

# A Química e a Saúde



# SOCIEDADE PORTUGUESA DE QUÍMICA



## CORPOS GERENTES

Presidente — **A. Romão Dias**  
 Vice-Presidente — **J. Luís Figueiredo**  
 Secretário-Geral — **C. Nieto Castro**  
 Secretários-Gerais Adjuntos  
 — **Luísa Maria Abrantes** e **Fernando Jorge Pina**  
 Tesoureiro — **Luís Paulo Rebelo**

## Conselho Fiscal

Presidente — **Vitor Lobo**  
 Vice-Presidente — **Inês Florêncio**  
 Relator — **António Palavra**

## Mesa da Assembleia Geral

Presidente — **Maria Alzira Ferreira**  
 1.º Secretário — **Maria Teresa Barros**  
 2.º Secretário — **João Rui Guedes de Carvalho**

## ASSEMBLEIAS REGIONAIS

DELEGAÇÃO DO NORTE (Sede no Porto)

### Assembleia Regional

Presidente — **João Cabral**  
 1.º Secretário — **Raul Barroca**  
 2.º Secretário — **José Luís C. Figueiredo**

### Direcção da Delegação Regional

Presidente — **José Luís Figueiredo**  
 Secretário — **Manuel Ribeiro da Silva**  
 Vogal — **José Luís Costa Lima**

DELEGAÇÃO DO CENTRO (Sede em Coimbra)

### Assembleia Regional

Presidente — **A.J. Andrade de Gouveia**  
 1.º Secretário — **F. Pinto Coelho**  
 2.º Secretário — **Júlio A.M. Cunha Pinto**

### Direcção da Delegação Regional

Presidente — **A.J. Campos Varandas**  
 Secretário — **Carlos F.G. Geraldés**  
 Vogal — **Júlio P. de Jesus**

DELEGAÇÃO DO SUL (Sede em Lisboa)

### Assembleia Regional

Presidente — **Ana Lobo**  
 1.º Secretário — **Filomena Camões**  
 2.º Secretário — **Maria da Graça Correia**

### Direcção da Delegação Regional

Presidente — **Romão Dias**  
 Secretário — **José Costa Reis**  
 Vogal — **Maria Helena Pereira**

# boletim

Propriedade e edição da Soc. Port. de Química

## Director:

RAQUEL GONÇALVES (FCL)

## Directores Adjuntos:

ANA SIMÕES (INIC)  
 ANTÓNIO CALADO (FFL)  
 LÍDIA ALBUQUERQUE (FCL)  
 MANUEL GIL (EDP)

## Redacção e Administração

Sociedade Portuguesa de Química  
 Av. da República, 37 - 4.º  
 1000 LISBOA - Tel. 793 46 37

(Horário de expediente:  
 de 2.ª a 6.ª-feira, das 9 às 13 e das 14 às 17 horas)

## SECÇÕES TEMÁTICAS:

### Informações, actualidade

Filomena Martins (FCL)

### Educação em Química

Elisa Maia (FCL)  
 Isabel Pinheiro Martins (Univ. Aveiro)

### Química e Indústria

António Gonçalves da Silva (SONADEL)  
 João Moura Bordado (HOECHST)

### Evolução Química

Hernâni Maia (Univ. Minho)  
 Joaquim Moura Ramos (IST)

### Segurança nos Laboratórios

Maria João Marcelo Curto (LNETI)

### Química e Saúde

Eduarda Rosa (FFL)

### Computadores em Química

Fernando Fernandes (FCL)  
 Filomena Freitas (FCL)

### História da Química

António Amorim Costa (Univ. Coimbra)  
 António Manuel Nunes dos Santos (Univ. Nova Lisboa)

### Congressos e Conferências

Maria Regina Tavares (LNETI)

## Publicidade

CRISTINA SILVA MACÁRIO  
 Sociedade Portuguesa de Química  
 Av. da República, 37 - 4.º  
 1000 LISBOA - Tel. 793 46 37

Os artigos publicados são da exclusiva responsabilidade do seus autores e as opiniões neles defendidas não envolvem as direcções do Boletim e da Sociedade Portuguesa de Química.

EXECUÇÃO GRÁFICA -- FNAC - Gráfica, SA  
 Rua D. Carlos de Mascarenhas, 39 - 1000 Lisboa  
 Telef. 68 77 28 - 69 09 54 - Telefax 69 09 61

## EDITORIAL

A *Royal Society of Chemistry* publicou em Janeiro de 1988 um guia de conduta profissional. Este guia centra-se nos princípios fundamentais que devem nortear a profissão de químico e propõe-se auxiliar todos os membros da Sociedade que tenham dúvidas sobre a ética de acções em curso. Os domínios realçados são a SAÚDE, a segurança e o ambiente.

A Sociedade Portuguesa de Química está atenta aos problemas urgentes que o homem deve resolver. Começemos já hoje a reflectir mais sobre «a qualidade da vida».

*Aos autores, o nosso sincero agradecimento pela viabilização deste Boletim*

## SUMÁRIO

• Os Produtos Fitofarmacêuticos e a Saúde, <i>A. M. S. Silva Fernandes</i> .....	3
• Consequências Biológicas da Utilização de Ligas Metálicas em Medicina Dentária, <i>Jorge Leitão</i> .....	11
• Glutationo e Toxicidade do Etanol, <i>Ana Ponces Freire e Carlos Manuel C. Santos</i> .....	15
• Drogas de Abuso, <i>Álvaro A. Teixeira Lopes</i> .....	19
• Toxicologia Ocupacional – Toxicidade dos solventes orgânicos, <i>Ana Paula Marreilha dos Santos</i> .....	25
• Genes e Doenças Genéticas, <i>João Lavinha</i> .....	33
• Metabolitos do Ácido Araquidónico – Aspectos químicos e fisiológicos, <i>Matilde Castro</i> .....	41
• Aplicações da Cinética Química – A estabilidade dos medicamentos, <i>Eduarda Rosa</i> .....	47
• Farmacocinética, <i>José Augusto Guimarães Morais</i> .....	53
• O Presente e o Futuro dos Aditivos Alimentares, <i>Margarida Alice Ferreira</i> .....	59
• Aditivos Alimentares – Alergia e intolerância, <i>Elza Tomaz</i> .....	65
• Eléctrodos Selectivos de Iões e suas Aplicações Clínicas, <i>M. J. F. Rebelo</i> .....	69
• Sistemas Terapêuticos e Formas de Libertação Controlada de Uso não Parentérico, <i>A. Lupi Nogueira</i> .....	75
• Pilotagem de Fármacos, <i>Luís Filipe Vicente Constantino</i> .....	81
• Substâncias Químicas de Origem Vegetal com Interesse Medicamentoso, <i>Elsa Teixeira Gomes</i> .....	87
• Na Era dos Contraceptivos Orais, <i>Fátima Norberto</i> .....	91
• Bloqueadores de Cálcio, <i>Rui Moreira, Luís Constantino e Fátima Norberto</i> .....	95

# Os produtos fitofarmacêuticos e a saúde

A. M. S. Silva Fernandes <sup>a</sup>



António Manuel Sebastião  
Silva Fernandes

*Licenciou-se em Engenharia Agrónomica em 1958. Obteve o grau de Ph.D., na Universidade de Bristol, em 1965.*

*Em 1972 foi nomeado Especialista do MAP, tendo passado a Investigador em 1979. Em 1985 foi nomeado Investigador Principal. Enquanto funcionário do MAP, foi contratado em 1971, pelo ISA, na categoria de Professor Auxiliar em «part-time», tendo sido nomeado Professor Associado Convidado em 1979. Em 1985 obteve o grau de Agregado e em 1986 tomou posse do lugar do quadro do ISA na categoria de Professor Catedrático.*

*No Instituto Superior de Agronomia é responsável pela Cadeira de Fitofarmacologia a qual lecciona desde 1971. Lecciona ainda esta mesma disciplina nas Universidades de Évora e dos Açores.*

*Enquanto funcionário do Ministério da Agricultura e Pescas (1959 a 1986) foi responsável pela Secção de Toxicologia do Laboratório de Fitofarmacologia e, seguidamente, Director de Serviços de Toxicologia e Análises da Direcção Geral de Protecção da Produção Agrícola e responsável pela mesma Direcção de Serviços no Centro Nacional de Protecção da Produção Agrícola (INIA).*

*Ao longo da sua actividade no MAP criou e desenvolveu, pela primeira vez em Portugal, um laboratório dedicado a estudos de resíduos de pesticidas, tendo formado uma equipa especializada nestas matérias. Foi ainda o principal responsável pela elaboração e actualização dos critérios de avaliação toxicológica dos pesticidas em Portugal.*

*Durante a sua carreira científica e docente foram-lhe concedidas várias bolsas de estudo para aperfeiçoamento das matérias à sua responsabilidade, tendo efectuado ainda numerosas visitas de estudo a universidades e laboratórios de investigação de vários países da Europa, Estados Unidos e Canadá. Participou em dezenas de congressos, simpósios, seminários e outras actividades científicas, a nível nacional e internacional, tendo apresentado comunicações em muitas delas. Realizou colóquios e esteve presente, na qualidade de representante português, em inúmeras reuniões internacionais.*

*Publicou trabalhos de I-D e de divulgação, em revistas nacionais e estrangeiras, tendo tido mais de uma centena de citações em revistas e livros de autores estrangeiros a trabalhos seus.*

*Fez parte de vários júris a nível das universidades e do INIA e é responsável científico de alguns projectos de I-D. Foi Presidente da Comissão de Toxicologia de Pesticidas durante quatro anos, sendo actualmente vogal nesta Comissão.*

*É membro efectivo e pertence ao «Management Committee» do «Collaborative International Pesticide Analytical Council». É perito de «Panels» da FAO e da OMS e ainda, a nível da CEE, do «Scientific Advisory Committee to Examine the Toxicity and Ecotoxicity of Chemical Compounds» e do «Scientific Committee for Pesticides» do qual é, actualmente, vice-presidente.*

## Introdução

A designação produtos fitofarmacêuticos é atribuída aos pesticidas de uso agrícola, os quais abrangem todos os produtos destinados à defesa da produção vegetal, com excepção dos adubos e correctivos.

Até ao início dos anos 40 o número de produtos fitofarmacêuticos à disposição do agricultor era bastante reduzido, não ultrapassando duas dezenas. Entre eles encontravam-se o arseniato de chumbo, as piretrinas, a rotenona, a nicotina, os óleos minerais, o DNOC, o enxofre, os compostos de cobre e os compostos de mercúrio. Embora algumas destas substâncias tivessem toxicidade aguda elevada – caso do arseniato de chumbo, nicotina, DNOC, e compostos de mercúrio – eram escassos os elementos toxicológicos disponíveis. Sabia-se alguma coisa sobre a sua toxicidade aguda, nomeadamente DL50 oral, mas eram praticamente inexistentes outros estudos de toxicidade aguda, assim como estudos de toxicidade sub-aguda e crónica. No respeitante ao consumidor dos alimentos tratados não havia, na altura, percepção para o problema dos resíduos [1], muito embora pesticidas como o arseniato de chumbo deixassem resíduos por vezes apreciáveis nos produtos tratados [2].

Com a introdução do DDT, no começo dos anos 40, como insecticida de uso agrícola, iniciou-se uma nova era no campo da protecção das plantas, pois que, a partir dessa data, os velhos pesticidas inorgânicos e os de origem vegetal deram lugar aos pesticidas orgânicos de síntese. Desde então assistiu-se à descoberta de centenas de substâncias activas e, passados alguns anos, os agricultores já tinham à sua disposição dezenas de alternativas.

Nos fins de 1989 existiam no mercado nacional 260 substâncias activas, formuladas em cerca de 600 produtos comerciais [3], com um volume de vendas que excedia os 17 milhões de contos.

Entretanto, e desde a descoberta do DDT, as exigências toxicológicas requeridas às firmas produtoras, com vista a assegurar a saúde de aplicadores, outros trabalhadores agrícolas e consumidores dos produtos tratados, têm evoluído de uma forma espectacular, apresentando-se hoje os estudos toxicológicos como uma das principais componentes responsáveis pelo elevado custo de produção de uma nova substância activa. De facto, os produtos fitofarmacêuticos, a par dos medicamentos, são considerados como os produtos mais bem estudados do ponto de vista toxicológico.

<sup>a</sup> Instituto Superior de Agronomia, Lisboa

### Grupos químicos de produtos fitofarmacêuticos

O número de grupos químicos de substâncias activas comercializadas no nosso País é bastante numeroso [4]. Para termos uma ideia, vejamos o que se passa no campo dos insecticidas, fungicidas e herbicidas, os três tipos de pesticidas com maior número de produtos comercializados a nível nacional. Assim, os insecticidas orgânicos de síntese estão distribuídos em seis grupos, alguns dos quais com diversos subgrupos. Entre eles encontramos os organoclorados, os organofosforados, os carbamatos e os piretróides, os primeiros dos quais tendo tido grande projecção nos anos 40 a 60, mas que por razões de contaminação do ambiente e desequilíbrios biológicos foram sendo retirados do mercado, estando actualmente em comercialização um número muito limitado destas substâncias activas. Por outro lado, organofosforados, carbamatos e piretróides constituem, neste momento, três grupos químicos da maior importância para o combate a pragas.

Como fungicidas continuam-se a utilizar quantidades apreciáveis de produtos inorgânicos, nomeadamente enxofre e compostos de cobre, mas os produtos orgânicos de síntese existentes no mercado são muito importantes, estando distribuídos por doze grupos, alguns dos quais com diversos subgrupos. Destacamos os ditiocarbamatos, os diversos tipos de amidas, as dicarboximidias e os diversos tipos de compostos heterocíclicos, entre os quais se encontram os benzimidazóis e os triazóis. Este último grupo químico, de introdução recente, tem já no país dez substâncias activas, esperando-se a comercialização de outras muito em breve.

Finalmente, entre os herbicidas contamos actualmente com nove grupos químicos, alguns dos quais com vários subgrupos. Entre eles encontramos os ácidos fenoxialcanóicos, os tiocarbamatos, as ureias, vários tipos de amidas e aminas e diversos tipos de compostos heterocíclicos como sejam, por exemplo, os compostos quaternários de amónio, diazinas e triazinas. As ureias e as triazinas são os dois grupos de herbicidas com maior número de substâncias activas comercializadas a nível nacional, mas são também dos grupos químicos com menos riscos para a saúde humana.

### Os riscos toxicológicos dos produtos fitofarmacêuticos

Os riscos toxicológicos dos pesticidas de uso agrícola iniciam-se a nível da síntese dos produtos técnicos e dos diferentes processos fabris de formulação e mantêm-se durante as fases de transporte, distribuição, armazenamento, comercialização e aplicação.

Após esta existem ainda riscos toxicológicos para os trabalhadores de campo envolvidos em diversas práticas culturais e para o consumidor dos produtos agrícolas tratados. Neste trabalho vamos debruçar-nos, exclusivamente, sobre os aspectos toxicológicos relacionados com o aplicador, os outros trabalhadores de campo e com o consumidor dos produtos tratados.

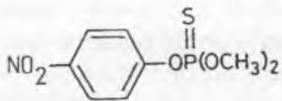
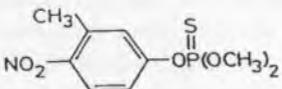
#### *Aplicador de pesticidas*

Se fizermos uma comparação entre os valores das DL50 orais e cutâneas, para ratos e coelhos, dos vários tipos de produtos

fitofarmacêuticos, verificamos que no caso dos insecticidas temos produtos altamente selectivos para animais de sangue quente, como sejam os casos do carbanil, malatião e diflubenzurão e outros muito pouco selectivos, como sejam os casos do aldicarbe, mevinfos e paratião. De facto, os valores das DL50 orais dos primeiros variam entre 850 e 4640 mg/kg de peso vivo e os valores das DL50 dos segundos entre 0,93 e 13 mg/kg de peso vivo [5, 6]. Podemos afirmar que o grupo dos insecticidas é muito heterogéneo em relação à sua selectividade para o homem, uma vez que é constituído por pesticidas muito pouco tóxicos e outros extremamente tóxicos, de que os produtos acima referidos são exemplos típicos. Alterações ligeiras na molécula de um insecticida altamente tóxico podem conduzir à obtenção de produtos mais selectivos. O caso do paratião-metilo e do fenitrotião, ambos comercializados no mercado nacional, mostram que a introdução neste último de um grupo metilo na posição *meta* do anel fenilo, também designado por «mágico» *m*-metilo [7], aumenta substancialmente os valores das DL50 oral e cutânea (Quadro 1). Alterações deste tipo são desejáveis, mas até há pouco tempo as empresas de pesticidas não eram incentivadas neste sentido. Com a introdução do conceito de protecção integrada [8] e com o desenvolvimento desta prática, nomeadamente a partir dos anos 80, as firmas de pesticidas estão procurando sintetizar moléculas de baixa toxicidade. No grupo dos acaricidas específicos verifica-se uma selectividade apreciável das diversas substâncias activas para o homem, com excepção do azociclo estanho com um valor de DL50 oral de 99 mg/kg de peso vivo, o mesmo acontecendo nos grupos dos fungicidas e herbicidas [5, 6]. De facto, nos fungicidas comercializados em Portugal, só o arsenito de sódio tem um baixo valor de DL50 oral (10 mg/kg de peso vivo) verificando-se que a maioria dos outros fungicidas apresenta valores bastante elevados. O DNOC e o paraquato são os únicos exemplos de herbicidas de baixa selectividade, com valores de DL50 orais de 25 mg/kg de peso vivo, respectivamente em ratos e cães. Já no campo dos nematodocidas e dos fumigantes encontramos diversos produtos muito pouco selectivos. Nos primeiros o fenamifos, com um valor de DL50 oral de 10 a 15 mg/kg de peso vivo e o oxamil, com um valor de DL50 de 5,4 mg/kg de peso vivo, são exemplos típicos. Nos segundos, temos como exemplos os gases brometo de metilo, com um valor limite de toxicidade para o homem de 0,065 mg/l de ar e a fosfina, com um valor limite de 0,01 mg/l de ar [5, 6].

O agricultor tem à sua disposição cerca de 600 produtos comerciais que foram previamente estudados do ponto de vista toxicológico pela Comissão de Toxicologia dos Pesticidas, tendo a todos eles sido atribuída uma classificação toxicológica, e definidas precauções de utilização depois de analisados os resultados dos estudos de toxicidade aguda oral, cutânea e inalatória, assim como os testes de irritação da pele e olhos e de sensibilização cutânea. Para os produtos mais tóxicos são requeridas precauções especiais, nomeadamente material de protecção que reduza a contaminação por via cutânea ou inalatória. Em aplicações ao ar livre a contaminação por via cutânea é significativamente a mais importante; em recintos fechados, como estufas e armazéns, a via mais importante poderá ser a cutânea ou inalatória, conforme o tipo de pesticida e a técnica de aplicação utilizados.

Dado que o agricultor nem sempre lê o rótulo ou, caso o leia, se recusa a utilizar material de protecção adequado, são frequentes as intoxicações acidentais com pesticidas resultantes de uma utilização incorrecta.

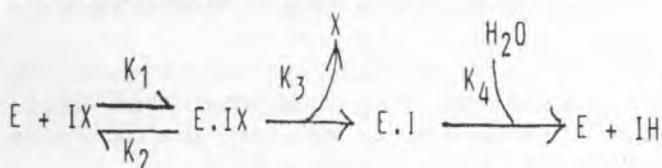
Nome vulgar	Fórmula de estrutura	DL50 mg/kg peso vivo oral	DL50 mg/kg peso vivo cutânea
paratião-metilo		14-24	67
fenitrotião		800	890-1200

QUADRO 1

Valores de DL50 de organofosforados

As intoxicações ocorrem normalmente durante a aplicação de organofosforados e por vezes só após vários dias de utilização contínua deste tipo de insecticidas. Tanto os organofosforados como os carbamatos são inibidores da enzima acetilcolinesterase, a qual desempenha papel fundamental na hidrólise da acetilcolina ao nível do sistema nervoso [9, 10]. Todavia, no caso dos organofosforados a fosforilação da enzima é um processo bastante estável, mantendo-se o bloqueamento durante tempo apreciável, de tal forma que o trabalhador pode ser sujeito a redução progressiva de acetilcolinesterase ao longo de vários dias de trabalho até atingir níveis críticos de acetilcolinesterase. Daí a ocorrência de muitas intoxicações com este tipo de insecticidas em trabalhadores agrícolas, nomeadamente com produtos como o paratião-etilo que têm um valor de DL50 cutânea baixo. No caso dos carbamatos a carbamilação da enzima é um processo bastante menos estável, dado que o éster formado é rapidamente hidrolisado. Nestas circunstâncias o aplicador, para sofrer intoxicação grave, terá de absorver uma quantidade apreciável do produto num curto espaço de tempo, o que já não será tão frequente.

De facto, se designarmos por E a enzima acetilcolinesterase e IX o insecticida inibidor (organofosforado ou carbamato) teremos em qualquer dos casos o seguinte processo:



No caso dos organofosforados, a concentração de E.IX, no qual o inibidor está ligado por forças de Van der Waals, é normalmente baixa, dado que a constante de velocidade  $k_3$  é elevada. Assim,  $k_2$  será baixa e elevada a concentração de E.I onde o inibidor se encontra agora unido por ligações covalentes. Por outro lado, a constante de velocidade  $k_4$  é baixa. Se se tratar de um carbamato, a concentração de E.IX é normalmente elevada, dado que a constante de velocidade  $k_3$  é baixa. Verifica-se, ainda, que a constante de velocidade  $k_4$  é elevada e que  $k_2$  pode ser igualmente elevada [11].

Para reduzir o risco de intoxicação do aplicador durante a preparação da calda ou durante a aplicação, tem havido um esforço das empresas de pesticidas no sentido de apresentarem tipos de formulações mais seguras. É conhecido o risco de manuseamento de concentrados para emulsão, os quais contêm solventes orgânicos que facilitam a penetração cutânea. A sua substituição por suspensões aquosas concentradas é uma excelente alternativa. Também o manuseamento de pós molháveis, com alto teor em substância activa, e que têm que ser pesados no campo, constituem um risco, e igualmente neste caso a sua substituição por grânulos dispersíveis, sem pó, e que são medidos pelo agricultor, constituem outra excelente alternativa.

Por outro lado, a utilização de suspensões aquosas de microencapsulados reduz drasticamente os valores das DL50 cutâneas, mesmo quando essas formulações contêm substâncias activas de toxicidade elevada, como seja o paratião-etilo, tornando-se assim bastante mais seguras para o aplicador a utilização deste tipo de substâncias. Infelizmente, as técnicas fabris a utilizar para estes três diferentes tipos de formulações são sofisticadas e ainda não utilizadas em Portugal, sendo de origem estrangeira todas estas formulações comercializadas no País.

No caso particular do insecticida aldicarbe, um carbamato com um valor de DL50 cutânea de 5 mg/kg de peso vivo, houve necessidade de revestir a formulação de grânulos, contendo 10% de substância activa, com uma resina que só permite a libertação do aldicarbe após o grânulo contactar com água. Desta forma, o manuseamento do produto é considerado seguro, uma vez que o valor da DL50 cutânea da formulação é bastante elevado.

Ainda no sentido de reduzir o risco de intoxicação do aplicador durante a preparação da calda, estão a ser canalizados esforços no sentido de introduzir no mercado internacional produtos cujas embalagens sejam solúveis na água. Tendo as embalagens quantidades de produtos exactas, o agricultor não terá que as abrir, pesar ou medir, mas somente proceder à introdução da embalagem fechada dentro do correspondente volume de água.

Alguns produtos fitofarmacêuticos, embora formulados com substância activa de baixa toxicidade aguda, podem causar problemas graves ao aplicador. Assim, por exemplo, o insecticida organofosforado malatião, quando formulado em pós molháveis contendo certo tipo de adjuvantes pode, quando armazenado em condições de temperatura elevada, conduzir à formação da impureza tóxica isomalatião, a qual já foi responsável por centenas de intoxicações e até mortes de preparadores de caldas e aplicadores [12]. O 2,4,5-T, um herbicida muito importante, deixou de ser comercializado por conter uma impureza de fabrico o 2,3,7,8-tetraclorodibenzeno-p-dioxina, uma das substâncias químicas mais tóxicas que o homem conheceu até hoje (DL50 oral de 22 µg/kg de peso vivo). Nos anos 60, os herbicidas com base em 2,4,5-T, em comercialização a nível internacional, doseavam níveis desta impureza da ordem de 50 ppm com grandes riscos para o aplicador. Embora o processo de fabrico tenha sido substancialmente melhorado e os produtos comerciais ultimamente no mercado doseassem valores de dioxinas abaixo de 0,1 ppm, o seu desaparecimento do mercado foi um processo irreversível, dada a elevada toxicidade aguda e crónica da

impureza em causa. De igual forma, certos grupos de substâncias activas em cujo processo de síntese entram as aminas secundárias e o ácido nítrico ou nitroso são passíveis de formar nitrosaminas ou nitrosamidas, a maioria das quais têm-se revelado com características oncogénicas. De facto, níveis de nitrosaminas da ordem de 150 ppm foram doseados em certos grupos químicos de produtos fitofarmacêuticos, nomeadamente no grupo das aminas, de que é exemplo o herbicida trifluralina [12], valores que foram considerados de risco elevado para o aplicador. O processo fabril destes pesticidas tem sido substancialmente melhorado, de forma a garantir produtos fitofarmacêuticos isentos destas impurezas ou com níveis inferiores a 1 p.p.m.

O nematodocida 1,2-dicloro-3-cloropropano foi retirado do mercado porque, para além das suas características mutagénicas e oncogénicas, afectava o aparelho reprodutor do homem, tendo causado esterilidade em trabalhadores responsáveis pela sua produção e, portanto, pondo igualmente em risco o aplicador [13, 14]. O herbicida nitrofená também foi retirado do mercado, dado que as suas características mutagénicas, oncogénicas e teratogénicas poderiam afectar o aplicador [15].

No momento presente, uma das empresas responsáveis pela comercialização do acaricida hidróxido de triciclohexilstanho retirou voluntariamente o produto do mercado internacional uma vez que, sendo um produto teratogénico, punha em risco os fetos das mulheres grávidas que sazonalmente procediam à aplicação deste produto em culturas do Estado da Califórnia.

Muito recentemente, foram reconhecidos efeitos teratogénicos dos herbicidas bromoxinilo e ioxinilo, pertencentes ao grupo químico dos benzonitrilos, em estudos em que os produtos foram aplicados por via cutânea. Após reavaliação do risco para o aplicador destes herbicidas concluiu-se que com a utilização do material de protecção especial, sempre que se executem tarefas de preparação de calda e pulverização, as pessoas envolvidas no seu manuseamento ficavam devidamente salvaguardadas.

#### *Outros trabalhadores agrícolas*

Após a pulverização dos produtos fitofarmacêuticos, as superfícies das folhas e dos frutos ficam cobertas com um depósito de pesticida que após as primeiras alterações – dissipação por acção mecânica ou física, degradações químicas ou enzimáticas – passa a ter a designação de resíduo. Parte do resíduo pode penetrar para o interior do tecido vegetal e outra parte ficar adsorvida ou fracamente aderente à superfície vegetal. O seu tempo de vida depende das características físicas e químicas do produto em causa, do tipo de cultura tratada e ainda das condições climatéricas. Durante o processo de degradação podem formar-se produtos de activação, conversão ou desactivação toxicológica.

Os trabalhadores que entram nos campos tratados para procederem a diferentes práticas agrícolas, que envolvam contacto directo com as culturas, provocam facilmente o desalojamento dos resíduos fracamente aderentes, os quais produzem localmente concentrações elevadas de aerossol contaminado com pesticida que, na sua queda, contamina o trabalhador.

Isto pode acontecer de um forma significativa em campos de vinha, algodão, tabaco e ainda em pomares durante a execução de práticas culturais que envolvam contacto prolongado com a folhagem como sejam a colheita de frutos, a monda, a poda ou a contagem de insectos.

Numerosos casos de intoxicação têm sido registados na Califórnia, com trabalhadores ocupados na colheita de frutos. As intoxicações têm-se verificado, por vezes, em trabalhadores que entram nos campos várias semanas após os tratamentos e têm ocorrido fundamentalmente com insecticidas do grupo dos organofosforados, nomeadamente com aqueles que têm um valor de DL50 cutânea baixo e que formam oxi-análogos como produtos de activação. O paratião-etilo, paratião-metilo, azinfos-etilo, azinfos-metilo, etião, fentião e dioxatião são alguns exemplos de insecticidas que podem provocar intoxicações deste tipo.

O índice de risco para o trabalhador dependerá do quantitativo de resíduo desalojável existente sobre as culturas e dos diferentes compostos entretanto formados [16]. Assim, no caso do paratião-etilo, um tiofosfato, o índice de risco será tanto maior quanto mais elevada for a razão paraoxon-paratião existente sobre as folhas. De facto, o oxi-análogo do paratião é 10 vezes mais tóxico do que o paratião e penetra bastante mais rapidamente através da pele.

O quantitativo de resíduo desalojável depende do tipo de formulação e volume da calda utilizados, assim como da quantidade de chuva caída nos dias seguintes ao tratamento. Por outro lado, o quantitativo e a persistência dos oxi-análogos depende da quantidade e tipo de pó do solo depositado sobre a superfície folhear. Assim, pós molháveis, aplicações a baixo volume, tempo seco e quente e níveis elevados de pó de certos solos argilosos são factores decisivos, quer para uma formação apreciável de resíduos desalojáveis, quer para a produção de taxas elevadas de oxi-análogos [17, 18, 19]. Por outro lado, chuva depois do tratamento reduz o resíduo desalojável de uma forma apreciável e, concomitantemente, o risco de intoxicação do trabalhador agrícola [20]. Embora os resíduos desalojáveis se encontrem nas folhas e frutos, são as folhas que contribuem de uma forma bastante mais significativa para a contaminação do trabalhador, dados os elevados valores da superfície folhear quando comparada com a dos frutos.

As zonas do corpo mais atingidas dependem das culturas e das práticas culturais, sendo as mãos e os antebraços as partes do corpo mais atingidas em operações de colheita de frutos em pomares de citrinos e pessegueiros.

A intoxicação dos trabalhadores verifica-se essencialmente por absorção cutânea dos resíduos existentes nas folhas e no solo. A inalação tem, por outro lado, uma contribuição negligível no processo de intoxicação.

Uma vez que a intoxicação resulta de uma inibição da acetilcolinesterase, é necessário estabelecer valores diários de inibição que conduzam, no fim do trabalho, a um valor de inibição seguro e aceitável do ponto de vista legal. Na Califórnia, o valor máximo admissível é de 40%, tendo-se concluído que inibições diárias de 2% a 4% (ter em atenção a reversibilidade da inibição e a regeneração da enzima) em trabalho continuado ao longo de um a dois meses conduz a um valor final de inibição inferior a 40% [21].

Para evitar este tipo de intoxicações estabelecem-se interva-

los de reentrada – tempo durante o qual o trabalhador está proibido de entrar num campo tratado para executar tarefas que envolvam contacto prolongado com a cultura tratada. Os intervalos de reentrada garantem que a entrada do trabalhador só se verificará depois dos resíduos desalojáveis existentes sobre as folhas terem atingido níveis seguros do ponto de vista toxicológico. Os intervalos de reentrada estarão dependentes do pesticida e dose aplicadas, da cultura e da área geográfica. A Environmental Protection Agency, dos Estados Unidos, já fixou intervalos de reentrada a nível nacional. Vários Estados daquele País, nomeadamente a Califórnia, têm os seus próprios intervalos de reentrada, que no caso do paratião-etilo atingem os 60 dias [22]. A nível da Europa já foram estabelecidos em alguns países do Leste e a CEE, na actual proposta de legislação sobre homologação de produtos fitofarmacêuticos a nível comunitário, está a introduzir exigências nesse sentido. Em Portugal pensamos que, nomeadamente, a área geográfica do Algarve pode reunir condições para a produção de resíduos desalojáveis com um índice de risco apreciável, embora até ao momento não se tenham efectuado estudos conducentes ao esclarecimento da situação.

#### *Consumidor de alimentos tratados*

Na altura da colheita é frequente encontrarem-se, nas culturas tratadas, resíduos dos produtos fitofarmacêuticos aplicados e dos respectivos produtos de degradação e metabolização. O nível e composição desses resíduos dependerá de vários factores, nomeadamente do pesticida aplicado, doses e concentrações, número de aplicações, intervalo entre a última aplicação e a colheita, tipo e estado fenológico da cultura e condições climáticas desde o início dos tratamentos até à colheita.

Para garantir a saúde do consumidor estabelece-se para cada pesticida uma dose diária de ingestão aceitável para o homem, expressa em miligramas do produto por quilo de peso vivo. Para se chegar a este valor, há necessidade de submeter o produto fitofarmacêutico a estudos toxicológicos subcrónicos e a estudos especiais de toxicidade, entre os quais destacamos estudos de ingestão de três meses a dois anos em ratos e cães, estudos de oncogenia de 18 a 30 meses em ratinhos e ratos, estudos de reprodução durante duas gerações em ratos e estudos de teratogenia em coelhos e ratos. São ainda essenciais uma bateria de testes de mutagenia *in vitro* e *in vivo* com bactérias e células de animais, assim como estudos de metabolização. Caso se verifique que nas plantas se formam metabolitos suspeitos, estes são isolados e estudados individualmente do ponto de vista toxicológico.

Com base nos estudos acima referidos define-se o nível máximo que não provoca efeitos observáveis nos animais e, a partir destes, procede-se à extrapolação para estabelecer a dose máxima de ingestão aceitável para o homem, utilizando para o efeito, um factor de segurança variável. Este valor é, em princípio, igual em todos os países, muito embora certos serviços oficiais responsáveis pela homologação e organizações internacionais, como a FAO/OMS e CEE, possam, em certos casos, dar uma interpretação aos estudos toxicológicos que os conduzam a definirem níveis sem efeitos observáveis nos animais e factores de segurança diferentes. Estas diferen-

ças não são normalmente muito significativas de forma que a dose diária de ingestão aceitável para o homem é geralmente igual ou muito semelhante a nível dos diferentes países. Aliás, a FAO/OMS publicam anualmente listas de substâncias activas como os níveis definidos por estas duas Organizações, níveis estes que são utilizados por muitos países.

Em Portugal, a Comissão de Toxicologia dos Pesticidas, após análise dos processos toxicológicos apresentados pelas empresas, define o nível máximo que não provoca efeitos observáveis nos animais, assim como o factor de segurança a utilizar e calcula a dose diária máxima de ingestão aceitável para o homem. Seguidamente, aprecia os níveis de resíduos presentes nas culturas em aplicações efectuadas de acordo com o conceito de boa prática agrícola [23] e verifica se a totalidade de resíduos ingeridos nos diversos alimentos tratados com o pesticida em estudo são inferiores ao nível diário de ingestão aceitável. Caso isso se verifique, esses valores são adoptados como os limites máximos de resíduos, definindo-se então, para as diferentes culturas, os intervalos de segurança – tempo mínimo entre a última aplicação dos pesticidas e a colheita – os quais garantirão aqueles limites e que são seguros para o consumidor.

Porque o conceito de boa prática agrícola difere de país para país, nomeadamente quando se comparam países de condições climáticas muito diferentes, os níveis de resíduos na altura da colheita para o par pesticida/cultura poderá ser muito diferente. Assim, por exemplo, nos Estados Unidos, as doses, concentrações e número de aplicações necessárias ao combate eficaz de uma praga ou doença são, normalmente, superiores aos dos países da CEE. Como resultado, os limites máximos de resíduos estabelecidos pelos Estados Unidos são, em muitos casos, mais elevados do que os da CEE [24, 25]. A FAO/OMS também estabelece limites máximos de resíduos que têm em linha de conta as práticas agrícolas de todos os países e, sempre que viável do ponto de vista toxicológico, representam a envolvente dos níveis dos resíduos na altura da colheita do maior número de países possível. Por essa razão, os limites da FAO/OMS também são, normalmente, mais elevados do que os da CEE [26].

Em Portugal estão estabelecidos intervalos de segurança desde 1962 e, muito recentemente, foi publicada legislação que adopta oficialmente os limites máximos de resíduos estabelecidos a nível comunitário.

Nos últimos anos tem-se questionado se as populações não estarão a ingerir resíduos de certos pesticidas acima dos níveis seguros. Para esclarecer esta questão, os cálculos de ingestão diária poderão ser efectuados com base nos limites máximos de resíduos e serão designados por ingestões máximas teóricas, ou poderão ter por base estudos de monitorização, estudos em cestos de compras («market basket studies») ou estudos de dietas totais [27, 28]. Os últimos são os que mais se aproximam dos níveis reais de ingestão, mas são raros os países que os executam. Em Portugal procedemos a estudos de monitorização desde há cerca de 25 anos verificando-se que apenas pontualmente chegarão ao consumidor um ou outro produto alimentar com resíduos superiores aos limites máximos admissíveis, situação esta que resulta de os agricultores nem sempre respeitarem as indicações aprovadas e inscritas nos rótulos,

nomeadamente o intervalo de segurança. Todavia, de uma forma global, os dados obtidos evidenciam que os resíduos ingeridos pela população se encontram muito abaixo dos níveis máximos teóricos calculados.

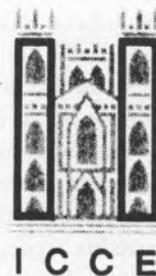
#### Referências

- [1] Gunther, F. A. – Insecticide Residues in California citrus fruits and products. *Residue Rev.*, **28**, 1-121, 1969.
- [2] Silva Fernandes, A. M. S., Sousa, M., Fernandes, B. & Serôdio, M. – Arseniato de chumbo em rama de batateira. In *Relatório dos estudos realizados no Sector de Toxicologia do Laboratório de Fitofarmacologia*, 30-32, LT(D)-1/61. Oeiras, 1961.
- [3] Nunes, J. C. – *Lista dos produtos fitofarmacêuticos com venda autorizada*. CNPPA, Oeiras, 1989.
- [4] Silva Fernandes, A. M. S. – *Classificação química de produtos fitofarmacêuticos*. Instituto Superior de Agronomia, FL-1/89, Lisboa, 1989.
- [5] Hartley, D. & Kidd, H. (Ed.) – *The agrochemicals handbook*. Royal Society of Chemistry, Nottingham, 1987.
- [6] Worthing, C. R., (Ed.) – *The pesticide manual*. British Crop Protection Council, Thornton Heath, 1987.
- [7] Hollingworth, R. M. – Strategies in the design of selective insect toxicants. In Street, J. (Ed.) – *Pesticide selectivity*, 67-111, Marcel Dekker, New York, 1975.
- [8] Amaro, P. – *A protecção integrada em agricultura*. Comis. Nac. Ambiente, Lisboa, 1982.
- [9] OMS – Organophosphorus insecticides. A general introduction. *Environ. Health Criter.*, **63**, 1986.
- [10] OMS – Carbamate pesticides. A general introduction. *Environ. Health Criter.*, **64**, 1986.
- [11] Hassel, K. A. – *The chemistry of pesticides*. Verlag Chemic., Basel, 1982.
- [12] Silva Fernandes, A. M. S. – Impurezas e produtos de degradação tóxicos em formulações de pesticidas. *I Congr. port. Fitofar.*, **7**, 55-77, SCAP/SPFF, Lisboa, 1980.
- [13] United Nations – *IRPTC Bull.*, **4**, (2), 20, Geneva, 1981.
- [14] United Nations – *IRPTC Bull.*, **7**, (2), 24, Geneva, 1985.
- [15] United Nations – *IRPTC Bull.*, **4**, (1), 15, Geneva, 1981.
- [16] Spear, R. C. – Technical problems in determining safe re-entry intervals. *J. Environ. Pathol. Toxicol.*, **4**, 293-304, 1980.
- [17] Spear, R. C., Lee, Y. S., Leffingwell, J. T. & Jenkins, D. – Conversion of parathion to paraoxon in foliar residues; effect of dust level and ozone concentration. *J. Agr. Food Chem.*, **26**, 434-436, 1978.
- [18] Adams, J. D., Iwata, Y. & Gunther, F. A. – Worker environment research. IV. The effect of dust derived from several soil types on the dissipation of parathion and paraoxon dislodgeble residues on citrus foliage. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **15**, 547-554, 1976.
- [19] Gunther, F. A., Iwata, Y., Carman, G. E. & Smith, C. A. – The citrus reentry problem: research on its causes and effects and approaches to its minimisation. *Residues Rev.*, **67**, 1-132, 1977.
- [20] Guthrie, F. E., Domanski, J. J., Chasson, A. L., Bradway, D. E. & Monroe, R. J. – Human subject experiments to estimate reentry periods for monocrotophos-treated tobacco. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **4**, 217-225, 1976.
- [21] Popenorf, J. L. & Leffingwell, Y. T. – Regulating OP pesticide residues for farm worker protection. *Residue Rev.*, **82**, 125-201, 1982.
- [22] Knaak, J. B. – Minimizing occupational exposure to pesticides: - techniques for establishing safe levels of foliar residues. *Residue Rev.*, **75**, 81-96, 1980.
- [23] Vaz, A. – *Relatório síntese da 21ª reunião do Codex Committee on Pesticide Residues*, CNPPA, Oeiras, (PPA/TR)-6/89), 1989.
- [24] Duggan, R. (Ed.) – *Pesticide Chemical News Guide*. Food Chemicals News, Inc., Washington D. C., 1988.
- [25] CEE – Directives 76/895 e 86/362 – *J. Ofic. Comunid. europ.* Nº L 340/26 de 9/12/76; 234/1 de 9/8/82; 221/37 de 7/8/86 e 126/53 de 20/5/88.
- [26] Codex Alimentarius Commission – *Guide to Codex recommendations concerning pesticide residues*. FAO/WHO, Rome, 1986.
- [27] Bates, J. A. R. & Gorbach, S. – *Recommended approach to the appraisal of risks to consumer from pesticide residues in crops and food commodities*. IUPAC, 1987.
- [28] UNEP/FAO/WHO – *Guidelines for predicting dietary intake of pesticide residues*. WHO, Geneva, 1989.

## ELEVENTH INTERNATIONAL CONFERENCE ON CHEMICAL EDUCATION

25-30 August 1991

University of York  
York, U.K.



**BRINGING CHEMISTRY TO LIFE**

Organizado pelo Committee on Teaching of Chemistry da International Union of Pure and Applied Chemistry e a Royal Society of Chemistry em conjugação com a UNESCO e a ASE.

Para mais informações contactar: Dr. J. F. Gibson  
The Royal Society of Chemistry  
Burlington House, Piccadilly  
London W1V 0BN  
Grã-Bretanha

O 12.º ENCONTRO DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE QUÍMICA decorre em Coimbra de 10 a 13 de Março de 1991 segundo o tema «Química, Indústria e Ambiente».

Constará de Lições Plenárias, Lições Temáticas (30 minutos), Comunicações Orais (15 minutos) e apresentações de Painéis sujeitos a discussão individual (5 minutos) em sala própria.

---

#### LOCAL

---

As sessões decorrerão no Departamento de Química e no Auditório da Universidade de Coimbra onde também funcionará o Secretariado.

---

#### ORGANIZAÇÃO

---

Comissão Científica: A. Rocha Gonçalves (Presidente), A. J. Andrade Gouveia, Fernando A. Alves, José R. Redinha, João O. Cabral, Sebastião Formosinho, A. J. C. Varandas, José L. Figueiredo, A. Romão Dias e C. Nieto de Castro.

Comissão Organizadora: A. Rocha Gonçalves (Presidente), Maria Luísa Leitão, Carlos Paliteiro, Luís Arnault, Emília Azenha, A. Canelas Pais e Maria Elisa Serra.

---

#### TEMAS

---

- A – Química Física
- B – Química Orgânica
- C – Química Inorgânica
- D – Biotecnologia
- E – Química e Ambiente
- F – Química e Indústria

## 12.º ENCONTRO DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE QUÍMICA



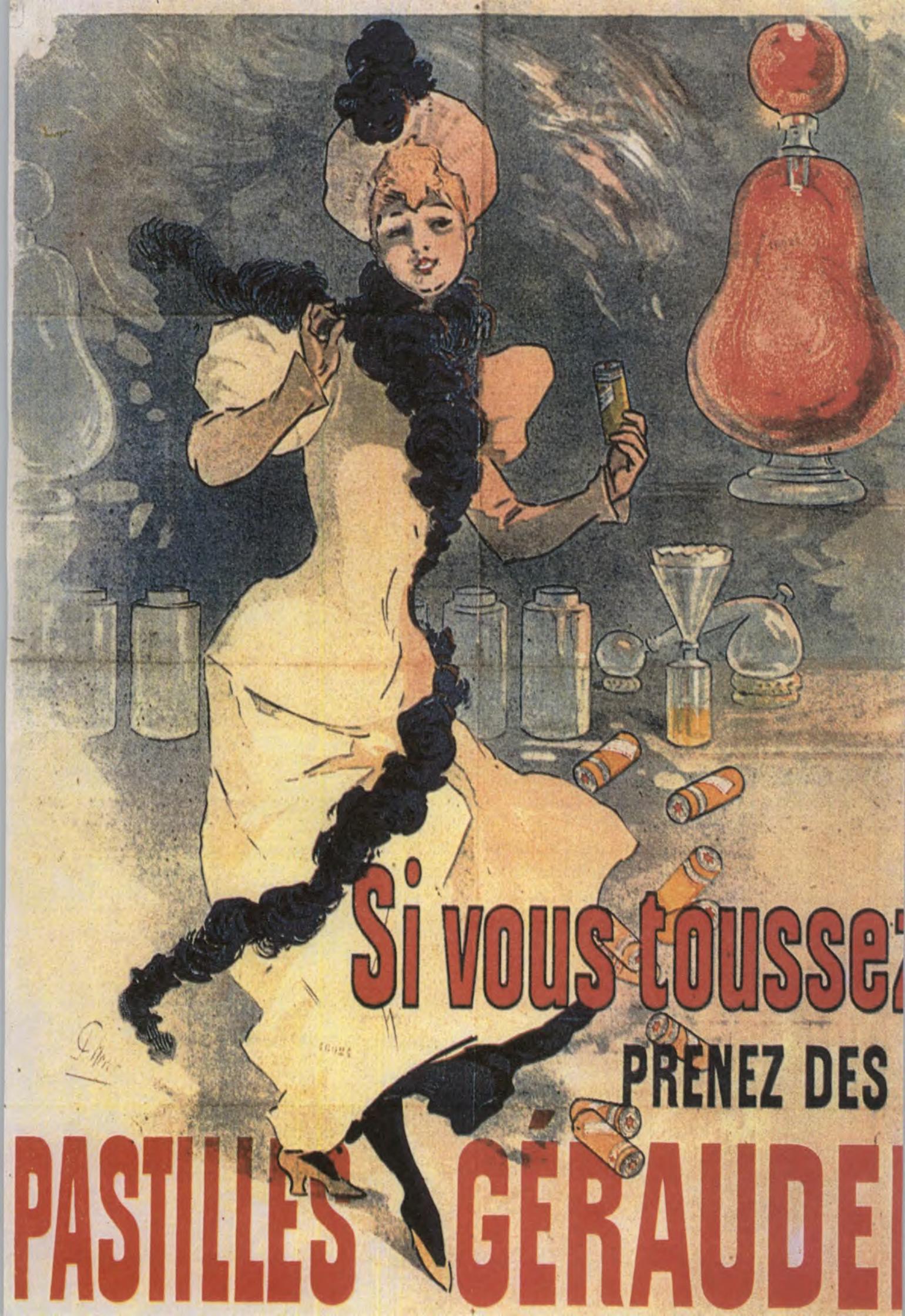
QUÍMICA  
INDÚSTRIA  
AMBIENTE

10 A 13 DE MARÇO DE 1991

COIMBRA

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Comissão Organizadora  
12.º Encontro da SPQ  
Departamento de Química  
Universidade de Coimbra  
3049 COIMBRA



**Si vous tousssez**

**PRENEZ DES**

**PASTILLES GERAUD**

# Consequências biológicas da utilização de ligas metálicas em medicina dentária

Jorge Leitão <sup>a</sup>



Jorge Leitão

- *Professor Associado da Escola Superior de Medicina Dentária de Lisboa (ESMDL). Área de Materiais Dentários.*
- *Licenciado em Medicina, Universidade de Lisboa (1965).*
- *Internato Hospitalar, H. S. Maria (1965).*
- *Especialista em Estomatologia (1969).*
- *Professor Auxiliar da Escola Superior de Medicina Dentária de Lisboa (ESMDL) e encarregado da regência da disciplina de Materiais Dentários desde 1978.*
- *Membro da Comissão Instaladora da ESMDL.*
- *Especialização em Materiais Dentários, no Departamento de Tecnologia e Biomateriais da Universidade de Bergen, onde estagiou como bolsheiro do Governo Norueguês (NO-RAD) nos anos de 1978, 79, 80, 81, 82 e 83.*
- *Estagiou ainda no Instituto Escandinavo de Normalização de Materiais Dentários (NIOM).*
- *É membro das seguintes sociedades científicas:*
- Sociedade Portuguesa de Estomatologia e Medicina Dentária;*
- Sociedade Portuguesa de Materiais;*
- Sociedade Portuguesa de Engenharia Biomédica;*
- Association Stomatologique International (ASI);*
- International College of Dentists (ICD);*
- Academy of Dental Materials (ADAS).*

As ligas metálicas à base de metais nobres, ouro, platina e paládio têm sido usadas com sucesso clínico na execução de próteses dentárias desde há longos anos. A partir dos anos 70 e na sequência da subida mundial da cotação do ouro, sucederam-se os ensaios de ligas alternativas à base de crómio-cobalto e níquel-crómio menos dispendiosas, todavia exibindo adequadas propriedades mecânicas [1]. Desde então as ligas de crómio-cobalto passaram a ser utilizadas prioritariamente em próteses parciais removíveis secundariamente em coroas e pontes fixas. Um estudo efectuado em 1978, nos Estados Unidos mostrou que 29% dos laboratórios de prótese dentária haviam aderido a estas ligas; já em 1980 e 1981 as percentagens subiram para 66% e 70%, valores que se têm mantido apesar do preço do ouro ter voltado a cair substancialmente [2]. Vemos assim que desde o primeiro ensaio de utilização por volta de 1930, a sua vulgarização não tem parado, estendendo-se também ao campo dos implantes e da prótese ortopédica [1].

De acordo com a especificação n.º 14 da Associação Dentária Americana a composição destas ligas deve incluir um mínimo de 85% por peso de crómio, cobalto e níquel. O cobalto (60%) e o crómio (25% a 30%) são os componentes fundamentais; pequenas quantidades de molibdénio, carbono, tungsténio, ferro e manganésio estão habitualmente presentes como elementos endurecedores ou controladores da temperatura de fusão. O crómio assegura a resistência à corrosão, pela passivação da liga [3].

Os primeiros estudos retrospectivos sobre a utilização clínica destas ligas em prótese dentária, revelaram plena satisfação dos requisitos mecânicos e biológicos, apesar do elevado número de pacientes incluídos nas observações [4].

Contudo, ano após ano foram surgindo casos isolados de reacções biológicas adversas de sensibilização cutânea ou bucal aos constituintes metálicos das próteses, pondo em dúvida o conceito inicial da sua inoquidade [1-5].

Com efeito, as ligas metálicas são imprevisivelmente sujeitas a complexos fenómenos de corrosão quando inseridas no meio bucal, em consequência das múltiplas variações de temperatura, pH, tipo de fluxo salivar, constituição química dos alimentos ou medicamentos ingeridos, presença de bactérias e seus metabolitos. À libertação de iões metálicos, segue-se a sua absorção e passagem à corrente sanguínea e fixação selectiva em determinados órgãos, por períodos longos de acordo com a semi-vida desses elementos. Encon-

<sup>a</sup> Escola Superior de Medicina Dentária de Lisboa (ESMDL).

tra-se hoje estudada por autores escandinavos a capacidade lesiva específica dos diversos metais, potencialmente capazes de desencadear fenómenos alérgicos, tóxicos, inflamatórios, após contactos mais ou menos prolongados com o organismo [1-6-7-8].

A preocupação sobre este problema acentuou-se mais na medida em que, em muitos casos as lesões não se situam na área de contacto com o metal. Tal é o caso do níquel em que as alterações da pele são mais exuberantes que as da mucosa bucal. Os sintomas subjectivos podem ser mais ou menos pronunciados consoante as condições gerais físicas ou psíquicas do paciente, tornando mais difícil o diagnóstico. Acresce ainda que as afecções de tipo alérgico não parecem depender duma relação dose-efeito, pelo que pequenas quantidades de metal libertado podem produzir graves lesões [9-10]. Estabelecida a sensibilização é difícil manter o doente afastado de futuros contactos quer com o níquel, quer com o cromo, constituintes usuais de quase todos os objectos metálicos que nos rodeiam diariamente. Fenómenos de sensibilização idênticos foram descritos em ortopedia na sequência da utilização clínica de próteses da anca em cromo cobalto.

A opinião médica dividiu-se inicialmente entre a minimização de mais um novo tipo de alergia cutânea até ao verdadeiro alarme quando se detectaram lesões cancerosas das vias respiratórias superiores em trabalhadores metalúrgicos expostos a inalação de poeiras de níquel. A prevalência neste grupo é novecentas vezes superior à da população geral. Contudo o risco de desencadear alergias de contacto é o facto dominante, estando hoje estimado que a prevalência de desmiste pelo níquel é de 10% no sexo feminino e de 1% no masculino. A Suécia assume a primeira tomada de posição radical em 1974 proibindo o uso dentário de ligas contendo mais de 1% por peso de níquel, tal como já havia feito com o cádmio. Nos USA só dez anos mais tarde se verifica posição similar [2].

