.5.4 USO CLÍNICO DOS OPIÓIDES:

Indicações clínicas dos opióides (Eguchi, 2004; Leon-Casasola, 2008, Smith e Meek, 2011):

- Tratamento da dor crônica: é a primeira escolha no tratamento da dor crônica pós-operativa, no câncer e outras situações.
- Tratamento da dor neuropática (na dor neuropática geralmente não há nenhum dano tecidual. O que ocorre é uma disfunção das vias que transmitem dor, levando a uma transmissão crônica dos sinais dolorosos. É comum quando os pacientes necessitam de tratamento por tempo prolongado). Aqui, são necessárias doses maiores de opióides, quando comparados com a dor somática.
- Tratamento da dor aguda forte: em trauma ou no parto;
- Como anestésico geral;
- Redução da dor em casos de fibromialgia.

São recomendações gerais para o uso dos opióides (Eguchi, 2004; Smith e Meek, 2011):

- Não devem ser usados nas cólicas biliares (lítíase biliar ou cálculo na vesícula) porque provoca espasmos que podem aumentar ainda mais a dor;
- Antes de começar um tratamento com opióides, o doente deve ter noção que a função do opióide não é eliminar a dor, mas sim reduzir a sua intensidade;
- Não é primeira escolha na dor inflamatória (nesta são usados AINEs);

Os agonistas opióides mais utilizados em anestesia são morfina, fentanil, alfentanil, sufentanil e meperidina. A morfina, embora possa ser sintetizada em laboratório, é obtida da cápsula da semente da papoula, como um dos alcalóides do exsudato leitoso do ópio (Gozzani, 1994). Os alcalóides representam cerca de 25% do peso do ópio e são divididos em 2 classes químicas: fenantrenos e benzilisoquinolinas. O principal fenantreno é a morfina, com quantidades menores de codeína e tebaína. A principal benzilisoquinolina é a papaverina (Amaral, 1999; Gozzani, 1994).

Em 1969 Löwenstein e col. popularizaram o uso da morfina como anestésico em pacientes com doença valvar aórtica. Administrando morfina na dose de 5-10 mg/min associada a oxigênio, um estado anestésico foi obtido com uma dose em torno de 1 a 3 mg/kg. A situação hemodinâmica do paciente era estável, com tendência a vasodilatação (responsiva a volume) e bradicardia (reversível com a atropina). Os problemas com a técnica proposta por Löwenstein incluíam amnésia incompleta ocasional, reações de liberação de histamina (*rash* cutâneo, hipotensão e broncoconstrição) e depressão respiratória prolongada (Eguchi, 2004; Gozzani, 1994; Smith e Meek, 2011).

A **morfina** é rapidamente absorvida pelas vias tradicionais de administração, entretanto um metabolismo intenso na primeira passagem pelo fígado precisa ser considerado (Gozzani, 1994). A dose eficaz pela via enteral é cerca de 5 vezes a dose equianalgésica por via venosa. A meia-vida de eliminação da morfina é de cerca de 2 horas. A principal via metabólica é a conjugação com o ácido glucurônico no fígado. Após a metabolização os compostos são excretados pela urina, associados a uma pequena quantidade de

morfina livre. Cerca de 7 a 10% da droga administrada é excretada nas fezes como componente da bile. A morfina é o opióide de referência, no que diz respeito à potência analgésica, sendo a ela atribuído o valor 1 (Amaral, 1999; Gozzani, 1994).

O **sufentanil** é cerca de 500 a 1000 vezes mais potente que a morfina e 5 a 10 que o fentanil. A estabilidade hemodinâmica e hormonal observada com o uso de sufentanil está presente não só nos pacientes com doença cardíaca, mas também nos indivíduos hígidos, com doses entre 5 e 30 mg/kg (Bernards, 1994; Gozzani, 1994).

Em relação aos parâmetros farmacocinéticos, apresenta um volume de distribuição menor que o do fentanil e uma meia-vida de eliminação também menor (Stoltzfus et al., 1997).

Bradycardia parece ser um pouco mais frequente com o uso do sufentanil do que com fentanil. A produção de amnésia e habilidade para contornar hipertensão e taquicardia intra-operatória com doses suplementares de sufentanil é maior do que com fentanil (Samuelson et al., 1991).

A associação sufentanil-N₂O é capaz de manter a concentração plasmática de norepinefrina abaixo dos níveis pré-operatórios. Embora o sufentanil previna a resposta endócrina e metabólica em cirurgia cardíaca, não consegue fazê-lo durante circulação extracorpórea, mesmo em doses elevadas (20 mg/kg) (Lauretti et al. 1997).

Em relação aos metabólitos, o sufentanil apresenta os produtos da N-desalquilação que são inativos, entretanto a via da O-metilação produz o desmetil-sufentanil que tem 10% da atividade do sufentanil. Os metabólitos são excretados quase igualmente pela urina e fezes, 30% aparecem conjugados. Isto reforça a importância da função renal da depuração do sufentanil. O tempo requerido para um decréscimo de 50% na concentração nos efetores é menor para o sufentanil do que para o alfentanil, a despeito da meia-vida de eliminação mais rápida do último (Samuelson et al., 1991). Este fato ocorre pela alta lipossolubilidade do sufentanil, que tende a ser sequestrado pela gordura (Gozzani, 1994).

Esta distribuição do sufentanil produz uma meia-vida de eliminação mais longa, mas também aumenta a depuração do sufentanil, diminuindo rapidamente a concentração plasmática do fármaco, após a interrupção da infusão (Gozzani, 1994).

A implicação clínica destas características farmacocinéticas é o sufentanil ser, provavelmente, uma melhor escolha que o alfentanil para infusões até 8 horas. O alfentanil é melhor para infusões mais longas, se uma recuperação rápida é desejável ao final da infusão. Por esta razão o alfentanil tem sido escolhido para sedação em terapia intensiva em pacientes adultos e pediátricos (Stoelting, 1987; Gozzani, 1994).

1.6 FÁRMACOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA: USO DE CICLODEXTRINAS:

O desenvolvimento de novas formulações farmacêuticas tende a alterar em breve o conceito atual de medicamento (Hung, 2006). Assim, têm surgido nos últimos anos diversos sistemas de administração de fármacos com a finalidade de modelar a cinética de liberação, melhorar a absorção, aumentar a estabilidade do fármaco ou vetorizá-lo para uma determinada população celular. Os novos sistemas terapêuticos surgiram da necessidade de minimizar os problemas que se prendem com a administração das formas farmacêuticas tradicionais. Tomando como exemplo a administração oral de medicamentos é comum acontecer perda de atividade, consequência de destruição parcial do princípio ativo através do trato gastrointestinal (por variações de pH ou devido a degradação enzimática) ou de má absorção (Duchêne et al., 1999; Valentino, et al., 2008).

É neste contexto que começam a surgir novos sistemas, como os lipossomas e as nano e micropartículas, sistemas planejados para ultrapassar as dificuldades referidas (Gavini, 2011). A adoção destes sistemas levantou, também, dificuldades, em especial no que diz respeito ao processo de fabricação, que resultam da baixa solubilidade dos fármacos, o que conduz também a taxa de incorporação de um princípio ativo igualmente baixa, ou a liberação incompleta de

fármaco. Para ultrapassar estas dificuldades alguns autores têm usado ciclodextrinas (Duchêne, 1987).

As **ciclodextrinas** (CDs) são oligossacáridos cíclicos, constituídos por um número variável de unidades de glicose, que se obtêm por ação da enzima ciclodextrina- α -glicosiltransferase (CGTase), sobre o amido (Szejtli, 1994). As ciclodextrinas naturais mais comuns apresentam seis, sete ou oito unidades de D(+)-glicopiranosose unidas por ligações α e denominam-se α -, β - e γ -ciclodextrinas, respectivamente (Gavini, 2011).

Estas moléculas são conhecidas desde finais do século XIX, tendo sido primeiramente identificadas por Villiers, em 1891 (**Figura 2**). Este investigador francês isolou uma pequena quantidade de um composto cristalino, a partir de um meio de cultura de *Bacillus amylobacter* contendo amido, o qual designou por “cellulosine” devido a forte semelhança desta substância isolada com a celulose.

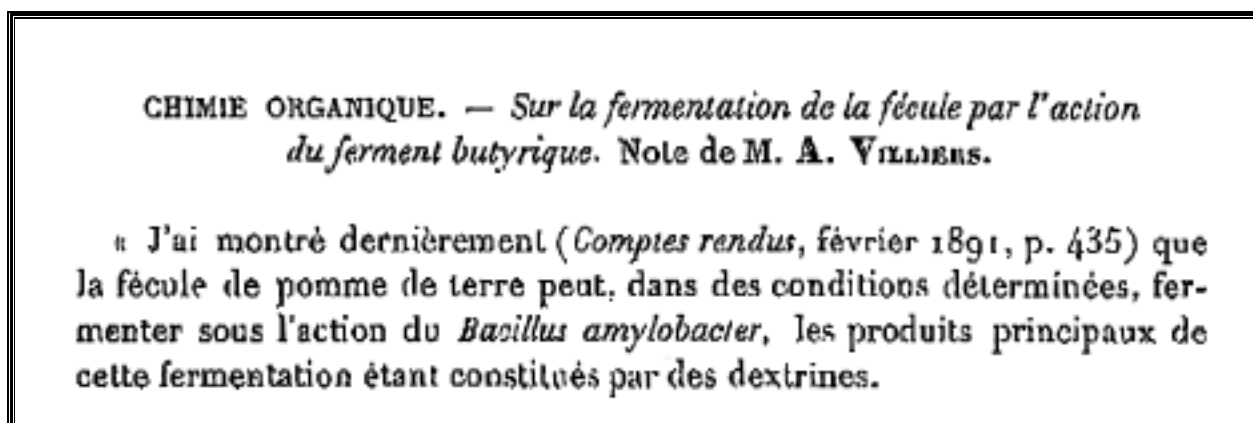


Figura 2. Início do artigo de Villier em *Comptes Rendus da Academia de Ciências de 1891* (Fonte: Loftsson e Duchêne, 2007).

No livro “*Einschlussverbindungen*” (**Figura 03**), Friedrich Cramer descreve a estrutura básica e as características físico-químicas da α -, β -, e γ - ciclodextrina, incluindo a estrutura química, tamanho da cavidade, solubilidade, reatividade, capacidade de complexação e o efeito da estabilidade química da molécula hóspede (Loftsson e Duchene, 2007).

EINSCHLUSS- VERBINDUNGEN

VON

FRIEDRICH CRAMER
DOZENT AM CHEMISCHEN INSTITUT
DER UNIVERSITÄT HEIDELBERG

MIT 47 TEXTABBILDUNGEN



SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1954

Figura 3. A capa do livro de Friedrich Cramer “*Einschlussverbindungen*” (compostos de inclusão), publicado em Berlim em 1954. (São descritos vários tipos de compostos que podem formar complexos de inclusão, incluindo CDs), (Fonte: Loftsson e Duchêne, 2007).

Contudo, no início do século XX, foi Frank Schardinger que caracterizou este produto como sendo mistura de oligossacarídeos cíclicos, tendo também descrito processos para a sua obtenção e purificação, razão pela qual as CDs também são conhecidas na literatura por dextrinas de Schardinger (Duchêne et al., 1984; Valentino, et al., 2008), além de outras denominações.

Karl Freudenberg, Friedrich Cramer e Hans Plieninger apresentam o composto na Alemanha em 1953. Esta patente (**Figura 04**) engloba praticamente os aspectos mais importantes da aplicação das CDs na formulação de

medicamentos. Através de vários exemplos, mostraram que mediante a complexação era possível proteger substâncias da oxidação, aumentar a solubilidade de fármacos insolúveis e reduzir o peso de substâncias voláteis (Freudenberg et al, 1953).

Erteilt auf Grund des Ersten Überleitungsgesetzes vom 8. Juli 1949
(WEGG. S. 173)

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

AUSGEGEBEN AM
5. NOVEMBER 1953



DEUTSCHES PATENTAMT

PATENTSCHRIFT

Nr. 895 769
KLASSE 12^o GRUPPE 27
K 12226 IVc / 22 0

Dr. Karl Freudenberg, Heidelberg,
Dr. Friedrich Cramer, Heidelberg-Schlierbach und
Dr. Hans Plieninger, Heidelberg
sind als Erfinder genannt worden

Knoll A.-G. Chemische Fabriken, Ludwigshafen/Rhein

Verfahren zur Herstellung von Einschlußverbindungen physiologisch
wirksamer organischer Verbindungen

Patentiert im Gebiet der Bundesrepublik Deutschland vom 26. August 1951 an
Patentanmeldung bekanntgemacht am 5. März 1953
Patenterteilung bekanntgemacht am 24. September 1959

Es ist bereits bekannt, Additionsverbindungen von
organischen Stoffen herzustellen, die die zweite Kom-
ponente in den Hohlräumen ihres Moleküls oder
Kristallgitters einschließen. So sind z. B. Additions-
verbindungen von Desoxycholsäure, Harnstoff und von
5 den Schardinger-Dextrinen bekannt, die die ver-
schiedensten Stoffe eingeschlossen enthalten. Diese
Additionsverbindungen, die treffender als Einschluß-
verbindungen bezeichnet werden, weil sie die ein-
geschlossenen Komponenten in getarnter Form ent-
halten, haben die Eigenschaft der Schwerlöslichkeit.
10 Während bisher bei den Schardinger-Dextrinen Ad-
dukte nur mit sauerstofffreien, physiologisch indiffe-
renten, halogenhaltigen Kohlenwasserstoffen, ins-
besondere der aromatischen Reihe, und mit höheren
15 Alkoholen bekannt waren, wurde nunmehr gefunden,
daß diese Dextrine auch mit beliebigen, insbesondere
mit physiologisch wirksamen Stoffen Einschlußver-
bindungen bilden. Diese neuen Addukte zeichnen sich
ebenfalls durch Schwerlöslichkeit und meist damit ver-
bundene protrahierte Wirkung, durch Beständigkeit
gegen Körpersäfte, durch Geschmacksverbesserung
und durch Lagerungsbeständigkeit aus.
20 Die neuen Addukte werden dadurch hergestellt, daß
man konzentrierte wäßrige Lösungen der Schardinger-
Dextrine mit den Einschlußkomponenten versetzt. Zu
diesem Zweck wird die heiß gesättigte, wäßrige Dextrin-
lösung mit der Einschlußkomponente versetzt und
darauf allmählich erkalten gelassen. Nach einer anderen
Ausführungsform des Verfahrens wird die gesättigte
wäßrige Dextrinlösung mit der suspendierten Ein-
schlußkomponente durchgeschüttelt. Man kann auch
30 so vorgehen, daß man die wäßrige Dextrinlösung mit
einer Lösung der Einschlußkomponente in einem mit

Figura 4. A primeira página das duas primeiras patentes de ciclodextrinas intitulada “Métodos para a preparação de compostos de inclusão de compostos orgânicos fisiologicamente ativos”.

(Fonte: Loftsson e Duchêne, 2007).

A obtenção das CDs naturais segue conjunto de passos que pode ser assim esquematizado (Szejtli, 1994):

- Cultivo do microrganismo produtor da CGTase,
- Separação e purificação da enzima,
- Degradação enzimática do amido em mistura de dextrinas e
- Separação, purificação e cristalização das CDs.

Dos numerosos microrganismos que produzem CGTase, as espécies mais usadas são o *Bacillus macerans*, *Bacillus circulans* e também *Klebsiella pneumoniae* (Sicard e Sainez, 1987). São moléculas cristalinas, homogêneas, não higroscópicas que apresentam estrutura tronco-cônica e se caracterizam por possuírem cavidade de natureza apolar, devido à formação de um anel de grupos C-H (C3), de um anel composto por átomos de oxigênio glicosídicos e, também, de outro anel de grupos C-H do carbono C5, que contrasta com o exterior hidrofílico (Szejtli, 1994). Os membros mais comuns da família das CDs são os de seis, sete e oito unidades de glicose (**Figura 5**). Por razões estereoquímicas, membros com menor número de unidades não se formam e CDs com mais de oito unidades de glicose não parecem apresentar grande interesse, apesar de existirem estudos sobre as propriedades físico-químicas e a capacidade em formar complexos de inclusão da δ -ciclodextrina, o homólogo com nove unidades de glicose (Szejtli, 1994; Miyazawa et al., 1995; Gavini, 2011). A cavidade das CDs pode acomodar moléculas, ou parte de moléculas, no seu interior, sem que haja o estabelecimento de ligações covalentes entre as duas entidades (**Figura 6**). A este fenômeno denomina-se **complexação** e pode ocorrer quer em solução, quer no estado sólido (Szejtli, 1994; Valentino, et al., 2008).

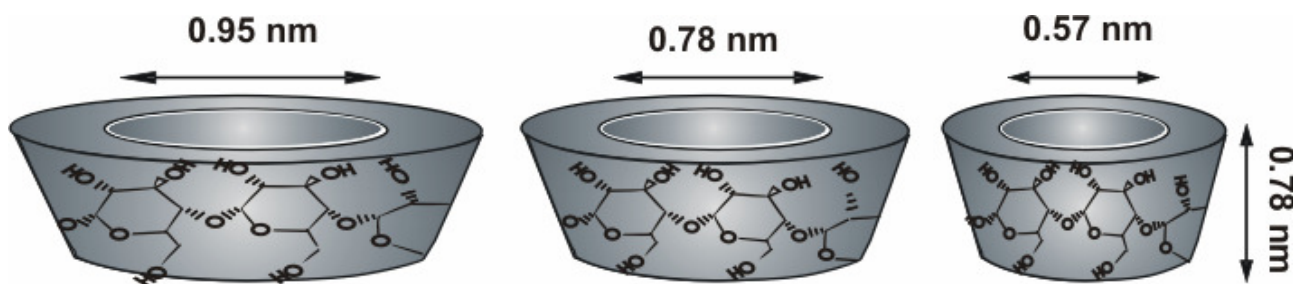


Figura 5. Estrutura das Moléculas de α , β , δ Ciclodextrinas (8, 7 e 6 unidades de glicose, respectivamente) (Adaptado de Uyar, 2005).

