

CAPÍTULO VI

*FARMACOCINÉTICA E BIODISPOSIÇÃO DOS
ENANTIÓMEROS S-LICARBAZEPINA E
R-LICARBAZEPINA NO MURGANHO*

1. INTRODUÇÃO

Os princípios gerais do tratamento farmacológico envolvem a ocorrência de múltiplas interações fármaco-receptor, as quais podem induzir efeitos terapêuticos ou toxicológicos. Neste processo é determinante a concentração de fármaco livre no local de acção, a qual é influenciada por fenómenos de transferência dependentes da velocidade e da extensão de absorção, distribuição, metabolismo e excreção do fármaco pelo organismo. Apesar da presença incontestável de variabilidade na farmacocinética e na farmacodinamia, para que uma terapia farmacológica seja bem sucedida é requerida uma relação razoavelmente bem definida entre a dose e a resposta farmacológica e o entendimento dos factores que nela interferem (CALDWELL, 1996).

Durante décadas, a estrutura molecular tridimensional dos fármacos foi largamente menosprezada na investigação farmacológica. No entanto, nos últimos anos, tem vindo a ser considerada um factor preponderante no processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos e na reavaliação de fármacos quirais com larga utilização clínica (PATIL e KOTHEKAR, 2006). Esta alteração deveu-se ao reconhecimento da influência da estereoquímica na biodisposição e na bioactividade dos enantiómeros de fármacos quirais (ISLAM, MAHDI e BOWEN, 1997; HUTT, 2007; LU, 2007). Os enantiómeros são estereoisómeros em que um é a imagem no espelho do seu antípode e não são sobreponíveis. Cada membro de um par enantiomérico difere do outro apenas no arranjo espacial dos grupos ligados ao centro quiral, apresentando propriedades físico-químicas idênticas e diferenciando-se, somente, pelo sentido de rotação do plano da luz polarizada e pelas interações que estabelecem em ambientes quirais (HAN, 1997; MISL'ANOVÁ e HUTTA, 2003).

A quiralidade é uma característica proeminente dos sistemas biológicos, presente desde as moléculas aos seres humanos e inerente a quase todos os processos bioquímicos e fisiológicos. De facto, as macromoléculas biológicas e, em particular, os alvos farmacológicos (receptores, enzimas e canais iónicos) são capazes de discriminação quiral (RENTSCH, 2002; ANDERSSON, 2004). Portanto, nestas condições, podem existir diferenças significativas na interacção fármaco-receptor entre os estereoisómeros de fármacos quirais, pelo menos se os centros estereogénicos forem essenciais para aquelas interações (CALDWELL, 1996). Assim, os enantiómeros de

fármacos quirais podem exibir diferentes efeitos farmacodinâmicos, farmacocinéticos e toxicológicos nos sistemas biológicos (CROM, 1992; AGRAWAL *et al.*, 2007; GULATI, 2007; GURJAR, 2007; PATIL e KOTHEKAR, 2006). Ambos os enantiómeros podem ser farmacologicamente activos ou apenas um deles ser responsável pelo efeito farmacológico principal, existindo várias possibilidades para o outro enantiómero (efeito qualitativamente diferente, inactividade, antagonismo e toxicidade) (RENTSCH, 2002; PATIL e KOTHEKAR, 2006). Tais diferenças na actividade biológica podem estar relacionadas com diferenças na actividade intrínseca de cada enantiómero ou podem dever-se a diferenças na sua farmacocinética, as quais podem conduzir a diferentes perfis concentração-tempo no sangue e nos tecidos. Hoje em dia reconhece-se que, em regra, é o metabolismo que introduz o maior grau de estereoselectividade nos processos farmacocinéticos, embora outros mecanismos como a absorção, a ligação às proteínas plasmáticas e tecidulares, a distribuição e a excreção possam contribuir também para a disposição estereoselectiva dos fármacos (CALDWELL, 1995; HUTT e TAN, 1996; RENTSCH, 2002; BROCKS, 2006; LU, 2007). Assim, face à consciencialização do impacto que a quiralidade pode ter na terapêutica, as entidades reguladoras do medicamento têm colocado um ênfase especial sobre os requisitos de eficácia e segurança no desenvolvimento de fármacos quirais desde o início dos anos 90, exigindo estudos farmacológicos e toxicológicos, quer para a mistura racémica quer para ambos os enantiómeros, antes de ser concedida a aprovação para a comercialização (MARZO, 1994; SRINIVAS, BARBHAIYA e MIDHA, 2001).

Tal como foi referido anteriormente nesta dissertação, o ESL ou acetato de S-Lic (BIA 2-093) é um pró-fármaco quiral, análogo da CBZ e da OXC, em desenvolvimento clínico para o tratamento da epilepsia, perturbação bipolar e dor neuropática (ALMEIDA e SOARES-DA-SILVA, 2005; ALMEIDA *et al.*, 2007; ELGER *et al.*, 2007; ALMEIDA *et al.*, 2008). A molécula do acetato de Lic contém um centro quiral na posição 10, ponto de assimetria da molécula em que o átomo de carbono está ligado a quatro ligandos diferentes e, conseqüentemente, existe em duas formas enantioméricas, o ESL e o seu enantiómero complementar, o acetato de R-Lic (BIA 2-059) (BENES *et al.*, 1999; HAINZL, PARADA e SOARES-DA-SILVA, 2001). O ESL, o acetato de R-Lic e a mistura racémica correspondente, bem como outros compostos química e estruturalmente relacionados, foram administrados oralmente em ratos e testados contra as crises induzidas pelo MES para investigar a existência de diferenças na actividade

anticonvulsivante. Ao mesmo tempo, a potência anticonvulsivante demonstrada por estes compostos foi comparada com aquela obtida, nas mesmas condições experimentais, para a CBZ e a OXC. Surpreendentemente, os enantiómeros do acetato de Lic apresentaram propriedades anticonvulsivantes manifestamente diferentes. O ESL foi claramente o mais potente, exibindo uma potência anticonvulsivante similar à da CBZ e superior à da OXC, enquanto que o acetato de R-Lic mostrou ser quase desprovido de actividade anticonvulsivante e a mistura racémica apresentou uma potência intermédia (BENES *et al.*, 1999). Estes resultados sugerem que tais diferenças nas propriedades farmacodinâmicas dos enantiómeros do acetato de Lic podem dever-se à estereoquímica intrínseca ao próprio centro quiral (carbono 10) ou podem ser atribuídas a diferenças nos processos farmacocinéticos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção. Com o intuito de se conseguirem dados farmacocinéticos suficientes para esclarecer a estereoselectividade evidenciada pelos enantiómeros do acetato de Lic, HAINZL, PARADA e SOARES-DA-SILVA (2001) efectuaram diversos ensaios pré-clínicos *in vitro* e *in vivo* com os dois enantiómeros. Os resultados decorrentes destes estudos demonstraram que o ESL e o seu antípode são hidrolisados, respectivamente, aos seus derivados correspondentes, S-Lic e R-Lic. Todavia, contrariamente ao enantiómero S, o enantiómero R parece ser posteriormente oxidado ao metabolito *trans*-diol. Atendendo a que o *trans*-diol é um metabolito inactivo, a formação deste conduzirá a uma propensão aumentada para a inactivação precoce do seu precursor. Assim, o acetato de R-Lic seria um composto menos promissor do ponto de vista terapêutico e o seu desenvolvimento foi abandonado em detrimento do desenvolvimento do ESL. O *trans*-diol é também produzido pela metabolização da CBZ e da OXC (MATAR *et al.*, 1999).

O ESL foi desenvolvido como uma terceira geração da CBZ e uma segunda geração da OXC e, naturalmente, de um ponto de vista metabólico está relacionado mais estreitamente com a OXC. Sucintamente, a OXC é um pró-fármaco aquiral que, no homem, é rapidamente reduzido a Lic na primeira passagem hepática (MAY, KORN-MERKER e RAMBECK, 2003). Porém, o processo de metabolização da OXC a Lic (metabolito farmacologicamente activo) é enantioselectivo, aparecendo no plasma como S-Lic e R-Lic numa razão enantiomérica de aproximadamente 4:1 (FLESCH *et al.*, 1992; VOLOSOV *et al.*, 1999; FLESCH, 2004). No que respeita ao ESL, está bem estabelecido que, no homem, é rápida e extensamente metabolizado ao enantiómero S-Lic (>95%) e,

em menor extensão, ao enantiómero R-Lic e à OXC (ALMEIDA e SOARES-DA-SILVA, 2003 e 2004; ALMEIDA *et al.*, 2005). No entanto, ainda não está bem documentado se a desacetilação do ESL ao enantiómero S-Lic tem início no tracto gastrointestinal, no sangue após a absorção ou no fígado (HAINZL, PARADA e SOARES-DA-SILVA, 2001; BIALER *et al.*, 2007). Todavia, um trabalho realizado recentemente em doentes com insuficiência hepática moderada permite afirmar que o fígado não tem um papel preponderante na metabolização pré-sistémica do ESL em S-Lic (ALMEIDA *et al.*, 2008). De acordo com a informação metabólica disponível é evidente que o enantiómero S-Lic é o principal metabolito activo gerado pelos pró-fármacos OXC e ESL, demonstrando, respectivamente, a ocorrência de enantioselectividade e de preservação da estereoquímica no metabolismo. Contudo, visto que concentrações baixas do enantiómero R-Lic são produzidas em resultado da biodisposição do ESL, parece não ocorrer uma preservação absoluta da estereoquímica no seu metabolismo. Ainda assim, tem-se sugerido que no homem o enantiómero R-Lic não é formado directamente a partir do ESL nem resulta da inversão unidireccional do enantiómero S, funcionando antes a OXC como um intermediário (HAINZL, PARADA e SOARES-DA-SILVA, 2001; BIALER, 2006).

A racemização e a inversão unidireccional dos enantiómeros de fármacos quirais é um processo que pode ocorrer nos organismos vivos, podendo acarretar efeitos indesejáveis em termos terapêuticos devido às diferenças na acção farmacológica, muitas vezes apresentadas pelos enantiómeros opostos. Por isso, a execução de estudos de racemização é hoje um aspecto importante no processo de avaliação de fármacos quirais (ALI *et al.*, 2007). Todavia, apesar da OXC ser usada na prática clínica há vários anos e de o ESL se encontrar em fase final de desenvolvimento clínico e, reconhecendo ainda que a acção farmacológica destes pró-fármacos está dependente dos metabolitos S-Lic e R-Lic, surpreende que poucos estudos tenham investigado a farmacocinética diferencial dos enantiómeros Lic quando administrados separadamente e averiguado a possibilidade de ocorrência de interconversão (VOLOSOV, YAGEN e BIALER, 2000; HAINZL, PARADA e SOARES-DA-SILVA, 2001). Para a ausência de estudos farmacocinéticos mais aprofundados com os enantiómeros S-Lic e R-Lic podem ter contribuído os trabalhos de MCLEAN *et al.* (1994) e de SCHMUTZ *et al.* (1994) ao sugerirem propriedades anticonvulsivantes e de toxicidade similares para ambos os

enantiómeros e uma probabilidade muito reduzida para a ocorrência de inversão quiral *in vitro*.

No entanto, os dados apresentados no capítulo anterior, decorrentes da administração oral do ESL (350 mg/kg) em murganhos, quando conjugados com a informação publicada por HAINZL, PARADA e SOARES-DA-SILVA (2001) levaram-nos a suspeitar da ocorrência de inversão unidireccional (S→R). De tal forma que o presente trabalho foi planeado para caracterizar a farmacocinética e a biodisposição dos enantiómeros S-Lic e R-Lic no murganho após a administração separada de cada um deles por via endogástrica e, paralelamente, para investigar a possibilidade de ocorrência de interconversão enantiomérica *in vivo* e averiguar a presença de processos estereoselectivos na farmacocinética dos dois enantiómeros (ALVES *et al.*, 2008b).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – Fármacos e Excipientes

Os enantiómeros S-Lic [(S)-(+)-10-hidroxi-10,11-dihidro-5H-dibenz/b,f/azepina-5-carboxamida (BIA 2-194); 99,79% puro por LC; lote PC020131B)] e R-Lic [(R)-(-)-10-hidroxi-10,11-dihidro-5H-dibenz/b,f/azepina-5-carboxamida (BIA 2-195); 100% puro por LC; lote PC040414)] foram cedidos pelos Laboratórios BIAL (Portela & Ca. S.A.; Porto, Portugal) e suspensos diariamente, imediatamente antes do início das experiências, numa solução aquosa de CMC a 0,5%. A CMC foi adquirida à Sigma (St. Louis, MO, USA).

2.2 – Animais e Desenho Experimental

Os animais usados neste estudo foram murganhos CD-1 adultos machos (30-35 g), provenientes da Harlan-Interfauna (Barcelona, Espanha). Todos os animais foram alojados e mantidos nas condições referidas na *secção* 2.2 do capítulo V.

Os murganhos foram tratados com uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic ou R-Lic administrada por via oral através de uma sonda endogástrica (0,5 mL de suspensão por cada 30 g de peso). As amostras de sangue, o cérebro, o fígado e os rins foram colhidos às 0,25, 0,50, 0,75, 1, 2, 4, 6, 10, 16 e 24 h após a administração e foram usados grupos de 8 murganhos, por ponto do tempo, para cada um dos tratamentos. Os procedimentos aplicados na colheita e no tratamento das amostras de sangue e dos tecidos foram aqueles indicados na *secção* 2.2 do capítulo V.

A experimentação animal foi conduzida em conformidade com a Directiva Europeia (86/609/EEC) para a protecção dos animais utilizados para fins experimentais ou outros fins científicos e todos os procedimentos foram aprovados pela Direcção-Geral de Veterinária.

2.3 – Método de Quantificação dos Enantiómeros Lic e do Metabolito OXC

As concentrações dos enantiómeros Lic e do metabolito OXC no plasma e nos tecidos de cérebro, fígado e rim de murganho foram determinadas por um método quiral de LC-UV previamente desenvolvido e validado e anteriormente descrito no capítulo IV (ALVES *et al.*, 2007b). Os limites de quantificação do método para os enantiómeros S-Lic e R-Lic e para a OXC foram de 0,4 µg/mL no plasma e de 0,1 µg/mL no sobrenadante dos homogeneizados dos tecidos (~ 0,4 µg/g).

2.4 – Análise Farmacocinética

Tendo por objectivo a caracterização farmacocinética dos enantiómeros S-Lic e R-Lic e dos seus metabolitos no plasma, no cérebro, no fígado e no rim de murganho, procurámos, numa primeira fase, obter um número suficiente de pares de dados experimentais concentração *versus* tempo para os compostos de interesse, em cada uma das matrizes biológicas consideradas, após a administração oral e separada de cada um dos enantiómeros Lic numa dose única de 350 mg/kg. Numa segunda fase, os perfis plasmáticos, cerebrais, hepáticos e renais médios concentração-tempo foram submetidos a uma análise farmacocinética não-compartimental, tal como referido na *secção 2.4* do capítulo V. Da mesma forma, a velocidade e a extensão de distribuição dos enantiómeros Lic e dos seus metabolitos entre o plasma e os tecidos de murganho, bem como as análises de correlação e de regressão linear efectuadas entre as concentrações plasmáticas e as concentrações tecidulares, seguiram a metodologia previamente referida na *secção 2.4* do capítulo V.

Neste caso, com a intenção de avaliar a presença de estereoselectividade na disposição dos enantiómeros S-Lic e R-Lic no murganho, a razão enantiomérica foi calculada para alguns dos parâmetros farmacocinéticos mais relevantes C_{max} e $AUC_{0-\infty}$. LEVY e BODDY (1991) consideraram existir uma diferença mensurável no valor dos parâmetros de um par de enantiómeros quando essa diferença é superior ou igual a 20%.

3. RESULTADOS

3.1 – Farmacocinética dos Enantiómeros S-Lic e R-Lic no Murganho

3.1.1 – Biodisposição do enantiómero S-Lic no plasma

As concentrações plasmáticas do enantiómero S-Lic e dos seus metabolitos R-Lic e OXC foram avaliadas em murganhos, durante um período de 24 h, após a administração por via oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic, sob a forma de uma suspensão aquosa de CMC. O enantiómero R-Lic foi detectado no plasma aos primeiros tempos de amostragem, porém, as concentrações correspondentes não foram determinadas quantitativamente por se situarem em valores BLQ em todos os pontos do tempo estudados (< 0,4 µg/mL). As concentrações plasmáticas determinadas para o enantiómero administrado (S-Lic) e para a OXC são apresentadas na tabela VI.1. Na figura VI.1 estão representados os perfis plasmáticos médios concentração-tempo para os enantiómeros S-Lic e R-Lic e para a OXC.

Tabela VI.1 – Concentrações plasmáticas em murganhos após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg do enantiómero S-Lic (n = 8): (A) S-Lic e (B) OXC.