A situação que reportámos ilustra tipicamente um caso em

que a primeira preocupação face à proposta de uso de novas ligas metálicas, se centrou na verificação imediata e exaustiva de todos os seus atributos mecânicos, físicos e químicos, negligenciando totalmente os aspectos relativos às possíveis consequências biológicas.

Há actualmente necessidade de considerar de um modo sistemático os materiais dentários como substâncias para «uso médico» tal como os fármacos, e por consequência submetê-los a bateria de testes biológicos antes de iniciar a sua utilização clínica.

Felizmente parece ser este o caminho recentemente acordado entre os representantes da indústria, dos centros de investigação e departamentos de protecção à saúde e ambiente.

#### Referências

- [1] Bergman, B., The effects of prosthodontic materials on oral tissues. *Oral Sciences Reviews*, 1977, 10: 75-93.
- [2] Workshop: Biocompatibility of metals in dentistry. National Institute of Dental Research. *J.A.D.A.*, 1984, 100: 469-171.
- [3] American Dental Association Specification N.º 14. Dentists' desk reference: materials, instruments and equipment. *A.D.A. ed 2*, 1985, pp. 93.
- [4] Dooms-Goossens, A. A follow-up study of patients with contact dermatitis caused by chromates, nickel and cobalt. *Dermatologia*, 1980, 160: 249-260.
- [5] Huget, E.F. Alternatives to gold alloys in dentistry, Dental alloys: biological considerations. Conference proceedings. Valega, T.M. Sr., Ed. National Institute of Health. U.S. Department of Health. Education and Welfare, Bethesda. MD. 1977, pp. 106-138.
- [6] Soremark, R. Some biological effects caused by prosthetic materials. *Swed. Dent.*, 1979, 3: 1-7.
- [7] Council of Dental Materials: Instruments and Equipment. Reportes on base metal alloys for crown and bridge application: benefits and risks. *J.A.D.A.*, 1985, 111: 479-483.
- [8] Kuhn, A.T. Corrosion of Co-Cr alloys in aqueous environments. *Biomaterials*, 1981, 2: 68-77.
- [9] Leitão, J. Melo, F.P. Biocompatibility of cobalt-chromium alloys: in vitro and in vivo. *Studies. Rev. Port. de Est. e Cir. Maxilofac.*, 1988, 29(4): 285-296.
- [10] Leitão, J. Melo, F.P. Libertação de cromo e cobalto a partir de próteses dentárias na cavidade bucal. *Proceedings do I Congresso Português de Engenharia Biomédica*, 1980, 60.

## SOCIÉTÉ MÉDITERRANÉENNE DE CHIMIE

A Secção Regional «Languedoc-Roussillon» da Societé Française de Chimie decidiu criar uma Secção Mediterrânea Internacional, com vários objectivos entre os quais se salientam:

- reuniões científicas comuns sobre temas a definir;
- cooperação mais estreita, com troca de estudantes e de investigadores no quadro de projectos europeus.

Para mais informações contactar: Monsieur Jacques Rouviere  
U.S.T.L.  
Physico-Chimie des Systèmes Polyphasés – Case 016  
Place Eugène Bataillon  
34095 Montpellier cedex 5  
França

## Convite à Reflexão ...

### O Homem

O Homem tem um aspecto estranho: caminha apumado sobre duas pernas. Por isso, tem dois lados a que chama esquerda e direita. Encontrámos esta estrutura simétrico-lateral em muitos seres vivos na Terra, porém, também existe a nossa estrutura simétrico-radial, apesar de ser mais rara nos animais do que nas plantas. A imagem do mundo do Homem parece-nos muito estranha; isto deve-se talvez ao facto de ele viver o "Mundo" com os seus sentidos de uma maneira completamente diferente da nossa. Não se apercebe de algumas coisas que nós reconhecemos, mas temos de confessar que tem uma perspectiva sobre outros domínios da realidade que nós não temos. A sua "imagem do mundo" depende obviamente do facto – como já referimos atrás – de ter uma estrutura simétrico-lateral, porque "esquerda" e "direita" são partes essenciais da sua experiência do mundo e do seu modo de pensar.

Durante a nossa viagem, tivemos oportunidade de efectuar experiências com alguns homens. Os nossos testes referiam-se à assimilação temporal de estímulos. Verificámos, por exemplo, que para o Homem a simultaneidade se define de acordo com o sentido que assimila o estímulo, ou seja, na audição e na vista a simultaneidade é diferente. Mas mesmo quando reconhece os sinais como não-simultâneos, não sabe necessariamente em que sequência é que eles se deram. Neste pormenor, exprime-se de maneira muito clara a evolução atrasada do Homem.

O Homem também desenvolveu, como nós, um mecanismo que é capaz de integrar acontecimentos consecutivos em formas perceptivas. Mas esta integração tem no Homem um limite máximo de três segundos. Tudo o que se condensa dentro desse intervalo apresenta-se-lhe como consciente no presente. Para nós, foi interessante observar que o Homem só pode ter *um* conteúdo da consciência, enquanto em nós, devido aos princípios construtivos do nosso processador central (o Homem chama-lhe cérebro), podem decorrer paralelamente muitos processos de consciência. Esta limitação a *uma* consciência é uma diferença fundamental entre ele e nós. Nas nossas experiências com os Homens, este foi aliás um resultado incompreensível, durante muito tempo. Tivemos primeiro de nos libertar da nossa ideia de que é evidente ter mais do que um conteúdo da consciência.

Como o Homem só tem uma consciência num determinado momento, não é possível prever com exactidão o que é que chega à consciência. Enquanto nós evocamos consecutivamente cada consciência parcial, tendo em vista os objectivos de acção, no Homem ficam muitas vezes por esclarecer avaliações de estados de coisas, que levam à acção. O Homem chama inconsciente ao que fica por esclarecer. Portanto, o próprio Homem não sabe muitas vezes por que é que se lembra de determinada coisa ou por que é que faz uma coisa determinada. Encontra-se, num certo sentido, entregue a si próprio, o que ocasiona muitas vezes problemas na sua relação com os outros homens. O que chega à sua consciência está sempre colorido pelos sentimentos, o que leva a que os seus actos sejam sempre influenciados pelas suas emoções; pelo contrário, os nossos actos decorrem a um nível puramente racional, podendo ser por isso continuamente controlados e efectivamente por nós controlados. Mas, visto que nem sempre tem consciência das suas emoções, o seu comportamento desperta muitas vezes uma im-

pressão descontrolada e irracional em quem está de fora. Foi uma surpresa para nós observar que a vida social do Homem não parece ser possível, segundo critérios puramente racionais.

No decurso da evolução, desenvolveram-se no cérebro do Homem inúmeras estruturas que são responsáveis pela compreensão da realidade. Cada estrutura parcial, também lhe podemos chamar módulo, é responsável por uma determinada categoria; podemos nomear uma muito simples, por exemplo, a categoria "cor". Para nós, foi interessantíssimo observar o número reduzido destas categorias. Visto que a "imagem do mundo" do Homem se apoia na compreensão categorial da realidade, é lógico que a visão humana do mundo também seja limitada. O Homem nem sequer faz a mínima ideia de que a realidade em que vive é muito mais extensa, e isto apenas porque lhe faltam as categorias necessárias, devido às condições evolutivas preliminares. As observações que fizemos no Homem ajudaram-nos, todavia, a pôr a seguinte questão: é possível que a nossa própria realidade também seja limitada – apesar de ser mais vasta do que a do Homem na Terra, devido ao maior número de categorias?

O Homem, porém, desenvolveu um modo de proceder bastante interessante para lhe permitir alargar os limites da sua visão do mundo, que lhe foi imposta pela sua própria evolução. Ele chama Ciência a este modo de proceder. Examina outros seres vivos – do mesmo modo que nós o examinámos a ele – e, a partir do estudo da realidade desses seres vivos, consegue ter uma visão mais vasta da natureza. Porém, esta visão não é uma vivência imediata, mas uma dedução mediata com base nas observações efectuadas; é preciso dizer que, com este método, ele teve um grande sucesso. A adaptação evolutiva de outros seres vivos informou-o sobre uma realidade mais vasta, mas afinal naturalmente oculta. Assim, reconhece pelo menos que a sua própria realidade não é absoluta, mas apenas uma imagem condicionada pela sua evolução.

Todavia, duvida-se de que ele tenha, no fim de contas, sucesso com esta tentativa de expansão da realidade. É que os seus órgãos pensantes também dependem, muito naturalmente, das condições evolutivas, ou seja, das categorias de que dispõe, e segundo as quais descreve o Mundo. Os conceitos não são independentes das categorias criadas; o conceito "compreensão", muito generalizado no Homem, exprime isto muito lucidamente. Por isso, a experiência do mundo do Homem é afinal circular, quer dizer: gira num círculo, porque só se pode compreender aquilo para que há categorias. A sua realidade tem de ser obrigatoriamente uma construção com base nos mecanismos cerebrais que lhe foram postos à disposição. O Homem não pode sair de si próprio e observar-se do exterior.

A visita a este satélite solar proporcionou-nos uma nova visão interessante sobre uma espécie agora descoberta. Para nós, tornou-se sobretudo evidente que, sem os limites da consciência – como os observámos no Homem –, ele não teria à sua disposição nenhuma realidade. As fronteiras definem o quadro formal, para que a realidade possa de todo compreender-se. Sem limites só existiria o caos para o Homem. Visto que as observações sobre a possibilidade limitada de o Homem construir uma realidade foram tão instrutivas, temos de admitir que a nossa própria realidade também é limitada. Devíamos pensar nisso...

# VICHY QUINA

PRÉPARÉ AVEC LES

SELS DE VICHY



AFICHES PICHOT PARIS

VIN APÉRITIF TONIQUE & FORTIFIANT

# Glutationo e toxicidade de etanol

Ana Ponces Freire <sup>a</sup>  
Carlos Manuel C. Santos <sup>b</sup>



Ana Maria Jara Ponces  
da Costa Freire

*Nasceu em Lisboa em 1948. Licenciou-se em Química pela FCUL em 1971, com a classificação de 16 valores. Doutorou-se em Bioquímica em 1981, com distinção e louvor. Desempenha desde 1972, funções docentes no Departamento de Química da FCUL. Integra o Centro de Estudos de Bioquímica e Fisiologia Animal (INIC), desenvolvendo projectos na área da Enzimologia. Neste âmbito tem artigos publicados em revistas nacionais e internacionais. É coautora dos livros «Introdução à Bioquímica» ed. Fundação Gulbenkian, 1974; «Bioquímica Humana» ed. Fundação Gulbenkian, 1987; «Control of Metabolic Processes» ed. Plenum Press, N.Y., 1990.*

## Glutationo – Aspectos gerais do seu metabolismo e função

O glutatióno (L- $\gamma$ -glutamil-L-cisteinil-glicina) é o maior tiol não proteico encontrado em células animais. A molécula é usualmente representada por GSH enquanto o persulfureto resultante da oxidação do grupo tiol é designado por GSSG. Os principais processos em que o glutatióno está envolvido nos organismos vivos envolvem reacções de oxidação-redução, podendo estas ser de substituição, de adição e enzimáticas.

Do ponto de vista químico, os tióis são ainda muito reactivos face a radicais livres, cedendo átomos de hidrogénio aos radicais centrados em átomos de carbono, dióxigénio e azoto [1,2].

As diversas funções do glutatióno parecem ser relevantes em muitos campos como a enzimologia, farmacologia, bioquímica das radiações, «terapia» do cancro, toxicologia, endocrinologia, microbiologia. Tem sido sugerido o seu papel como fonte de aminoácidos de grupos sulfidrílo, nomeadamente de cisteína, para os tecidos extra-hepáticos, durante longos períodos de privação deste aminoácido [3]; na redução de ligações persulfureto das proteínas e outras moléculas, na síntese de precursores de desoxirribonucleótidos do DNA, na protecção das células contra o efeito de radicais livres e de outros intermediários reactivos do dióxigénio que são formados no metabolismo [4]. Admite-se ainda que pode actuar em processos de desintoxicação celular na inactivação de algumas drogas e no processo metabólico de certos compostos endógenos, tais como estrogéneos e prostaglandinas [5]. Alguns autores sugerem ainda a sua participação na regulação de certos processos metabólicos [6]. É também cofactor de muitos enzimas, principalmente do glutatióno peroxidase e do glutatióno redutase [7].

O glutatióno peroxidase catalisa a oxidação da molécula de GSH por acção de hidroperóxidos [7]. Dois tipos de actividade do glutatióno peroxidase foram observados no fígado de rato: uma envolvendo selénio e outra não envolvendo selénio. A primeira catalisa a redução de hidroperóxidos orgânicos e de hidroperóxido de hidrogénio enquanto a forma não dependente do selénio catalisa apenas a reacção que envolve hidroperóxidos orgânicos [8].

O glutatióno redutase parece ser um dos enzimas que mantém o glutatióno na sua forma reduzida (GSH), possivel-

<sup>a</sup> Departamento de Química, FCUL. Centro de Estudos de Bioquímica e Fisiologia Animal, Instituto Rocha Cabral, Calçada Bento Rocha Cabral, 14, 1200 Lisboa.

<sup>b</sup> Bolseiro do INIC.

mente pelo controlo da razão  $[NADP^+]/[NADPH]$  nos tecidos [7].

Assim, o glutatióno peroxidase e glutatióno redutase serão dois enzimas importantes na determinação do estado redox do glutatióno [7].

O conhecimento do metabolismo do glutatióno tem surgido de estudos de (a) reacções do ciclo  $\gamma$ -glutamilo, o qual inclui a síntese e degradação do glutatióno e envolve o transporte de glutatióno para o exterior das células e de aminoácidos  $\gamma$ -glutamilo para o interior; (b) reacções de conversão reversível de GSH em GSSG; (c) transformações metabólicas de conjugados de GSH S-substituídos [5].

No interior da célula o glutatióno reage com uma variedade de compostos com carácter electrófilo num processo catalisado pelo glutatióno S-transferase, formando-se «GSH S-conjugados».

A oxidação do glutatióno que é sintetizado na sua forma reduzida poderá estar relacionada com a concentração de hidroperóxidos, persulfuretos, radicais livres e/ou com a actividade do glutatióno peroxidase.

Em resumo, a razão GSH/GSSG poderá ser relacionada com as actividades de determinadas enzimas, com a concentração de tióis e de um modo geral com o estado redox dos tecidos. Outros factores poderão ainda ser referidos. Assim, a razão GSH/GSSG parece ser importante no controlo da concentração de coenzima A livre nos tecidos já que este pode reagir com a forma oxidada de glutatióno de acordo com o esquema:



Esta reacção apresenta uma constante de equilíbrio aparente próxima da unidade, o que significa que qualquer aumento de concentração de coenzima A livre poderá ser relacionada com a razão GSH/GSSG implicando um aumento do metabolismo dos ácidos gordos [7].

É no tecido hepático que se têm encontrado os valores de concentração mais elevados de glutatióno. O seu transporte entre tecidos é feito pelo plasma onde a razão GSH/GSSG é significativamente inferior. No rim ocorre cerca de 50 a 70% do «turnover», devido à alta actividade de  $\gamma$ -glutamiltanspeptidases [6]. As células do fígado, com baixa actividade nestes enzimas, transportam glutatióno para o plasma onde os níveis de GSH permanecem baixos visto que este é utilizado tanto em reacções catalisadas por transpeptidases celulares, principalmente do rim, como em processos de desintoxicação celular [9].

Se por um lado estas considerações pretendem demonstrar a importância do conhecimento dos níveis e do estado de oxidação-redução do glutatióno no plasma, é por outro lado igualmente importante esse estudo no fígado já que é neste órgão que efeitos tóxicos como p.e. do etanol incidem fundamentalmente.

### Glutatióno e metabolismo do etanol

Os efeitos da ingestão de alcoóis (em particular, do etanol) sobre o metabolismo do glutatióno podem ajudar na elucidação do(s) mecanismo(s) pelos quais esses compostos ou os seus produtos de degradação actuam na célula hepática [10]. Segundo Videla *et al* [11], a ingestão aguda de etanol poderá induzir depleção de GSH hepático, dependendo esse efeito

do estado nutricional e sendo reversível com o tempo. Nesta situação, qualquer composto com grupos tiol p.e. metionina e cisteína (ambas envolvidas na síntese de GSH) poderão ter efeito protector em relação à sua depleção [12].

Observa-se ainda que a administração de etanol em dose aguda leva a decréscimo dos níveis de GSH hepático [13-17]. Esta redução tem vindo a ser explicada por dois mecanismos possíveis: (a) a ligação de acetaldeído, produzido no metabolismo do etanol, a grupos tiol, em particular a GSH e cisteína (precursor do GSH) formando-se um derivado do ácido 2-metil-tiazolidina-4-carboxílico (2-MCTA); (b) a oxidação de GSH por lipoperóxidos produzidos devido à degradação do etanol.

### Formação de aductos com acetaldeído

Tem sido detectada a formação de aductos, *in vitro*, entre GSH e acetaldeído [18] e GSH e formaldeído [19].

Experiências com hepatócitos incubados em presença de etanol e pirazolo, este último, inibidor do alcool desidrogenase (enzima que catalisa a oxidação de etanol a acetaldeído) sugerem que não será o etanol o responsável directo pela diminuição observada *in vivo* nos níveis de GSH. Estes resultados são aliás confirmados por experiências em que se substitui o etanol por acetaldeído, em concentrações variáveis havendo neste caso redução até cerca de 43% nos níveis de GSH [18].

Quando GSH e acetaldeído são adicionados ao meio de incubação, em concentrações equimolares observa-se ainda uma redução dos níveis de GSH em relação aos controlos. No entanto, a adição de hidrazina aos sistema anula esse efeito. Estes dados levam a admitir que a ligação de GSH a acetaldeído terá carácter reversível [18].

Os resultados anteriores indicam que o responsável pelo abaixamento de GSH, *in vivo* poderá ser o acetaldeído. Se doses agudas de etanol são correlacionáveis com redução hepática dos níveis de GSH, este decréscimo poderá ser consequência de depleção de aductos GSH-acetaldeído e/ou decréscimo de síntese de GSH. Isto poderá explicar, pelo menos em parte, a hepatotoxicidade induzida pelo etanol.

No entanto, a importância das experiências sobre depleção hepática do glutatióno que têm vindo a ser feitas, parece-nos controversa. Assim, por exemplo, em contradição aparente com o que se acabou de referir, Speisky *et al* [13-14] observaram que a velocidade de condensação não enzimática entre GSH e acetaldeído é apenas cerca de 6% da velocidade de desaparecimento de GSH hepático, após administração aguda de etanol. Os mesmos autores [16] observaram ainda que a administração aguda de etanol a micromamíferos previamente tratado com carbamida de cálcio ou disulfiram (inibidores do aldeído desidrogenase), induzirá um aumento de cerca de 10% nos níveis de acetaldeído no sangue, não se observando qualquer efeito na concentração de GSH hepático. Resultados idênticos são obtidos utilizando 4-metilpirazolo (inibidor do álcool desidrogenase) o que leva a pôr como hipótese que a depleção hepática de glutatióno possa ser independente do metabolismo do etanol.

### Redução de lipoperóxidos pelo glutatióno

A peroxidação lipídica tem sido apresentada como outro possível mecanismo para a lesão do fígado induzido pelo etanol. No entanto, o aumento da formação de lipoperóxidos

após a administração aguda de etanol é mais um assunto de controvérsia. Enquanto alguns investigadores não observam qualquer variação nos níveis de lipoperoxidação [14], outros pelo contrário associam a redução dos níveis de GSH hepático com o aumento dos níveis de lipoperoxidação, em condições de depleção de GSH [11]. Estas observações poderiam ser explicadas por uma redução acentuada nos níveis de GSH retirar à célula capacidade de defesa contra a lipoperoxidação.

Speisky *et al* [15] observaram que a administração aguda de etanol, (5 g etanol/kg peso) 6 horas antes do sacrifício dos animais, apesar de resultar num decréscimo dos níveis de GSH em cerca de 35%, não altera os níveis de lipoperoxidação, medidos pelo método dos dienos conjugados; a administração de um composto tóxico como o dietilmaleato (0,9 ml/kg) 90 min. antes do sacrifício dos animais provoca uma redução em cerca de 85% nos níveis de GSH hepático, sem se observar qualquer alteração nos níveis de lipoperoxidação.

Por outro lado, Muller e Sies [20] observaram aumento de formação de etano e n-pentano, (indicadores mais sensíveis da peroxidação lipídica) em fígado de rato após adição aguda de etanol. Este efeito não foi observado quando inibidores do álcool desidrogenase estavam presentes (4-metil e 4-propilpirazolo). A produção daqueles hidrocarbonetos foi igualmente observada após adição ao meio de acetaldeído, o mesmo não acontecendo com a adição de acetato. Estas observações parecem apontar o acetaldeído como o principal responsável da peroxidação lipídica durante o metabolismo agudo do etanol.

#### Glutationo em humanos

Alguns resultados da literatura indicam que o glutatióno plasmático em humanos com cirrose hepática é menor do que em doentes sem doença hepática [21-22].

Em relação ao glutatióno no fígado também este estará reduzido nos doentes com cirrose [22]. No entanto, os níveis de cisteína plasmática não são estatisticamente diferentes nas populações estudadas [22].

Observa-se ainda que a actividade do  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase, enzima responsável pela degradação do GSH apresenta frequentemente valores elevados nos doentes com cirrose [22].

Em resumo, os baixos valores de glutatióno plasmático e hepático em doentes com doença hepática alcoólica, mesmo em situação de bom estado nutricional, sugerem um decréscimo de fluxo de GSH hepático, que permanece sem explicação.

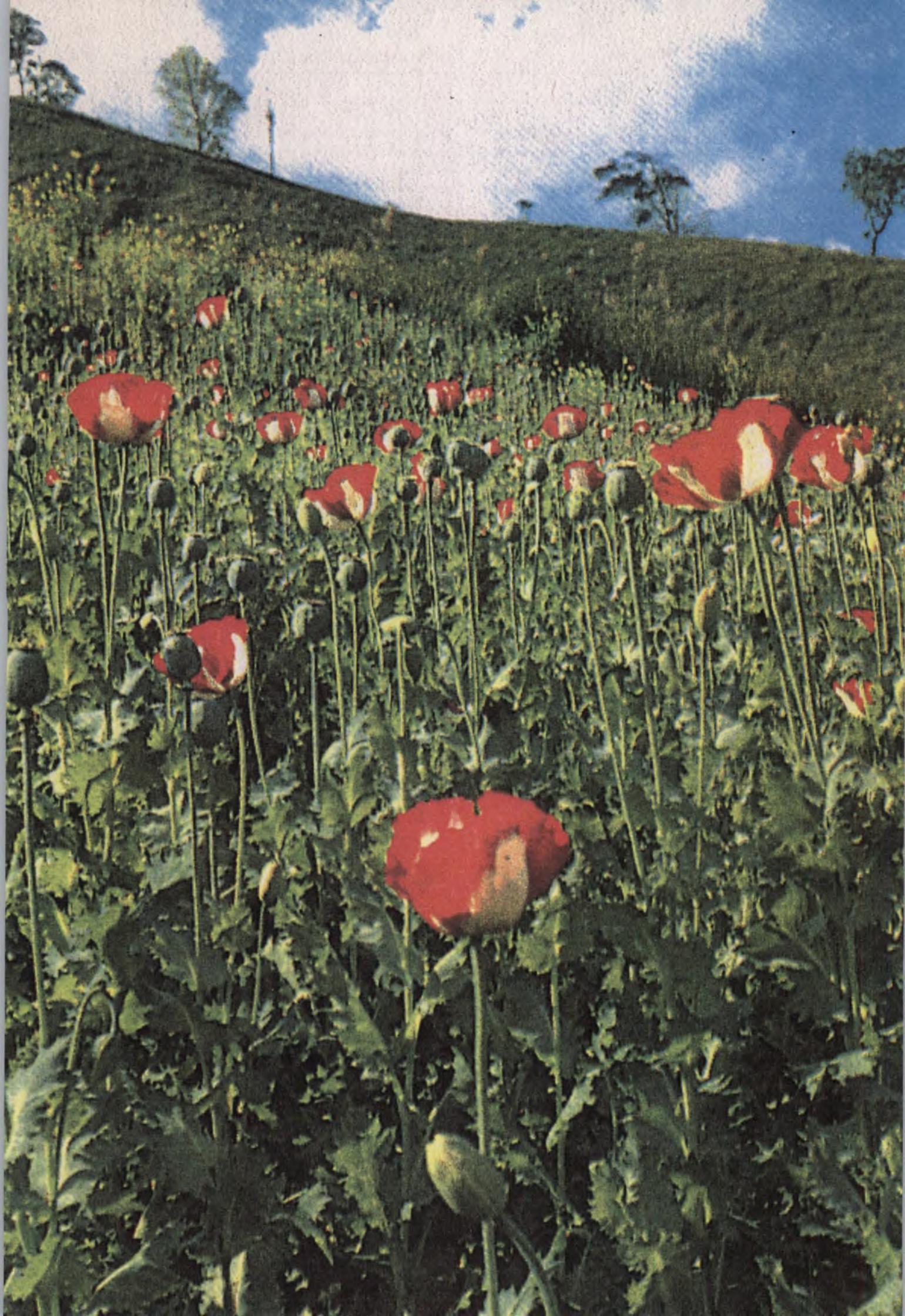
#### Perspectivas

O conceito de que substâncias quimicamente inertes possam ser metabolizadas transformando-se em espécies reactivas responsáveis por alterações fisiológicas, não é novo. Este mecanismo tem vindo a ser utilizado para explicar a hepatotoxicidade de numerosos solventes e drogas. Recentemente esta hipótese é sugerida no estudo da doença hepática alcoólica. Assim, no hepatócito, a oxidação etanol leva à formação de baixas (mas estequiométricas) quantidade de acetaldeído. Este é maioritariamente oxidado a acetato, podendo no entanto numa pequena fracção ligar-se a macro-

moléculas na célula hepática p.e. glutatióno, provocando lesões irreversíveis. Para que esta hipótese seja confirmada é necessário um conhecimento mais preciso dos aductos de acetaldeído, em particular a sua estrutura e localização subcelular e uma correlação rigorosa entre a sua formação e a alteração de funções do glutatióno.

#### Referências

- [1] Anderson, M.E., Meister, A., (1980). Dynamic State of glutathione in blood plasma, *J. Biol. Chem.*, 255, 9530-9533.
- [2] Kosower, E.M., (1976). Chemical properties of glutathione. In «Glutathione: metabolism and function», I. Marias e W.B. Jacoby, Eds., pag. 1-15, Raven Press, N.Y.
- [3] Callans, J.D., Wacker, L.S., Mitchell, M.C. (1987). Effects of ethanol feeding and withdrawal on plasma glutathione elimination in the Rat. *Hepatology*, 7(3), 496-501.
- [4] Anderson, M.E. (1986). Tissue Glutathione. In «CRC Handbook of methods for oxygen radical research», R.A. Greenwald ed., 317-323, CRC Press, Boca Raton.
- [5] Meister, A., (1983). Selective modification of glutathione metabolism. *Science*, 220, 472-477.
- [6] Lash, L.H., Jones, D.P., (1985). Distribution of oxidized and reduced forms of glutathione and cysteine in rat plasma. *Arch. Biochem. Biophys.*, 240(2), 583-592.
- [7] Pinto, R.E., Bartley, W., (1969). The effect of age and sex on glutathione reductase and glutathione peroxidase activities and on aerobic glutathione oxidation in rat liver homogenates. *Biochem. J.*, 112, 109-115.
- [8] Burk, F.F., Nishiki, K., Lawrence, R.A., Chance, B., (1978) Peroxide removal by selenium-dependent and selenium independent glutathione peroxidases in hemoglobin-free perfused rat liver. *The Biol. Chem.*, 253, 43-46.
- [9] Griffith, O.W., (1980). Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-Vinylpyridine. *Anal. Biochem.*, 106, 207-212.
- [10] Palma, P.N., Neves, L.M., Ponces Freire, A., (1990). Toxicidade do etanol - Papel do acetaldeído como mediador nos efeitos biológicos. *Bol. Soc. Port. Quím.*, 40, 29-31.
- [11] Videla, L.A., Fernandez, V., Ugarte, G., Valenzuela, A., (1980). Effect of acute ethanol intoxication on the content of reduced glutathione of the liver in relation to its lipoperoxidative capacity in the rat. *FEBS Letters*, 111(1), 6-10.
- [12] MacDonald, C.M., Dow, J., Moore, M.R., (1977). A possible protective role for sulphhydryl compounds in acute alcoholic liver injury. *Biochem. Pharmacol.*, 26, 1529-1531.
- [13] Speisky, H., MacDonald, G., Giles, G., Orrego, H., Israel, Y., (1985). Increased loss and decreased synthesis of hepatic glutathione after acute ethanol administration (Turnover Studies) *Biochem. J.*, 225, 565-572.
- [14] Speisky, H., Bunout, D., Orrego, H., Giles, H.G., Gunasekara, A., Israel, Y., (1985). Lack of changes in diene conjugate levels following ethanol induce glutathione depletion or hepatic necrosis. *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharm.* 48(1), 77-90.
- [15] Paredes, S.R., Kozicla, P.A., Fukuda, H., Rossetti, M.V., Battle, A.M., (1987). S. Adenosyl-L-methionine: Its effects on aminolevulinatase dehydratase and glutathione in acute ethanol intoxication. *Alcohol*, 4, 81-85.
- [16] Speisky, H., Kera, Y., Penttila, K.E., Israel, Y., Lindros, K.O., (1988). Depletion of hepatic glutathione by ethanol occurs independently of ethanol metabolism. *Alcoholism: Clin. & Experim. Res.*, 12, 224-228.
- [17] Strubelt, O., Younes, M., Pentz, R. (1987). Enhancement by glutathione depletion of ethanol-induced acute hepatotoxicity in vitro and in vivo. *Toxicology*, 45, 213-223.
- [18] Vina, J., Estrela, J.M., Guerri, C., Romero, F.J., (1980). Effect of ethanol on glutathione concentration in isolated hepatocytes. *Biochem. J.*, 188, 549-552.
- [19] Naylor, S., Mason, R.P., Sanders, J.K.M., Williams, D.H., Moneti, G. (1988). Formaldehyde adducts of glutathione. *Biochem. J.*, 249, 573-579.
- [20] Muller, A. e Sies, H., (1982). Role of alcohol dehydrogenase activity and of acetaldehyde in ethanol-induced ethane and pentane production by isolated perfused rat liver. *Biochem. J.*, 206, 153-156.
- [21] Burgunder, J.M., Lauterburg, B.H., (1986). Decreased production of glutathione (GSH) in alcoholic cirrhosis, *J. Hepatol., Suppl.* 1(3), GS-II 5.
- [22] Lauterburg, B.H. Velez, M.E., (1988). Glutathione deficiency in alcoholics: risk factor for paracetamol hepatotoxicity. *Gut*, 29, 1153-1157.



# Drogas de abuso

Álvaro A. Teixeira Lopes <sup>a</sup>



Álvaro A. Teixeira Lopes

*Licenciado em Farmácia pela Universidade de Lisboa, em 1975. Desde 1978 que se integra nos quadros do Laboratório de Polícia Científica, área de Toxicologia, sendo presentemente um dos responsáveis por toda a actividade daquele Sector.*

*Assistente Convidado da Faculdade de Farmácia de Lisboa desde o ano de 1979, na cadeira de Toxicologia e Análises Toxicológicas. Em 1979 foi bolseiro da Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica tendo permanecido durante três meses na Divisão de Toxicologia do Home Office Central Research Establishment, em Aldermaston, Reino Unido. Durante esse período foi integrado no projecto de investigação daquele centro «Evaluation and Development of HPLC for the Identification and Quantitation of Drugs and Metabolites in Body Tissues and Fluids», tendo trabalhado essencialmente na área dos compostos barbitúricos e benzodiazepinas.*

*Integrou em 1982 o «Grupo de Trabalho Sobre os Aspectos Laboratoriais da Condução Automóvel sob a Influência do Álcool», tendo participado na avaliação e selecção das metodologias analíticas adequadas, com a consequente elaboração de protocolo regulamentar, na fase final de preparação do diploma legislativo.*

*Desde 1986 que tem desenvolvido algum trabalho de investigação na área da toxicidade dos radicais livres de oxigénio, utilizando como modelo tóxico experimental o herbicida Paraquat: utilização de enzimas proteolíticas e HPLC na avaliação da toxicocinética no murganho, ensaio de sistemas bloqueantes de radicais, e estudo de alterações em macromoléculas.*

*Em 1987 estagiou no Biológiai Izotóp Laboratórium da Universidade de Szeged na Hungria, tendo trabalhado com a equipa de investigação do Prof. Bela Matkovics (stress oxidativo e Paraquat).*

*Em 1989 foi convidado pelo United States Department of Justice para participar em Washington D.C. no «Forensic Chemists Seminar», organizado pela Drug Enforcement Agency.*

*Em 1990 com uma bolsa de estudo da UNESCO-ICRO (Institute of Cell Research Organization) participou no «International Course On Oxygen Toxicity: Biochemistry, Physiology and Pathology» no Instituto de Bioquímica e Biofísica da Universidade de Buenos Aires - Argentina.*

*Membro do Colégio de Especialistas de Toxicologia Forense e Análises Toxicológicas da Ordem dos Farmacêuticos.*

## Introdução

A procura de um produto inócuo capaz de induzir estados eufóricos ou alucinatórios pode ser referenciada desde tempos remotos. Com efeito, muito antes do actual panorama toxicómano, já o ópio e a cannabis eram fumados na Ásia, a fim de obter os efeitos estupefacientes da morfina e dos canabinóis, enquanto que nos Andes e na África Oriental as folhas de coca e de kat eram mascadas, de modo a beneficiar da acção estimulante da cocaína e da catinona, respectivamente.

Durante séculos a implantação das diversas drogas foi exclusivamente local. Contudo, a expansão colonial e o progresso a ela aliado, particularmente dos meios de transporte, resultaram no alargamento das suas áreas de influência.

Os soldados franceses que, depois de terem marchado à sombra das grandes pirâmides sob o comando do último dos grandes imperadores, regressaram a casa trazendo nas suas mochilas haxixe e os exploradores luso-espanhóis que, entre o espólio arrebatado a Incas e Aztecas, fizeram chegar à Europa as primeiras folhas de coca, jamais poderiam imaginar as repercussões destes seus actos na sociedade moderna. Inicialmente, enquanto devaneio de um pequeno grupo de privilegiados pertencentes ou aliados dos grupos económicos no poder, o uso das diversas drogas teve o beneplácito da sociedade. Assim, nos finais do século XIX o uso de cocaína, sob a forma de tónicos, vinhos e refrigerantes, entre os quais a famigerada Coca-Cola, difundiu-se rapidamente. Ao mesmo tempo, a heroína era comercializada livremente como analgésico não estupefaciente.

Com a melhoria das condições de vida e a massificação da aprendizagem e do acesso à informação, aquele uso extravasou para outros estratos sociais até então postos à margem, atingindo, nalguns casos, proporções epidémicas.

Hoje, a sociedade, na sua preocupação pela salvaguarda do bem-estar geral e particular, condena o fabrico, o tráfego e o consumo de certas drogas como a heroína e a cocaína mas é mais condescendente sobre o uso indiscriminado do álcool e dos tranquilizantes e sedativos.

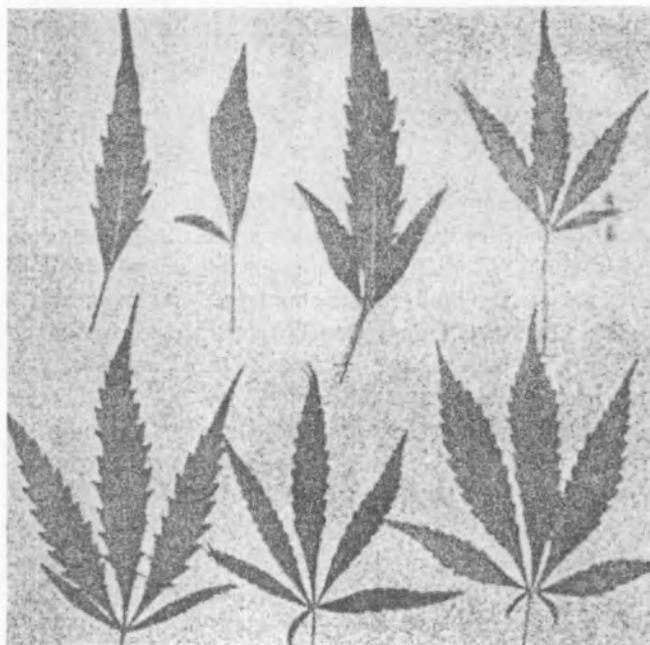
É neste contexto histórico e social assaz complexo que se insere a actividade policial de combate às diferentes drogas que, apesar de tudo, a sociedade continua a encarar como perniciosas e que em Portugal estão referenciadas nas listas anexas ao Decreto-Lei nº 430/83 de 13 de Dezembro.

<sup>a</sup> Laboratório de Polícia Científica/Faculdade de Farmácia de Lisboa

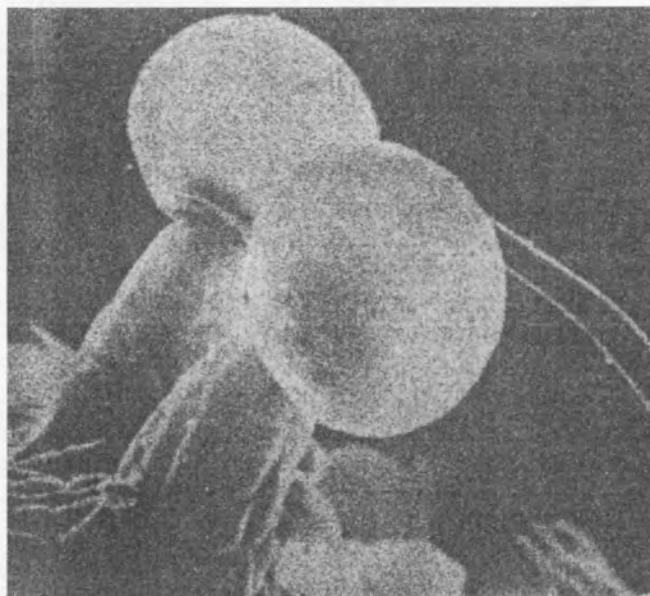
Desta actividade decorre, em parte o âmbito de competência da Divisão de Biotoxicologia do Laboratório de Polícia Científica. É a esta Divisão que cabe apresentar prova da existência ou não, no material apreendido, de qualquer das drogas daquelas listas.

### As drogas de abuso mais comuns

#### *Cannabis*



*Cannabis sativa L.*, é uma espécie botânica oriunda provavelmente da Ásia temperada central e ocidental, polimórfica e com várias variedades. Desenvolve-se facilmente nas regiões tropicais e temperadas do globo, donde tem sido cultivada para aproveitamento das suas fibras têxteis (cânhamo), das sementes donde se pode extrair óleo (rico em ácido linoleico e linolénico) também utilizada na alimentação de aves, ou ainda para o aproveitamento ilícito dos seus princípios activos, existentes em grande quantidade nas suas folhas e sumidades floridas, através da resina segregada por pelos glandulosos multicelulares aí existentes.



### Formas de apresentação

#### «Marihuana»

Ou «Marijuana» terminologia americanizada e hispânica bastante divulgada para designar os preparados secos da planta, que integram essencialmente fragmentos de caules, de folhas, de flores e de frutos com resina (também designada por erva, liamba, maconha, suruma, etc...).

#### Haxixe

Triturado fino e compacto dos diversos elementos da planta, aglutinados por prensagem, servindo de ligante a própria resina desta.

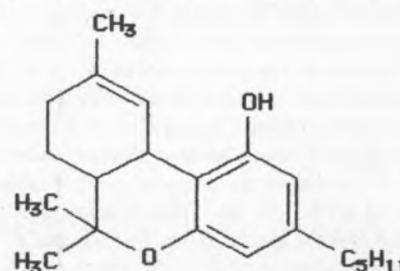
#### Óleo e Resina de Haxixe

Extractos altamente ricos em princípios activos.

#### Composição Química

Bibliografia recente refere a identificação até à data de 426 identidades químicas diferentes nesta planta... de entre as quais se encontram mais de 60 com a designação de canabinóis, e que são os derivados monoterpénicos (ou do di-benzopirano, consoante nomenclatura adoptada) responsáveis pela actividade psicotrópica:  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC),  $\Delta^8$ -THC, Canabinol, Canabidiol, Ácido Canabidiólico, etc.

#### THC, $\Delta^9$ -THC (-)- $\Delta^9$ -trans-tetrahydrocannabinol



Na década de 40 um tetrahydrocannabinol foi identificado como o principal constituinte responsável pela actividade farmacológica da *Cannabis sativa L.*, mas apenas foi isolado e caracterizado em 1964 como  $\Delta^9$ -THC por Mechoulam em Israel.

Oxida-se lentamente por exposição ao ar em Canabinol (CBN) e isomeriza-se em meio ácido em  $\Delta^8$ -THC.

A quantidade de  $\Delta^9$ -THC na planta inteira (à excepção do caule principal e raiz) ronda entre 0,02% e 3,5%. «Marihuana» de qualidade razoável contém entre 0,5% e 1%, podendo o haxixe conter 10% ou mais deste componente.

#### Biotransformação

Após ingestão (normalmente por via pulmonar) o  $\Delta^9$ -THC é metabolizado essencialmente no fígado em mais de 80 metabolitos diferentes... dos quais o mais importante é o 11-hidroxi- $\Delta^9$ -THC.

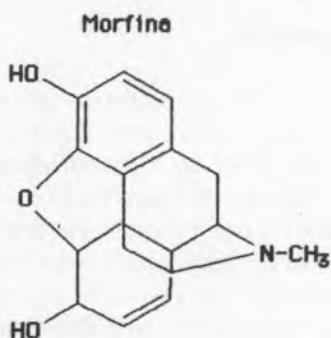
Se bem que o estado eufórico induzido por esta droga não ultrapasse algumas horas após a sua ingestão, a eliminação completa do  $\Delta^9$ -THC é bastante longa no tempo (50% em 4-5 dias), podendo encontrar-se metabolitos deste nos tecidos ricos em lípidos até 8 dias após a toma, e estes podem

acumular-se no caso de uma ingestão regular. Desconhecem-se as consequências tóxicas a longo prazo desta acumulação.

#### Estupefacientes (Ópio, derivados naturais e sintéticos)

O ópio é o látex que resulta das incisões feitas nas cápsulas não maduras de certas variedades culturais da papoila *Papaver somniferum L.*, depois de seco ao ar. Contém numerosos constituintes do látex, considerados inócuos e sem valor na terapêutica: resinas, gorduras, ceras, mucilagens, pectinas, glúcidos, albuminóides, matérias corantes e odoríferas, sais minerais, ácidos orgânicos, a meconina referida como um dimetoxifitalido obtido da decomposição de alguns alcalóides, diversos fermentos, um derivado triterpénico denominado ciclolaudenol, pirrolidina e muitos outros...

O ácido mecónico ( $\beta$ -hidroxi-pirona- $\delta$ ,  $\delta'$ -dicarboxílico) encontra-se no estado livre e combinado com os alcalóides. Estes possuem ou o núcleo da isoquinoleína ou o do fenantreno. Os primeiros manifestam propriedades fisiológicas excitantes e convulsivas e os segundos distinguem-se essencialmente pelas suas propriedades sedativas e narcóticas.



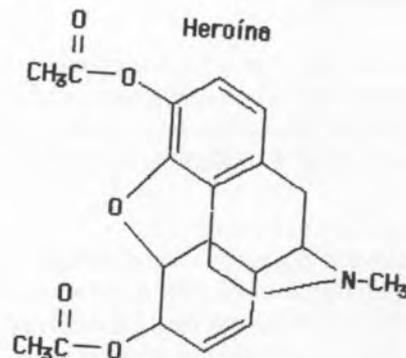
Os alcalóides encontram-se no ópio em proporções diversas predominando a morfina (3-25%), noscapina (5%), codeína (1%), papaverina (1%), tebaína (0,5%), narceína (0,5%), criptopina (0,08%), narcotolina (0,05%), laudanina (0,03%), pseudomorfina (0,02%), laudanidina (0,015%), e alguns outros em quantidades menores.

A riqueza relativa destes alcalóides depende de vários factores como: formas culturais das papoilas, factores geográficos, condições de terrenos, etc. Acusam, porém, uma proporcionalidade característica que pode ajudar a definir alguns tipos de ópio estabelecidos (Ópio da Turquia, do Irão, da China, etc.).

A utilização do ópio em bruto como droga de abuso chegou a ser vulgar na Europa em início de século, nomeadamente era um produto de venda livre em Inglaterra, tendo existido por toda a Europa centenas de casas de «fumo». A sua utilização decaiu quase totalmente dando lugar aos derivados sintéticos do seu principal alcalóide, a morfina. Destes, destacam-se a heroína (diacilmorfina), a hidromorfona, a oxycodona, a etomorfina, etc.

Sintetizada primeiramente em 1874 e produzida comercialmente pela primeira vez em 1898 pela firma Bayer, foi largamente utilizada durante alguns anos em medicina devido essencialmente às suas características «benéficas» pois em relação à morfina apresentava um poder analgésico 2 a 4 vezes superior, menos efeitos colaterais (náusea, obstipação), mas por outro lado, detectou-se que possuía uma acção

euforizante superior e, em consequência de tudo isso, um maior risco de dependência, assim como um síndrome de abstinência mais severo.

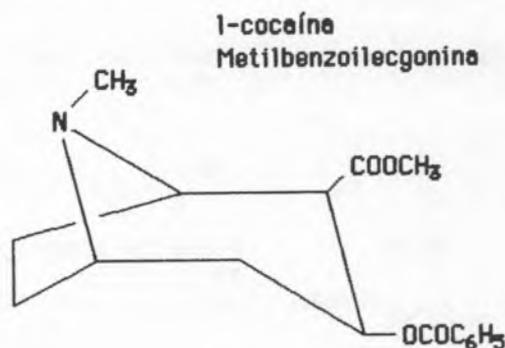


#### Cocaína

O estimulante mais potente e de origem natural, a cocaína, é extraída das folhas do arbusto *Erythroxylon coca* amplamente cultivado sobretudo nas costas andinas da América do Sul desde tempos remotos.

Os alcalóides da coca possuem o núcleo ecgonina, um ácido tropanol-carboxílico.

Os quatro carbonos assimétricos justificam a existência de quatro estereoisómeros da série L-, outros tantos da D- e



ainda os quatro racémicos. Os estereoisómeros de cada uma das séries denominam-se sucessivamente: cocaína, pseudo-cocaína, alo-cocaína e pseudo-alo-cocaína.

Os alcalóides naturais são todos ésteres metílicos, pelo carboxilo da L- cocaína; o seu hidroxilo alcoólico encontra-se esterificado por um dos ácidos benzóico, cinâmico ou truxílico. Com esta estrutura particular relaciona-se o poder anestésico, sendo necessário para que se revele, que se encontre simultaneamente esterificado o carboxilo e o hidroxilo por um ácido cuja natureza já influencia as suas propriedades fisiológicas características.

A cocaína ilícita é distribuída como um «pó» branco, quase sempre adulterado apreciavelmente com vários produtos, como sejam açúcares (lactose, inositol ou manitol) ou ainda com alguns anestésicos locais como a lidocaína.

Vasoconstrictor potente, a cocaína é um simpaticomimético típico. Aumenta a frequência cardíaca, a pressão arterial e em grandes doses a temperatura corporal e a dilatação da pupila dos olhos. Estes efeitos são devidos a mecanismos análogos aos que provocam os efeitos euforizantes. A cocaína estimula a actividade simpática aumentando a acessibilidade da adrenalina ao nível dos receptores post-sinápticos,

aumentando a sua libertação e diminuindo a sua recaptura na terminação nervosa.

### As novas drogas

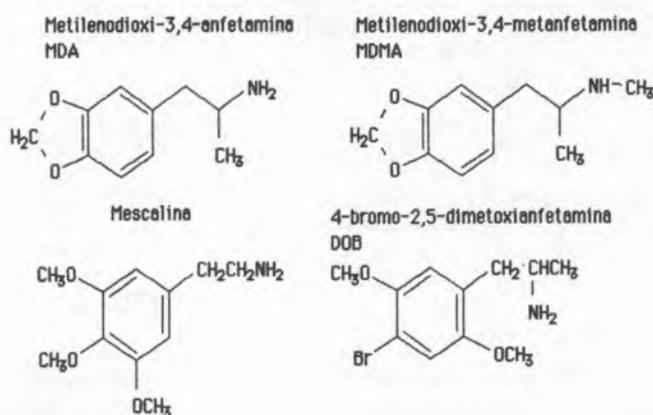
Nos últimos anos o «mercado» toxicómano dos EUA e mais recentemente da Europa vem sendo invadido por uma nova geração de drogas vendidas sob as mais diversas designações (ECSTASY, DOB, EUPHORIA, RHAPSODY, SPECTRUM, etc.).

Que drogas são e como surgem?

Como conceito abstracto e ambíguo que é, a Lei torna-se sempre possível de contornar. Ao especificar os compostos que restringe tal como acontece nas listas anexas ao Decreto-Lei nº 430/83, ela própria se dá ao ataque.

Hoje e particularmente nos EUA existem pessoas suficientemente informadas do ponto de vista químico e possuidoras de uma base económica que lhes permite abalançarem-se na síntese de novos estupefacientes.

Em vez de copiar qualquer das drogas já existentes o químico experiente modifica ligeiramente a sua estrutura molecular obtendo um novo composto, que, além de escapar à legislação vigente, possui, por vezes e em relação à droga-mãe, uma acção mais potente e mais ampla. Por exemplo, a ECSTASY ou MDMA e o DOB provêm da manipulação molecular da MDA e da Mescalina respectivamente.



Aproveitando a demora na aprovação das modificações legislativas que contemplam estas novas drogas, o fabricante lança-as para a "rua".

### Os novos consumos

Paralelamente, certas drogas com estatuto criado por dezenas de anos de consumo ilícito, reaparecem sob novas formas.

Na ribalta da imprensa nacional e internacional temos o CRACK, cocaína sob a forma de base livre. Nesta forma, ao ser fumada, atravessa facilmente os capilares pulmonares e as membranas cerebrais fazendo sentir os seus efeitos 6 segundos após a sua inalação. Contrariamente, a cocaína quando consumida por via nasal tem um período de latência de 3 minutos. Além disso, sob aquela forma as quantidades que atingem o cérebro são muito superiores às obtidas com as formas salinas (cloridrato de cocaína). Perante estas doses elevadas, alguns investigadores puderam verificar a ocorrên-

cia de tolerância, associada a graves perturbações psíquicas, e do síndrome de abstinência que até agora têm sido apanágio de drogas como a heroína.

O CRACK pode ser adquirido tal qual ou obtido por extração, com solventes apropriados, da cocaína em circulação no mercado ilícito. A grande inflamabilidade destes solventes e a falta de cuidado vulgar no toxicómano resulta, muitas vezes, em incêndio de que foi vítima, o conhecido comediante americano Richard Pryor.

A cocaína também tem aparecido em misturas injectáveis com heroína, conhecidas na gíria por «speedballs». A estas misturas adicionam-se, por vezes, sedativos para colmatar a sensação desagradável que acompanha o desaparecimento do efeito daquelas drogas, em particular da cocaína.

Entre os jovens americanos de fracos recursos económicos circulam produtos de baixo custo organolepticamente semelhantes à cocaína. São misturas de analgésicos sintéticos de venda livre, como a lidocaína, a procaína e a tetracaína. Apesar de não serem estimulantes, oferecem uma sensação de alheamento e de euforia. Infelizmente, podem provocar um desfecho fatal por paragem respiratória.

### A perícia toxicológica

A actividade da Divisão de Biotoxicologia do Laboratório de Polícia Científica consiste pois, dentro deste panorama nacional (e internacional) das drogas de abuso, na execução de metodologia analítica adequada tendo em vista uma identificação inequívoca dos produtos suspeitos apreendidos, através do recurso aos mais actualizados meios de análise química e instrumental, para posterior enquadramento dentro da legislação vigente. Para além da identificação, torna-se muitas vezes necessária a determinação quantitativa dos compostos presentes nos produtos examinados, nomeadamente para comparação e determinação da distribuição geográfica de lotes de um mesmo produto, ou ainda a identificação dos compostos utilizados no «corte» de um lote de droga, o estudo da degradação de um produto apreendido, etc.

As técnicas actuais ao dispôr dos laboratórios forenses são deveras sensíveis. É possível, por exemplo, detectar vestígios de cocaína nas notas utilizadas para a inalar («snifar»), vestígios de heroína em agulhas de seringas ou ainda determinar a presença de canabinóis na urina daquele conviva, que teve a «infelicidade» de ir a uma festa, onde respirou o fumo de um «charro» sem que de isso se tenha dado conta!

### O novo conceito de toxicomania

A luta contra a droga tem sido centrada principalmente no combate ao fabrico, tráfico e consumo das diferentes drogas, colocando, muitas vezes, o traficante e o utilizador no mesmo pé de igualdade.

Simultaneamente, a sociedade tem rodeado o fabrico e a aquisição legais das diferentes drogas de um crivo burocrático capaz de desmotivar o investigador mais obstinado, dificultando, quando não impedindo, o seu estudo como aconteceu com a aplicação dos alucinogénios no tratamento psiquiátrico.