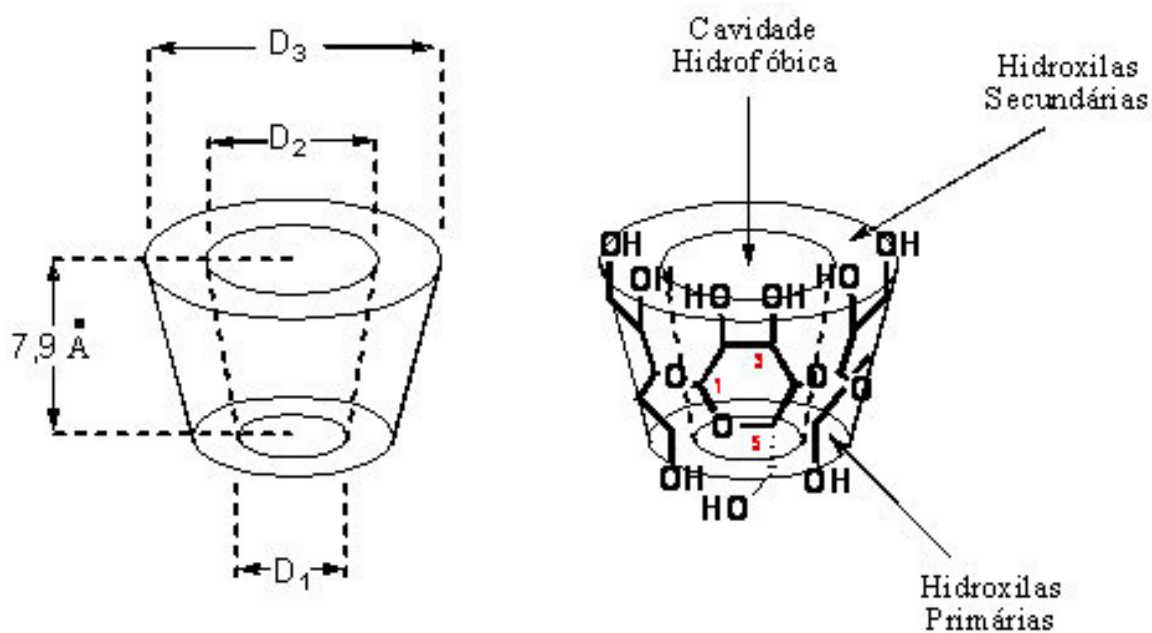


Figura 6. Representação esquemática da estrutura funcional das Ciclodextrinas. (Adaptado de Uyar, 2005).

As CDs e os seus complexos de inclusão podem ser utilizados na preparação de formas farmacêuticas sólidas, líquidas e semi-sólidas com aplicação nas vias de administração oral, parentérica, pulmonar, nasal, bucal, sublingual, rectal, ocular e dérmica (Mosher e Thompson, 2002).

Formas farmacêuticas sólidas:

- Aumento da velocidade e extensão de dissolução dos fármacos quando complexados com CDs hidrófilas em consequência do aumento da sua solubilidade e alteração do seu estado cristalino.
- Atenuação de sabores e odores desagradáveis dos fármacos.

Formas farmacêuticas líquidas:

- Aumento da estabilidade física das emulsões e suspensões. As CDs presentes em sistemas termodinamicamente instáveis como as suspensões permitem a diminuição da velocidade de sedimentação das partículas e inibem a recristalização de fármacos em cristais polimórficos de menor solubilidade. Estão, portanto, na origem de um aumento da estabilidade termodinâmica destes sistemas e exercem também efeitos positivos na deliquescência de substâncias higroscópicas, fotólise, volatilidade, etc.
- Controle da natureza tixotrópica de suspensões.

Formas farmacêuticas semi-sólidas:

- Modificação das propriedades reológicas, tais como a consistência das pomadas.
- Aumento da biodisponibilidade tópica através do aumento da libertação do fármaco a partir da formulação.
- Aumento da capacidade absorvente de água das bases oleosas e emulsões do tipo A/O por CDs hidrófilas.
- Modificação da capacidade de intumescimento dos gels.

Formas farmacêuticas injetáveis:

- Redução da irritação muscular e hemólise induzida por determinados fármacos.
- Obtenção de produtos solúveis pela preparação de complexos de inclusão por liofilização. O aumento de solubilidade dos fármacos é induzido diretamente pelo aumento da sua solubilidade intrínseca, por consequência da sua complexação bem como pela alteração do seu estado cristalino.
- Preparação de suspensões para utilização parenteral com redução do tamanho de partícula dos fármacos no complexo de inclusão, notadamente pela utilização de técnicas de preparação dos complexos como por exemplo a secagem por pulverização.

Tabela 5. Propriedades físico-químicas de ciclodextrinas naturais

	α -CD	β -CD	γ -CD	Δ -CD
nº unidades glicose	6	7	8	9
Massa molecular	972	1135	1297	1459
Sol. Aquosa (g/100 mL a 25 °C)	14,5	1,85	23,2	8,19
Diâmetro da cavidade (Å)	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3	10,3-11,2
Volume da cavidade (Å³)	174	262	427	-
Forma dos cristais	Lâminas	Paralelogramas	Prismas	-
Pka	12,332	12,202	12,081	-
Ponto de fusão (°C)	275	280	275	-
Tensão superficial (nM/m)	73	73	73	72
Vel. hidrólise ácida (h-1)	0,11	0,13	0,23	0,63

(Adaptado de Szejtli, 1994; Miyazawa et al., 1995)

As CDs naturais apresentam algumas limitações quer devido à sua baixa solubilidade aquosa e em solventes orgânicos, quer à toxicidade que apresentam quando utilizadas em preparações parenterais (**Tabela 5**) (Szejtli, 1994). As características de inclusão das CDs naturais podem ser alteradas pela introdução

de substituintes nas hidroxilas disponíveis. A dimetil- β -ciclodextrina normalmente apresenta melhores características de inclusão, especialmente no que diz respeito à dimensão da cavidade apolar, do que a β -ciclodextrina. O uso de derivados lipofílicos (etilados ou acetilados) permite que moléculas hidrofílicas possam ser incluídas na cavidade das CDs a partir de solventes menos polares do que o interior da cavidade (Uekama e Otagiri, 1987; Valentino, et al., 2008).

Se atendermos à CD natural mais usada (β -ciclodextrina), o elevado número de grupos hidroxila que possui (sete primários e quatorze secundários) são potenciais pontos de reação, que permitem produzir modificações estruturais funcionalizando o anel macrocíclico (**Tabela 6**). Surge, assim, grande variedade de estruturas adaptadas ao desenvolvimento de novos sistemas terapêuticos (Duchêne, 1996; Hirayama e Uekama, 1999). No que diz respeito à obtenção de derivados, é justamente sobre a β -ciclodextrina que se incide a maior parte dos estudos disponíveis (Gavini, 2011).

A maior parte das alterações que ocorrem na estrutura mãe tem lugar por síntese química. São reações de substituição dos grupos hidroxila pelo grupo pretendido, recorrendo a estratégias de substituição seletiva (Wouessidjewe et al., 1996) ou por reações de condensação (CDs hidroxialquiladas). Veiga (1996) referiu a obtenção dos derivados das CDs com grupos metila, etila, carboximetila, hidroxietila, hidroxipropila, sacarídeos e por polimerização. Contudo, é comum seguir-se a via enzimática na produção de CDs ramificadas, embora estas possam, também, ser preparadas por síntese química.

Tabela 6. Propriedades físico-químicas de derivados da β -ciclodextrina

n^o unidades glicose	Peso molecular	Solubilidade Aquosa (g/100 mL, 25 °C)	Ponto de fusão (°C)	Tensão superficial (nM/m)	Diâmetro da cavidade (Å)
DM-βCD 7	1331	57	295-300	62	6
TM-βCD 7	1430	31	157	56	4-7
G1-βCD 8	1297	97	-	71	-
(G1)2-βCD 9	1459	140	-	-	-
G2-βCD 9	1459	50	-	70	-
(G2)2-βCD 11	1789	50	-	71	-
DE-βCD 7	1527	0,005	-	52	-
TE-βCD 7	1723	0,0018	-	53	-

Adaptado de Duchêne (1990) (DM – dimetil; TM – trimetil; G1 – glicosil; (G1)2 – diglicosil; G2 – maltosil; (G2)2 – dimaltosil; DE – dietil; TE – trietil)

A classificação habitualmente seguida (Uekama et al., 1990) agrupa os derivados das CDs em hidrófilos, hidrófobos, hidrofílicos, hidrofóbicos e ionizáveis. Há, no entanto, um subgrupo de derivados, pertencente ao grupo dos derivados hidrofóbicos, que tem merecido alguma atenção para a produção de novos sistemas terapêuticos. Trata-se do subgrupo dos derivados anfifílicos das CDs. Estes são sintetizados ligando cadeias alquílicas (via ligação éter, éster, amino ou amida) às hidroxilas primárias de C6 - “medusa-like”- ou aos secundários de C2 e C3 - “skirt-shaped” (Wouessidjewe et al., 1996; Duchêne, 1996).

Esses derivados são insolúveis em água e apresentam a capacidade de se auto-organizarem. Formam monocamadas de “Langmuir-Blodgett”, quando colocados em água pura, ficando os grupos hidrofílicos orientados para a água e as cadeias hidrocarbonatadas lipofílicas orientadas para fora do meio aquoso.

Estes derivados são solúveis em solventes orgânicos. Contudo, quando atingem determinada concentração, a tensão superficial dos di-ésteres diminui ligeiramente, como acontece com os tensoativos em solução aquosa. Quando se atinge a concentração micelar crítica, sugerindo a formação de vesículas. Estas vesículas apresentam tamanhos no intervalo dos 500 aos 4000nm (Gavini, 2011).

As CDs naturais, e alguns derivados como a hidroxipropil- β -ciclodextrina, são metabolizadas ao nível do cólon e do ceco pelas bactérias da flora intestinal, originando água e dióxido de carbono. Estes são também os produtos de degradação do amido. Estudos de toxicidade (**Tabela 7**) mostram que se trata de moléculas seguras, quando administradas por via oral (Valentino, et al., 2008). Em doses superiores a 600 mg/kg a β -ciclodextrina não revelou qualquer efeito adverso no peso corporal, no crescimento, nos valores bioquímicos e hematológicos de ratos e cães não se tendo também observado mutagenicidade ou teratogenicidade com doses inferiores a 400 mg/kg (Szejtli, 1990).

Tabela 7. Dados sobre metabolismo e toxicidade de ciclodextrinas:

CD	Metabolismo	DL50 Oral rato (mg/kg)	DL50 IV rato (mg/kg)
A	Cólon	$\geq 10\ 000$	500 – 750
B	Cólon, <i>cecum</i>	$> 5\ 000$	450 – 790
Γ	TGI superior	$\gg 8\ 000$	4 000
HP-β	Cólon	-	-
SBE-β	não metabolizada	-	-
RM-β	não metabolizada	$\gg 8\ 000$	1 500 - 2 100

Adaptado de Loftsson (1998) (HP – hidroxipropil; SBE – éter sulfobutílico; RM – metilada ao acaso)

As alterações bioquímicas do sangue de ratos e coelhos após múltiplas administrações intravenosas de maltosil- β -ciclodextrina (0,9 g/kg) foram comparadas com as obtidas com a β -ciclodextrina na mesma dose, com vistas a

avaliar a toxicidade por via parenteral. Contrariamente, os animais que receberam β -ciclodextrina, que apresentaram aumento do nitrogênio uréico e da creatinina, indicador de alguma insuficiência renal. Os resultados obtidos com a maltosil- β -ciclodextrina foram idênticos aos obtidos com os grupos de controle, encontrando-se os valores dentro dos limites normais (Yamamoto et al., 1991).

1.6.1 PRINCIPAIS DIFERENÇAS ENTRE AS CICLODEXTRINAS

As três CD naturais são a alfa (α -CD), a beta (β -CD) e a gama (γ -CD) compostas de seis, sete e oito unidades de D-(+)-glicopiranoose, respectivamente (**Figura 5**) (Kaur et al., 2004; Welliver e McDonough, 2007; Stella e He, 2008). Essas unidades apresentam em sua estrutura grupos hidroxil primários e secundários orientados para o exterior e, em consequência disso, as CDs se apresentam com a superfície exterior hidrofílica (formada por grupos hidroxilas, sendo altamente polar) e uma cavidade central hidrofóbica (apolar) (Patel et al., 2008). Essa cavidade central torna a CD capaz de formar complexos com muitas drogas e de alterar as propriedades físico-químicas das mesmas (Loftsson et al. 2001; Davis e Brewster, 2004, Fernandes et al., 2007; Valentino, et al., 2008).

Os complexos com CDs podem ser usados para aumentar a solubilidade e a estabilidade, diminuir a volatilidade e alterar a biodisponibilidade de fármacos. Das CDs naturais, a mais amplamente utilizada é a β -CD, pois apresenta sua cavidade interna com 6Å de diâmetro, aproximadamente, pode acomodar os grupos aromáticos encontrados na maioria das drogas. Estas podem levar uma molécula hidrofóbica em solução, mantendo-a dissolvida e transportando-a à membrana celular lipofílica (Kaur et al., 2004; Grillo et al, 2008). O diâmetro da cavidade interna da α -CD é muito pequeno e a γ -CD tem um custo muito elevado, o que torna o seu uso desfavorável. Uma característica negativa das β -CD é a sua solubilidade aquosa limitada (Rajewsky e Stella, 1996; Davis e Brewster, 2004; Kaur et al., 2004; de Paula et al., 2010) em relação às demais.

A limitada solubilidade aquosa da β -CD se deve, em grande parte, às ligações intramoleculares de hidrogênio entre os grupos hidroxil secundários, o

que desfavorece a interação desta CD com as moléculas de água (Kaur et al., 2004). Por essa razão, várias modificações têm sido feitas na estrutura química da β -CD, com o objetivo de melhorar essa propriedade. Um dos derivados utilizado é a 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD), comercialmente desenvolvida pela empresa farmacêutica Janssen (Stella e He, 2008). Apresenta maior solubilidade em água que a β -CD e menor potencial tóxico (Irie e Uekama, 1997; Davis e Brewster, 2004; Brewster e Loftsson, 2007; de Paula et al., 2010), além da melhora na capacidade de complexação.

Os rins são os órgãos mais afetados pela CD, após a absorção sistêmica. Tanto a β -CD quanto a HP- β -CD formam um complexo com colesterol ou seus ésteres no sangue, porém apenas com a β -CD o complexo formado é insolúvel. Tal complexo, na urina, passa por filtração glomerular e é retomado pelas células tubulares renais, o que traz danos aos rins (Stella e He, 2008).

A HP- β -CD tem-se mostrado bem tolerada em animais e humanos sendo a sua administração considerada não tóxica a baixas e moderadas doses (Kaur et al., 2004), além de não apresentar necrose celular mesmo após altas doses, como encontrado em estudos com β -CD (Stella e He, 2008).

1.7 COMPLEXOS DE INCLUSÃO:

Os complexos de inclusão (**Figura 7**) são compostos moleculares com a estrutura característica de um aduto, em que um composto (designado de hospedeiro) encerra no seu interior outro (o hóspede). As CDs apresentam-se como ótimas candidatas à formação de complexos de inclusão, uma vez que possuem uma cavidade para o efeito. Há, no entanto, fatores que condicionam a formação de complexos de inclusão (Stella e He, 2008).

A cavidade das CDs tem afinidade preferencial para a forma neutra de um determinado substrato, sendo capazes de complexar e solubilizar compostos não polares. A complexação pode ser condicionada, entre outros fatores, pela composição do esqueleto do composto, pela fraca solubilidade em água (inferior a 10 mg/mL), pelo estado de ionização, pela temperatura e solventes utilizados, pelo

ponto de fusão inferior a 250 °C (ponto de fusão superior significa que as forças coesivas entre as moléculas são muito fortes) e pela massa molecular compreendida entre 100 e 400 Daltons (Uekama, Otagiri, 1987; Valentino, et al., 2008). Contudo, pode ocorrer a formação de complexos com moléculas muito grandes, desde que contenham cadeias laterais apropriadas para a inclusão parcial, originando compostos com solubilidade e estabilidade modificadas (Szejtli, 1991; Thompson, 1997).

As forças envolvidas no processo de formação dos complexos são, ainda, objeto de discussão na comunidade científica (Le Corre et al., 1996). Sabe-se que não se trata apenas de interação apolar clássica. Estão envolvidas forças de Van de Waals, ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e alguns autores apontam, também, a liberação de energia devido à substituição de moléculas de água por outras menos polares e devido a alterações conformacionais, que contribuem para a formação e estabilização do complexo (Anguiano-Igea, 1992).