(A)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	37,51	44,94	41,78	77,66	45,54	56,62	50,89	40,83	49,47	12,88	26,03
0,50	31,29	28,12	23,37	43,90	27,08	29,95	31,97	50,27	33,24	9,11	27,42
0,75	34,08	28,74	28,77	37,43	53,13	38,52	33,58	28,93	35,40	8,14	22,99
1	22,87	29,21	20,22	24,24	16,40	19,75	36,65	32,12	25,18	6,90	27,40
2	14,01	21,78	17,70	14,39	22,60	19,21	26,01	16,67	19,05	4,19	22,02
4	11,83	11,36	12,40	15,18	17,69	13,30	14,88	16,90	14,19	2,35	16,55
6	10,47	10,48	24,75	14,31	9,16	10,53	11,61	12,76	13,01	5,01	38,48
10	6,08	7,10	6,17	13,43	17,17	7,42	6,42	8,47	9,03	4,07	45,06
16	6,10	7,43	13,11	12,42	5,72	4,12	6,42	5,43	7,59	3,33	43,85
24	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-

* Concentrações plasmáticas < 0,4 µg/mL (LQ); ^a Média, µg/mL; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

(B)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	4,21	4,44	2,83	6,26	3,62	4,83	4,82	3,58	4,32	1,04	24,03
0,50	5,09	4,66	3,71	5,15	4,79	4,87	5,38	6,08	4,97	0,67	13,56
0,75	4,30	5,76	6,24	6,81	8,62	5,77	4,58	3,08	5,65	1,70	30,03
1	5,00	6,01	4,77	5,30	4,11	5,16	8,69	6,11	5,64	1,39	24,62
2	3,62	5,14	3,71	3,47	5,43	4,56	5,12	3,76	4,35	0,80	18,41
4	3,76	2,16	1,58	1,64	2,86	2,35	2,63	1,86	2,36	0,73	30,87
6	2,16	2,28	4,60	3,19	2,14	2,62	2,51	3,22	2,84	0,83	29,12
10	1,12	1,13	1,52	1,75	2,81	1,65	1,26	1,59	1,60	0,54	33,85
16	0,83	1,18	2,13	1,65	1,15	0,77	1,53	1,52	1,35	0,45	33,67
24	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-

* Concentrações plasmáticas < 0,4 µg/mL (LQ); ^a Média, µg/mL; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

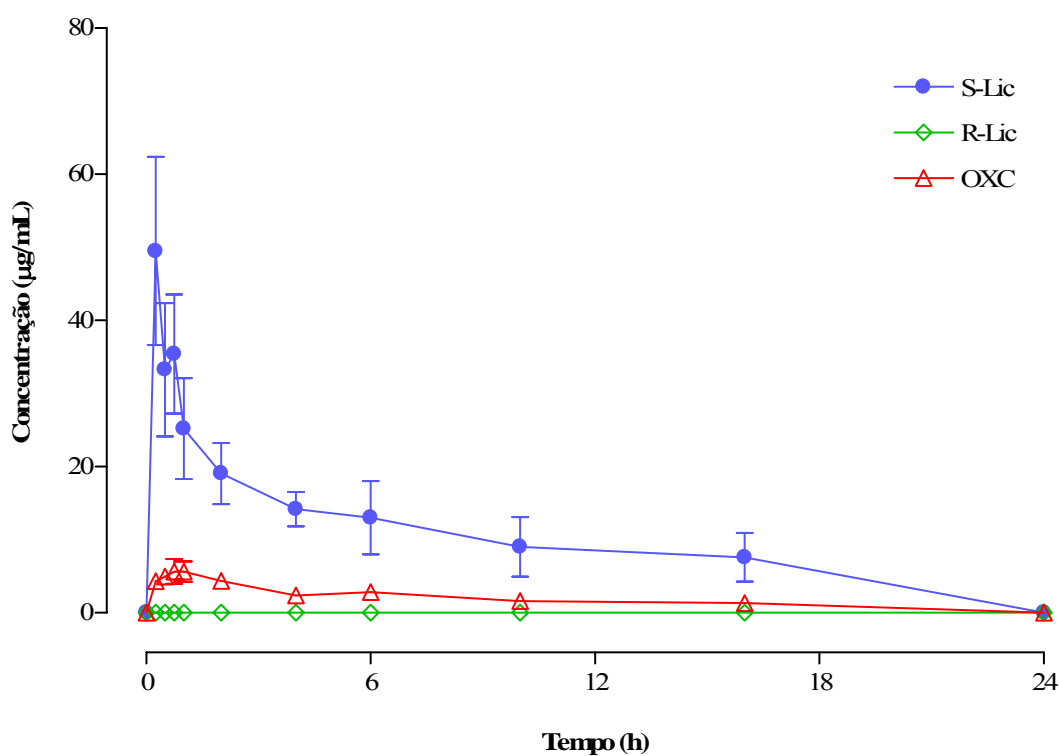


Figura VI.1 – Perfis plasmáticos concentração-tempo obtidos para os enantiômeros S-Lic e R-Lic e para a OXC, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic. Os símbolos representam a média±desvio padrão de 8 determinações por ponto do tempo (n = 8).

Para melhor ilustrar a relação existente entre as concentrações plasmáticas do enantiómero S-Lic e do seu metabolito OXC, as razões entre as concentrações médias correspondentes foram calculadas e representadas graficamente em função do tempo (figura VI.2).

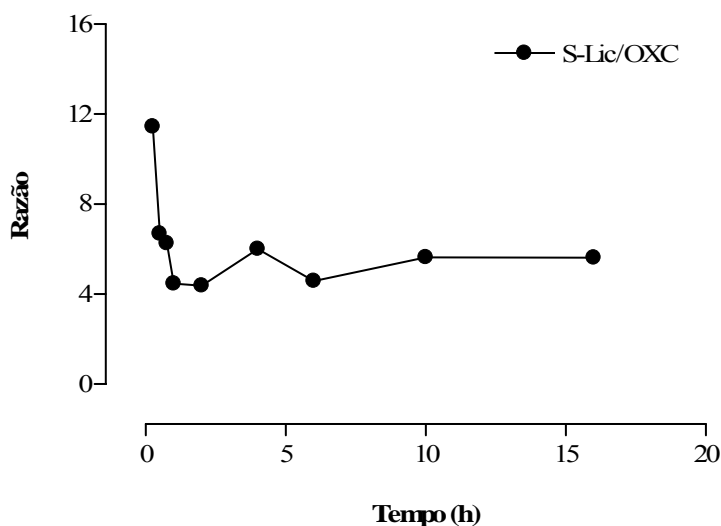


Figura VI.2 – Evolução em função do tempo das razões entre as concentrações plasmáticas de S-Lic e OXC, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic. O símbolo representa a razão entre as médias de 8 determinações por ponto do tempo (n = 8).

3.1.1.1 – Análise farmacocinética

As concentrações plasmáticas médias obtidas, em função do tempo, para o enantiómero S-Lic e para a OXC foram sujeitas a uma análise cinética não-compartimental. Os parâmetros farmacocinéticos estimados apresentam-se na tabela VI.2. Como as concentrações plasmáticas referentes ao metabolito R-Lic apresentaram invariavelmente níveis inferiores ao LQ do método analítico usado, não foi possível estimar os parâmetros farmacocinéticos correspondentes.

Tabela VI.2 – Parâmetros farmacocinéticos plasmáticos referentes ao enantiômero S-Lic e aos seus metabolitos R-Lic e OXC obtidos em murganhos após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic.

Parâmetros	S-Lic	R-Lic	OXC
t_{\max} (h)	0,25	ND	0,75
C_{\max} ($\mu\text{g/mL}$)	49,47	ND	5,65
AUC_{0-t} ($\mu\text{g.h/mL}$)	209,18	NC	39,08
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g.h/mL}$)	310,49	NC	53,10
$t_{1/2}$ (h)	9,25	NC	7,22
MRT (h)	13,60	NC	11,37

ND, não disponível; NC, não calculado.

3.1.2 – Biodisposição do enantiômero S-Lic no cérebro

As concentrações cerebrais do enantiômero S-Lic e dos seus metabolitos R-Lic e OXC foram avaliadas em murganhos, durante um período de 24 h, após a administração por via oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic, sob a forma de uma suspensão aquosa de CMC. Nas condições experimentais definidas, as concentrações cerebrais do metabolito R-Lic não foram determinadas quantitativamente por se situarem em valores BLQ em todos os pontos do tempo estudados ($< 0,4 \mu\text{g/g}$). As concentrações determinadas no cérebro para o enantiômero S-Lic e para a OXC são apresentadas na tabela VI.3. Na figura VI.3 estão representados os perfis cerebrais médios concentração-tempo para os enantiômeros S-Lic e R-Lic e para a OXC.

Tabela VI.3 – Concentrações cerebrais em murganhos após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg do enantiômero S-Lic (n = 8): (A) S-Lic e (B) OXC.

(A)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	3,96	2,62	6,32	5,41	9,44	6,00	4,40	4,17	5,29	2,06	38,97
0,50	7,32	6,44	7,17	11,34	6,29	4,88	6,72	3,89	6,76	2,19	32,41
0,75	14,11	11,32	17,87	7,41	13,26	7,49	11,81	5,95	11,15	4,02	36,07
1	13,44	9,44	13,72	8,03	10,44	12,12	12,49	13,36	11,63	2,10	18,03
2	10,64	9,43	21,24	9,12	12,43	13,18	10,19	14,23	12,56	3,95	31,49
4	4,71	11,34	11,45	7,28	6,61	9,26	8,77	6,55	8,25	2,39	29,04
6	8,73	5,05	6,46	7,55	4,48	9,00	5,53	3,87	6,33	1,93	30,51
10	8,70	3,57	4,79	4,21	3,71	5,27	4,68	5,81	5,09	1,64	32,21
16	2,06	2,04	2,97	2,82	2,49	4,41	3,06	1,55	2,68	0,87	32,67
24	0,77	1,40	- *	1,13	- *	2,45	- *	- *	0,72	0,90	125,54

* Concentrações cerebrais < 0,4 µg/g (LQ); ^a Média, µg/g; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

(B)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	0,91	0,79	1,52	1,04	1,97	1,26	1,41	0,91	1,23	0,40	32,32
0,50	1,87	1,90	1,86	2,20	1,62	1,23	1,61	0,88	1,65	0,42	25,45
0,75	4,39	2,71	4,16	2,13	2,97	1,95	3,32	1,97	2,95	0,95	32,33
1	3,24	2,18	3,09	2,45	2,98	3,32	3,27	2,95	2,94	0,41	14,02
2	2,50	1,69	3,66	2,33	4,32	3,48	2,51	2,95	2,93	0,85	28,92
4	1,09	2,85	3,09	1,71	1,73	2,95	2,27	2,02	2,21	0,71	31,97
6	2,38	1,47	2,04	1,58	1,16	2,91	1,33	1,19	1,76	0,63	35,80
10	2,21	0,90	1,60	1,22	1,14	1,41	1,42	1,51	1,43	0,39	27,20
16	0,54	0,52	0,75	0,91	0,73	1,30	0,92	0,51	0,77	0,27	34,87
24	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-

* Concentrações cerebrais < 0,4 µg/g (LQ); ^a Média, µg/g; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

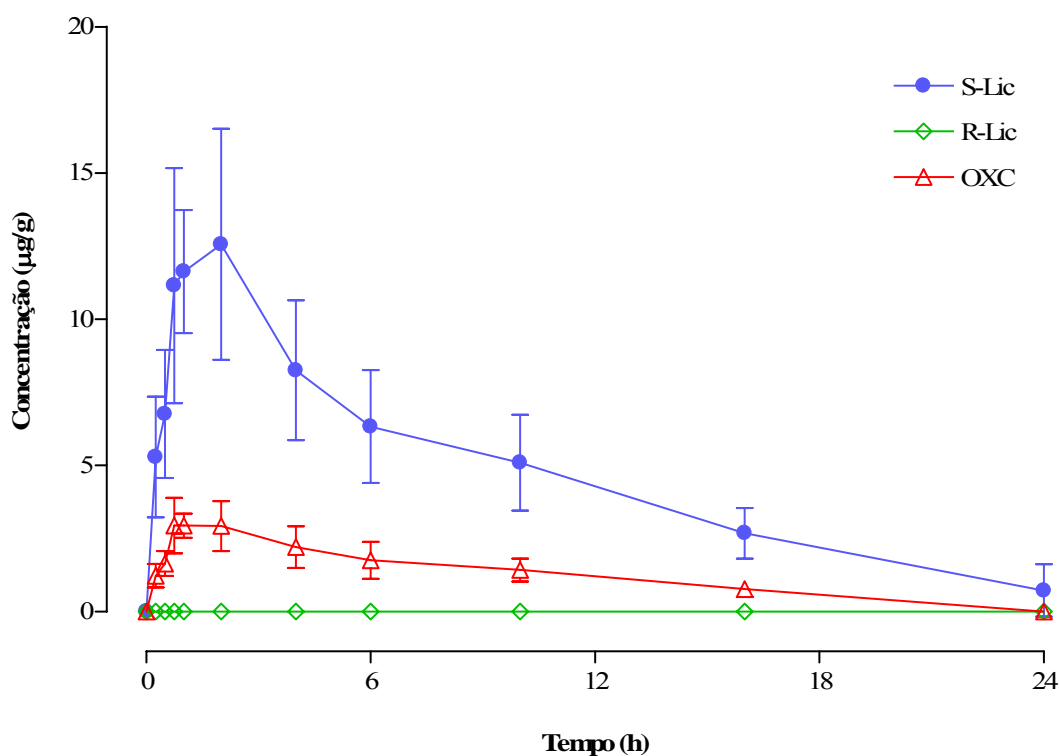


Figura VI.3 – Perfis cerebrais concentração-tempo obtidos para os enantiômeros S-Lic e R-Lic e para a OXC, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic. Os símbolos representam a média \pm desvio padrão de 8 determinações por ponto do tempo ($n = 8$).

Para melhor visualizar a relação existente entre as concentrações cerebrais do enantiômero S-Lic e do seu metabolito OXC, as razões entre as concentrações médias correspondentes foram calculadas e representadas graficamente em função do tempo (figura VI.4).

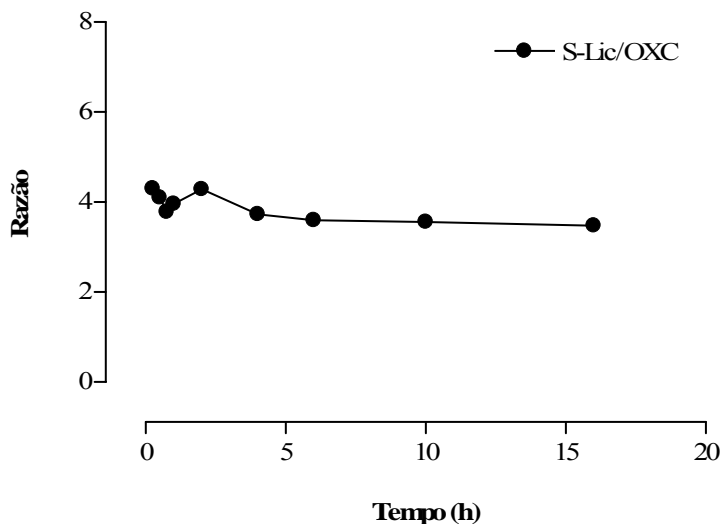


Figura VI.4 – Evolução em função do tempo das razões entre as concentrações cerebrais de S-Lic e OXC, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic. O símbolo representa a razão entre as médias de 8 determinações por ponto do tempo (n = 8).

3.1.2.1 – Análise farmacocinética

As concentrações cerebrais médias obtidas, em função do tempo, para o enantiómero S-Lic e para o metabolito OXC foram submetidas a uma análise cinética não-compartimental. Os parâmetros farmacocinéticos estimados apresentam-se na tabela VI.4. As concentrações cerebrais correspondentes ao metabolito R-Lic encontravam-se em valores não mensuráveis pelo que apenas foi possível estimar os parâmetros farmacocinéticos referentes ao composto administrado (S-Lic) e ao metabolito OXC.

Tabela VI.4 – Parâmetros farmacocinéticos cerebrais relativos ao enantiômero S-Lic e aos seus metabolitos R-Lic e OXC obtidos em murganhos após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic.

Parâmetros	S-Lic	R-Lic	OXC
t _{max} (h)	2,00	ND	0,75
C _{max} (µg/g)	12,56	ND	2,95
AUC _{0-t} (µg.h/g)	114,46	NC	27,20
AUC _{0-∞} (µg.h/g)	120,41	NC	35,47
t _{1/2} (h)	5,74	NC	7,40
MRT (h)	8,67	NC	11,01

ND, não disponível; NC, não calculado.

3.1.3 – Biodisposição do enantiômero S-Lic no fígado

As concentrações hepáticas do enantiômero S-Lic e dos seus metabolitos R-Lic e OXC foram determinadas em murganhos, durante um período de 24 h, após a administração por via oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic, sob a forma de uma suspensão aquosa de CMC. As concentrações obtidas no fígado para o enantiômero administrado (S-Lic) e para os metabolitos R-Lic e OXC são apresentadas na tabela VI.5. Na figura VI.5 estão representados os perfis hepáticos médios concentração-tempo para os enantiômeros S-Lic e R-Lic e para a OXC.

Tabela VI.5 – Concentrações hepáticas em murganhos após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg do enantiômero S-Lic (n = 8): (A) S-Lic, (B) R-Lic e (C) OXC.

(A)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	61,65	39,33	78,00	91,72	111,29	67,71	50,09	69,27	71,13	22,81	32,07
0,50	47,30	36,98	48,33	81,94	56,72	38,76	47,81	38,40	49,53	14,68	29,64
0,75	42,46	36,91	66,73	31,52	50,21	32,58	45,82	30,91	42,14	12,20	28,94
1	41,18	39,33	67,61	33,05	35,04	35,13	41,61	56,52	43,68	12,12	27,74
2	36,98	36,45	55,41	34,27	24,71	30,41	24,35	25,98	33,57	10,20	30,39
4	17,27	26,85	28,45	18,95	14,99	28,07	23,21	19,51	22,16	5,21	23,52
6	23,75	11,66	15,86	16,83	12,51	14,81	16,84	24,54	17,10	4,74	27,71
10	25,94	11,23	11,06	14,73	13,50	16,46	11,65	18,69	15,41	5,03	32,67
16	8,68	11,37	16,04	14,08	8,26	21,81	13,93	9,16	12,92	4,59	35,52
24	2,49	6,54	10,69	3,50	- *	12,57	0,43	- *	4,53	4,92	108,75

* Concentrações hepáticas < 0,4 µg/g (LQ); ^a Média, µg/g; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

(B)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	0,65	0,85	0,88	1,13	1,31	0,74	0,63	0,78	0,87	0,24	27,19
0,50	0,51	0,42	0,58	0,95	0,55	0,40	0,51	0,40	0,54	0,18	33,22
0,75	0,72	0,47	0,95	0,40	0,54	0,41	0,80	0,50	0,60	0,20	33,61
1	0,50	0,46	0,87	0,47	0,54	0,56	0,54	0,61	0,57	0,13	23,07
2	- *	- *	0,56	- *	0,41	- *	- *	0,45	- *	-	-
4	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-
6	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-
10	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-
16	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-
24	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-

* Concentrações hepáticas < 0,4 µg/g (LQ); ^a Média, µg/g; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

(C)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	1,09	1,02	1,51	2,67	3,72	1,83	2,49	0,99	1,92	0,98	50,96
0,50	1,78	1,83	2,22	2,20	1,00	1,18	1,12	0,62	1,49	0,59	39,74
0,75	8,66	4,01	9,10	2,72	1,73	3,48	5,94	4,34	5,00	2,69	53,86
1	4,76	4,29	8,61	6,32	8,23	8,25	7,23	3,35	6,38	2,03	31,79
2	1,43	1,18	2,54	2,34	5,69	3,54	3,47	7,11	3,41	2,06	60,37
4	0,62	1,50	5,02	0,73	1,32	2,91	1,07	2,18	1,92	1,46	76,35
6	3,38	2,54	4,02	1,46	1,23	0,92	1,38	4,86	2,47	1,47	59,36
10	3,67	1,89	3,24	2,24	2,01	3,24	3,14	3,24	2,83	0,68	23,90
16	0,40	0,54	0,77	1,96	0,45	0,80	0,86	0,74	0,82	0,49	60,50
24	- *	0,49	0,66	- *	- *	1,69	- *	- *	- *	-	-

* Concentrações hepáticas < 0,4 µg/g (LQ); ^a Média, µg/g; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

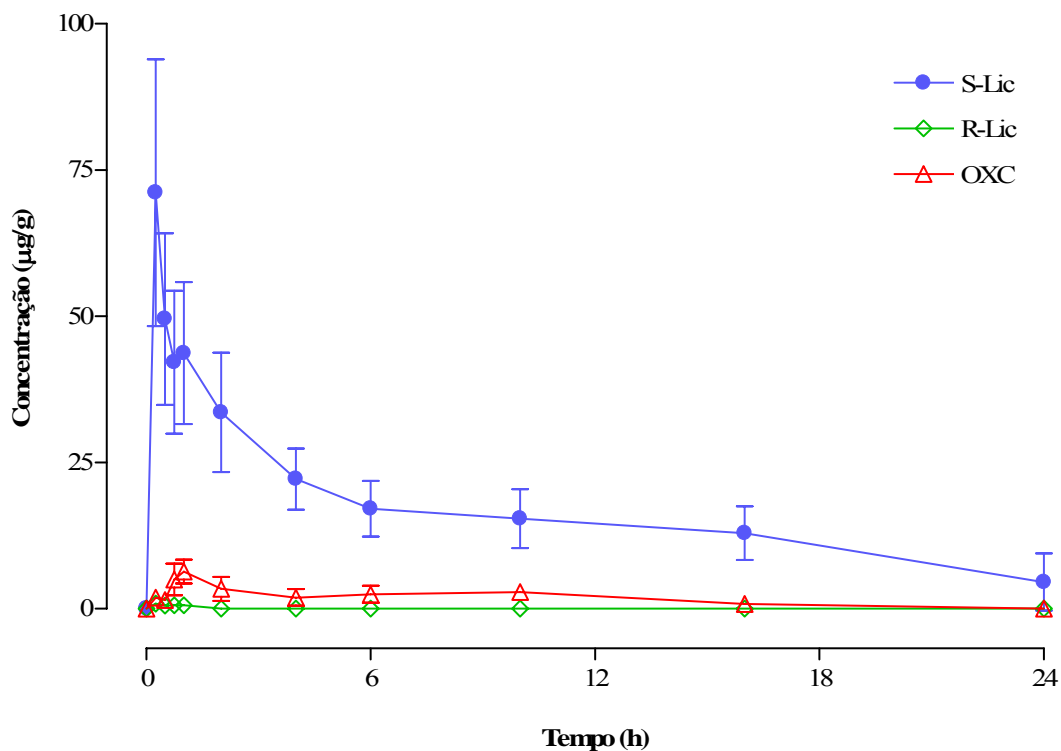


Figura VI.5 – Perfis hepáticos concentração-tempo obtidos para os enantiômeros S-Lic e R-Lic e para a OXC, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic. Os símbolos representam a média±desvio padrão de 8 determinações por ponto do tempo (n = 8).