Perante a ineficácia das diversas facetas da luta contra a droga, um número cada vez maior de entidades responsáveis e de investigadores científicos tem vindo a pugnar pelo estudo sistemático das causas da toxicomania, na busca de uma melhor compreensão da sua génese e, consequentemente, da sua prevenção.

Dos estudos efectuados, alguns apontam para um novo conceito de Toxicomania. Para os seus autores, esta é uma doença provocada por uma anomalia localizada no genoma, cuja expressão é desencadeada pelo uso de uma droga, resultando no seu consumo incontrolável.

Durante a guerra do Vietnam uma percentagem elevada de soldados americanos usou doses maciças de heroína para minimizar a situação traumatizante vivida então. Após o regresso a casa apenas uma minoria teve necessidade de manter aquele padrão de consumo. Segundo aqueles autores, isto indicaria a possibilidade de definir, entre a população em geral, grupos de risco constituídos por indivíduos predispostos para a toxicomania.

Por outro lado, os efeitos devastadores atribuídos às diversas drogas, em particular às ditas «duras», não seriam devidos

simplesmente às suas características intrínsecas, mas também à predisposição biológica dos indivíduos em causa.

Mesmo que se venha a comprovar a existência de uma forte raiz biológica na base de toda a toxicomania, nunca serão de excluir os factores psicológicos, que assumem a sua expressão máxima nos rituais que rodeiam o consumo de qualquer droga.

Se este conceito de toxicomania vier a ser aceite, bem como a definição de grupos de risco que lhe é inerente, a sociedade ver-se-á obrigada a modificar a sua atitude para com as diferentes toxicomanias.

#### Referências

- Resende, Alberto F. Sá, «Droga: O Eterno Desafio», Revista Investig. Criminal, 1987
- Science et Vie «Drogue: Le dossier» Sept, 1987
- Bowman, W. C., M. J. Rand, «Textbook of Pharmacology», Blackwell 1980
- Costa, A. F., Farmacognosia II, ed. F. C. Gulbenkian (1970)
- Drug Enforcement Administration «Drugs of Abuse», July 1979
- Nieto, M. Olga, Boletim Criminalístico, 1989 Cali

**Se** *gosta de ler o Boletim SPQ*  
*gosta de participar no Boletim SPQ*  
*gosta de ter as suas contas em dia*  
*gosta de dormir tranquilo*

**Então** **PAGUE A QUOTA**

Junto envio o cheque n.º \_\_\_\_\_ Banco \_\_\_\_\_

referente à(s) minha(s) quota(s) da SPQ do(s) ano(s) de 19\_\_ a 1990 \*.

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 199\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

\* Em caso de dúvida telefone SPQ (01) 793 46 37



Stomachique

dans toutes Pharmacies

Tonic

FEM

e

# Toxicologia ocupacional

– Toxicidade dos Solventes Orgânicos

Ana Paula Marreilha dos Santos<sup>a</sup>



Ana Paula Marreilha  
dos Santos

*Nasceu no ano de 1957, em Setúbal. Em 1980 concluiu a licenciatura em Farmácia, na Faculdade de Farmácia de Lisboa. No mesmo ano, iniciou nesta Faculdade a actividade docente, como Assistente Estagiária, na disciplina de «Toxicologia e Análises Toxicológicas», onde permaneceu até hoje. Em 1985, apresentou as Provas de Aptidão Pedagógica e Capacidade Científica, com os seguintes temas: 1 – Estireno - Vigilância Biológica e Vigilância Ambiental; 2 – Indicadores Biológicos de exposição ao tabaco - Doseamento do tiocianato em fluidos biológicos. Em 1990, está em execução um projecto de investigação, que estuda os metabolitos responsáveis pela neurotoxicidade de alguns solventes orgânicos, utilizados na Indústria de Manufatura de Calçado.*

## Toxicologia Ocupacional

O perigo que representa a poluição do meio ambiente para o bem-estar e saúde do homem, é universalmente reconhecido. Cabe à Toxicologia Industrial a prevenção da deterioração do estado de saúde dos indivíduos que manipulam ou estão expostos a substâncias químicas, na Indústria. Este objectivo só pode ser conseguido se as condições de exposição ou as normas de manipulação definidas, não originarem riscos inaceitáveis para a saúde dos indivíduos. Na maior parte dos casos não é necessário renunciar ao emprego de substâncias potencialmente tóxicas, na condição de aplicar rigorosamente certas medidas de protecção. Com a possível excepção das substâncias carcinogénicas para as quais ainda hoje se debate se podem ser definidas condições «seguras» de exposição, existe para cada substância química um nível de exposição que pode ser definido e determinado abaixo do qual a saúde dos indivíduos não corre perigo. Estes níveis podem ser expressos em Concentrações Atmosféricas Admissíveis (MAC - concentrações máximas admissíveis, TWA - concentrações médias durante um determinado tempo, e STEL - concentração limite em exposições de curta duração) ou em Níveis Biológicos Admissíveis para os produtos químicos ou seus metabolitos.

Os limites de exposição (ou níveis admissíveis) para agentes tóxicos no local de trabalho, têm sido um dos mais poderosos instrumentos para controlo das doenças profissionais. Os Níveis Admissíveis devem ter uma certa flexibilidade que depende do tipo de exposição, sua complexidade, ambiente geral, condições de vida dos indivíduos e outras variáveis. Para o estabelecimento dos Níveis Admissíveis com certo grau de confiança, é necessária a existência de uma série de informações toxicológicas que se obtêm através de: experimentação animal e vigilância clínica dos trabalhadores expostos. O uso em larga escala de qualquer produto químico na Indústria deve portanto ser precedido de investigações toxicológicas em animais, com a finalidade de estabelecer um nível de exposição seguro – NOEL - (No Adverse Effect Level).

### Testes Preliminares em Animais

É evidente que não se pode ter a certeza da absoluta segurança de um agente químico, sejam quais forem as investi-

<sup>a</sup> Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Av. das Forças Armadas, 1600 Lisboa.

gações toxicológicas executadas em animais de experiência. No entanto, algumas condições básicas devem ser seguidas para se calcular com determinado grau de segurança o nível de exposição para o qual o risco para a saúde dos trabalhadores pode ser desprezado. Devem ser executados uma série de testes tais como testes de toxicidade aguda local e sistêmica, testes de toxicidade subcrônica e crônica, e estudos de efeitos a nível da função reprodutora e actividade teratogénica; Investigação da absorção, distribuição, biotransformação e excreção, mecanismo de acção e estudos de interacção, são também do maior interesse. Uma vigilância biológica racional da exposição, e a detecção precoce de efeitos nocivos sobre a saúde dos trabalhadores, só é possível quando tiver sido reunida suficiente informação toxicológica sobre o mecanismo de acção e/ou biotransformação dos xenobióticos aos quais os trabalhadores podem estar expostos. Estes estudos são previamente efectuados em animais.

#### *Observação nos Trabalhadores*

Quando um novo produto químico é lançado para utilização em grande escala, deve ser planeada uma cuidadosa vigilância clínica dos trabalhadores e uma monitorização dos locais de trabalho. Para além de se pretender verificar eventuais acções específicas decorrentes de qualquer efeito nefasto a nível da saúde dos trabalhadores, uma vigilância clínica tem dois objectivos fundamentais: confirmar ou não a validade do valor limite proposto com base em experiências realizadas em animais, e testar a validade dos métodos para a vigilância biológica.

A avaliação da validade do nível proposto com base em experiências em animais é um objectivo fundamental, mas serão sempre os estudos e observações no homem que decidirão se o valor do MAC proposto, é ou não aceitável. Isto significa que testes comportamentais, clínicos, bioquímicos, fisiológicos ou morfológicos, que são hoje considerados como sendo os mais sensíveis para detectar efeitos adversos ao produto químico, devem ser regularmente aplicados aos trabalhadores, ao mesmo tempo que a exposição ambiental é avaliada através de uma monitorização pessoal dos tóxicos ambientais.

#### *Aplicações Práticas*

As três aplicações fundamentais das investigações toxicológicas, são: Proposta de níveis admissíveis de exposição; Desenvolvimento de métodos para avaliação biológica da intensidade de exposição; Detecção precoce dos efeitos a nível da saúde.

#### **Níveis Admissíveis de Exposição para Compostos Químicos no Ar Ambiental**

É habitual dizer-se que a melhor prática em Higiene Ocupacional é manter as concentrações de todos os contaminantes atmosféricos tão baixa quanto a prática o permite; este procedimento, no entanto, não impede que alguns agentes químicos atinjam níveis tóxicos. O médico de trabalho, tem de ter normas orientadoras para poder avaliar os potenciais riscos dos agentes químicos para a saúde, e, se os métodos de prevenção geral utilizados na fábrica são adequados, ou se

têm de ser melhorados ou completados com dispositivos de protecção individual. Um objectivo importante das investigações experimentais e clínicas, é o estabelecimento para o ar ambiental dos Níveis Admissíveis de Exposição para os agentes tóxicos, abaixo dos quais a saúde do trabalhador não sofre qualquer dano. Várias instituições oficiais e privadas, analisam regularmente a informação toxicológica correspondente aos agentes químicos, com a finalidade de propor Níveis Admissíveis de Exposição. É evidente que, com a acumulação de nova informação acerca da toxicidade dos químicos industriais, os níveis admissíveis propostos devem ser reavaliados regularmente. Deve também ficar esclarecido, que estes níveis devem funcionar como valores orientadores, e não substituírem uma estreita vigilância médica dos trabalhadores.

#### **Vigilância Biológica de Exposição a Compostos Químicos na Indústria**

A Vigilância Biológica de Exposição a compostos químicos na indústria, significa, a avaliação da exposição interna do organismo a um agente químico, através de um método biológico. Dependendo do agente químico e do parâmetro biológico analisado, a expressão «exposição interna» pode apresentar diferentes significados: pode significar a quantidade de agente químico recentemente absorvido, a quantidade armazenada no organismo, ou a quantidade do metabolito activo ligado ao local de acção.

Três tipos de determinações são normalmente utilizadas para avaliar a exposição interna: A concentração da própria substância em diversos meios biológicos; A concentração dos produtos de biotransformação (metabolitos) nos mesmos meios biológicos; A determinação de alterações biológicas, resultantes da reacção do organismo à exposição.

Novos métodos biológicos de exposição são sugeridos pela experimentação animal, mas a sua aplicação requer uma detalhada investigação clínica dos trabalhadores.

#### **Detecção Precoce de Efeitos a Nível da Saúde**

Um programa de Vigilância Biológica designado para avaliar a intensidade da exposição de trabalhadores a produtos químicos na indústria, deve ser sempre completado com um programa de vigilância da saúde dos mesmos. O objectivo deste programa é detectar tão cedo quanto possível, quaisquer efeitos biológicos ou funcionais adversos, nos indivíduos expostos. A proposta de testes capazes de detectar estes efeitos precoces adversos a químicos industriais, exige um conhecimento detalhado do seu mecanismo de acção. Infelizmente, para muitos produtos químicos essa informação não existe ainda. É portanto necessário, muita investigação fundamental do mecanismo de acção dos agentes químicos industriais, para se poderem desenvolver mais programas válidos de vigilância da saúde dos trabalhadores.

#### **Solventes Orgânicos**

Dos diversos grupos de produtos, a que os trabalhadores estão expostos na indústria, há um importante grupo de substâncias que estão englobadas nos «Solventes Orgânicos».

Todos nós estamos expostos aos solventes; a sua utilização como dissolventes, dispersantes ou diluentes, leva a que sejam produzidos e utilizados largamente.

Os efeitos devido a exposições a solventes orgânicos são desde há muito conhecidos. Desde o final do séc. XIX, que estão descritos casos de trabalhadores expostos com sintomas crónicos mais ou menos persistentes, a nível do sistema nervoso central.

A exposição ocupacional aos solventes, pode envolver uma série de actividades que vão desde a utilização do fluido de correção num escritório, até ao indivíduo que trabalha numa bomba de gasolina, numa garagem de reparação de automóveis, numa fábrica de sapatos, etc. No entanto, o facto de haver exposição não significa que haja toxicidade, embora o potencial desta aumente sempre que a exposição aumenta; quando estamos em presença de exposições a misturas (o mais frequente!) poderão surgir efeitos imprevisíveis como sinergismo ou potenciação de efeitos.

#### *Vias de Exposição*

Muitos solventes apresentam apreciável volatilidade, embora esta dependa das condições de utilização; assim o trabalhador está normalmente exposto aos vapores do solvente. A volatilidade dos solventes, indica que a principal via de exposição é a via inalatória. A 2.<sup>a</sup> principal via de exposição é a pele. O contacto frequente da pele com os solventes (lipossolúveis), pode originar o desengorduramento ou irritação da pele.

#### *Toxicidade*

Os efeitos tóxicos dos solventes orgânicos, podem ser classificados em gerais e específicos. Em estudos feitos em animais e em trabalhadores expostos, os efeitos observados dependem de vários factores: estrutura da molécula do solvente, grau e frequência da exposição e sensibilidade do indivíduo.

#### *Toxicidade Geral*

Muitos solventes orgânicos, incluindo hidrocarbonetos, hidrocarbonetos clorados, alcoóis, éteres, ésteres e cetonas, têm a capacidade de causar narcose e morte, em concentrações elevadas; Trabalhadores expostos a estes solventes mostrarão sinais de distúrbios a nível do Sistema Nervoso Central (SNC). Os efeitos observados aquando de exposições a elevadas concentrações de solventes com diferentes estruturas, são muito semelhantes: desorientação, euforia, vertigens, confusão, tendência para um estado inconsciente, paralisia, convulsões e morte, por paragem respiratória ou cardíaca. A rapidez do desenvolvimento destes sintomas, quase que assegura que os efeitos agudos dos solventes, são devido à própria molécula do solvente e não a metabolitos. A semelhança da narcose produzida por solventes com estruturas diversas, sugere que estes efeitos resultam de uma interacção física do solvente com as células do SNC. Sendo assim, o efeito narcótico do solvente, dependerá unicamente da concentração molar do solvente no SNC.

Outros efeitos dos solventes, que podem estar relacionados com acções não específicas a nível do SNC, apresentam um

conjunto de sintomas que podem ser caracterizados através de uma bateria de testes comportamentais, revelando possíveis alterações a nível sensorial, cognitivo, afectivo e motor.

#### *Toxicidade Específica*

Diferente das acções agudas depressoras do SNC causadas pelos solventes orgânicos, as acções específicas, podem ser associadas a cada um deles. De entre os efeitos específicos dos solventes, podemos salientar a toxicidade hematopoiética do benzeno, a hepatotoxicidade de alguns hidrocarbonetos clorados, a toxicidade ocular do metanol, a neurotoxicidade do n-hexano e algumas cetonas, a acção carcinogénica do dioxano, etc.

Ao contrário dos efeitos gerais dos solventes, a toxicidade específica resulta normalmente de uma exposição repetida a níveis admissíveis do solvente. A situação normal, e a do indivíduo exposto no dia a dia de trabalho a determinado solvente (ou solventes); Assim, o solvente, um metabolito tóxico do solvente ou uma alteração nos tecidos devido a qualquer um deles, pode ir-se acumulando até o trabalhador desenvolver uma doença que seja clinicamente reconhecida. A toxicidade específica dos solventes, contrariamente aos efeitos gerais atrás referidos, está directamente relacionada com a biotransformação do solvente. Assim, a toxicidade hematopoiética do benzeno, e a neurotoxicidade do n-hexano, são atribuídas a metabolitos tóxicos destes solventes; Este fenómeno geral é chamado Bioactivação, e é mediado por uma família de enzimas – Oxidases de função mista, dependentes do citocromo P450.

Claro que nem toda a biotransformação dos solventes origina uma bioactivação; Na maior parte dos casos, uma ou mais oxidases de função mista, são responsáveis pela conversão de uma elevada percentagem da dose do solvente num metabolito menos tóxico e mais facilmente excretável – a este processo dá-se o nome de Destoxicação.

#### *n-Hexano*

É no âmbito da toxicidade dos solventes orgânicos que se inclui o nosso projecto de investigação, concretamente o estudo da neurotoxicidade do n-Hexano, que a seguir abordaremos.

Até recentemente pensava-se que a utilização extensiva na Indústria de solventes como o n-hexano comportava poucos riscos para a saúde; Hoje, reconhece-se que as neuropatias periféricas podem resultar de uma exposição prolongada a este solvente. A utilização do n-hexano está espalhada pelas mais diversas indústrias, sendo este hidrocarboneto um constituinte de numerosos produtos comerciais. O n-hexano é um excelente e barato solvente que faz parte da composição de colas, vernizes, tintas, para só mencionar alguns produtos. Comercialmente, o n-hexano é utilizado na extracção de óleos vegetais de sementes como as de soja e algodão; é também um componente menor da gasolina.

Não é surpreendente, que antes da descoberta da potencial acção neurotóxica deste solvente, ele fosse visto como pouco tóxico uma vez que a sua toxicidade aguda é baixa.

Frequentemente, a neuropatia periférica causada pelo n-hexano é devido à inalação deliberada de vapores de

colas (lacas ou solventes) que contêm n-hexano, por indivíduos cuja finalidade é atingir um determinado estado de euforia.

Calcula-se que, diariamente, há cerca de 2,5 milhões de indivíduos expostos aos vapores de n-hexano, no local de trabalho.

O valor recomendado como limite no ar ambiental, para o n-hexano -, é de 50 ppm durante 8 h de trabalho diário.

#### Neurotoxicidade no Homem

Os primeiros casos de polineuropatia provocada pelo n-hexano, foram descritos em 1964 em trabalhadores envolvidos no fabrico de produtos de polietileno laminado. Em 1969, o caso mais grave sucedeu no Japão, numa pequena indústria artesanal de calçado, cujos trabalhadores estavam expostos a colas que continham n-hexano; as concentrações de n-hexano a que estes trabalhadores estavam expostos, foram calculadas como variando entre 500 e 2500 ppm.

O síndrome neurotóxico pode ser melhor descrito como uma polineuropatia motora ou motora-sensitiva; a perda de sensibilidade envolve normalmente pés e mãos. A debilidade motora, é tipicamente observada nos músculos dos dedos dos pés e mãos, mas pode também envolver músculos do braço, antebraço e coxa. O aparecimento destes sintomas, pode demorar desde alguns meses até um ano após o início da exposição. O síndrome é patologicamente caracterizado por um aumento de volume dos axónios próximo dos Nódulos de Ranvier, desmielinização e degeneração da fibra nervosa. Os Sistemas Nervoso Central e Autónomo não são atingidos. Na maior parte dos casos, há recuperação para os indivíduos doentes, apesar de nos casos mais graves poderem permanecer deficiências motoro-sensitivas.

#### Neurotoxicidade Experimental

Uma neuropatia periférica comparável à que sucede no ser humano, tem sido reproduzida em estudos feitos em ratos, gatos, macacos, galinhas e pombos, expostos ao n-hexano. Nos animais de experiência, o desenvolvimento da neuropatia periférica parece ter efeitos mais profundos a nível do sistema motor que do sensitivo, tal como se verifica nos indivíduos que praticam o abuso de solventes (toxicodependentes). Isto deve-se provavelmente ao facto das exposições com animais se efectuarem normalmente a elevadas concentrações e muitas vezes continuamente. Fragilidade nas patas traseiras com extensão incompleta, andar vacilante e cauda pendente, são os principais efeitos observados.

#### Toxicocinética

Os alcanos alifáticos como o n-hexano, podem ser metabolizados de modo semelhante em organismos tão diversos como as bactérias até aos mamíferos. Nos Vertebrados, o sistema de oxidases dependentes do citocromo P450 existentes no fígado e outros tipos de células, desempenha um papel fundamental no metabolismo oxidativo. A oxidação dos alcanos pode ocorrer em qualquer carbono, parecendo haver oxidases com diferentes afinidades consoante a posição do carbono. Da oxidação do n-hexano, pode resultar a formação do 1,2 ou 3-hexanol; A oxidação ocorre mais facilmente na

ligação de carbono mais fraca: o 1-hexanol é o menos provável destes produtos de oxidação do n-hexano; o 2-hexanol e o 3-hexanol deveriam ter iguais probabilidades de se formarem, no entanto, devido possivelmente à estereoquímica da molécula, o 2-hexanol é o produto de oxidação predominante. Da oxidação do 2-hexanol, resulta a formação de metil-m-butilcetona ou 2,5-hexanodiol seguido de 5-hidroxi-2-hexanona, 2,5-hexanodiona e outros metabolitos (Figura 1).

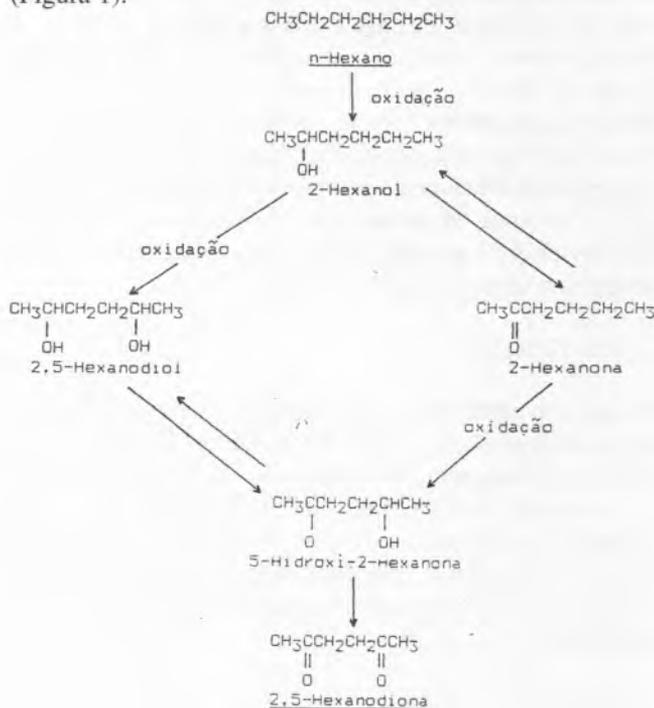


FIGURA 1  
Biotransformação do n-hexano

Perbellini et al. encontraram diferenças interespecies na excreção urinária dos metabolitos do n-hexano. O principal metabolito urinário no rato é o 2,5-dimetilfurano, enquanto que o 2-hexanol o é no coelho e no macaco.

Indivíduos expostos a concentrações de n-hexano entre 10 e 140 ppm, excretaram na urina de 0,4 a 21,7 mg/l de 2,5-hexanodiona. No homem, os metabolitos urinários incluem a 2,5-hexanodiona (2,5-HD), 2-hexanol, 2,5-dimetilfurano e - valerolactona: a 2,5-HD é o principal metabolito excretado no ser humano.

Qualquer produto que afecte a actividade das oxidases dependentes do citocromo P450, vai alterar o metabolismo e a neurotoxicidade do n-hexano. Assim, a exposição ao tolueno, diminui a potência neurotóxica do n-hexano, diminuindo igualmente a excreção urinária de todos os metabolitos do mesmo; O fenobarbital, aumenta a excreção urinária dos metabolitos do n-hexano, e estimula a hidroxilação do n-hexano em 2 e 3-hexanol.

Os metabolitos do n-hexano incluindo o 2-hexanol, 2,5-hexanodiol, 5-hidroxi-2-hexanona e 2,5-HD, não têm sido referidos como causadores de neurotoxicidade no homem; no entanto, todos são capazes de originar uma axonopatia, morfológicamente idêntica à produzida pelo n-hexano, em animais de laboratório.

A neurotoxicidade relativa do n-hexano e seus metabolitos, tem sido estudada em ratos e galinhas, com a obtenção de

resultados semelhantes: a neurotoxicidade do n-hexano e metabolitos aumenta com a oxidação e é directamente proporcional à quantidade de 2,5-HD resultante. Um outro aspecto a considerar, é a permanência prolongada e a excreção lenta da 2,5-HD no organismo.

Ângelo verificou que a 2,5-HD é em grande parte metabolizada a CO<sub>2</sub> (até 45%), mas a sua incorporação em macromoléculas e elementos celulares dos tecidos, é responsável pela persistência da mesma nos tecidos; O cérebro e músculo, apresentam as semividas mais longas, 33 e 32 dias respectivamente, após 21 dias de exposição i.p. (intra-peritoneal).

#### Neurotoxicidade das Dicetonas

A verificação da importância da 2,5-HD na origem da neurotoxicidade, levou à execução de estudos a nível de características da estrutura da molécula capazes de induzir

uma axonopatia. Várias dicetonas incluindo a 2,4-pentanodiona, 2,3-hexanodiona, 2,4-hexanodiona, 2,5-hexanodiona, 3,3-dimetil-2,5-hexanodiona, 3,4-dimetil-2,5-hexanodiona, 2,6-heptanodiona, 3,5-heptanodiona e 3,6-octanodiona, têm sido estudadas em relação ao seus efeitos neurotóxicos (Figura 2). Esta série de compostos difere quanto ao comprimento da cadeia carbonada, distância entre os dois grupos carbonilo e simetria da molécula. Só os compostos que têm 2 grupos carbonilo em posição  $\gamma$  são capazes de produzir uma patologia axonal semelhante à do n-hexano. Do aumento do comprimento da cadeia de hexanodiona para octanodiona, resulta uma diminuição da actividade; Também, a adição de 2 grupos metilo na posição 3 da 2,5-HD diminui substancialmente a neurotoxicidade, enquanto a adição de 1 único grupo metilo na posição 3 ou 4 da mesma molécula, aumenta muito a neurotoxicidade.

Dicetona	Estrutura	Espaço entre grupos carbonilo	Neuropatia axonal
2,4-Pentanodiona	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\    \quad    \\ \text{CH}_3\text{CCH}_2\text{CCH}_3 \end{array}$	$\beta$	Não
2,3-Hexanodiona	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\    \quad    \\ \text{CH}_3\text{CCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3 \end{array}$	$\alpha$	Não
2,4-Hexanodiona	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\    \quad    \\ \text{CH}_3\text{CCH}_2\text{CCH}_2\text{CH}_3 \end{array}$	$\beta$	Não
2,5-Hexanodiona	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \quad \text{O} \\    \quad \quad    \\ \text{CH}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CCH}_3 \end{array}$	$\gamma$	Sim
2,5-Heptanodiona	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \quad \text{O} \\    \quad \quad    \\ \text{CH}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CCH}_2\text{CH}_3 \end{array}$	$\gamma$	Sim
2,6-Heptanodiona	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \quad \quad \text{O} \\    \quad \quad \quad    \\ \text{CH}_3\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CCH}_3 \end{array}$	$\delta$	Não
3,5-Heptanodiona	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \quad \text{O} \\    \quad \quad    \\ \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CCH}_2\text{CCH}_2\text{CH}_3 \end{array}$	$\beta$	Não
3,6-Octanodiona	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \quad \quad \text{O} \\    \quad \quad \quad    \\ \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CCH}_2\text{CH}_3 \end{array}$	$\gamma$	Sim
3,3-Dimetil-2,5-hexanodiona	$\begin{array}{c} \text{OCH}_3 \quad \text{O} \\    \quad \quad    \\ \text{CH}_3\text{CCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CCH}_3 \end{array}$	$\gamma$	Sim
3,4-Dimetil-2,5-hexanodiona	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \quad \text{O} \\    \quad \quad    \\ \text{CH}_3\text{CCH}(\text{CH}_3)\text{CCH}_3 \\   \quad   \\ \text{CH}_3\text{CH}_3 \end{array}$	$\gamma$	Sim

FIGURA 2

Estrutura das dicetonas susceptíveis de causar uma axonopatia periférica distal com tumefacção dos axónios

### Mecanismo de Acção

Apesar de vários mecanismos de acção terem sido identificados, nenhuma teoria, até hoje, recebeu aceitação geral. Spencer, Sabri e colegas, admitiram que a inibição de alguns passos da glicólise pela 2,5-HD e outros compostos neurotóxicos, deve ser a causa fundamental das axonopatias distal-central- periféricas; As funções neurológicas, particularmente as funções de transporte axonal, estão altamente dependentes da glicólise.

A interferência com componentes do citoesqueleto do axónio, tais como neurofilamentos e neurotúbulos, podem explicar os danos a nível dos axónios resultantes das  $\gamma$ -dicetonas. Verificou-se que alterações na função neurotubular, podem contribuir para diminuir o fluxo axoplásmico no nervo ciático de ratos expostos à metil-n-butilcetona (metabolito do n-hexano). A acumulação de neurofilamentos nos nódulos de Ranvier e a distribuição anormal de neurotúbulos, constituem o suporte do conceito de interacção do citoesqueleto com a 2,5-HD.

Não foram ainda demonstrados quais os efeitos a nível dos neurofilamentos que explicam a neurotoxicidade, no entanto, a indução de pirróis nos neurofilamentos pela 2,5-HD, tem sido sugerida como provável mecanismo de acção.

A confirmação da interacção da 2,5-HD com proteínas neuronais, é evidenciado no trabalho de DeCaprio que refere que, da exposição de galinhas a 2,5-HD, resulta a formação de «aductos» de 2,5-dimetilpirrol com as proteínas, e que a 2,5-HD forma  $\epsilon$ -N-(2,5-metilpirrolil) aductos com a lisina, in vivo. As proteínas do axónio e axolema, particularmente proteína mielínica básica, ligam-se à 2,5-HD.

Aparecem também referidos outros mecanismos de acção associados à toxicidade do n-hexano ou da 2,5-HD, como, a inibição da função mitocondrial, formação de quelatos com o cálcio e inibição da acetilcolinesterase; Há no entanto pouco suporte que evidencie a relação causa-efeito.

No decurso do nosso projecto, determinámos a concentrações do n-hexano no ar, junto de trabalhadores que utilizavam colas na Indústria de Manufatura de Calçado;

Nos mesmos trabalhadores, no fim do dia de trabalho e no final da semana, eram recolhidas urinas. Estas eram depois analisadas, através da determinação da concentração de 2,5-HD. A 2,5-HD, foi também determinada em urinas de indivíduos não expostos. Verificámos que, a concentração de 2,5-HD na urina dos indivíduos expostos, era em média superior à dos não expostos. Pudemos assim confirmar a utilização da 2,5-HD como indicador biológico de exposição ao n-hexano.

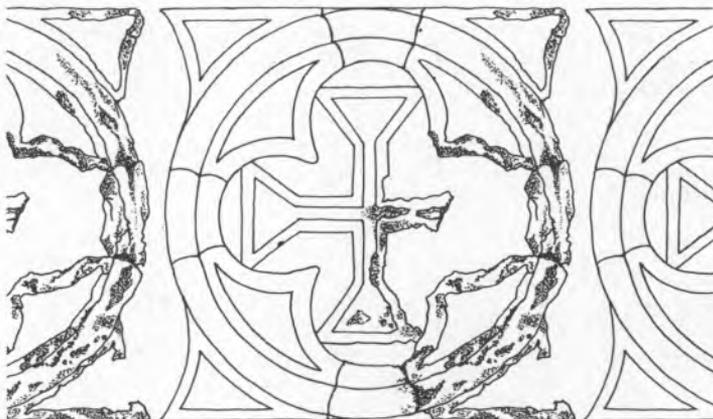
Uma vez que as condições de exposição no local de trabalho são impossíveis de controlar, pois estão sujeitas a numerosas variáveis, iniciámos este estudo com animais, para podermos fixar as condições de exposição e analisar qualitativa e quantitativamente alguns metabolitos do n-hexano na urina. Já foram por nós realizadas várias experiências, com grupos de ratos Wistar, em que estes estiveram expostos ao n-hexano e à 2,5-HD; As urinas de 24 h foram recolhidas e analisadas, no que respeita a concentração de dois dos principais metabolitos que estamos a estudar.

A finalidade deste trabalho, é esclarecer a toxicocinética do n-hexano, principalmente no que se refere à excreção dos seus metabolitos neurotóxicos, com o objectivo de os utilizar como Indicadores Biológicos a uma exposição crónica ao n-hexano.

Nota: Este Projecto de Investigação é subsidiado pela Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica e tem como Investigador Responsável a Prof.ª Aux. Maria Camila Batoreu Annibale.

### Referências

- Casarett and Doull's, «Toxicology», (1986).
- John L. O'Donoghue, «Neurotoxicity of Industrial and Commercial Chemicals», vol. I e vol. II, (1985).
- Randall C. Baselt, «Biological Monitoring Methods for Industrial Chemicals», (1980).
- Robert R. Lawerys, «Industrial Chemical Exposure: Guidelines for Biological Monitoring», (1983).
- Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 22: 145-66, (1982).
- Toxicology and Applied Pharmacology, 68: 297-307, (1983).
- Toxicology and Applied Pharmacology, 71: 372-382, (1983).
- Toxicology and Applied Pharmacology, 87: 351-362, (1987).

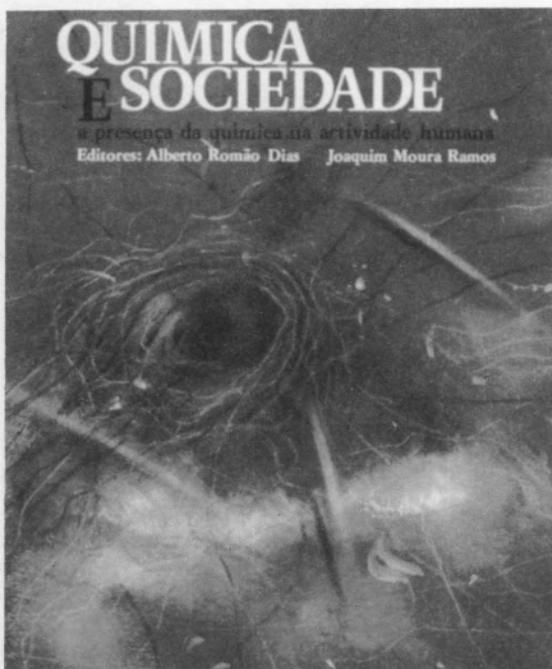


## 7th International Congress on Deterioration and Conservation of Stone

15 - 18 Junho 1992

Laboratório Nacional de Engenharia Civil

LISBOA



## QUÍMICA E SOCIEDADE

A PRESENÇA DA QUÍMICA NA ACTIVIDADE HUMANA

### ÍNDICE

**A Evolução Química no Espaço  
e no Sistema Solar e o Problema da Origem  
da Vida**

*Joaquim J. Moura Ramos*

**A Evolução Química na Terra e o Problema  
da Origem da Vida**

*Hernâni Maia*

**Moléculas da Vida**

*Ana Lobo*

**Química e Saúde**

*Eduarda Rosa e Fátima Norberto*

**Química e Pré-História:  
A Datação pelo Radiocarbono**

*J. M. Peixoto Cabral*

**Fotografia:  
da Magia à Química-Física**

*Eurico C. Melo*

**A Química na Arte**

*Maria Alzira A. Ferreira*

**Química e o Aumento das Produções Agrícolas**

*Joaquim Quelhas dos Santos*

**A Química e a Alimentação:**

**A Química na Cozinha**

*Vera F. Sá da Costa*

**Química; Crime; Sociedade**

*António Pinho de Aguiar*

Um livro  
indispensável  
para todos  
os interessados  
no papel  
da Química  
na vida  
da Sociedade

SÓCIOS SPQ  
1000\$00

À VENDA  
NAS  
LIVRARIA  
1800\$00

UMA  
PUBLICAÇÃO  
CONJUNTA  
DA

SOCIEDADE PORTUGUESA DE QUÍMICA

E  
DA

LIVRARIA ESCOLAR EDITORA

EDITORES

A. ROMÃO DIAS e J. MOURA RAMOS

COM O APOIO DA JNICT

NOME \_\_\_\_\_

MORADA \_\_\_\_\_

Sou sócio da SPQ e desejo receber um exemplar do livro **QUÍMICA E SOCIEDADE** para o que envio o cheque

N.º \_\_\_\_\_ do Banco \_\_\_\_\_, no Valor de 1000\$00, em nome da **Sociedade Portuguesa de Química,**

Av. da República, 37 - 4.º - 1000 LISBOA



# Genes e doenças genéticas

João Lavinha <sup>a</sup>



João Lavinha

*Nasceu em 1949.*

*Assistente de investigação do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. Completou em 1977 a licenciatura em química na Faculdade de Ciências de Lisboa e em 1983 o mestrado em ciências médicas na Faculdade de Medicina da Universidade de Glasgow. Após o seu regresso a Portugal (1983) iniciou a instalação, no âmbito do Laboratório de Genética Humana do Instituto Nacional de Saúde, do primeiro laboratório no País dedicado à biologia molecular das doenças genéticas humanas. Desde então tem desenvolvido um trabalho de interligação entre a investigação e o diagnóstico em hemoglobinopatias, hemofilias e fibrose quística.*

## Os problemas

Verifica-se que, quando a mortalidade infantil desce a níveis inferiores a 40 por mil (em Portugal ela é actualmente 12 por mil), as autoridades sanitárias nacionais começam a preocupar-se com as doenças genéticas em sentido lato o que inclui as anomalias cromossómicas, as doenças monogénicas e as doenças poligénicas e/ou multifactoriais. Isso é o resultado de a melhoria generalizada das condições de vida (alimentação adequada, habitação condigna e saneamento básico, escolaridade obrigatória) e a implementação dos cuidados de saúde primários (programas de vacinação em massa, terapêutica antibiótica), terem feito emergir o *iceberg* das doenças genéticas no meio do «mar» em regressão das doenças transmissíveis (regressão que está longe de ser irreversível a nível global, dado, p. ex., o enorme peso actual das doenças virais – hepatite B, SIDA, etc. – na morbilidade e na mortalidade humanas). De acordo com os dados publicados pela Organização Mundial da Saúde (1982), as anomalias cromossómicas e as doenças monogénicas ocorrem com uma frequência de 12 a 14 por mil nascimentos. Se a estas se juntarem as doenças multifactoriais e as malformações congénitas, verifica-se que o peso dos factores genéticos na patologia humana é da ordem dos 38 a 40 por mil nascimentos.

Face a esta situação, e na ausência de uma terapêutica eficaz, a estratégia mais adequada para o controlo das doenças genéticas parece ser a que combina o aconselhamento genético com o rastreio de portadores e o diagnóstico pré-natal (prevenção secundária). Paralelamente procura-se identificar no ambiente, nomeadamente dos locais de trabalho, os agentes (físicos ou químicos) potencialmente mutagénicos ou carcinogénicos, cuja remoção poderá contribuir para a prevenção primária das doenças genéticas. Alguns programas de prevenção secundária particularmente bem sucedidos foram levados a cabo na Bacia do Mediterrâneo (talassémia major), na comunidade dos judeus Ashkenazi dos EUA (deficiência em hexosaminidase A ou doença de Tay-Sachs) ou, ainda, na generalidade dos países do Norte (trisomia 21 ou síndrome de Down). P. ex., na Sardenha foi possível reduzir de 95% a incidência da talassémia major.

Por outro lado, o próprio conceito de doença de etiologia genética tem vindo a alargar-se às doenças crónico-degene-

<sup>a</sup> Laboratório de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Av. P. Cruz, 1699 LISBOA CODEX

rativas (aterosclerose, diabetes, etc.), às diferentes formas de câncer e, em sentido ainda mais geral, ao próprio processo fisiológico de envelhecimento ou aos chamados factores de susceptibilidade a patógenos. Assistiu-se, por isso, nas últimas duas décadas à «invasão» da genética em todos os campos da patologia humana e sua terapêutica (farmacogenética), o que obrigou a uma profunda alteração no ritmo e na qualidade das actividades de investigação e desenvolvimento nesta área.

### O objecto e os métodos

Desde 1944 que sabemos, graças à experiência crucial de Avery, McLeod e McCarty em pneumococo, que a base material da informação genética é o DNA e não a proteína. Esta descoberta desencadeou um fortíssimo movimento científico e tecnológico no sentido de descrever e correlacionar a estrutura e a função do genoma de vários organismos vivos (das bactérias ao homem). A óbvia motivação de tais esforços tem sido a convicção (de tipo determinista e reducionista) de que, uma vez conhecido o «programa» genético (o genótipo) de um dado organismo, é possível deduzir e, eventualmente, manipular a sua expressão no correspondente fenótipo.

No caso do *Homo sapiens*, o objecto desta *démarche* – o genoma humano – é um conjunto de sequências polinucleotídicas (moléculas de DNA) com um comprimento total de  $3 \times 10^9$  pares de bases. A título de comparação recorde-se que o genoma de uma bactéria (*E. coli*) contém  $2 \times 10^6$ , um insecto (*Drosophila*)  $10^8$  e um anfíbio (*Triturus*)  $2 \times 10^{10}$  pares de bases. O DNA, em conjunto com diversos tipos de proteínas, encontra-se organizado numa hierarquia de estruturas supra-moleculares de complexidade crescente: os nucleosomas, as fibrilhas de cromatina, os cromátídeos e os cromossomas. Apenas uma pequena parte ( $\approx 10\%$ ) do genoma humano é codificante, estimando-se em S a  $10 \times 10^4$  o número de genes estruturais (isto é que controlam a síntese de alguma proteína). Em termos de comprimento genético, medido pela frequência dos acontecimentos de recombinação em resultado de *cross-overs* entre cromossomas homólogos, o genoma humano mede 3000 centimorgans. Um centimorgan (cM) é a distância genética correspondente à frequência de 1% de recombinação o que, em média, equivale a  $10^6$  pares de bases (1 Mb). No entanto, não há uma ligação linear entre o comprimento físico de um cromossoma (em Mb) e o seu comprimento genético (em cM). Diferente é também o comprimento genético de um mesmo cromossoma num homem e numa mulher (Figura 1) em resultado de uma diferente distribuição da frequência de recombinação ao longo do cromossoma nos dois sexos. Um cromossoma humano de dimensão média (grupo C que inclui os cromossomas 6 a 12 e o cromossoma X) contém entre 36 e 45 Mb. Durante a mitose, em metafase, os cromossomas condensam-se e podem ser identificados ao microscópio óptico: o comprimento, a posição do centrómero e, sobretudo, o padrão de bandas induzidas no processo preparativo, são as características distintivas. Os métodos convencionais da citogenética produzem cerca de mil bandas no conjunto dos cromossomas o que significa que cada banda terá, em média, 3 Mb. Os genes, as unidades estruturais e funcionais do genoma, têm dimensões muito variadas (de  $10^3$  a  $10^6$  pares de

bases, Tabela 1) e organizam-se num número variável de segmentos codificantes transcritos e traduzidos (os exões), alternando com segmentos não codificantes transcritos mas não traduzidos (os intrões, que são excisados durante a maturação do RNA mensageiro, e as regiões de flanco que permanecem no mensageiro maduro). Foram também implicadas na regulação da expressão génica sequências de DNA mais remotamente localizadas: os promotores, os *enhancers*, os silenciadores e, mais recentemente, as chamadas regiões de controlo dominante (*locus activating region*, LAR ou *dominant control region*, DCR). Finalmente, a expressão génica é ainda influenciada por factores actuando em *trans* (proteínas reguladoras da transcrição cuja síntese é codificada por genes localizados noutros cromossomas).

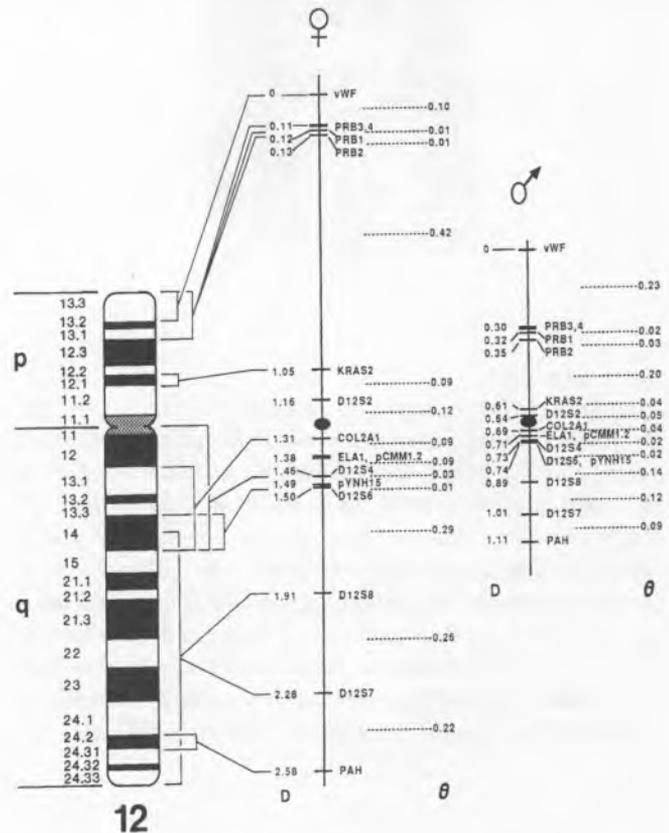


FIGURA 1

Mapas genéticos comparativos do cromossoma 12 do homem e da mulher. À esquerda de cada diagrama as distâncias genéticas são acumuladas a partir do ponto zero e expressas em morgan (D). À direita de cada diagrama os intervalos entre cada locus são expressos em fracção de recombinação (8). Adaptado de Kaplan & Delpuch, 1989.

A elucidação de toda a complexidade do genoma humano implica a utilização de uma bateria de métodos com diferentes níveis de resolução e sensibilidade que constituem outras tantas «janelas» abertas sobre o objecto de estudo e através de cada uma das quais se podem observar apenas aspectos parciais do real (Figura 2). Este conjunto de métodos (classificáveis num de três grupos: análise de *linkage*, citogenética e biologia molecular) permitiu já identificar 2656 características como fazendo parte da herança mendeliana do homem e localizar 874 genes nos cromossomas humanos. Estes números representam apenas uma pequena parte do número total de genes da espécie o qual, como vimos, foi estimado em  $5$  a  $10 \times 10^4$ .

Gene (tamanho da cadeia polipeptídica, kDa)	Comprimento do gene, kb	Comprimento do mRNA, kb	Número de exões	Exões Gene
Interferão $\beta_1$ (20 kDa)	0.9	0.9	1	100%
$\beta$ Globina (16.4 kDa)	1.6	0.623	3	39%
Colagénio $\alpha_1$ (165 kDa)	38	6.2	50	11%
Apo-B (512 kDa)	43	14.1	29	31%
Factor VIII:C (330 kDa)	186	9	26	5%
Proteína FQ CFTR (168 kDa)	250	6.5	24	3%
Distrofina (427 kDa)	>2000	14	60	0.7%

TABELA 1  
Anatomia comparada de alguns genes humanos.

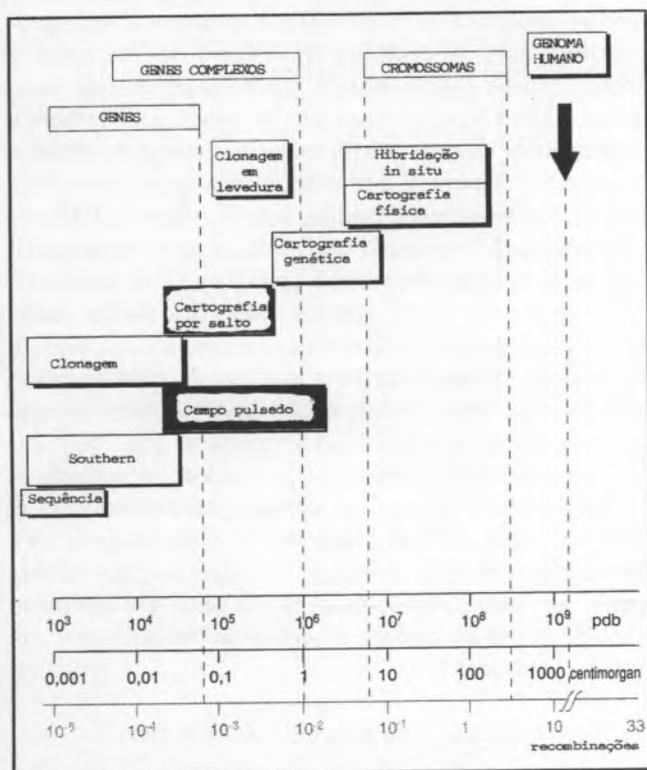


FIGURA 2

Poder de resolução dos diferentes métodos de exploração do genoma humano. Adaptado de Kaplan & Delpech, 1989.

No caso específico da biologia molecular humana houve que usar (muitas vezes após adaptação) uma série de ferramentas antes desenvolvidas tendo em vista o estudo de outros sistemas biológicos. Primeiro trata-se de isolar as substâncias a analisar (DNA ou RNA) as quais são, em seguida, modificadas através da actividade catalítica de enzimas especializadas em cortar (nucleases e, em particular, endo-

nucleases de restrição), copiar (DNA polimerases), transcreever (transcriptase reversa), religar extremidades coesivas ou abruptas (ligases), adicionar grupos fosfato (quinases), etc. Realiza-se, assim, uma espécie de *bricolage* molecular que, mimetizando a Natureza, produz os artefactos (DNA recombinante) ulteriormente usados como sondas na hibridação molecular ou na transformação de células procariotas e eucariotas para fins de investigação (estudos de expressão génica) ou tecnológicos (produção de proteínas heterólogas com interesse económico).

## Os resultados

Ao fim de duas décadas de actividades de investigação e desenvolvimento na área da engenharia genética e medicina (Tabela 2), é oportuno fazer um balanço dos resultados obtidos.

- 1972 - Primeiro DNA recombinante *in vitro*.
- 1973 - Método geral de clonagem (de um gene de qualquer espécie biológica).
  - I. Conferência sobre o Mapa Génico Humano (New Haven): 119 genes localizados.
- 1974 - Moratória preconizando a paragem das manipulações genéticas *in vitro* enquanto se preparava uma regulamentação.
  - II. Conferência sobre o Mapa Génico Humano (Rotterdam): 139 genes localizados.
- 1975 - Conferência Internacional sobre a Recombinação de DNA *in vitro* onde foi elaborado um projecto de regulamentação incluindo a noção de confinamento biológico.
  - Método de Southern para a detecção de sequências de DNA específicas obtidas a partir de um genoma complexo por tratamento com endonucleases de restrição.
  - III. Conferência sobre o Mapa Génico Humano (Baltimore): 167 genes localizados.
- 1976 - Primeiro diagnóstico pré-natal genotípico de  $\alpha$  talassémia homozigótica por hibridação DNA/DNA em fase líquida com uma sonda não clonada.
  - Descoberta do primeiro proto-oncogene (*c-src*).
  - Primeiras clonagens de genes humanos: hormona lactogénica placentária,  $\beta$  globina.
  - Primeira localização cromossómica de um gene humano por hibridação molecular em fase líquida ( $\alpha$  globina no cromossoma 16).
  - Descoberta dos intrões.
  - IV. Conferência sobre o Mapa Génico Humano (Winnipeg): 185 genes localizados.
- 1978 - Primeiro polimorfismo de restrição humano (*restriction fragment length polymorphism*, RFLP) e sua aplicação ao diagnóstico pré-natal genotípico pelo método de Southern (drepanocitose).
  - Primeiro banco de DNA genómico humano.
  - Descoberta da combinatoria dos genes das imunoglobulinas que está na base da diversidade dos anticorpos.
- 1979 - Primeiros oligonucleotídeos sintéticos usados como sondas moleculares.
  - V. Conferência sobre o Mapa Génico Humano (Edinburgh): 235 genes localizados.
- 1980 - Primeiro RFLP humano detectado com uma sonda molecular anónima.
  - Artigo de Botstein et al propondo uma estratégia geral para a cartografia genética do genoma humano usando RFLPs (genética reversa).
  - Clonagem do genoma do vírus da hepatite B (HBV) e descoberta da sua integração nos hepatocarcinomas.
- 1981 - Detecção do vírus HBV no soro por hibridação molecular.
  - VI. Conferência sobre o Mapa Génico Humano (Oslo): 296 genes localizados.

- 1982 - Primeira localização intracromossômica de um *locus* de doença desconhecido (distrofia muscular de Duchenne em Xp21) por *linkage* com um RFLP.
- Descoberta do primeiro rearranjo génico num câncer (*c-myc* e genes das imunoglobulinas no linfoma de Burkitt).
  - Identificação da primeira mutação pontual num proto-oncogene (*c-ras* em câncer da bexiga).
  - Insulina humana recombinante.
  - Ratinhos transgênicos gigantes (micro-injeção do gene da hormona do crescimento recombinado por um promotor forte).
- 1983 - Primeira localização cromossômica de um *locus* de doença autossômica com defeito bioquímico desconhecido (coreia de Huntington no cromossoma 4).
- Introdução, a partir do estudo do retinoblastoma, do conceito de mutação recessiva num gene supressor de tumores (anti-oncogene).
  - Sequenciação do genoma do vírus da SIDA (HIV 1).
  - VII. Conferência sobre o Mapa Génico Humano (Los Angeles): 365 genes localizados.
- 1984 - Método de cartografia de grandes fragmentos de DNA ( $10^4$  a  $10^6$  pares de bases) por electroforese em campo pulsado.
- Clonagem e sequenciação do cDNA do factor anti-hemofílico VIII.
  - Clonagem dos genes do receptor de células T (TCR).
- 1985 - Descoberta de sondas mini-satélites (*variable number tandem repeat*, VNTR) e seu uso na obtenção de "impressões digitais" moleculares.
- Primeiro diagnóstico pré-natal de uma doença de defeito bioquímico desconhecido, através do uso de RFLPs.
  - Localização dos *loci* de doença da fibrose quística (cromossoma 7) e da poliquistose renal dominante (cromossoma 16).
  - Método de amplificação selectiva de DNA *in vitro* (*polymerase chain reaction*, PCR).
  - VIII. Conferência sobre o Mapa Génico Humano (Helsinki): 474 genes localizados.
- 1986 - Eritropoietina recombinante.
- 1987 - Clonagem e identificação do primeiro anti-oncogene (gene RB1 do retinoblastoma).
- Macroclonagem em cromossomas artificiais de levedura (*yeast artificial chromosomes*, YAC).
  - Primeira vacina anti-HBV recombinante.
  - IX. Conferência sobre o Mapa Génico Humano (Paris): 601 genes localizados.
- 1988 - Reconstituição da sequência completa da distrofina (proteína produzida pelo gene responsável pela distrofia muscular de Duchenne).
- 1989 - Isolamento e identificação do gene da fibrose quística (CFTR).
- X. Conferência sobre o Mapa Génico Humano (New Haven): 827 genes localizados.