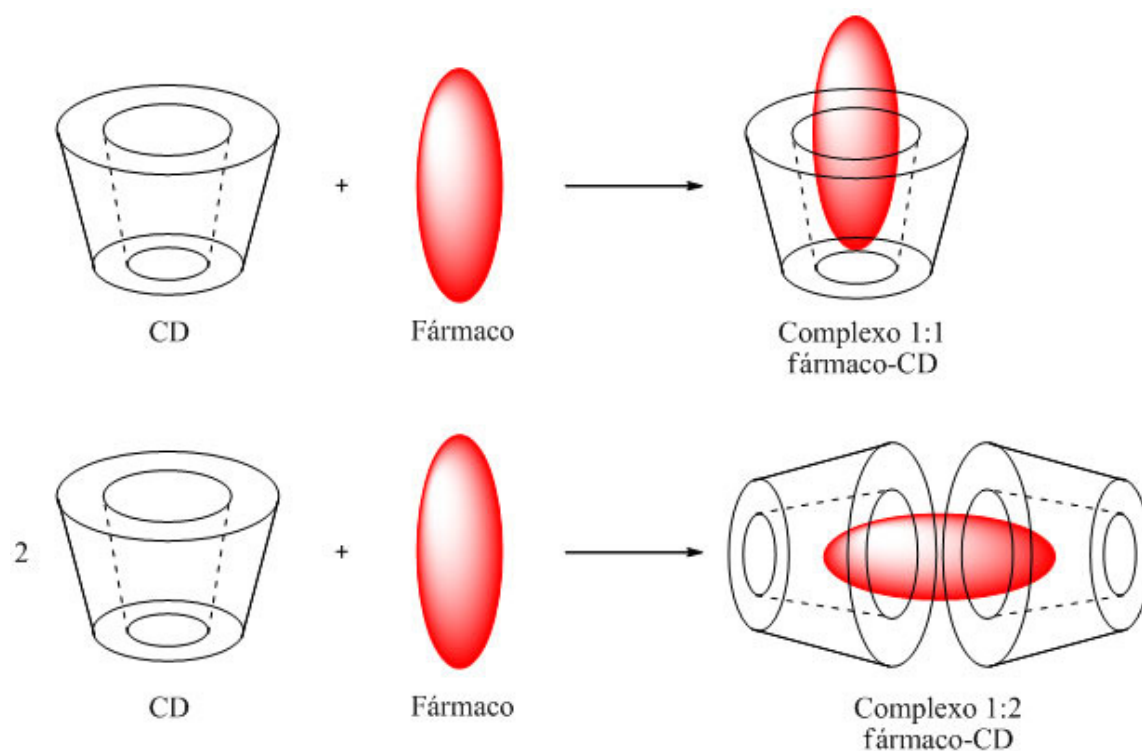


Figura 7. Formação de complexos de inclusão entre fármacos e ciclodextrina, nas proporções de 1:1 e 1:2 e representação da complexação 1:2. (Adaptado de Davis & Brewster, 2004).

Uma das características mais importantes das ciclodextrinas é a presença de uma cavidade que permite a formação de complexos de inclusão (**Figura 7**) (Valentino, et al., 2008). Isto permite alterar a solubilidade de fármacos (Backensfeld et al., 1991; Loftsson e Brewster, 1996, Toros de Ilarduya et al., 1998), modelar a velocidade de dissolução (Becket et al., 1999), aumentar a estabilidade (Loftsson et al., 1993) e proteger as mucosas da irritação causada por determinados fármacos (Rainsford, 1990; Otero-Espinar et al., 1991).

Nos últimos anos foram desenvolvidos diferentes derivados químicos de CDs naturais, mediante a substituição de algumas ligações de hidrogénio que formam os grupos hidroxílicos, melhorando assim as propriedades das CDs naturais como a solubilidade, a atividade hemolítica e a nefrotoxicidade.

Entre os derivados hidrofílicos das CDs naturais podemos distinguir dois grupos: as CDs neutras (como a HP β CD) e as ionizadas (como a SBE β CD). De uma forma geral, a eficácia de complexação é maior para as CDs derivadas. As derivadas com menor grau de substituição apresentam um maior efeito solubilizante e os derivados ionizados podem ser bons agentes solubilizantes se a carga da molécula estiver na posição mais afastada da cavidade hidrofóbica (Loftsson e Brewster, 1996).

Comparando com as CDs neutras, a complexação pode ser melhor quando a CD e o fármaco carregam cargas opostas, mas pode diminuir quando carregam a mesma carga (Loftsson e Brewster, 1996). No caso de fármacos ionizáveis, a presença da carga pode ter um papel significativo na complexação de fármacos/CD e uma mudança de pH na solução pode variar a constante de complexação. Em geral, os fármacos na forma iônica formam complexos mais fracos do que na forma não-iônica.

As mudanças de temperatura podem afetar a complexação do fármaco/CD. Na maioria dos casos, aumentar a temperatura diminui o valor da constante aparente de estabilidade do complexo, e este efeito foi relatado como sendo um possível resultado da redução das forças de interação fármaco/CD, tais como as Forças de Van der Waals e as forças hidrofóbicas, provocada pelo aumento da temperatura. Entretanto, mudanças de temperatura podem ter um efeito

insignificante quando a interação fármaco/CD está predominantemente associada a uma entropia dirigida.

O método de preparação pode afetar a complexação do fármaco/CD. A eficácia de um método depende da natureza do fármaco e em muitos casos, a secagem por pulverização, e a liofilização demonstraram ser os mais eficazes para o complexação de fármacos.

Em solução aquosa os complexos de inclusão dissociam-se, encontrando-se em equilíbrio as moléculas livres com as moléculas ligadas na cavidade da CD. Este é um processo dinâmico, no qual a molécula-hóspede se associa e dissocia constantemente da molécula-hospedeira (**Figuras 8**) (Stella et al., 1999; Szejtli, 1991).

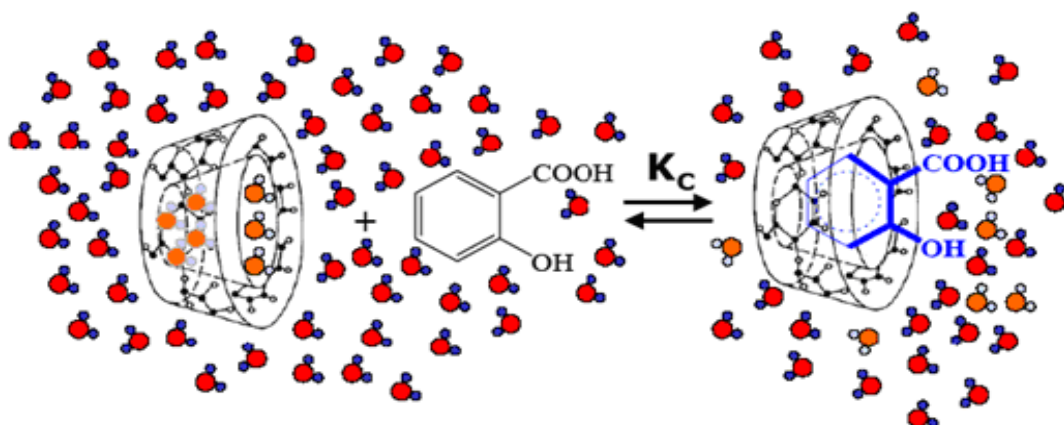


Figura 8. Representação esquemática da formação do complexo de inclusão. O ácido salicílico é a molécula hóspede e os círculos menores representam as moléculas de água (Fonte: Uyar, 2005).

Como já referido, o conceito de medicamento tem evoluído no sentido de permitir obter parâmetros farmacocinéticos adequados à ação pretendida, melhorando, assim, a eficácia do fármaco, prolongando o seu efeito ou aumentando o seu índice terapêutico. Os medicamentos clássicos não se

encontram adequados para atingir estes objetivos. Tanto as membranas biológicas quanto as propriedades físico-químicas de alguns dos fármacos usados na terapêutica são barreiras que é necessário contornar. Assim, surge a necessidade de se desenvolverem em novos sistemas de cedência de fármaco ao organismo (Davies, et al., 2000). As CDs são conhecidas por permitirem a encapsulação molecular de fármacos com características hidrofóbicas, alterando-lhes a solubilidade, aumentando a estabilidade e, em alguns casos, melhorando a biodisponibilidade (**Figura 9**) (Valentino, et al., 2008).

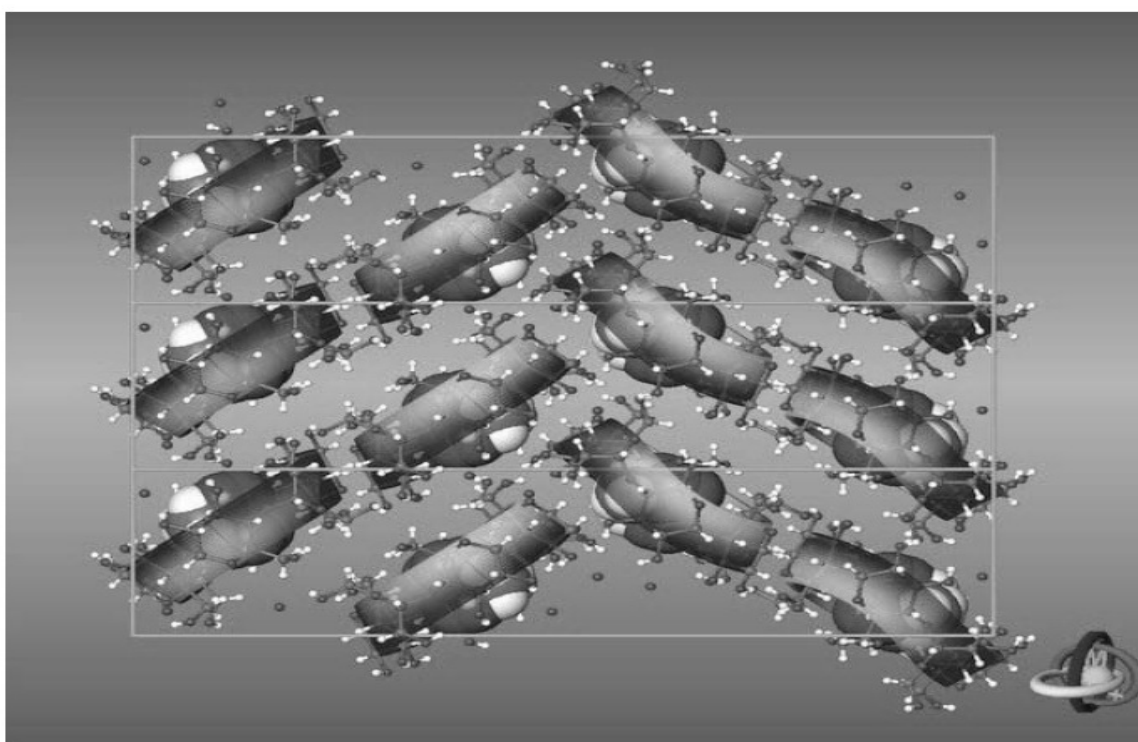


Figura 9. Complexo de inclusão fármaco- α -ciclodextrina (Adaptado de Nakagava, 2000).

2. OBJETIVOS:

O objetivo deste estudo foi realizar a avaliação da farmacocinética pré-clínica do complexo de inclusão sufentanil-hidroxipropil- β -ciclodextrina comparando com o sulfentanil livre.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Realização ensaios *in vivo*, em coelhos e em suínos, para determinar as concentrações plasmáticas e o perfil farmacocinético do complexo de inclusão, comparando-o com o fármaco livre, administrados por via intramuscular e intravenosa.
- Obtenção de dados pré-clínicos sobre a farmacocinética desta nova formulação de sufentanil com objetivo de realizar futuros testes clínicos.

3. MATERIAL E MÉTODOS:

3.1 Materiais:

Para confecção das formulações de sufentanil foram utilizados: citrato de sufentanil (cedido pela Cristália Ind. Quím. Farm. Ltda.), hidroxipropil- β -ciclodextrina/HP- β -CD adquirido junto à Roquette Ind. Farmac. (Cedex, France), tampão HEPES 20mM com NaCl 0,9% (Q-biogene).

Durante a coleta de sangue dos suínos foi utilizado ventilador mecânico na modalidade com fluxo à pressão (K. Takaoka Ind. Com. Ltda).

O equipamento utilizado para a obtenção das concentrações plasmáticas de sufentanil foi um espectrômetro de massas triplo-quadrupolar em sequência com fonte de ionização por eletrospray (Micromass Quattro LC®) acoplado com um cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu LC 20 AD. Para a condução e validação dos ensaios analíticos, foi utilizado o padrão analítico de citrato de sufentanil (Cerilliant-Certified Reference Materials/Analytical Reference Standards, Texas, EUA). Todos os demais reagentes são de grau analítico ou farmacêutico.

3.2 Formulações de Sufentanil:

O fármaco e o sistema de escolha utilizados foram:

-Analgésico opióide fenilpiperidínico: citrato de sufentanil;

-Sistema carreador: hidroxipropil- β -ciclodextrina/HP- β -CD. A HP- β -CD é um derivado sintético da beta-CD, utilizado na preparação de sistemas de liberação controlados destinados à administração parenteral e aprovado pelo FDA para uso humano;

-Complexo de inclusão: analgésico opióide sufentanil complexado com hidroxipropil- β -ciclodextrina nas razões molares de 1:1.

Em solução, os complexos foram preparados pela adição de quantidades apropriadas de sufentanil e de HP- β -CD (razão molar 1:1). A suspensão formada foi equilibrada por agitação, à temperatura ambiente, por um período de 24 horas,

resultando, assim, em uma solução límpida do complexo CD/sufentanil. Para a preparação de complexos sólidos, a solução foi liofilizada e guardada a -20°C para uso posterior (Dollo et al., 1998; Loftsson e Masson, 2001; Volobuef et al., 2009) com dissolução em tampão HEPES (20mM pH 7,4 com NaCl 150mM).

As preparações com sufentanil em meio aquoso nas mesmas concentrações que as formulações em CDs foram preparadas com tampão fosfato 5 mM contendo NaCl 154 mM em pH 7,4. Todas as formulações foram preparadas em câmara de fluxo laminar (com materiais e soluções autoclavados a 1 atm e 121°C, por 20 min).

3.3 FASE I: Modelo Animal- Coelhos:

Todos os protocolos experimentais em animais foram elaborados de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética Animal da Universidade São Francisco (Protocolo nº 001.12.09 - Anexo 1).

Para a FASE I deste trabalho, foram utilizados 12 coelhos albinos da raça Nova Zelândia, machos, com peso variando entre 2000 e 3000 g, submetidos a ciclos claro/escuro de 12 horas, com água e alimentação *ad libitum*, temperatura ambiente monitorada a $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ e aclimatados ao local de experimentação por pelo menos 7 dias. Os animais foram distribuídos aleatoriamente para receber os dois tratamentos propostos: injeção intramuscular ($10 \mu\text{g.kg}^{-1}$) em glúteo do fármaco livre ou complexado com HP- β -CD (n=6).

Neste estudo cego e randomizado, os animais foram colocados em um contensor para coelhos e em seguida foi feita a instalação de um cateter intravascular na orelha como via de acesso venoso. Foram coletadas amostras de 3 mL de sangue nos seguintes tempos: 0 - antes da injeção (“baseline”), 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420 e 480 minutos após a administração dos tratamentos. O tempo de coleta de cada amostra foi definido e ajustado de modo que obtivéssemos doze amostras entre o tempo zero (antes da administração) e 4

vezes o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) do sufentanil (aproximadamente 2h). Este esquema de progressão geométrica é comumente utilizado e fornece informações sobre a disposição da droga (Bourne, 1995). Logo após a colheita, a cânula foi lavada com uma mistura de anticoagulante (heparina sódica) e soro fisiológico, para evitar coagulação do sangue e obstrução da via de acesso. As amostras foram centrifugadas e o plasma separado foi armazenado a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a análise. Logo após a coleta do sangue, os animais foram sacrificados por aprofundamento da anestesia com sufentanil.

3.4 FASE II: Modelo Animal- Suínos:

Para a FASE II deste trabalho, foram utilizados 20 porcos da raça Landrace, machos com peso variando entre 20 e 30 Kg. Os animais eram alojados coletivamente, submetidos a ciclos claro/escuro de 12 horas, com água *ad libitum* e temperatura ambiente monitorada a $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$. A alimentação (ração) foi fornecida duas vezes por dia e a quantidade era determinada de acordo com a idade dos animais.

Todos os protocolos experimentais, assim como na FASE I, foram aprovados pela Comissão de Ética na Experimentação Animal da Universidade São Francisco (Protocolo nº 001.12.09 – Anexo 1).

Foram utilizados 10 animais que receberam os dois tratamentos propostos (fármaco livre e complexado com HP- β -CD) através de injeção intramuscular (em glúteo) em dias distintos. Os 10 animais restantes receberam os mesmos tratamentos propostos, porém a via de administração foi intravenosa. A dose de sufentanil aplicada foi de $5\text{ }\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Bernards et al., 2003).

Previamente à administração das formulações, era realizada sedação com a associação de Zolazepam e Tiletamina (65 mg, IM). A anestesia era induzida com injeção intravenosa de tiopental 2,5% (25 mg.kg^{-1}) e foi realizada a intubação traqueal, após realização da traqueostomia. Os animais eram ventilados mecanicamente na modalidade controlada com fluxo à pressão (K. Takaoka Ind. Com. Ltda) e a manutenção da anestesia foi feita com a infusão contínua de

tiopental ($5 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$) (Melo et al., 2009). Em seguida foi realizada a instalação de um cateter intravascular na veia marginal da orelha com dispositivo de polietileno de calibre nº 25 (Angiocath, BD) como via de acesso venoso primário. Foi realizado posteriormente flebotomia por acesso na veia mamária ventral de cada animal, a fim de garantir amostras de sangue suficientes para todas as coletas programadas. O tempo de coleta de cada amostra foi o mesmo utilizado nos coelhos na FASE I. Logo após a coleta do sangue, o catéter era lavado com uma mistura de anticoagulante (heparina sódica) e soro fisiológico, para evitar coagulação do sangue e obstrução da via de acesso. As amostras foram coletadas com a adaptação na cânula do cateter de um tubo a vácuo (Vacuette®, Greiner Bio-one, lote nº Ao10708), contendo um anticoagulante (EDTA). As amostras de plasma foram congeladas (-70°C) para análise posterior. Os animais foram sacrificados por aprofundamento da anestesia com sufentanil.