Para melhor interpretar a relação existente entre as concentrações hepáticas do enantiômero S-Lic e dos seus metabolitos (OXC e R-Lic), as razões entre as concentrações médias correspondentes foram calculadas e representadas graficamente em função do tempo (figura VI.6).

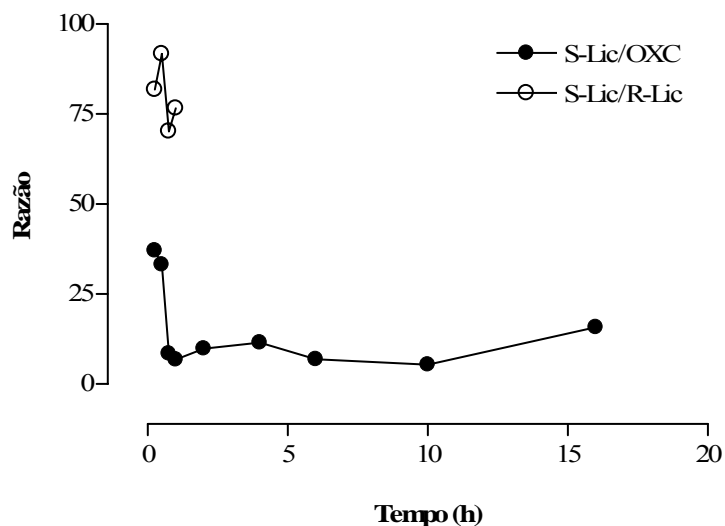


Figura VI.6 – Evolução em função do tempo das razões entre as concentrações hepáticas de S-Lic e dos seus metabolitos OXC e R-Lic, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic. Os símbolos representam a razão entre as médias de 8 determinações por ponto do tempo ($n = 8$).

3.1.3.1 – Análise farmacocinética

As concentrações hepáticas médias obtidas, em função do tempo, para o enantiómero S-Lic e para os seus metabolitos (R-Lic e OXC) foram sujeitas a uma análise cinética não-compartimental. Os parâmetros farmacocinéticos estimados apresentam-se na tabela VI.6.

Tabela VI.6 – Parâmetros farmacocinéticos hepáticos referentes ao enantiómero S-Lic e aos seus metabolitos R-Lic e OXC obtidos em murganhos após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic.

Parâmetros	S-Lic	R-Lic	OXC
t_{max} (h)	0,25	0,25	1,00
C_{max} ($\mu\text{g/g}$)	71,13	0,87	6,38
AUC_{0-t} ($\mu\text{g.h/g}$)	399,55	0,95	39,08
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g.h/g}$)	446,40	1,16	47,16
$t_{1/2}$ (h)	7,18	0,82	6,87
MRT (h)	10,96	1,24	9,87

3.1.4 – Biodisposição do enantiômero S-Lic no rim

As concentrações renais do enantiômero S-Lic e dos seus metabolitos R-Lic e OXC foram avaliadas em murganhos, durante um período de 24 h, após a administração por via oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic, sob a forma de uma suspensão aquosa de CMC. As concentrações determinadas no rim para o enantiômero administrado (S-Lic) e para os metabolitos R-Lic e OXC são apresentadas na tabela VI.7. Na figura VI.7 estão representados os perfis renais médios concentração-tempo para os enantiômeros S-Lic e R-Lic e para a OXC.

Tabela VI.7 – Concentrações renais em murganhos após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg do enantiômero S-Lic (n = 8): (A) S-Lic, (B) R-Lic e (C) OXC.

(A)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	54,00	22,54	53,77	58,36	81,42	54,56	41,38	47,67	51,71	16,55	32,01
0,50	33,47	28,70	26,34	53,43	35,99	27,67	46,58	25,66	34,73	10,23	29,45
0,75	33,83	30,41	73,02	33,48	53,01	34,87	45,71	28,55	41,61	15,13	36,35
1	34,32	21,51	68,65	34,15	37,73	30,88	46,99	51,15	40,67	14,58	35,84
2	24,69	25,69	42,51	33,52	22,22	28,46	22,01	27,59	28,34	6,83	24,09
4	10,32	29,77	25,29	17,76	13,29	33,18	21,47	18,48	21,20	7,87	37,15
6	15,74	10,27	18,41	14,51	10,29	10,14	18,56	23,50	15,18	4,86	32,01
10	21,72	13,50	8,97	10,26	11,03	14,79	12,41	17,27	13,74	4,16	30,29
16	6,93	6,31	14,55	12,66	4,90	14,60	9,15	5,88	9,37	4,01	42,78
24	1,71	4,71	8,13	3,10	0,42	9,40	- *	1,94	3,68	3,48	94,79

* Concentrações renais < 0,4 µg/g (LQ); ^a Média, µg/g; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

(B)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	0,63	- *	0,59	0,66	0,89	0,58	0,47	0,54	0,55	0,25	46,28
0,50	- *	- *	- *	0,60	- *	- *	0,51	- *	- *	-	-
0,75	- *	- *	0,78	- *	0,49	- *	0,52	- *	- *	-	-
1	- *	- *	0,78	- *	0,43	- *	0,49	0,54	- *	-	-
2	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-
4	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-
6	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-
10	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-
16	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-
24	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-

* Concentrações renais < 0,4 µg/g (LQ); ^a Média, µg/g; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

(C)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	1,09	0,52	1,91	1,30	2,16	1,54	1,37	1,16	1,38	0,51	36,65
0,50	1,29	1,55	1,23	2,07	1,39	0,96	1,98	0,78	1,41	0,45	32,10
0,75	2,19	1,28	3,82	2,41	2,49	1,47	2,01	1,73	2,18	0,79	36,39
1	2,28	1,33	4,31	3,07	3,48	2,38	3,53	3,67	3,01	0,95	31,74
2	2,57	1,65	3,30	2,98	2,50	2,39	1,59	3,15	2,52	0,64	25,40
4	0,77	2,66	2,80	1,36	1,01	3,13	2,39	1,45	1,95	0,90	46,31
6	2,08	1,35	2,43	1,76	1,34	1,23	2,33	3,43	1,99	0,74	37,21
10	2,38	0,83	1,32	1,08	1,30	1,38	1,17	1,40	1,36	0,45	33,45
16	0,42	0,44	0,94	0,85	0,44	0,95	0,94	- *	0,62	0,35	56,17
24	- *	0,49	0,69	- *	- *	0,91	- *	- *	- *	-	-

* Concentrações renais < 0,4 µg/g (LQ); ^a Média, µg/g; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

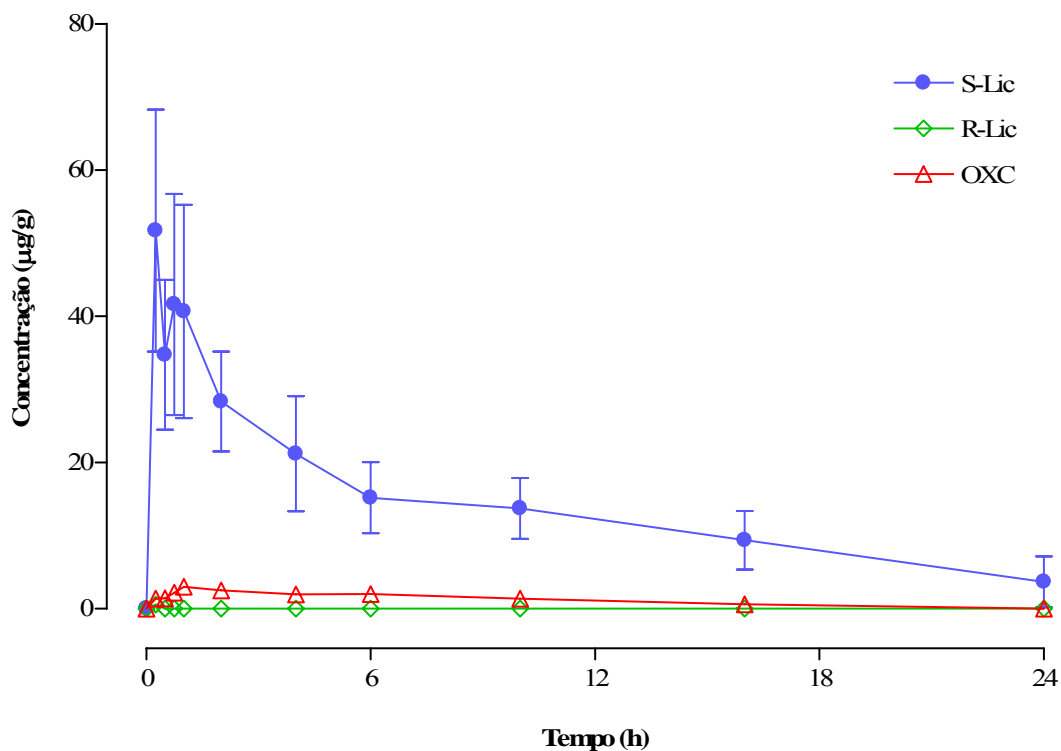


Figura VI.7 – Perfis renais concentração-tempo obtidos para os enantiômeros S-Lic e R-Lic e para a OXC, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic. Os símbolos representam a média±desvio padrão de 8 determinações por ponto do tempo (n = 8).

Para melhor explicar a relação existente entre as concentrações renais do enantiômero S-Lic e dos seus metabolitos (OXC e R-Lic), as razões entre as concentrações médias correspondentes foram calculadas e representadas graficamente em função do tempo (figura VI.8).

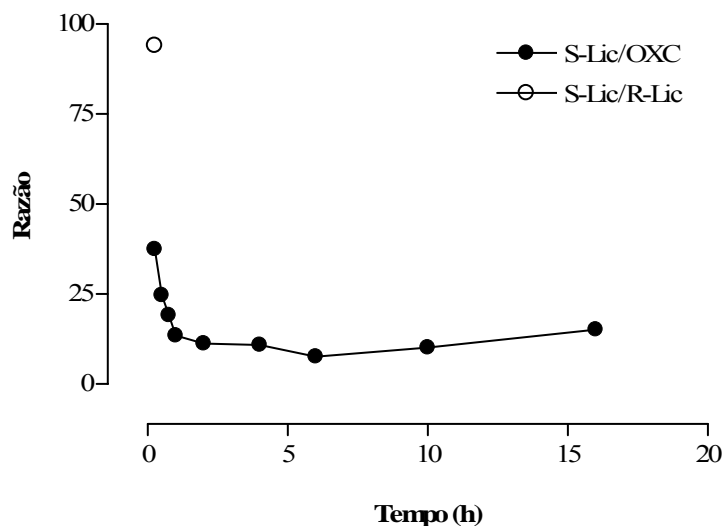


Figura VI.8 – Evolução em função do tempo das razões entre as concentrações renais de S-Lic e dos seus metabolitos OXC e R-Lic, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic. Os símbolos representam a razão entre as médias de 8 determinações por ponto do tempo (n = 8).

3.1.4.1 – Análise farmacocinética

As concentrações renais médias obtidas, em função do tempo, para o enantiómero S-Lic e para os seus metabolitos (R-Lic e OXC) foram sujeitas a uma análise cinética não-compartimental. Os parâmetros farmacocinéticos estimados apresentam-se na tabela VI.8. Dada a escassez de pares de dados concentração-tempo conseguidos para o metabolito R-Lic no tecido renal, os parâmetros farmacocinéticos que foram possíveis de obter resumem-se, neste caso particular, aos valores experimentais de t_{\max} e C_{\max} .

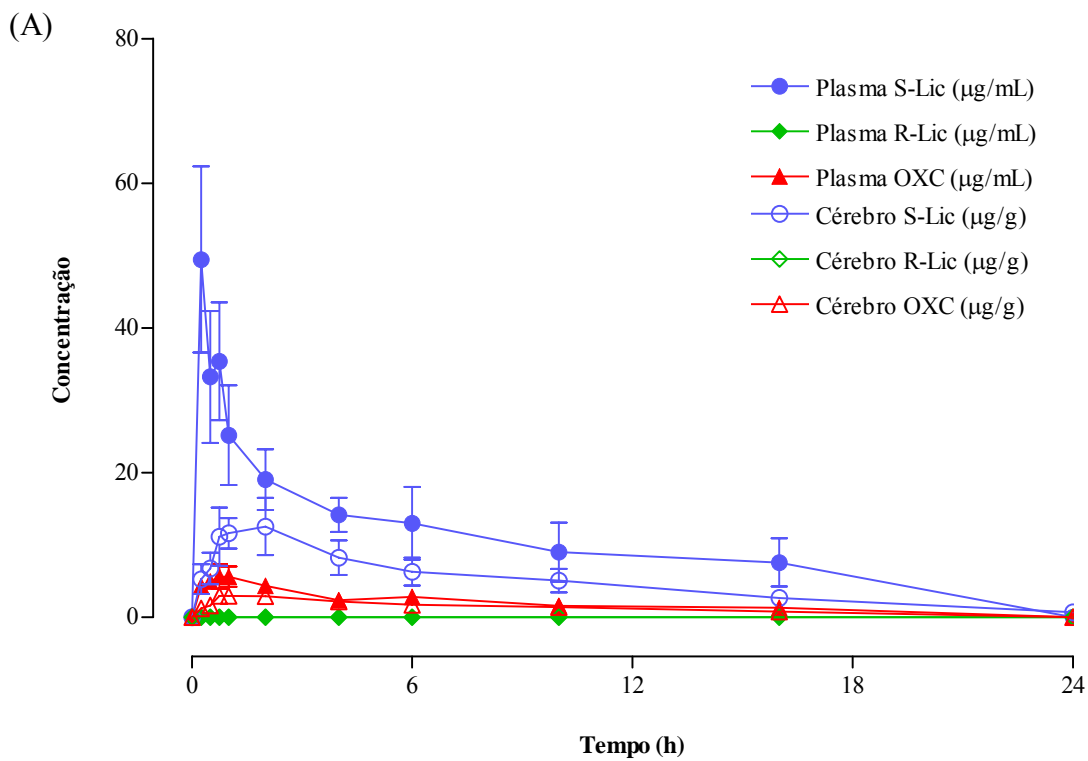
Tabela VI.8 – Parâmetros farmacocinéticos renais relativos ao enantiómero S-Lic e aos seus metabolitos R-Lic e OXC obtidos em murganhos após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic.

Parâmetros	S-Lic	R-Lic	OXC
t_{\max} (h)	0,25	0,25	1,00
C_{\max} ($\mu\text{g/g}$)	51,71	0,55	3,01
AUC_{0-t} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/g}$)	336,89	NC	25,42
$\text{AUC}_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{h/g}$)	375,37	NC	31,79
$t_{1/2}$ (h)	7,26	NC	7,08
MRT (h)	10,62	NC	10,26

NC, não calculado.

3.1.5 – Distribuição tecidual do enantiômero S-Lic e dos seus metabolitos

Para tornar mais perceptível a relação que se estabelece no murganho entre as concentrações plasmáticas e as concentrações tecidulares (cerebrais, hepáticas e renais) para o enantiômero S-Lic e para os metabolitos R-Lic e OXC formados *in vivo* mediante a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic, os perfis médios concentração-tempo correspondentes são apresentados conjuntamente na figura VI.9.