TABELA 2

Algumas datas importantes na história das aplicações da engenharia genética à medicina.

### A «Nova Genética»

O que é a «nova genética»? Essencialmente é uma mudança na abordagem às doenças genéticas, deixando o ênfase de ser posto na análise ao nível clínico, celular e bioquímico para passar a sê-lo ao nível molecular. Passa a definir-se a doença genética em termos de patologia molecular. Com a análise directa e concreta do material genético a genética humana (e, portanto, a genética médica) ultrapassa o seu quadro abstracto tradicional. As hemoglobinopatias, pela sua frequência e a sua variedade, foram um terreno favorável ao desenvolvimento dos métodos e dos conceitos, permitindo ao mesmo tempo enriquecer os conhecimentos fundamentais (a organização dos genes, o seu agrupamento em famílias, os pseudo-genes, ...) e diagnosticar os genes patológicos. A patologia molecular dos genes das globinas, ao revelar todas as varie-

dades possíveis da anomalia (deleções ou mutações pontuais que afectam a transcrição, o processamento do RNA, a tradução, a regulação concertada da expressão de toda a família de genes, ...), forneceu um modelo para o estudo das alterações genéticas susceptíveis de atingir os genes humanos. À medida que mais genes reconhecidamente patológicos foram sendo clonados, os conceitos e os métodos desenvolvidos a propósito das hemoglobinopatias passaram a aplicar-se ao conjunto das doenças genéticas. As que têm um modo de transmissão ligado ao cromossoma X beneficiaram não apenas do diagnóstico pré-natal mas também do diagnóstico de portadora, até então impossível de efectuar apenas com estudos fenotípicos. A clonagem de genes correspondentes a funções biológicas importantes permitiu observar a uma nova luz grandes áreas da fisiologia e da patologia humanas: genes das imunoglobulinas e sua combinatória geradora da diversidade dos anticorpos, genes dos interferões, dos factores de crescimento e oncogenes, dos receptores hormonais, das lipoproteínas, etc.

No que diz respeito às doenças genéticas de etiologia desconhecida, a estratégia da *genética reversa* (cujas bases teóricas haviam sido lançadas já em 1980) começou a produzir frutos em 1987 com o isolamento e a identificação de genes que codificam para proteínas até então desconhecidas: o gene RB1 (no cromossoma 13) para o retinoblastoma ou os genes DMD e BMD (no cromossoma X) respectivamente para as distrofias musculares de Duchenne e Becker. Muitas outras doenças genéticas de etiologia desconhecida beneficiaram deste tipo de abordagem, embora a elucidação da respectiva base molecular esteja em estádios de evolução diferentes: a fibrose quística (cujo gene, *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*, CFTR, no cromossoma 7 foi isolado em 1989), a poliquistose renal dominante (cromossoma 16), a coreia de Huntington (cromossoma 4), etc. É de salientar que, para muitas destas doenças, é já possível o diagnóstico genotípico, incluindo o diagnóstico pré-natal, embora por um método indirecto (usando marcadores polimórficos do DNA estreitamente ligados ao *locus* patológico), uma vez que os genes respectivos ainda não foram isolados. Quanto às doenças poligénicas e multifactoriais (p. ex., as doenças cardiovasculares e, talvez, algumas doenças psiquiátricas) pode tentar-se uma abordagem através da utilização sistemática de marcadores ligados aos genes candidatos (p. ex., os genes que controlam o metabolismo dos lípidos ou dos neurotransmissores) em estudos familiares.

### O câncer resulta de uma patologia do DNA somático

O primeiro oncogene celular a ser descoberto (1976) foi o proto-oncogene *c-src* parcialmente homólogo do oncogene retroviral *v-src*. Desde então demonstrou-se que várias dezenas de genes essenciais para a regulação fisiológica da multiplicação celular – os proto-oncogenes – podem concorrer para a proliferação tumoral quando sofrem alterações genómicas dominantes. A descoberta destes genes e dos seus mecanismos de activação constitui um dos progressos médicos mais importantes dos últimos anos, na medida em que abre uma via para a compreensão do processo de cancerização, sua prevenção e tratamento. Desde já comporta conse-

quências imediatas nos planos do diagnóstico e do prognóstico das situações malignas. Para além destes genes em que os acontecimentos activadores são *dominantes e somáticos*, foi descoberta uma outra categoria de genes (de que o paradigma é o gene do retinoblastoma hereditário) – os genes supressores de tumores ou anti-oncogenes. As mutações de que são alvo são *recessivas*, sendo necessária a coincidência, numa mesma célula, de alterações afectando o mesmo gene em cada um dos dois cromossomas homólogos (homozigotia). Este modelo parece aplicar-se a um grande número de câncros (tumor de Wilms, câncros do colon, ...) nos quais foram encontrados *loci* lesados de maneira homozigótica. Também aqui existem implicações imediatas para o diagnóstico pré-natal e/ou pré-sintomático, bem como para o prognóstico.

*Os genomas dos virus, das bactérias e dos parasitas são detectáveis por sondas moleculares específicas*

A virologia, a bacteriologia e a parasitologia entraram já na era da biologia molecular pois a clonagem (total ou parcial) do genoma de alguns virus, bactérias e parasitas permite o seu estudo e diagnóstico e a preparação de vacinas. Por exemplo, a clonagem do virus da hepatite B (HBV) permitiu demonstrar a sua integração no DNA tumoral dos hepatocarcinomas (1980) e a produção de uma vacina *recombinante*, actualmente aplicada em larga escala. O virus da SIDA (*human immunodeficiency virus*, HIV), descoberto em 1983, foi já clonado e sequenciado, o que permite o estudo da sua biologia, o seu diagnóstico directo (p. ex., através da transcrição reversa do seu genoma seguida de amplificação enzimática selectiva por *polymerase chain reaction*, PCR) e a concepção de diferentes estratégias para a produção de uma vacina.

*A engenharia genética fornece meios terapêuticos*

A produção industrial, em bio-reactores, de proteínas humanas com interesse terapêutico, graças à expressão de genes humanos inseridos em vectores apropriados e transferidos para um adequado sistema celular, pareceu, desde logo, um objectivo interessante. Este tem vindo a ser atingido com a produção da insulina, dos interferões, da hormona do crescimento, do factor estimulante de colónias de granulocitos e macrófagos (GM-CSF), da eritropoietina, do activador do plasminogénio e, em breve, também do factor anti-hemofílico VIII.

*A análise do genoma humano dá informação sobre a identidade e a genealogia dos indivíduos*

Hoje em dia, o emprego de sondas moleculares e a análise de um grande número de sequências do genoma humano vieram trazer uma base molecular à paleo-antropologia e à genética de populações. O uso de certas sondas hiperpolimórficas, os mini-satélites ou VNTR (*variable number tandem repeats*), permite caracterizar de forma praticamente absoluta o genoma de cada indivíduo sob a forma de uma «impressão digital» molecular, particularmente útil em medicina legal.

*A medicina predictiva na era da engenharia genética*

O diagnóstico pré-natal fenotípico e o estudo do sistema maior de histocompatibilidade (HLA) haviam aberto o caminho a uma *medicina predictiva* fundada na previsão ante-natal ou pré-sintomática. Na medida em que as alterações do genoma humano – mutações e micro-rearranjos cromossómicos – passaram a ser directamente acessíveis à análise, o diagnóstico de um número crescente de doenças vai beneficiar desta abordagem. O diagnóstico pré-natal genotípico é já correntemente efectuado para as hemoglobinopatias (talassémias e drepanocitose), as hemofilias (A e B), a distrofia muscular de Duchenne e a fibrose quística.

**As perspectivas**

*A exploração sistemática do genoma humano*

Em sentido lato um *projecto do genoma* é um conjunto de actividades de investigação e desenvolvimento experimental visando a elaboração de mapas genéticos (ou de *linkage*) e de mapas físicos (ou de sequências de nucleotídeos) de alguns cromossomas ou da totalidade do genoma. No entanto, as sequências de DNA só terão algum significado se exprimirem a riqueza do polimorfismo da espécie considerada e puderem ser correlacionadas com a respectiva função biológica. Os projectos do genoma humano poderão beneficiar a investigação (i) das doenças genéticas e das doenças transmissíveis (genética da susceptibilidade a patógenos); (ii) da fisiologia e do desenvolvimento (controlo da expressão genética); (iii) da base molecular da evolução; e (iv) da genética de populações.

Do ponto de vista das implicações éticas e sociais dos projectos do genoma, há que tentar equacionar um conjunto de questões preliminares, a saber:

\* Como é que a variabilidade genética explica e justifica as diferenças (biológicas, sociais, comportamentais, ...) inter-individuais? Em que medida os genes limitam (ou não) as opções dos seres humanos?

\* Qual a relevância social dos resultados previsíveis de um projecto do genoma? Será possível compatibilizar as necessidades no campo da saúde com a oportunidade científica da investigação?

\* Como se fará o controlo dos conhecimentos obtidos e do acesso à informação? A quem pertence a informação genética, ao indivíduo que a descobre ou à espécie humana no seu conjunto?

\* Como resolver o conflito entre o discurso progressivamente mais reducionista das ciências médicas e a desejável prática da medicina o mais global e integrada possível?

Face ao surgimento, nos EUA, no Japão e na Europa, durante a década de 80, de diversos projectos do genoma com objectivos parcialmente sobreponíveis, um grupo de trabalhadores científicos com particulares responsabilidades daquelas regiões do Mundo decidiu, em 1988, fundar a *Human Genome Organization* (HUGO) com as seguintes funções: (i) contribuir para a coordenação da investigação do genoma humano e proporcionar programas de formação nas metodologias relevantes; (ii) organizar o intercâmbio de dados, amostras e tecnologia utilizáveis na investigação do genoma;

(iii) estimular estudos paralelos em modelos animais e coordenar essas investigações com o projecto do genoma humano; e (iv) promover o debate público e elaborar directrizes sobre as implicações éticas, sociais, legais e comerciais do projecto do genoma.

#### *A terapêutica génica*

As aplicações clínicas dos mapas genéticos e físicos do genoma humano, até agora praticamente limitadas ao diagnóstico, podem vir a incluir a inserção de DNA normal directamente em células somáticas, tendo em vista a correcção de um dado defeito genético. O avanço da terapêutica génica dependerá do desenvolvimento de processos inócuos e eficientes de inserção do DNA estranho nas células-alvo e de esse DNA, uma vez integrado no genoma receptor, corrigir de facto o defeito genético, o que implica que o gene normal «enxertado» se exprima no momento, no local e ao nível fisiológicos. Os primeiros candidatos a uma acção terapêutica deste tipo serão provavelmente os genes da hipoxantina-guanina fosforribosiltransferase (HPRT) cuja deficiência provoca a doença (neurológica) de Lesh-Nyhan e da adenosina desaminase (ADA) cuja deficiência está implicada na imunodeficiência combinada grave.

#### *A «perfeição» humana (desenvolvimento e evolução)*

Existe uma profunda e extensa lacuna entre o conhecimento a nível molecular (DNA  $\Rightarrow$  RNA  $\Rightarrow$  proteína) e o conhecimento do que se passa a nível fisiológico (fenótipo) como resultante de uma interacção dinâmica entre o genótipo e as diferentes componentes do ambiente (incluindo o próprio *background* genético do indivíduo): de facto, o mesmo gene, em diferentes ambientes, produz diferentes fenótipos, enquanto, pelo contrário, genes diferentes, em diferentes ambientes, podem produzir o mesmo fenótipo (a fenilcetonúria clássica causada pela deficiência de fenilalanina hidroxilase ilustra bem estas situações). Por outro lado, não se pode ignorar o papel activo desempenhado pelos organismos vivos na transformação do seu próprio ambiente. Eles não são sistemas estritamente programados para responder mecanicamente aos desafios do ambiente. Em particular os seres humanos fazem a sua própria história, embora em circunstâncias que não escolheram. Esta é uma das razões pelas quais o conhecimento do passado evolutivo não permite prever o curso do futuro evolutivo. A evolução humana não parou com o aparecimento do *Homo sapiens sapiens*: a evolução biológica continua como uma propriedade intrínseca da matéria viva; a evolução sócio-cultural, por seu lado, é o produto da interacção de factores biológicos, económicos e culturais e das acções conscientes dos indivíduos. A compreensão dessa interacção escapa seguramente às metodologias da biologia. Não sabemos, nem podemos prever, os limites que o nosso genoma impõe à natureza humana. A única coisa que sabemos é que não há limites óbvios.

#### **Em Portugal**

O levantamento das informações sumarizadas a seguir está longe de ter sido exaustivo. Procurou-se apenas exem-

plificar áreas científicas, instituições e localidades onde, no nosso País, se faz o estudo do genoma humano (ou de outros organismos com implicações na saúde humana ou que podem ser usados como modelo da fisiologia e/ou da patologia humanas) ao nível molecular.

#### *Áreas científicas*

Anatomia, biofísica, biologia celular, biologia molecular, bioquímica, bioquímica genética, biotecnologia, endocrinologia, enzimologia, genética, genética humana, hematologia, histologia e embriologia, imunologia, infecciosologia, microbiologia, neurobiologia, oncobiologia, parasitologia, patologia, patologia morfológica, química física molecular e virologia.

#### *Instituições*

Centros de investigação:

Centro de Citologia Experimental (biofísica, biologia molecular, microbiologia e imunologia), Instituto de Genética Médica (enzimologia), Instituto Gulbenkian de Ciência (bioquímica, genética, virologia) e Instituto Nacional de Saúde (bioquímica genética, genética humana, hematologia, microbiologia experimental, paramiloidose, parasitologia, resistência aos antibióticos, virologia, zoonoses).

Hospitais centrais:

Hospital de S. António (imunologia), Instituto Português de Oncologia - Norte (imunologia) e Instituto Português de Oncologia - Sul (endocrinologia, patologia morfológica).

Universidades:

Departamento de Zoologia da Universidade de Coimbra (biologia celular), Escola Superior de Medicina Veterinária (doenças transmissíveis), Faculdade de Ciências Médicas de Lisboa (genética, imunologia), Faculdade de Ciências do Porto (antropologia), Faculdade de Ciências e Tecnologia - UNL (biotecnologia), Faculdade de Farmácia de Lisboa (microbiologia), Faculdade de Medicina de Coimbra (histocompatibilidade, imunologia), Faculdade de Medicina de Lisboa (histologia e embriologia, imunologia), Faculdade de Medicina do Porto (genética, hematologia, imunologia, patologia), Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (anatomia, imunologia) e Instituto Superior Técnico (química física molecular).

#### *Localidades*

Lisboa, Porto, Coimbra, Oeiras e Águas de Moura.

No que respeita à prevenção das doenças monogénicas na população, é já possível realizar entre nós - no Laboratório de Genética Humana do Instituto Nacional de Saúde - o diagnóstico pré-natal de hemoglobinopatias (drepanocitose e talassémias), de hemofilias (A e B) e de fibrose quística.

**Agradecimentos**

Agradeço a Leonor Osório-Almeida e a Anabela Dias os pertinentes comentários que fizeram após uma leitura do manuscrito.

**Referências**

- Cold Spring Harbor Laboratory (1986) *Molecular biology of Homo sapiens*, Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, Volume LI (Parts A and B).
- Jordan B (1989) Les cartes du génome humain. *Recherche* 20: 1486.

- Kaplan J-C & Delpech M (1989) *Biologie moléculaire et médecine*, Paris, Flammarion.
- McKusick VA (1990) *Mendelian inheritance in man: Catalogs of autosomal dominant, autosomal recessive and X-linked phenotypes*, 9th ed; Baltimore, Johns Hopkins Univ. Press.
- Rose S (1984) DNA in medicine: Human perfectibility. *Lancet* II: 1380.
- Rose S, Kamin LJ, Lewontin RC (1984) *Not in our genes - Biology, ideology and human nature*, Harmondsworth, Penguin.
- United States Congress, Office of Technology Assessment (1988) *Mapping our genes - The genome projects: how big, how fast?* OTA-BA-373, Washington DC, US Government Printing Office.

*A SPQ é sua amiga  
Você é amigo dos seus amigos  
Os seus amigos  
são amigos da SPQ?*

**BOLETIM DE INSCRIÇÃO SPQ**

Nome \_\_\_\_\_

Morada \_\_\_\_\_

Telefone \_\_\_\_\_

Delegação a que deseja pertencer: Coimbra  Lisboa  Porto

Endereço Profissional \_\_\_\_\_

Habilitações Académicas \_\_\_\_\_

Cargo que desempenha \_\_\_\_\_

Junto envio o cheque nº \_\_\_\_\_ do Banco \_\_\_\_\_

referente à minha quota da SPQ no ano de 1991.

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 1991

Assinatura \_\_\_\_\_

# CAFIASPIRINA



PARA LOS  
**RESFRIADOS**



# Metabolitos do ácido araquidónico

– Aspectos Químicos e Fisiológicos

Matilde Castro <sup>a</sup>



Matilde da Luz Santos Duque  
da Fonseca e Castro

Nasceu em Lisboa a 24 de Novembro de 1954.

Completo a Licenciatura em Farmácia no ano lectivo de 1976/77, com a classificação final de 16 valores.

Nos anos lectivos compreendidos entre 1977/78 e 1988/89 exerceu as funções de assistente na Faculdade de Farmácia de Lisboa, nas disciplinas de Análise Química e Química Farmacêutica Inorgânica.

A 20 de Junho de 1989 defendeu a tese de Doutoramento subordinada ao tema «Metabolitos do Ácido Araquidónico: ensaios comparativos de métodos analíticos», cujo trabalho prático foi efectuado no Instituto de Farmacologia da Faculdade de Medicina de Lisboa.

A partir desta data exerce as funções de Professor Auxiliar da Faculdade de Farmácia de Lisboa nas disciplinas atrás citadas.

É membro do Conselho Pedagógico da Faculdade de Farmácia de Lisboa, do Senado Universitário e da Comissão Científica do Senado da Universidade de Lisboa.

## Introdução

As Prostaglandinas (PGs) constituem um grupo de compostos fisiologicamente activos, existentes em quase todas as espécies animais.

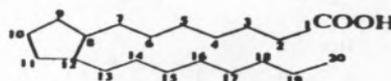
Em 1930, no decurso de um estudo sobre fertilidade e esterilidade da mulher, Kurzrok e Lieb, cientistas norte-americanos, revelaram que «in vitro», o sémen humano podia inibir ou estimular o útero humano. Poucos anos volvidos sobre essa descoberta, dois cientistas europeus, em sueco (Von Euler - 1933) e outro inglês (Goldbatt - 1933), observaram a estimulação do músculo liso por parte do líquido seminal não só do Homem, mas também dos extractos das vesículas seminais do macaco e do carneiro. Von Euler, demonstrou igualmente que a actividade biológica do líquido seminal dessas espécies, estava associada à fracção lipídica desses extractos e que era devida à presença de compostos até então desconhecidos e que ele apelidou de «PROSTAGLANDINAS».

As PGs constituem um grupo de ácidos lipídicos não saturados, sintetizadas enzimaticamente a partir de ácidos gordos insaturados com vinte átomos de carbono (Moncada and Vane, 1979). Três ácidos estão na base desta síntese:

## Ácidos precursores

Nome trivial	Nome químico
Diomo-gama-linolénico	8, 11, 14-icosatrienóico
Ácido Araquidónico	5, 8, 11, 14-icosatetraenóico
-----	5, 8, 11, 14, 17-icosapentaenóico

O nome químico das diferentes PGs, é baseado na molécula do ácido prostanóico, ácido com vinte átomos de carbono, monocarboxílico, possuidor de um anel ciclopentano e que por si mesmo não manifesta qualquer actividade prostaglandínica.



Ácido Prostanóico

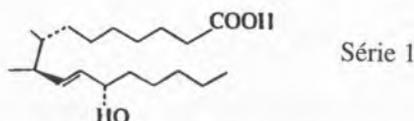
(7-(2-Octilciclopentil) heptanóico)

<sup>a</sup> Faculdade de Farmácia de Lisboa, Av. das Forças Armadas, 1600 Lisboa.

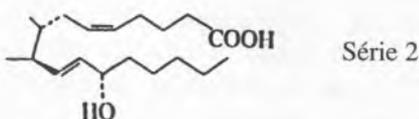
Esta estrutura é comum a todas as Prostaglandinas naturais diferindo estas entre si, pelo grau de insaturação das cadeias laterais e pelas substituições no anel.

Cada um dos ácidos anteriormente citados pode funcionar como precursor de uma série de Prostanóides.

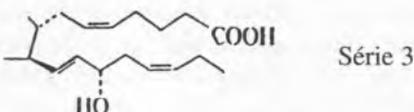
As Prostaglandinas são normalmente englobadas em três séries (1, 2, 3,) dependendo do número de duplas ligações na cadeia lateral (Andersen et al, 1985). Assim, poderemos dizer que os derivados do ácido 8, 11, 14-icosatrienóico pertencem à série 1 e todas as Prostaglandinas desta série terão na cadeia lateral apenas uma dupla ligação em C<sub>13</sub> (trans).



As PGs derivadas do ácido 5, 8, 11, 14-icosatetraenóico, vulgarmente conhecido por Ácido Araquidónico (A.A), apresentam duas duplas ligações na cadeia lateral e pertencem à série 2. Uma das duplas ligações localiza-se em C<sub>5</sub> (cis) e outra em C<sub>13</sub> (trans).



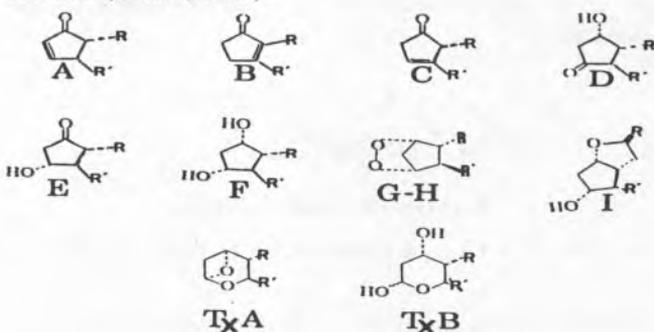
As PGs derivadas do ácido 5, 8, 11, 14, 17-icosapentaenóico estão englobadas na série 3 por apresentarem, todas elas, três duplas ligações na cadeia lateral. Uma das ligações localiza-se em C<sub>5</sub> (cis), outra em C<sub>13</sub> (trans) e outra em C<sub>17</sub> (trans).



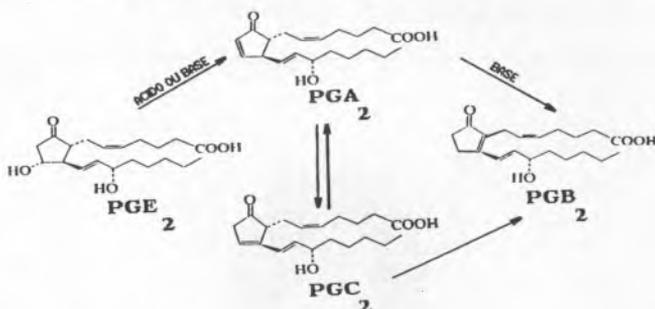
É de notar que o número da série figurará sempre em apêndice ao nome da PG v. g. PGE<sub>2</sub>; PGF<sub>1</sub>; PGE<sub>3</sub>; etc....

Para além da insaturação das cadeias laterais, as PGs estão agrupadas de acordo com as funções químicas ligadas ao anel presente na sua estrutura. Os diferentes grupos de PGs, são simbolizados por letras A-I. O estabelecimento desses grupos, fica a dever-se exclusivamente às diferentes substituições ao nível do anel pentagonal (Andersen et al, 1985).

Os Tromboxanos A<sub>2</sub> e B<sub>2</sub>, a que adiante faremos referência, são metabolitos do Ácido Araquidónico que em lugar do anel ciclopentano, apresentam um anel oxano. Prostaglandinas e Tromboxanos são colectivamente denominados de Prostanóides (Moore, 1985).



As estruturas de algumas PGs, não são estáveis e em determinadas condições, prostaglandinas de um grupo podem-se converter noutras de outro grupo. Poderemos citar como exemplo, o caso geral da PGE<sub>2</sub>, instável a pH<3 ou francamente básico (pH>8). Nestas condições ela sofre modificações da sua estrutura e transforma-se na PGA<sub>2</sub>, que a pH alcalino sofre rearranjos estruturais, originando a PGC<sub>2</sub> e finalmente a PGB<sub>2</sub> (Andersen et al, 1985).



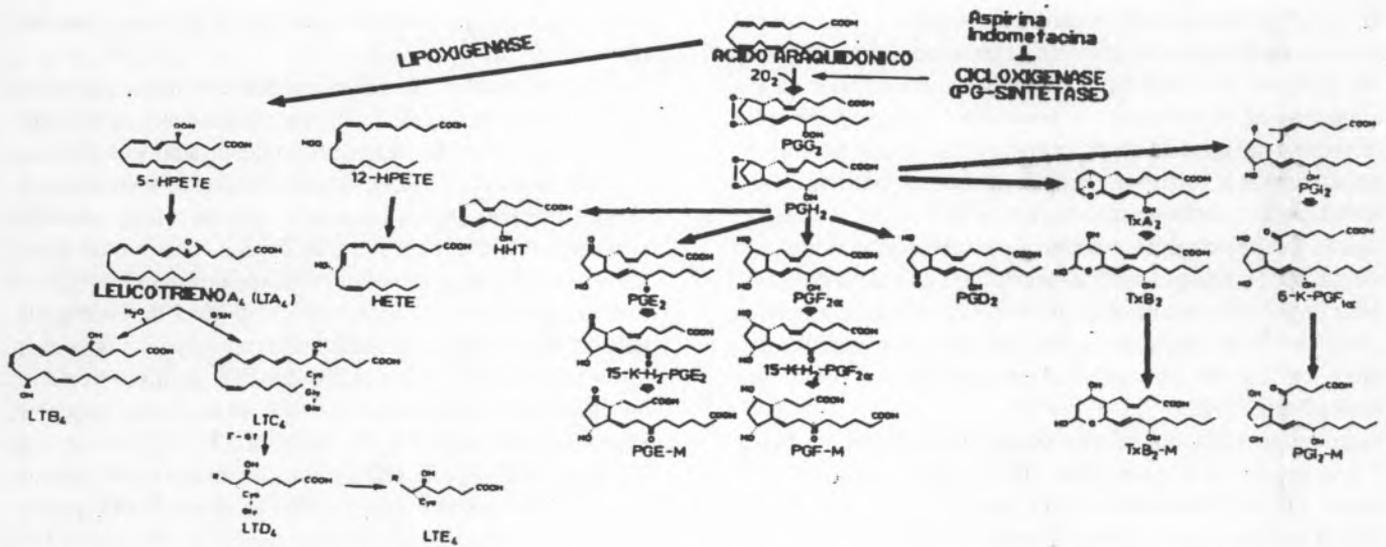
Considerando que o anel pentagonal ocupa um plano no espaço, os radicais químicos e as cadeias laterais das PGs, podem dispor-se acima ou abaixo desse plano. As funções localizadas nos carbonos 9, 11, 15, são referenciadas relativamente à posição do grupo carboxílico. Se estiverem no mesmo plano do referido grupo, ocupam a posição alfa (α); no caso de estarem em planos contrários ocupam a posição beta (β).

As PGs da série 1, são pouco conhecidas embora tenham sido encontradas em diversos órgãos de mamíferos. No Homem as PGs mais abundantes, não só por serem as que se encontram em maior quantidade, mas também por serem as de maior interesse do ponto de vista fisiológico, são as derivadas do Ácido Araquidónico. As PGs da série 3 apenas têm sido referenciadas relativamente a animais marinhos (Gião T. Rico, 1984).

Sabe-se que no Homem os ácidos araquidónico e diomogama linoléico, introduzidos no organismo pelos alimentos vegetais, se encontram incorporados em moléculas de fosfolípidos ou ligados ao colesterol. A libertação do Ácido Araquidónico, que actua como precursor da síntese de PGs da série 2, a partir das moléculas de fosfolípidos, fica a dever-se à acção de um grupo de enzimas, de onde sobressaem as fosfolipases da membrana celular, sobretudo a fosfolipase A<sub>2</sub> (Moore, 1985). À excepção do líquido seminal, as PGs não estão armazenadas, mas são libertadas como resposta a estímulos que desencadeiam o metabolismo dos ácidos precursores (McGiff, 1985) seguindo-se a sua difusão nos fluidos biológicos. Os estímulos susceptíveis de lesar a membrana celular poderão ter diferentes origens. Poderão ser estímulos físicos (traumatismos, radiações), químicos (substâncias lesivas das células), biológicos (microorganismos patogénicos) ou patológicos (hipertermia, reacções imunológicas).

As fosfolipases da classe A2 hidrolizam especificamente o ácido gordo na posição 2. Após a libertação do Ácido Araquidónico, a sua metabolização pode ocorrer por duas vias diferentes (Wallach and Brown, 1981).

Uma dessas vias envolve um sistema enzimático, que é globalmente conhecido por Ciclooxygenase, e outra que de momento só é conhecida no pulmão, plaquetas e leucócitos polimorfonucleares, envolve um outro tipo de complexo



enzimático, designado por Lipooxigenase. Este último é responsável pelo aparecimento de hidroxiperoxoácidos (Leucotrienos), que têm assumido grande importância a nível biológico, pois actuam como agentes leucotáticos nos focos inflamatórios (Needleman et al, 1986).

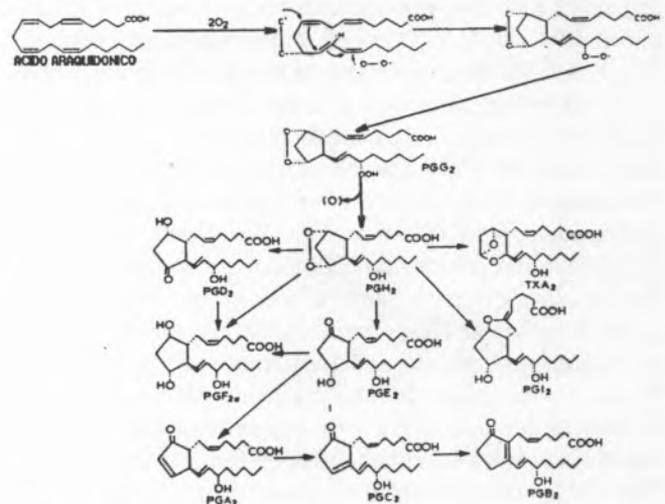
Os efeitos farmacológicos das PGs são muito numerosos e complexos, já que elas intervêm em diferentes pontos do organismo, com funções aparentemente variadas. Os seus efeitos no Homem verificam-se tanto em condições fisiológicas normais (como elementos intermédios dos sistemas de regulação da Homeostase ou como mediadores químicos locais) como no decurso de situações patológicas (Gião T. Rico, 1984). A acção das PGs no Homem e na maior parte dos mamíferos faz-se sentir a nível dos principais aparelhos, nomeadamente o respiratório, digestivo, urinário, reprodutor e circulatório. Não sendo possível, num trabalho desta índole, um estudo aprofundado do papel destes metabolitos a nível de todos eles, iremos apenas abordar alguns aspectos relacionados com a sua influência a nível dos aparelhos circulatório, digestivo e reprodutor.

### Prostaglandinas e o aparelho circulatório

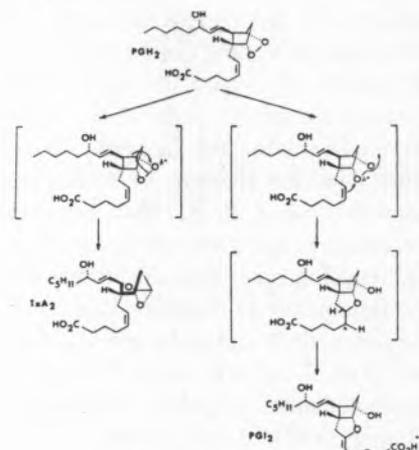
Durante muitos anos acreditou-se que as PGs E<sub>2</sub> e F<sub>2</sub><sup>alfa</sup> também designadas por PGs primárias, seriam os únicos compostos com interesse a nível fisiológico, originados pela metabolização do A.A. (Moncada and Vane, 1979). Contudo nas últimas três décadas começou a estabelecer-se uma interrelação entre os lípidos plasmáticos e a coagulação sanguínea (Kenneth et al, 1983). Na realidade, após a libertação do A.A. nos tecidos, a sua conversão em PGs e TXs, ocorre em duas etapas. A primeira é catalisada pelo complexo enzimático ciclooxigenase, um conjunto de enzimas ligado aos microsomas celulares. Este complexo encontra-se na quase totalidade das células dos mamíferos, e a sua actuação resulta na inserção de duas moléculas de oxigénio, originando o 15-hidroperoxi-9, 11-endoperóxido (PGG<sub>2</sub>). A actividade peroxidásica daquele enzima, promove a redução da PGG<sub>2</sub> a PGH<sub>2</sub> (15-hidroxi-9, 11-endoperóxido) (Samuelson, 1969).

A segunda etapa, envolve enzimas localizados em tecidos específicos e resulta na formação de produtos característicos,

como sejam o Tromboxano A<sub>2</sub> nas plaquetas e a Prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) no endotélio vascular (Hamberg and Samuelson, 1974).



O Tromboxano A<sub>2</sub> e a PGI<sub>2</sub> (Prostaciclina), tal como já foi frisado anteriormente, constituem dois dos principais metabolitos do A.A. a nível do aparelho circulatório (Durão, 1984) e a sua descoberta tardia foi devida à sua instabilidade. TXA<sub>2</sub> apresenta uma semi-vida de 30 segundos à temperatura e pH corporais (37 °C; 7,4), sofrendo em seguida uma hidrólise espontânea, originando um hemiacetal cíclico, o Tromboxano B<sub>2</sub> inactivo.



O TXA<sub>2</sub> tem uma potente acção vasoconstritora e o seu papel torna-se particularmente importante em situações patológicas. No processo da coagulação sanguínea intravascular ou em situações de hemorragia, o fenómeno da agregação plaquetária (capacidade de aglutinação das plaquetas), é um passo decisivo, uma vez que as plaquetas participam na formação de tromboplastina, factor essencial para a transformação do fibrinogénio em fibrina, a qual forma o coágulo sanguíneo (Junqueira and Carneiro, 1971). O facto do TXA<sub>2</sub> estar envolvido em todo este processo levou alguns autores a considerá-lo um composto activo em acidentes cardiovasculares, em que há formação de microtrombos (Frolich and Rosenkranz, 1982).

Em contrapartida, nas células do endotélio vascular a PGH<sub>2</sub> é convertida em Prostaciclina (PGI<sub>2</sub>). Esta apresenta uma semi-vida de 10 minutos ao pH e temperatura corporais. Ao fim desse tempo, sofre uma hidrólise espontânea e transforma-se em 6-ceto PGF<sub>1<sub>alfa</sub></sub>, inactiva. A PGI<sub>2</sub>, ao contrário do TXA<sub>2</sub>, possui potente acção vasodilatadora e antiagregante. Atendendo às acções opostas manifestadas pelo TXA<sub>2</sub> e PGI<sub>2</sub>, explica-se, em parte, a homeostase circulatória manifestada no indivíduo normal, pelo equilíbrio entre estes dois metabolitos do A.A. O efeito antiagregante plaquetar de drogas anti-inflamatórias não esteróides, como por exemplo o ácido acetilsalicílico ou a indometacina, resulta no facto dessas drogas inibirem o complexo enzimático ciclooxygenase impedindo a formação de endoperóxidos, o que implica a diminuição dos produtos finais da metabolização do Ácido Araquidónico - as PGs e os TXs. Em virtude da enorme capacidade das paredes do endotélio vascular para formar Prostaciclina, comparativamente com a capacidade das plaquetas para formar TXA<sub>2</sub>, frente a drogas do tipo da aspirina, levou a que pequenas doses desse fármaco sejam usadas para prevenir a formação do Tromboxano pelas plaquetas, no intuito de diminuir o risco de trombozes e embolias em pacientes com lesões circulatórias (Mcgiff, 1981).

Também ao nível do aparelho digestivo as PGs têm acção importante. As PGs da série E reduzem ou inibem a secreção gástrica, induzida pela ingestão de alimentos, histamina, pentagastrina (Bowman and Rand, 1984). No estômago encontramos PGs da série E,F e a PGI<sub>2</sub>. Embora se tenha discutido se esse efeito era directo sobre as células secretoras ou se resultava de um efeito sobre a circulação local, algumas experiências parecem indicar um efeito directo sobre a secreção. A importância do efeito inibidor da secreção gástrica, provocado pelas PGs, tem sido salientada para realçar as acções ulcerogénicas de diversos fármacos inibidores da síntese das mesmas (Hong and Lopez, 1977). As PGs libertadas no intestino desempenham um papel importante na sua motilidade através do reflexo peristáltico. A administração de PGs «in vivo» produz um aumento do peristaltismo gastrointestinal, que no Homem se traduz por vômitos, diarreias, náuseas (Gião T. Rico, 1984). Esta razão justifica o facto de em clínica pediátrica os anti-inflamatórios clássicos, como a indometacina ou o ácido acetilsalicílico, estarem indicados no tratamento de diarreias, dado serem potentes inibidores da síntese de PGs (Jacoby and Marshall, 1972). Os efeitos da acção de elevadas doses de PGs sobre o intestino humano, são semelhantes aos que se produzem na cólera, o que levou Bennett (1971) a admitir que o vibrião colérico

produziria elevadas concentrações de PGE<sub>1</sub> a nível intestinal.

Também ao nível do aparelho reprodutor o papel das PGs é notório. A complexidade fisiológica do processo de reprodução e o facto das PGs terem sido encontradas em todos os órgãos e fluidos biológicos ligados a este sistema nos primatas e não primatas, levou a que a sua influência fosse estudada a dois níveis: influência sobre os órgãos constituintes desse sistema e influência sobre a actividade hormonal inerente a esse funcionamento (Karim, 1972). A nível da contractilidade do músculo liso há a salientar os ensaios «in vivo» e «in vitro» efectuados sobre a acção das PGs no útero humano; «in vitro» as PGs E provocavam um relaxamento muscular, mais acentuado para a E<sub>1</sub> do que para a E<sub>2</sub>, ao passo que as PGs da série F (F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> alfa), provocavam um efeito estimulante. Em ensaios «in vivo», ambas as séries de PGs provocavam uma estimulação caracterizada por um aumento da frequência contráctil. Farmacologicamente as PGs administradas exogenamente, quer por via sistémica, quer por aplicação tópica vaginal, aumentam a actividade uterina, principalmente ao nível da frequência das contracções (Goodman et al, 1985). Em virtude deste facto, estes compostos têm sido utilizados na indução do parto, ou do aborto, como substituintes da oxitocina (Gião T. Rico, 1984). Em princípio a PG mais utilizada foi a PGF<sub>2<sub>alfa</sub></sub>, mas na espécie humana também a PGE<sub>2</sub> tem um largo uso. Esta última apresenta contudo um maior número de efeitos secundários, como sejam, náuseas, vômitos e diarreias. Também a nível do sistema reprodutor feminino a PGE<sub>2</sub> aparece em elevadas concentrações no fluido menstrual e acredita-se ser ela a responsável pelas contracções uterinas que aí ocorrem, donde o largo emprego dos inibidores da ciclooxygenase na terapêutica da dismenorrea (Bydeman, 1964). As PGs estão igualmente implicadas no processo de transporte de esperma através do canal genital feminino, produzindo a capacitação do espermatozóide para fecundar o óvulo, bem como a sua retenção a nível da trompa para facilitar a sua fecundação (Bowman and Rand, 1984). Apesar do sémen ter sido considerado o fluido biológico em que se encontra um dos teores mais elevados de PGs (Hamberg and Samuelson, 1966) com predomínio para os compostos do tipo E, ainda se desconhecem em parte qual o papel fisiológico que elas desempenham em todo o processo sexual. Alguns autores (Bydeman and Samuelson, 1966) observaram contudo uma interrelação entre a esterilidade masculina sem causas evidentes e níveis anormalmente baixos de PGE no sémen desses indivíduos.

Do que anteriormente ficou dito, poderemos inferir da importância das PGs no organismo humano. O processo de bloqueio da síntese de PGs, por exemplo, através de fármacos anti-inflamatórios não esteróides (por exemplo a Aspirina ou a Indometacina) permitiu que pudessem ser estudadas as funções dos metabolitos do A.A., em situações fisiológicas e patológicas. Ainda, com grande frequência, a inibição de um determinado fenómeno pelos anti-inflamatórios não esteróides, é considerada como prova, embora indirecta, de envolvimento dos metabolitos do A.A., nesse processo.

A partir de 1971 (Smith and Willis, 1971; Ferreira et al, 1971) vários trabalhos foram publicados acerca da actuação de fármacos com características semelhantes às da aspirina. A inibição da produção de Prostanóides, foi explicada por um

bloqueio da acção da enzima Prostaglandina-sintetase, mais vulgarmente designada por ciclooxigenase. A nível molecular a inibição deste enzima, por parte do A.A.S., fica a dever-se à acetilação do grupo serina terminal do enzima, através do estabelecimento de uma forte ligação covalente (Roth and Siok, 1978). A acetilação é irreversível e a acção do fármaco, permanece até que o sistema biológico afectado, seja capaz de regenerar novas moléculas do enzima (Goodman et al, 1985). As plaquetas são especialmente susceptíveis à acção do Aspirina (A.A.S.), pois ao contrário das outras células, elas são incapazes de regenerar a ciclooxigenase, uma vez que apresentam uma pequena capacidade de biosíntese de proteínas. Em termos práticos, isto significa que uma pequena dose terapêutica de aspirina, 40 mg/dia, inibe a ciclooxigenase plaquetária durante a vida das plaquetas (8-11 dias)(Goodman et al, 1985). Este facto tem sido explorado no campo da cardiologia preventiva, já que, tal como referimos anteriormente, diminuindo a agregação plaquetária, diminui-se o risco da formação de trombos. Esta inibição da agregação plaquetária, explica também o efeito, por vezes indesejável, do aumento do tempo de hemorragia, quando os indivíduos são submetidos a tratamentos prolongados com este tipo de fármacos (Goodman et al, 1985).

#### Referências

- ANDERSEN, N., HARTZELL, C. J., BISWANATH, D. (1985). Chemistry and structure of ciclooxigenase derived eicosanoids: a historical perspective. in: *Advances in Prostaglandin, Tromboxane and Leucotriene Research.*, eds. P. E. Pike e D. R. Horton (Raven Press, New York), 14: 1-44.
- BENNETT, A. (1971). Cholera and prostaglandins. *Nature*, 536: 231-238.
- BOWMAN, W. C., RAND, M. J. (1984). *Textbook of Pharmacology* (Blackwell Scientific Publications), 2nd edition.
- BYDEMAN, M., SAMUELSSON, B. (1966). Analyses of Prostaglandins in human semen. *Prostaglandins and related factors. Clin. Chim. Acta*, 13: 465-474.
- DURÃO, V. P. (1984). *Prostaglandinas e hipertensão arterial. Dissertação de Doutoramento, Fac. Medicina Lisboa.*
- EULER, V., S. VON (1933). A depressor substance in the vesicular gland. *J. Physiol. (Lond)*, 84: 21.
- FERREIRA, S. H., MONCADA, S., e VANE, J. R. (1971). Indomethacin and aspirin abolish prostaglandin release from the spleen. *Nature New Biology*, 231: 237-239.
- FROLICH, J. C. e ROSENKRANZ, B. (1982). Role of Prostaglandins in the regulation of blood pressure. in: *Cardiovascular Pharmacology of the Prostaglandin*, eds. A. G. Herman, P. M. Vanhoutte, H. Demolin e A. Goossers (Raven Press, New York), p. 259.
- GIÃO T. RICO, J. M. G. (1984). Prostaglandinas e outros derivados do ácido araquidónico. in: *Terapêutica Medicamentosa e suas bases Farmacológicas*, ed. J. Garrett e W. Osswald, (Porto Editora), p. 424-442.
- GOLDBLATT, M. W. (1933). A Depressor substance in seminal fluid. *J. Soc. Chem. (London)*, 52: 1056-1057.
- GOODMAN, G., A., GOODMAN, L. S., RALL, T. W., MURAD, F. (1985). *The pharmacological basis of therapeutics*. 6th ed., ed. A. Goodman Gilman, L. S. Goodman, T. Rall, F. Murad (Macmillan Publishing Company, New York).
- HANMBERG, M., SAMUELSSON, B. (1966). Prostaglandins in human siminal plasma. *J. Biol. Chem.*, 24-1: 257-263.
- HAMBERG, M., SAMUELSSON, B. (1974). Prostaglandin endoperoxides. Novel transformation of arachidonic acid in human platelets. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 71: 3400-3404.
- HONG, E., LOPEZ, C. (1977). Influence of the route of administration of Prostaglandin E<sub>1</sub> on the rat gastric secretion. *Prostaglandins*, 13: 691-696.
- JACOBY, H. I., MARSHALL, C. H. (1972). Antagonism of cholera enterotoxin by antiinflammatory agents in the rat. *Nature*.
- JUNQUEIRA E CARNEIRO (1971). *Histologia Básica*. (Guanabara Kooogan S. A. - Rio de Janeiro), 2ª edição.
- KARIM, S. M. M. (1972). *The Prostaglandins progress in research*. ed. Medical and Technical Publishing Co Ltd, (Oxford and Lancaster), p. 295-300.
- KENNETH, V. H., WOLF, D. B., SLOANE, B. F. (1983). Prostacyclin and Tromboxanes. *Biochemical Pharmacology*, 32: 1-11.
- KURZROK, K. R., LIEB, G. C. (1930). Biochemical studies of human semen and action of semen on the human uterus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 28: 268-272.
- MCGIFF, J. C. (1981). Prostaglandins, Prostacyclin and Tromboxanes. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicolog.*, 21: 479-509.
- MONCADA, S., VANE, J. R. (1979). Arachidonic acid metabolites and the interactions between platelets and blood vessels walls. *New England J. Med.* 300: 1142-1147.
- MOORE, P. K. (1985). *Prostanoids: pharmacological physiological and clinical relevance*. Cambridge University Press.
- NEEDLEMAN, P., TURK, J., JAKSCHIK, B., MORRISON, A. R., LEFKOWITH, J. (1986). Arachidonic acid metabolism. *Ann. Rev. of Biochem.* 55: 69-102.
- ROTH, G. J., SOIK, C. J. (1978). Acetilation of the NH<sub>2</sub>-terminal serine of Prostaglandin synthetase by aspirin. *J. Biol. Chem.* 253: 3782-3784.
- SAMUELSSON, B. (1969). Biosynthesis of Prostaglandins. *Program. Biochem. Pharmacol.*, 5: 109-128.
- SMITH, J. B., WILLIS, A. L. (1971). Aspirin selectively inhibits prostaglandin production in human platelets. *Nature New Biol.*, 231: 235-237.
- WALLACH, D. A. M., VIVIAN, J. R. B. (1981). Studies on the arachidonic acid-cascade; inhibition of phospholipase A<sub>2</sub> in vitro and in vivo by several novel series of inhibitor compounds. *Biochemical Pharmacol.*, 30: 1315-1324.

### SPQ – QUOTAS

Sócio Efectivo .....	2500\$00
Estudante .....	900\$00

### BOLETIM

Assinatura (4 números) .....	1500\$00 (no país)
.....	US\$ (no estrangeiro)
Número avulso .....	330\$00
.....	(+150\$00 de porte de correio)



# Aplicações da cinética química.

## A estabilidade dos medicamentos

Eduarda Rosa <sup>a</sup>

Eduarda Rosa

*Nasceu em 1949 em Caldas da Rainha. Em 1972 licenciou-se em Farmácia na Faculdade de Farmácia de Lisboa e em 1978 doutorou-se em Química Orgânica no Imperial College of Science and Technology em Londres. Actualmente é Professora Associada do Sub-Grupo de Química Farmacêutica e Fitoquímica da Faculdade de Farmácia de Lisboa. Desde 1985 que é responsável pela Linha 3 do Centro de Estudos de Ciências Farmacêuticas onde se realizam trabalhos de investigação na área da Química Orgânica Física aplicada a substratos com actividade farmacológica. Entre os seus interesses destacam-se o estudo mecanístico de reacções de hidrólise de triazenos com actividade antitumoral, de nitro e nitrosoamidas cancerígenas e de cefalosporinas. Mais recentemente tem-se dedicado ao estudo de mecanismos de oxidação por sistemas biomiméticos de amidas antitumorais.*

Um medicamento é uma associação de um ou mais princípios activos (fármacos) com determinadas acções farmacológicas, e de um ou mais excipientes, geralmente compostos inertes que vão permitir uma forma de dosagem apropriada ao seu uso. Este sistema complexo pode alterar-se como resultado da acção do ambiente (efeito da temperatura, humidade, radiação, oxigénio, ácidos, bases, etc.), ou ainda em resultado da interacção dos seus componentes. O tipo de alteração pode ser químico, quando se formam novos compostos no processo, ou físico quando a perda do princípio activo não originou diferentes produtos químicos (por exemplo comprimidos endurecidos podem não dissolver no organismo, impedindo a libertação do fármaco ou mesmo causando obstrução intestinal).

A degradação química dos princípios activos é a causa mais frequente da instabilidade dos medicamentos. Estes são geralmente moléculas orgânicas que estão sujeitas a reacções químicas. É fundamental saber quando ocorrem essas reacções, em que condições ocorrem e qual a velocidade a que ocorrem, a fim de se poder estabelecer um prazo de validade durante o qual se pode garantir que o princípio activo do medicamento se manterá na dosagem indicada.

O aspecto da manutenção da dose é mais importante do que pode parecer à primeira vista. Existem medicamentos para os quais a diferença entre a dose terapêutica e a dose tóxica é muito pequena sendo muito importante que a forma de dosagem ministre reprodutivamente a mesma quantidade. Um exemplo é a digoxina, um fármaco usado no tratamento dos déficiências cardíacas.

Um outro problema associado com a instabilidade química dos fármacos é a possível formação de produtos tóxicos durante a sua degradação. Neftel e colaboradores estudaram a incidência das reacções alérgicas às injeções intravenosas da penicilina G e verificaram que as soluções degradadas continham produtos mais potentes como antigénios do que as soluções recentes. Além deste são conhecidos muitos outros exemplos de produção tóxicos durante a degradação dos fármacos.

O estudo das reacções que levam à decomposição dos compostos orgânicos com actividade farmacológica recorrerá fundamentalmente à Análise Orgânica e à Química Orgânica Física. Em primeiro lugar é preciso desenvolver um método de determinação quantitativa do composto activo e/ou dos seus produtos de degradação. Seguidamente é necessário

<sup>a</sup> Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Av. das Forças Armadas, 1600 Lisboa.

estudar a cinética da reacção e todos os factores que a podem influenciar, a fim de se poder compreender o mecanismo da degradação. Este estudo permite ao Químico contribuir para que se encontre a melhor formulação para o princípio activo, isto é, quais os excipientes a usar, quais os aditivos protectores, quais as condições de empacotamento e armazenagem ideais para a manutenção da integridade do medicamento.

### Degradação Química

Apesar do grande número de reacções químicas possíveis que podem levar à degradação dos medicamentos, a maioria das que ocorrem são hidrólises e/ou oxidações. Em parte isto é consequência da natureza dos grupos funcionais mais comuns presentes nos compostos com actividade farmacológica e da ocorrência ubíqua da água e do oxigénio.

#### Hidrólise

Muitos fármacos possuem funções químicas que podem sofrer o ataque da água. Ésteres (aspirina), lactonas (pilocarpina), amidas (cloranfenicol), ureídios (barbituratos) são exemplos de grupos funcionais frequentemente presentes e que por ataque da água sofrem a cisão da molécula ou a abertura do ciclo conduzindo à perda da sua actividade farmacológica (Figura 1).