3.5 Preparação e análise das amostras por espectrometria de massas:

As condições cromatográficas e o preparo das amostras foram as mesmas para as duas fases do estudo.

O equipamento utilizado para a obtenção das concentrações plasmáticas de sufentanil foi um espectrômetro de massas triplo-quadrupolar em sequência com fonte de ionização por eletrospray (Micromass Quattro LC®) acoplado com um cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu LC 20 AD.

As amostras de plasma ($200\mu\text{L}$) foram descongeladas em temperatura ambiente e misturadas com o padrão interno (PI) de lamivudina ($3 \mu\text{g/mL}$) previamente a extração. As amostras misturadas com o PI foram agitadas por 2 minutos para garantir solubilização do PI no plasma. Em seguida foram adicionados $1000 \mu\text{L}$ de acetato de etila (1:1) e a mistura foi agitada por 5 minutos, centrifugada a 14000 rpm por 5 minutos a -4°C . Foram transferidos $700 \mu\text{L}$ da fase orgânica para um microtubo de 2 mL e em seguida a amostra foi seca em fluxo de nitrogênio. A amostra foi ressuspensa em $200 \mu\text{L}$ da fase móvel, agitada

por 1 minuto e esta solução foi transferida para o insert (150 μ L) para posterior injeção no sistema CLAE-EM/EM.

Foram injetados 5 μ L desta mistura no CLAE-EM/EM. Foi utilizada uma coluna Phenomenex C18 de 5 μ m (100 x 4,6 mm) e a fase móvel utilizada era composta de acetonitrila e água (80:20 v/v) com adição de 0,2% de ácido fórmico. O tempo de corrida foi de 2,5 minutos, sendo o tempo de retenção do sufentanil 0,67 minutos.

A detecção foi feita pelo modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM), que consiste na separação no primeiro analisador (Q1) da molécula-alvo ionizada e fragmentação no segundo analisador (Q2), seguida da análise do fragmento específico no terceiro analisador (Q3). A amostra de sufentanil foi monitorada em MRM 387,1>238,1, e o PI em MRM 229,9>111,9.

O software WinNonlin (WinNonlin version 5.3, Pharsight Corporation, CA, USA) foi utilizado para calcular os parâmetros farmacocinéticos: concentração plasmática máxima (C_{max}), Tempo para obtenção da concentração máxima (T_{max}), Área sob a curva (ASC) do tempo 0 até 480 e de 0 a infinito, tempo de meia vida de eliminação (t_{1/2} beta), clearance (CL) e Mean Residence time (MRT).

3.6 Validação da metodologia:

Os parâmetros foram determinados e avaliados separadamente nas FASES I e II, de acordo com os preceitos da resolução 899 de 2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Foi utilizado um “pool” de plasma de coelhos e de porcos, coletados com um cateter intravascular instalado na orelha de 3 animais. O plasma foi congelado a -70°C até a utilização na validação da metodologia. Durante a validação da metodologia analítica foram avaliados os parâmetros descritos a seguir:

Especificidade: capacidade do método de medir um composto em presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz. Para confirmar a especificidade do método, foram analisadas amostras branco (n=6) de um pool de plasma dos animais, sendo que

quatro amostras não apresentavam hemólise. Foi observada a presença de interferentes e de supressão de íons no tempo de retenção do fármaco e do PI.

Linearidade: É a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado. A análise da linearidade foi feita com no mínimo 6 concentrações diferentes. Foram construídas 3 curvas de calibração que incluíram a análise da amostra branco, amostra Branco+PI e mais seis amostras com valores na faixa de 0,1 a 50 ng/mL em plasma de coelhos. Durante a fase II também foram construídas 3 curvas de calibração que incluíram a análise da amostra branco, amostra Branco+PI e mais seis amostras com valores na faixa de 0,05 a 120 ng/mL em plasma de porco. O desvio deve ser menor ou igual a 20% em relação à concentração nominal para o Limite de Quantificação (LQ) e deve ser menor ou igual a 15% em relação à concentração nominal para as outras concentrações da curva de calibração. O coeficiente de correlação linear deve ser no mínimo $r=0,98$.

Precisão: É a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Esta é considerada como repetibilidade ou precisão intra-corrída e precisão intermediária ou inter-corrídas. A precisão intra-corrída é a concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo instrumentador e a mesma instrumentação. Durante a FASE I, esta análise foi feita com três concentrações alta (CA 40 ng/mL), média (CM 20 ng/mL) e baixa (CB 0,3 ng/mL) em três replicatas, ou seja, 9 determinações. A precisão intermediária (ou inter-corrídas) é a concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, com instrumentador diferente e/ou equipamentos diferentes. Esta análise também foi feita com três concentrações alta, média e baixa em três replicatas, em dois dias diferentes, ou seja, 18 determinações. A precisão não deve apresentar valores de desvio superiores a 15%, exceto para o LQ, para o qual se admite valores menores ou iguais a 20%. Na FASE II, a análise também foi feita com três concentrações alta (CA 96 ng/mL), média (CM 48 ng/mL) e baixa (CB 0,15 ng/mL).

Exatidão: É expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente. A exatidão do método foi determinada na FASE I e II com o uso das 3 concentrações relatadas anteriormente (CA, CB e CM) com cinco determinações por concentração. A exatidão foi determinada em uma mesma corrida analítica (exatidão intra-corrída) e em corridas diferentes (exatidão inter-corrídas) como a precisão. O desvio não deve exceder 15%, exceto para o limite de quantificação, para o qual se admite desvios menores ou iguais a 20%.

Limite de quantificação (LQ): É a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. Durante a Fase I e Fase II a resposta de pico para o LQ foi, no mínimo, 5 vezes maior que qualquer interferência na amostra branco no tempo de retenção do fármaco. O pico de resposta do fármaco no LQ foi identificável e reproduzível com precisão de 20% e exatidão entre 80-120% em relação à concentração nominal do padrão, através da análise de cinco amostras de padrões.

3.7 Análise Estatística:

Os dados obtidos na FASE I e FASE II foram expressos em média \pm desvio padrão e as diferenças estatísticas determinadas através de teste t bicaudal não pareado. A significância estatística foi definida como $p < 0,05$. Os softwares utilizados serão GraphPad InStat e GraphPad Prism (Graph Pad Software Inc., versão 3.0, 1997 – 1998).

O software WinNonlin (WinNonlin version 5.3, Pharsight Corporation, CA, USA) foi utilizado para calcular os parâmetros farmacocinéticos: concentração plasmática máxima (C_{max}), Tempo para obtenção da concentração máxima (T_{max}), Área sob a curva (ASC) do tempo 0 até 480 e de 0 a infinito e tempo de meia vida ($t_{1/2}$ beta), volume de distribuição (V_d), MRT e clearance (CL).

4. RESULTADOS:

4.1 Validação da Metodologia:

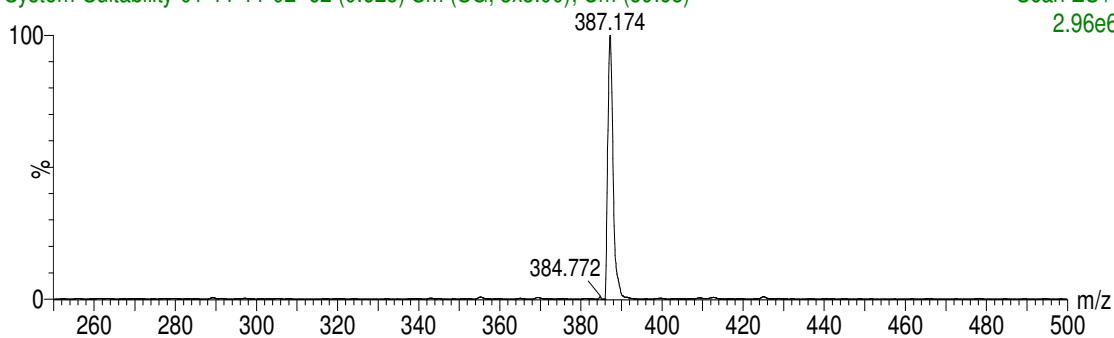
Foi realizada a infusão direta, de sufentanil no solvente acetonitrila na concentração de 1 µg/mL, no equipamento com o objetivo de confirmação da massa nominal utilizando a função scan MS. Operando o espectrômetro de massas em modo positivo obteve-se o espectro de massa de sufentanil, a **Figura 10** mostra o espectro de EM (A) e EM/EM (B) para o sufentanil. A **Figura 11** mostra o espectro de EM (A) e EM/EM (B) para a lamivudina PI.

Sufentanil 1000 ng/mL

System-Suitability-01-11-11-02 62 (0.625) Sm (SG, 3x3.00); Cm (59:68)

Scan ES+
2.96e6

A



Sufentanil 1000 ng/mL

System-Suitability-01-11-11-03 61 (0.614) Sm (SG, 3x3.00); Cm (58:65)

Daughters of 387ES+
6.67e5

B

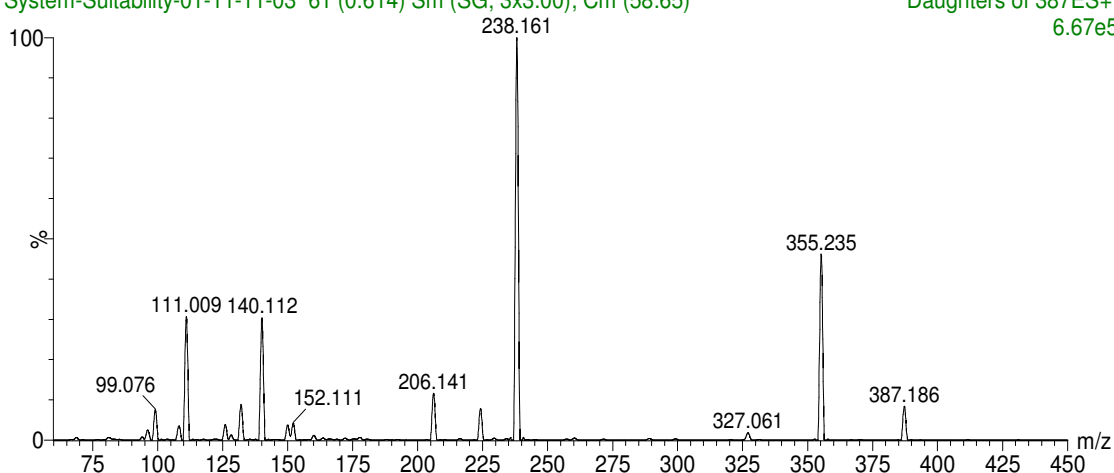


Figura 10: (A) Espectro de massas na função EM e (B) Espectro de EM/EM para SUF.

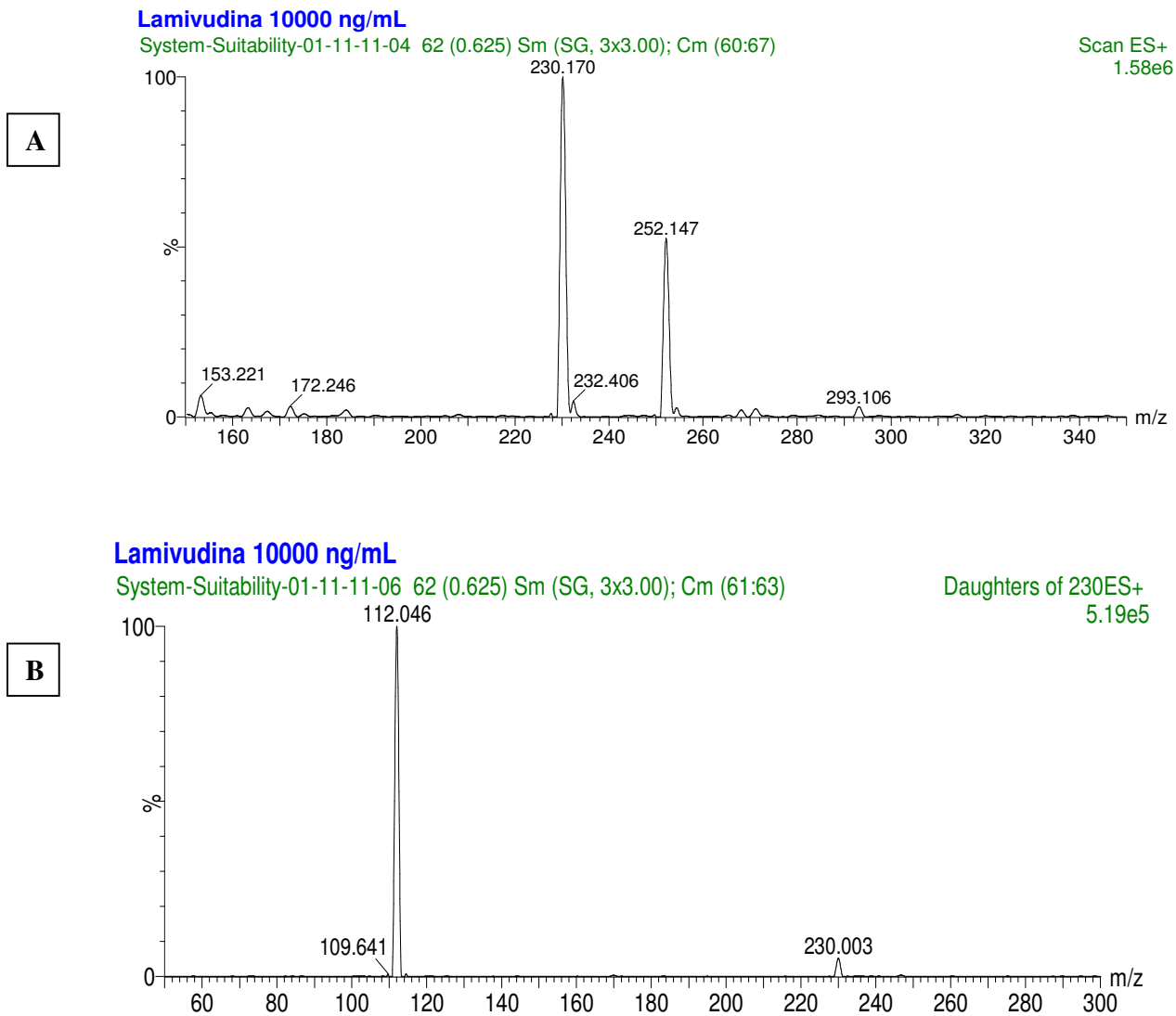


Figura 11: (A) Espectro de massas na função EM e (B) Espectro de EM/EM para lamivudina PI.

Especificidade: Para confirmar a especificidade do método, foram analisadas, separadamente, amostras de plasma (branco) obtidas de três porcos e três coelhos, sendo quatro amostras normais, uma com o plasma lipêmico e a outra hemolisada. Na **Figura 12** estão apresentadas as amostras de plasma branco de porcos testadas utilizando-se os procedimentos de extração e as condições cromatográficas propostas, para avaliar interferência no tempo de retenção da sufentanil e do padrão interno. Em ambas as fases não foram encontradas interferências no tempo de retenção do fármaco e padrão interno.