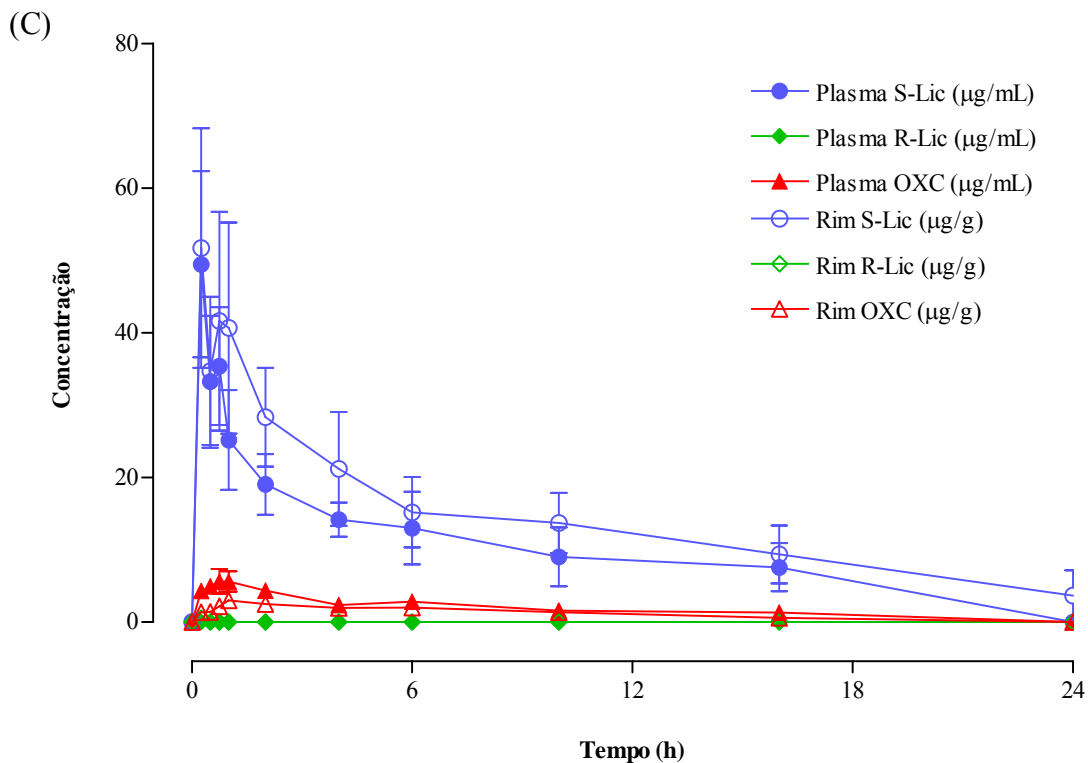
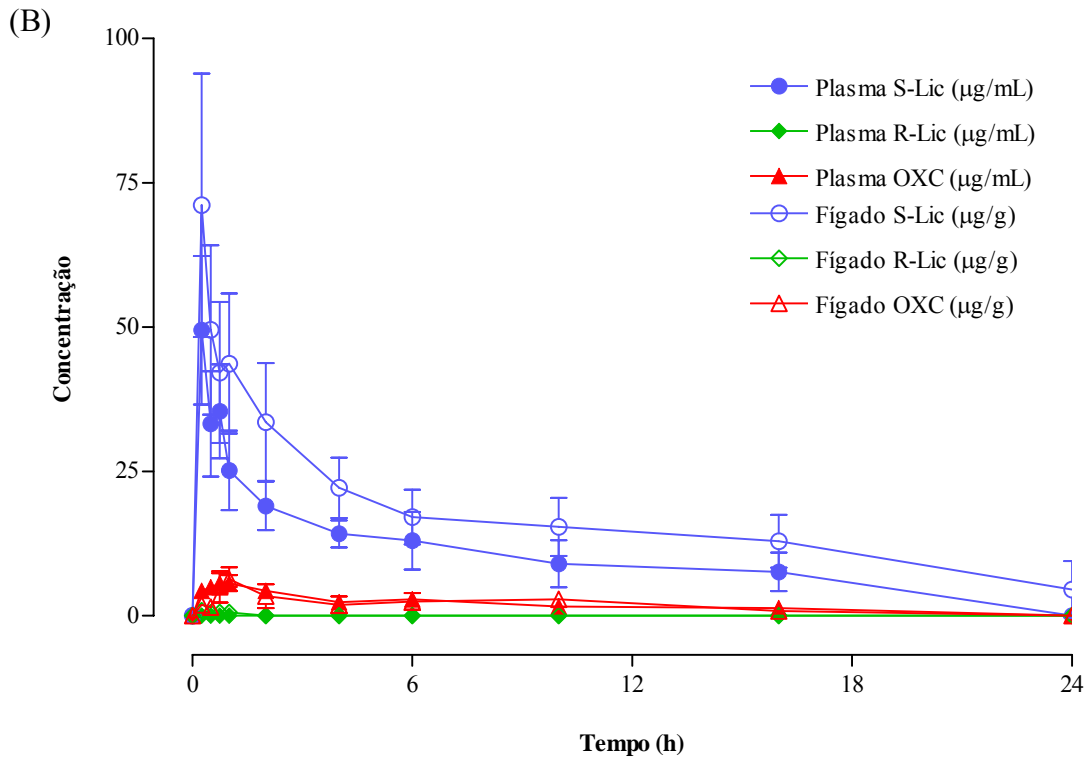


Figura VI.9 – Perfis concentração-tempo obtidos para o enantiômero S-Lic e para os metabolitos R-Lic e OXC, em murganços, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic: (A) plasmáticos e cerebrais, (B) plasmáticos e hepáticos e (C) plasmáticos e renais. Os símbolos representam a média \pm desvio padrão de 8 determinações por ponto do tempo (n = 8).

Com o intuito de averiguar a natureza da associação entre as concentrações plasmáticas e tecidulares obtidas para o enantiómero S-Lic e para o metabolito OXC, procedeu-se às análises de correlação e de regressão linear para diferentes intervalos de tempo. O mesmo tipo de análise não foi aplicado ao metabolito R-Lic porque as concentrações correspondentes foram encontradas, geralmente, em valores BLQ. Os resultados decorrentes das análises efectuadas estão resumidos nas tabelas VI.9, VI.10 e VI.11.

Tabela VI.9 – Análises de correlação (A) e de regressão linear (B) entre as concentrações plasmáticas e cerebrais médias obtidas para o enantiómero S-Lic e para o metabolito OXC, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic.

(A)

Análise de Correlação				
S-Lic				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
r=0,427	r=0,727	r=0,865	r=0,946	r=0,960
p>0,05	p<0,05	p<0,01	p<0,01	p<0,01
OXC				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
r=0,796	r=0,863	r=0,940	r=0,937	r=0,955
p<0,01	p<0,01	p<0,001	p<0,01	p<0,01

r, Coeficiente de correlação de Pearson.

(B)

Análise de Regressão Linear				
S-Lic				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
$C_c=0,110C_p+4,78$	$C_c=0,249C_p+2,91$	$C_c=0,341C_p+2,04$	$C_c=0,510C_p+0,343$	$C_c=0,615C_p-0,511$
$r^2=0,182$	$r^2=0,529$	$r^2=0,748$	$r^2=0,896$	$r^2=0,922$
OXC				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
$C_c=0,403C_p+0,455$	$C_c=0,435C_p+0,458$	$C_c=0,500C_p+0,387$	$C_c=0,537C_p+0,329$	$C_c=0,672C_p+0,116$
$r^2=0,634$	$r^2=0,745$	$r^2=0,884$	$r^2=0,877$	$r^2=0,912$

C_c , Concentração no cérebro ($\mu\text{g/g}$); C_p , Concentração no plasma ($\mu\text{g/mL}$); r^2 , Coeficiente de determinação.

Tabela VI.10 – Análises de correlação (A) e de regressão linear (B) entre as concentrações plasmáticas e hepáticas médias obtidas para o enantiômero S-Lic e para o metabolito OXC, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic.

(A)

Análise de Correlação				
S-Lic				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
r=0,979	r=0,961	r=0,948	r=0,978	r=0,962
p<0,0001	p<0,0001	p<0,001	p<0,001	p<0,01
OXC				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
r=0,746	r=0,789	r=0,936	r=0,928	r=0,861
p<0,05	p<0,05	p<0,001	p<0,01	p<0,05

r, Coeficiente de correlação de Pearson.

(B)

Análise de Regressão Linear				
S-Lic				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
$C_f=1,33C_p+3,87$	$C_f=1,28C_p+4,50$	$C_f=1,23C_p+4,98$	$C_f=1,59C_p+1,34$	$C_f=1,43C_p+2,62$
$r^2=0,958$	$r^2=0,924$	$r^2=0,899$	$r^2=0,956$	$r^2=0,925$
OXC				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
$C_f=0,727C_p+0,220$	$C_f=0,775C_p+0,226$	$C_f=0,948C_p+0,0360$	$C_f=1,00C_p-0,0504$	$C_f=0,749C_p+0,348$
$r^2=0,556$	$r^2=0,622$	$r^2=0,877$	$r^2=0,860$	$r^2=0,741$

C_f , Concentração no fígado ($\mu\text{g/g}$); C_p , Concentração no plasma ($\mu\text{g/mL}$); r^2 , Coeficiente de determinação.

Tabela VI.11 – Análises de correlação (A) e de regressão linear (B) entre as concentrações plasmáticas e renais médias obtidas para o enantiômero S-Lic e para o metabolito OXC, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic.

(A)

Análise de Correlação				
S-Lic				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
r=0,961	r=0,950	r=0,964	r=0,976	r=0,966
p<0,0001	p<0,0001	p<0,001	p<0,001	p<0,01
OXC				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
r=0,777	r=0,814	r=0,902	r=0,957	r=0,952
p<0,01	p<0,01	p<0,01	p<0,001	p<0,01

r, Coeficiente de correlação de Pearson.

(B)

Análise de Regressão Linear				
S-Lic				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
$C_r=1,01C_p+5,24$	$C_r=1,10C_p+3,96$	$C_r=1,23C_p+2,79$	$C_r=1,49C_p+0,138$	$C_r=1,28C_p+1,80$
$r^2=0,924$	$r^2=0,906$	$r^2=0,930$	$r^2=0,952$	$r^2=0,933$
OXC				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
$C_r=0,352C_p+0,478$	$C_r=0,373C_p+0,481$	$C_r=0,434C_p+0,413$	$C_r=0,530C_p+0,261$	$C_r=0,610C_p+0,136$
$r^2=0,604$	$r^2=0,662$	$r^2=0,813$	$r^2=0,916$	$r^2=0,906$

C_r , Concentração no rim ($\mu\text{g/g}$); C_p , Concentração no plasma ($\mu\text{g/mL}$); r^2 , Coeficiente de determinação.

Para avaliar a velocidade e a extensão de distribuição tecidual do enantiómero S-Lic e dos seus metabolitos em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic, as razões cérebro/plasma, fígado/plasma e rim/plasma para os parâmetros farmacocinéticos correspondentes C_{max} e $AUC_{0-\infty}$ foram calculadas e são apresentadas na tabela VI.12.

Tabela VI.12 – Razões tecidulares/plasmáticas para os enantiómeros S-Lic e R-Lic e para a OXC, usando os parâmetros farmacocinéticos C_{max} e $AUC_{0-\infty}$ obtidos após a administração oral de S-Lic (350 mg/kg) em murganhos.

Razão	C_{max}			$AUC_{0-\infty}$		
	S-Lic	R-Lic	OXC	S-Lic	R-Lic	OXC
Cérebro/Plasma	0,25	ND	0,52	0,39	ND	0,67
Fígado/Plasma	1,44	ND	1,13	1,44	ND	0,89
Rim/Plasma	1,05	ND	0,53	1,21	ND	0,60

ND, não disponível.

3.1.6 – Biodisposição do enantiómero R-Lic no plasma

As concentrações plasmáticas do enantiómero R-Lic e dos seus metabolitos S-Lic e OXC foram determinadas em murganhos, durante um período de 24 h, após a administração por via oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic, sob a forma de uma suspensão aquosa de CMC. As concentrações determinadas no plasma para os enantiómeros R-Lic e S-Lic e para a OXC são apresentadas na tabela VI.13. Na figura VI.10 estão representados os perfis plasmáticos médios concentração-tempo correspondentes. No entanto, é importante salientar que, para além dos metabolitos S-Lic e OXC, foi detectado, aparentemente em quantidades consideráveis, um metabolito adicional mais polar que os enantiómeros (menor tempo de retenção), o qual não foi quantificado porque a técnica analítica usada não estava validada para esse fim.

Tabela VI.13 – Concentrações plasmáticas em murganhos após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg do enantiômero R-Lic (n = 8): (A) R-Lic, (B) S-Lic e (C) OXC.

(A)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	46,77	102,93	48,47	127,15	65,50	74,39	82,76	48,43	74,55	28,92	38,80
0,50	96,82	21,56	23,12	19,56	29,99	39,97	58,46	59,21	43,59	26,67	61,19
0,75	43,44	47,85	43,09	34,40	34,99	21,57	33,52	58,01	39,61	10,98	27,73
1	16,14	31,47	47,48	19,54	25,05	25,17	46,75	42,24	31,73	12,33	38,85
2	13,42	49,76	10,06	40,05	11,58	16,96	11,09	22,87	21,97	14,96	68,08
4	40,67	27,78	19,47	26,02	9,51	8,97	18,72	20,88	21,50	10,28	47,83
6	8,32	13,18	4,89	11,33	2,10	10,27	4,23	5,79	7,51	3,87	51,51
10	4,51	2,29	4,47	9,94	7,62	9,24	4,60	5,49	6,02	2,65	44,03
16	4,89	4,77	13,19	7,34	3,36	3,66	4,07	3,37	5,58	3,34	59,78
24	2,94	1,85	1,71	0,51	4,41	4,06	- *	5,11	2,57	1,86	72,39

* Concentrações plasmáticas < 0,4 µg/mL (LQ); ^a Média, µg/mL; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

(B)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	0,75	1,50	0,76	1,73	0,94	1,10	1,22	0,69	1,09	0,38	34,82
0,50	2,20	0,43	- *	- *	0,55	0,61	0,86	0,97	0,70	0,70	99,67
0,75	1,41	1,09	1,32	0,64	0,75	0,42	0,63	1,00	0,91	0,35	38,97
1	0,42	0,83	1,25	0,41	0,53	0,75	0,79	1,29	0,78	0,34	43,49
2	0,63	1,28	0,51	1,03	0,54	0,51	0,42	0,98	0,74	0,31	42,68
4	0,86	0,54	- *	- *	2,12	0,50	0,47	0,72	0,65	0,67	102,54
6	0,63	0,93	0,66	0,67	- *	0,57	0,47	0,69	0,58	0,27	46,29
10	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-
16	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-
24	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-

* Concentrações plasmáticas < 0,4 µg/mL (LQ); ^a Média, µg/mL; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

(C)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	3,23	5,39	2,89	6,06	3,92	3,21	4,72	2,62	4,01	1,26	31,38
0,50	9,45	2,34	1,70	1,96	2,15	3,03	5,36	4,63	3,83	2,63	68,62
0,75	5,33	4,78	5,26	2,70	4,05	2,71	3,25	7,37	4,43	1,59	35,94
1	1,80	3,34	6,20	4,77	2,67	3,11	5,42	6,67	4,25	1,77	41,67
2	3,07	8,16	1,78	7,47	2,76	3,83	2,63	3,67	4,17	2,34	56,19
4	6,48	4,31	3,60	3,64	1,60	1,49	2,54	1,83	3,19	1,70	53,23
6	1,24	1,71	0,96	1,52	0,63	1,70	1,10	1,07	1,24	0,38	30,60
10	0,63	0,66	0,71	1,41	1,62	1,40	0,66	0,74	0,98	0,42	42,81
16	0,73	0,61	1,02	0,76	0,60	0,68	0,86	0,77	0,75	0,14	18,27
24	0,66	0,58	0,55	- *	1,18	0,75	- *	1,20	0,62	0,45	73,84

* Concentrações plasmáticas < 0,4 µg/mL (LQ); ^a Média, µg/mL; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

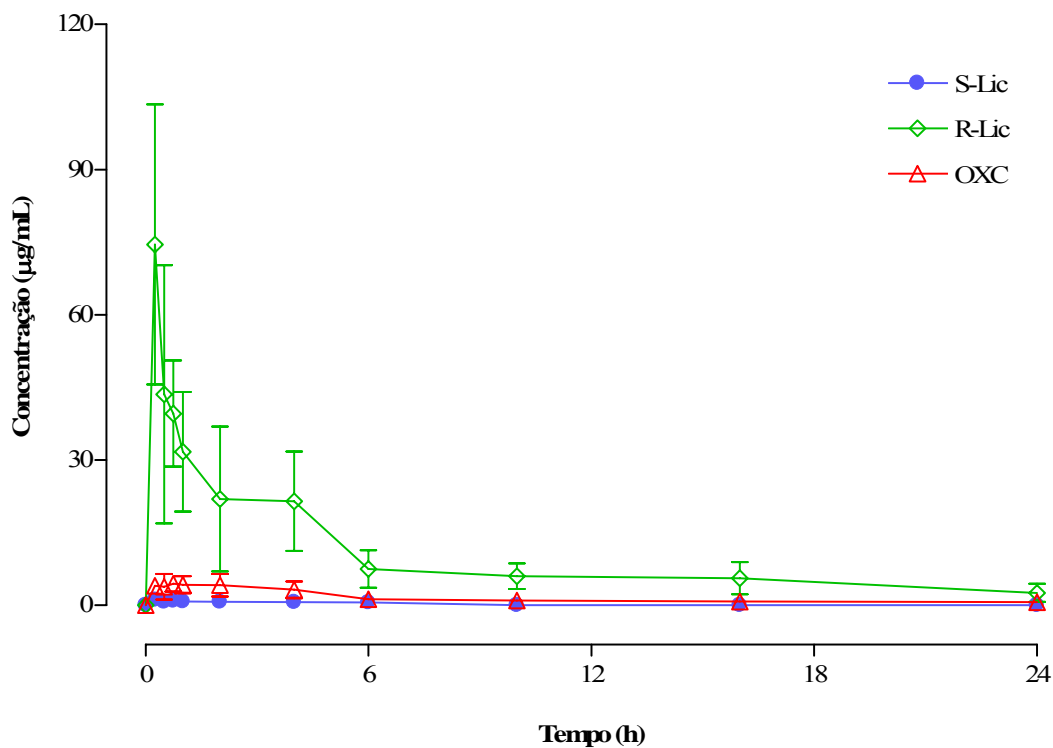


Figura VI.10 – Perfis plasmáticos concentração-tempo obtidos para os enantiômeros R-Lic e S-Lic e para a OXC, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic. Os símbolos representam a média±desvio padrão de 8 determinações por ponto do tempo (n = 8).

Para melhor ilustrar a relação existente entre as concentrações plasmáticas do enantiômero R-Lic e dos seus metabolitos (OXC e S-Lic), as razões entre as concentrações médias correspondentes foram calculadas e representadas graficamente em função do tempo (figura VI.11).