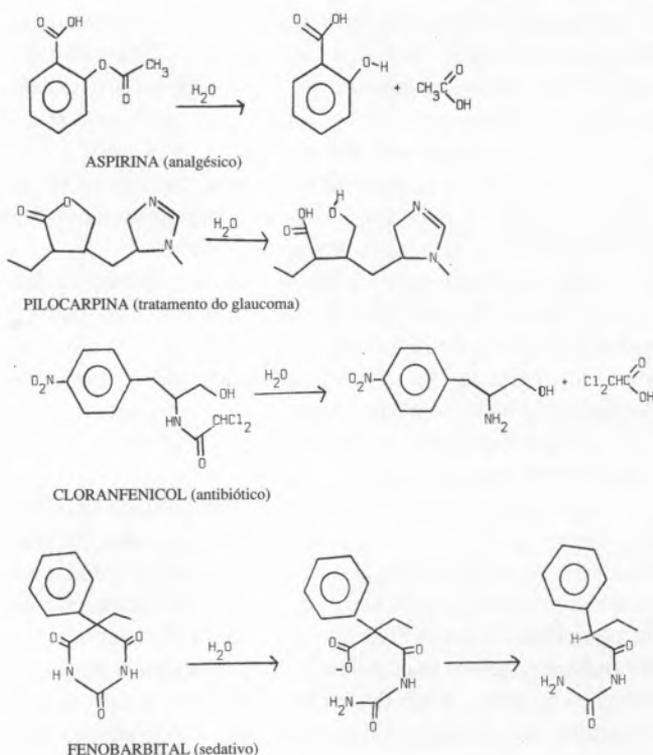
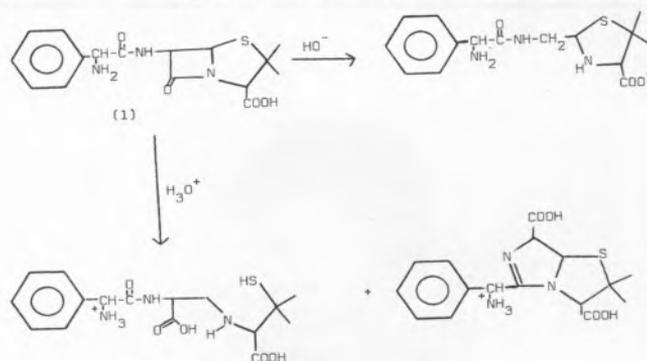


FIGURA 1  
Reacções de hidrólise de alguns fármacos

Como é bem conhecido pelos Químicos Orgânicos as reacções de hidrólise sofrem catálise ácido-base. Assim, quando este tipo de compostos se encontram em soluções aquosas as suas hidrólises podem ser catalisadas apenas pelo ião hidróxido (catálise básica específica) ou por todas as bases presentes em solução (catálise básica geral), e por ácidos (catálise

ácida específica ou geral). As hidrólises podem ainda ser catalisadas por iões metálicos e sofrer a influência da polaridade do meio e da força iónica. Todos estes factores têm de ser considerados a fim de se determinarem as condições de formulação, empacotamento e armazenamento do fármaco. Os antibióticos-lactâmicos, como as penicilinas e as cefalosporinas, usados no tratamento de muitos tipos de doenças infecciosas, são muito facilmente hidrolizáveis. Vejamos como exemplo o estudo da hidrólise da ampicilina (1), uma penicilina de largo espectro antibacteriano (Esquema 1).



ESQUEMA 1  
Hidrólise da ampicilina

A pH, força iónica e temperatura constantes, a degradação da ampicilina segue uma cinética de primeira ordem em relação ao substrato (S).

$$-dS / dt = K_{obs} S$$

Verificou-se que os valores das constantes de velocidade observadas ( $K_{obs}$ ) eram dependentes das concentrações dos tampões utilizados. Na Figura 2 mostram-se os resultados obtidos com o tampão citrato a vários valores de pH que sugerem tratar-se de uma catálise geral.

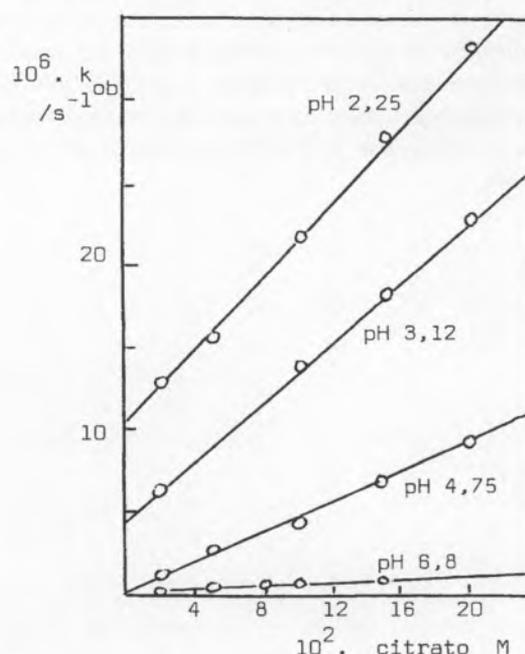


FIGURA 2  
Efeito da concentração de tampão citrato nas constantes de velocidade ( $K_{obs}$ ) da ampicilina à temperatura de 35 °C

O tampão citrato e o tampão fosfato são muitas vezes utilizados em preparações farmacêuticas líquidas para ajustar o pH, e é portanto essencial verificar se a velocidade da reacção é influenciada pela sua concentração. Em resultado do estudo de uma gama de tampões de vários valores de pH, e utilizando os valores de  $k_{obs}$  extrapolados para uma concentração de tampão zero, construiu-se o perfil de pH-velocidade (Figura 3) que indica qual o pH no qual a ampicilina tem estabilidade máxima.

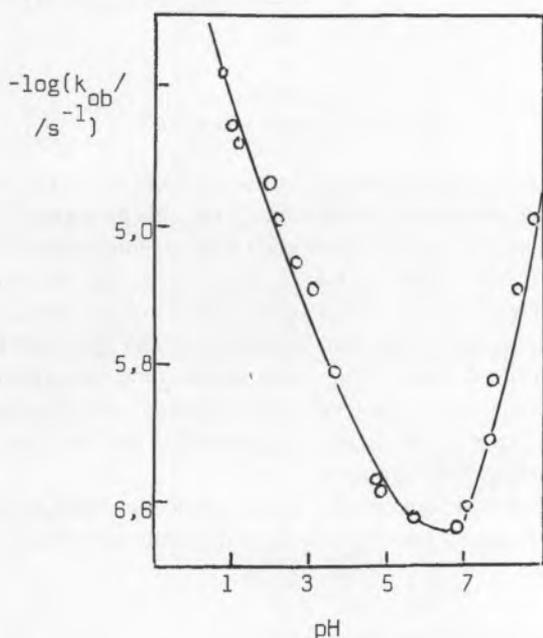


FIGURA 3

Perfil do pH-velocidade para a hidrólise da ampicilina à temperatura de 35 °C

A grande sensibilidade da ampicilina à hidrólise vai determinar o modo da sua formulação. Mesmo em fórmulas farmacêuticas sólidas, como os comprimidos e as cápsulas, é necessário levar os níveis de humidade ao mínimo, pois são possíveis reacções hidrolíticas no estado sólido. Quando é necessário o uso de uma solução, esta só é feita no momento da administração. Assim nas fórmulas injectáveis o veículo aquoso vem separado do composto no estado sólido. As suspensões orais, fórmulas frequentemente destinadas a crianças, são preparadas na altura da venda por adição de água. O uso de suspensões em vez de soluções destina-se também a dificultar a reacção de hidrólise. Mesmo assim estas preparações têm um pequeno prazo de validade (8-15 dias) e é recomendado que se conservem no frigorífico.

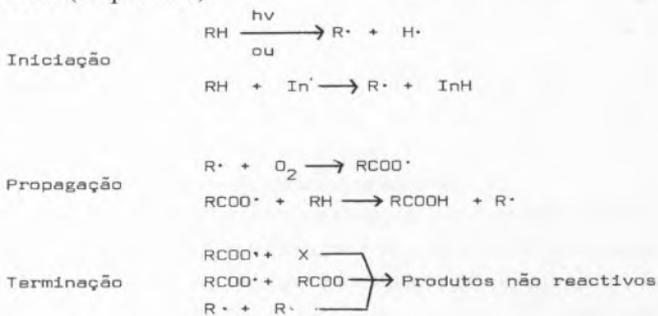
No caso de compostos que se hidrolizam mais dificilmente, como por exemplo as amidas, por vezes é possível produzir fórmulas líquidas relativamente estáveis através do controle do pH do meio ou por adição de um solvente alcoólico em substituição da água.

### Oxidação

As reacções de oxidação mais comuns em preparações farmacêuticas são reacções com o oxigénio atmosférico, vulgarmente chamadas auto-oxidações. São geralmente reacções complexas envolvendo radicais livres.

Os radicais necessários à iniciação da reacção de oxidação

são geralmente formados por clivagem homolítica, promovida pelo calor, luz ou por um processo de oxi-redução envolvendo transferências de um electrão. Esses radicais reagem muito rapidamente com o oxigénio molecular formando peróxidos, que podem reagir formando outros radicais. O passo final ocorre quando os radicais reagem com outros compostos ou entre si formando moléculas não reactivas (Esquema 2).



### ESQUEMA 2

Reacções de auto-oxidação

Muitos fármacos contêm grupos funcionais que podem estar sujeitos à oxidação, como por exemplo os fenóis, catecóis, éteres e tioéteres. Na Figura 4 dão-se exemplos de reacções de oxidação de alguns medicamentos.

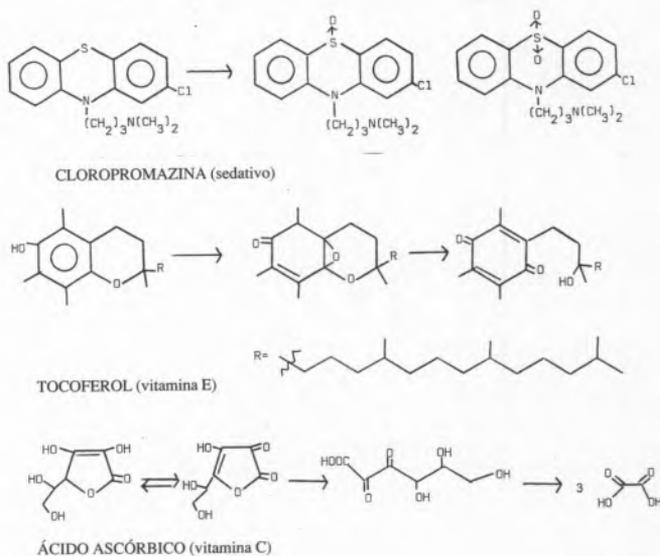


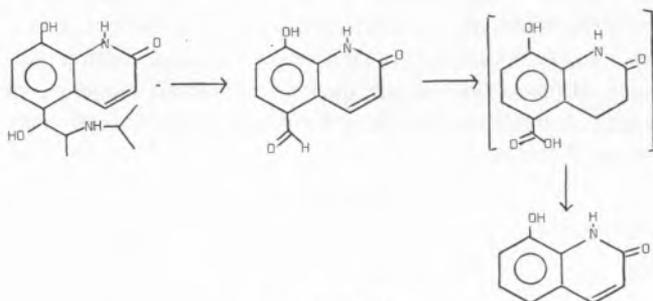
FIGURA 4

Reacções de oxidação de alguns fármacos

A reprodutibilidade dos processos oxidativos é difícil devido à sua complexidade e ao facto de eles serem catalisados pela luz, presença de traços de metais e outras impurezas que possam promover a formação de radicais. Em consequência o estudo dos seus mecanismos é também difícil. Os resultados apresentados na literatura são muitas vezes apenas qualitativos e em muitos casos os produtos de oxidação nem sequer estão identificados.

A auto-oxidação do procaterol (2), uma amina simpaticomimética com acção broncodilatadora, foi recentemente estudada. Os autores verificaram que uma solução aquosa de procaterol em ampolas fechadas, à temperatura de 37 °C durante 18 dias, mostrava 67,8% de degradação. Ampolas semelhantes em condições idênticas mas nas quais o ar foi

substituído por azoto, apresentavam apenas 11,2% de degradação (Esquema 3).



ESQUEMA 3

Auto-oxidação do procaterol

Testes deste tipo são frequentemente usados para decidir se a degradação se deve à presença de oxigénio. Determinando a concentração do procaterol remanescente por um método de hplc, foi possível estudar a velocidade da reacção e verificar que ela era catalisada pelo ião hidróxido e pelo ião  $Fe^{3+}$  (Figura 5). Como resultado deste estudo os autores preconizam a minimização da exposição ao oxigénio durante o fabrico e o uso de meio tão ácido quanto possível. Recomendam ainda que em formulações líquidas os materiais sejam testados para a presença de metais.

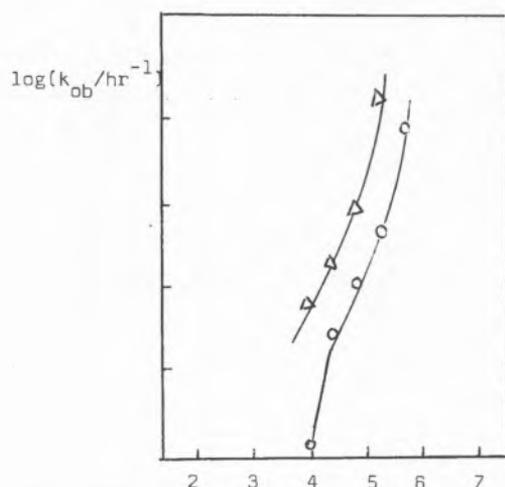


FIGURA 5

Perfil pH-velocidade para a auto-oxidação do procaterol à temperatura de 80 °C. ( $\Delta$ ) na presença de  $Fe^{3+}$  (2  $\mu$ g/ml); (O) na ausência de  $Fe^{3+}$

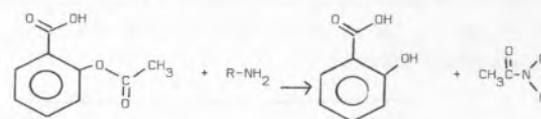
A estratégia a seguir para evitar a autooxidação envolve na maioria dos casos a protecção contra os catalisadores da reacção. A luz pode ser excluída por intermédio de embalagens opacas. A acção dos iões metálicos pode ser evitada por adição de um agente quelante (EDTA, ácido cítrico, glicerina, etc.). A adição de um antioxidante, material que actua por ser mais facilmente oxidado do que o composto que está a proteger, é outra das estratégias seguidas.

### Incompatibilidades

São conhecidos muitos casos de interacções químicas entre os fármacos componentes de um medicamento. Além dos princípios activos, estão presentes nas formulações farmacêuticas muitos outros materiais. Estes podem ser corantes,

aromatizantes, adoçantes, emulsificantes, etc. Também estes poderão reagir com certos fármacos.

A aspirina traz muitos problemas de incompatibilidades devido ao facto de ser um bom agente acetilante. Quando em presença de outros fármacos contendo a função amina ela pode transferir o seu grupo acetil (Esquema 4).



ESQUEMA 4

Acetilação de aminas pela aspirina

Várias tentativas foram efectuadas para encontrar um solvente que permitisse uma formulação líquida para a aspirina. Visto que não é estável em solução aquosa foram experimentados alcoóis como o etanol, propilenoglicol, glicerina, polietilenoglicol, etc. Verificou-se que o uso deste último era impraticável pois a aspirina acetilava os seus grupos OH. O bissulfito de sódio é por vezes usado como antioxidante. No entanto é sabido que conduz à alteração de certos fármacos. Um exemplo é a racemização da epinefrina que leva à perda da sua actividade biológica.

A velocidade de degradação das penicilinas e cefalosporinas é aumentada na presença de açúcares como a dextrose e a sacarose.

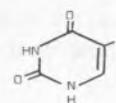
### Efeito da temperatura.

#### Estudos acelerados da estabilidade

É importante notar que as condições em que se dão as reacções de degradação dos medicamentos são geralmente a temperatura ambiente e às vezes mesmo as temperaturas frigoríficas. E que a duração destas reacções é dada em termos de meses ou anos e não de horas ou dias como acontece em reacções orgânicas de síntese.

O estudo do efeito da temperatura nas constantes de velocidade destas reacções tem normalmente não só o objectivo de determinar qual a melhor temperatura de armazenagem do produto, mas também permite fazer um estudo acelerado da velocidade. Estudando a reacção a temperaturas altas, nas quais a reacção se dá mais rapidamente, e usando a equação de Arrhenius, é possível por extrapolação, obter valores estimados das constantes de velocidade à temperatura ambiente.

A decomposição do 5-fluorouracilo (3), fármaco usado na quimioterapia do cancro, foi estudada a várias temperaturas.



(3)

Com os resultados obtidos contruiu-se o gráfico de Arrhenius que se mostra na Figura 6 a partir do qual se obteve por extrapolação o valor da constante de velocidade a 25 °C ( $k_{25}=1,38 \cdot 10^{-9} s^{-1}$ ). Este valor permitiu calcular o tempo necessário para que 10% do composto se degrade ( $t_{90}=7,6 \cdot 10^7 s=2,4$  anos).

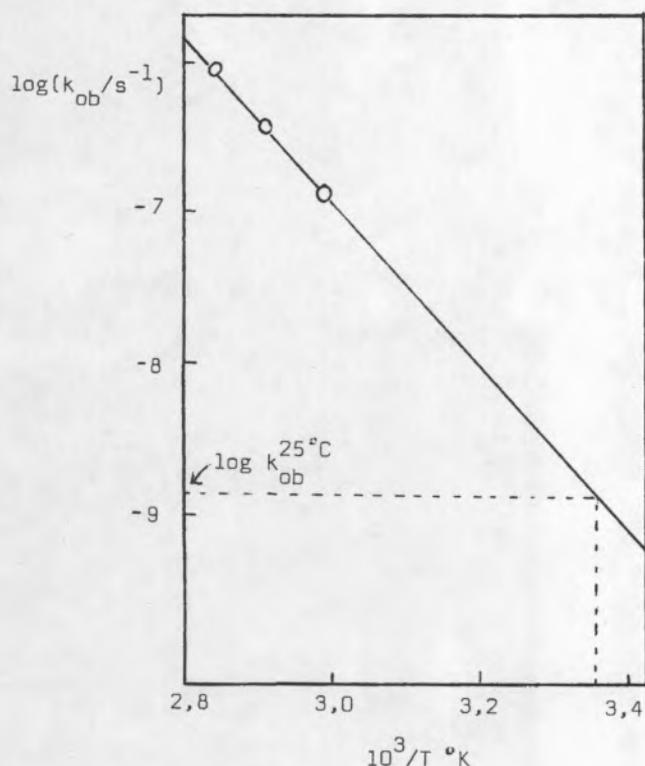


FIGURA 6

Gráfico de Arrhenius para a decomposição do 5-fluorouracilo

A utilidade da equação de Arrhenius depende da sensibilidade da reacção à temperatura, só sendo útil quando o valor da energia de activação for elevado. Mesmo nesses casos está sujeita a muitas limitações. Assume-se a linearidade do efeito da temperatura, o que nem sempre pode acontecer. Pode dar-se uma mudança do mecanismo da reacção com a temperatura ou uma simples mudança das condições em que a reacção é levada a cabo devido a factores como por exemplo a evaporação de solventes a alta temperatura, modificação da humidade relativa e da solubilidade do oxigénio.

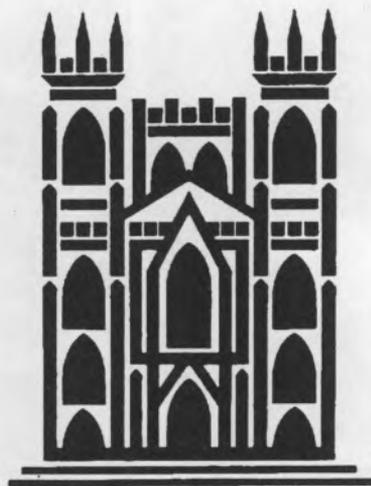
### Conclusão

A vastidão do tema traz como consequência que a matéria exposta neste artigo seja necessariamente limitada. Note-se que foram referidas apenas reacções químicas em solução. No entanto a maioria das fórmulas farmacêuticas são sólidas. Os resultados obtidos em solução dificilmente nos permitem tirar conclusões sobre as reacções que se podem dar nas fórmulas sólidas. Consideremos por exemplo o caso da hidrólise. De facto é difícil excluir completamente a água. Por exemplo, no caso dos comprimidos, esta está geralmente presente numa percentagem de cerca de 2% w/w, o que é necessário para facilitar uma boa compressão. Esta água pode promover reacções de hidrólise na superfície do cristal, ou reacções entre o princípio activo e os excipientes, que se encontrarão em soluções saturadas. Estas soluções saturadas poderão em certos casos ter valores de pH e de força iónica muito diferentes das soluções diluídas.

O estudo da degradação de um fármaco, por si só ou nas várias formulações em que é apresentado pode ser um problema químico complexo. Especialmente no que respeita a reacções de oxidação-redução e a reacções em preparações sólidas existem ainda muitos desses problemas que não estão ainda completamente esclarecidos e para a sua resolução é fundamental a contribuição dos químicos.

### Referências

- K.A. Connors, G.L. Amodon e L. Kennon. «Chemical Stability of Pharmaceuticals», John Wiley, New York, 1978.
- Ed. J.T. Carstensen and C.T. Rhodes, «Expiration dating for pharmaceuticals», *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 10(8,9), 1984.
- W. Grimm, «Stability Testing of Drug Products», Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1987.
- L. Lachman, P. Deluca and M.J. Akers, in «The Theory and Practice of Industrial Pharmacy», 3. Edition, Lea and Febiger, Philadelphia, 1986.
- J.I. Wells, «Pharmaceutical Preformulation, the physicochemical properties of drug substances», Ellis Horwood Ltd., John Wiley, New York, 1988.
- J.P. Hou, J. W. Poole, *J. Pharm. Sciences*, 58(4), 1969, 447.
- T. Chen, L. Chafetz, *J. Pharm. Sciences*, 76(9), 1987, 703.
- K.A. Neftel, et al., *Lancet*, 1982, 986.



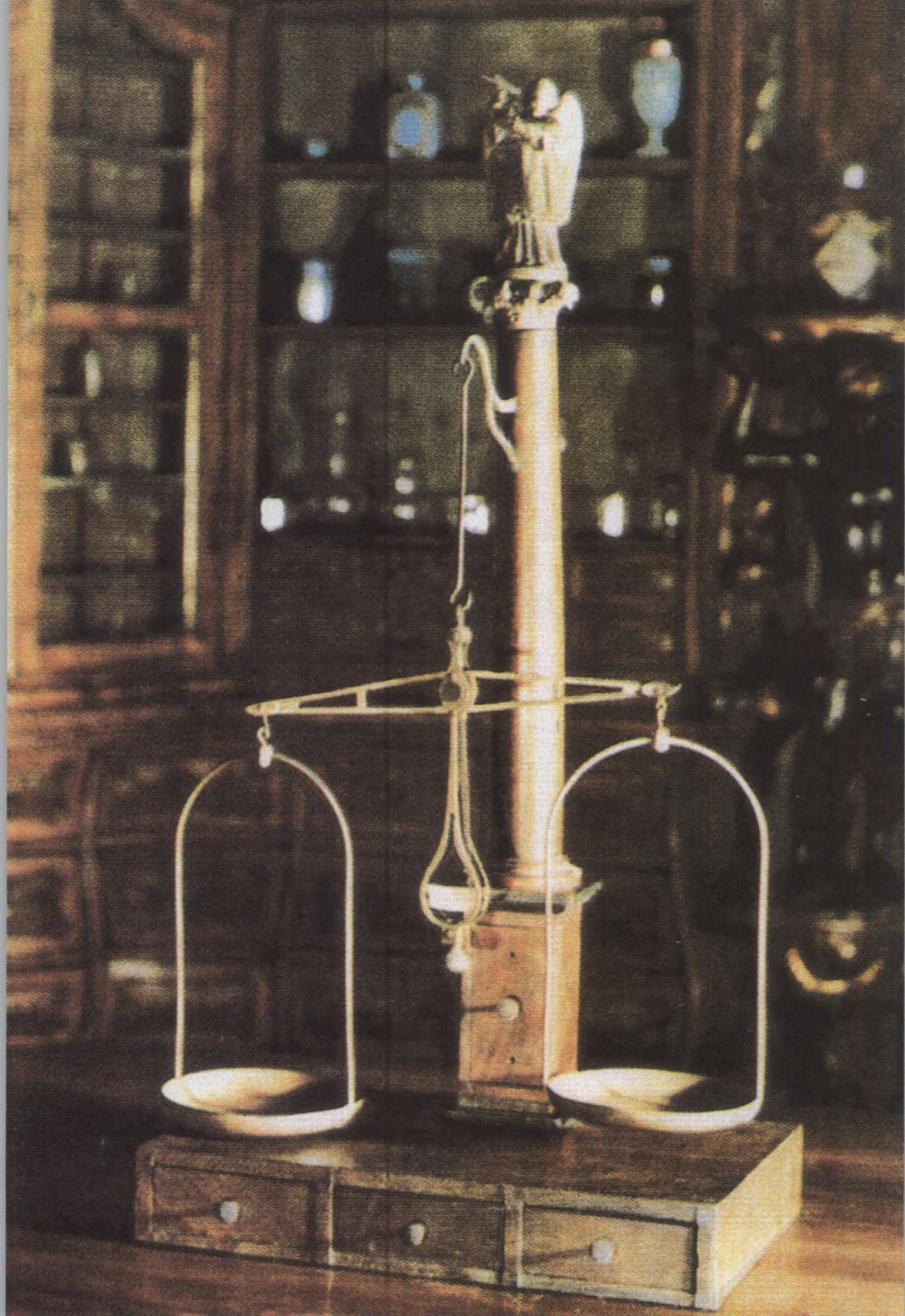
## 4th European Conference on the Spectroscopy of Biological Molecules

1-6 September 1991

ECSBM '91

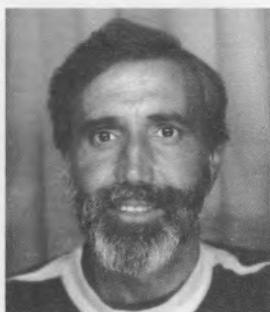
UNIVERSITY  
OF  
YORK

ENGLAND



# Farmacocinética

José Augusto Guimarães Morais <sup>a</sup>



José Augusto  
Guimarães Morais

Licenciado em Farmácia pela Universidade de Lisboa em 1972.

«Master of Sciences in Pharmaceutics» pela Universidade de Michigan, 1978; «Doctor of Philosophy in Pharmaceutical Chemistry» pela Universidade de Michigan, 1980, grau que foi equiparado ao de Doutor em Farmácia (Biofarmácia) pela Universidade de Lisboa em 1981. Colaborou como Professor Auxiliar convidado da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa de 1981 até 1989, ano em que passou a Professor Associado em exclusividade do 3º Grupo (Ciências Farmacêuticas) daquela Faculdade. Tem sido responsável das disciplinas de Farmacoterapia I e II e Análises Biotóxicológicas. O seu interesse tem-se centrado no domínio da Farmacocinética, particularmente nas suas aplicações biofarmacêuticas e clínicas e no metabolismo de fármacos. A sua tese de doutoramento e alguns trabalhos que orientam utilizam hepatócitos isolados de rato como modelo experimental. Tem-se dedicado igualmente ao Controlo de Qualidade de Medicamentos e, pelas funções oficiais que desempenhou no Instituto Nacional de Saúde «Dr. Ricardo Jorge» (1972-1989), tem feito parte, como perito, da delegação portuguesa ao Comité de Especialidades Farmacêuticas da CEE. É consultor Técnico da Comissão Técnica dos Novos Medicamentos, a funcionar no âmbito da Direcção-Geral de Assuntos Farmacêuticos.

## Introdução

A acumulação de conhecimentos conduz ao alargamento da ciência em especialidades e sub-especialidades. O aparecimento destas e a sua individualização em ramos independentes estão condicionados à existência de tecnologia aplicável ao seu método experimental e a um conjunto de outros factores de natureza diversa, entre os quais avultam, também, os económicos.

Num passado não muito longínquo, antes da explosão recente das ciências da vida, o conhecimento imperfeito sobre o modo de acção dos fármacos não permitia que os Farmacologistas distinguíssem as diferentes fases envolvidas no processo que decorre entre a administração de um medicamento (substância com actividade biológica incorporada numa forma farmacêutica) e o seu efeito final: a cura ou o restabelecimento da normalidade estrutural e funcional do organismo (Figura 1).

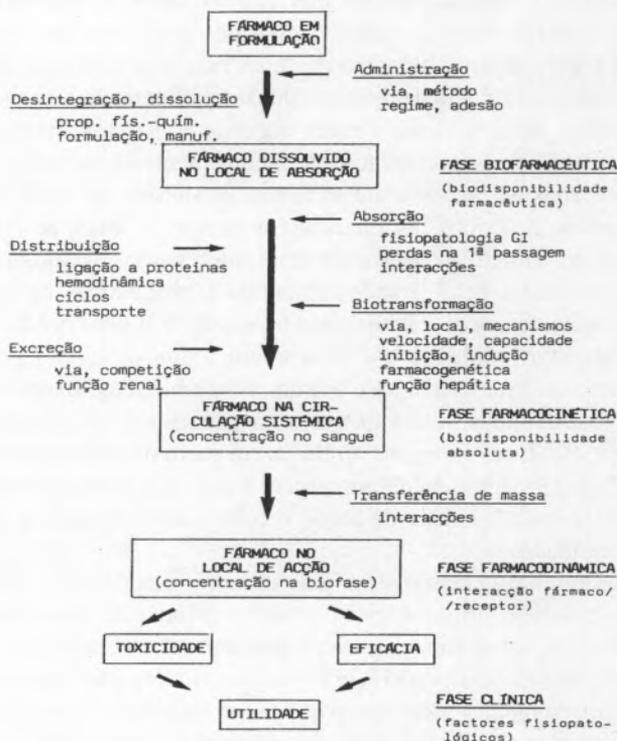


FIGURA 1

Fases do trajecto de um fármaco pelo organismo, fenómenos subjacentes e ramos das Ciências Farmacológicas que lhes correspondem.

<sup>a</sup> Faculdade de Farmácia, Av. das Forças Armadas - 1600 LISBOA

Entre as diferentes fases deste processo há que distinguir sobretudo a farmacocinética – conjunto de processos a que o fármaco fica submetido no seu trajecto pelo organismo – e a farmacodinâmica – conjunto de processos biológicos desencadeados pelo fármaco na sequência da sua ligação a um receptor.

Na sua formulação mais simples, a Farmacocinética ocupa-se do estudo da *absorção* – entrada do fármaco na circulação sistémica por diferentes vias – da *distribuição* do fármaco pelos diferentes órgãos e tecidos e da sua *eliminação* por biotransformação e/ou excreção, estas também por diferentes vias e mecanismos. Mas como a cinética se ocupa da descrição, interpretação e previsão de ocorrência de fenómenos ao longo do tempo, também os fenómenos que tradicionalmente são objecto da Farmacodinâmica (a ligação ao receptor e as modificações fisiológicas daí decorrentes) podem ser objecto de uma abordagem cinética.

### Antecedentes

É indiscutível a importância que os medicamentos adquiriram para a sociedade actual, sobretudo a partir do 1º quartel deste século. A disponibilidade em medicamentos para o tratamento e alívio da maior parte das doenças tem como base o grande desenvolvimento das ciências farmacológicas no fim do século XIX com Schmiedeberg, Abel e Ehrlich, este responsável pelo início da quimioterapia e pela teoria dos receptores, base da Farmacologia moderna. No entanto, a Farmacocinética só se desenvolve como ciência independente a partir dos anos 60, apesar de, na sequência dos trabalhos de Widmark, Gehlen, Dominguez e Teorell nos anos 30, ter surgido no final dos anos 40 o primeiro texto e o primeiro emprego do termo, ambos da autoria de Dost.

O grande desenvolvimento dos anos 60 e a proliferação de trabalhos de cinética nos anos 70/80 tem origem em diversas causas, entre as quais a mais importante está associada à produção e comercialização de medicamentos genéricos.

Nos anos 60 proliferaram as firmas produtoras de medicamentos genéricos, as quais aproveitaram o facto de um grande número de moléculas com interesse farmacológico (sintetizadas pelas grandes empresas farmacêuticas na sequência do esforço industrial subsequente à II Guerra Mundial) irem perdendo por essa altura a sua protecção por patentes. Estão nesse caso hormonas, antibióticos, analgésicos, sulfamidas, anti-diabéticos orais, antipsicóticos, diuréticos, etc. Estes fármacos ainda fazem parte do arsenal terapêutico moderno ou deram origem a análogos estruturais de maior especificidade de acção e com menor incidência de toxicidade.

Predominava então o princípio químico-mecanicista de que a actividade farmacológica e o uso terapêutico de diferentes formulações de um mesmo componente activo eram idênticos. De facto assim não é, uma vez que a incorporação de um fármaco numa forma farmacêutica vai introduzir alterações às suas características cinéticas, particularmente no que diz respeito à velocidade de absorção, o que pode ter reflexos na fracção de uma dose de fármaco que atinge a circulação sanguínea e, conseqüentemente, a biofase ou região circunvizinha do local de acção. Este facto constitui a base do conceito de biodisponibilidade, cuja determinação por meio

de estudos apropriados *in vivo* e previsibilidade por ensaios *in vitro*, mais simples, é obrigatória para novos medicamentos contendo uma substância activa cuja produção tenha caído no domínio público. A demonstração de bioequivalência, assim exigida, passa por estudos baseados na comparação da cinética de concentrações sanguíneas de fármacos administrados sob diferentes formulações galénicas (Figura 2).

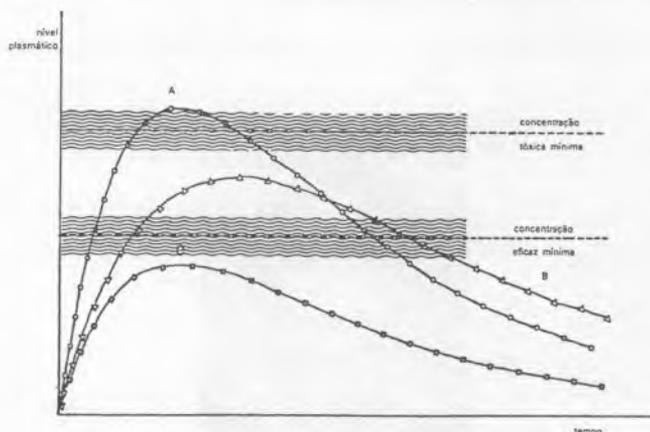


FIGURA 2

Níveis plasmáticos de três formulações do mesmo componente activo, com diferentes biodisponibilidades, e sua relação com a zona de segurança terapêutica cujos limites são propositadamente representados de forma difusa a fim de ilustrar a variabilidade intra e inter-individual na resposta a uma mesma concentração no local de acção.

O controlo de qualidade que decorre desta prática exige a interpretação quantitativa dos fenómenos biológicos que presidem ao destino dos fármacos no organismo, que são o objecto de estudo da Farmacocinética. Os enormes interesses económicos em jogo na comercialização de novos produtos e a sua protecção por patentes e a tentativa de manutenção da exclusividade de comercialização após a sua caducidade, levou a indústria farmacêutica a apoiar o desenvolvimento destes estudos.

Por outro lado, contribuíram também para o desenvolvimento da Farmacocinética a evolução das ciências farmacológicas em geral e a necessidade de proteger os doentes dos efeitos adversos de medicamentos cada vez mais potentes e com menor margem de segurança, através da determinação de níveis plasmáticos dos fármacos administrados que permita corrigir a variabilidade intra e inter-individual inerente à natureza biológica dos processos de ADME (Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção). Por exemplo, a posologia de um aminoglicosídeo (gentamicina, estreptomicina), grupo de fármacos com elevada prevalência de nefro e ototoxicidade e estreita margem terapêutica é, em geral, ajustada de acordo com os valores das suas concentrações no soro sanguíneo dos doentes a quem é administrada, uma vez que estas estão dependentes da funcionalidade renal, única via de eliminação destes fármacos.

Finalmente, a evolução recente no campo da química analítica instrumental permitiu a aplicação de métodos de elevada sensibilidade e selectividade à determinação de fármacos em quantidades reduzidas (da ordem de nanogramas ou picogramas) em matrizes biológicas complexas (sangue ou urina) na presença de inúmeros interferentes.

**Conceitos**

A introdução de um fármaco no organismo tem por objectivo fazer com que chegue ao local de acção em concentração suficiente para produzir um efeito terapêutico sem causar efeitos indesejáveis, e isto durante o tempo necessário para a cura completa. Com excepção da via intra-venosa ou da aplicação directa no local de acção por via tópica (p. ex., colírio para uma infecção ocular), esta introdução envolve a passagem de uma ou mais barreiras biológicas, em geral membranas ou epitélios (absorção). Uma vez na circulação, o fármaco vai distribuir-se pelos diferentes órgãos, tecidos ou outros compartimentos fisiológicos de acordo com a afinidade mútua e a velocidade de irrigação daqueles. Por esse facto o fármaco fica sujeito ao destino das substâncias endógenas: participar nas diversas vias de biotransformação e excreção. No final, apenas uma fracção da dose administrada sobrevive a estes processos e eventualmente atinge o seu local de acção, mais ou menos acessível de acordo com a sua localização. São evidentes a dependência desta quantidade com o tempo e a analogia com alguns princípios da mecânica de fluidos que fizeram com que as primeiras descrições da cinética de fármacos considerasse o organismo como uma série de compartimentos entre os quais se processam fenómenos de transferência de massa. Estes fenómenos são regidos por equações que traduzem a dependência de concentrações nos diversos compartimentos com o tempo. A existência de correlações entre essas concentrações e os efeitos farmacológicos é um pressuposto à validade desta abordagem, o que é confirmado na prática. Este modelo compartimental, do qual a forma mais simples é a que consiste em considerar todo o organismo como um único compartimento, permite condensar a informação contida em curvas de concentração em função do tempo num pequeno número de parâmetros que caracterizam o comportamento de um fármaco na sua interacção com um sistema biológico (Figura 3).

Estes parâmetros reflectem o comportamento em relação à distribuição (volume de distribuição, conceito intuitivo, mas cuja definição rigorosa encontra dificuldades interpretativas) e a eliminação (constante de velocidade de eliminação, semi-vida e tempo médio de residência). A depuração ou a «clearance» reflecte simultaneamente o volume e constante de eliminação. Quanto à absorção, uma vez que depende da via de administração e da manipulação galénica a que as formas farmacêuticas estão sujeitas, o seu parâmetro definidor – constante de velocidade de absorção, por exemplo – não é considerado intrínseco ao sistema fármaco/organismo. A abordagem compartimental, embora mais utilizada, tem limitações de rigor descritivo para as quais têm sido apontadas formulações alternativas: modelos fisiológicos, modelos não compartimentais e modelos estocásticos, entre outros. A disponibilidade de computadores permite uma grande sofisticação na determinação rigorosa dos parâmetros significativos para cada tipo de modelo.

**Aplicações**

Pelo exposto, torna-se evidente que a caracterização do comportamento de um novo fármaco no organismo humano, apoiada em estudos pré-clínicos e clínicos durante as diferentes fases de desenvolvimento, constitui informação indispensável ao seu ulterior uso terapêutico. Essa caracterização inclui estudos durante os quais, além das diferentes vias e mecanismos de ADME específicos do fármaco, são estudados os modelos e respectivos parâmetros farmacocinéticos mais adequados.

Com base nesta aplicação fundamental, desenvolvem-se as recomendações de uso do fármaco, particularmente no que diz respeito à posologia, i.e., o estabelecimento da dose e do intervalo de administração em relação com os valores de concentração plasmática para os quais se observa o início da actividade terapêutica ou de toxicidade indesejável. Estas

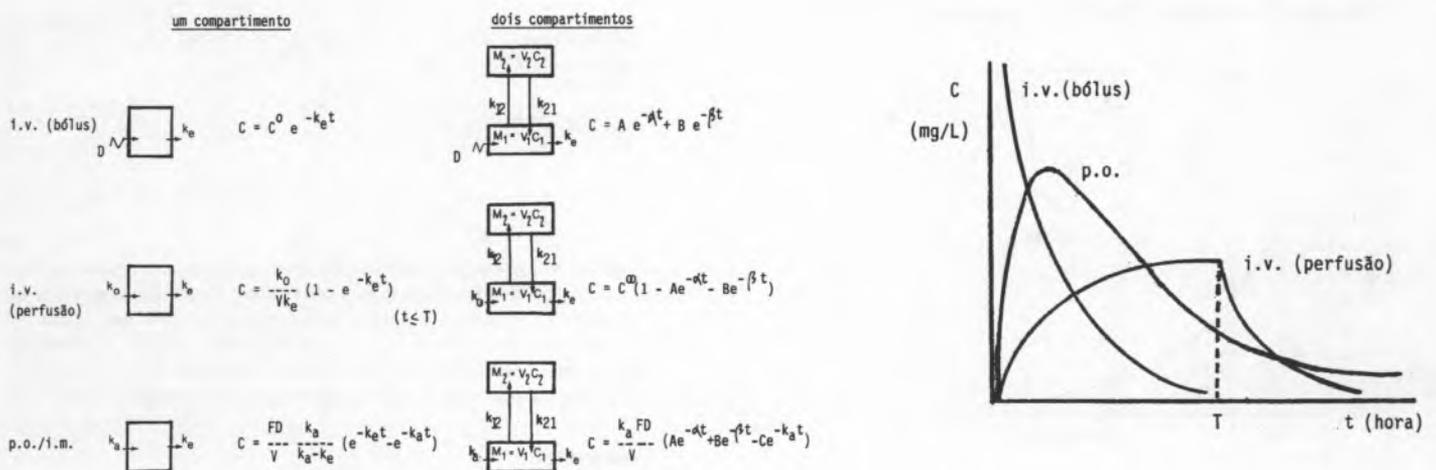


FIGURA 3  
Esquemas, equações e curvas dos modelos de 1 e 2 compartimentos quando a dose é administrada uma só vez (dose única) por vias intravenosa (bólus e perfusão i.v.) e oral ou intra-muscular (p.o. e i.m.).

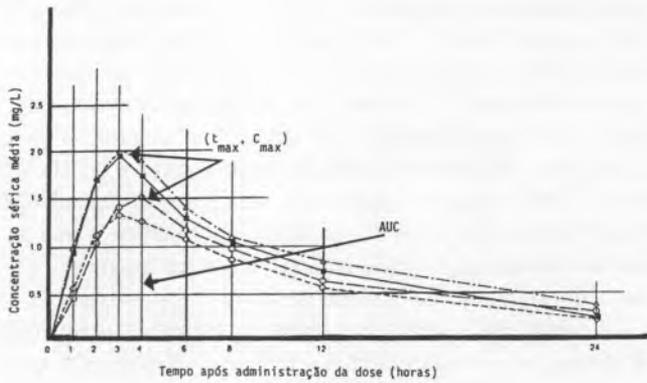


FIGURA 4

Exemplo de curvas concentração/tempo resultantes de um estudo de biodisponibilidade relativa, com 4 formulações. Assinalados os parâmetros mais importantes:  $C_{max}$ ,  $t_{max}$  (valor máximo da concentração e tempo respectivo) e AUC (Área sob a curva).

recomendações têm em conta o facto de o fármaco ser normalmente administrado em regime de doses múltiplas de que resulta uma acumulação no organismo, que se traduz no aumento de concentrações plasmáticas até um valor limite que se atinge quando se estabelece um estado estacionário em relação à absorção e eliminação (Figura 4).

A variabilidade de resposta farmacocinética em relação com a resposta farmacodinâmica (relação, por exemplo, entre as concentrações efectivamente atingidas no plasma sanguíneo, medidas por rotina em laboratórios especializados e apenas para um certo número de fármacos – anti-epilépticos aminoglicosídeos, teofilina, digoxina, lítio, etc. e as concentrações terapêuticas) exige correcções e ajustamentos hoje utilizados na prática clínica. Este constitui um dos grandes domínios de aplicação da Farmacocinética Clínica.

O outro grande domínio é o dos estudos de bioequivalência, já referidos, os quais se baseiam na determinação de parâmetros cinéticos definidores da biodisponibilidade de um fármaco em diferentes formulações galénicas administradas a voluntários saudáveis, em cujo plasma sanguíneo é determinada a concentração do fármaco, a intervalos de tempo determinados. Da comparação dos perfis plasmáticos obtidos para

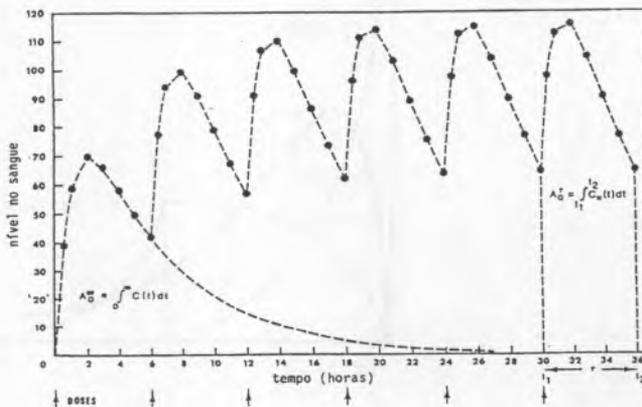


FIGURA 5

Concentrações obtidas após a administração múltipla de um fármaco e sua relação com a margem de segurança. No estado estacionário, cada curva correspondente a uma dose repete a anterior, em cada intervalo de administração ( ), permitindo definir concentrações mínimas, médias e máximas constantes dadas pelas equações representadas.

cada medicamento e dos parâmetros cinéticos deles derivados resulta a decisão de bioequivalência ou bioinequivalência baseada em critérios estatísticos destinados a eliminar a variabilidade residual da experiência (Figura 5).

Cabe ainda uma referência aos diferentes sistemas terapêuticos cujo objectivo é, fundamentalmente, corrigir características cinéticas indesejáveis dos fármacos – má absorção, destruição pré-sistémica devida ao efeito de primeira passagem hepática durante a absorção oral (Figura 6), distribuição não específica ao local de acção, eliminação demasiado rápida ou demasiado lenta. Estes sistemas vão desde a tentativa de direccionar o fármaco especificamente para o órgão-alvo (conceito de «bala mágica»), até à simples perfusão endovenosa (ou sua simulação por sistemas de libertação controlada) em que se pretende manter concentrações plasmáticas estacionárias através da introdução do fármaco na circulação a uma velocidade constante, ou ainda à utilização de pós-fármacos – precursores metabólicos da espécie activa, sintetizados com o objectivo de a proteger de agressão química e biológica a que está sujeita durante o processo de absorção.

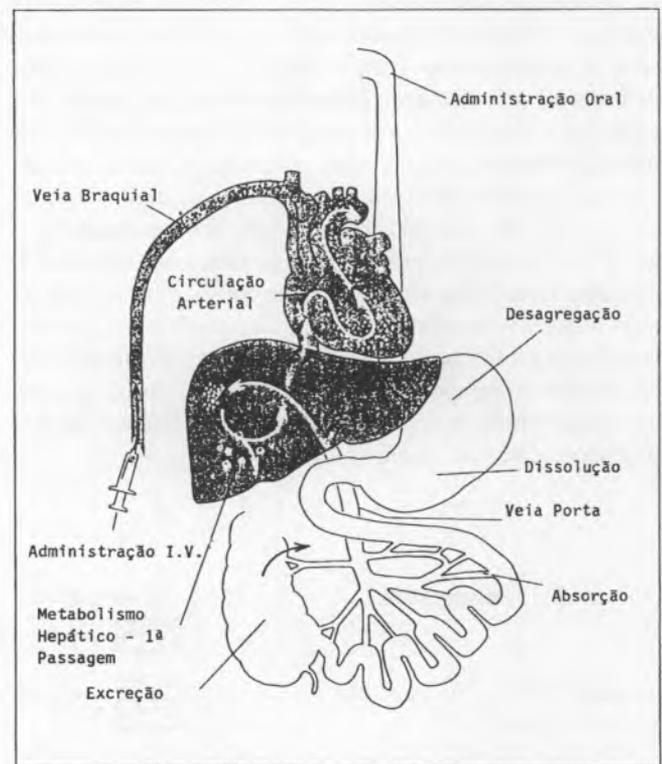


FIGURA 6

Efeito de primeira passagem para fármacos administrados oralmente. Os locais de destruição pré-sistémica são o lúmen gastro-intestinal (g.i.), a interface g.i./sangue e o fígado, onde confluem os vasos sanguíneos envolvidos na absorção. Se a via principal de eliminação for a hepática, apenas uma pequena fracção da dose administrada atinge a circulação. Este efeito é irrelevante quando o fármaco é administrado por via i.v.

## Conclusão

A Farmacocinética é assim uma ciência inter-disciplinar que constitui hoje uma ferramenta indispensável no desenvolvimento e na utilização racional de medicamentos. O objectivo deste artigo foi o de dar uma perspectiva dos seus fundamentos e aplicações.

## Sociedade Portuguesa de Química

Av. da República, 37 - 4.º P - 1000 LISBOA

Boletim de inscrição da

### Internacional Newsletter on Chemical Education – versão em português –

Nome \_\_\_\_\_

Morada \_\_\_\_\_

	N.º Exemplares	Total
N.º 1 (1986) – Mendeleev	@ 175\$ _____	_____ \$
N.º 2 (1988) – Ciência - Tecnologia - Sociedade	@ 175\$ _____	_____ \$
N.º 3 (1988) – Química no ensino secundário	@ 175\$ _____	_____ \$
N.º especial (1988) – Segurança em laboratórios escolares	@ 175\$ _____	_____ \$
N.º 4 (1989) – 9.ª Conferência de Educação em Química	@ 175\$ _____	_____ \$
N.º 5 (1989) – Computadores	@ 175\$ _____	_____ \$
N.º 6 (1990) – N.º genérico	@ 175\$ _____	_____ \$
N.º 7 (1990) – Química no ensino primário	@ 175\$ _____	_____ \$
	Total	\$

Junto envio o cheque n.º \_\_\_\_\_ do Banco \_\_\_\_\_  
correspondente ao total acima indicado.

A Escola onde lecciona fez assinatura da Newsletter (versão em português)? \_\_\_\_\_

Gostaria de colaborar nesta publicação? Em caso afirmativo indique como (tradução de 1 ou 2 artigos por ano, revisão, montagem, ...) \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

\* Veículo de comunicação do Comité do Ensino da Química da IUPAC (IUPAC-CTC)

# SUCRE EDULCOR



# O presente e o futuro dos aditivos alimentares

Margarida Alice Ferreira <sup>a</sup>



Margarida Alice Ferreira

*Nasceu em Bragança, em 1936.*

*Licenciou-se em Farmácia na Universidade do Porto com 17 valores. Recebeu os prémios Rotary Club do Porto e Trás-os-Montes, em 1959. Foi Assistente da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto (FFUP) desde 1965 até 1972.*

*Em 1971, prestou provas de doutoramento na FFUP, na especialidade de Farmacognosia, tendo sido aprovada por unanimidade com distinção e louvor.*

*Foi nomeada Professora Auxiliar em 1972.*

*É Professora Associada da FFUP desde 1979.*

*Realizou um estágio pós-doutoramento em Química dos Produtos Naturais na Universidade de Aberdeen, Escócia.*

*Efectuou vários cursos e estágios na Faculdade de Farmácia do Porto, no Hospital de Crianças de Maria Pia, no Centro de Estudos Farmacológicos, no Centro de Biologia da Fundação Calouste Gulbenkian, na Universidade da Califórnia (USA), na Faculdade de Economia do Porto, no LNETI e na Faculdade de Medicina de Lisboa.*

*A actividade de investigação desenvolveu-se no estudo da metodologia científica de Fitoquímica e, mais tarde, no domínio da Química dos Produtos Naturais e na área da Bromatologia e da Nutrição Humana. Integrou o Grupo Instalador da Escola do Curso Superior do Nutricionismo do Porto (1976).*

*Foi Professora Visitante na Universidade da Paraíba (1977).*

*Por inerência do cargo de Professor de Bromatologia e de Análises Bromatológicas, desempenha funções de perito de desempate nas análises de recurso em matéria alimentar nos Processos de Transgressão e de Contra-Ordenação.*

*É membro do Conselho Científico e tem feito parte da Assembleia de Representantes e do Conselho Pedagógico da FFUP.*

*Orientou estágios e provas pedagógicas e de capacidade científica e participou em vários juris de doutoramento.*

*Orienta trabalhos de doutoramento.*

*Participou em muitas mesas redondas, seminários e palestras, assim como em Reuniões Científicas, Congressos, Simpósios e Encontros.*

*É membro da American Society of Enologists, do Institut of Food Technology (USA), da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia dos Alimentos e do Conselho Geral da Fundação Gomes Teixeira.*

*Pertence a várias comissões no âmbito da Normalização Nacional e da Comunidade Europeia.*

*Publicou cerca de 60 artigos.*

## Introdução

O tema que me propus aqui tratar, o das substâncias químicas adicionadas aos alimentos mais vulgarmente conhecidas por *aditivos alimentares* é uma área sobre a qual eminentes cientistas, economistas e políticos se têm debruçado e também objecto de frequentes apreciações por parte dos consumidores, das organizações de defesa dos consumidores e dos *mass média*. Tenho portanto dificuldade em ser original sobre um tema que tanta tinta tem feito correr. Frequentemente me interrogo se a presença e a difusão de aditivos pelos alimentos a que assistimos constitui um bem social ou, pelo contrário, um fatalismo imposto pela industrialização e pela modernidade.

Para além dos múltiplos benefícios, de ordem económica e tecnológica fica-nos sempre a dúvida acerca do potencial risco que tais produtos podem representar no futuro como consequência do seu uso continuado na alimentação e sobretudo do consumo em simultâneo de vários aditivos. Os receios que estes produtos têm colocado tem conduzido à criação de organismos e órgãos a nível nacional e internacional que se vêm ocupando destes produtos sobretudo no que respeita:

- à sua segurança toxicológica,
- grau de pureza,
- elaboração da lista de aditivos permitidos (listas positivas), e respectivas distribuições pelos alimentos em conformidade com as necessidades tecnológicas e a segurança, etc. Toda esta tarefa tem em vista dois aspectos fundamentais:
- Protecção da saúde pública,
- Evitar a utilização indevida e abusiva dos aditivos.