Pool 1

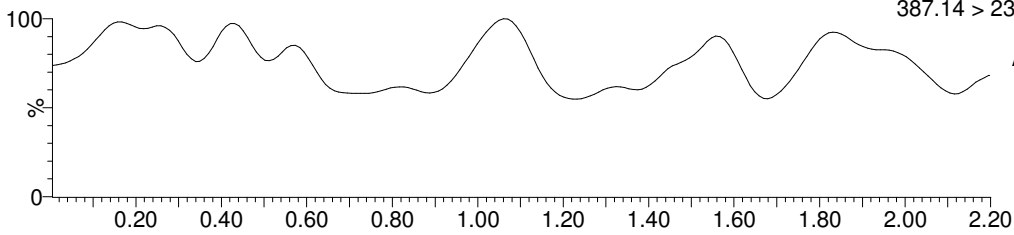
19-Oct-2011

18:56:29

A

Seletividade-01 Sm (Mn, 4x3)

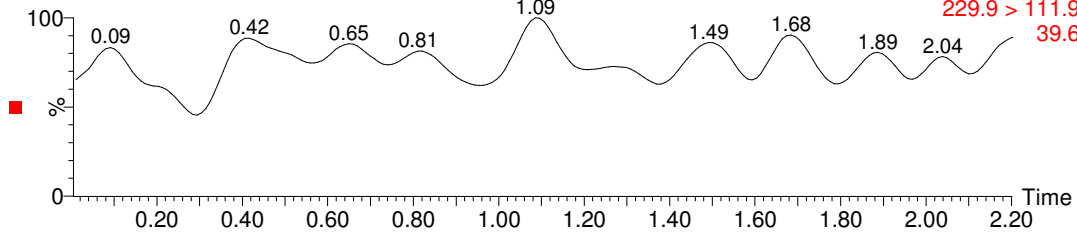
1: MRM of 1 Channel ES+
387.14 > 238.05
55.5
Area



B

Seletividade-01 Sm (Mn, 4x3)

2: MRM of 1 Channel ES+
229.9 > 111.9
39.6



Pool 2

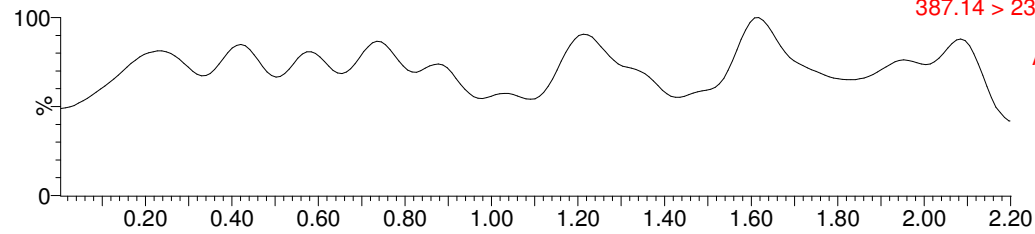
19-Oct-2011

18:59:23

C

Seletividade-02 Sm (Mn, 4x3)

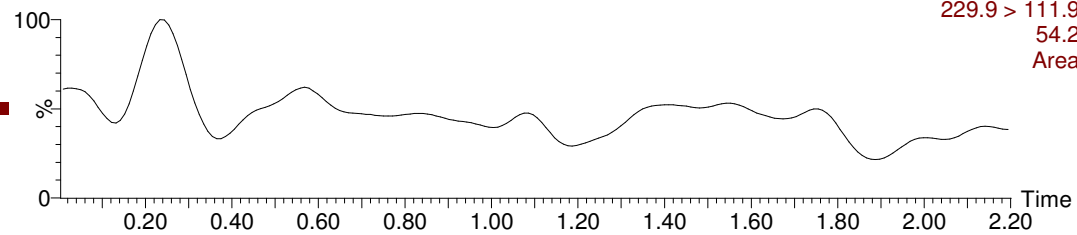
1: MRM of 1 Channel ES+
387.14 > 238.05
39.3
Area



D

Seletividade-02 Sm (Mn, 4x3)

2: MRM of 1 Channel ES+
229.9 > 111.9
54.2
Area



Pool 3

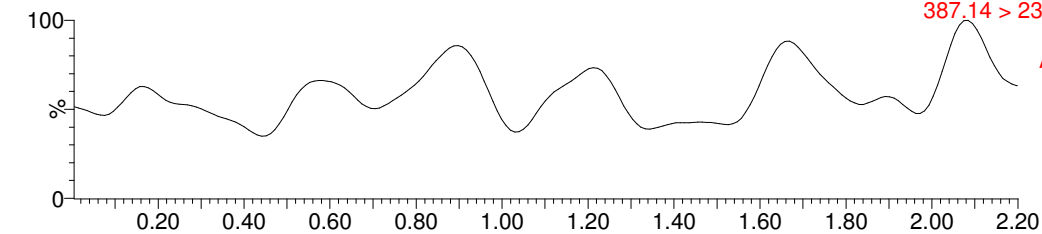
19-Oct-2011

19:02:17

E

Seletividade-03 Sm (Mn, 4x3)

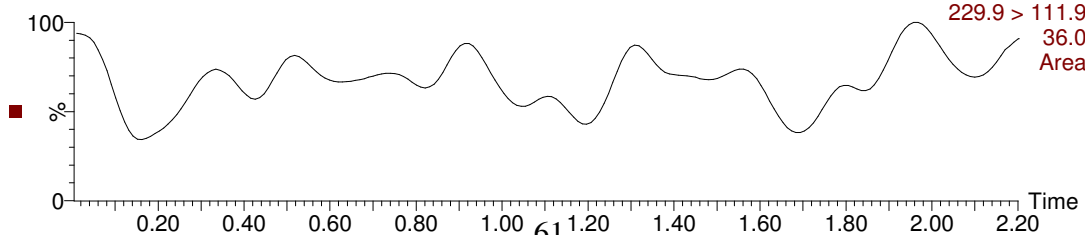
1: MRM of 1 Channel ES+
387.14 > 238.05
51.0
Area



F

Seletividade-03 Sm (Mn, 4x3)

2: MRM of 1 Channel ES+
229.9 > 111.9
36.0
Area



Pool 4

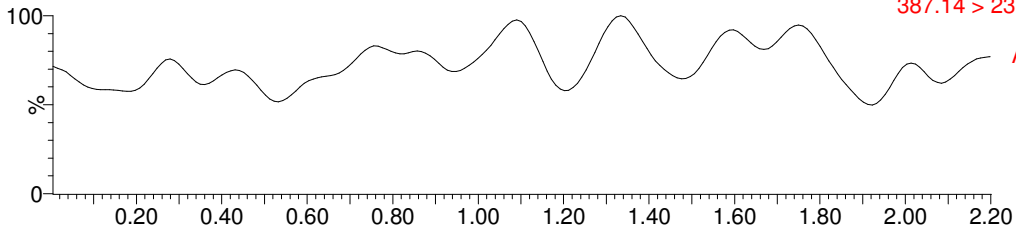
19-Oct-2011

19:05:09

G

Seletividade-04 Sm (Mn, 4x3)

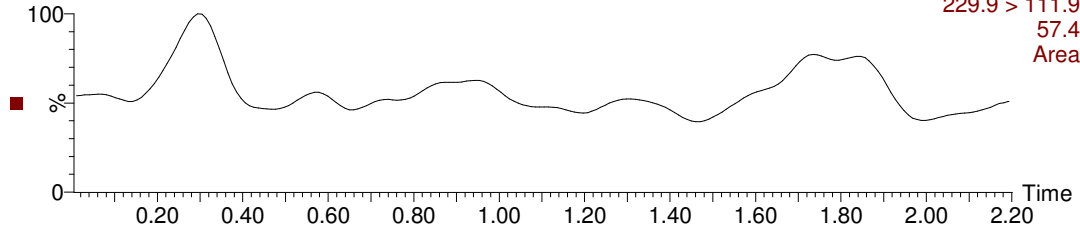
1: MRM of 1 Channel ES+
387.14 > 238.05
54.6
Area



H

Seletividade-04 Sm (Mn, 4x3)

2: MRM of 1 Channel ES+
229.9 > 111.9
57.4
Area



Pool 5 Lipemico

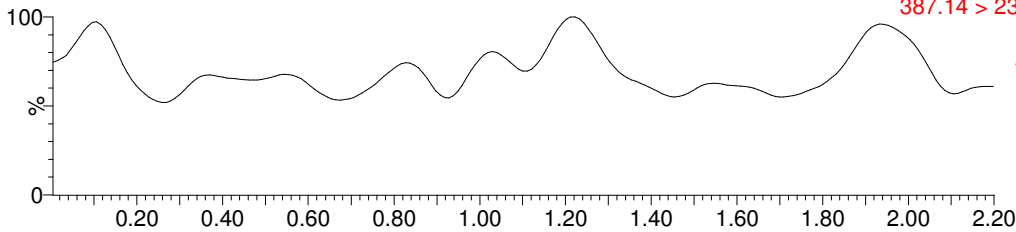
19-Oct-2011

19:08:03

I

Seletividade-05 Sm (Mn, 4x3)

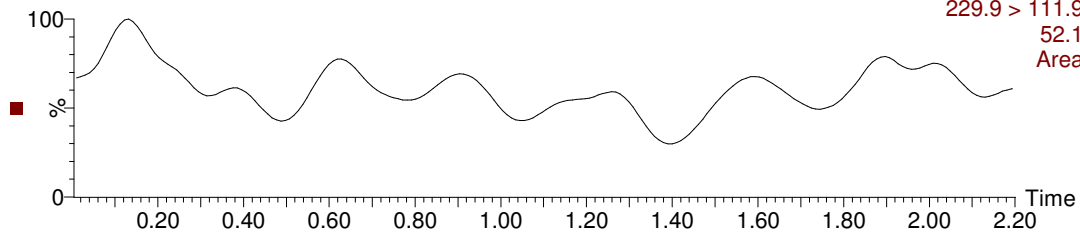
1: MRM of 1 Channel ES+
387.14 > 238.05
59.2
Area



J

Seletividade-05 Sm (Mn, 4x3)

2: MRM of 1 Channel ES+
229.9 > 111.9
52.1
Area



Pool 6 Hemolisado

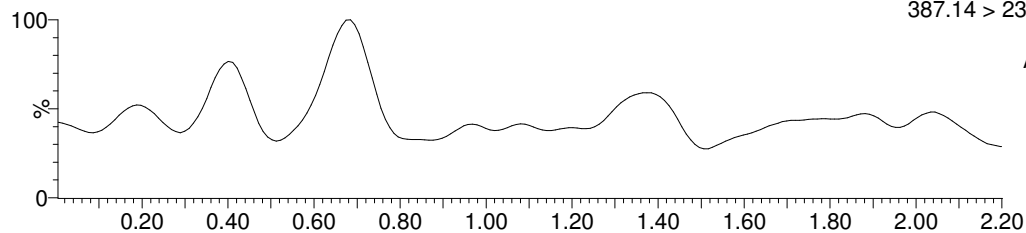
19-Oct-2011

19:10:56

L

Seletividade-06 Sm (Mn, 4x3)

1: MRM of 1 Channel ES+
387.14 > 238.05
49.5
Area



M

Seletividade-06 Sm (Mn, 4x3)

2: MRM of 1 Channel ES+
229.9 > 111.9
40.7
Area

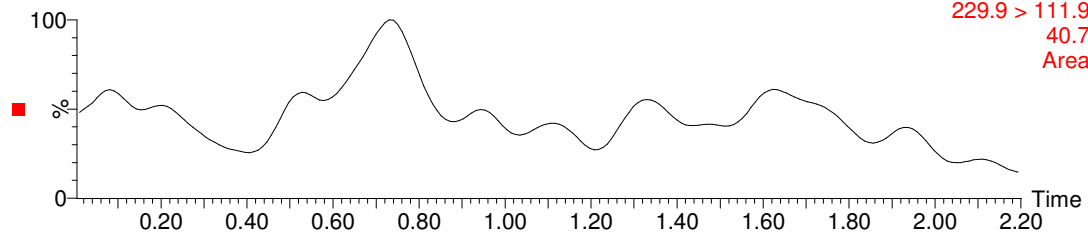


Figura 12: (A), (C), (E), (G) Cromatograma referente ao branco do analito (plasma normal). (B), (D), (F), (H) Branco do padrão interno (plasma normal); (I) branco do analito (plasma lipêmico); (J) branco do padrão interno (plasma lipêmico); (L) Branco do analito (plasma hemolisado); (M) branco do padrão interno (plasma hemolisado).

Linearidade: A curva de calibração do sufentanil foi gerada através da análise de quantidades crescentes de fármaco. As concentrações foram definidas em testes preliminares, incluindo a primeira quantificação de amostras, levando-se em consideração a sensibilidade do método e a faixa prevista das concentrações das amostras a serem determinadas. Para definir a relação entre a resposta do instrumento e a concentração conhecida do analito, foram geradas três curvas de calibração com seis padrões contendo o fármaco e padrão interno. Durante a Fase I foi observada uma resposta adequada na faixa de 0,1 a 50 ng/mL. A curva de calibração apresentou excelente linearidade com coeficiente de correlação $r=0.99$. Os desvios observados foram menores que 20% em relação à concentração nominal para o Limite de quantificação (LQ=0,1 ng/mL) e menores que 15% em relação à concentração nominal para as outras concentrações da curva de calibração. A **Tabela 8** mostra curva os valores de concentração obtidos com a curva calibração obtida nestes experimentos.

Tabela 8. Curva de Calibração (Linearidade) - FASE I

<i>Fármaco</i>	<i>Concentração nominal (ng/mL)</i>	<i>Concentração média experimental (ng/mL)</i>	<i>CV (%)</i>	<i>Exatidão (%)</i>
<i>Sufentanil</i>	0,10	0,10	0,57	100,66
<i>Sufentanil</i>	1,00	0,912	1,540	91,233
<i>Sufentanil</i>	5	5,382	5,313	107,647
<i>Sufentanil</i>	10	10,203	2,964	102,030
<i>Sufentanil</i>	25	24,889	3,266	99,555
<i>Sufentanil</i>	50	49,416	4,016	98,831

Equação da curva de calibração 1: $y = 0,166938x - 0,000900912$ ($r = 0,998898$)

Equação da curva de calibração 2: $y = 0,207592x - 0,000178831$ ($r = 0,997364$)

Equação da curva de calibração 3: $y = 0,211654x - 0,000245814$ ($r = 0,99777$)

Para a validação do método usado na FASE II foi observada uma resposta adequada na faixa de 0,05 a 120 ng/mL. A curva de calibração apresentou excelente linearidade com coeficiente de correlação $r = 0,99$. Os desvios observados também foram menores que 20% para o Limite de quantificação (LQ=0,05 ng/mL) e menores que 15% para as outras concentrações da curva de calibração. A **Tabela 9** mostra curva os valores de concentração obtidos com a curva calibração obtida nestes experimentos.

Tabela 9. Curva de Calibração (Linearidade)- FASE II

Fármaco	Concentração nominal (ng/mL)	Concentração média experimental (ng/mL)	CV (%)	Exatidão (%)
Sufentanil	0,05	0,050	0,000	100,000
Sufentanil	1	1,033	7,023	103,333
Sufentanil	10	9,759	1,983	97,593
Sufentanil	20	19,475	11,150	97,375
Sufentanil	60	60,944	4,623	101,574
Sufentanil	120	120,322	9,298	100,269

Equação da curva de calibração 1: $y = 0,206346x + 0,00305323$ ($r = 0,995257$)

Equação da curva de calibração 2: $y = 197096x - 0,000649394$ ($r = 0,998909$)

Equação da curva de calibração 3: $y = 0,208156x + 0,00236397$ ($r = 0,999246$)

Exatidão e Precisão: Precisão e exatidão do método utilizado na FASE I foram calculados pelas variações intra e inter-lote de três concentrações distintas, alta (CA 40 ng/mL), média (CM 20 ng/mL) e baixa (CB 0,3 ng/mL), utilizando-se várias determinações por concentração. A precisão e a exatidão foram determinadas em um mesmo lote (intra-lote) e em lotes diferentes (inter-lotes). A precisão intra-lotes apresentou valores na faixa de 2,42 a 4,86% e a inter-lotes de 2,23 a 3,31%. A exatidão apresentou valores de 98,49 a 102,39% (intra-lotes) e 95,05 a 104,80% (inter-lotes). Durante a FASE II a precisão e exatidão do método foram calculados pelas variações intra e inter-lote das concentrações alta (CA 96 ng/mL), média (CM 48 ng/mL) e baixa (CB 0,15 ng/mL), utilizando-se várias determinações por concentração. A precisão intra-lotes da FASE II apresentou valores na faixa de 3,73 a 9,49% e a inter-lotes de 2,97 a 3,80%. A exatidão apresentou valores de 97,66 a 108,95% (intra-lotes) e 101,11 a 105,89% (inter-lotes) seguindo, portanto, os preceitos da ANVISA.

Limite de quantificação (LQ): O LQ foi determinado como o menor valor mensurável de sufentanil com um desvio padrão de 20% e exatidão entre 80-120% em relação à concentração nominal do padrão, através da análise de, no mínimo, cinco amostras de padrões. O LQ da FASE I foi de 0,1 ng/mL e da FASE II foi de 0,05 ng/mL. As **Tabelas 10,11,12,13** mostram os resultados da precisão e exatidão intra e inter-lote do LQ de sufentanil das FASE I e II, respectivamente.

Tabela 10. Resultados das análises intra-lote do controle de qualidade LQ–FASE I

	LQ (1)	LQ (2)	LQ (3)
Média	0,095	0,101	0,115
DP	0,006	0,013	0,002
CV (%)	6,032	12,605	1,888
Exatidão(%)	94,800	100,600	114,800

Concentração nominal: LQ= 0,1 ng/mL, DP= desvio padrão e CV= coeficiente de variação

Tabela 11. Resultados inter-lotes do controle de qualidade LQ – FASE I

	LQ (1)	LQ (2)	LQ (3)
Réplicas	0,095	0,101	0,115
Média		0,103	
DP		0,010	
CV (%)		9,951	
Exatidão (%)		103,400	

Concentração nominal: LQ=0,1 ng/mL, DP= desvio padrão e CV= coeficiente de variação média das réplicas inter-lotes de LQ (1), LQ (2) e LQ (3).

Tabela 12. Resultados das análises intra-lote do controle de qualidade LQ– FASE II

	LQ (1)	LQ (2)	LQ (3)
Média	0,050	0,046	0,045
DP	0,004	0,007	0,002
CV (%)	7,639	14,330	4,329
Exatidão(%)	99,000	92,333	89,667

Concentração nominal: LQ= 0,05 ng/mL, DP= desvio padrão e CV= coeficiente de variação

Tabela 13. Resultados das análises inter-lotes do controle de qualidade LQ – FASE II

	LQ (1)	LQ (2)	LQ (3)
Réplicas	0,050	0,046	0,045
Média		0,047	
DP		0,002	
CV (%)		5,132	
Exatidão (%)		93,667	

Concentração nominal: LQ=0,05 ng/mL, DP= desvio padrão e CV= coeficiente de variação média das réplicas inter-lotes de LQ (1), LQ (2) e LQ (3).

Os resultados obtidos na validação do método estão de acordo com os preceitos da resolução 899 de 2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e indicam que os métodos são altamente específicos e seletivos na faixa analítica avaliadas durante as duas fases. Além disso, o método descrito provou ser rápido (tempo de corrida analítica de 2,5 minutos) e adequado para dosagens de sufentanil em coelhos e porcos.

4.2 Concentração Plasmática de sufentanil em coelhos e porcos:

A concentração plasmática medida após a injeção intramuscular de SUF em coelhos foi maior que a obtida com a formulação de SUF_{HP-β-CD} em todos os períodos analisados ($p < 0,05$), com exceção do tempo 360 minutos. O **Quadro 1** mostra a concentração média de sufentanil (ng/mL) obtida após a injeção das formulações nos coelhos.