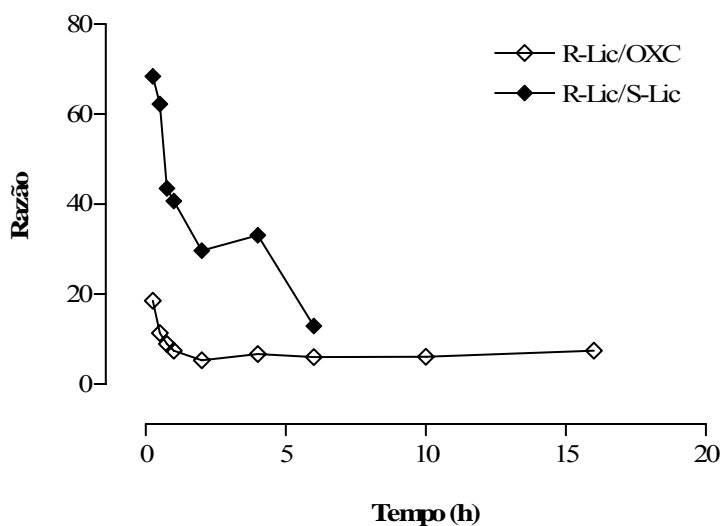


Figura VI.11 – Evolução em função do tempo das razões entre as concentrações plasmáticas de R-Lic e dos seus metabolitos OXC e S-Lic, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic. Os símbolos representam a razão entre as médias de 8 determinações por ponto do tempo (n = 8).

3.1.6.1 – Análise farmacocinética

As concentrações plasmáticas médias obtidas, em função do tempo, para o enantiômero R-Lic e para os seus metabolitos (S-Lic e OXC) foram sujeitas a uma análise cinética não-compartimental. Os parâmetros farmacocinéticos estimados apresentam-se na tabela VI.14.

Tabela VI.14 – Parâmetros farmacocinéticos plasmáticos referentes ao enantiômero R-Lic e aos seus metabolitos S-Lic e OXC obtidos em murganhos após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic.

Parâmetros	R-Lic	S-Lic	OXC
t_{\max} (h)	0,25	0,25	0,75
C_{\max} ($\mu\text{g/mL}$)	74,55	1,09	4,43
AUC_{0-t} ($\mu\text{g.h/mL}$)	237,22	4,16	34,69
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g.h/mL}$)	282,68	11,67	42,21
$t_{1/2}$ (h)	12,24	8,98	8,47
MRT (h)	12,30	13,21	12,54

3.1.7 – Biodisposição do enantiômero R-Lic no cérebro

As concentrações cerebrais do enantiômero R-Lic e dos seus metabolitos S-Lic e OXC foram avaliadas em murganhos, durante um período de 24 h, após a administração por via oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic, sob a forma de uma suspensão aquosa de CMC. Nas condições experimentais estabelecidas as concentrações cerebrais de S-Lic não foram determinadas quantitativamente por se situarem em valores BLQ em todos os pontos do tempo estudados ($< 0,4 \mu\text{g/g}$). As concentrações determinadas no cérebro para o enantiômero R-Lic e para a OXC são apresentadas na tabela VI.15. Na figura VI.12 estão representados os perfis cerebrais médios concentração-tempo para os enantiômeros R-Lic e S-Lic e para a OXC. Pela disposição do enantiômero R-Lic surgiu no cérebro, tal como no plasma, um metabolito extra, o qual não foi investigado em termos quantitativos.

Tabela VI.15 – Concentrações cerebrais em murganhos após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg do enantiômero R-Lic (n = 8): (A) R-Lic e (B) OXC.

(A)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	4,81	6,45	4,49	13,75	8,38	8,60	8,88	4,24	7,45	3,18	42,74
0,50	4,85	2,52	7,00	2,84	3,76	4,05	8,42	3,93	4,67	2,04	43,76
0,75	11,06	5,84	6,14	6,92	7,82	9,24	10,54	12,51	8,76	2,46	28,10
1	5,28	10,00	2,70	5,21	7,38	7,90	6,38	4,08	6,12	2,31	37,73
2	12,82	7,97	4,84	5,46	3,61	5,28	3,14	5,82	6,12	3,08	50,33
4	14,01	4,26	5,41	4,86	3,95	3,93	5,41	4,41	5,78	3,38	58,42
6	2,18	3,78	1,49	2,72	0,77	2,32	1,45	2,32	2,13	0,92	43,01
10	1,12	0,88	1,39	3,04	3,04	2,78	1,19	1,66	1,89	0,91	48,40
16	1,48	0,85	2,26	1,77	0,85	1,23	1,12	0,73	1,29	0,53	40,93
24	0,84	0,77	0,72	- *	0,98	0,71	- *	1,19	0,65	0,43	66,29

* Concentrações cerebrais < 0,4 µg/g (LQ); ^a Média, µg/g; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

(B)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	0,76	1,62	0,81	2,51	1,79	1,38	1,61	0,91	1,42	0,59	41,73
0,50	1,20	0,65	1,51	0,79	0,72	1,09	2,01	0,88	1,11	0,46	41,81
0,75	2,39	1,45	1,33	1,44	1,91	1,64	2,14	2,84	1,89	0,53	28,16
1	0,97	2,20	0,68	1,01	1,47	1,76	1,37	0,83	1,29	0,51	39,99
2	2,85	2,11	1,00	1,28	0,92	1,33	0,85	1,41	1,47	0,68	46,61
4	2,15	0,99	1,21	1,26	0,74	0,70	1,09	0,71	1,11	0,48	43,13
6	0,46	0,80	0,41	0,64	- *	0,62	0,50	0,47	0,49	0,23	48,00
10	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-
16	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-
24	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	- *	-	-

* Concentrações cerebrais < 0,4 µg/g (LQ); ^a Média, µg/g; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

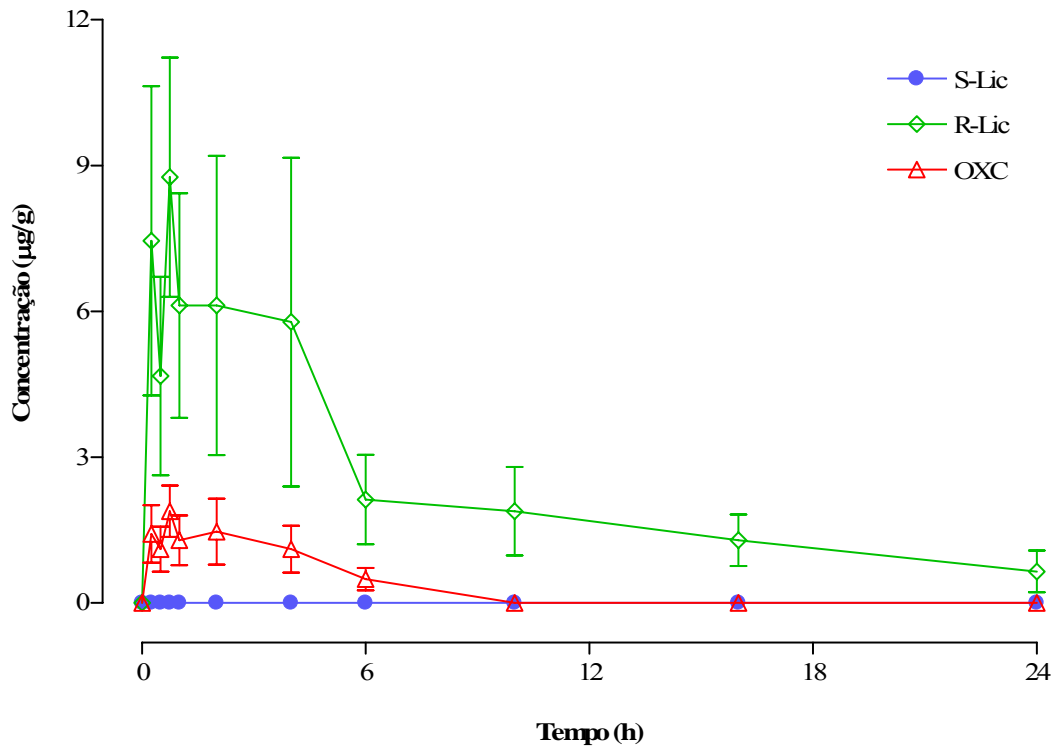


Figura VI.12 – Perfis cerebrais concentração-tempo obtidos para os enantiômeros R-Lic e S-Lic e para a OXC, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic. Os símbolos representam a média \pm desvio padrão de 8 determinações por ponto do tempo ($n = 8$).

Para melhor visualizar a relação existente entre as concentrações cerebrais do enantiômero R-Lic e do seu metabolito OXC, as razões entre as concentrações médias correspondentes foram calculadas e representadas graficamente em função do tempo (figura VI.13).

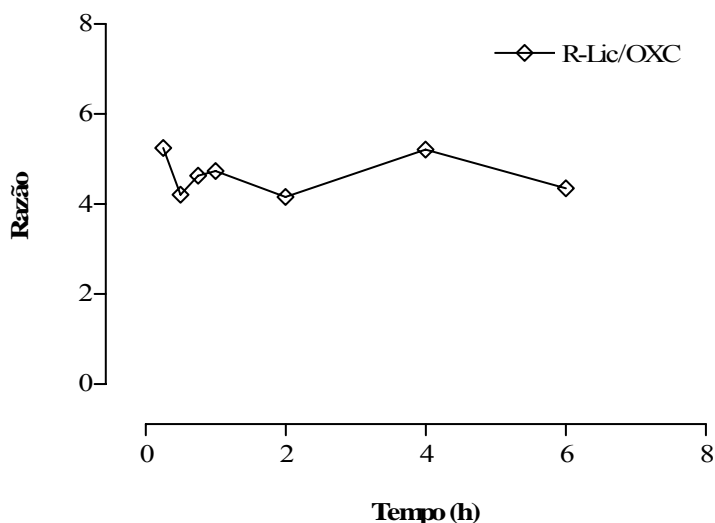


Figura VI.13 – Evolução em função do tempo das razões entre as concentrações cerebrais de R-Lic e OXC em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic. O símbolo representa a razão entre as médias de 8 determinações por ponto do tempo (n = 8).

3.1.7.1 – Análise farmacocinética

As concentrações cerebrais médias obtidas, em função do tempo, para o enantiômero R-Lic e para o metabolito OXC foram submetidas a uma análise cinética não-compartmental. Os parâmetros farmacocinéticos estimados apresentam-se na tabela VI.16. As concentrações cerebrais correspondentes ao metabolito S-Lic foram encontradas em valores não mensuráveis pelo que apenas foi possível estimar os parâmetros farmacocinéticos referentes ao composto administrado (R-Lic) e ao metabolito OXC.

Tabela VI.16 – Parâmetros farmacocinéticos cerebrais relativos ao enantiômero R-Lic e aos seus metabolitos S-Lic e OXC obtidos em murganhos após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic.

Parâmetros	R-Lic	S-Lic	OXC
t_{\max} (h)	0,75	ND	0,75
C_{\max} ($\mu\text{g/g}$)	8,76	ND	1,89
AUC_{0-t} ($\mu\text{g.h/g}$)	57,21	NC	6,81
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g.h/g}$)	64,38	NC	9,10
$t_{1/2}$ (h)	7,63	NC	3,25
MRT (h)	10,27	NC	4,62

ND, não disponível; NC, não calculado.

3.1.8 – Biodisposição do enantiómero R-Lic no fígado

As concentrações hepáticas do enantiómero R-Lic e dos seus metabolitos S-Lic e OXC foram avaliadas em murganhos, durante um período de 24 h, após a administração por via oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic, sob a forma de uma suspensão aquosa de CMC. As concentrações determinadas no fígado para o enantiómero administrado (R-Lic) e para os metabolitos S-Lic e OXC são apresentadas na tabela VI.17. Na figura VI.14 estão representados os perfis hepáticos médios concentração-tempo para os enantiómeros R-Lic e S-Lic e para a OXC. O metabolito desconhecido detectado no plasma e no cérebro surgiu também nas amostras de fígado.

Tabela VI.17 – Concentrações hepáticas em murganhos após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg do enantiómero R-Lic (n = 8): (A) R-Lic, (B) S-Lic e (C) OXC.

(A)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	40,62	55,38	45,49	154,39	74,52	84,05	90,39	54,82	74,96	36,77	49,06
0,50	33,56	28,35	45,67	22,52	29,89	22,62	65,72	27,91	34,53	14,58	42,22
0,75	54,44	29,13	34,17	46,88	51,14	49,13	61,63	77,89	50,55	15,25	30,17
1	20,02	45,06	13,10	28,29	29,60	32,06	42,34	26,44	29,61	10,58	35,72
2	35,57	21,86	13,55	15,79	11,64	16,22	12,37	21,26	18,53	7,86	42,39
4	35,07	15,29	17,27	13,97	8,52	8,57	16,28	22,70	17,21	8,57	49,81
6	10,13	15,17	5,97	12,19	2,17	11,60	5,04	5,28	8,44	4,46	52,80
10	6,52	2,65	5,31	11,46	7,49	10,24	5,26	7,21	7,02	2,82	40,20
16	5,43	5,66	14,48	6,96	3,64	3,78	5,17	4,46	6,20	3,52	56,73
24	3,19	1,54	1,91	0,59	5,10	3,98	- *	6,37	2,84	2,23	78,50

* Concentrações hepáticas < 0,4 µg/g (LQ); ^a Média, µg/g; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

(B)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	1,89	4,34	3,00	9,26	6,05	6,57	7,02	3,81	5,24	2,42	46,08
0,50	5,84	2,31	4,56	2,54	3,88	2,76	5,60	2,77	3,78	1,41	37,30
0,75	8,85	3,23	2,98	3,66	5,03	4,89	6,38	3,70	4,84	1,97	40,75
1	3,03	9,38	1,58	3,22	5,35	6,50	7,96	4,69	5,21	2,64	50,64
2	4,73	4,34	3,19	1,07	2,50	2,20	1,92	2,49	2,81	1,23	43,79
4	6,06	1,97	2,40	1,61	2,01	1,83	1,30	2,97	2,52	1,52	60,22
6	2,07	2,67	1,76	1,77	0,68	2,00	1,58	0,82	1,67	0,65	39,22
10	1,95	0,93	1,05	2,30	2,06	1,30	0,47	1,14	1,40	0,64	45,45
16	0,82	0,70	1,32	0,99	0,67	0,78	0,47	1,00	0,84	0,26	30,64
24	0,92	0,53	1,01	- *	0,87	0,77	- *	1,71	0,73	0,56	77,22

* Concentrações hepáticas < 0,4 µg/g (LQ); ^a Média, µg/g; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

(C)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	1,79	3,40	1,46	5,46	2,32	2,41	3,36	1,98	2,77	1,29	46,46
0,50	0,51	1,34	2,40	1,32	0,70	1,54	5,19	1,69	1,84	1,48	80,35
0,75	2,55	2,24	1,86	2,65	4,12	2,72	3,46	9,10	3,59	2,34	65,11
1	0,88	1,81	1,05	1,18	1,19	1,25	0,81	0,70	1,11	0,35	31,16
2	4,29	2,80	0,98	2,67	1,38	2,53	2,05	3,36	2,51	1,06	42,18
4	2,86	1,30	1,83	2,32	0,49	0,56	1,85	0,91	1,52	0,85	56,03
6	0,45	0,73	- *	0,88	- *	0,93	- *	0,40	0,42	0,40	93,47
10	- *	- *	- *	0,56	0,65	0,97	0,59	0,52	0,41	0,37	89,22
16	0,52	0,40	0,54	0,52	- *	- *	1,14	0,49	0,45	0,36	79,60
24	- *	- *	- *	- *	1,06	- *	- *	0,68	- *	-	-

* Concentrações hepáticas < 0,4 µg/g (LQ); ^a Média, µg/g; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

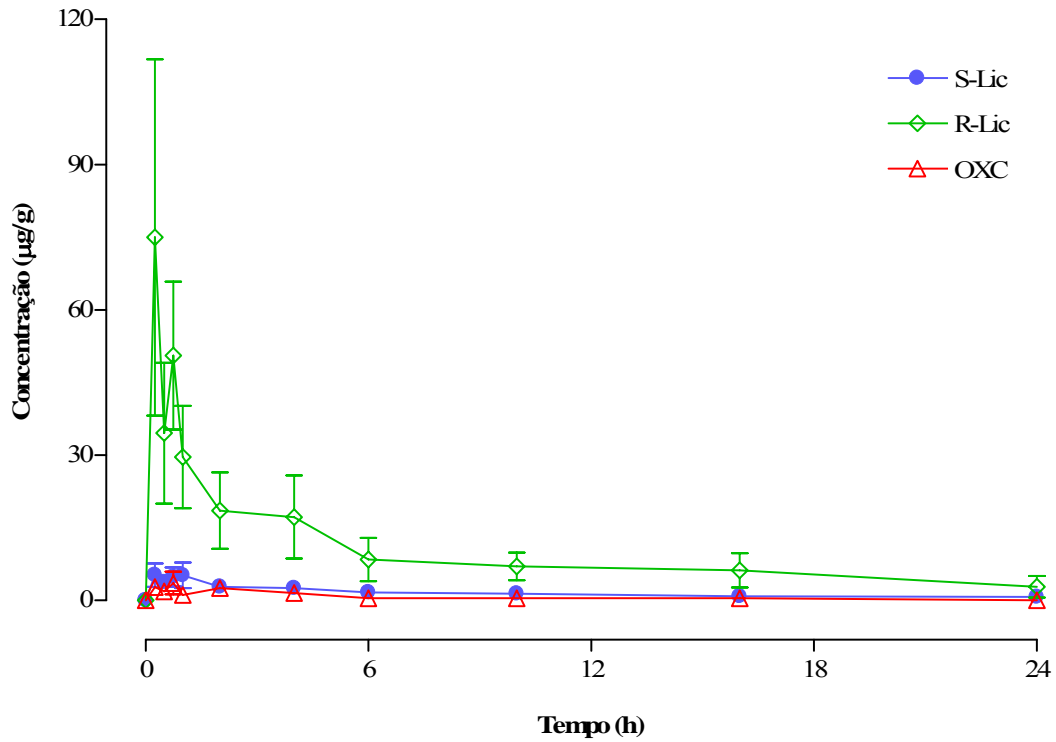


Figura VI.14 – Perfis hepáticos concentração-tempo obtidos para os enantiômeros R-Lic e S-Lic e para a OXC, em murganinhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic. Os símbolos representam a média±desvio padrão de 8 determinações por ponto do tempo (n = 8).

Para melhor evidenciar a relação existente entre as concentrações hepáticas do enantiômero R-Lic e dos seus metabólitos (OXC e S-Lic), as razões entre as concentrações médias correspondentes foram calculadas e representadas graficamente em função do tempo (figura VI.15).