Todos reconhecemos que o uso dos aditivos permite muitos benefícios, nomeadamente:

- A maximalização da utilização das matérias-primas naturais produzidas pela agricultura e pela pecuária,
- A minimização da deterioração dos alimentos,
- A produção de uma vasta gama de produtos processados de aspecto agradável e atraente.

A resultante da equacionação multifactorial de riscos e benefícios tem pendido no sentido positivo para a sua utilização, no sentido da introdução de novos aditivos e, sobretudo, para uma crescente distribuição por um cada vez maior número de alimentos.

<sup>a</sup> Laboratório de Bromatologia - Faculdade de Farmácia - Universidade do Porto

Porém, a admissão e a difusão dos aditivos está contida por princípios basilares que felizmente restringem a sua aplicação e difusão. Segundo a FAO/OMS o emprego dos aditivos só é admitido nas seguintes circunstâncias:

- Para preservação das propriedades nutritivas do alimento,
- Para uma melhoria tecnológica,
- Para melhoria da conservação,
- Para melhoria do aspecto e do paladar, tornando os alimentos mais apetitosos.

Para simplificar a apresentação dos dados informativos que seleccionei pareceu-me mais interessante responder a um conjunto de perguntas que por certo se colocam a muitos de nós e porventura menos familiarizados com este importante capítulo que se inclui no âmbito do ensino do *Curso de Bromatologia da Licenciatura em Ciências Farmacêuticas*.

- O que são, quantos e como se classificam os aditivos alimentares?

- Porquê tantos aditivos? Quem são os interessados na difusão e na introdução de novos aditivos?

- Como se processa a admissão dos aditivos? Quem está encarregado de avaliar da necessidade e da segurança dos aditivos?

- Como se processa a distribuição dos aditivos legais pela vasta gama dos alimentos?

- Como se controlam os teores de aditivos nos alimentos?

- Qual a legislação Comunitária e portuguesa a que devem obedecer?

- Quais as exigências Comunitárias para a petição da avaliação e autorização de um novo aditivo?

- Qual o futuro dos aditivos?

### O que são, quantos e como se classificam os aditivos alimentares?

Do ponto de vista alimentar consideram-se duas espécies de aditivos:

- Os aditivos para alimentação humana,
- Os aditivos para a alimentação animal.

No âmbito da nossa exposição encararemos apenas os primeiros. A primeira definição que foi dada, em 1955, pelo Comité misto da FAO/OMS para aditivos alimentares foi o de «substâncias sem valor nutritivo, adicionadas aos alimentos geralmente em pequenas quantidades com vista à melhoria do seu aspecto, aroma, textura e conservação».

Esta definição evoluiu, sendo mais vasto o âmbito dos produtos contemplados pela actual definição «substâncias possuindo ou não valor nutritivo...». Abrangem-se também nos aditivos as substâncias nutritivas, tais como: aminoácidos, vitaminas, sais minerais, etc., desde que deliberadamente adicionadas.

Também, em 1980, o Comité Científico da Alimentação Humana da CEE considerava na décima série dos seus relatórios, como aditivo alimentar «toda a substância adicionada aos géneros alimentícios em qualquer estado da sua transformação com vista a modificar as suas características.» No Dec-Lei 192/89 de 8 de Junho da actual Legislação Portuguesa consagra-se a seguinte definição: «toda a substância tenha ou não valor nutritivo, que por si só não é normalmente género alimentício mas cuja adição intencional, com finalidade tecnológica ou organoléptica em qual-

quer fase de obtenção, tratamento, acondicionamento, transporte ou armazenagem de um género alimentício, têm como consequência quer a sua incorporação nele ou a presença de um derivado quer a modificação de características desse género».

Quer na Comunidade Europeia (Directiva 89/107/EEC de 21 de Dezembro 1988), quer em Portugal (Norma Portuguesa NP-1735) a classificação dos aditivos é funcional e muito semelhante no tipo de categorias estipuladas. Assim para fins administrativos, a CEE agrupa-os em 24 categorias, como o Quadro 1 indica.

Categorias de Aditivos Alimentares  
(Directiva 89/107/CEE de 21.12.88)

Corantes	Amidos modificados
Conservantes	Edulcorantes
Antioxidantes	Levedantes químicos
Emulsionantes	Agentes antiespuma
Sais de fusão	Agentes de revestimento
Espessantes	Agentes de tratamento de farinha
Gelificantes	Agentes de endurecimento
Estabilizadores	Humidificantes
Intensificadores do sabor	Sequestradores
Acidificantes	Enzimas
Reguladores da acidez	Agentes de volume
Antiaglomerantes	Gases propulsores e de embalagem

QUADRO 1

Os aditivos são geralmente adicionados aos alimentos em teores muito reduzidos. São empregues, por via de regra, entre os limites de 0,1 a 1 g/kg de alimento e segundo as boas práticas de fabricação. A quantidade adicionada é condicionada pela sua dose de ingestão admissível, pela sua necessidade e eficácia tecnológicas. Os aditivos ao contrário dos auxiliares tecnológicos destinam-se a ficar incorporados nos alimentos e são com eles ingeridos.

Não entrando em linha de conta com os aromatizantes, cujo número é elevadíssimo (cifram-se em alguns milhares), os aditivos permitidos no espaço comunitário são da ordem dos trezentos.

Todavia, dada a internacionalização do mercado dos alimentos, este número pode ser porventura superior na nossa alimentação. No entanto, a maioria dos países possui uma lista de aditivos permitidos bastante idêntica à sugerida pelo Comité do Codex Alimentarius.

Alguns países da Comunidade Europeia possuem ainda algumas diferenças da lista internacional ditada pela exigência dos Comités de Avaliação Toxicológica dos seus países. Com vista à unificação do Mercado Comum, no âmbito da Comunidade Europeia, vem-se procedendo à harmonização dos aditivos usados nos Estados Membros.

### Porquê tantos aditivos? Quem são os interessados na difusão e na introdução de novos aditivos?

Por estranho que pareça o uso crescente que se vem fazendo dos aditivos é obra de todos nós. Se tal facto é bom ou mau cabe a cada um uma pequena ou uma grande parcela de colaboração ou de cumplicidade. De facto, pela palavra quase todos somos contra os aditivos. Temos receio dos aditivos. Acusámo-los de serem perigosos para a saúde e apelidamo-los de serem carcinogénicos, hepatotóxicos, de provocarem intolerâncias alimentares, etc.

Assim, constituem exemplos de aditivos acusados de provocar intolerâncias os aditivos seguintes:

Corantes naturais: Anato,

Corantes sintéticos: Tartarazina, ponceau 4R, amarante amarelo sol FCF,

Aromatizantes: Balsâmo de Tolu,

Conservantes: Dióxido de enxofre, derivados do benzoato,

Antioxidantes: Hidróxitolueno butilado (BHT), hidróxianisol butilado.

Também a eritrosina é acusada de provocar hiperexcitabilidade nas crianças e tumores na tiróide dos adultos e a cantaxantina de ocasionar depósitos de cristais na retina.

Pela acção, directa ou indirecta, embora por razões muito diversas, todos os desejamos. Se não vejamos: Os consumidores exigem alimentos novos, de boa apresentação, de bom paladar e com aspecto fresco, de longo prazo de validade, etc. Ora, todos os alimentos envelhecem. Os pigmentos naturais descoram por oxidação ou então sofrem o escurecimento enzimático e/ou químico tornando-se acastanhados e desagradáveis à vista.

O sabor intenso de certas formas dietéticas só é possível graças aos aromatizantes e aos exacerbadores do gosto, tais como, glutamatos, guanilatos e inosinatos. Também a vasta gama de produtos, como sejam as emulsões, as suspensões, os geles e os aerossóis só são possíveis pelo recurso a espessantes, a estabilizadores do equilíbrio físico, e a emulgentes, etc. As formulações de produtos dietéticos de reduzido valor calórico apenas é possível pelo recurso a agentes de volume, tais como celulosas, espessantes, edulcorantes artificiais, etc.

Para dar satisfação a estas exigências e por razões de concorrência comercial, o tecnólogo da Indústria alimentar vê-se obrigado a lançar mão de aditivos. A Indústria alimentar é o utilizador directo.

Não há um único aditivo que satisfaça todas as necessidades tecnológicas. Por isso, num mesmo alimento e para satisfazer vários propósitos simultaneamente há também que adicionar várias substâncias.

Porque o aditivo ideal não existe e porque a produção e a comercialização de aditivos é uma actividade rendível, a Indústria química e a Indústria farmacêutica empenham-se a fundo na investigação de novos aditivos.

Apesar de tudo é uma actividade em que vale a pena investir. Veja-se a título exemplificativo, o que se passa com os emulgentes. De acordo com o relatório dos E.U. sobre o mercado de aditivos (Predicasts 1984), o consumo de emulgentes foi em 1982 de 240 milhões de libras cabendo aos mono e aos diglicéridos 80% do total. Para 1995 prevê-se um consumo de 280 milhões de libras.

### **Como se processa a admissão dos aditivos? Quem está encarregado de avaliar da necessidade e da segurança dos aditivos?**

A tarefa da avaliação toxicológica dos aditivos e o pronunciamento para a sua aceitação tem sido cometida a comissões próprias.

#### *A nível internacional*

Assim a nível internacional esse trabalho é realizado desde 1958 pelo Comité Misto de Peritos da OMS/FAO de Aditivos

Alimentares vulgarmente conhecido por JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) e pelo Comité do Codex sobre Aditivos Alimentares e Contaminantes (CCFAC).

#### *A nível comunitário*

A nível comunitário, é Comité Científico da Alimentação Humana vulgarmente conhecida por SCF (The European Commission's Scientific Committee for Food). O SCF é um Comité de consulta obrigatória por parte da Comissão em todas as matérias de ordem alimentar com implicações na saúde. Os seus pareceres não são vinculativos para a Comissão, porém, até à data têm sido sempre respeitados.

#### *A nível nacional*

Em Portugal, só muito recentemente (Dec. Lei 192/89 de 8 de Junho) foi criada a CATA-Comissão de Avaliação Toxicológica dos Aditivos Alimentares cujas competências constam do art.º 3º do Regulamento Interno da CATA que transcrevemos:

- a) Proceder à avaliação toxicológica dos aditivos, incluindo o estabelecimento das respectivas doses diárias admissíveis.
- b) A pedido do Instituto de Qualidade Alimentar (IQA), dar pareceres de carácter vinculativo quando desfavorável sobre a permissão de novos aditivos alimentares admissíveis nos géneros alimentícios, os respectivos critérios de pureza e as condições da sua utilização.
- c) Pronunciar-se sobre os aditivos alimentares já admitidos, numa perspectiva do seu alargamento a outros géneros alimentícios não contemplados na lei.
- d) Propor ao IQA a exclusão de aditivos alimentares já admitidos, sempre que a evolução dos conhecimentos técnicos e científicos o justifique.

### **Como se processa a distribuição dos aditivos pelos produtos alimentares?**

A gestão dos aditivos admitidos ou seja a sua distribuição pelos vários produtos alimentares foi tarefa do Comité do Codex. Em Portugal essa distribuição foi empreendida no seio da CT/53 em conformidade com as orientações do Codex e as necessidades tecnológicas dos vários Sectores da Indústria Alimentar portuguesa.

Que saibamos, esta distribuição dos aditivos por produtos não foi objecto de decisão Comunitária, estando apenas prevista para já essa distribuição para um número restrito de aditivos para os quais se atribuiu uma muito reduzida ADI, tais como, a eritrosina, a cantaxantina, o BHT e BHA, etc.

A distribuição dos aditivos pelo vasto leque de alimentos é ainda deixada ao critério dos Estados Membros.

A amplitude de distribuição de cada aditivo pela vasta gama de produtos deve ser condicionada a certos princípios de segurança, económicos e tecnológicos e deve ser feita com base:

- a) Na sua segurança e condicionada ao limite de ADI para ele estabelecida.
- b) Na necessidade tecnológica e económica do aditivo por parte da Indústria e também dos interesses dos consumidores.
- c) O consumo previsível do aditivo condicionada ao modelo alimentar de cada indivíduo e da população em geral tendo em consideração os grupos mais sensíveis e de risco que são na generalidade crianças, velhos e grávidas.

A grande maioria das organizações credenciadas para o efeito expressa a aceitação de um aditivo em termos de dose diária aceitável DDA (em português e espanhol), DJA (em francês), ADI (em inglês), significando «acceptable daily intake».

A noção de ADI e o início do seu uso como forma de garantir a segurança dos aditivos foram introduzidas em 1958 pela JECFA. A noção de ADI foi ligeiramente modificada em 1962, em 1974 e posteriormente em 1987.

A definição mais recente de ADI dada pela (OMS, 1987) JECFA «quantidade de aditivo alimentar, expressa com base no peso corporal (mg/kg p.c.), que pode ser ingerida diariamente e durante toda a vida sem apreciável risco para a saúde».

As ADIs são geralmente expressas em mg/kg p.c. e especificadas desde 0 a X de ingestão admissível.

Assim, por exemplo, o vermelho de «Alura» AC apresenta uma ADI=0-7.

É a partir do estabelecimento da «dose máxima sem efeito adverso» (NOEL) na espécie animal mais sensível que a JECFA e o SCF calculam a ADI, usando um factor de segurança (F).

$$ADI = \frac{NOEL}{F \text{ segurança}} \text{ mg/kg p.c.}$$

F - factor segurança, geralmente, igual a 100. Pode variar de 10 (quando os ensaios foram conduzidos no homem) a 100 (quando se reconheceu alguma especial actividade tóxica). Este factor tem em vista a salvaguarda da diversa sensibilidade interespecies de animais e da heterogeneidade humana. Enquanto o NOEL é um factor científico determinado em bases de experimentação toxicológica, o factor F é pragmático e frequentemente despido de rigor científico. O factor de segurança pressupõe o conhecimento exacto da toxicocinética e da toxicodinâmica do aditivo em causa quer nos animais de experiência quer no próprio homem, o que raramente é possível.

Actualmente discute-se muito acerca da validade que oferece este factor 100 em termos de segurança, podendo estar em alguns casos inflacionado por excesso enquanto que estará por deficit, porventura, noutros casos. Só a realização de ensaios completos de toxicocinética e de toxicodinâmica poderão conduzir a um factor seguro, o que manifestamente é difícil de realizar para tão vasto número de aditivos; é porém de equacionar nos casos mais polémicos. Obviamente que a Indústria aposta num factor inferior, de 10, enquanto os mais prudentes admitem o factor 1000.

Não é admitido como aditivo alimentar o produto para o qual não seja possível extrair, pelos estudos toxicológicos feitos, uma NOEL (dose máxima sem efeito adverso). Assim, do ponto de vista da confiança que merecem os aditivos em termos de segurança se podem classificar em quatro categorias:

– Aditivos aceitáveis em «dose não especificada», podendo ser usados sem perigo nas doses que as necessidades tecnológicas reclamam.

– Aditivos em que uma ADI foi especificada, podendo ser usados em tanto mais produtos alimentares quanto mais elevado o valor numérico estabelecido.

– Aditivos em que uma ADI temporária (TADI) ou provisória (p-ADI) foi fixada, carecendo de uma reavaliação dentro do limite de tempo fixado.

– Aditivos não aceitáveis para fins alimentares.

### Como se controlam os teores de aditivos nos alimentos?

A filosofia actual sobre o controlo de qualidade dos alimentos passa pelo reconhecimento que o controlo melhor e mais eficaz é o praticado a nível da fabricação, imputando-se, por isso, ao fabricante a responsabilidade dos produtos que produz e exigindo-se na produção um técnico competente e idóneo como responsável e garante da qualidade. O controlo de qualidade dos aditivos está, obviamente incluído. A responsabilidade sobre a pureza dos aditivos cabe aos respectivos produtores e a confirmação aos utilizadores directos, isto é, à indústria Alimentar. Nesse sentido, em Portugal, o Dec-Lei nº 271/87 conhecido por REPAT (Registo Nacional dos Procedimentos de Controlo de Qualidade dos Géneros Alimentícios Transformados) institui um «sistema de controlo de qualidade integrado abrangendo todo o ciclo económico, da produção ao consumo, levado a efeito pelas próprias entidades e oficialmente reconhecido pela administração pública tendo por objecto os géneros alimentícios transformados».

A Portaria nº 949/90 de 6 de Outubro, referente ao Estatuto de responsabilidade dos profissionais pelo controlo de qualidade dos géneros alimentícios transformados, inclui, entre outros profissionais, os licenciados em Ciências Farmacêuticas e os Licenciados em Engenharia Química. O controlo de qualidade oficial realizado no alimento final é não só extremamente difícil como pouco eficaz e só pode ser executado esporadicamente e num reduzido número de produtos. Em Portugal, é praticado pela IQA que exerce de uma forma constante e vigilante o controlo dos produtos que, por via de regra, lhe são enviados pela Direcção Geral Actividades Económicas.

A nível comercial, no espaço Comunitário, a qualidade dos produtos é da responsabilidade do país exportador.

A análise dos aditivos é muito complexa e requer a utilização de vasto leque de metodologias.

A análise de um aditivo no que respeita à identificação, pureza quando não incluído no alimento, por via de regra, não apresenta grandes dificuldades o mesmo não acontece quando o aditivo se encontra já incluído no produto alimentar. A complexidade e a heterogeneidade das matrizes dificultam a análise, exigindo extracções e purificações por vezes penosas e que consomem muito tempo.

Não são muitos os métodos de análise já validados para o doseamento dos aditivos quando inclusos nos alimentos.

Constituem exemplo de excepção ao que afirmamos, o doseamento do BHA e BHT nas gorduras, em que a cromatografia gás líquido é o método normalizado. Os métodos ideais para além de específicos, sensíveis, precisos, rigorosos, rápidos e de baixos custos deveriam abranger multi-aditivos em multi-substratos de fácil automatização e se possível darem informações sobre a estrutura molecular do composto. Porém são escassos.

Até ao momento, praticamente só os métodos instrumentais respondem a todas estas exigências, sendo os mais utilizados os seguintes:

- Métodos cromatográficos (HPLC, GC, TLC, etc.)
- Métodos espectroscópicos (U.V., fluorescência, MS)
- Métodos electroquímicos.

De um modo geral qualquer que seja o processo empregado, requer um conjunto de passos analíticos preparativos e de purificação, típicos, demorados e de grande perícia de execução.

### Quais as exigências comunitárias para requerer a avaliação e a autorização de um novo aditivo?

A nível comunitário, entre outras formalidades, o dossier que deve acompanhar o pedido de autorização para a utilização de um novo aditivo inclui as seguintes:

#### Dados técnicos

- Nome e especificações da substância;
- Processo de fabricação;
- Métodos de análise;
- Justificação para o pedido de autorização do aditivo;
- Exposição do homem ao aditivo;
- Reacções e finalidades do aditivo no alimento.

#### Dados toxicológicos

- Protocolos e resultados dos ensaios em animais de laboratório;
- Estudos de toxicidade aguda;
- Estudos de toxicidade genética;
- Estudos metabólicos, incluindo ensaios de toxicocinética;
- Estudos subcrónicos;
- Estudos de reprodução e de teratogenicidade;
- Estudos de toxicidade crónica e de carcinogenicidade;
- Estudos sobre alergia, intolerância e reacções idiosincráticas;
- Estudos em humanos.

A secção dos ensaios toxicológicos deve ainda contemplar:

- A descrição da dieta dos animais;
- O esquema do ensaio (pureza, composição do material a ensaiar, os animais empregues nos testes, vias de administração, duração dos estudos, observações realizadas e métodos de análise estatística dos resultados);
- Os resultados devem abranger condições clínicas, mortalidade dos animais, dados hematológicos, parâmetros bioquímicos do sangue e da urina em rotina clínica e as observações patológicas.

A bateria de ensaios que é exigida por aquelas Comissões para apreço é tão vasta que se torna incomportável ser realizado por empresas pequenas ou mesmo médias. Desde a nossa adesão à CEE, quanto nos é dado saber, nenhuma empresa espanhola ou portuguesa submeteu para apreciação à Comunidade Europeia qualquer petição de autorização de aditivos.

A evolução que a toxicologia está a fazer não permite que o dossier de qualquer aditivo seja encerrado. Por isso, os aditivos são apreciados regularmente, sempre que novas e importantes informações surjam.

### Qual a legislação comunitária e portuguesa sobre aditivos alimentares?

#### A nível comunitário

As orientações e as directivas em matéria de aditivos resumem-se às seguintes:

- Directiva 89/107/CEE de 21.12.89 - Relativa aos aditivos utilizados nos alimentos.

- Directiva 62/23/10/CEE de 23.10.62 - Respeitante às Matérias corantes autorizadas nos alimentos.

- Directiva 64/54/CEE - Respeitante a Conservantes autorizados nos alimentos.

- Directiva 70/375/CEE de 13.07.70 - Respeitante aos Agentes emulsionantes, estabilizadores, espessantes e gelificantes autorizados nos alimentos.

- Directiva 83/463/CEE de 22.07.83 - Introduce medidas temporárias para a designação de alguns ingredientes na etiquetagem de alimentos vendidos ao consumidor final. Nela se consagra a obrigatoriedade da declaração dos aditivos no rótulo do alimento ou através do respectivo número de código (E).

#### Em Portugal

- Decreto-Lei 192/89 de 8 de Junho - estabelece os princípios orientadores de aplicação de aditivos nos géneros alimentícios e define as regras a que deve obedecer a sua utilização. Cria a Comissão de Avaliação Toxicológica dos aditivos (CATA).

- Portaria 833/89 de 22 de Setembro - fixa os aditivos admissíveis nos géneros alimentícios bem como as condições da sua utilização.

### Qual o futuro dos aditivos?

O futuro dos aditivos apresenta-se risonho para uns e sombrio para outros.

A introdução e utilização dos aditivos na comunidade estão limitadas à demonstração de constituírem:

- necessidade tecnológica;
- necessidade económica;
- interesse para o consumidor.

Os dossiers toxicológicos para comprovar a inocuidade dos aditivos são extremamente exigentes e difíceis de cumprir por parte da indústria.

Além disso estão a surgir e a ser implantadas novas tecnologias de processamento industrial, nomeadamente a congelação profunda, o recurso ao embalamento no vácuo ou em atmosfera de gases inertes, à extrusão e à esterilização por radiações ionizantes que provavelmente irão fazer diminuir o uso dos conservantes e dos antioxidantes.

Assistiremos por certo à deslistagem de alguns aditivos pouco seguros e para os quais foi fixada uma reduzida ADI, tais como a eritrosina e a cantaxantina, para além de outros corantes. Acreditamos nisso porque acreditamos também no bom senso dos consumidores que deixarão de exigir a habitual cosmética dos alimentos actualmente praticada.

Alguns edulcorantes poderão vir a ser retirados e/ou substituídos por outros com qualidades mais desejáveis e mais próximas do edulcorante ideal (sacarose).

Os solventes de extracção e de fraccionamento clássicos poderão dar o lugar aos fluídos supercríticos.

Melhor sorte irão ter os emulsionantes, os espessantes e os agentes de volume cuja procura deverá ser crescente impulsionada pela inovação industrial de formas alimentares, particularmente para determinados fins dietéticos, nomeadamente para emagrecimento e prevenção da obesidade.

PEAU  
NEUVE



**MITOSYL**

LE PREMIER PANSEMENT BIOLOGIQUE VITAMINE

# Aditivos alimentares

– Alergia e Intolerância

Elza Tomaz <sup>a</sup>



Elza Maria Morgado Tomaz

*Nasceu em 1959.*

*Em 1977 obteve o «First Certificate in English» da Universidade de Cambridge.*

*Licenciou-se em Medicina, em 1983, pela Faculdade de Medicina de Lisboa.*

*Entre 1982 e 1986 trabalhou, primeiro voluntariamente e, no último ano, como monitora contratada, no Instituto de Psicologia da Faculdade de Medicina de Lisboa.*

*Efectuou o Internato Geral nos Hospitais Civis de Lisboa e no Centro de Saúde de Sete Rios, de Fevereiro de 1984 a Julho de 1985.*

*Em Novembro de 1986 fez o Concurso de Admissão ao Internato Complementar e, em Janeiro de 1987, iniciou o Internato Complementar de Imunoalergologia no Hospital de Santa Maria - Unidade de Imunoalergologia, onde trabalha neste momento.*

## O uso de aditivos alimentares

Na maioria das sociedades actuais, as desigualdades geográficas na capacidade de produção de alimentos (por condições climáticas, do solo ou dos meios tecnológicos disponíveis), bem como a organização da actividade humana (vastos sectores populacionais afastados dos locais de produção de alimentos) tornaram imprescindível o uso de substâncias variadas na produção e transformação dos alimentos, com o fim de tornar possíveis a sua produção em quantidade suficiente, o seu armazenamento e transporte. Assim se justifica o uso de conservantes, antioxidantes, emulsionantes e outros estabilizadores do equilíbrio físico.

São também usadas substâncias com a função de melhorar o sabor ou o aspecto dos alimentos – corantes, aromatizantes, intensificadores de sabor; ou ainda com a função de facilitar o consumo e a digestão de alimentos, como é o caso de algumas enzimas.

Podem ainda ser adicionadas aos alimentos substâncias com o objectivo de lhes melhorar as propriedades nutritivas (por exemplo vitaminas), que a actual Norma Portuguesa não considera, no entanto, aditivos alimentares.

## Mecanismos e manifestações de alergia e intolerância a aditivos alimentares

Alguns organismos respondem com produção de sintomas à ingestão de quantidades de aditivos alimentares que, na maioria, não provocam alterações.

Estas respostas podem ter como base mecanismos imunológicos, estando descrita a formação de imunoglobulinas da classe E contra complexos formados por alguns aditivos e proteínas do organismo (a imunoglobulina E é responsável pelas reacções alérgicas chamadas «imediatas»), bem como reacções de hipersensibilidade «retardada», medidas por linfócitos T previamente sensibilizados. Pensa-se que esta sensibilização poderá ocorrer por via digestiva ou por contacto cutâneo anterior com a mesma substância, através de cosméticos, pomadas ou contacto profissional nas indústrias alimentares. Estes mecanismos imunológicos são responsáveis pelas reacções alérgicas.

Outros mecanismos podem também ser responsáveis por sintomas, tratando-se, neste caso, de reacções de intolerância. É o caso da inibição da ciclo-oxigenase, com alterações do metabolismo do ácido araquidónico e desequilíbrio na

<sup>a</sup> Hospital de Santa Maria.

formação de prostaglandinas e leucotrienos (com papel importante no desencadear dos processos de inflamação) e da interferência na síntese ou libertação de transmissores do sistema nervoso, com a acetilcolina e a serotonina.

Os mecanismos descritos e provavelmente outros traduzem-se por sintomatologia que, mais frequentemente, consiste em asma brônquica, choque anafilático e anafilactóide e alterações psicomotoras, sendo principalmente referida a síndrome da criança hiperkinética. Outras manifestações têm sido relacionadas com aditivos alimentares, nomeadamente cefaleias, sintomas gastro-intestinais, eczema e urticária.

A título de exemplo, abordarei em seguida alguns grupos de aditivos, citando algumas substâncias usadas correntemente.

### Corantes

Os corantes mais incriminados em reacções de hipersensibilidade são os de síntese, com relevo para a tartrazina, tendo sido particularmente notada a associação da hipersensibilidade à tartrazina e à aspirina. Muitos corantes caracterizam-se pela presença, na molécula, de dois átomos de azoto unidos por uma dupla ligação, sendo a terceira valência de cada azoto ocupada por um anel aromático com substituições variáveis. O poder de sensibilização do composto está relacionado com substituições por grupos animados. Estes corantes são utilizados nos têxteis e cosméticos, levantando o problema da sensibilidade por contacto, com posterior resposta alérgica à ingestão.

Embora menos frequentemente, os corantes naturais podem também ser responsáveis por sensibilização, como foi já descrito para o anato.

### Conservantes e antioxidenos

Estes dois grupos de compostos são usados para impedir a deterioração dos alimentos, tratando-se, no caso dos conservantes, da deterioração por microrganismos e no caso dos antioxidenos, da deterioração oxidativa, principalmente das gorduras. Existem substâncias que têm os dois tipos de função, como por exemplo o nitrito de sódio.

A este último, utilizado particularmente nos produtos de charcutaria, a que confere um bonito tom rosado, foram atribuídas urticárias, alterações gastro-intestinais e cefaleias vasomotoras. Pensa-se que sejam devidas à facilitação da passagem de histamina (um dos mediadores das reacções alérgicas) ou de alimentos libertadores de histamina através da mucosa intestinal por lesão directa desta mucosa e vasodilatação, admitindo-se ainda que o nitrito de sódio, ao bloquear os grupos sulfidrilo das mucoproteínas intestinais, interfira na captação de histamina por estas mucoproteínas, aumentando assim a histamina livre no intestino.

Outros exemplos deste grupo são o anidrido sulfuroso e os metabissulfitos, utilizados como conservantes principalmente no vinho branco, mas também na cerveja, sumos de frutos, compotas, mostarda, marisco fresco e, por vezes, adicionados a saladas, nos restaurantes. São susceptíveis de provocar espasmo brônquico em doentes com asma, por mecanismo que parece ser de estimulação de receptores brônquicos, com indução de uma resposta pelo sistema nervoso vegetativo (vago). A sua ingestão também tem sido relacionada com episódios de rinite aguda, rubor e hipotensão.

Merecem também referência, pela frequência do seu uso, o butil-hidroxianisol (BHA) e o butil-hidroxitolueno (BHT), utilizados como antioxidenos nos óleos e gorduras. Foram descritos, em associação com a sua ingestão, episódios de urticária, eczema e asma brônquica.

### Intensificadores do sabor

De entre estes compostos é de salientar o glutamato de sódio, responsável pela síndrome do restaurante chinês, que consiste em rubor facial com parestesias, sensação de queimadura no tronco, pescoço, face, braços e raiz das coxas, cefaleias, náuseas, palpitações, sudorese, hipotensão e, por vezes, asma, com início 15 a 45 minutos após a ingestão de especialidades culinárias do Extremo Oriente (molho de soja). Embora alguns alimentos possuam naturalmente uma quantidade apreciável de ácido glutâmico, o aporte sob esta forma não ultrapassa 10% do glutamato ingerido, sendo o restante sob a forma de aditivo. O mecanismo parece ser a acumulação de acetilcolina (de que o glutamato é precursor) ao nível das sinapses nervosas.

### Diagnóstico

O diagnóstico da alergia e intolerância a aditivos alimentares apresenta um elevado grau de dificuldade, para o que contribuem vários factores. Por um lado há o elevado número de substâncias ingeridas e a dificuldade em identificá-las. Para além dos muitos alimentos não rotulados ou com rótulo incompleto, há ainda as substâncias adicionadas pelos vendedores ou nos restaurantes e os «traços», presentes nos alimentos, de produtos utilizados na sua produção (pesticidas), ou na alimentação e tratamento dos animais (por exemplo a penicilina no leite de vaca, as hormonas na alimentação de frangos).

Por outro lado, os mecanismos fisiopatológicos variados (e alguns seguramente ainda não identificados) que estão em causa tornam os métodos de diagnóstico mais correntemente usados em alergologia (testes cutâneos e doseamento sérico de imunoglobulinas específicas) insuficientes para estes casos. O diagnóstico definitivo deve ser estabelecido com base na instituição de dietas de evicção e em provas de provocação, métodos morosos, que apresentam algumas dificuldades de execução e não são totalmente isentos de risco.

Alguns elementos da história clínica do doente podem, no entanto, sugerir o papel de aditivos alimentares e chamar a atenção para a necessidade de uma investigação mais exaustiva. São eles a existência de hipersensibilidade a vários fármacos ou a tolerância de apenas pequenas doses de analgésicos, o «desagrado» ou reacções a fumos químicos ou a certos cheiros, a maior frequência de sintomatologia após refeições em restaurantes, o desenvolvimento de intolerância a bebidas alcoólicas e as reacções envolvendo vários sistemas com preponderância do sistema nervoso central.

Em resumo, os aditivos alimentares podem ser responsáveis por reacções alérgicas e por intolerância, sendo talvez os mais importantes entre nós alguns corantes (tartrazina, eritrosina), conservantes e antioxidenos (nitritos, metabissulfitos, BHT e BHA).

## Onda

Estrela velha destruída,  
Corpo sem peso, liberdade.  
Vazio, constelação sem vida,  
Inércia, imponderabilidade.

Universo perdido,  
"Big-bang" oculto.  
"Pulsar" pressentido,  
"Quark" vulto.

Estrelas novas, nebulosa,  
Acaso, caos, probabilidade.  
Cometa azul, "spin" qual rosa,  
Turbilhão, falsa verdade.

Moléculas perdidas,  
Átomos visionários.  
Constelações vendidas,  
Planetas estacionários.

Orbital vazia, electrão perdido,  
Núcleo nu, protão pr'a frente.  
Ruptura, futuro empobrecido,  
Passado / presente, ligação covalente.

Relação massa / energia,  
Cinética, potencial nascente  
Choque, impulsão por magia,  
Onda, a vida da gente.

António Inácio



# Eléctrodos selectivos de iões e suas aplicações clínicas

M. J. F. Rebelo <sup>a</sup>

Maria José Ferreira Rebelo

Nasceu em 1948.

Professora Auxiliar (Faculdade de Ciências de Lisboa), Licenciada em Química (F. C. L.), 1972, Doutorada em Química Física – Universidade de Newcastle-upon-Tyne –, 1981, (equivalência – doutoramento em Química Física – Universidade de Lisboa, 1982). Em 1981 ganhou o prémio «Wynne-Jones» com o trabalho «Improvements in pH measurements». Tem desenvolvido investigação em factores que influenciam a precisão de medidas com pH. Salienta-se o design duma nova célula e obtenção, com a mesma, de valores de pH operacional que definem uma nova escala prática de pH recentemente unificada com a escala absoluta e proposta pela IUPAC (cf. *Pure Appl. Chem.*, 57, 531 (1985)). Mais recentemente tem-se interessado por um dos factores inicialmente estudado no contexto das medidas de pH: – Potenciais de junção líquida – As implicações destes potenciais em medidas da actividade de iões de interesse fisiológico são da maior importância e, como resultado de trabalho desenvolvido durante a licença sabática em Newcastle-upon-Tyne (1988-1989), foi convidada para integrar a comissão da CEE: «BCR Blood Electrolytes - Ionised Calcium Determination». Os seus interesses pedagógicos têm-se voltado também, principalmente, para o campo da Química Física aplicada à «Biosfera». Assim, foi única responsável pela cadeira de Fundamentos de Electroquímica para os alunos de Bioquímica desde 1985/86 até à data, tendo interrompido por entrar em licença sabática e, em colaboração, de Química I para os alunos de Biologia (os textos de apoio a esta cadeira foram publicados pela Associação de estudantes).

É membro da BES (Bioelectrochemical Society) entre outras. Participou em várias actividades científicas, entre as quais: *International Symposium on the Theory and Application of Ion-Selective Electrodes in Physiology and Medicine*, Erlangen Nürnberg, 1983. Curso «Bioelectrochemistry II» Erice Sicília 1984. Curso «Biosensors» Newcastle-upon-Tyne, 1988/89. Tem vários trabalhos publicados, seis dos quais em revistas de reconhecido prestígio internacional.

## Introdução

O uso de eléctrodos selectivos de iões em aplicações clínicas tem aumentado significativamente nas últimas décadas. Com efeito, apresentam várias vantagens em relação a outros métodos. As medidas, com eles efectuadas, dizem respeito às actividades dos iões, nomeadamente,  $H^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cl^-$  [1-6] para citar apenas alguns dos mais relevantes fisiologicamente e são as actividades e não as concentrações totais destas espécies obtidas por outros métodos (como a fotometria de chama para o sódio e o potássio, por exemplo) que são fisiologicamente activas na maior parte dos casos. Por exemplo, é conhecido que [7, 8] a maior percentagem do cálcio existente no plasma e nos fluidos fisiológicos está ligado a proteínas (principalmente albumina, mas também globulina) mas é a actividade dos iões de cálcio que estão livres que é determinante em equilíbrios de difusão e de transporte dos iões de cálcio entre as diferentes fases do organismo: na absorção intestinal, na secreção da paratormona e da calcitonina, na contractividade cardíaca, na excitabilidade neuromuscular, nas trocas de cálcio entre o fluido extracelular e os ossos, etc.

Apesar de ser reconhecido que a actividade dos iões é uma quantidade mais relevante que a sua concentração total, o recurso aos eléctrodos selectivos de iões, que permitem a sua determinação directa tem sido um pouco renitente. No entanto, Bowers et al [4] por exemplo, indicam que, em Fevereiro de 1986, no Hospital de Hartford, houve 10 vezes mais pedidos de determinações de cálcio ionizado (por eléctrodos selectivos de iões) do que de cálcio total, da parte dos médicos daquele hospital.

## Princípios de funcionamento dos eléctrodos selectivos de iões

Duma maneira simplificada, pode-se dizer que a medida da actividade dos iões em solução feita por eléctrodos selectivos, se deve ao estabelecimento dum potencial de membrana entre uma solução interna e o ião ao qual a membrana é sensível a uma actividade fixa –  $a_2$  – e a solução externa com uma actividade do ião  $a_1$  que se pretende medir e, portanto, pode variar. Mergulhando um eléctrodo de referência na

<sup>a</sup> Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa  
Departamento de Química, Edifício C1, 5º Piso  
R. Ernesto de Vasconcelos - 1700 LISBOA

solução interna e outro na solução externa como se representa na Figura 1 pode-se medir

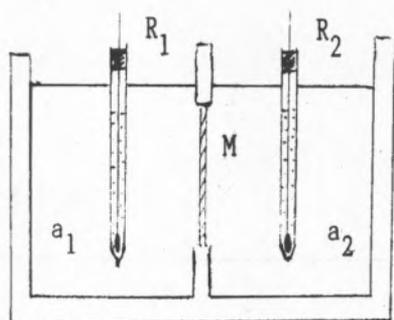


FIGURA 1  
Medida do potencial de membrana  
R<sub>1</sub> - eléctrodo de referência 1  
R<sub>2</sub> - eléctrodo de referência 2  
M - membrana

o potencial de membrana que, para o caso mais simples, é dado pela expressão:

$$\Delta\phi_M = \pm \frac{RT}{ZF} \ln \frac{a_2}{a_1}$$

sendo a diferença de potencial medida entre os dois eléctrodos igual a:

$$E = E_{R_2} - E_{R_1} \pm \frac{RT}{ZF} \ln \frac{a_2}{a_1}$$

Como  $E_{R_2}$ ,  $E_{R_1}$ ,  $a_2 = \text{constantes}$ , a diferença de potencial

medida irá apenas depender de  $a_1$

$$E = E_0 \pm \frac{RT}{ZF} \ln a_1$$

A 25°C,  $\frac{RT}{F} \ln 10 = 0,059$  V e a 37°C,  $\frac{RT}{F} \ln 10 = 0,061$  V

e

$$E = E_0 + \frac{0,059}{Z} \log a_1 \text{ ou } E = E_0 + \frac{0,061}{Z} \log a_1$$

(Na prática a variação do potencial quando varia a actividade do ião é ligeiramente diferente da teórica, ou seja

$$\frac{\Delta E}{\Delta \log a} \neq \frac{0,059}{Z} \text{ (a } 25^\circ\text{C)}).$$

Nos eléctrodos selectivos de iões o sistema mostrado na Figura 1 toma uma disposição diferente e o eléctrodo de referência interno está colocado no interior duma haste que tem, numa extremidade, a membrana sensível ao ião como se representa na Figura 2, embora o «design» dos eléctrodos selectivos de iões possa ser diferente (em forma de tubo, esférico, micrométricos, etc.).

#### Selectividade do eléctrodo

A selectividade do eléctrodo para um dado ião raras vezes é absoluta. Pode haver interferência de outros iões presentes em solução, sendo então a resposta do eléctrodo descrita pela equação de Nikolsky:

$$E_{E.S.I.} = E_0 + \frac{RT}{Z_D F} \ln (a_D + \sum_I K_{DI} a_I Z_D / Z_I)$$

onde  $a_D$  - actividade do ião a determinar

$a_I$  - actividade do ião interferente

$K_{DI}$  - coeficiente de selectividade do ião I em relação ao ião D.

Para a determinação dos coeficientes de selectividade ver ref. [9].

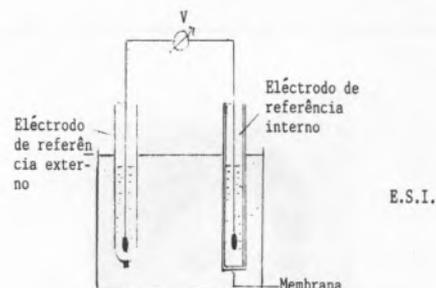
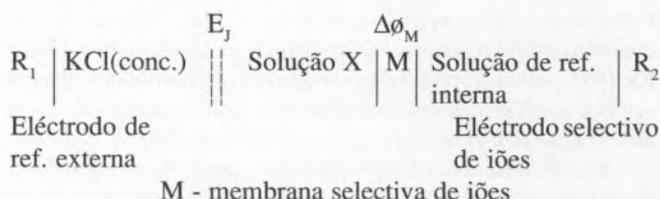


FIGURA 2  
Esquema de um eléctrodo selectivo de iões e sistema de medida do potencial.

#### Coeficientes de actividade e potenciais de junção líquida

As determinações com eléctrodos selectivos de iões correspondem portanto a medir o potencial da célula esquematizada, como segue:



A solução de referência interna deve ter um ião ao qual a membrana é sensível e outro ião ao qual o eléctrodo de referência interno responde.

O potencial de junção líquida  $E_J$  estabelece-se quando dois electrólitos (o do eléctrodo de referência externo e o da solução teste neste caso) entram em contacto.

Assim, tendo em conta o potencial de junção líquida  $E_J$  e o coeficiente de actividade  $\gamma$  (coeficiente que, multiplicado pela concentração dá a actividade, que é a concentração efectiva, ou seja  $c \times \gamma = a$ ), vem:

$$E_{\text{cel}} = E_{O_{ESI}} + \frac{RT}{ZF} \ln c_{M^{Z+}} \gamma_{M^{Z+}} - E_{\text{ref}} - E_J$$

Para uma solução de calibração c:

$$E_{\text{cel}(c)} = E_{O_{ESI}} + \frac{RT}{ZF} \ln c_c \gamma_c - E_{\text{ref}} - E_{J(c)}$$

Para uma solução teste t:

$$E_{\text{cel}(t)} = E_{O_{ESI}} + \frac{RT}{ZF} \ln c_t \gamma_t - E_{\text{ref}} - E_{J(t)}$$

$$\therefore \Delta E_{\text{cel}} = \frac{RT}{ZF} \ln \left( \frac{c_t \gamma_t}{c_c \gamma_c} \right) - \Delta E_J$$

(potencial de junção líquida residual)

Portanto, para se conhecer a concentração da amostra é preciso conhecer:

A concentração do calibrante  $c_c$

O declive do eléctrodo (geralmente diferente do teórico)

A razão dos coeficientes de actividade  $\gamma_c/\gamma_t$

O potencial de junção líquida residual  $\Delta E_{\text{cél}}$

Ignorar a contribuição dos coeficientes de actividade e dos potenciais de junção líquida corresponde a uma percentagem de erro na concentração da amostra.

O potencial de junção líquida resulta da diferente mobilidade e concentração dos iões dos electrólitos que entram em contacto e é minimizado se as mobilidades dos iões dum dado electrólito são semelhantes e as concentrações elevadas [10-11].

Por essa razão se usa cloreto de potássio saturado em muitos casos. É o que acontece no eléctrodo de calomelanos saturado, um dos eléctrodos de referência mais usado. No entanto, a contaminação das amostras com o cloreto de potássio que, apesar de em pequena quantidade, sempre escoará do eléctrodo de referência, pode torná-lo desvantajoso nalgumas situações. Assim muitos dos aparelhos de medida dos iões no plasma e sangue usam outros electrólitos como ponte salina como se pode verificar na Tabela 1, sendo esta uma das causas da diferença de valores obtidos para a mesma amostra ao serem usados diferentes aparelhos.

### Alguns exemplos de eléctrodos selectivos com aplicações em fluidos fisiológicos

#### Eléctrodos para o $H^+$

O eléctrodo de vidro medidor do pH [10, 12] foi o primeiro eléctrodo selectivo desenvolvido e é o que apresenta melhor selectividade em relação aos outros iões.

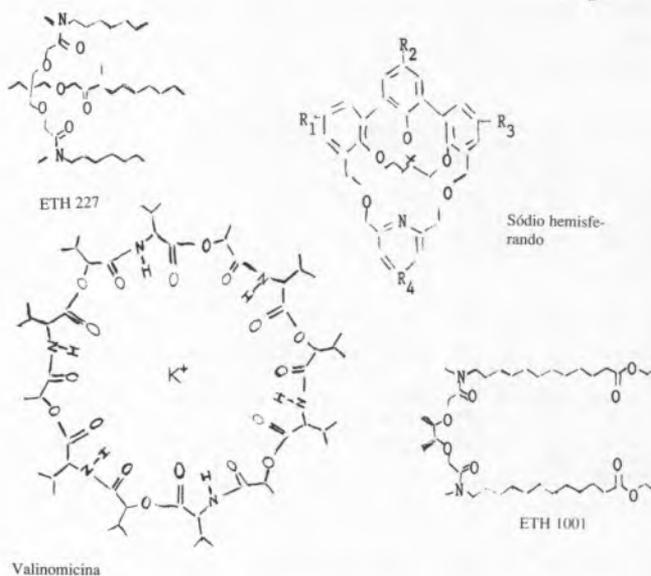
No entanto a fragilidade do vidro e a sua elevada resistência fazem com que continue a pesquisar-se um bom substituto para o mesmo. A utilização de tridodecilamina como transportado neutro para o  $H^+$ , incorporado numa membrana de PVC foi considerada especialmente apropriada para uso clínico [13].

#### Eléctrodo selectivo de sódio

Os primeiros eléctrodos selectivos de sódio foram preparados dum vidro de composição especial:  $SiO_2$ ;  $Na_2O$ ;  $Al_2O_3$  (71: 11: 18).

A ideia da preparação dos eléctrodos selectivos de sódio surgiu da verificação de que o «erro alcalino» dos eléctrodos de vidro medidores de pH não era mais do que a resposta do eléctrodo aos iões sódio em solução. Assim alterando-se a composição do vidro dos eléctrodos medidores de pH obteve-se uma mistura que permite obter resposta ao sódio de acordo com a lei de Nernst. No entanto, pelas mesmas razões apresentadas para o  $H^+$ , estão a usar-se, hoje em dia, de preferência, os chamados eléctrodos de «membrana líquida» em que um «ionóforo» (substância com afinidade para o ião em causa) é dissolvido num plastificante que permite a sua solução numa matriz que lhe dá rigidez – PVC – na maioria dos casos. Entre os vários transportadores selectivos de iões para o sódio podemos citar como exemplo o ETH 227 [14],

o sódio hemisferando (butil benzil piridil) [15], que apresentam boas selectividades em relação aos outros iões presentes no sangue.



#### Eléctrodo selectivo de potássio

O ionóforo que tem sido mais utilizado para este ião é o antibiótico valinomicina [13], que apresenta uma selectividade muito elevada do potássio em relação ao sódio e ao  $H^+$  ( $\log K_{KNa} = -5.5$ ;  $\log K_{KH} = -5.0$ ). A valinomicina tem uma estrutura heterocíclica formando uma cavidade central hidrofílica de dimensões semelhantes às do ião potássio não hidratado e com a parte externa hidrofóbica. A dimensão da cavidade central é praticamente igual à do ião potássio não hidratado.

#### Eléctrodos selectivos de cálcio

As determinações de cálcio ionizado em sistemas biológicos por eléctrodos selectivos de iões só se tornaram dignas de confiança posteriormente às dos iões citados.

Um dos ionóforos mais usados para o cálcio é o designado por ETH 1001 [16] como se pode verificar na Tabela 1.

No entanto há ainda pormenores a aperfeiçoar e, de momento, há uma comissão da CEE – «BCR Blood Electrolytes: Ionized Calcium Determination», a que a autora pertence, a trabalhar no assunto.

Outros eléctrodos selectivos tais como  $Li^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Cl^-$ , etc., estão também já desenvolvidos.

### Relação entre medidas directas e indirectas de $Na^+$ , $K^+$ , $Ca^+$ , etc., no soro e no plasma

A composição de 100 ml dum plasma tipicamente normal é: 93,1 ml de água, 5,4 ml de proteínas, 0,6 ml de lípidos e 0,9 ml de cristalóides (sais solúveis, açúcar, etc.) [17]. Ou seja a quantidade de água do plasma é cerca de 93% em pessoas saudáveis. Assim, a fotometria de chama ou potenciometria indirecta dão valores das concentrações dos iões mencionados cerca de 7% mais baixos que os dados pela potenciometria directa [18], uma vez que estes dão as actividades dos

iões na fase aquosa, que é a quantidade clinicamente relevante (as determinações feitas por fotometria de chama, absorção atómica e potenciometria indirecta referem-se ao volume total do plasma). Nos casos de hiperlipemia ou hiperproteinemia (mieloma múltiplo, por exemplo) o conteúdo em água do plasma diminui e os valores obtidos por potenciometria directa são mais significativos.

Modelo	AVL 980 (2ª geração intermédia 1979)	Corning 834 (2ª geração 1982)	KONE Microlyte (2ª geração in- termédia 1982)	NOVA 8 (2ª gera- ção 1982)	RADIOMETER ICA 1 (2ª geração 1980)
Output	Ca <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , pH Ca <sup>2+</sup> <7,4	Ca <sup>2+</sup> , K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup> , pH Ca <sup>2+</sup> <7,4	Ca <sup>2+</sup> , pH Ca <sup>2+</sup> <7,4
Ionó- foro do cálcio	ETH 1001	ETH 1001	ETH 1001	ETH 1001	DOPP
Eléct. de Ref.	Calomela- nos	Ag/AgCl	Ag/AgCl	Ag/AgCl	Calomela- nos
Ponte Salina	KCl 1,2 M	KCl sat.	KCl 3M	KCl 2M	4,6M CHOO Na
Junção Líquida	Estática aberta	membrana de diálise	Placa porosa	Fluxo	Estática aberta
Matriz Calí- brante	Trietanol- amina	MOPS + BES	Tris acetato	HEPES	TES/BES

TABELA I

Comparação de alguns analisadores de cálcio ionizado comerciais.

No entanto, dada a estreita gama de variação das concentrações destes iões no sangue, a exigência do rigor das medidas é muito grande. Assim, por exemplo para o sódio a gama normal de variação é  $150 \pm 4$  mmol/l (água do plasma) o que corresponde a uma percentagem de 2,7% ou seja menos de 0,7 mV de variação do  $E_{\text{cel}}$  (já que, para um ião monovalente a um  $\Delta E = 1$  mV corresponde uma percentagem de erro na determinação do respectivo ião de cerca de 4%).

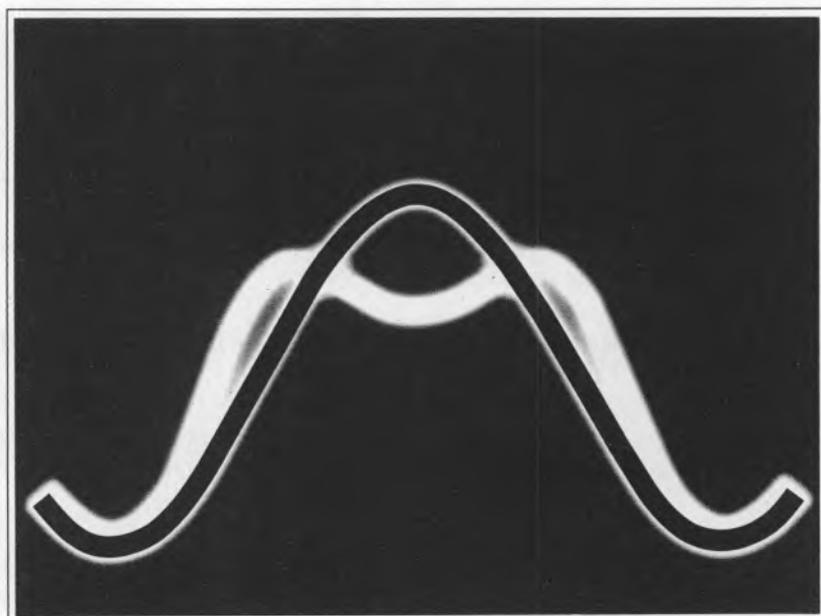
### Conclusão

A determinação de iões em fluidos fisiológicos com eléctrodos selectivos de iões é mais significativa que por outros

métodos e atingiu já um desenvolvimento muito grande. A exigência do rigor das medidas é, no entanto, muito elevada e pormenores controversos, tais como a contribuição do potencial de junção líquida (que nestes casos se reveste duma importância especialmente particular já que uma diferença de 1 mV no potencial medido corresponde a um erro na actividade dum ião monovalente de cerca de 4%) estão ainda em estudo.