Quadro 1: Concentração (média ± desvio padrão) de sufentanil (ng/mL) medida no plasma de coelhos após a injeção intramuscular das diferentes formulações (SUF e SUF_{HP-β-CD}).

Tempo	SUF	SUF _{HP-β-CD}
0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
15	7,44 ± 4,91	1,41 ± 1,16*
30	4,49 ± 3,20	1,04 ± 0,87*
45	3,60 ± 2,06	0,76 ± 0,65**
60	3,71 ± 1,91	0,51 ± 0,46**
90	2,42 ± 1,55	0,45 ± 0,33**
120	1,86 ± 2,12	0,33 ± 0,24*
180	0,63 ± 0,31	0,28 ± 0,17*
240	0,55 ± 0,18	0,24 ± 0,16**
300	0,60 ± 0,37	0,23 ± 0,15*
360	0,51 ± 0,29	0,21 ± 0,13
420	0,48 ± 0,28	0,18 ± 0,11*
480	0,37 ± 0,16	0,16 ± 0,10*

Nota: Análise Estatística: $p < 0,001$ [***], $p < 0,01$ [**], $p < 0,05$ [*], $p > 0,05$ [não significativo].

A **Figura 13** mostra o gráfico de concentração plasmática média *versus* tempo, após a injeção das duas formulações em coelhos.

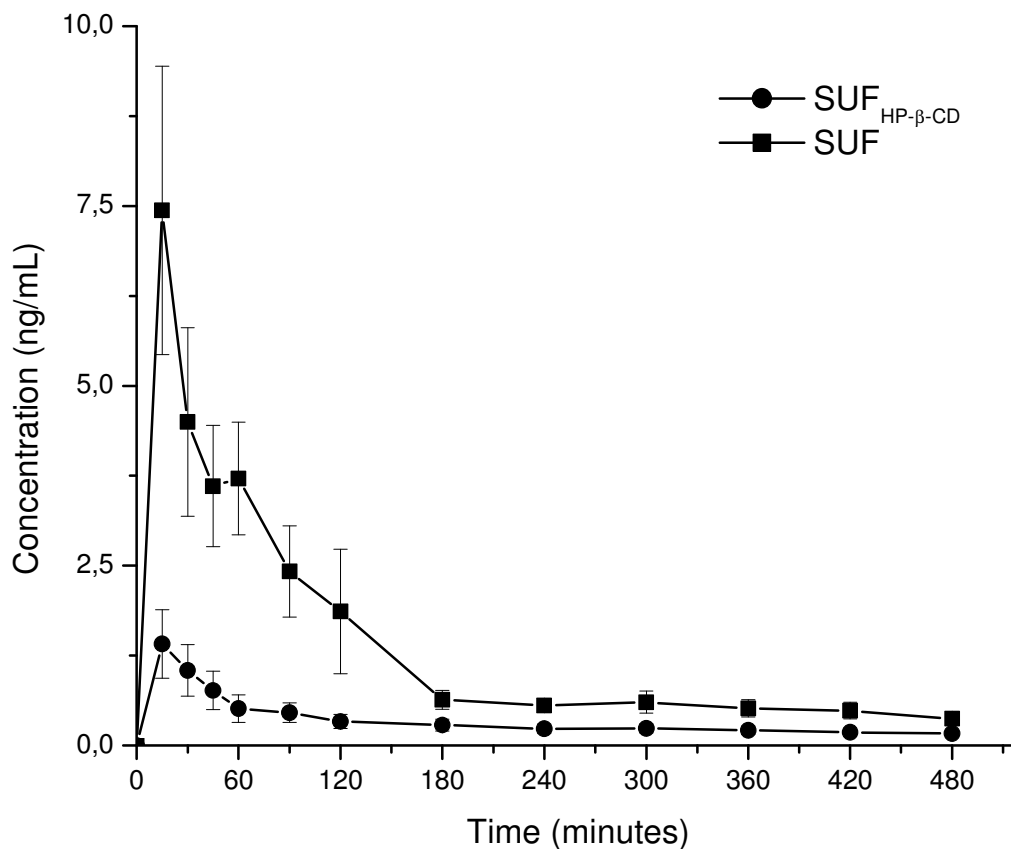


Figura 13: Concentração plasmática média (\pm erro padrão) *versus* tempo após a injeção das duas formulações de sufentanil em coelhos.

Os parâmetros farmacocinéticos C_{max} , ASC_{0-480} , $ASC_{0-\infty}$, CL, MRT e V_d obtidos após a injeção IM em coelhos apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o fármaco livre e o complexado com CD. A **Tabela 14** mostra os parâmetros obtidos.

Tabela 14. Parâmetros farmacocinéticos [média ± desvio padrão] após a injeção intramuscular das diferentes formulações (SUF, SUF_{HP-β-CD}) em coelhos.

Parâmetro (média ± DP):	SUF	SUF_{HP-β-CD}
C_{max} (ng/mL)	7,82 ± 4,75	1,50 ± 1,17*
T_{max} (min)	0,41 ± 0,30	0,29 ± 0,10
ASC₀₋₄₈₀ (ng-min/mL)	10,86 ± 4,44	2,70 ± 1,83**
ASC_{0-∞} (ng-min/mL)	12,70 ± 4,38	4,77 ± 2,53**
t_{1/2} beta (min)	3,23 ± 2,08	9,67 ± 10,96
CL (L/h)	2,71 ± 1,27	7,93 ± 4,22*
MRT (h)	2,15 ± 0,55	3,02 ± 0,68*
V_d (L)	12,89 ± 10,42	89,57 ± 75,67*

Nota: Análise Estatística: p<0.001 [***], p< 0.01[**], p<0.05[*], p>0.05 [não significativo].

A concentração plasmática medida após a injeção intramuscular (IM) de SUF em porcos foi maior que a obtida com a formulação de SUF_{HP-β-CD} em todos os períodos analisados, com exceção do tempo 15 minutos (p<0,05). A concentração no tempo 420 min. não apresentou diferenças significativas entre os grupos (p>0,05). O **Quadro 2** mostra a concentração média de sufentanil (ng/mL) obtida após a injeção intramuscular das formulações nos porcos.

Quadro 2. Concentração (média ± desvio padrão) de sufentanil (ng/mL) medida no plasma de porcos após a injeção intramuscular das diferentes formulações (SUF e SUF_{HP-β-CD})

Tempo	SUF	SUF_{HP-β-CD}
0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
15	0,89 ± 2,84	1,46 ± 0,37***
30	2,20 ± 2,84	1,01 ± 0,06***
45	1,66 ± 1,59	0,85 ± 0,21***
60	1,71 ± 1,60	0,76 ± 0,09***
90	1,18 ± 0,89	0,51 ± 0,13**
120	0,98 ± 0,77	0,43 ± 0,17**
180	0,59 ± 0,55	0,31 ± 0,14**
240	0,42 ± 0,44	0,23 ± 0,07**
300	0,36 ± 0,44	0,21 ± 0,09**
360	0,35 ± 0,46	0,19 ± 0,06**
420	0,39 ± 0,57	0,36 ± 0,47
480	0,45 ± 0,72	0,15 ± 0,03***

Nota: Análise Estatística: p<0.001 [***], p< 0.01[**], p<0.05[*], p>0.05 [não significativo].

A **Figura 14** mostra o gráfico de concentração plasmática média *versus* tempo, após a injeção intramuscular das duas formulações nos suínos.

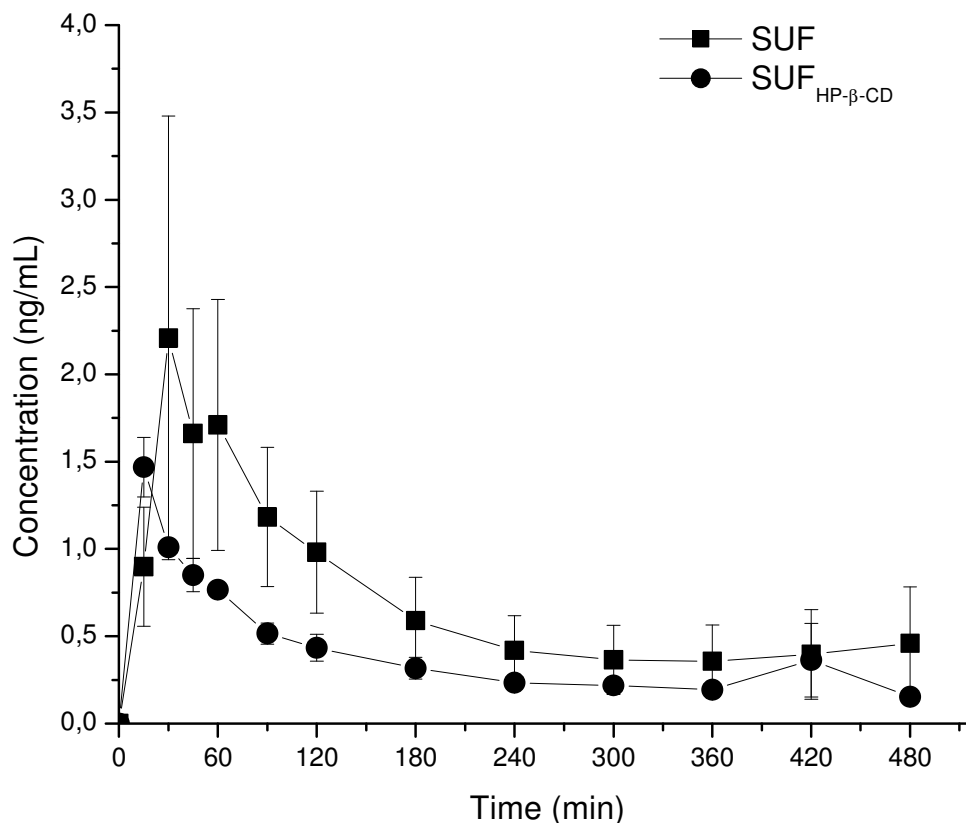


Figura 14: Concentração plasmática média (\pm erro padrão) *versus* tempo após a injeção intramuscular das duas formulações de sufentanil em suínos.

A concentração plasmática medida após a injeção intravenosa (IV) de SUF em porcos foi maior que a obtida com a formulação de SUF_{HP-β-CD} em todos os períodos analisados, havendo diferenças significativas nos tempos 15, 30, 45, e 90 min. ($p < 0,05$). Já as concentrações nos tempos 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420 e 480 min. não apresentaram diferenças significativas entre os grupos ($p > 0,05$). O **Quadro 3** mostra a concentração média de sufentanil (ng/mL) obtida após a injeção endovenosa das formulações nos porcos.

Quadro 3: Concentração (média ± desvio padrão) de sufentanil (ng/mL) medida no plasma de porcos após a injeção intravenosa das diferentes formulações (SUF e SUF_{HP-β-CD}).

Tempo	SUF	SUF_{HP-β-CD}
0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
15	152,80 ± 53,60	38,82 ± 11,49**
30	85,80 ± 24,51	25,81 ± 13,39*
45	66,21 ± 18,18	9,34 ± 4,18**
60	46,50 ± 8,03	6,39 ± 5,90
90	35,24 ± 13,40	7,71 ± 5,90*
120	32,16 ± 18,27	4,90 ± 5,52
180	15,84 ± 3,99	2,66 ± 2,37
240	12,27 ± 6,36	1,27 ± 1,62
300	11,37 ± 8,59	1,85 ± 2,73
360	7,33 ± 4,54	1,77 ± 1,56
420	7,03 ± 7,34	1,47 ± 1,62
480	5,14 ± 5,64	1,04 ± 1,28

Nota: Análise Estatística: $p < 0.001$ [***], $p < 0.01$ [**), $p < 0.05$ [*], $p > 0.05$ [não significativo].

A **Figura 15** mostra o gráfico de concentração plasmática média *versus* tempo, após a injeção intravenosa das duas formulações em suínos.

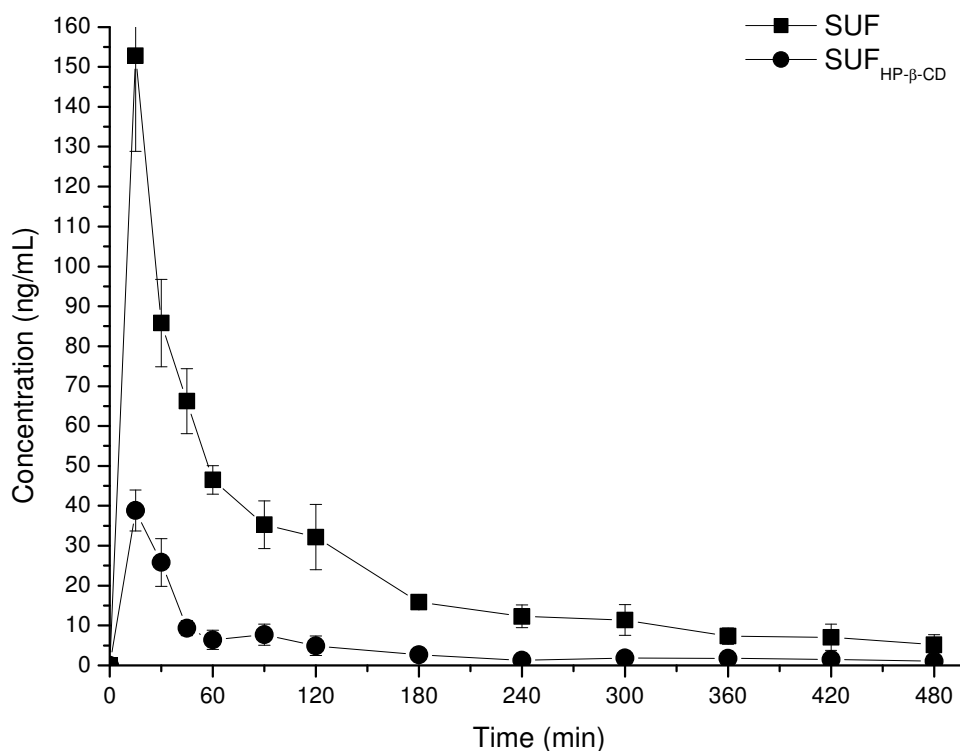


Figura 15: Concentração plasmática média (\pm erro padrão) *versus* tempo após a injeção intravenosa das duas formulações de sufentanil em suínos.

Os parâmetros farmacocinéticos obtidos após a injeção IM em porcos não apresentaram diferenças significativas entre si. A **Tabela 15** mostra os parâmetros obtidos.

Tabela 15. Parâmetros farmacocinéticos [média ± desvio padrão] após a injeção intramuscular das diferentes formulações (SUF, SUF_{HP-β-CD}) em porcos.

Parâmetro (Média ± DP):	SUF	SUF _{HP-β-CD}
C _{max} (ng/mL)	2,43 ± 2,76	1,46 ± 0,37
T _{max} (min)	0,60 ± 0,28	1,60 ± 3,01
ASC ₀₋₄₈₀ (ng-min/mL)	5,51 ± 5,42	3,10 ± 0,79
ASC _{0-∞} (ng-min/mL)	55,05 ± 96,42	40,67 ± 48,37
t _{1/2 beta} (min)	2,65 ± 0,82	2,55 ± 0,09
CL (L/h)	40,06 ± 37,86	35,76 ± 17,67
MRT (h)	2,61 ± 0,48	2,77 ± 0,61
V _d (L)	144,52 ± 148,07	129,98 ± 57,77

Nota: Análise Estatística: p<0.001 [***], p< 0.01[**], p<0.05[*], p>0.05 [não significativo].

Os parâmetros farmacocinéticos C_{max}, ASC₀₋₄₈₀ e V_d, obtidos após a injeção IV em porcos, apresentaram diferenças significativas. O **Quadro 16** mostra os parâmetros obtidos.

Tabela 16. Parâmetros farmacocinéticos [média ± desvio padrão] após a injeção intravenosa das diferentes formulações (SUF, SUF_{HP-β-CD}) em porcos.

Parâmetro (média ± dp):	SUF	SUF _{HP-β-CD}
C _{max} (ng/mL)	152,80 ± 53,60	38,82 ± 11,49**
T _{max} (min)	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00
ASC ₀₋₄₈₀ (ng-min/mL)	191,82 ± 72,43	37,99 ± 7,99**
ASC _{0-∞} (ng-min/mL)	78,81 ± 92,58	95,26 ± 146,51
t _{1/2 beta} (min)	1,76 ± 0,64	1,79 ± 1,16
CL (L/h)	0,63 ± 0,28	2,60 ± 0,82
MRT (h)	1,94 ± 0,42	1,75 ± 0,93
V _d (L)	1,42 ± 0,24	5,94 ± 2,70**

Nota: Análise Estatística: p<0.001 [***], p< 0.01[**], p<0.05[*], p>0.05 [não significativo].

6. DISCUSSÃO:

O desenvolvimento de formulações de longa duração tem sido investigado em todo o mundo há décadas. Estudos pré-clínicos são numerosos, mas a falta de trabalhos mais detalhados ou de estudos de longo prazo sobre a estabilidade e a segurança dessas formulações ainda limita a grande maioria dos ensaios clínicos. Para ser eficaz o preparo destas novas formulações deverá ser simples, reprodutível, econômico e passível de sofrer transposição para escala industrial. Desta forma, há uma longa jornada para se chegar a novas formulações adequadas para o uso clínico, com melhores propriedades terapêuticas e físico-químicas.