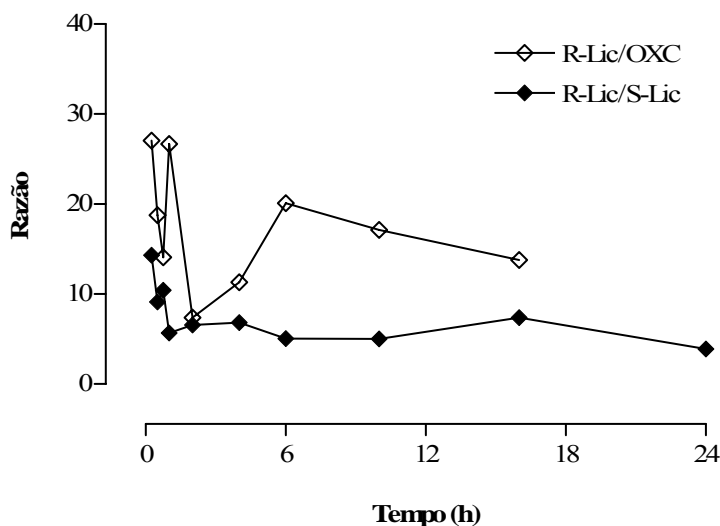


Figura VI.15 – Evolução em função do tempo das razões entre as concentrações hepáticas de R-Lic e dos seus metabolitos OXC e S-Lic, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic. Os símbolos representam a razão entre as médias de 8 determinações por ponto do tempo (n = 8).

3.1.8.1 – Análise farmacocinética

As concentrações hepáticas médias obtidas, em função do tempo, para o enantiômero R-Lic e para os seus metabolitos (S-Lic e OXC) foram sujeitas a uma análise cinética não-compartimental. Os parâmetros farmacocinéticos estimados apresentam-se na tabela VI.18.

Tabela VI.18 – Parâmetros farmacocinéticos hepáticos referentes ao enantiômero R-Lic e aos seus metabolitos S-Lic e OXC obtidos em murganhos após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic.

Parâmetros	R-Lic	S-Lic	OXC
t_{max} (h)	0,25	0,25	0,75
C_{max} ($\mu\text{g/g}$)	74,96	5,24	3,59
AUC_{0-t} ($\mu\text{g.h/g}$)	235,88	36,76	14,05
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g.h/g}$)	263,44	46,25	18,04
$t_{1/2}$ (h)	6,74	9,06	6,14
MRT (h)	9,98	14,03	9,38

3.1.9 – Biodisposição do enantiómero R-Lic no rim

As concentrações renais do enantiómero R-Lic e dos seus metabolitos S-Lic e OXC foram avaliadas em murganhos, durante um período de 24 h, após a administração por via oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic, sob a forma de uma suspensão aquosa de CMC. As concentrações determinadas no tecido renal para o enantiómero administrado (R-Lic) e para os metabolitos S-Lic e OXC são apresentadas na tabela VI.19. Na figura VI.16 estão representados os perfis renais médios concentração-tempo para os enantiómeros R-Lic e S-Lic e para a OXC. À semelhança do que se verificou nas restantes matrizes biológicas analisadas, também no rim foi detectado um metabolito adicional de natureza desconhecida.

Tabela VI.19 – Concentrações renais em murganhos após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg do enantiómero R-Lic (n = 8): (A) R-Lic, (B) S-Lic e (C) OXC.

(A)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	35,02	44,83	31,61	123,51	58,67	52,98	56,56	33,81	54,62	29,79	54,53
0,50	23,78	20,76	37,25	14,75	28,17	26,43	59,16	28,29	29,82	13,51	45,31
0,75	44,99	28,12	30,74	39,55	37,97	42,86	56,75	61,48	42,81	11,61	27,12
1	16,71	29,50	8,95	18,76	16,19	18,16	26,45	14,23	18,62	6,57	35,29
2	24,72	16,65	8,03	23,08	10,95	19,13	10,17	18,96	16,46	6,17	37,48
4	35,07	13,38	15,61	12,06	22,82	8,66	17,07	15,50	17,52	8,19	46,74
6	7,02	8,90	3,04	8,10	1,54	7,44	2,46	5,52	5,50	2,81	51,11
10	2,91	18,31	3,77	8,29	6,47	7,38	3,64	4,24	6,88	5,01	72,91
16	3,20	2,69	8,51	7,09	1,98	3,44	2,81	4,35	4,26	2,32	54,45
24	2,57	1,54	1,58	0,88	5,04	3,82	- *	5,02	2,56	1,90	74,18

* Concentrações renais < 0,4 µg/g (LQ); ^a Média, µg/g; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

(B)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	1,64	2,74	1,76	5,12	2,97	2,04	2,26	1,65	2,52	1,16	45,98
0,50	1,97	1,19	2,56	1,03	1,91	1,75	3,65	1,97	2,00	0,82	40,92
0,75	3,20	2,04	1,48	1,66	2,11	2,11	3,05	2,81	2,31	0,64	27,67
1	1,54	3,14	0,83	1,29	1,83	1,85	2,87	1,03	1,80	0,83	46,09
2	3,09	1,65	1,21	1,66	1,85	2,20	1,43	2,19	1,91	0,59	30,71
4	4,50	1,57	1,67	1,60	2,03	1,09	1,22	1,67	1,92	1,08	56,40
6	0,89	1,01	0,55	0,81	- *	0,81	0,51	0,80	0,67	0,32	47,32
10	- *	1,13	- *	0,73	0,97	0,61	- *	0,43	0,48	0,45	93,61
16	- *	- *	0,48	0,57	- *	- *	- *	0,51	- *	-	-
24	- *	0,50	0,47	- *	0,82	- *	- *	0,95	- *	-	-

* Concentrações renais < 0,4 µg/g (LQ); ^a Média, µg/g; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

(C)

Tempo (h)	Murganho								M ^a	DP ^b	CV ^c
	1	2	3	4	5	6	7	8			
0,25	1,34	2,62	1,18	5,34	2,98	2,14	2,66	1,43	2,46	1,35	54,70
0,50	1,73	1,20	2,36	1,21	1,42	2,22	3,58	1,88	1,95	0,79	40,39
0,75	4,23	2,41	2,21	3,00	3,82	2,86	4,89	5,82	3,66	1,27	34,71
1	0,96	2,61	0,92	1,24	1,31	1,71	1,98	1,38	1,51	0,57	37,46
2	3,24	2,84	0,87	1,65	1,26	2,10	1,36	2,29	1,95	0,82	41,88
4	3,59	1,21	1,54	1,67	1,49	1,00	1,37	0,90	1,60	0,85	53,13
6	0,51	0,83	0,52	0,69	- *	0,91	0,46	0,59	0,56	0,28	49,30
10	- *	1,02	0,48	0,94	0,99	0,84	0,42	0,44	0,64	0,36	56,55
16	0,42	- *	0,55	0,51	- *	0,40	0,46	- *	- *	-	-
24	- *	- *	- *	- *	0,77	0,53	- *	0,66	- *	-	-

* Concentrações renais < 0,4 µg/g (LQ); ^a Média, µg/g; ^b Desvio padrão; ^c Coeficiente de variação, %.

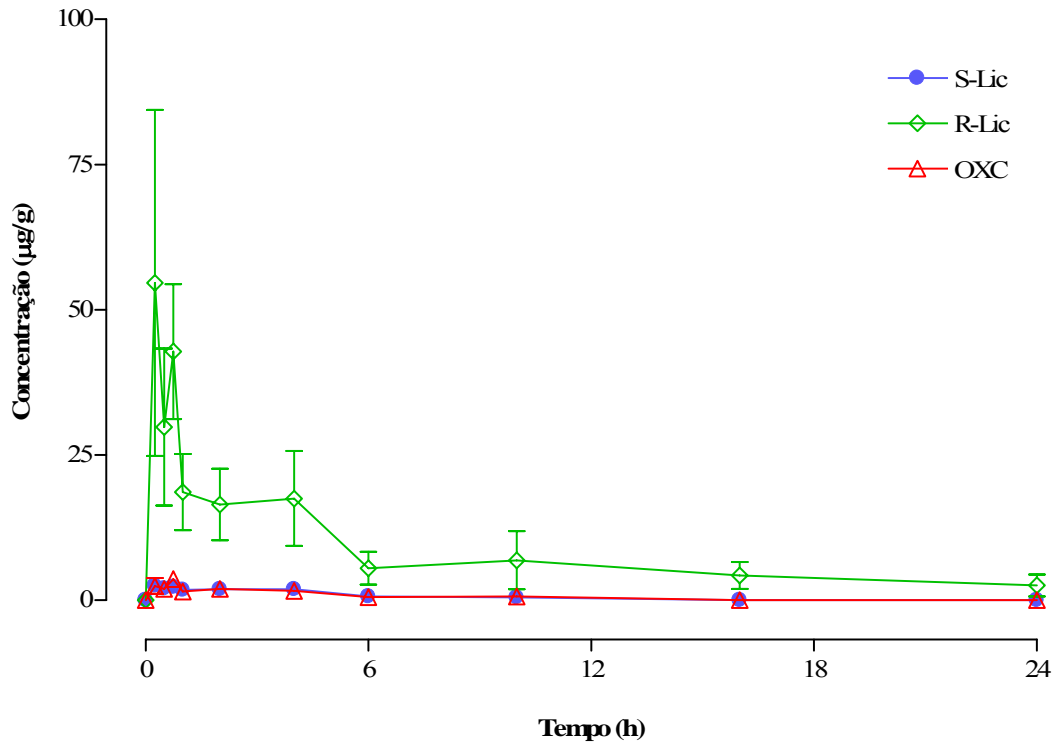


Figura VI.16 – Perfis renais concentração-tempo obtidos para os enantiômeros R-Lic e S-Lic e para a OXC, em murganinhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic. Os símbolos representam a média±desvio padrão de 8 determinações por ponto do tempo (n = 8).

Para melhor explicar a relação existente entre as concentrações renais do enantiômero R-Lic e dos seus metabólitos (OXC e S-Lic), as razões entre as concentrações médias correspondentes foram calculadas e representadas graficamente em função do tempo (figura VI.17).

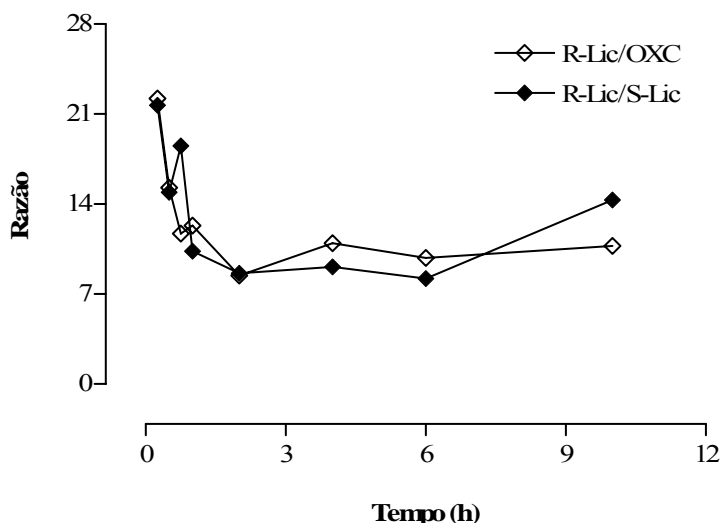


Figura VI.17 – Evolução em função do tempo das razões entre as concentrações renais de R-Lic e dos seus metabolitos OXC e S-Lic, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic. Os símbolos representam a razão entre as médias de 8 determinações por ponto do tempo (n = 8).

3.1.9.1 – Análise farmacocinética

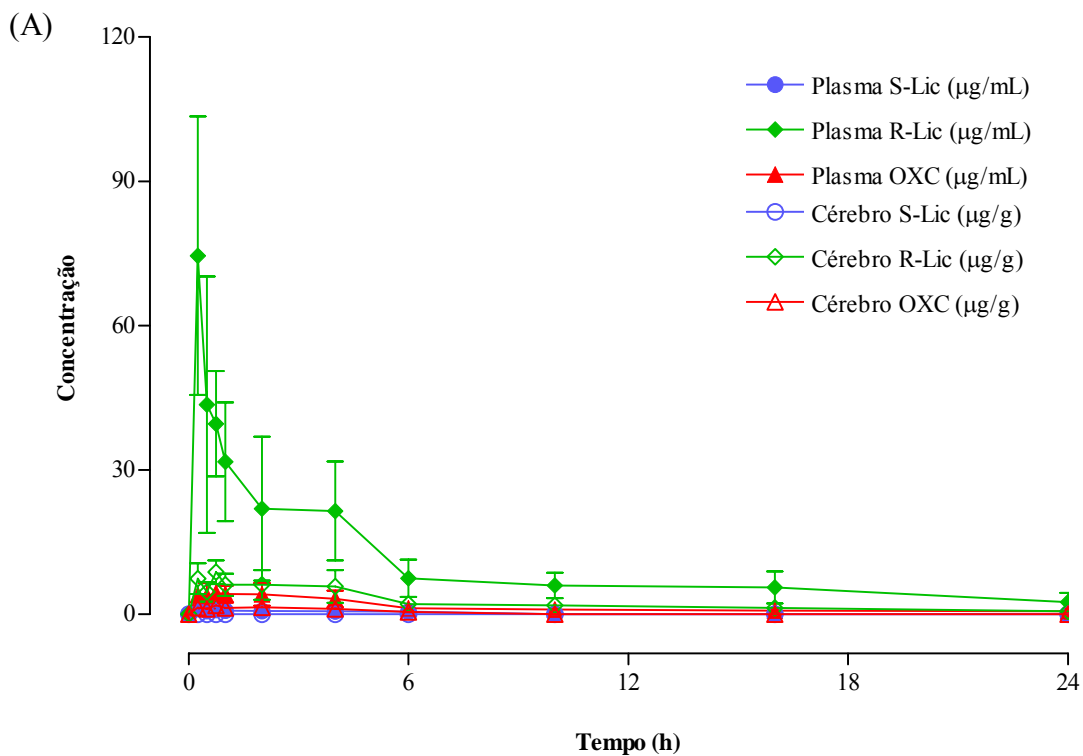
As concentrações renais médias obtidas, em função do tempo, para o enantiômero R-Lic e para os seus metabolitos S-Lic e OXC foram sujeitas a uma análise cinética não-compartimental. Os parâmetros farmacocinéticos estimados apresentam-se na tabela VI.20.

Tabela VI.20 – Parâmetros farmacocinéticos renais relativos ao enantiômero R-Lic e aos seus metabolitos S-Lic e OXC obtidos em murganhos após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic.

Parâmetros	R-Lic	S-Lic	OXC
t_{max} (h)	0,25	0,25	0,75
C_{max} ($\mu\text{g/g}$)	54,62	2,52	3,66
AUC_{0-t} ($\mu\text{g.h/g}$)	194,11	12,52	12,05
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g.h/g}$)	227,96	15,43	16,28
$t_{1/2}$ (h)	9,18	4,16	4,56
MRT (h)	11,59	5,92	6,99

3.1.10 – Distribuição tecidual do enantiômero R-Lic e dos seus metabolitos

Para evidenciar a relação que se estabelece no murganho entre as concentrações plasmáticas e as concentrações tecidulares (cerebrais, hepáticas e renais) para o enantiômero R-Lic e para os metabolitos S-Lic e OXC, formados *in vivo* após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic, os perfis médios concentração-tempo correspondentes são apresentados conjuntamente na figura VI.18.



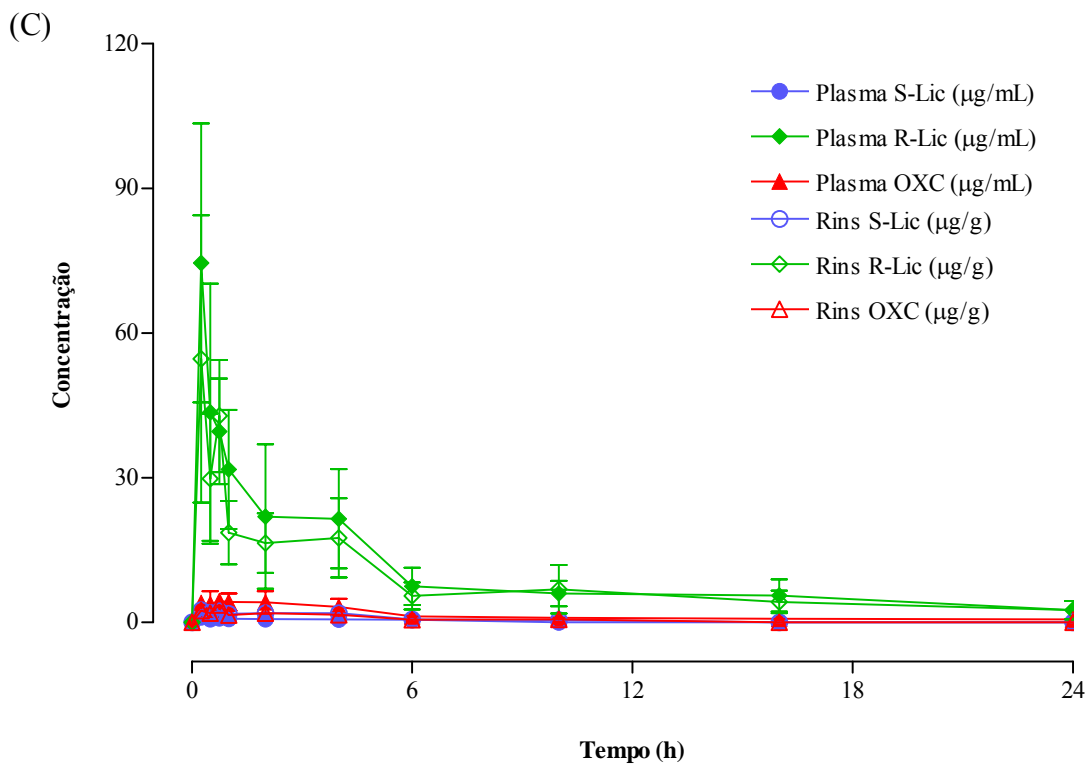
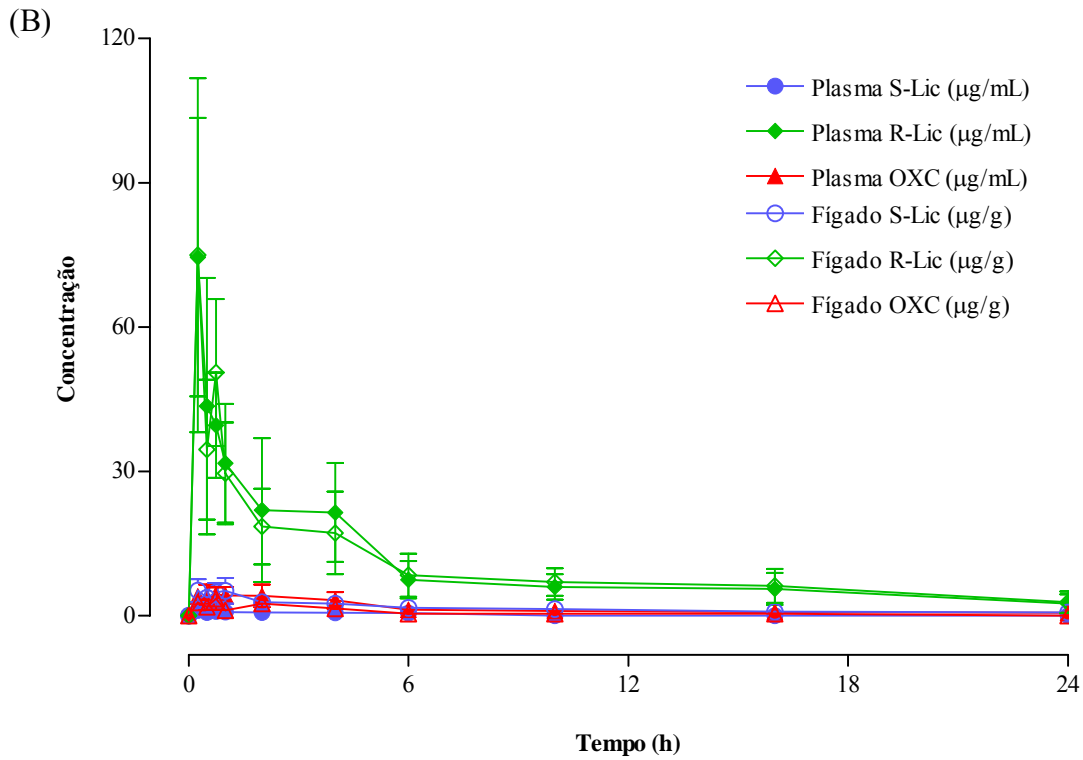


Figura VI.18 – Perfis concentração-tempo obtidos para o enantiômero R-Lic e para os metabolitos S-Lic e OXC, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic: (A) plasmáticos e cerebrais, (B) plasmáticos e hepáticos e (C) plasmáticos e renais. Os símbolos representam a média \pm desvio padrão de 8 determinações por ponto do tempo (n = 8).