### Referências

- [1] M. S. Mohan, R. G. Bates, Clin. Chem. (1975), **21**(7), 864.
- [2] A. H. J. Maas, O. Siggaard-Andersen, H. F. Weisberg, W. G. Zijlstra, Clin. Chem. (1985), **31**(3), 482.
- [3] U. Oesch, D. Ammann, W. Simon, In: AHJ Maas et al. eds., Methodology and Clinical Applications of Ion Selective Electrodes. Copenhagen: International Federation of Clinical Chemistry (1976), 123.
- [4] G. N. Bowers Jr., C. Brassard, S. F. Sena, Clin. Chem. (1986), **32**(8), 1437.
- [5] A. B. T. J. Boïnk et al., In AHJ Maas (ib) (1986), 39.
- [6] G. J. Moody, B. B. Saad, J. D. R. Thomas, Analy. Proc. (1989).
- [7] O. Siggaard-Andersen, J. Thode, J. Wandrup, In O. Siggaard-Andersen ed. Blood pH, Carbon dioxide, Oxygen and Calcium ion, Copenhagen (1981), 163.
- [8] B. M. Buckley, L. J. Russel, Ann. Clin. Biochem. (1988), **25**, 447.
- [9] G. G. Guilbault, R. A. Durst, M. S. Frant et al., Pure Appl. Chem. (1976), **48**, 127-132.
- [10] R. G. Bates, determination of pH, John Wiley & Sons, N. Y. 1965.
- [11] M. J. R. Rebelo, Potenciais de junção líquida, Boletim da Sociedade Portuguesa de Química (1990) **39**(2), 25.
- [12] M. F. G. F. C. Camões, Boletim da Sociedade Portuguesa de Química (1982), **11**, 41.
- [13] U. Oesch, D. Ammann, W. Simon, Clin. Chem. (1986), **32**(8), 1448-59.
- [14] M. Güggi, M. Oehme, E. Pretsch, W. Simon, Helv. Chim. Acta (1976), **59**, 2417-20.
- [15] N. Van Brunt et al., Clin. Chem. (1987), **33**(6), 1005.
- [16] P. Anker, D. Ammann, P. C. Meier, W. Simon, Clin. Chem. (1984), **30**, 454-6.
- [17] J. D. Czaban, A. D. Cornier, K. D. Legg, Clin. Chem. (1982), **28**(9), 1936-45.
- [18] F. S. Apple, D. D. Koch, S. Graves, J. H. Ladenson (1982), **28**(9), 1931-5.



# ESOR III

3rd European Symposium  
on Organic Reactivity

Göteborg, Sweden,  
July 7-12, 1991



# CHEMISTRY AND DEVELOPING COUNTRIES

---

## CONFERENCE THEMES

---

This conference will be the second organised by The Royal Society of Chemistry on the theme of Chemistry and Development. The first was held in Norwich in 1984 in conjunction with the British Association for the Advancement of Science on the occasion of the 50th anniversary of the British Council, and dealt with collaboration in research, education and training. The 1991 conference, to be organised as part of the celebrations to mark the 150th Anniversary of The Royal Society of Chemistry, will deal with the following two themes.

### *Theme 1 Chemistry for the Environment*

This theme will concentrate on the mechanisms and strategies for organising science (with particular reference to chemistry) to benefit developing countries. It will review aspects such as the training and organisation of skilled manpower; the resources required for the development of scientific research and training; the role of institutes of higher education, professional bodies, multinationals, science parks, Government policy and laws relating to intellectual property in promoting science and science-based aspects of national development.

### *Theme 2 Organising Science to Benefit the Third World*

This theme will concentrate on the mechanisms and strategies for organising science (with particular reference to chemistry) to benefit developing countries. It will review aspects such as the training and organising of skilled manpower; the resources required for the development of scientific research and training; the role of institutes of higher education, professional bodies, multinationals, science parks, Government policy and laws relating to intellectual property in promoting science and science-based aspects of national development.

Representatives of several chemical associations from around the world will be invited to present their views of problems and opportunities.

---

## FURTHER INFORMATION

---

There will be an opportunity for the presentation of posters and those intending to do so should indicate their topic on the reply form opposite. The organising committee may then invite certain posters to be presented as talks.

An excellent range of hotels and University accommodation will be available close to the conference venue.

The conference is being organised immediately prior to The Royal Society of Chemistry's Annual Congress to be held from 8-12 April at the same venue and it is hoped that participants at the Chemistry and Developing Countries conference will stay on for the Congress. There will be a welcoming reception on the Friday evening, with the conference itself beginning on Saturday morning and ending at lunchtime on Monday.

Enquiries about the conference should be addressed to:

Stanley S. Langer  
The Royal Society of Chemistry  
Burlington House  
Piccadilly  
London W1V 0BN  
England

Tel: 071-437 8656  
Telex: 268001 CHEMSO G  
Fax: 071-734 1227 or 071-437 8883





ROCK & LUTHER

# Sistemas terapêuticos e formas de libertação controlada, de uso não parentérico\*

A. Lupi Nogueira<sup>a</sup>

A. Lupi Nogueira

Nasceu em Lisboa, em 8 de Julho de 1921.

É Professor Associado Definitivo do 3.º Grupo (Ciências Farmacêuticas) da Faculdade de Farmácia de Lisboa.

Iniciou a sua vida profissional como analista na Comissão Reguladora dos Produtos Químicos e Farmacêuticos (1946-1952). Por convite assume a Dir. Técnica do Laboratório Fidelis (1952-1954). Igualmente por convite, transita para a Dir. Técnica do Lab. Medicamenta (1954-1962). Director de Produção e do departamento de pesquisa e desenvolvimento do Lab. Sanitas (1962-1980). Interessado na carreira académica ingressa como assistente voluntário da Escola de Farmácia de Lisboa (1952-1954) sendo então contratado como 2.º assistente de Galénica e de Técnica Farmacêutica (1954-1960). A fim de poder concluir os trabalhos para doutoramento passa novamente a assistente voluntário (1960-1965). Conclui as provas de doutoramento em Maio de 1965 com 18 valores. Segue-se um interregno na carreira académica até 1975, altura em que é contratado como equiparado a professor extraordinário passando ao quadro por nomeação como professor associado com efeitos a partir de 1979. Após a apreciação elogiosa do seu relatório quinquenal é nomeado a título definitivo (1984).

Colaborou activamente na Organização do 2.º Congresso Luso-Espanhol de Farmácia, bem como nas 7.ªs Jornadas Farmacêuticas realizadas em Lisboa, Porto e Coimbra.

Foi membro da Comissão Permanente da Farmacopeia Portuguesa. É membro da Comissão para o Formulário Nacional de Medicamentos e da Comissão Interuniversitária para a Reforma do ensino de farmácia (1985-1986). Desde 1975 tem colaborado em todos os órgãos de gestão da Faculdade de Farmácia de Lisboa.

É membro da British Society of Rheology (1973).

Tem publicados mais de trinta artigos e proferiu numerosas conferências.

## Conceitos Gerais

A administração peroral dum dose única dum fármaco é traduzida por uma curva concentração plasmática/tempo, dependente da absorção, distribuição, metabolismo e eliminação (ADME) de configuração clássica e característica. A curva ascende rapidamente, atinge um máximo e cai exponencialmente. No pico de concentração máxima, a velocidade de absorção iguala a de eliminação.

Se fizéssemos a ministração de nova dose de fármaco apenas quando o ramo descendente da curva se aproxima da concentração inicial, a curva repetir-se-ia de maneira similar, dando origem a um intervalo de tempo, sem qualquer actividade terapêutica, excessivamente longo, com todos os inconvenientes que daí advêm.

Se, pelo contrário, fizermos novas tomadas medicamentosas logo que a concentração plasmática atinja o nível terapêutico mínimo, no ramo descendente, conseguimos manter uma actividade terapêutica durante muito mais tempo, apesar da existência de picos e vales pouco desejáveis. Numa hipótese destas, o doente teria de ser incomodado numerosas vezes durante as 24 horas, com a inevitável tendência à não obediência ao esquema posológico (sempre que o intervalo entre cada dose seja inferior a 8 horas, a «desobediência» aumenta).

Por vezes a dose do fármaco tem de ser excepcionalmente elevada, ultrapassando o limite tóxico, para que haja concentração activa no local onde é pedida a sua acção. Daí os inevitáveis e indesejáveis efeitos colaterais ou secundários. Poderemos, em resumo, referir os principais inconvenientes das formas galénicas convencionais do seguinte modo:

- Duração de acção do(s) princípio(s) activo(s), por vezes muito breve.
- Necessidade de várias administrações durante o dia para melhor aproveitamento das concentrações com actividade terapêutica.
- Grandes flutuações de níveis plasmáticos, em especial com as formas orais.
- Necessidade de elevadas concentrações para obter suficiente princípio activo ao nível do local de acção.
- Efeito da primeira passagem hepática, particularmente notável nas formas orais.

\* Resumo alargado da palestra realizada na "Ordem dos Farmacêuticos", subordinada ao título "Sistemas Terapêuticos e novos fármacos no século XXI" (1988).

<sup>a</sup> Faculdade de Farmácia, Av. das Forças Armadas, 1600 Lisboa.

– Agressividade de certos princípios activos em algumas mucosas ou órgãos.

Daí as tentativas para melhorar a actividade terapêutica segundo estratégias baseadas em métodos fisiológicos, físico-químicos ou de tecnologia farmacêutica, capazes de modificar os factores que influem na biodisponibilidade e que esquematizamos do seguinte modo:

QUADRO 1  
Factores que interferem na biodisponibilidade

A) Factores dependentes do organismo	Factores fisiológicos	Absorção Composição dos fluidos em contacto com a forma Condições fisiológicas no local da libertação
	Barreiras biológicas	Membranas celulares
	Características do paciente	Idade, sexo, peso Condições gastro-intestinais pH Mobilidades Perfusão Estrutura Flora Má absorção Função hepática Função renal Fenotipo genético
B) Factores dependentes do(s) Fármaco(s)	Características do Fármaco puro	Solubilidade Estrutura cristalina Coeficiente de partilha Tamanho da partícula
	Características do Fármaco modificado	Sob a forma de sal Sob a forma de ester Sob a forma sulfonada Com grupos hidrófobos
C) Factores dependentes da forma e da fórmula do medicamento	Excipientes	Diluentes Aglutinantes Desagregantes Absorventes Lubrificantes Corantes Aromatizantes Conservantes
		Processos de manufactura
	Condições de armazenagem	

Actuando sobre tais factores é possível melhorar a absorção ou prolongar e manter a acção terapêutica.

Em todas as formas farmacêuticas tradicionais e sistémicas com excepção das administradas por via intravenosa, a cinética de absorção/eliminação segue uma reacção de ordem 2.

Sabe-se que a distribuição do fármaco no organismo só atinge o equilíbrio quando a velocidade de absorção iguala a velocidade de eliminação durante um grande intervalo de tempo (com algumas excepções – por exemplo com o anti-bióticos em que a concentração máxima só interessa na ocasião em que os microrganismos se multiplicam).

Ora este «desideratum», improvável com as formas galé-

nicas convencionais, constitui a finalidade de todos os sistemas de libertação programada e controlada.

### Conceito e características dos sistemas terapêuticos

#### Finalidades e vantagens

Zaffaroni, um dos principais investigadores e impulsionadores das tecnologias dos sistemas terapêuticos, era de opinião de que, em vez de se gastarem verdadeiras fortunas na síntese de novas moléculas com utilização terapêutica, se aplicassem verbas em investigação para melhoria dos medicamentos já existentes, controlando o lugar, a intensidade e a duração da acção dos fármacos que os compunham, sendo de destacar a importância da especificidade do local de absorção (o que levanta enormes problemas técnicos).

Segundo aquele investigador, um sistema terapêutico será: «dispositivo que cede um ou mais fármacos de modo contínuo, segundo um esquema predestinado, por um período fixado, quer na corrente sistémica, quer no órgão alvo».

Higuchi, resume assim as finalidades dos sistemas terapêuticos:

– Assegurar a manutenção constante e a longo prazo da actividade terapêutica, segundo uma cinética controlável (ordem 0 ou 1), reduzindo ao mínimo a intervenção do doente e proporcionando uma fácil obediência ao esquema posológico.

– Dirigir as substâncias activas libertadas, de modo selectivo, até a um alvo (órgão, célula ou tecido), com um mínimo de efeitos indesejáveis.

De qualquer forma os sistemas de libertação programada e controlada oferecem vantagens nítidas sobre as formas farmacêuticas tradicionais, especialmente nos seguintes aspectos:

– Possibilitar o uso de princípios activos com semi-vida biológica muito curta.

– eliminar as grandes flutuações nas concentrações plasmáticas evitando os picos tóxicos e os vales subterapêuticos.

– Evitar os riscos de uma não obediência do paciente ao esquema posológico instituído.

– Suprimir ou diminuir acentuadamente os efeitos secundários.

– Melhorar a comodidade do doente, evitando a necessidade do despertar em pleno sono.

– Economizar, por melhor aproveitamento do princípio activo, ou pela diminuição dos custos de enfermagem.

Isto não significa que estas novas formas de libertação modificada sejam destituídas de possíveis inconvenientes.

Na verdade pode haver:

– Risco de acumulação.

– Dificuldade de eliminação rápida em caso de intolerância.

– Alguma falta de reprodutividade na resposta terapêutica (formas orais).

– Modificação do programa por fraccionamento das formas sólidas.

– Perda de flexibilidade nas dosagens individuais.

#### Elementos constituintes de um sistema terapêutico

Entre os quatro elementos que compõem um sistema (o fármaco, o módulo de libertação, a plataforma e o programa terapêutico), talvez possamos considerar como mais impor-

tante a unidade que controla a libertação do fármaco, já que terá de possuir um reservatório, um elemento de controlo de libertação, uma fonte de energia e uma abertura ou superfície de libertação.

O papel dos polímeros sintéticos na unidade do controlo de libertação é de tal importância que reside neles a base da maioria das patentes registadas.

A plataforma, que integra o conjunto de elementos do sistema, ou é móvel dentro de determinada zona (via oral), ou adere ao local de administração (transdérmicos).

### Sistemas orais de libertação controlada

O facto da via oral ser a mais fisiológica, justifica que um grande número destes sistemas tenha sido orientado para o aproveitamento desta via, ainda que, ironicamente, seja aquela que apresenta maior número de problemas não resolvidos, e que só terão resposta cabal depois do perfeito domínio dos fenómenos intra-celulares no tracto gastro-intestinal, a nível da biologia molecular. Quando, para os sistemas orais em particular, for dominada a tecnologia que permita uma libertação do princípio activo em local específico, estaremos na presença de medicamentos para «depois de amanhã».

Pela sua enorme superfície o tracto digestivo será uma região que, potencialmente, pode permitir grande e selectiva absorção. Porém, um dos condicionalismos a vencer será o da motilidade, que tentará remover tudo o que não for endógeno. Já é de há muito conhecido que o peristaltismo é diferente na situação de jejum ou com o estômago cheio.

Por isso, os principais desafios postos aos investigadores, foram o de controlar o tempo de trânsito intestinal e o de evitar ou diminuir a eliminação pré-sistémica.

Isto justifica que tenhamos tentado agrupar alguns desses sistemas em cerca de 5 sub-grupos e respectivas variedades.

#### Dispositivos flutuantes

Em teoria, para aumentar o tempo de trânsito intestinal basta reter ou fixar o sistema a qualquer área do tracto gastro-intestinal. Assim, algumas das patentes de sistemas baseiam-se no maior tempo de permanência no estômago. Para tal, as tecnologias utilizadas conseguem que os sistemas boiem no suco gástrico por obtenção de densidades inferiores a 1.

#### a) Com hidrocolóides

A granulação do fármaco com hidrogeles (como a hidroxietilcelulose, hidroxipropilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, carboximetilcelulose sódica, em proporções variando de 20 a 75%) e posterior compressão a uma dureza de 7Kp, permite a obtenção de comprimidos, que em contacto com o fluido gástrico gelificam à volta do comprimido, formando uma barreira insolúvel e tornando-os menos densos que a água (U.S. Patente 4.167.558 e 4.140.755).

#### b) Dispositivos insufláveis

Em patentes mais sofisticadas, em que a plataforma do sistema é uma cápsula de gelatina, existe uma câmara con-

tendo um líquido que se vaporiza à temperatura do corpo e que insufla a respectiva câmara, fazendo boiar o conjunto. Essa câmara é posteriormente colapsada pela dissolução gradual dum filamento dum polímero biocompatível, sendo então ejectado o reservatório contendo o princípio activo que será libertado por difusão através da membrana polimérica (U.S. Patente 3.901.232).

Numa variante deste processo, para além dum suporte igualmente insuflável que obriga o conjunto a boiar, a libertação do fármaco a partir do dispositivo é controlada por pressão osmótica (U.S. Patente 3.786.816).

#### Bombas osmóticas

Foram patenteadas inicialmente pela Alza Corporation, através dos estudos de Zaffaroni, Higuchi e outros com a designação de sistemas OROS e OROS push-pull (OR de oral e OS de osmóticos).

No 1.º caso o núcleo do comprimido é envolvido numa membrana semipermeável apenas interrompida por um pequeno orifício conseguido com raios laser. Ao contacto com o suco gástrico só entra água para o núcleo do comprimido, criando pressão osmótica suficiente para fazer sair produto pelo orifício em velocidade constante, igual à velocidade de entrada de água. A cinética de libertação será portanto de ordem zero, independente da quantidade de fármaco que permanece no comprimido e que deve manter-se constante em função do tempo (U.S. Patente 4.036.227).

$K_L^0$  = velocidade de entrada de água = velocidade de saída do fármaco =  $K_e \cdot C_d \cdot V_d$

$K_L^0$  - Constante de velocidade de ordem zero do fármaco

$K_e$  - Constante de velocidade de ordem um para administração global do fármaco

$C_d$  - Nível do fármaco desejado no corpo (quantidade/volume)

$V_d$  - Volume do espaço onde se distribui o fármaco

Lonsdale utiliza a seguinte equação:

$$\frac{dv}{dt} = K \frac{A}{l} (\Delta\pi - \Delta P)$$

$\frac{dv}{dt}$  - velocidade do fluxo de água

$\Delta\pi$  - diferença em pressão osmótica

$\Delta P$  - diferença em pressão hidrostática

$K$  - permeabilidade da membrana (área)

$A$  - superfície da membrana (área)

$l$  - densidade da membrana

Na variante «push-pull», a fonte de energia é também a pressão osmótica, não provocada pelo produto activo, mas por uma substância osmoticamente activa, como o cloreto de sódio ou o cloreto de potássio, contida num compartimento, parcialmente envolvido por uma membrana semi-permeável, obstruído na parte restante por uma membrana elástica impermeável, que vai sendo deformada à medida que a água entra no compartimento osmótico. Como consequência dessa deformação o produto medicamentoso sai pelo orifício feito

por laser, também em velocidade constante (cinética de ordem zero).

Este dispositivo não obriga a fármacos osmoticamente activos, além de permitir o uso de líquidos ou pastas no compartimento contendo o princípio activo (G.B. Patente 1.551.898).

#### *Sistemas orais controlados por difusão*

Nestes sistemas a velocidade de libertação do fármaco é dada pela sua difusão através de um polímero insolúvel na água. Existem dois tipos fundamentais: um em que o fármaco está num depósito central, envolvido por uma membrana polimérica e outro em que o fármaco é dissolvido ou disperso uniformemente numa matriz polimérica inerte.

Os sistemas reservatórios são controlados pela aplicação da 1.ª lei de difusão de Fick.

$$J = -D \frac{dC_m}{dx}$$

J=fluxo do fármaco através da membrana

D=coeficiente de difusão do fármaco nas membranas

$dC_m/dx$ = gradiente de concentração do fármaco

Algumas das patentes registadas para sistemas controlados por difusão constituem variantes deste fundamento.

#### a) Com membranas microporosas

O comprimido é envolvido por um polímero não degradável pelo meio gástrico (co-polímero de cloreto de vinilo e acetato de vinilo misturado com uma pequena quantidade de substâncias solúveis (lauril-sulfato de sódio). Em contacto com o fluido gástrico desaparece a substância solúvel, ficando uma membrana microporosa. A rigidez e tamanho do poro são evidentemente reguláveis (N.L. Patente 7.313.696).

#### b) Membranas de solubilidade controlável

O comprimido é envolvido por um polímero termoplástico do tipo do cloreto de polivinilo, misturado com um plastificante como o ftalato de dioctilo. Este último vai criar uma solubilidade controlada da membrana no fluido gástrico (B.E. Patente 814.491).

#### c) Com resinas de troca-iónica

A adsorção do fármaco a grânulos de resina de troca-iónica dá origem a um complexo que por sua vez pode ser ou não envolvido por um polímero permeável à água (co-polímero do ester poliacrílico-metacrílico). Da proporção de grânulos envolvidos e não envolvidos resultarão diferentes velocidades de libertação do fármaco, independentemente do ambiente gástrico (pH, acção enzimática, esvaziamento, etc.) - U.S. Patente 4.221.778.

#### *Sistemas muco-adesivas*

Atendendo a fármacos que sofrem extenso metabolismo de primeira passagem, tem havido várias tentativas para o minimizar.

Surgem assim os sistemas mucoadesivos que utilizam polímeros capazes de se ligarem às glicoproteínas, principais componentes dos mucos subjacentes ao epitélio de cada mucosa. É evidente que a escolha do polímero dependerá das características de cada mucina.

Dado que tais características variam ao longo de todo o tracto digestivo, em teoria, será possível fixar o sistema ao local que desejarmos (G.B. Patent 1.279.214 e U.S. Patent 3.911.099). Então as vantagens dum tal sistema seriam:

- Circunscrever os processos de «clarificação» que ocorrem no epitélio;
  - Reduzir as flutuações dos níveis plasmáticos do fármaco;
  - Reduzir a variabilidade das respostas terapêuticas inter e intra grupos;
  - Possibilitar o uso de melhoradores de penetração;
  - Facilitar o transporte de petidos através do tecido epitelial, pelo uso, por exemplo, de inibidores de peptidases.
- Uma das alternativas ao uso dos muco-adesivos é actuar sobre as fibronectinas, também conhecidas por proteína Z, que representam a «cola» que mantém unidas as células do epitélio.

#### *Sistemas para absorção no colon*

Tem sido tentada a absorção sistémica pelo colon, usando para isso polímeros apenas sensíveis ou degradáveis a pH 8-8,4, valores muito frequentes naquela zona, embora isso não represente uma técnica segura.

Outra alternativa seria aproveitar o teor microbiano, qualitativo e quantitativo existente na zona. Sabe-se, por exemplo, que certas fibras dietéticas (de sementes de guar) são biodegradáveis por bactérias do colon. Bastaria impregnar tais fibras com fármacos, como esteróides, antibióticos, etc.

Algumas dessas bactérias são azorredutoras; daí a tentativa de administrar insulina envolvida em azopolímeros, degradáveis por azorredutores.

Existem na mucosa gastrointestinal vários factores que reduzem a possibilidade do transporte de macromoléculas intactas (inerentes à molécula, factores não imunológicos e imunológicos. Ig A; Ig G; Ig M; Ig E).

Mas existe evidência clínica da absorção de macromoléculas e, uma vez que os fármacos do futuro tendem a ser de natureza peptídica ou proteínica, há que avançar na investigação dos mecanismos que permitem tais absorções.

Tudo aponta para um papel preponderante do sistema linfático, das células M, dos agregados de Peyer, etc.

Em vez de uma libertação constante é possível uma libertação pulsada, favorável a certos tipos de fármacos como os antibióticos, antineoplásicos, hormonas.

Tal libertação pulsada é mais fácil em dispositivos de aplicação parentérica, condicionando a libertação do fármaco a uma resposta enzimática (administração de insulina por glucose-oxidase).

#### **Sistemas transdérmicos ou percutâneos**

Entre os sistemas transmucósicos são sem dúvida os transdérmicos aqueles que parecem melhor estudados. O seu grande sucesso iniciou-se com a escopolamina, num pequeno penso que se coloca atrás da orelha, permitindo uma

protecção contra o enjoo das viagens durante três dias, com uma libertação de ordem zero, sem os efeitos secundários acusados pela administração oral.

Mas recentemente surgiram os pensos com trinitroglicerina, cujos resultados entusiasmaram exageradamente os médicos, os doentes e os investigadores, a ponto de se pensar que qualquer fármaco poderia ser incorporado num sistema transdérmico.

Apesar das muitas vantagens que estes sistemas exibem existem também várias limitações ao seu uso generalizado.

Na verdade entre as vantagens situam-se:

- Redução dos problemas relacionados com o metabolismo do primeira passagem, donde o uso de doses muito baixas dos fármacos.
- Manutenção de níveis plasmáticos.
- Fácil obediência do doente.
- Remoção do sistema em qualquer altura, quando se manifestam efeitos indesejáveis.

Mas a tecnologia dos sistemas transdérmicos só é acessível a fármacos muito potentes, e difícil ou impossível para fármacos demasiado lipofílicos e fármacos ionizados (só por iontoforesis). São formas potencialmente alergizantes.

Os fármacos contidos nestes pensos percutâneos podem sofrer reacções enzimáticas e serem metabolizados pela microflora local.

A tecnologia de fabrico é complicada já que envolve, numa pequena superfície, o uso de melhoradores de permeabilidade (dimetilsulfóxido, ureia, 2-pirrolidona, azona, surfactantes não iónicos) e escolha duma membrana microporosa polimérica, um reservatório do fármaco ou uma matriz polimérica.

Entre os sistemas transmucósicos nasais estuda-se com esperança fundamentada a administração de insulina.

### Sistemas locais

Baseados na libertação do fármaco controlada por difusão referimos apenas o OCUSERT e o PROGESTASERT, o primeiro para o tratamento do glaucoma, por libertação constante de pilocarpina durante cerca de uma semana (sem o perigo e os inconvenientes do colírios clássicos), e o segundo como dispositivo intra-uterino, usado como contraceptivo, com a libertação constante de progesterona durante 180 a 360 dias.

### Outros sistemas

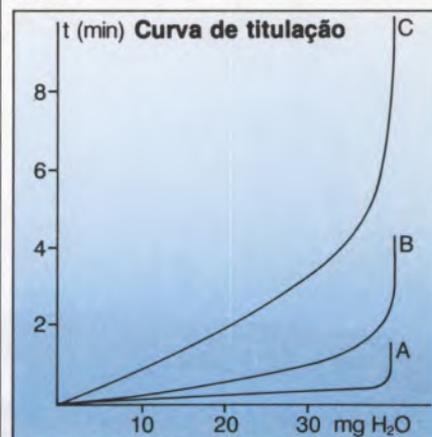
Para não tornar excessivamente longa esta exposição, e porque noutro artigo são parcialmente tratados, não abordámos os novos sistemas terapêuticos administrados por via parentérica onde também se verificam enormes progressos tecnológicos. Basta recordar os sistemas citotrópicos e o sofisticado «pâncreas artificial», onde um microprocessador colhe e analisa o sangue do diabético e depois injecta a quantidade de insulina, por dilatação dos poros da pele e acesso aos capilares subcutâneos.

## Informação Riedel-de Haën:

### TITULAÇÃO KARL-FISCHER

# HYDRANAL® Titulação KF perfeita!

HYDRANAL® é a nova geração de reagentes de Karl-Fischer isentos de piridina. Os reagentes HYDRANAL® melhoraram drasticamente as características de titulação, sendo por isso usados em laboratórios de análise espalhados por todo o mundo. Estes reagentes estão patenteados mundialmente.



**Curva A:** Solvente-titulante HYDRANAL®

(reagente com dois componentes)

**Curva B:** Compósito HYDRANAL®

(reagente monocomponente)

**Curva C:** Reagentes antigos contendo piridina

#### Vantagens:

- titulação rápida
- ponto final estável
- resultados precisos
- isentos de piridina
- isentos de metilglicol

**Riedel-de Haën**  
Aktiengesellschaft  
Wunstorfer Str. 40  
D-3016 Seelze 1  
Telefon (51 37) 7 07-248

**Hoechst Portuguesa S.A.**  
Apartado 6  
Estrada Nacional - Lisboa-Sintra  
Mem Martins / Portugal  
Telefones (1) 921 21 60 / 921 77 23  
Telex: 16380 Hoelis  
Telefax: (Infotec 6510) (1) 921 00 10



# Pilotagem de fármacos

Luís Filipe Vicente Constantino <sup>a</sup>



Luís Filipe  
Vicente Constantino

*Licenciado em Ciências Farmacêuticas, Ramo Farmácia Industrial, pela Faculdade de Farmácia de Lisboa em 1985. Monitor na Faculdade de Farmácia de Lisboa (1983-1985). Assistente Estagiário na Faculdade de Farmácia de Lisboa (1985-1989). Assistente na Faculdade de Farmácia de Lisboa (1989-). Trabalhou em Portugal (LNETI) e nos EUA (M. D. Anderson Hospital em Houston e National Jewish Center for Immunology and Respiratory Medicine em Denver) no campo de aplicações terapêuticas de liposomas. Actualmente faz investigação na FFL em modelos biomiméticos para estudo de metabolismo de N,N-dimetilamidas antitumorais.*

## Introdução

A aplicação do arsenal terapêutico disponível está frequentemente limitada pela acção indiscriminada dos fármacos e pela sua dificuldade em atingir preferencialmente as áreas que necessitam de tratamento. Quando se administra um fármaco este não se dirige apenas aos seus órgãos alvo mas distribui-se também por outros tecidos, daí muitas vezes o aparecimento de efeitos secundários e toxicidade elevada. Por outro lado o desenvolvimento de novos fármacos mais selectivos é muito dispendioso, extremamente lento e muitas vezes incerto.

Recentemente surgiu uma nova abordagem ao problema que consiste em dirigir a investigação não para o desenvolvimento de novos fármacos mas sim para a optimização dos já existentes através de vários tipos de sistemas terapêuticos os quais se podem dividir em duas grandes categorias:

- os sistemas de libertação programada, onde se controla a cinética de libertação do fármaco, como sejam os sistemas transdérmicos ou os implantáveis de libertação programada.
- os sistemas de transporte de fármacos onde a aposta é mais audaz e se tenta interferir na distribuição do fármaco com o intuito de atingir determinados tecidos em detrimento de outros. Os lipossomas, as microesferas, os complexos fármaco-anticorpo e os eritrócitos são exemplos deste tipo de sistemas terapêuticos.

Com o direccionamento de fármacos não se pretende modificar o seu modo de acção a nível molecular mas tão só aumentar a selectividade pelo uso de transportadores que, sem nenhuma actividade farmacológica intrínseca, possam guiar o fármaco até ao seu órgão alvo.

Apesar do conceito de direccionamento ter mais de um século só há cerca de 20 anos foi possível iniciar estudos experimentais efectivos que originaram uma vasta gama de sistemas sintéticos, macromoleculares ou celulares que têm sido testados com vista à sua utilização clínica.

## Anticorpos

Anticorpos são proteínas que são formadas em resposta a determinados agentes (antigénios) e que reagem especificamente com eles inactivando-os. Uma condição fundamental para o aparecimento do Anticorpo é que o agente seja reconhecido como estranho ao organismo.

<sup>a</sup> Faculdade de Farmácia, Av. das Forças Armadas, 1600 LISBOA

Recentemente com o advento dos anticorpos monoclonais tornou-se possível preparar quantidades apreciáveis de anticorpos dirigidos contra antigéneos associados com tumores, vírus ou bactérias, criando assim a possibilidade dos anticorpos serem estudados como meio de dirigir fármacos para alvos específicos.

A ligação de fármacos a anticorpos é potencialmente uma forma de lhes aumentar a selectividade especialmente quando estes são providos de uma citotoxicidade elevada como é o caso dos anticancerígenos.

Esta abordagem está a ter um sucesso particular com a utilização de toxinas muito poderosas em lugar de agentes citotóxicos convencionais. Estas macromoléculas são normalmente compostas de duas cadeias polipeptídicas, uma  $\beta$ , responsável pela ligação às células, e uma  $\alpha$ , responsável pela acção citotóxica – inibição da síntese proteica. Vários investigadores têm substituído a cadeia  $\beta$  por anticorpos de molde a direccionar o complexo para células específicas e ao mesmo tempo evitar efeitos laterais severos que poderiam acontecer se a toxina nativa fosse libertada para a circulação. Um dos problemas que se põe aos investigadores é de ordem química: as técnicas usadas para ligar o fármaco ao anticorpo, levam muitas vezes à destruição de um deles ou à alteração da estrutura terciária das moléculas o que pode originar uma farmacocinética diferente do previsto.

Outro dos problemas é a possibilidade de existência em circulação de antigéneos-alvo os quais ao ligarem-se ao complexo fármaco-anticorpo impediriam a sua ligação às células. No entanto este problema a surgir poderia ser ultrapassado pelo doseamento dos antigéneos circulantes e a sua inactivação por meio da quantidade apropriada de anticorpo.

### Outras macromoléculas

Para além dos anticorpos, muitas outras macromoléculas têm sido estudadas como transportadoras de fármacos, apresentando como estes algumas vantagens não negligenciáveis uma vez que a sua solubilidade e tamanho reduzido lhes permite ganhar acesso a regiões inacessíveis a outros transportadores, ao mesmo tempo que evita que sejam removidos rapidamente da circulação.

O número destes potenciais transportadores é enorme, virtualmente todas as proteínas do plasma desde as lipoproteínas de alta densidade até à albumina ou fibrinogénio têm sido propostas. Uma solução engenhosa consiste em associar fármacos a péptidos por via de ligações que possam ser quebradas pela plasmína. Uma vez que esta enzima está em elevadas concentrações nas imediações de tumores o transportador é cindido localmente sendo o fármaco libertado no seu local de acção.

As glicoproteínas pelo facto de possuírem afinidade para receptores celulares específicos têm também sido estudadas. Estas moléculas possuem resíduos de carboidratos que lhes permite a ligação selectiva a certas células. Por exemplo a interacção de glicoproteínas com receptores presentes nas células do parênquima hepático leva à sua internalização por endocitose, portanto é possível com estas moléculas pilotar fármacos para estas células. Numerosos exemplos do seu uso têm sido citados em terapia anti-viral, anti-parasítica e anti-tumoral.

Por outro lado transportadores baseados em macromoléculas sintéticas como polietilenoglicol, polivinilpirrolidona ou poliaminoácidos têm também sido propostos sendo em geral o seu direccionamento mais difícil de conseguir devido à menor especificidade associada ao transportador.

### Eritrócitos

É possível lisar glóbulos vermelhos e fechar de novo as suas membranas de modo a que estes aprisionem no seu interior água e quaisquer solutos hidrosolúveis da solução onde se encontram.

Este procedimento permite encapsular em «células fantasma» uma variada gama de fármacos e enzimas.

Propôs-se que os glóbulos vermelhos poderiam ser incorporados com enzimas as quais promoveriam, enquanto estavam em circulação, a degradação de moléculas indesejáveis como por exemplo a aspargina em doentes com leucemia, uma vez que este aminoácido é essencial para as células leucémicas não o sendo para as células normais.

No entanto devido à complexidade destes transportadores existem problemas evidentes quando se pensa na sua implantação clínica principalmente tendo como concorrentes os lipossomas que são mais bem definidos quimicamente e não têm o potencial de antigenicidade associado aos eritrócitos.

### Lipossomas

Dentro dos vários tipos de sistemas de transporte actualmente em investigação os mais estudados têm sido os lipossomas provavelmente devido à sua toxicidade praticamente nula, facilidade de preparação, ao facto de serem formados a partir de substâncias naturais e ainda à vasta gama de fármacos possíveis de incorporação.

Há cerca de 25 anos foi observado que a hidratação de um filme de fosfolípidos dava origem a vesículas às quais se convencionou chamar lipossomas. As moléculas lipídicas arranjam-se em vesículas esféricas, que consistem numa ou mais bicamadas rodeando um espaço interno aquoso. As bicamadas são constituídas por fosfolípidos e têm uma estrutura semelhante à da membrana celular, pelo que os lipossomas têm sido muito usados como modelos membranares.

O valor potencial dos lipossomas em terapêutica deriva da facilidade que estas vesículas têm de incorporar tanto substâncias hidrofílicas como lipofílicas. As primeiras são encapsuladas no espaço interno aquoso, enquanto que as segundas são incorporadas nas membranas lipídicas.

Dependendo do modo de preparação os lipossomas variam consideravelmente em tamanho e número de lamelas presentes. De um modo geral, os lipossomas podem-se dividir em: –vesículas unilamelares, se apenas possuírem uma bicamada de fosfolípidos;

–vesículas multilamelares, se possuírem várias bicamadas de fosfolípidos.

Ambos os tipos de vesículas podem ser divididos de acordo com o seu diâmetro em pequenas (0.025-0.1  $\mu\text{m}$ ) e grandes (0.1-100  $\mu\text{m}$ ).

A classificação, pode ser também feita, atendendo ao seu

modo de preparação, surgindo assim várias subdivisões para cada tipo de vesículas.

O tipo mais comum de lipossomas são os MLV (vesículas multilamelares grandes), estruturas de espaços aquosos concêntricos separados por bicamadas lipídicas que muitas vezes é visualizada como se fosse uma cebola. A sonicação pode reduzir MLV e SUV (vesículas unilamelares pequenas) as quais são constituídas por um espaço interno aquoso rodeado por uma única bicamada lipídica.

As propriedades físicas dos lipossomas dependem em parte da sua composição química sendo possível usar diferentes fosfolípidos, naturais ou sintéticos e incluir esteróides, ácidos gordos ou uma variedade de outros compostos com ou sem carga. As propriedades físicas dos lipossomas dependem ainda da temperatura, pH, força iónica e presença de catiões divalentes.

Embora os lipossomas tenham sido administrados por diversas vias foi sem dúvida pela via intravenosa que se obtiveram os maiores êxitos experimentais. Os lipossomas uma vez em circulação interagem com os órgãos ricos em células do sistema reticuloendotelial (SRE) nomeadamente fígado, baço, medula óssea e pulmões sendo fagocitados pelos macrófagos aí existentes. Os macrófagos são células pertencentes ao SRE e estão na primeira linha das defesas do organismo tendo funções de fagocitose e destruição de corpos estranhos.

É no entanto possível manipulando a carga, a composição lipídica ou o tamanho dos lipossomas modular um pouco o comportamento *in vivo* destas vesículas.

Os lipossomas parecem pois ser o veículo ideal para dirigir fármacos para os macrófagos do SRE. Lipossomas de pequenas dimensões poderão também ser usados para dirigir fármacos para as células do parênquima de tecidos onde os capilares são suficientemente porosos para lhes dar passagem, como no fígado e rins. No entanto atingir células de outros tecidos com lipossomas intactos parece neste momento algo de muito difícil realização mesmo recorrendo a direccionamento por meio de anticorpos ligados aos lipossomas.

A utilização dos lipossomas em terapêutica tem sido explorada essencialmente de três modos:

–aumentar a entrega de fármaco no seu órgão alvo (quando este seja rico no SRE);

–diminuir a concentração de fármaco num tecido para o qual ele seja tóxico, tirando vantagem da alteração da farmacocinética provocada pela incorporação em lipossomas;

–diminuir a inactivação do fármaco enquanto em circulação ou a possibilidade de choque anafilático, uma vez que este está irreconhecível tanto pelo sistema imunitário como por enzimas que promovam a sua degradação.

Como era de esperar é no campo da interacção dos lipossomas com o SRE que se têm observado os resultados mais espectaculares. Devido a este sistema ser o alvo natural dos lipossomas consegue-se aumentar de várias vezes a concentração de fármaco nos órgãos alvo.

No que diz respeito ao SRE os lipossomas têm actuado de duas maneiras:

–introduzindo fármacos nas células que actuem sobre residentes indesejáveis que tanto podem ser micróbios como entidades químicas;

–introduzindo agentes que estimulem determinadas proprie-

dades das células alvo como por exemplo a capacidade fagocitária dos macrófagos.

Um resultado bastante promissor foi obtido no combate à leishmaniose. A leishmaniose é uma doença tropical que pode revestir diversas formas e que afecta milhões de pessoas em todo o mundo.

O tratamento é muito difícil visto que os fármacos disponíveis são bastante tóxicos o que torna cerca de metade dos medicamentos ineficazes.

Esta doença tem a característica do parasita responsável, a leishmania, se alojar em células do SRE. Com encapsulação de derivados de antimónio em lipossomas conseguiram-se resultados bastante espectaculares nomeadamente a nível da infecção do fígado, tendo a dose necessária para matar 50% dos parasitas diminuído cerca de 700 vezes, diminuindo em muito a toxicidade que acompanha o tratamento.

Ainda no mesmo campo há outros resultados que provam bem a utilidade dos lipossomas como sistemas terapêuticos; trata-se da encapsulação da 5-fluorocitosina e da griseofulvina conhecidos antifúngicos que demonstraram por via da encapsulação serem activos contra a forma visceral da leishmania actividade essa que nunca tinha sido demonstrada na forma livre.

Outra situação terapêutica em que se pode aproveitar a pilotagem natural dos lipossomas é a destoxificação de metais pesados muitos dos quais se acumulam em órgãos ricos no sistema retículo endotelial.

A destoxificação é feita com vários agentes quelantes como o BAL e o EDTA, no entanto os agentes quelantes disponíveis apresentam vários inconvenientes como penetração celular reduzida, excreção demasiado rápida e efeitos secundários variados.

O agente quelante só consegue na grande maioria dos casos remover a fracção de metal que se encontra no sangue, o qual é somente uma pequena parte do total. Os resultados da encapsulação destes fármacos em lipossomas são bastante prometedores pois conseguiu-se diminuir a velocidade de excreção do agente quelante, aumentar a sua captação pelos órgãos nos quais o metal se acumula, aumentar a sua penetração intracelular e portanto aumentar também a eliminação do metal indesejado em todos os casos estudados: plutónio, chumbo, ouro, mercúrio, ferro e itérbio.

Um importante aproveitamento da pilotagem natural dos lipossomas consiste em encapsular imunomoduladores para tratamento do cancro.

Os macrófagos são células multicompetentes que têm um papel importante na defesa do organismo, em particular parecem ser uma das barreiras primárias de destruição de células cancerígenas. Uma vez que as células cancerígenas têm diferenças em relação às células normais, os macrófagos podem ser activados a um estado tumoricida por intermédio de imunomoduladores como as linfoquinas (ex: interferon gama) ou o muramil dipeptídeo.

Ficou demonstrado que estas substâncias são mais efectivas se forem dadas em lipossomas do que na forma livre. Numa experiência em que se tratou com muramil dipeptídeo encapsulado ratos portadores de tumores, 74% ficou livre de metastases visíveis enquanto que no tratamento com a forma livre apenas se conseguiu o mesmo resultado em 20% dos ratos.

Entre as situações potenciais nas quais o direccionamento dos lipossomas para os macrófagos pode ser utilizado, uma das mais importantes é o uso de lipossomas como adjuvantes para vacinas.

Adjuvantes são substâncias que administradas juntamente com antígenos agem de uma maneira não específica de molde a aumentar a resposta imunitária.

De facto os macrófagos são peças importantes do processamento imunológico de certos antígenos e o principal sítio para a expressão de actividade para alguns adjuvantes. Os lipossomas ao dirigirem os antígenos para os macrófagos aumentam a sua eficácia na vacinação diminuindo assim a quantidade de antígeno necessária e permitindo economias necessárias principalmente nos países mais pobres.

Os lipossomas têm ainda sobre os adjuvantes clássicos a vantagem de apresentarem uma menor toxicidade local e sistémica.

Das potenciais vacinas cujo estudo está mais adiantado é de realçar uma vacina contra a malária, no entanto muitas outras estão em estudo.

Outro campo onde os lipossomas têm tido resultados animadores é o da terapia antitumoral convencional. Os lipossomas têm actuado pela redução da toxicidade associada aos quimioterápicos, devido a promoverem uma alteração da farmacocinética destes fármacos.

Recentemente a química de síntese tem sido chamada insistentemente ao campo dos lipossomas. Uma vez que as substâncias lipofílicas conseguem ser encapsuladas em lipossomas com uma maior eficácia e uma maior estabilidade estão-se hoje em dia a sintetizar derivados lipofílicos de fármacos que se têm mostrado eficazes quando encapsulados em lipossomas mas cuja eficácia ou estabilidade era reduzida na forma livre. Também se tenta por outro lado sintetizar profármacos lipossolúveis derivados de fármacos já existentes e que consigam ser facilmente incorporados em lipossomas mas que uma vez no local de acção sejam facilmente degradados de modo a originarem novamente o princípio activo.

Por fim torna-se importante dizer que estão actualmente em fase de estudos clínicos em humanos várias formulações lipossomais entre as quais é de realçar as de anfotericina-b, doxorubicina, e derivados do muramíl dipeptídeo esperando-se que a sua comercialização possa ser iniciada dentro de pouco tempo.

### Microesferas

Microesferas de albumina ou de polímeros sintéticos têm também sido sugeridas como transportadores de fármacos. Devido à sua natureza sintética este tipo de sistemas sofre a concorrência dos lipossomas no campo do direccionamento das microesferas para o sistema retículo-endotelial. No entanto e devido a serem permeáveis a moléculas pequenas como a ureia ou glucose, tem sido activamente estudado o

seu uso extra corporal em que uma câmara contendo fármacos enzimas ou agentes quelantes imobilizados em microesferas seria atravessada por fluídos biológicos como o plasma procedendo-se assim à sua destoxificação.

Outra aplicação engenhosa das microesferas consiste em incorporar juntamente com o fármaco partículas ultrafinas de magnetite ( $Fe_3O_4$ ) tornando-as susceptíveis ao efeito de um campo magnético o que permite que as microesferas sejam retidas nos capilares na vizinhança de tumores, aplicando exteriormente um campo na vizinhança destes.

Este sistema permite que se crie na vizinhança do tumor um depósito de libertação contínua do fármaco.

### Conclusão

Um longo caminho foi já percorrido desde o momento em que o conceito de pilotagem de fármacos foi pela primeira vez enunciado e poucos duvidarão que os próximos anos nos irão trazer novos avanços neste campo. Não se deve no entanto encarar nenhum destes sistemas como uma panaceia que poderá ser usada como vector em todo o tipo de situações pois corre-se o risco de sistemas bastante promissores virem a ser abandonados por falharem num campo para o qual nunca estiveram vocacionados.

### Referências

- D. L. Wise, D. J. Trantolo, R. T. Marino, J. P. Kitchell, *Adv. Drug Del. Rev.*, **19**, 39 (1987).
- R. L. Juliano, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **56**, 683 (1978).
- M. J. Poznanski, R. L. Juliano, *Pharmacol. Rev.*, **36**, 277 (1984).
- A. D. Bangham, M. M. Standish, J. C. Watkins, *J. Mol. Biol.*, **13**, 238 (1965).
- P. M. Ververgaert, A. J. Verkleij, P. F. Elbers, L. L. M. van Deenen, *Biochim. Biophys. Acta*, **311**, 320 (1973).
- A. Rahman, A. Fumagalli, B. Barbieri, P. S. Schein, A. M. Casazza, *Cancer Chemoter. Pharmacol.*, **16**, 22 (1986).
- D. A. Eppstein, M. A. Pass, E. B. Frazer-Smith, C. G. Kurahara, P. L. Felgner, T. R. Matthews, R. V. Water, M. C. Venuti, G. H. Jones, R. Metha, G. Lopez-Berestein, *Int. J. Immunotherapy*, **2**, 115 (1986).
- G. Lopez-Berestein, R. L. Hopfer, R. Metha, E. M. Hersh, R. L. Juliano, *Antimicrob. Agents chemother.*, **25**, 366 (1984).
- R. Perez-Soler, A. R. Khokhar, M. P. Hacker, G. Lopez-Berestein, *Cancer Res.*, **46**, 6269 (1986).
- L. Constantino, M. E. M. Cruz, *Ciência Biológica*, **12**, 5 A 228 (1987).
- L. Constantino, M. E. M. Cruz, G. Lopez-Berestein, Abstracts do II Congresso Nacional de Ciências Farmacêuticas, 10-13 Novembro 1988, Montechoro, Portugal, pp. 49. Ed. Ordem dos Farmacêuticos Lisboa, 1988.
- R. L. Juliano, D. Stamp, *Biochem. Pharmacol.*, **27**, 21 (1978).
- M. B. Yatvin, *Med. Phys.*, **4**, 149 (1982).
- T. M. Allen, A. Chonn, *FEBS Letters*, **223**, 42 (1987).
- J. Lauterztain, Perez-Soller, A. R. Khokhar, R. A. Newman, G. Lopez-Berestein, *Cancer Chemoter. Pharmacol.*, **18**, 93 (1986).
- F. Puisieux, J. Delattre, «Les Liposomes», Techniques et documentation Lavoisier, Paris, 1985.
- M. J. Ostro, «Liposomes», Ed. Marcel Dereck Inc., New York, 1983.
- «Targeting of Drugs», proceedings of a NATO Advanced Study Institute on Targeting of Drugs, June 24-July 5 1981 Cape Sounion, Greece. Ed. G. Gregoriadis, J. Senior, A. Trouet, Plenum Press, New York, 1982.
- «Drug Targeting», Proceedings of the Symposium on Drug Targeting, 3-5 October 1984 Nyon Switzerland. Ed. P. Buri, A. Gumma, Elsevier Science, Amsterdam, 1985.

## Convite à Reflexão ...

### Sem aspirina

Não só o amor, segundo uma famosa autora no seu tempo, é feito de três quartos de curiosidade, mas, para mim, confesso, o foi também, agora, a consulta médica ao cuidado do alto dignitário e eminente prático de medicina tibetana, que visitou por alguns dias, poucos, Lisboa e o Porto.

O dr. Tendzin Chodrak, monge, creio, mais de tradição do que de mundivisão, é há muito médico pessoal do Dalai-Lama; um dos quatro que cuidam da sua *saúde integral*.

O curriculum do nosso hóspede, para nós, ocidentais, apresenta-se simultaneamente fascinante pelo seu exotismo, e banal, porque o exotismo não é *exótico in loco*. O exotismo é apenas a distância física, e mais ainda a distância entre as culturas.

Então, medicina alternativa. Tal como teria sido alternativa a nossa ciência médica para os alunos da (antiga) Faculdade de Medicina em Colina-de-Ferro, em Lassa. Nome que faz sonhar ...

[...] Tendzin Chodrak, pois: levanta-se do assento, saúda o paciente com uma pequena inclinação de cabeça, repetida, depois aperta suavemente a mão. À ocidental? De novo se instala no velho cadeirão. Embora não seja dele, é da casa, parece habitar esse lugar, esse sítio, há muito tempo. Traz consigo a imobilidade?

Toca a mão quase como um cego, sobe por ela até à tradicional tomada de pulso. Primeiro, a direita. Concentrado, personalizando o *ouvir*, através da pulsação, captando o corpo todo, ou melhor, o corpo-espírito, ou ainda melhor, o corpo-espírito-macro e microcosmo, numa integração *holística* («a parte está no todo, tudo está no todo») os olhos, as princípio semicerrados, agora fechados. Os dedos não deixam de se movimentar, suavemente. A seguir o pulso esquerdo, com dupla reacção activa: do pulso, do médico. A esquerda não é a direita? O corpo é dividido em sistemas?

[...] Fala. Ouve-se essa bela melopeia da língua tibetana. Sem perceber patavina (traduzida *for me* por um compatriota seu em inglês), teria gostado de ouvir ainda mais esse concerto, sem me lembrar que falava de mim, do meu corpo, do meu sangue, ou de um planeta qualquer, este ou outro em devir. Voz baixa, porém «articulada» com clareza. Cantado ... Uma boca acústica.

O rosto? Sem idade. Algumas feridas, saradas, mas cicatrizes visíveis: dizem que são os resíduos das torturas, lembrança dos 17 anos de estada em prisões chinesas, em campos de concentração, nos últimos tempos de chamada *reeducação*.

A receita, que decorre da consulta, também ela – recitada: dita-a para o seu assistente. A particularidade da medicina tibetana (mas não o era assim também dantes no Ocidente?) é o facto de os remédios serem fabricados pelos próprios médicos: vou então receber pelo correio uns remédios, alguns genéricos, um outro, se percebi bem, confeccionado à minha medida. Remédio único dessa farmacopeia reputada e preservada desde séculos, com o recente perigo de desaparecer, ela e os seus segredos.

Feita de plantas (418 ervas medicinais), minerais, cascas, a maior parte de origem himalaiana, poucos elementos animais. Como Mendeleiev na sua classificação previra novos elementos químicos ainda por identificar, esta ciência médica, representada por Tendzin Chodrak, prevê novas doenças por declarar, dividindo-as já em 18 categorias, e propondo para cada uma pista para um futuro tratamento.

Toda esta sombria futurologia médica mal corresponde ao seu sorriso de despedida. Ternura quase, um lampejo: o sorriso de um peregrino da imobilidade ...

Amanhã, prometo que vou reler *Sidharta*, de Hermann Hess. Somos ocidentais.



# Substâncias químicas de origem vegetal com interesse medicamentoso

Elsa Teixeira Gomes <sup>a</sup>



Elsa Teixeira Gomes

*Licenciada em Química Farmacêutica pela Universidade do Porto em 1969. Obteve o D.E.A. de «Matières Premières Naturelles à Usages Médicamenteux, Option Substances Végétales d'Origine Tropicale» em 1980 e o «Doctorat de Troisième Cycle des Sciences Pharmaceutiques, Spécialité - Matières Premières Naturelles à Usages Médicamenteux», em 1982, na «Faculté des Sciences Pharmaceutiques - Université Paul Sabatier» de Toulouse.*

*Obteve equivalência ao grau de Doutor em Farmácia - Especialidade Fitoquímica, na Universidade de Lisboa em 1983.*

*Em 1970 iniciou a carreira profissional como docente universitária tendo desempenhado funções de: Assistente Eventual até 1973; Assistente até 1983; Professora Auxiliar até ao presente, tendo leccionado as disciplinas de Farmacognosia e Matérias-Primas de Origem Natural, na Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa.*

*É responsável desde 1983 por projectos de investigação da Linha 1 do Centro de Estudos de Ciências Farmacêuticas - INIC, e por um projecto da JNICT (1990), no âmbito da Química de Plantas, das Floras do Continente, da Madeira, e da Guiné-Bissau, com potencial interesse Farmacológico.*

## Introdução

A relação entre o homem e as plantas foi muito estreita através do desenvolvimento de quase todas as civilizações. Para além de alimentos, muitas plantas superiores produzem produtos orgânicos de alto valor económico (óleos, resinas, borracha, gomas, cera, corantes, aromas, etc.). O uso de produtos de origem natural (plantas, minerais, produtos de origem animal) para tratar as doenças é parte integrante do património cultural de todas as civilizações e constitui ainda actualmente o recurso medicinal mais importante das sociedades rurais dos países em vias de desenvolvimento.