Por outro lado, levando-se em consideração muitas inovações nos sistemas de *drug delivery* alcançadas na última década (73% das patentes foram publicadas após 1999) (de Paula et al., 2010), acreditamos que, nos próximos anos, estudos clínicos sobre anestésicos e analgésicos de longa duração utilizando-se sistemas carreadores como CDs, biopolímeros ou nanopartículas lipídicas sólidas receberão cada vez mais atenção dos pesquisadores.

O uso das CDs e de seus derivados permitem modelar a solubilidade, a estabilidade e, como já foi referido anteriormente, a eficiência de incorporação do fármaco, contribuindo para melhorar a biodisponibilidade e alterar a farmacocinética das substâncias ativas. Considerando-se sistemas de que utilizam biopolímeros e nanopartículas são mais complexos, ainda de muito alto custo e necessitam mais estudos para o sucesso de suas formulações, as CDs são mais acessíveis, estão em fases mais avançadas de estudos e são eficientes (Valentino, et al., 2008).

Como acontece com qualquer nova ferramenta desenvolvida, as CDs têm pontos fortes e fracos. Seus principais pontos fortes são a natureza específica de como elas interagem com as moléculas da droga a ser complexada e a capacidade de biodisponibilização dessa droga. A natureza específica da sua interação também pode ser considerada uma fraqueza, em que moléculas apenas com o tamanho certo, geometria e propriedades intrínsecas de solubilidade

possibilitam o benefício da sua utilização. Considerando que tanto o α -CD e β -CD e um número de CDs alquilados são conhecidos por serem tóxicos por via renal e de difíceis transposições às membranas biológicas, γ -CD e alguns de seus derivados, bem como HP- β -CD e SBE- β -CD, parecem ser muito mais seguras (Saltão e Veiga, 2001; Rao e Stella, 2003).

Uma vez que tendem a reduzir os efeitos colaterais e as principais reações adversas com o uso de analgésicos, o sistema de complexação do sufentanil com HP- β -CD pode fornecer benefícios terapêuticos para o futuro dos pacientes cirúrgicos, tanto no intra-operatório como no alívio da dor do pós-operatório, em unidades de terapia intensiva ou naqueles que sofrem de enfermidades com dor crônica.

Assim, o presente trabalho teve por objetivo estudar a farmacocinética de uma formulação de sufentanil complexado com CDs. Para tanto, a metodologia empregada utilizou a análise de concentrações plasmáticas obtidas após a administração intramuscular (em coelhos e porcos) e intravenosa (em porcos) de formulações de sufentanil.

O desenho experimental utilizado para determinar os parâmetros farmacocinéticos é uma metodologia confiável. Entretanto, são necessários alguns cuidados, como utilizar animais com idade e peso similares em ambas as fases e realizar o experimento sempre no mesmo horário para evitar a influência dos ritmos circadianos na liberação de catecolaminas endógenas (Pollman, 1982; Lemmer e Wiemers, 1989). Além disso, o estudo foi conduzido de maneira cega e randomizada.

Coelhos e suínos são utilizados frequentemente como modelos de estudo em várias áreas da pesquisa biomédica e farmacêutica. Estes animais podem fornecer grandes quantidades de sangue devido ao seu tamanho, o que é extremamente vantajoso para estudos de farmacocinética. Os coelhos apresentam volemia de aproximadamente 45-75 mL/Kg. Já os suínos apresentam um volume circulante de sangue de 65 mL/kg de peso (Joint Working Group of Refinement, 1993). O uso destes dois modelos contribuiu para a obtenção de um maior número de dados sobre o comportamento e os parâmetros farmacocinéticos do complexo

de inclusão de sufentanil-2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina. A exposição sistêmica do novo fármaco/formulação deve ser realizada em espécies animais distintas, para possibilitar a observação de semelhanças e diferenças entre os perfis e espécies estudados. Tais observações pré-clínicas, segundo a ANVISA e o FDA, devem ser realizadas em, no mínimo, duas espécies de mamíferos, incluindo uma espécie não roedora. Além disso, os estudos de farmacocinética em animais são a contrapartida para os estudos de fase I em humanos.

A determinação da concentração de fármacos nos fluídos biológicos fornece informações essenciais durante o desenvolvimento de novas formas farmacêuticas (Altun et al., 2004) e esses parâmetros farmacocinéticos são fundamentais para a prática clínica (Adams et al., 1989). Embora existam vários métodos para quantificação de fármacos, a cromatografia líquida com espectrometria de massas (CLAE-EM/EM) é considerada a técnica de escolha para análise em fluídos biológicos (Cobb e Andersson, 2005; Lyra et al., 2010). O sistema CLAE-EM/EM, que foi utilizado neste estudo, é uma das ferramentas analíticas mais utilizadas para determinação dos parâmetros farmacocinéticos de uma droga, mostrando-se altamente preciso e confiável (Korfmacher, 2005; Lyra et al., 2010). A metodologia utilizada para dosar o sufentanil em plasma foi desenvolvida e validada ao longo do presente estudo e se mostrou sensível e seletiva possibilitando o estabelecimento de um pequeno limite de quantificação do fármaco com um pequeno tempo de corrida e um simples método de preparo das amostras.

Rasheed et al. (2008), realizaram diversos estudos destacando a estrutura molecular da CD em diferentes formas de complexação, avaliando parâmetros farmacocinéticos em formulações de uso parenteral, oftálmico, oral, nasal, cutânea, retal, sublingual e pulmonar. Seus objetivos eram focar o potencial de uso das CDs quimicamente modificadas como carreadores de alto grau de desempenho em diferentes drogas. Como descreve, o atributo mais desejável para o bom carreador de drogas é a sua capacidade de entrega-la a um sítio específico, melhorando parâmetros farmacocinéticos em relação à droga livre que, muitas vezes, podem ser responsáveis por toxicidade ou efeitos indesejados.

Geralmente as formulações com CDs apresentam concentrações plasmáticas menores e mais constantes quando comparadas com formulações livres, sugerindo que a complexação em CDs promove atraso da transferência do local de aplicação para a circulação sanguínea (absorção mais lenta). Os resultados obtidos apresentam este mesmo padrão, ou seja, a complexação com CDs promoveu níveis plasmáticos menores e mais constantes de sufentanil, tanto em coelhos como nos porcos.

Em relação aos parâmetros farmacocinéticos, a formulação de sufentanil livre apresentou maiores valores quando comparada ao sufentanil complexado com CD em relação à C_{max} , T_{max} , ASC_{0-480} , $ASC_{0-\infty}$ e $t_{1/2}$ ($p < 0,05$) após a administração em coelhos. As duas formulações testadas em coelhos não apresentaram diferenças em relação ao T_{max} ($p > 0,05$). O menor tempo de meia vida do fármaco livre mostra seu desaparecimento mais rápido da circulação quando comparado com fármaco complexado. Assim, podemos observar que a formulação de $SUF_{HP-\beta-CD}$ apresentou características de liberação prolongada ou sustentada.

A Área sob a curva (ASC) de 0 a 480 e de 0 a infinito foi cerca de nove e duas vezes maior para o sufentanil livre em comparação com a formulação com CDs, respectivamente ($p < 0,05$), no grupo dos coelhos. A maior área obtida para o sufentanil livre pode ser explicada pela grande diferença de concentração plasmática, principalmente no início da curva. Apesar de o sufentanil livre apresentar concentrações maiores que o complexado, o tempo para atingir a concentração plasmática máxima (T_{max}) não apresentou diferenças significativas ($p > 0,05$) para as duas formulações administradas.

No entanto, o mesmo padrão não foi observado no grupo de suínos. Apesar das concentrações plasmáticas apresentarem diferenças significativas em todos os tempos avaliados, os parâmetros farmacocinéticos não apresentaram diferenças. Este resultado pode ser explicado pelas diferentes doses utilizadas nas FASES I e II, a dose utilizada em porcos foi metade da utilizada em coelhos e os níveis plasmáticos foram extremamente baixos tanto após a injeção de sufentanil livre como do complexo. Esta baixa dosagem foi baseada em estudos

prévios (Bernards et al., 2003) e selecionada pois a FASE II do estudo também incluía a administração da mesma dose por via intravenosa.

Já no grupo dos suínos após a administração intravenosa foram observadas diferenças significativas em alguns parâmetros como o C_{max} e a ASC_{0-t} . Assim como no grupo dos coelhos, a maior área obtida para o sufentanil livre pode ser explicada pela grande diferença de concentração plasmática, principalmente no início da curva.

Não existem relatos prévios que comparem níveis plasmáticos de sufentanil livre e complexado com CDs após a injeção intramuscular destas formulações nesses animais. A formação dos complexos entre fármacos e CDs pode alterar as propriedades físico-químicas e biológicas dos mesmos. Yaksh et al. (1992) descreve a capacidade de fármacos e CDs se associarem e formarem complexos através de ligações não covalentes. Segundo os autores, a complexação forma uma estrutura de grande diâmetro que não atravessa membranas biológicas e promove uma dissociação lenta do fármaco nos arredores do local de aplicação. Por isso, os complexos tendem a permanecer no local da injeção, promovendo liberação mais lenta do fármaco (Stella e He, 2008). Esta propriedade de liberação lenta, devido à formação de complexos de $SUF_{HP-\beta-CD}$, pode ser comprovada pelos menores níveis plasmáticos de sufentanil complexado com a HP- β -CD quando comparado com o sufentanil livre, tanto no grupo dos coelhos como dos porcos.

Holvoet et al. (2003) preparam uma formulação de fentanil com HP- β -CD e realizaram estudos de liberação *in vitro* para observar a liberação do fármaco do complexo obtido. Os autores utilizaram dois sistemas para avaliar a liberação de fentanil com membranas Spectrapor em condições estáticas e dinâmicas ("Enhancer cell" e um aparato desenvolvido pelos próprios pesquisadores). Os autores compararam situações com ausência e presença de CDs e observaram que a quantidade de fentanil é menor na presença de determinadas concentrações de CDs o que determina a ocorrência de liberação sustentada/prolongada do fármaco. Apesar do presente estudo, ter sido feito *in vivo*, ambas as FASES demonstraram a ocorrência de liberação sustentada/prolongada do fármaco das CDs.

A velocidade de liberação dos fármacos das CDs é determinada pela constante de ligação (K_a), e esta liberação costuma ser rápida (porém o perfil de liberação modificada é mantido) para quase todos os fármacos independentemente da sua K_a . Assim, o principal determinante para esta rápida liberação é o processo de diluição do complexo no meio em que este é administrado (Stella e He, 2008). Para a maior parte dos fármacos ocorre diluição e completa dissociação do fármaco da CD, somente com valores de K_a maiores que $1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ outros mecanismos podem estar envolvidos na liberação do fármaco. A formulação utilizada no presente estudo apresenta K_a de $515.2 \pm 1.2 \text{ M}^{-1}$ assim, o esperado, é que ocorra liberação modificada (Volobuef et al, 2009). Neste estudo, após a injeção intravenosa, foi observada ocorrência de maiores níveis de sufentanil não complexado nos primeiros tempos avaliados. No entanto, nos demais tempos, não ocorreram diferenças significativas após a administração do fármaco livre e complexado.

Este fenômeno era esperado e pode ser explicado pela K_a descrita acima e pela diluição do complexo no meio em que este foi administrado. O contrário ocorreu após a administração tanto em coelhos quanto nos porcos, pois com a injeção intramuscular a diluição do complexo foi menor, o tempo de residência no local da administração é maior e o complexo sofre competição com moléculas de gordura, retardando a liberação do sufentanil e mostrando características de liberação prolongada. Estudos sobre interações entre compostos de inclusão β -ciclodextrina e moléculas de colesterol vêm sendo realizados. Em determinadas concentrações, a β -CD tem uma grande afinidade com colesterol podendo carrear-lo da membrana lipídica de células (Abulrob et al., 2005).

A ocorrência de níveis mais constantes de opióides é de extrema importância para a redução de efeitos adversos, como náusea, vômito e sedação, além da depressão ventilatória e cardíaca, que ocorrem com níveis acima dos necessários para o tratamento da dor e são motivo de grande preocupação na prática clínica (McNicol et al., 2003; Leon-Casasola, 2008). Assim, a formulação de $\text{SUF}_{\text{HP-}\beta\text{-CD}}$ não apresentou picos plasmáticos de forma tão evidenciada como nas formulações livres, como observado nos grupos do coelho e dos suínos. As

concentrações foram mais constantes, por um maior período de tempo, o que diminui as flutuações dos níveis de opióide relacionadas à ocorrência dos efeitos adversos.

Assim, a formulação de $SUF_{HP-\beta-CD}$ administrada neste estudo apresentou características de lenta liberação e, por isso, pode ser designada como um “*sistema de drug delivery*”. A segurança destes carreadores, associada à lenta liberação do sufentanil, favorece o futuro uso clínico desta nova formulação.

6. CONCLUSÕES:

Diante dos resultados obtidos, podemos concluir que:

1. A formulação de **SUF_{HP-β-CD}** promoveu atraso da transferência do local de aplicação para a circulação sanguínea após a administração intramuscular em coelhos e porcos, caracterizando liberação prolongada ou sustentada;
2. O **SUF_{HP-β-CD}** promoveu modificação da reposta farmacocinética após a administração intramuscular em coelhos;
3. A administração de **SUF_{HP-β-CD}** intravenosa em porcos apresentou níveis plasmáticos similares à administração do fármaco livre em quase todos os tempos avaliados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Abulrob, A.; Tauskela, J. S.; Mealing, G.; Brunette, E.; Faid, K.; Stanimirovic, D. Protection by cholesterol-extracting cyclodextrins: a role for *N*-methyl-D-aspartate receptor redistribution. *J. Neurochem.* 2005, *92*, 1477-1486.
2. Adams HA, Biscopig J, Ludolf K, Börgmann A, Bachmann-M B, Hempelmann G. The quantitative analysis of amide local anesthetics using high pressure liquid chromatography and ultraviolet detection (HPLC/UV). *Reg Anaesth.* 1989; *12*(3): 53-57.
3. Albers, E. and Muller, B. W. (1995). Cyclodextrin derivatives in pharmaceuticals. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* *12*, 311-37.
4. Altun Z, Abdel-Rehim M, Blomberg LG. New trends in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe (MEPS) for LC and GC applications Part III: Determination and validation of local anaesthetics in human plasma samples using a cation-exchange sorbent, and MEPS-LC-MS-MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2004; *813*(1-2):129-35.
5. Amaral JLG, Issy AM, Conceição NA et al. Recomendações da Associação de Medicina Intensiva Brasileira sobre Analgesia, Sedação e Bloqueio Neuromuscular em Terapia Intensiva. Associação de Medicina Intensiva Brasileira - AMIB, 1999.
6. Antlsperger, G., and Schmid, G. (1996). Toxicological comparison of cyclodextrins. In *Proceedings of 8th International Symposium on Cyclodextrins* (J. Szejtli and L. Szenté, eds., pp. 149-55). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands.
7. Araujo DR, Braga Ade F, Moraes CM, Fraceto LF, Paula E. Complexation of 50% enantiomeric excess (S75-R25) bupivacaine with cyclodextrins and spinal block anesthesia in rats. *Rev Bras Anesthesiol.* 2006; *56*(5):495-506.
8. Araujo DR, Fraceto LF, Braga Ade F, Paula E. Drug-delivery systems for racemic bupivacaine (S50-R50) and bupivacaine enantiomeric mixture

- (S75-R25): cyclodextrins complexation effects on sciatic nerve blockade in mice. *Rev Bras Anesthesiol.* 2005; 55(3):316-28.
9. Araujo DR, Pinto LMA, Braga AFA, de Paula E. Formulações de anestésicos locais de liberação controlada: Aplicações Terapêuticas. *Rev. Bras. Anesthesiol.* 2003; 53(5): 653-661
 10. Araujo DR, Tsuneda SS, Cereda CM, Del G F Carvalho F, Preté PS, Fernandes SA, Yokaichiya F, Franco MK, Mazzaro I, Fraceto LF, de F A Braga A, de Paula E. Development and pharmacological evaluation of ropivacaine-2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin inclusion complex. *Eur J Pharm Sci.* 2008; 33(1):60-71.
 11. Baraka A. Historical aspects of opium. *Middle East J Anesthesiol*, 15:423-436; 2000.
 12. Basile AC, Sertie JAA, DeLucia R. Farmacodependência, em: DLucia R, Valle LBS, Oliveira Filho RM et al., *Farmacologia Integrada*, SP, Livraria Ateneu Editora, 1991;2:157-170.
 13. [Bernards CM](#), [Shen DD](#), [Sterling ES](#), [Adkins JE](#), [Risler L](#), [Phillips B](#), [Ummenhofer W](#). Epidural, Cerebrospinal Fluid, and Plasma Pharmacokinetics of Epidural Opioids (Part 1): Differences among Opioids. *Anesthesiology* 2003; 99(2): 455-465.
 14. Bernards CM. Effect of (hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin on flux of morphine, fentanyl, sufentanil, and alfentanil through the spinal meninges of monkey. *J Pharm Sci.* 1994; 83(5):620-2.
 15. Bibby DC, Davies NM, Tucker IG. Mechanisms by which cyclodextrins modify drug release from polymeric drug delivery systems. *Int J Pharm.* 2000; 197(1-2):1-11.
 16. Booth M. *Opium - a History*, New York, St Martin's Griffin, 1998.
 17. Bourne DWA. *Mathematical modeling of pharmacokinetic data*. Technomic Publishing Inc, Lancaster, PA, USA, 1995.
 18. Brewster ME, Loftsson T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Adv Drug Deliv Rev* 2007; 59: 645-666.