Para investigar o carácter da associação entre as concentrações plasmáticas e tecidulares obtidas para o enantiómero R-Lic e para os metabolitos S-Lic e OXC, recorreu-se às análises de correlação e de regressão linear para diferentes intervalos de tempo. Pelo facto de as concentrações cerebrais correspondentes ao metabolito S-Lic se encontrarem em valores não mensuráveis, as análises de correlação e de regressão linear efectuadas para este metabolito consideraram somente as matrizes biológicas plasma-fígado e plasma-rim. Os resultados decorrentes das análises realizadas estão sumariados nas tabelas VI.21, VI.22 e VI.23.

Tabela VI.21 – Análises de correlação (A) e de regressão linear (B) entre as concentrações plasmáticas e cerebrais médias obtidas para o enantiómero R-Lic e para o metabolito OXC, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic.

(A)

Análise de Correlação				
R-Lic				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
r=0,788	r=0,841	r=0,975	r=0,958	r=0,997
p<0,01	p<0,01	p<0,0001	p<0,001	p<0,0001
OXC				
[0,25–10] h	[0,5–10] h	[0,75–10] h	[1–10] h	[2–10] h
r=0,944	r=0,941	r=0,954	r=0,963	r=0,970
p<0,001	p<0,01	p<0,01	p<0,01	p<0,05

r, Coeficiente de correlação de Pearson.

(B)

Análise de Regressão Linear				
R-Lic				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
$C_c=0,0979C_p+1,99$	$C_c=0,149C_p+1,17$	$C_c=0,210C_p+0,511$	$C_c=0,212C_p+0,489$	$C_c=0,275C_p-0,00551$
$r^2=0,622$	$r^2=0,707$	$r^2=0,951$	$r^2=0,918$	$r^2=0,995$
OXC				
[0,25–10] h	[0,5–10] h	[0,75–10] h	[1–10] h	[2–10] h
$C_c=0,407C_p-0,231$	$C_c=0,406C_p-0,229$	$C_c=0,420C_p-0,236$	$C_c=0,375C_p-0,165$	$C_c=0,411C_p-0,217$
$r^2=0,891$	$r^2=0,886$	$r^2=0,910$	$r^2=0,928$	$r^2=0,942$

C_c , Concentração no cérebro ($\mu\text{g/g}$); C_p , Concentração no plasma ($\mu\text{g/mL}$); r^2 , Coeficiente de determinação.

Tabela VI.22 – Análises de correlação (A) e de regressão linear (B) entre as concentrações plasmáticas e hepáticas médias obtidas para o enantiômero R-Lic e para os metabolitos S-Lic e OXC, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic.

(A)

Análise de Correlação				
R-Lic				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
r=0,975	r=0,941	r=0,960	r=0,990	r=0,993
p<0,0001	p<0,001	p<0,001	p<0,0001	p<0,0001
S-Lic				
[0,25–10] h	[0,5–10] h	[0,75–10] h	[1–10] h	[2–10] h
r=0,807	r=0,746	r=0,742	r=0,661	r=0,813
p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
OXC				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
r=0,862	r=0,852	r=0,850	r=0,865	r=0,982
p<0,01	p<0,01	p<0,01	p<0,05	p<0,001

r, Coeficiente de correlação de Pearson.

(B)

Análise de Regressão Linear				
R-Lic				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
$C_f=0,994C_p-0,318$	$C_f=0,961C_p+0,213$	$C_f=1,11C_p-1,43$	$C_f=0,837C_p+1,25$	$C_f=0,735C_p+2,05$
$r^2=0,951$	$r^2=0,885$	$r^2=0,922$	$r^2=0,980$	$r^2=0,986$
S-Lic				
[0,25–10] h	[0,5–10] h	[0,75–10] h	[1–10] h	[2–10] h
$C_f=3,95C_p+0,743$	$C_f=3,78C_p+0,823$	$C_f=3,72C_p+0,805$	$C_f=0,661C_p-0,531$	$C_f=1,63C_p+1,30$
$r^2=0,651$	$r^2=0,557$	$r^2=0,551$	$r^2=0,437$	$r^2=0,661$
OXC				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
$C_f=0,633C_p-0,278$	$C_f=0,601C_p-0,250$	$C_f=0,615C_p-0,259$	$C_f=0,458C_p-0,0766$	$C_f=0,624C_p-0,255$
$r^2=0,742$	$r^2=0,726$	$r^2=0,723$	$r^2=0,747$	$r^2=0,964$

C_f , Concentração no fígado ($\mu\text{g/g}$); C_p , Concentração no plasma ($\mu\text{g/mL}$); r^2 , Coeficiente de determinação.

Tabela VI.23 – Análises de correlação (A) e de regressão linear (B) entre as concentrações plasmáticas e renais médias obtidas para o enantiômero R-Lic e para os metabolitos S-Lic e OXC, em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic.

(A)

Análise de Correlação				
R-Lic				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
r=0,961	r=0,927	r=0,932	r=0,967	r=0,988
p<0,0001	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
S-Lic				
[0,25–10] h	[0,5–10] h	[0,75–10] h	[1–10] h	[2–10] h
r=0,874	r=0,839	r=0,843	r=0,796	r=0,765
p<0,01	p<0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05
OXC				
[0,25–16] h	[0,5–16] h	[0,75–16] h	[1–16] h	[2–16] h
r=0,864	r=0,854	r=0,850	r=0,940	r=0,971
p<0,01	p<0,01	p<0,05	p<0,01	p<0,01

r, Coeficiente de correlação de Pearson.

(B)

Análise de Regressão Linear				
R-Lic				
[0,25–24] h	[0,5–24] h	[0,75–24] h	[1–24] h	[2–24] h
$C_r=0,744C_p+0,960$	$C_r=0,795C_p+0,148$	$C_r=0,894C_p-0,930$	$C_r=0,605C_p+1,88$	$C_r=0,745C_p+0,778$
$r^2=0,924$	$r^2=0,859$	$r^2=0,868$	$r^2=0,934$	$r^2=0,977$
S-Lic				
[0,25–10] h	[0,5–10] h	[0,75–10] h	[1–10] h	[2–10] h
$C_r=2,02C_p+0,325$	$C_r=2,03C_p+0,322$	$C_r=1,98C_p+0,306$	$C_r=1,80C_p+0,365$	$C_r=1,78C_p+0,370$
$r^2=0,764$	$r^2=0,704$	$r^2=0,711$	$r^2=0,634$	$r^2=0,585$
OXC				
[0,25–16] h	[0,5–16] h	[0,75–16] h	[1–16] h	[2–16] h
$C_r=0,621C_p-0,260$	$C_r=0,606C_p-0,246$	$C_r=0,614C_p-0,251$	$C_r=0,435C_p-0,0129$	$C_r=0,511C_p-0,106$
$r^2=0,746$	$r^2=0,729$	$r^2=0,723$	$r^2=0,884$	$r^2=0,942$

C_r , Concentração no rim ($\mu\text{g/g}$); C_p , Concentração no plasma ($\mu\text{g/mL}$); r^2 , Coeficiente de determinação.

Para avaliar a velocidade e a extensão de distribuição tecidual do enantiómero R-Lic e dos seus metabolitos em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic, as razões cérebro/plasma, fígado/plasma e rim/plasma para os parâmetros farmacocinéticos correspondentes C_{max} e $AUC_{0-\infty}$ foram calculadas e são apresentadas na tabela VI.24.

Tabela VI.24 – Razões tecidulares/plasmáticas para os enantiómeros R-Lic e S-Lic e para a OXC, usando os parâmetros farmacocinéticos C_{max} e $AUC_{0-\infty}$ obtidos após a administração oral de R-Lic (350 mg/kg) em murganhos.

Razão	C_{max}			$AUC_{0-\infty}$		
	R-Lic	S-Lic	OXC	R-Lic	S-Lic	OXC
Cérebro/Plasma	0,12	ND	0,43	0,23	ND	0,22
Fígado/Plasma	1,01	4,81	0,81	0,93	3,96	0,43
Rim/Plasma	0,73	2,31	0,83	0,81	1,32	0,39

ND, não disponível.

3.1.11 – Estereoselectividade na exposição aos enantiómeros S-Lic e R-Lic

A presença de diferenças na exposição sistémica, cerebral, hepática e renal aos enantiómeros S-Lic e R-Lic foi investigada em murganhos após a administração oral e separada de cada um deles numa dose única de 350 mg/kg. Para tal procedeu-se à determinação do índice de estereoselectividade (razão enantiomérica) com base nos parâmetros farmacocinéticos C_{max} e $AUC_{0-\infty}$ (figura VI.19).

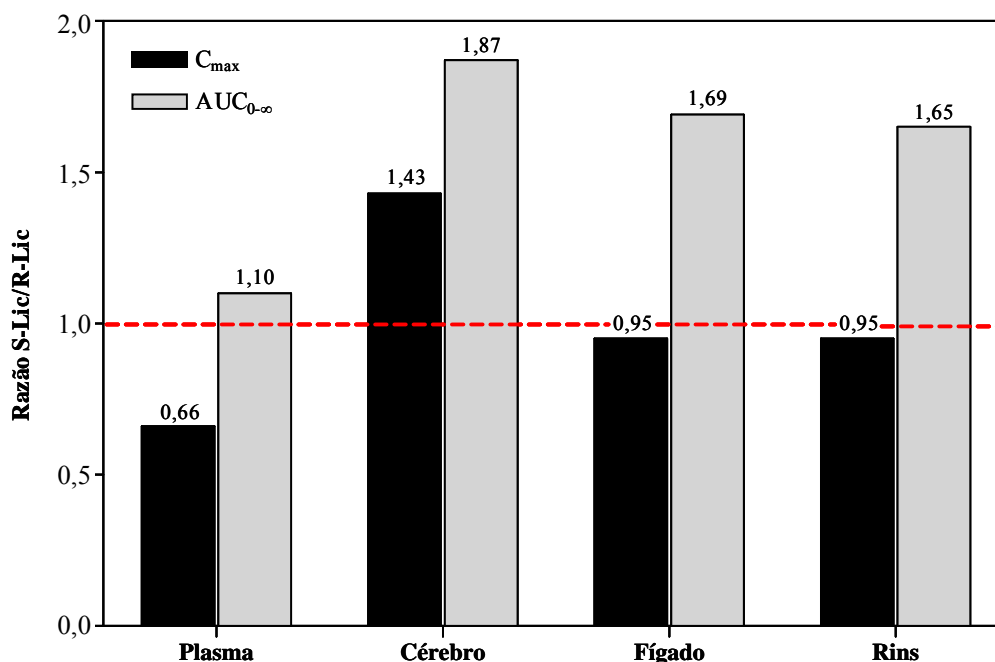


Figura VI.19 – Razão enantiomérica S/R para os parâmetros farmacocinéticos C_{max} e $AUC_{0-\infty}$ obtidos no plasma, no cérebro, no fígado e nos rins de murganho, após a administração oral e separada dos enantiómeros S-Lic e R-Lic numa dose de 350 mg/kg.

3.1.12 – Estereoselectividade no metabolismo dos enantiómeros S-Lic e R-Lic e inversão enantiomérica

Indiscutivelmente, mediante a análise dos perfis médios concentração-tempo obtidos no plasma, cérebro, fígado e rim de murganho, após a administração oral dos enantiómeros S-Lic e R-Lic é evidente que os compostos administrados foram os principais responsáveis pela exposição farmacológica sistémica e tecidual (figuras VI.1, VI.3, VI.5, VI.7, VI.10, VI.12, VI.14 e VI. 16). Também é óbvio que a OXC é um metabolito comum a ambos os enantiómeros Lic, o qual apareceu em quantidades mensuráveis em todas as matrizes de murganho estudadas. Assim, para comparar a produção de OXC a partir dos enantiómeros S-Lic e R-Lic, as razões correspondentes para os parâmetros farmacocinéticos C_{max} e $AUC_{0-\infty}$ foram calculadas e representadas na figura VI.20.

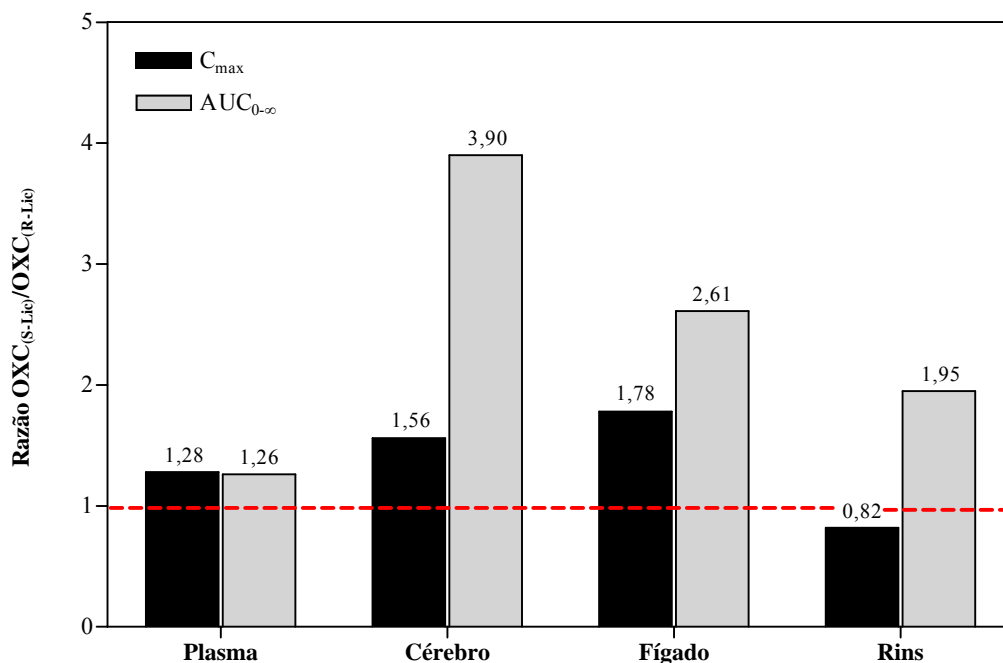


Figura VI.20 – Razão para os parâmetros farmacocinéticos C_{max} e $AUC_{0-\infty}$ obtidos para a OXC no plasma, no cérebro, no fígado e nos rins de murganho, após a administração oral e separada dos enantiómeros S-Lic e R-Lic numa dose de 350 mg/kg.

Pela análise global dos resultados obtidos parece não subsistir qualquer dúvida no que se refere à ocorrência de racemização dos enantiómeros S-Lic e R-Lic no murganho. De facto, mediante tratamento com o enantiómero S-Lic verificou-se a formação de R-Lic e após a administração de R-Lic o seu enantiómero complementar foi também produzido (tabelas VI.5, VI.7, VI.13, VI.17 e VI.19). Para identificar a direcção preferencial do processo de interconversão enantiomérica, foram comparados, sempre que possível, os parâmetros farmacocinéticos C_{max} e $AUC_{0-\infty}$ estimados para os enantiómeros S-Lic e R-Lic gerados pela administração do enantiómero complementar correspondente (tabela VI.25).

Tabela VI.25 – Racemização dos enantiómeros S-Lic e R-Lic em murganhos após a administração oral e separada de cada um deles numa dose única de 350 mg/kg.

Razão	S-Lic _(R-Lic) /R-Lic _(S-Lic)	
	C _{max}	AUC _{0-∞}
Plasma	ND	ND
Cérebro	ND	ND
Fígado	6,02	39,9
Rim	4,58	ND

S-Lic_(R-Lic), S-Lic resultante da administração de R-Lic; R-Lic_(S-Lic), R-Lic resultante da administração de S-Lic.

ND, não disponível.