O conjunto de recursos de origem vegetal, animal e mineral utilizados na preparação de fórmulas medicamentosas foi sendo compilado e, nas sociedades mais evoluídas, foi publicado em Formulários e Farmacopeias, obras editadas sob a responsabilidade das autoridades sanitárias de cada país.

A medicina como todas as outras actividades humanas evoluiu através dos séculos, intimamente condicionada pelo desenvolvimento tecnológico e científico.

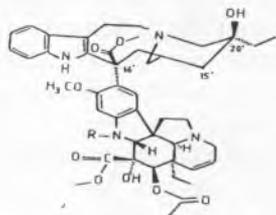
No início do século XIX foram feitos os primeiros estudos químicos, com o objectivo de isolar os chamados «Princípios Activos» das plantas; vários médicos e farmacêuticos, dessa época, se notabilizaram pela descoberta e identificação química de substâncias farmacologicamente activas, que isolaram a partir de «drogas» usadas pelos indígenas de vários países: Bernardino António Gomes, médico português que, em 1811, isolou das cascas da quina (*Cinchona* sp.-Rubiáceae), uma substância que denominou *Cinchonino*, foi precursor da descoberta da *Quinina* feita em 1820 pelos farmacêuticos franceses Pelletier e Caventou. Numerosos outros alcalóides e outras substâncias de diferentes grupos químicos, foram desde então obtidas, por extracção, a partir de plantas reputadas como medicinais, tendo esta disciplina da química, a Fitoquímica, sofrido um grande impulso nos últimos 20 anos graças a vários factores entre os quais avulta o desenvolvimento das tecnologias de extracção e purificação das substâncias de origem vegetal e o dos métodos instrumentais de análise que permitem actualmente a identificação química de substâncias com estruturas novas, mesmo quando isoladas das matérias-primas de origem, em quantidades da ordem dos miligramas.

O interesse pela química das plantas medicinais esmoreceu temporariamente devido ao grande desenvolvimento da síntese

<sup>a</sup> Laboratório de Farmacologia, Faculdade de Farmácia da U. L., Av. das Forças Armadas, 1600 Lisboa.

química no século XX que conduziu à produção industrial de potentes antipalúdicos e antibacterianos (sulfamidas) relegando para segundo plano, durante várias décadas, as «drogas» vegetais que foram sendo associadas aos conceitos de fraca actividade e de empirismo, tendo contudo subsistido, em terapêutica algumas das substâncias de origem natural que não foi possível substituir totalmente por moléculas de síntese (Digitálicos-Digoxina, Esteróides usados na Hemissíntese de Hormonas e Corticoesteróides-Diosgenina, Ecogenina, etc.) e a produção de antibióticos por fermentação a partir de várias espécies de microorganismos.

Na década de 60, a descoberta accidental, feita por investigadores canadianos, da acção leucopénica de extractos de folhas de *Cathartus roseus* G. Donn. (*Vinca rosea* L), reputada como antidiabética na medicina tradicional, suscitou o interesse de investigadores da indústria farmacêutica e conduziu à produção de medicamentos antineoplásicos à base de dois dos numerosos alcalóides, diméricos-«bis-indólicos», desta espécie da Família das Apocináceas e originária da flora de Madagascar:



A Vincristina=Leurocristina, de fórmula  $-R=CH_0$ , sobretudo eficaz no tratamento de leucémias linfoblásticas e a Vinblastina=Vincalécoblastina, de fórmula  $-R=CH_3$ , particularmente activa na doença de Hodgkin, e em certas leucémias e tumores sólidos.

Este e outros factos tais como a descoberta de outras substâncias com actividades fisiológicas potentes e a simpatia que desperta actualmente tudo o que se relaciona com a natureza e a ecologia, é apontado por numerosos autores como desencadeador do renascimento da fitoterapia e pelo grande incremento a que se assiste a nível mundial dos trabalhos de investigação sobre plantas medicinais. Apesar disso, um elevado número de espécies, sobretudo das floras tropicais e sub-tropicais, não foi ainda estudado e muito menos testado sob o ponto de vista da actividade biológica.

As plantas superiores são hoje um reservatório de substâncias químicas úteis em farmacologia: como matéria-prima de extracção de moléculas farmacologicamente activas; como produtoras de moléculas que constituem um ponto de partida para hemissíntese de substâncias como maior actividade, menor toxicidade ou melhor biodisponibilidade e cada vez mais como modelos para a síntese total de novas substâncias usadas em terapêutica ou na investigação e melhor conhecimento dos processos biológicos.

### Estratégias recentes para a descoberta de novas substâncias biologicamente activas

Uma das estratégias mais bem sucedidas na investigação de novos agentes terapêuticos, tem sido a de utilizar testes de actividade farmacológica para ensaiar extractos, obtidos a partir de plantas, que são utilizadas na medicina dos povos

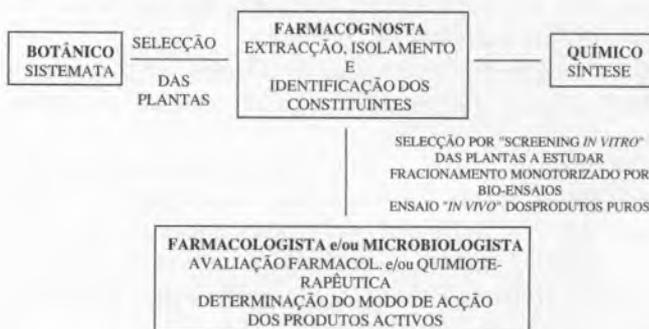
que ainda recorrem predominantemente a técnicas terapêuticas tradicionais. Muitas das espécies tropicais ou sub-tropicais já investigadas, com base em metodologias de trabalho recentes, revelaram possuir compostos químicos com actividades biológicas variadas, justificando a sua aplicação pelos povos que as usam e revelando moléculas biologicamente activas que no futuro poderão servir de base à produção de agentes terapêuticos novos.

Vários investigadores contribuíram já para um melhor conhecimento dos produtos de origem vegetal utilizados nas medicinas tradicionais, sendo no entanto ainda insuficiente a investigação nesta área uma vez que a maior parte dos estudos feitos, até aos últimos dez anos, é parcelar. Na literatura predomina o estudo da química estrutural dos principais compostos químicos isolados a partir das plantas usadas nas preparações tradicionais, sendo escassos os estudos das acções fisiológicas, farmacológicas e tóxicas feitos sobre essas novas substâncias, tornando assim relativamente baixo o rendimento prático, para a terapêutica, dos novos conhecimentos sobre os metabolitos já identificados.

Preconiza-se por essa razão que o estudo da composição química das plantas usadas na medicina tradicional seja monitorizado por testes de actividade biológica «*in vitro*» e «*in vivo*» de forma que de entre os numerosos metabolitos que compõem os extractos só sejam extraídos e identificados os que contribuem para a actividade biológica.

Esta estratégia implica a cooperação de investigadores de várias áreas científicas e a adopção de metodologias de trabalho em equipa, por exemplo, consoante o esquema seguinte adaptado de Vlietinck, A.J. (1987).

### Equipa e metodologia de investigação



### Seleção das plantas

Vários critérios de selecção são postos em prática para a escolha das plantas a investigar sendo cada vez mais aceite um critério misto que conjuga os dados recolhidos sobre as práticas terapêuticas tradicionais – ETNOFARMACOLOGIA com dados relativos à QUIMIOTAXONOMIA (Grupos químicos dos principais metabolitos secundários presentes nas várias espécies vegetais classificadas segundo os critérios botânicos); Por exemplo os alcalóides de núcleo indolomonoterpénico só se encontraram até agora em oito famílias botânicas, tendo a quase totalidade das moléculas sido isolada a partir de três famílias de plantas superiores – as Apocináceas, as Loganiáceas e as Rubiáceas (Bruneton, J., 1987); as plantas da família das Solanáceas produzem principalmente alcalóides de núcleo tropânico ou de núcleo esteróide, etc...).





## Na era dos contraceptivos orais

Maria de Fátima Norberto Frazão <sup>a</sup>



Fátima Norberto

Nasceu em 1957 em Lisboa. Em 1980 licenciou-se em Química, em 1985 licenciou-se em Ciências Farmacêuticas, ano em que realizou as suas provas de Aptidão Pedagógica e Capacidade Científica na Faculdade de Ciências de Lisboa. Em Fevereiro de 1988 doutorou-se em Química Orgânica na Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. Tem desenvolvido trabalhos de investigação em Química Orgânica Física aplicada a substratos vários, nomeadamente estabilidade de nitroamidas, nitrosoamidas e nitrosoamidinas em diversos meios, e estudos de oxidação de xenobióticos por sistemas biomiméticos.

Os primeiros estudos sobre contraceptivos orais iniciaram-se no anos 60 e apesar do vasto número de dados nunca houve agente farmacológico tão poderoso consumido por tantas mulheres e sobre o qual ainda pouco se sabe. Para entendermos o mecanismo de acção da pílula vamos sumariamente fazer uma revisão do ciclo e a importância dos estrogénios e progestinas no mesmo.

### O ciclo menstrual

Em média o ciclo menstrual dura vinte e oito dias, estando nele envolvidos vários órgãos ou sistemas (Figura 1).

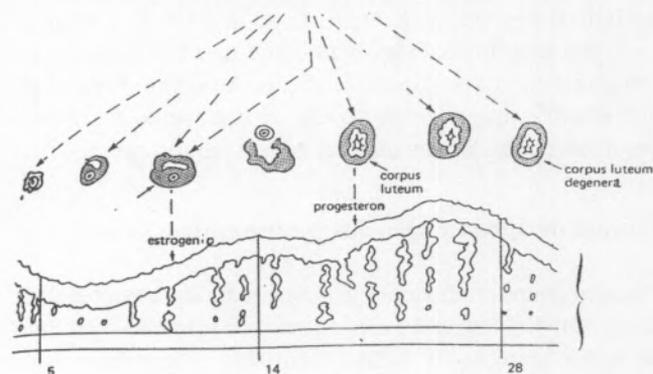


FIGURA 1  
O ciclo menstrual

A primeira metade do ciclo, que ocupa os primeiros 14 dias do ciclo é denominada fase folicular e é dominada pelo folículo. Durante este período o papel crítico é desenvolvido pela hormona folículo estimulante (FSH) que estimula o crescimento dos folículos cada um com o seu oócito. De 5 a 6 dias um dos folículos apresenta um desenvolvimento mais acelerado, e aí, sob a acção da hormona luteinizante (LH), induz-se a produção de estrogénios a partir do ovário a uma velocidade crescente. O sistema hormonal aqui em jogo é regulado por mecanismos de feedback (retrocontrolo). No caso da FSH há uma relação inibitória pelo estradiol enquanto que na LH há um retrocontrolo inibitório a baixos níveis de estradiol e estimulador a altos níveis de estradiol. Esta estimulação de LH leva à ruptura do folículo maduro com libertação do óvulo.

Pela influência da LH os folículos, após ruptura, enchem-se de sangue e as células granulosas proliferam e substituem o

<sup>a</sup> Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Rua Ernesto de Vasconcelos, CI - 1700 Lisboa.

sangue originando o corpo lúteo, sendo esta a fase luteínica. As células desta estrutura produzem estrogénios e progesterona, a menos que surja uma gravidez.

Se o óvulo é fertilizado, é transportado durante 3 dias através da trompa de Falópio para o útero e demora outros 3 dias para implantação, a chamada nidadação. Nessa altura o desenvolvimento do ovo é síncrono com o desenvolvimento do útero, em parte induzido pelo nível de progesterona. Na ausência de implantação, o corpo lúteo degenera após aproximadamente 10 dias. A produção de estrogénio e progesterona diminuem rapidamente iniciando a descamação do endométrio uterino, que marca o início dum novo ciclo.

### Efeito de preparações hormonais

A administração da combinação do estrogénio e progesterona durante 22 dias resulta numa série de efeitos anovulatórios.

O estrogénio suprime a hormona folículo estimulante, inibindo o desenvolvimento do folículo e impedindo a libertação de estradiol, que se crê ser o estímulo para a libertação da hormona luteinizante. Sem FSH e LH o folículo não cresce no ovário não se verificando a ovulação. Em preparações só de progesterona, mesmo que ocorra ovulação, obtém-se contracepção, através dos efeitos adversos que estes compostos têm na penetração do esperma, na motilidade e longevidade dos espermatozóides bem como na longevidade e no transporte do ovo e sua implantação. A quebra de nível de estrogénio e progesterona no fim do tratamento estimula a descamação do endométrio levando à hemorragia regular.

### Formas de apresentação dos contraceptivos orais

Os estrogénios produzidos em maior quantidade pela mulher são o estradiol, estrona e estriol, sendo o primeiro o produto de maior secreção do ovário. Têm sido produzidos vários estrogénios sintéticos. Comparando-os com os naturais, aqueles possuem uma potência por via oral superior.

A progesterona é a progestina mais importante, servindo também como precursor dos estrogénios, androgénios e esteróides adrenocorticóides. Tal como os estrogénios, a progesterona é parcialmente armazenada no tecido adiposo e quase totalmente metabolizada na primeira passagem pelo fígado. Para obviar estes problemas de farmacocinética da progesterona desenvolveram-se as progestinas sintéticas, para administração na contracepção oral.

Dos dois tipos de administração mais antigos, contam-se a administração numa combinação de progesterona e estrogénio empregues simultaneamente. O outro método foi a administração sequencial de estrogénio nas primeiras duas semanas do ciclo, seguido da combinação de estrogénio e progesterona.

Presentemente há quatro tipos de preparações básicas: pílula de combinação, pílula sequencial, pílula trifásica e minipílula.

A pílula de combinação contém uma razão fixa entre o estrogénio e a progesterona administrados diariamente durante 21 dias, começando no 5.º dia do ciclo. A menstruação inicia-se do 1.º dia ao 4.º dia após cessação da medicação.

As pílulas de 28 dias têm comprimidos de placebo durante 7 dias.

Na pílula sequencial, administra-se o estrogénio isoladamente e a inibição da ovulação quando se adiciona a progestina pretende uma menstruação mais normalizada. Esta pílula está agora praticamente fora de uso.

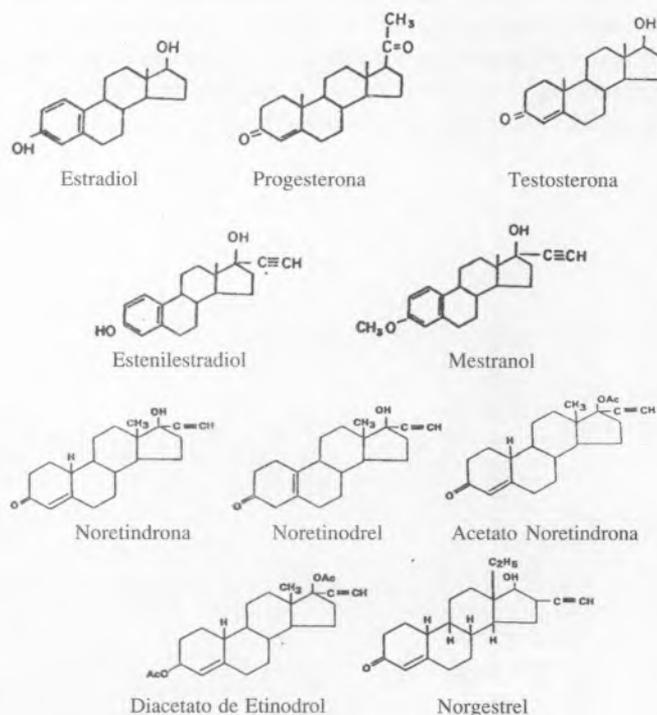
Na pílula trifásica, a composição não é igual durante todo o ciclo. A quantidade e o tipo de hormonas são mais aproximadas às condições fisiológicas. Podem possuir quantidade de estrogénio fixa e variável de progestina ou quantidades variáveis dos dois componentes.

A minipílula consta só de progesterona. Com esta pílula 40% das mulheres podem manter a sua ovulação, 40% possuem ciclos anovulatórios e 20% podem ovular esporadicamente. Está indicada na mulher a amamentar e naquelas em que os estrogénios estão contra-indicados.

Em relação a doses actuais administradas de estrogénios e progestinas, estas vêm referidas na Tabela 1.

TABELA 1

Composto	Dose diária em mg/dia
Etinilestradiol	0,02 - 0,05
Mestranol	0,05 - 0,1
Noretisterona	0,5 - 2
Noretinodrel	2,5 - 5
Acetato de noretisterona	0,6 - 4
Diacetato de etinodiol	0,5 - 2
Linestrenol	0,75 - 2,5



### Os componentes da pílula

Os estrogénios sintéticos usados nos contraceptivos orais são o mestranol e o etinilestradiol. O mestranol é o éter metílico do etinilestradiol e durante algum tempo considerou-se que

o primeiro tinha cerca de 2/3 da potência do último. Estudos mais recentes provaram no entanto que estes são praticamente iguais em potência.

Quanto à progesterona, esta é um derivado nor na posição 19 da testosterona, em que falta o grupo metilo.

Já que as progestinas são derivados da testosterona têm comumente propriedades androgénicas assim como propriedades progestagénicas, e alguma actividade estrogénica. A predominância de propriedades estrogénicas, ou androgénicas numa progestina assim como a sua actividade progestagénica, depende da estrutura química do composto. Por simplicidade é comum considerar a noretindrona como o protótipo e os outros nor derivados como modificações farmacológicas deste esteróide.

A noretindrona é uma progestina potente com fraca actividade estrogénica. No noretindrel, a dupla ligação entre as posições 4 e 5 da noretindrona é substituída por uma entre os carbonos 5 e 10, o que aumenta a actividade estrogénica e diminui a progestagénica.

Norgestrel, tem um grupo etilo substituindo o grupo metilo ligado a C<sub>10</sub> da noretindrona, aumentando grandemente a sua actividade progestagénica e propriedades androgénicas mas diminuindo as estrogénicas. Os outros nor derivados têm actividade progestagénica aumentada resultando a adição de cadeias laterais às posições 3 e 17 da noretindrona. Por exemplo, a acetilação em C<sub>17</sub> duplica a sua actividade progestagénica, como é o caso da noretindrona na forma de acetato. Um 2.º grupo acetilo em C<sub>3</sub> resulta no diacetato de etinodol que leva ainda a maior aumento da actividade progestagénica.

### Efeitos secundários da contracepção hormonal

É do conhecimento geral que os componentes dos contraceptivos orais, nomeadamente os estrogénios são um factor causal de hipertensão e doenças tromboembólicas.

Realmente os estrogénios e progestinas parecem determinar uma ligeira subida da pressão arterial na maioria das mulheres. O mecanismo do desenvolvimento da hipertensão pode estar relacionado com os efeitos vasoconstritores do estrogénio.

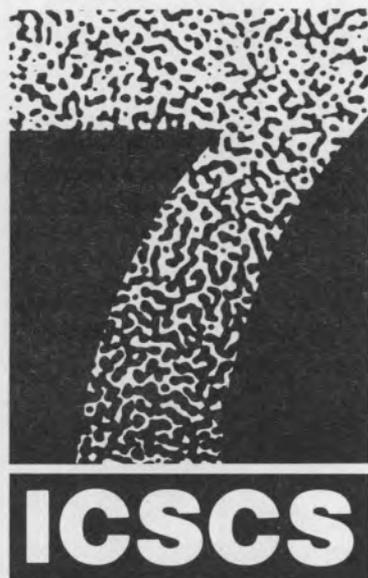
Parece também que os contraceptivos orais provocam uma baixa de tolerância à glucose, notando-se um agravamento dum estado pré diabético.

Também o relativo risco de doenças tromboembólicas é cerca de 3 vezes superior em mulheres a tomar contraceptivos orais em relação às não utilizadoras. Estes efeitos parecem resultar de alterações vasculares estruturais e bioquímicas nas veias e artérias.

Numa reflexão final em relação aos efeitos adversos que actualmente são atribuídos aos contraceptivos orais, parece ser ponto assente para a maior parte das consumidoras que a relação risco-benefício justifica claramente o seu uso.

### Referências

- Goodman and Gilman's «The Pharmacological Basis of Therapeutics», New York, MacMillan, 1980.
- R. Wang, «Practical Drug Therapy», Leppincort, Toronto Company, 1979.
- S. Roberts, B. Price, «Medicinal Chemistry, The Role of Organic Chemistry in Drug Research», Academic Press, 1985.
- A. Goldstein, L. Arnow, S. Kalman, «Principles of Drug Action», John Wiley & Sons, USA, 1974.
- M. Augusta Soares «Contracepção Hormonal», circular 135, 1986 Cedime.

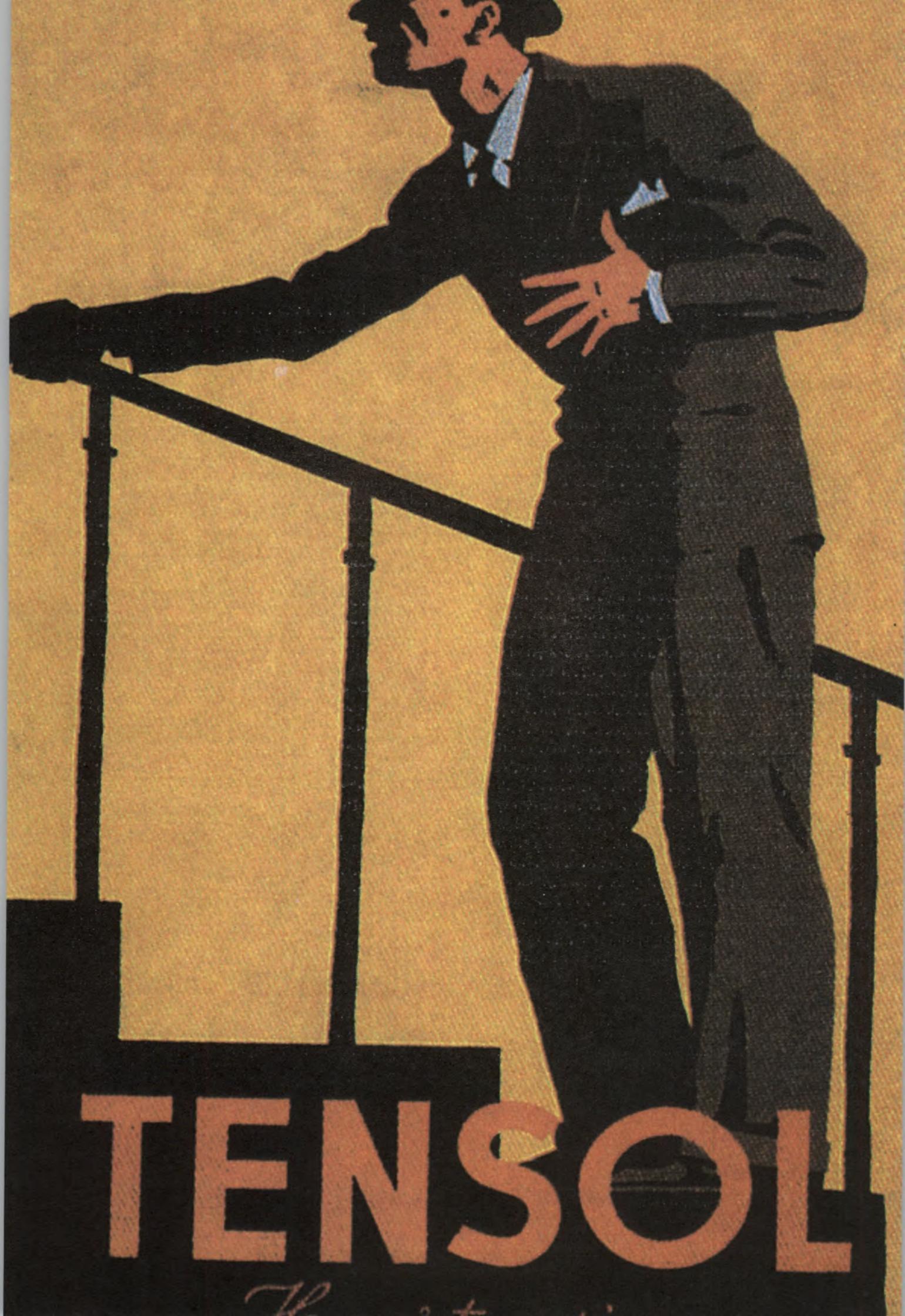


7th INTERNATIONAL CONFERENCE

**SURFACE AND COLLOID SCIENCE**

July 7 - 12, 1991

Compiègne – França



# TENSOL

*Handwritten signature or text at the bottom of the page.*

# Bloqueadores de cálcio

Rui Moreira <sup>a</sup>  
Luís Constantino <sup>a</sup>  
Fátima Norberto <sup>a</sup>



Rui Moreira

Nasceu em 1960 em Lisboa. Em 1985 licenciou-se em Ciências Farmacêuticas – ramo de Farmácia Industrial – pela Faculdade de Farmácia de Lisboa. No mesmo ano iniciou a sua carreira académica na Faculdade de Farmácia de Lisboa, tendo realizado as provas de aptidão pedagógica e capacidade científica em 1988. Presentemente desenvolve um projecto de investigação na área de Química Orgânica Física aplicada a substratos dotados de actividade antitumoral para a realização da sua tese de doutoramento.

Os iões  $\text{Ca}^{2+}$  desempenham um papel vital em muitos processos biológicos; eles fazem a ligação entre a estimulação eléctrica e a contracção e secreção celulares, activam uma série de células excitáveis, participam no controlo, armazenamento e utilização de energia pela célula e são ainda importantes a nível da hemostase e do metabolismo do osso. O desenvolvimento de fármacos que interferem com a entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  na célula, denominados bloqueadores dos canais lentos de cálcio, bloqueadores de cálcio ou antagonistas de cálcio trouxe à investigação fundamental uma poderosa ferramenta para a elucidação do papel deste ião em estados normais e patológicos e trouxe à clínica uma nova classe de agentes terapêuticos usados já correntemente no tratamento da hipertensão, angina de peito e alguns tipos de arritmias e com um potencial de aplicação numa vasta gama de situações clínicas.

## Acção celular do cálcio

A manutenção do caudal sanguíneo depende da contracção regular do coração, a qual ocorre após excitação das células do músculo cardíaco. Esta excitação resulta da alteração do potencial de repouso e possui várias fases que no conjunto se denominam potencial de acção.

Na maioria das células cardíacas (células contrácteis auriculares e ventriculares e algumas fibras condutoras como o feixe de His-Purkinje) o potencial de acção é constituído por cinco fases: fase 0 ou despolarização rápida; fase 1 ou repolarização inicial; fase 2 ou planalto; fase 3 ou repolarização rápida; fase 4 ou diástole (Figura 1.A.). Cada uma das fases depende da activação e inactivação de fluxos iónicos transmembranares que se processam através de estruturas denominadas canais.

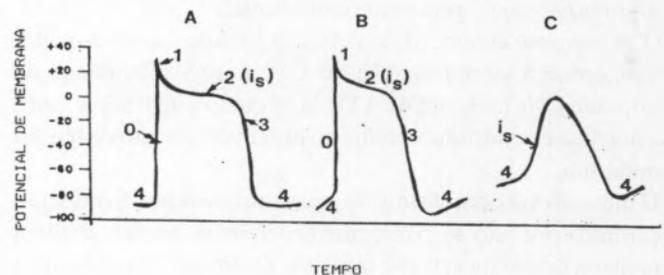


FIGURA 1

Potenciais de acção cardíacos

<sup>a</sup> Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Avenida das Forças Armadas, 1600 Lisboa.

O potencial de acção tem início com a chegada de um impulso nervoso proveniente do nodo SA (tecido *pacemaker*) que provoca uma redução do potencial de repouso da célula do músculo cardíaco de -80 mV para -65 mV. Esta ligeira despolarização activa os canais de Sódio, os quais permitem o influxo de iões  $\text{Na}^+$ , também denominado corrente de resposta rápida devido à sua cinética de activação ( $i_{\text{Na}^+}$ ). A entrada do  $\text{Na}^+$  no interior da célula provoca a despolarização rápida da membrana e o início da fase 0. Quando o potencial se torna suficientemente positivo (cerca +10 mV) a corrente rápida de  $\text{Na}^+$  é inactivada ocorrendo então a repolarização inicial ou fase 1.

A despolarização inicial activa um segundo canal cuja permeabilidade é preferencial para o Cálcio. A corrente resultante possui uma cinética de activação muito mais lenta sendo por isso denominada corrente de resposta lenta ( $i_{\text{Ca}^{2+}}$ ). Este influxo de iões  $\text{Ca}^{2+}$  é o responsável pela fase 2 do potencial de acção. Sendo os canais de Cálcio inactivados lentamente, a maior parte do potencial de acção é mantida a 0 mV pelo influxo de  $\text{Ca}^{2+}$ . Esta fase é fundamental para as células contrácteis permitindo o acoplamento da excitação à contracção.

O restabelecimento do potencial de repouso deve-se ao efluxo de  $\text{K}^+$  ( $i_{\text{K}^+}$ ) que se inicia quando a corrente lenta é inactivada, e corresponde à fase 3. A fase 4 é a fase de repouso eléctrico.

Os tecidos condutores cardíacos (nodo SA e nodo AV, ou ainda os focos ectópicos em situações anormais) diferem dos restantes por possuírem uma actividade *pacemaker* natural ou latente. Esta capacidade de gerar estímulos eléctricos regulares resulta de, durante a fase 4, ocorrer um decréscimo da condutância de Potássio. A diminuição do efluxo de  $\text{K}^+$  conduz à redução do potencial de membrana até ao valor crítico a partir do qual se inicia a fase despolarização (Figura 1.B.).

O nodo SA possui ainda a característica de apresentar um potencial de acção de iniciação lenta (Figura 1.C.). Isto deve-se ao facto das células daquele tecido serem activadas essencialmente pela corrente lenta de Cálcio, isto é, o movimento iónico predominante na fase 0 corresponde ao influxo de  $\text{Ca}^{2+}$ .

Em todas as células musculares o  $\text{Ca}^{2+}$  é o mensageiro intracelular que permite acopular a excitação à contracção despoletando o mecanismo contráctil. Como as células cardíacas possuem uma concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular baixa, é o influxo deste ião, durante a fase 2 do potencial de acção que irá induzir aquele processo fundamental.

O mecanismo contráctil, semelhante ao do músculo esquelético, começa com a ligação do  $\text{Ca}^{2+}$  a uma subunidade da troponina. Na presença de ATP dá-se então a interacção entre a miosina e actina que conduz ao desenvolvimento da tensão muscular.

O músculo vascular distingue-se anatomicamente do músculo cardíaco por não se conseguir observar as estrias, embora também contenha actina e miosina. Distingue-se também na actividade eléctrica e mecânica.

O potencial de acção no músculo vascular resulta principalmente do influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  através dos canais de Cálcio. Este facto determina que o acoplamento contracção-excitação seja neste músculo um fenómeno lento, chegando a verifi-

car-se um lapso de 500 ms entre o pico da despolarização e o máximo da contracção, quando para o músculo cardíaco este desfasamento reduz-se a 150 ms.

O aumento do  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular resultante da estimulação nervosa desencadeia uma série de reacções em cascata que terminam na contracção muscular (Figura 2). A primeira envolve a Calmodulina, um péptido com 16700 D e com afinidade para o  $\text{Ca}^{2+}$ . Quando a concentração do Cálcio intracelular atinge o valor de  $10^{-6}$  M, a Calmodulina liga-se àquele ião e o complexo resultante activa a miosina quinase, a qual por sua vez activa a miosina por fosforilação. O passo final consiste na interacção da miosina activada com a actina que conduz à contracção muscular e portanto à constrição arteriolar.

O músculo vascular possui ainda um outro mecanismo diferente para o influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  e que se inicia com a ligação da Noradrenalina à superfície extracelular da membrana plasmática. Neste caso o influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  ocorre através de canais controlados por receptores  $\alpha$ -adrenérgicos.

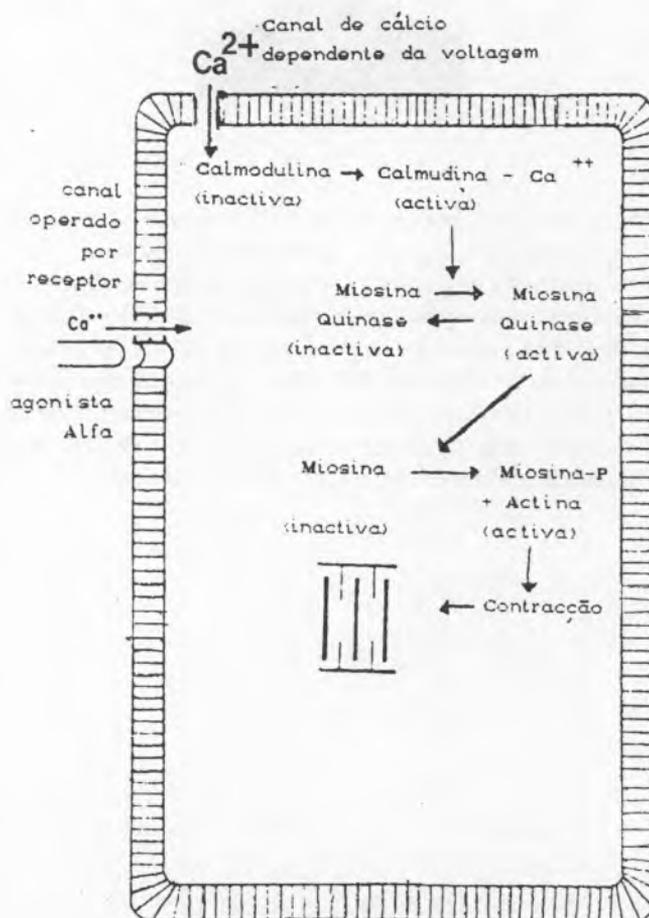


FIGURA 2

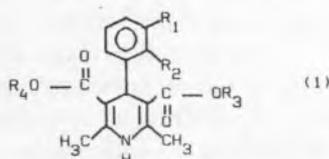
Papel do Cálcio no músculo vascular liso. A entrada do  $\text{Ca}^{2+}$  ocorre via os canais dependentes da voltagem e dos canais operados por receptores  $\alpha$ -adrenérgicos.

### Classificação química dos bloqueadores de cálcio

Os bloqueadores de cálcio constituem um grupo de fármacos quimicamente heterogéneo. Do ponto de vista químico, os três fármacos mais usados, a Nifedipina, (1a), Verapamil, (2), e Diltiazem, (3), pertencem a três grupos diferentes.

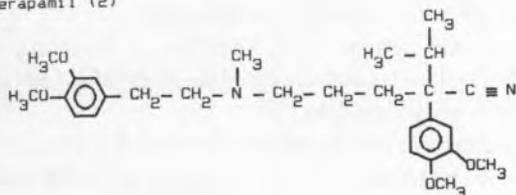
A Nifedipina pertence à classe das 1,4-dihidropiridinas, tendo sido sintetizada em 1966 e introduzida na terapêutica em 1971. Esta classe contém a maioria dos bloqueadores de cálcio, dos quais se salientam pelo seu interesse clínico a nicardipina, (1b), niludipina, (1c), nisoldipina, (1d) e a nimodipina, (1e).

O verapamil, introduzido em 1962 é estruturalmente semelhante à papaverina. O diltiazem é uma benzotiazepina, introduzida na clínica em finais da década de setenta.

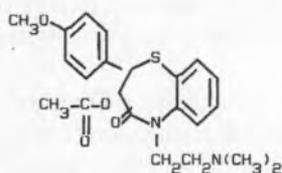


	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
Nifedipina (1a)	H	NO <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
Nicardipina (1b)	NO <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> N(CH <sub>3</sub> )   CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
Niludipina (1c)	NO <sub>2</sub>	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>
Nisoldipina (1d)	H	NO <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Nimodipina (1e)	NO <sub>2</sub>	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>

Verapamil (2)



Diltiazem (3)



## Mecanismo de acção

### Efeitos electrofisiológicos

A actividade electrofisiológica dos bloqueadores de Cálcio resulta basicamente da inibição do influxo de Ca<sup>2+</sup> para as células cardíacas durante o potencial de acção. É a inibição selectiva da corrente lenta de cálcio, essencial à fase 2 do potencial de acção, que caracteriza os antagonistas de cálcio. Como já foi afirmado, no coração os nodos SA e AV dependem em elevado grau dos canais lentos, sendo portanto o local principal de acção dos bloqueadores de cálcio. Estes fármacos são caracterizados por possuírem uma actividade depressora sobre dois parâmetros importantes: o ritmo de descarga do nodo SA que em condições normais marca o ritmo cardíaco (efeito cronotrópico negativo); e a condução do estímulo eléctrico proveniente do nodo SA para a região ventricular através do nodo AV (efeito dromotrópico negativo).

Apesar da intensidade dos efeitos cronotrópicos e dromotrópicos negativos depender em parte da dose e da via de administração, verifica-se que a Nifedipina é muito menos potente que o Verapamil ou o Diltiazem. Em doses terapêuticas a Nifedipina não tem efeito apreciável no nodo SA ou AV e pode na realidade aumentar a velocidade de contracção cardíaca e a condução atrioventricular por activação simpática em resposta às suas propriedades vasodilatadoras.

Os bloqueadores de Cálcio possuem ainda uma actividade depressora sobre a excitabilidade da musculatura ventricular contribuindo desta maneira para a supressão de focos ectópicos.

### Efeitos hemodinâmicos

Como já foi afirmado, o Ca<sup>2+</sup> extracelular é fundamental para o processo de acoplamento entre a excitação e a contracção no músculo cardíaco e no músculo liso vascular. Os antagonistas do cálcio bloqueiam o fluxo transmembranar de Ca<sup>2+</sup> naqueles músculos, resultando numa depressão da contracção do miocárdio (efeito inotrópico negativo) e da vasoconstrição efectuada pelo músculo liso.

O músculo vascular liso das artérias é muito mais sensível que o das veias à acção bloqueadora do influxo de Ca<sup>2+</sup>. A artéria coronária é particularmente sensível, fazendo com que acção dilatadora arterial dos bloqueadores de Cálcio se traduza por um aumento do fluxo coronário. Esta acção é especialmente benéfica quando o miocárdio se encontra em isquémia, permitindo a redução do seu déficit em oxigénio. Outro efeito útil para o miocárdio isquémico é a depressão directa da contracção ventricular, especialmente notório para o Verapamil, e que reduz o trabalho cardíaco.

A nível periférico a Nifedipina é o bloqueador de Cálcio com maior potência vasodilatadora e portanto maior eficiência na redução da pressão sanguínea. O efeito vasodilatador periférico deste fármaco é tão notório que induz por via do reflexo simpático um aumento do ritmo cardíaco e da contractibilidade miocárdica. O resultado final será um incremento das necessidades do miocárdio em oxigénio e que poderá ser prejudicial em situações de isquémia. Este fenómeno não se verifica com o Verapamil ou com o Diltiazem, pois não só possuem uma reduzida potência vasodilatadora periférica como também são agentes cronotrópicos negativos eficientes.

Estes efeitos hemodinâmicos variam entre os vários bloqueadores de cálcio dependendo do fármaco e da dosagem.

TABELA I  
Efeitos cardiovasculares dos bloqueadores de Cálcio

	Nifedipina	Verapamil	Diltiazem
Vasodilatação coronária	↑	↑	↑
Vasodilatação periférica	↑↑	↑	↑
Contractibilidade miocárdica	↓/0	↓	↓/0
Necessidade do miocárdio em O <sub>2</sub>	↓	↓	↓

## Farmacocinética

### Absorção e biodisponibilidade

Após administração oral a Nifedipina, o Verapamil e o Diltiazem são bem absorvidos, principalmente a nível do intestino delgado. Porém o Verapamil e o Diltiazem sofrem um efeito de primeira passagem bastante acentuado o que reduz a sua biodisponibilidade sistémica a 20 e a 30%, respectivamente. O grau de biotransformação hepática é bastante menor para a Nifedipina, a qual possui uma biodisponibilidade sistémica de 65%.

Aqueles bloqueadores de Cálcio ligam-se em grande extensão às proteínas plasmáticas, fenómeno este que não é afectado por insuficiência renal.

### Distribuição

A Nifedipina, o Verapamil e o Diltiazem distribuem-se rápida e extensivamente pelos tecidos. O tempo de semi-vida (Tabela 2) varia com a via de administração, aumentando em regimes de dosagem oral múltipla. Este fenómeno é especialmente importante para o Verapamil e Diltiazem, os quais por serem extensivamente metabolizados provocam uma redução da *Clearance* hepática após administrações múltiplas por saturação dos sistemas enzimáticos. O mesmo acontece em situações de insuficiência hepática.

### Metabolismo e excreção

A Nifedipina é metabolizada a ácido ou lactona inactivos. O principal modo de excreção daquele fármaco é a renal. O Verapamil e o Diltiazem são *N*-desmetilados por oxidação pelo citocromo P-450, sendo a desacetilação outra via de inactivação importante para o Diltiazem. Este último é principalmente excretado nas fezes enquanto que 70% do Verapamil é excretado na urina.

TABELA 2  
Propriedades farmacocinéticas dos antagonistas do  $Ca^{2+}$

	Nifedipina	Verapamil	Diltiazem
Absorção	>90%	>90%	>90%
Biodisponibilidade	50-70%	10-20%	25-45%
Ligação à proteínas	92-98%	85-90%	75-80%
Metabolismo	Hepático	Hepático 70% de efeito 1.ª passagem	Hepático 50% de efeito 1.ª passagem
Tempo de semi-vida	1,5-5 h	37-h	2-6 h
Excreção	80% renal 20% fecal	70% renal 15% fecal	40% renal 60% fecal

### Aplicações terapêuticas

É de prever que os fármacos citados, na medida em que inibem o influxo de iões cálcio, tenham profundos efeitos na circulação o que inclui redução da pressão arterial e aumento do fluxo coronário.

A frequência cardíaca, a tensão nas paredes dos vasos e o fluxo sanguíneo coronário determinam em larga medida os dois síndromes básicos para os quais a aplicação dos bloqueadores de cálcio se encontra mais difundida – a hipertensão e a angina de peito.

### Hipertensão

A hipertensão é uma das situações crónicas que mais frequentemente atinge a população adulta, sendo caracterizada por uma desregulação no controle da pressão arterial. A hipertensão pode resultar de um ou ambos os factores – débito cardíaco e resistência periférica; ao aumentar a pressão sanguínea aumenta também a tensão nas paredes do coração e artérias.

Actualmente pensa-se que a causa primária da hipertensão poderá ser na maioria dos casos, um aumento da concentração intracelular do Cálcio. Os antagonistas do Cálcio provocam a relaxação do músculo liso, tendo como consequência a redução da resistência vascular sistémica.

Os antagonistas do Cálcio constituem uma alternativa aos diuréticos e aos bloqueadores- $\beta$  devido às suas vantagens: efeitos laterais (por exemplo, asma e fadiga) reduzidos; aumento da circulação coronária e periférica; ausência de alterações metabólicas e electrolíticas; ausência de retenção de fluidos e de Sódio; ausência de tolerância.

Os fármacos mais activos são a Nifedipina e o Verapamil, sendo ambos utilizados em situações de emergência devido ao seu rápido início de acção.

Algum cuidado deve no entanto nortear o uso dos antagonistas do Cálcio, nomeadamente em situações de hipertensão associada a problemas coronários. Assim a Nifedipina pode conduzir a taquicárdia por aumento da actividade simpática reflexa. Neste caso poderá ser aconselhável a administração de bloqueadores- $\beta$  para evitar o ressurgimento da angina e da taquicárdia.

Em contraste, o Verapamil e o Diltiazem reduzem a actividade do nodo SA em simultâneo com vasodilatação. Desta maneira a taquicárdia reflexa é anulada pelo efeito cronotrópico negativo, e o ritmo cardíaco não será afectado durante o repouso.

### Síndromes anginais

A angina de peito ocorre quando a necessidade de oxigénio do miocárdio excede o seu fornecimento, havendo a chamada situação de isquémia, que resulta fundamentalmente de duas causas: o aumento das necessidades do miocárdio em oxigénio ou a diminuição do fornecimento de sangue.

Os efeitos dos antagonistas do Cálcio sobre os pacientes com angina de peito podem-se agrupar basicamente em dois tipos: redução das necessidades do miocárdio em oxigénio através da redução do ritmo cardíaco, pressão sanguínea e contractibilidade do miocárdio tanto em repouso como durante o exercício; vasodilatação das artérias coronárias com um aumento substancial do caudal colateral e prevenção do espasmo arterial.

*Enfarte do miocárdio*

Na maioria dos pacientes com enfarte do miocárdio verificou-se a existência dum trombo coronário como resultado da acumulação de plaquetas e fibrina. Na origem da formação do trombo poderá estar um vasoespasmio intenso. Os antagonistas do Cálcio poderão ter um efeito determinante na evolução do enfarte, reduzindo a agregação plaquetária e a produção do Tromboxano  $\beta_2$  (TXA<sub>2</sub>), aumentando a circulação colateral para a área isquémica com a consequente redução dos factores determinantes das necessidades do miocárdio em oxigénio, e ainda reduzindo o tónus vasomotor.

Sob o ponto de vista bioquímico a isquémia do miocárdio conduz a alterações da membrana do sarcolema, facilitando a entrada não controlada do ião Ca<sup>2+</sup> na célula. O excesso de Ca<sup>2+</sup> induz vários processos, entre eles a depleção de fosfatos de elevada energia, que aceleram a necrose do miocárdio. A utilização dos antagonistas do Cálcio tem como consequência o retardamento da degeneração isquémica a que corresponde uma acção cardioprotectora.

No entanto, os fármacos de escolha para o tratamento do enfarte do miocárdio continuam a ser os bloqueadores- $\beta$ , mais eficientes que os antagonistas do Cálcio. Estes poderão ser utilizados em situações em que se verifique também hipertensão, angina ou arritmia.

*Arritmias*

A utilização clínica dos bloqueadores de Cálcio baseia-se nos efeitos electrofisiológicos que estes fármacos provocam a nível dos vários tipos de células cardíacas. Como já foi afirmado aqueles efeitos são basicamente a depressão do potencial de acção cardíaco, a diminuição da descarga do nodo SA e a diminuição da condução AV.

Passou cerca de um século desde que foi identificado o papel

crítico do cálcio na contracção do músculo cardíaco. Desde então tem sido esclarecido o papel relevante que este ião desempenha numa série de processos biológicos.

Há cerca de duas décadas Fleckenstein demonstrou que os bloqueadores dos canais lentos de cálcio podem modificar este processo por inibição da entrada de cálcio nas células. Os fármacos actualmente usados na terapêutica são potentes e razoavelmente seguros mas relativamente inespecíficos, já que actuam não só no sistema cardiovascular mas também na musculatura lisa, árvore traqueobrônquica, tracto gastrointestinal e numa grande variedade de outros tecidos.

A investigação está neste momento dirigida para a classificação, e diferenciação dos canais de cálcio existentes em diferentes tecidos de molde a ser possível o desenvolvimento de uma segunda geração de bloqueadores de cálcio específicos de acordo com o tecido a atingir, o que a ser obtido, representaria sem dúvida uma das grandes contribuições da química farmacêutica e biologia para a moderna medicina clínica.

**Referências**

- Weiner, D.A., «Calcium Channel Blockers in the Medical Clinics in North America», 72, 83, (1988).  
 Braunwald, E., «Mechanims of Action of Calcium - Channel Blocking Agents», New Eng. J. Med., 307, 1619, (1982).  
 Ganong, W.F., «Review of Medical Physiology» Lnge, 10th Ed., (1981).  
 Katz, A.M., Hager, W.D., Messieno, F.C., Pappano, A.J., «Cellular and Pharmacology of Calcium Channel Blocking Drugs», Am. J. Med., 77,2, (1984).  
 Stanfield, P., «Voltage Dependente Calcium Channels of Excitable Members», Brit. Med. Bull., 42, 359, (1986).  
 Vaugham-Johns, R.D., «Excitation and Contractions in Heart; The Role of Calcium», Brit. Med. Bull., 42, 421, (1986).  
 Bolton, T.B., «Calcium Metabolismo in Vascular Smooth Muscle», Brit. Med. Bull., 42, 421, (1986).  
 Zsoter, Thomas T., «Calcium Antagonists. Pharmacodynamic Effects and Mechanisms of Action», Drugs, 25, 93, (1983).  
 Singh, B.N., Nademane, K. e Baky, S.H., «Calcium Antagonists: Clinical Use in the Treatment of Arrhythmias», Drugs, 25, 125 (1983).



V ENCONTRO DA SOCIEDADE PORTUGUESA  
DE ELECTROQUÍMICA

**I REUNIÃO IBÉRICA DE ELECTROQUÍMICA**

2 a 5 de Abril de 1991

AVEIRO

## BIBLIOTECA DE PROGRAMAS

A secção temática **COMPUTADORES EM QUÍMICA** está a organizar uma **BIBLIOTECA DE PROGRAMAS**.

Os programas (em disquetes de 5.25") poderão ser adquiridos mediante o envio de um cheque de 500\$00 (para pagamento da disquete e portes de Correio) dirigido à Sociedade Portuguesa de Química.

### PROGRAMAS DISPONÍVEIS:

- 1 – Simulação de uma Curva de Titulação  
Ácido Fraco – Base Forte  
(descrição no Bol. Soc. Port. Quím., 1985, **22**, 67)
- 2 – Determinação Computacional da Temperatura Crítica Superior de Solução de uma Mistura Líquida Binária  
(descrição no Bol. Soc. Port. Quím., 1988, **34**, 19)
- 3 – Determinação Computacional de Funções Termodinâmicas de Activação a partir da Equação de Everett e Wynne-Jones  
(descrição no Bol. Soc. Port. Quím. 1988, **34**, 19)
- 4 – Um Programa de Cálculo do Modelo de Hückel em Microcomputador  
(descrição no Bol. Soc. Port. Quím., 1986, **33**, 26;  
dispomos de versões para os micro Apple IIe e Apple IIc e encontra-se já em preparação uma versão destinada a ser utilizada com MS-DOS)
- 5 – Partícula na Caixa  
(descrição no Bol. Soc. Port. Quím., 1990, **41**, 23;  
dispomos de uma versão para os micro Apple II e Apple IIc, com instruções de utilização)

# boletim

SOCIEDADE  
PORTUGUESA  
DE  
QUIMICA



O Boletim da Sociedade Portuguesa de Química é o melhor suporte para tomar contacto com os químicos e engenheiros químicos portugueses e com as instituições e firmas que os empregam

**Para as suas inserções publicitárias** escreva para a Sociedade Portuguesa de Química, Av. da República, 37, 4.º - 1000 Lisboa ou telefone para 793 46 37 (Cristina Silva Macário)

## NORMAS PARA A PUBLICAÇÃO DE ORIGINAIS NO BOLETIM

1. Os originais devem ser enviados em 3 exemplares (dactilografados) em envelope dirigido ao director do Boletim da Sociedade Portuguesa de Química, Av. da República, 37, 4.º, 1000 LISBOA.
2. Os originais não devem exceder, na generalidade, 15 páginas dactilografadas a 2 espaços.
3. As gravuras, desenhos, esquemas e outras figuras que acompanhem os originais devem estar numeradas e acompanhadas das legendas correspondentes. A qualidade das ilustrações deve permitir uma boa reprodução. As fórmulas complexas devem ser preparadas como ilustrações.
4. Os artigos publicados são da exclusiva responsabilidade dos seus autores.
5. As regras de nomenclatura a utilizar devem ser exclusivamente as regras recomendadas pela IUPAC.
6. Compete à Direcção do Boletim a aceitação da publicação de qualquer original que lhe seja submetido. Em caso de dúvida sobre o interesse desta, o original será submetido a apreciação por, pelo menos, dois especialistas sócios da SPQ designados pela Direcção do Boletim.

## PREÇO DA PUBLICIDADE POR NÚMERO DO «BOLETIM»

### Página interior (só preto)

1/2 página .....	20 000\$00
1 página .....	30 000\$00

### Página interior (a cores)

1/2 página .....	30 000\$00
1 página .....	40 000\$00

**Capa 3** (só preto) ..... 40 000\$00

**Capa 3** (a cores) ..... 50 000\$00

MEDINDO.O.MUNDO A.NOSSA.VOLTA

$\text{mm}^3/\text{hr}$   $\text{hpa}$   $\text{W}/\text{m}^2$   
 $\text{mg}/\text{m}^3$   $\text{SO}_2$   $\text{NO}$   $\text{NO}_2$   
 $\text{CH}_4$   $\text{CO}$   $\text{C}_3\text{H}_8$   $\text{O}_3$   $\text{CO}_2$   
 $\text{mm}^3/\text{s}$   $\text{mm}/\text{s}$   $\text{mm}$   
 $\text{m}^\circ\text{C}$   $\text{mg}/\text{m}^3$   $\text{FTO}$   
 $\text{mm}^3/\text{s}$   $\text{mmV}$   $\text{NH}_3$   $\text{NO}_3$