19. Carpenter KJ, Dickenson AH. Molecular aspects of pain research. *The Pharmacogenomics* 2002; 2: 87-95.
20. Carpenter, T. O., Gerloczy, A., and Pitha, J. (1995). Safety of parenteral hydroxypropyl β -cyclodextrin. *J Pharm Sci* 84, 222-5.
21. Challa, R., Ahuja, A., Ali, J., and Khar, R. K. (2005). Cyclodextrins in drug delivery: An updated review. *AAPS Pharmsci Tech* 6, E329-57.
22. Chen S, Wang Y. Study on β -Cyclodextrin Grafting with Chitosan and Slow Release of Its Inclusion Complex with Radioactive Iodine. *Journal of Applied Polymer Science* 2001; 82: 2414–2421.
23. Dalmora ME, Dalmora SL, Oliveira AG Inclusion complex of piroxicam with beta-cyclodextrin and incorporation in cationic microemulsion. In vitro drug release and in vivo topical anti-inflammatory effect. *Int J Pharm.* 2001; 222(1): 45-55.
24. Davis ME, Brewster ME. Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future. *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3: 1023-1035.
25. Davies, B. and Morris, T. (1993). Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharm Res* 10, 1093-5.
26. Defaye J, García-Fernández JM, Ortiz Mellet C. Pharmaceutical use of cyclodextrines: Perspectives for drug targeting and control of membrane interactions. *Ann Pharm Fr* 2007; 65: 33-49.
27. Dickenson A. e Besson J-M. The Pharmacology of Pain. *Handbook of Experimental Pharmacology*, vol. 130. Springer-Verlag, Berlin, 1997.
28. Dollo G, Le Corre P, Chevanne F, Le Verge R. Inclusion complexation of amide-type local anesthetics with β -cyclodextrin and derivatives. I. Physicochemical characterization. *Int. J. Pharm.* 1996 a; 131: 219-228.
29. Dollo G, Le Corre P, Chevanne F, Le Verge R. Inclusion complexation of amide-type local anesthetics with β -cyclodextrin and derivatives. II. Evaluation of affinity constants and in vitro transfer rate constants. *Int. J. Pharm.* 1996 b; 136: 65-174.

30. Dollo G, Le Corre P, Freville JC, Chevanne F, Le Verge R. Biopharmaceutics of local anesthetic cyclodextrin complexes following loco-regional administration. *Ann. Pharm. Fr.* 2000; 58: 425-432.
31. Dollo G, Thompson DO, Le Corre P, Chevanne F, Le Verge R. Inclusion complexation of amide-type local anesthetics with β -cyclodextrin and derivatives. III. Biopharmaceutics of bupivacaine-SBE7- β -CD complex following percutaneous sciatic nerve administration in rabbits. *Int. J. Pharm.* 1998; 164: 11-19.
32. Dubner R., e Ren K. Endogenous mechanisms of sensory modulation. *Pain, Suppl.6* (1999) S45-S54.
33. Duchéne, D. Cyclodextrins and Their Industrial Uses. Editions de Santé, Paris. (1987).
34. Dumaresq DMH, Lima OS, Feijó F, Teixeira AVC. Sufentanil: Clinical Evaluation. *Rev. Bras. Anesthesiol.* 1997; 47: 123-127.
35. Eguchi M. Recent advances in selective opioid receptor agonists and antagonists. *Med. Res. Rev.* 2004; 24: 182-212.
36. Estebe JP, Ecoffey C, Dollo G, Le Corre P, Chevanne F, Le Verge R. Bupivacaine pharmacokinetics and motor blockade following epidural administration of the bupivacaine-sulphobutylether 7-beta-cyclodextrin complex in sheep. *Eur J Anaesthesiol.* 2002; 19(4):308-10.
37. Fernandes CM, Ramos P, Falcão AC, Veiga FJ. Hydrophilic and hydrophobic cyclodextrins in a new sustained release oral formulation of nicardipine: in vitro evaluation and bioavailability studies in rabbits. *J Control Release.* 2003 14; 88(1):127-34.
38. Fields H. e Basbaum A. Central nervous system mechanisms of pain modulation. Em: *Textbook of Pain*, 4th Edition (Eds. P. Wall e R. Melzack), Churchill Livingstone, London (1999) pp 206-217.
39. Flacke JW, Bloor BC, Kripke BJ - Comparison of morphine, meperidine, fentanyl and sufentanyl in balanced anesthesia: a double-blind study. *Anesth Analg*, 1985; 64: 897-910.

40. Gatchel RJ, Turk DC, editors. Psychosocial factors in pain. Critical perspectives. New York: Guilford Press; 1999.
41. Gavini E, Spada G, Rasso G, Cerri G, Brundu A, Cossu M, Sorrenti M, Giunchedi P. Development of solid nanoparticles based on hydroxypropyl- β -cyclodextrin aimed for the colonic transmucosal delivery of diclofenac sodium. *J Pharm Pharmacol*. 2011;63(4):472-82
42. Gould, S., and Scott, R. C. (2005). 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD): a toxicology review. *Food Chem Toxicol* 43, 1451-9.
43. Gozzani JL - Opióides e antagonistas. *Rev Bras Anesthesiol*, 1994; 44:65-73.
44. He, Y., and Yalkowsky, S. H. (2006). Solubilization of monovalent weak electrolytes by micellization or complexation. *Int J Pharm* 314, 15-20.
45. Hirayama F, Uekama K. Cyclodextrin-based controlled drug release system. *Adv Drug Deliv Rev* 1997; 36: 125-141.
46. Holvoet C, Plaizier-Vercammen J, Vander Heyden Y, Gabriëls M, Camu F. Preparation and in-vitro release rate of fentanyl-cyclodextrin complexes for prolonged action in epidural analgesia. *Int J Pharm*. 2003; 265(1-2):13-26.
47. Hung O. Drug transformation: Advances in drug delivery systems. *Can J Anaesth* 2006; 53: 1074-1077.
48. Irie T, Uekama K. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. III. Toxicological issues and safety evaluation. *J. Pharm. Sci.* 1997; 86: 147-162.
49. Jaffe JH, Marin WR - Opioid analgesics and antagonists, em Gilman AG, Goodman LS, Rall TW, Murad F. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. New York, Macmillan, 1985; 491-531.
50. Jang J, Yaksh TL, Hill HF. Use of 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin as an intrathecal drug vehicle with opioids. *J Pharmacol Exp Ther*. 1992; 261(2):592-600.
51. Janssen PA. Potent new analgesics tailor-made for different purposes. *Acta Anaesthesiol Scand*, 1982; 26:262-268.

52. Jessell, T. M. & Kelly, D. D. Pain and Analgesia. In: Kandel, E. R.; Schwartz, J. H. & Jessell, T. M. principles of Neural Science. 3.ed., Appleton & Lange, Connecticut, 1991. p.385-99.
53. Joint Working Group on Refinement. Joint Working Group on Refinement: Removal of blood from laboratory mammals and birds. *Lab. Anim.* 1993; 27: 1–22.
54. Jug M, Maestrelli F, Bragagni M, Mura P. Preparation and solid-state characterization of bupivacaine hydrochloride cyclodextrin complexes aimed for buccal delivery. *J Pharm Biomed Anal.* 2010; 52(1):9-18.
55. Kenshalo D.R.Jr e Willis W.D. The role of the cerebral cortex in pain sensation. Em: *Cerebral Cortex*, (Ed. A. Peters), Plenum Press, New York (1991) pp. 153-212.
56. Lauretti GR, Mattos AL, Lima IC. Tramadol and beta-cyclodextrin piroxicam: effective multimodal balanced analgesia for the intra- and postoperative period. *Reg Anesth.* 1997; 22(3):243-8.
57. Lavinhas PSG. In: Cavalcanti, I. L. & Gozzani, J. L. *Dor pós-operatória* (2004). Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Anestesiologia.
58. Leon-Casasola O. Implementing Therapy With Opioids in Patients With Cancer. *Oncology Nursing Forum.* 2008; 35 (6): 7-12.
59. Loftsson, T. Effects of cyclodextrins on the chemical stability of drugs in aqueous solutions. *Drug Stab* 1, 22-33. (1995).
60. Loftsson T, Duchêne D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *Int J Pharm.* 2007; 329(1-2):1-11.
61. Loftsson T, Masson M. Cyclodextrins in topical drug formulations: theory and practice. *Int. J. Pharm.* 2001; 225: 15-30.
62. Löwenstein E, Hallowell P, Levine FH – Cardiovascular response to large doses of intravenous morphine in man. *N Engl J Med*, 1969; 281: 1389-93.
63. Lyra, M.A.M.; Alves, L.D.S.; Fontes, D. A. F.; Soares-Sobrinho, J. L.; Rolim-Neto, P.J. Ferramentas analíticas aplicadas à caracterização de complexos de inclusão fármaco-ciclodextrina. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.*,31(2):117-124, 2010.

64. Meert TF, Melis W. Interactions between epidurally and intrathecally administered sufentanil and bupivacaine in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin in the rat. *Acta Anaesthesiol Belg.* 1992; 43(2):79-89.
65. Meert TF, Mesens J, Verheyen P, Noorduyn H. Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin can modulate the activity of spinally administered sufentanil. *Eur J Anaesthesiol.* 1992; 9(5):399-409.
66. Merskey, H. The definition of pain. *European Psychiatry*, v.6, p.153-9, 1991.
67. Merskey H.e Bogduk N. Classification of chronic pain. IASP Press, 1994.
68. Melo MS, Silva WA, de Moraes AC, Udelsmann A. Comparison of hemodynamic changes in acute intoxication with intravenous bupivacaine and ropivacaine in swine. *Rev Bras Anesthesiol* 2009; 59(5): 592-601.
69. McNicol E, Horowicz-Mehler N, Fisk RA, Bennett K, Gialeli-Goudas M, Chew PW et al. Management of opioid side effects in cancer-related and chronic noncancer pain: A systematic review. *Journal of Pain.* 2003; 4(5): 231–256.
70. Murphree HB. Analgésicos Narcóticos: Analgésicos Sintéticos, em: Di Palma R, Drill-Farmacologia Médica, México, La Prensa Médica Mexicana, 1969; 291- 99.
71. Ogawa N, Higashi K, Nagase H, Endo T, Moribe K, Loftsson T, Yamamoto K, Ueda H. Effects of cogrinding with β -cyclodextrin on the solid state fentanyl. *J Pharm Sci.* 2010; 99(12):5019-29.
72. Peng PWH, Sandler AN. A review of the use of fentanyl analgesia in the management of acute pain in adults. *Anesthesiology* 1999; 90: 576-599.
73. Peschanski, M. A biologia da dor. L&PM, Porto Alegre, 1987.
74. Pimenta CAM, Koizumi MS, Teixeira MJ. Dor, depressão e conceitos culturais. *Arq Neuropsiquiatr.* 1997 ;55(3-A):370-80.
75. Rajewski RA, Stella VJ. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. *In vivo drug delivery.* *J Pharm Sci* 1996; 85: 1142-1169.
76. Rang, H.P.; Dale, M.M.; Ritter, J.M. *Farmacologia.* 6 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

77. Rao, V. M., and Stella, V. J. When can cyclodextrins be considered for solubilization purposes? *J Pharm Sci* 92, 927-32, 2003.
78. Rasheed A, Ashok Kumar CK, Sravanthi VVNSS. Cyclodextrins as Drug Carrier Molecule: A Review. *Sci Pharm* 2008; 76: 567–598.
79. Rey, R. *The History of Pain*. Harvard University, Cambridge, 1995.
80. Ross EM, Gilman AG - Pharmacodynamics: mechanisms of drug action and relationship between drug concentration and effect, em Gilman AG, Goodman LS, Rall TW, Murad F. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. New York. Macmillan, 1985; 35-48.
81. Saltão, R. e Veiga, F. Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 37, n. 1, jan./abr., 2001.
82. Samuelson PN - Current status of opioid used for anesthesia. *Anesth Analg*, 1991; 70: 131-6.
83. Satoh H, Minami M. Molecular pharmacology of the opioid receptors. *Pharmacol. Ther.* 1995; 68: 343-364.
84. Singh I, Kumar P, Pahuja S, Tung V, Arora S. Development and pharmacological evaluation of cyclodextrin complexes of etoricoxib. *Acta Pol Pharm.* 2011; 68(2):279-84.
85. Shafer SL - Intravenous anesthesia: new drugs and techniques. *ASA 1992 Annual Refresher Course Lectures*, 1992; 211: 1-7.
86. Society of Critical Care Medicine. Practice Parameters for Intravenous Analgesia and Sedation for Adult Patients in the Intensive Care Unit: An Executive Summary, em: Society of Critical Care Medicine. *Fundamental Critical Care Support Course Text*, 2nd Ed, Anaheim, 1998,241-251.
87. Smith HS, Meek PD. Pain responsiveness to opioids: central versus peripheral neuropathic pain. *J Opioid Manag.* 2011 Sep-Oct; 7(5):391-400. Review.
88. Stella VJ, HE Q. Cyclodextrins. *Toxicologic Pathology* 2008; 36:30-42.
89. Stella, V. J., and Rajewski, R. A. (1997). Cyclodextrins: their future in drug formulation. *Pharm Res* 14, 556-67.

90. Stevens CW. Alternatives to the use of mammals for pain research. *Life Sci.* 1992; 50: 901-912.
91. Stoelting RK - Opioid agonists and antagonists, em Stoelting RK - *Pharmacology and Physiology in anesthetic practice.* JB Lippincott Co, Philadelphia, 1987; 69-101.
92. Stoltzfus DP, Durbin CG - The Use of Sedative, Analgesic and Neuromuscular Blocking Agents in the Intensive Care Unit, em: MurrayMJ, Coursin DB, Pearl RG et al - *Critical Care Medicine - Perioperative Management.* Philadelphia, Lippincott Raven, 1997; 109.
93. Szejtli, J. (1988). *Cyclodextrin Technology* (J. E. D. Davies, series ed.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands.
94. Teixeira, M. J. & Pimenta, C.A.M. Introdução. In: Teixeira, M. J. *Dor: Conceitos Gerais.* Limay, São Paulo, 1994. p.3-7.
95. Treede R.d. e Magerl, W. Modern concepts of pain and hyperalgesia: beyond the polymodal C-nociceptor. *News Physiol. Sci.* 10 (1995) 216-228.
96. Thompson DO. Cyclodextrins-enabling excipients: Their present and future use in pharmaceuticals. *Crit Rev Ther Drug Carr Syst* 1997; 14: 1-104.
97. Uekama, K., Hirayama, F., and Irie, T. (1994). Application of cyclodextrins in pharmaceutical preparations. *Drug Targ Deliv* 3, 411-56.
98. Uekama K, Kondo T, Nakamura K, Irie T, Arakawa K, Shibuya M, Tanaka J. Modification of rectal absorption of morphine from hollow-type suppositories with a combination of alpha-cyclodextrin and viscosity-enhancing polysaccharide. *J Pharm Sci.* 1995; 84(1):15-20.
99. Uyar T. *Fiber and polymer science, A dissertations submitted of the Graduate Faculty North Carolina State University in partial fulfilment of the requirement for the Degree of Doctor of Philosophy, September 2005.*
100. Valentino J.; Stella and Quanren He. *Cyclodextrins. Toxicol Pathol,* 2008 36: 30
101. Volobuef C, Moraes CM, Nunes LAS, Cereda CMS, Fraceto LF, Braga AFA, Paula E, Araujo DR. sufentanil-2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex for pain treatment: characterization, toxicity and

pharmacological evaluation. 36th Annual Meeting and Exposition of the Controlled Release Society, Copenhagen, DIN, 2009.

102. Way WL, Way EL, Fields HL. In: Katzung, B. G. *Farmacologia Básica & Clínica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
103. Yaksh TL, Jang JD, Nishiuchi Y, Braun KP, Ro SG, Goodman M. The utility of 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin as a vehicle for the intracerebral and intrathecal administration of drugs. *Life Sci*. 1991; 48(7):623-33.

8. ANEXO 1:



UNIVERSIDADE
SÃO FRANCISCO

Bragança Paulista, 17 de Dezembro de 2009.

Comitê de Ética em Pesquisa – CEP

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Projeto de Pesquisa: AVALIAÇÃO FARMACOCINÉTICA DO COMPLEXO DE INCLUSÃO SUFENTANIL-2-HIDROXIPROPIL- β CICLODEXTRINA.

ÁREA DE CONHECIMENTO: Farmacologia

Autor(es): Prof(a) Giovana Radomille Tofoli

Instituição: UNIVERSIDADE SÃO FRANCISCO

Protocolo: 001.12.09

Prezado(a)(s) Pesquisador(a)(s),

O Comitê de Ética em Pesquisa – CEP, da Universidade São Francisco, analisou em reunião extraordinária do dia 17/12/2009 o projeto de pesquisa supracitado, sob a responsabilidade de Vossa Senhoria.

Este Comitê, acatando o parecer do relator indicado, apresenta-lhe o seguinte resultado:

Parecer: **APROVADO**

Atenciosamente,

Maria Betânia de Oliveira Garcia

Coordenadora do Comitê de Ética no Uso de Animal em Pesquisa
Universidade São Francisco

CÂMPUS DE BRAGANÇA PAULISTA Av. São Francisco de Assis, 218 - CEP 12916-900 Fone (11) 4034-8000 - FAX (11) 4034-1825
CÂMPUS DE CAMPINAS Rua Waldemar César da Silveira, 105 - Cura D'Ars CEP 13045-270 (19) 3779-3300
CÂMPUS DE ITATIBA Rua Alexandre Rodrigues Barbosa, 45 - CEP 13251-900 Fone (11) 4534-8000 - FAX (11) 4524-1933
CÂMPUS DO PARI - SÃO PAULO Rua Hannemann, 352 - Pari - CEP 03031-040 Fone (11) 3315-2000 - FAX (11) 3315-2036