4. DISCUSSÃO

Hoje em dia é largamente reconhecido que os enantiómeros de fármacos quirais diferem, comumente, nas suas propriedades farmacológicas e toxicológicas. Em situações extremas um dos enantiómeros pode ser desprovido de qualquer actividade, por um lado, e, por outro, ambos os enantiómeros podem exhibir efeitos qualitativamente diferentes. Estas diferenças podem dever-se não apenas à ocorrência de discriminação quiral na interacção com os receptores farmacológicos, mas também a diferenças nos processos farmacocinéticos (AGRAWAL *et al.*, 2007). A estereoselectividade pode ser observada na absorção, na distribuição, no metabolismo e na excreção de fármacos, porém, é particularmente marcada nos processos que dependem da interacção dos enantiómeros com macromoléculas biológicas quirais, tais como no transporte activo mediado por proteínas, na ligação às proteínas plasmáticas e no metabolismo enzimático (HUTT e TAN, 1996). Segundo LEVY e BODDY (1991) a estereoselectividade pode ser acentuada ou atenuada, dependendo do nível organizacional que os parâmetros representam: a interacção macromolecular, o órgão ou o organismo inteiro. As diferenças nos parâmetros cinéticos que envolvem a interacção directa de um enantiómero com uma macromolécula biológica (por exemplo a clearance intrínseca de formação de um metabolito, a fracção livre) tendem a ser mais marcadas comparativamente aos parâmetros que reflectem o nível organizacional do organismo inteiro (por exemplo a semi-vida, a clearance, o volume de distribuição), os quais podem mascarar a estereoselectividade existente a nível macromolecular. No entanto, pela administração de uma mistura racémica, os enantiómeros individuais exibem frequentemente diferentes perfis farmacocinéticos e raramente se verifica uma razão enantiomérica de 1:1 nos fluidos biológicos. Todavia, a magnitude das diferenças observadas entre os parâmetros cinéticos de um par de enantiómeros tende a ser relativamente modesta (1 a 3 vezes) em comparação com as diferenças nas respectivas propriedades farmacodinâmicas (HUTT e TAN, 1996; HUTT, 2007). Ainda assim, os perfis plasmáticos concentração-tempo dos enantiómeros de um fármaco administrado sob a forma de uma mistura racémica podem diferir marcadamente, atendendo aos múltiplos factores que podem influenciar a disposição enantioselectiva dos fármacos quirais, tais como o tipo de formulação, a via de administração, a idade, o sexo, a raça, o estado patológico e o polimorfismo genético das isoenzimas citocromo P450 envolvidas

no metabolismo (RENTSCH, 2002; HUTT, 2007). Portanto, para fármacos quirais, a avaliação dos parâmetros cinéticos e da relação existente entre as concentrações plasmáticas e o efeito farmacológico, com base na determinação do fármaco total presente nas amostras biológicas, podem ser desprovidas de significado e conduzir a conclusões erradas (HUTT e TAN, 1996; RENTSCH, 2002).

Embora existam diferenças indiscutíveis entre o murganho e a espécie humana, neste capítulo pretendeu-se caracterizar a farmacocinética e a biodisposição oral dos enantiómeros S-Lic e R-Lic no murganho, para investigar a existência de fenómenos estereoselectivos que possam ajudar a fundamentar as diferenças encontradas no homem na exposição sistémica ao ESL e à OXC. BIALER *et al.* (2004) referiram que a biodisponibilidade oral do ESL, avaliada pela extensão de exposição aos enantiómeros S-Lic e R-Lic, foi 16% superior àquela verificada com a OXC após a administração oral de uma dose molar equivalente.

4.1 – Farmacocinética dos Enantiómeros S-Lic e R-Lic no Murganho

Perante a inviabilidade de estudar os perfis concentração-tempo dos enantiómeros S-Lic e R-Lic e dos seus metabolitos em todas as matrizes biológicas de murganho, foram analisadas aquelas consideradas mais relevantes de um ponto de vista farmacocinético que, para além de possibilitarem a caracterização da cinética e da disposição dos enantiómeros Lic, permitiram também averiguar a presença de estereoselectividade na exposição sistémica, no metabolismo e na distribuição para o cérebro (órgão alvo), para o fígado e para o rim.

4.1.1 – Biodisposição do enantiómero S-Lic no plasma

Os perfis plasmáticos médios concentração-tempo obtidos em murganhos após a administração oral do enantiómero S-Lic, numa dose única de 350 mg/kg, indicam que o composto administrado atingiu prontamente a circulação sistémica e, aparentemente, foi metabolizado numa pequena extensão nesta espécie animal. Nas condições experimentais definidas, o único metabolito encontrado no plasma em concentrações

mensuráveis foi a OXC, surgindo o enantiômero R-Lic em concentrações inferiores a 0,4 µg/mL (LQ) (figura VI.1). Assim, no murganho, o enantiômero S-Lic parece ser parcialmente oxidado em OXC, apresentando a razão entre as concentrações plasmáticas médias de S-Lic e OXC um valor próximo de 12 aos 15 min pós-dose, passando posteriormente a apresentar valores compreendidos entre 4 e 7 (figura VI.2).

Pela análise cinética não-compartimental dos perfis plasmáticos médios concentração-tempo obtidos em murganhos para o enantiômero S-Lic e para o metabolito OXC, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic, constatou-se que as concentrações plasmáticas máximas de S-Lic (49,47 µg/mL) e de OXC (5,65 µg/mL) foram alcançadas, respectivamente, aos 15 min e aos 45 min após a administração. Assim, em relação ao composto administrado (S-Lic) observou-se um deslocamento para a direita do t_{max} correspondente à OXC, sugerindo que a reação de oxidação do enantiômero S-Lic não ocorre instantaneamente no murganho. Considerando os parâmetros farmacocinéticos C_{max} e $AUC_{0-\infty}$, os valores encontrados para as razões plasmáticas S-Lic/OXC foram, respectivamente, de 8,76 e 5,85. Atendendo ao parâmetro $AUC_{0-\infty}$, o enantiômero S-Lic foi responsável por aproximadamente 85% da exposição farmacológica sistêmica total enquanto o metabolito OXC foi responsável por cerca de 15%. A $t_{1/2}$ e o MRT estimados apresentaram os valores de 9,25 h e 13,60 h para o enantiômero S-Lic e de 7,22 h e 11,37 h para a OXC (tabela VI.2).

Contrariamente ao observado no murganho, os estudos realizados por HAINZL, PARADA e SOARES-DA-SILVA demonstraram que a OXC é o principal composto presente no plasma de rato após a administração oral do enantiômero S-Lic, a qual representou cerca de 92% da exposição farmacológica sistêmica total (avaliado pelo parâmetro $AUC_{0-24 h}$). VOLOSOV, YAGEN e BIALER (2000) procederam também à administração oral do enantiômero S-Lic no cão, porém, a técnica analítica usada não permitiu avaliar se nesta espécie animal o composto administrado foi metabolizado em OXC. No entanto, o valor do MRT plasmático estimado para o enantiômero S-Lic no cão (3,6 h) foi bastante inferior àquele por nós estimado no murganho (13,60 h). Em contraste, a $t_{1/2}$ plasmática da Lic no homem (9,3 h) foi similar àquela estimada para o enantiômero S-Lic no murganho (9,25 h) (SOUPPART *et al.*, 2008). No homem foi também demonstrado que a Lic é metabolizada em OXC, ainda que numa pequena extensão, ~ 3% (VOLOSOV, YAGEN e BIALER, 2000) e ~ 1% (SOUPPART *et al.*, 2008). Estes dados suportam a ideia

de que o murganho é, entre os pequenos animais de laboratório, um modelo animal relevante para o homem ao pretender-se avaliar a farmacocinética e a biodisposição da Lic.

4.1.2 – Biodisposição do enantiómero S-Lic no cérebro

Em conformidade com os resultados alcançados no plasma, ao observar os perfis cerebrais médios concentração-tempo obtidos em murganhos após a administração oral do enantiómero S-Lic, numa dose única de 350 mg/kg, facilmente se reconhece que apenas o composto administrado e o metabolito OXC foram quantificados no tecido cerebral, surgindo o enantiómero R-Lic em concentrações inferiores a 0,4 µg/g. Da observação da evolução em função do tempo das concentrações cerebrais médias de S-Lic e OXC é evidente que o enantiómero S-Lic foi o principal responsável pela exposição farmacológica cerebral (figura VI.3). Efectivamente, ao relacionarem-se as concentrações cerebrais médias de S-Lic e OXC verificou-se que as razões correspondentes foram sempre superiores à unidade, exibindo valores bastante estáveis, os quais variaram entre 3,5 e 4,5 (figura VI.4).

Mediante uma análise cinética não-compartimental dos perfis cerebrais médios concentração-tempo obtidos em murganhos para o enantiómero S-Lic e para o metabolito OXC, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic, observou-se que as concentrações cerebrais máximas de S-Lic (12,56 µg/g) e de OXC (2,95 µg/g) foram atingidas, respectivamente, às 2 h e 0,75 h após a administração. Atendendo aos parâmetros farmacocinéticos C_{max} e $AUC_{0-\infty}$, os valores para as razões cerebrais S-Lic/OXC foram, respectivamente, de 4,26 e 3,39. Assim, considerando o parâmetro $AUC_{0-\infty}$, o enantiómero S-Lic foi responsável por aproximadamente 77% da exposição farmacológica cerebral total ao fármaco enquanto a OXC foi responsável por aproximadamente 23%. A $t_{1/2}$ e o MRT estimados apresentaram os valores de 5,74 h e 8,67 h para o enantiómero S-Lic e de 7,40 h e 11,01 h para a OXC, indicando que a OXC permaneceu no cérebro por mais tempo, na sua forma inalterada, que o enantiómero S-Lic (tabela VI.4). Portanto, pela administração do enantiómero S-Lic ao murganho, a exposição cerebral à OXC ocorreu por um período de tempo superior àquela observada mediante a administração do ESL. Esta observação não é de todo

favorável ao desenvolvimento do enantiómero S-Lic como um novo fármaco antiepiléptico, pois os estudos realizados por AMBRÓSIO *et al.* (2000) e ARAÚJO *et al.* (2004) demonstraram que a OXC apresenta um potencial elevado de neurotoxicidade.

4.1.3 – Biodisposição do enantiómero S-Lic no fígado

Pela observação dos perfis hepáticos médios concentração-tempo obtidos em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic, é perceptível a ocorrência de uma rápida exposição hepática ao composto administrado, sugerindo que o enantiómero S-Lic é prontamente absorvido a partir do tracto gastrointestinal do murganho. Paralelamente, constatou-se que, no murganho, a metabolização hepática do enantiómero S-Lic ocorreu numa pequena extensão, apresentando uma estabilidade metabólica considerável nesta espécie. Ainda assim, em oposição ao observado para as matrizes de cérebro e de plasma, além da OXC, também o enantiómero R-Lic apareceu no tecido hepático em concentrações mensuráveis ($\geq 0,4$ $\mu\text{g/g}$) (tabela VI.5 e figura VI.5). As razões S-Lic/OXC e S-Lic/R-Lic calculadas para as concentrações hepáticas médias obtidas em função do tempo indicam que o composto administrado foi, de longe, o principal responsável pela exposição farmacológica hepática nas condições experimentais estabelecidas. O perfil estimado no fígado para a razão entre as concentrações hepáticas médias de S-Lic e OXC mostra um paralelismo estreito com o perfil correspondente estimado no plasma, embora existam diferenças óbvias na magnitude das razões obtidas, em especial aos primeiros tempos de amostragem, as quais são largamente superiores no fígado. A razão entre as concentrações hepáticas médias de S-Lic e R-Lic apresentou valores sempre superiores a 70, porém, foi calculada somente até à 1 h, pois a partir desse momento os níveis de R-Lic caíram para valores BLQ ($< 0,4$ $\mu\text{g/g}$) (figura VI.6).

Pela análise cinética não-compartimental dos perfis hepáticos médios concentração-tempo obtidos em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic, verificou-se que as concentrações máximas de S-Lic (71,13 $\mu\text{g/g}$) e de R-Lic (0,87 $\mu\text{g/g}$) foram alcançadas ao primeiro tempo de amostragem (0,25 h) e as concentrações máximas de OXC (6,38 $\mu\text{g/g}$) foram atingidas à 1 h após a administração. Considerando os parâmetros farmacocinéticos C_{max} e $\text{AUC}_{0-\infty}$,

os valores encontrados no fígado para as razões S-Lic/OXC foram, respectivamente, de 11,15 e 9,47, e para as razões S-Lic/R-Lic foram, respectivamente, de 81,76 e 384,83. Assim, atendendo ao parâmetro $AUC_{0-\infty}$, o enantiómero S-Lic foi responsável por aproximadamente 90% da exposição hepática total ao fármaco, a OXC por cerca de 10% e o metabolito R-Lic representou menos de 0,24%. A $t_{1/2}$ e o MRT estimados apresentaram os valores de 7,18 h e 10,96 h para o enantiómero S-Lic, de 0,82 h e 1,24 h para o enantiómero R-Lic e de 6,87 h e 9,87 h para a OXC (tabela VI.6).

Estes dados confirmam que o enantiómero S-Lic é parcialmente oxidado em OXC no murganho e, simultaneamente, sugerem a possibilidade de ocorrência de inversão quiral S→R. Efectivamente, a sincronicidade observada para os t_{max} hepáticos correspondentes ao enantiómero administrado (S-Lic) e ao enantiómero formado (R-Lic) conjugada com o facto de o t_{max} da OXC surgir mais tardiamente, afasta a possibilidade de a OXC ser a principal fonte do enantiómero R-Lic gerado no murganho. HAINZL, PARADA e SOARES-DA-SILVA (2001) referiram que a OXC é reduzida apenas ao enantiómero S-Lic no fígado de rato e de murganho, embora essa reacção não ocorra de forma efectiva no murganho. Assim, os dados obtidos por HAINZL e colaboradores (2001) também apoiam a ideia de a OXC não actuar no murganho, contrariamente ao que sucede no homem, como um intermediário na formação do enantiómero R-Lic.

4.1.4 – Biodisposição do enantiómero S-Lic no rim

Os perfis renais médios concentração-tempo obtidos em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic, permitem afirmar que a exposição farmacológica renal se deveu fundamentalmente ao próprio composto administrado. Tal como nas matrizes biológicas previamente analisadas, também no tecido renal a OXC foi o principal metabolito encontrado, surgindo, geralmente, o enantiómero R-Lic em concentrações não mensuráveis. As concentrações renais médias de R-Lic foram encontradas em níveis superiores ao LQ do método analítico apenas ao primeiro tempo de amostragem (15 min) (tabela VI.7 e figura VI.7). Ao representar a evolução em função do tempo das razões calculadas entre as concentrações renais médias do enantiómero S-Lic e dos seus metabolitos, OXC e R-Lic, constatou-se que as razões respectivas apresentaram valores largamente superiores à unidade. A razão entre

as concentrações renais médias de S-Lic e OXC apresentou um valor superior a 37 aos 15 min, decrescendo rapidamente até à 1 h para um valor próximo de 13, apresentando, a partir desse momento, valores compreendidos entre 7 e 16. Por outro lado, a razão entre as concentrações renais médias de S-Lic e R-Lic apresentou um valor superior a 94 ao primeiro tempo de amostragem (15 min), não tendo sido calculada posteriormente porque as concentrações de R-Lic desceram para valores não mensuráveis ($< 0,4 \mu\text{g/g}$) (figura VI.8).

Pela análise cinética não-compartimental dos perfis renais médios concentração-tempo obtidos em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic, observou-se que as concentrações máximas de S-Lic ($51,71 \mu\text{g/g}$) e de R-Lic ($0,55 \mu\text{g/g}$) foram alcançadas aos 15 min e as concentrações máximas de OXC ($3,01 \mu\text{g/g}$) foram atingidas à 1 h após a administração. Considerando os parâmetros farmacocinéticos C_{max} e $AUC_{0-\infty}$, os valores encontrados no rim para as razões S-Lic/OXC foram, respectivamente, de 17,18 e 11,81. A razão S-Lic/R-Lic foi calculada recorrendo apenas ao parâmetro C_{max} e apresentou o valor de 94,02. Atendendo ao parâmetro $AUC_{0-\infty}$, o enantiómero S-Lic foi responsável por aproximadamente 92% da exposição renal total e a OXC por cerca de 8%. A exposição renal ao metabolito R-Lic foi residual, pois, este apenas foi quantificado ao primeiro tempo de amostragem, não tendo sido possível estimar o parâmetro $AUC_{0-\infty}$ correspondente. A $t_{1/2}$ e o MRT estimados apresentaram os valores de 7,26 h e 10,62 h para o enantiómero S-Lic e de 7,08 h e 10,26 h para a OXC (tabela VI.8).

4.1.5 – Distribuição tecidual do enantiómero S-Lic e dos seus metabolitos

Embora seja o cérebro o compartimento farmacodinâmico alvo do enantiómero S-Lic e dos seus metabolitos, para além da caracterização da distribuição plasma-cérebro no murganho, foi também estudada a afinidade para os tecidos hepático e renal. De facto, por vezes, durante o processo de distribuição ou devido a fenómenos de redistribuição pode ocorrer acumulação de fármacos em diferentes tecidos ou órgãos do organismo, tais como o fígado e os rins, os quais podem constituir reservatórios importantes de fármaco (SEGARRA, MOVSHIN e ZARIF, 2002; CASTEL-BRANCO *et al.*, 2004).

Pela análise visual da relação existente entre os perfis plasmáticos e tecidulares médios concentração-tempo obtidos em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic, identifica-se, claramente, a presença de heterogeneidade na biodistribuição do enantiómero S-Lic e dos seus metabolitos (figura VI.9). Nas condições experimentais estabelecidas, com o objectivo de investigar a natureza do processo de distribuição do enantiómero S-Lic e dos seus metabolitos, os perfis plasmáticos e tecidulares foram correlacionados em diferentes intervalos de tempo (tabelas VI.9, VI.10 e VI.11). Para o enantiómero S-Lic verificou-se a presença de uma correlação linear positiva robusta entre as concentrações plasmáticas e as concentrações hepáticas ($r=0,979$; $p<0,0001$) e renais ($r=0,961$; $p<0,0001$) correspondentes, incluindo o primeiro ponto experimental após a administração (15 min). Ao confrontar as concentrações de S-Lic determinadas no plasma com as alcançadas no cérebro não foi demonstrada a existência de uma correlação linear significativa no intervalo de tempo entre as 0,25 e as 24 h ($r=0,427$; $p>0,05$). No entanto, a presença de uma correlação linear significativa entre as concentrações plasmáticas e cerebrais de S-Lic foi observada a partir da 0,5 h ($r=0,727$; $p<0,05$), com tendência para se tornar mais consistente com o decorrer do tempo. Por outro lado, atendendo às concentrações plasmáticas e tecidulares determinadas para a OXC, enquanto metabolito do enantiómero S-Lic, verificou-se a presença de correlações lineares significativas entre as concentrações plasmáticas e cerebrais, plasmáticas e hepáticas e plasmáticas e renais em todos os intervalos de tempo considerados, ainda que, globalmente, o grau de associação linear tenha sido menos robusto entre as concentrações plasmáticas e hepáticas. Assim, pelas análises de correlação efectuadas pode inferir-se que uma alteração nas concentrações plasmáticas de S-Lic se reflectirá quase instantaneamente nos tecidos periféricos altamente irrigados e só mais tardiamente no compartimento cerebral, talvez pela necessidade de transposição da BHE. Em contraste com o observado para o enantiómero S-Lic, uma variação nas concentrações plasmáticas de OXC far-se-á sentir de imediato nos tecidos periféricos com elevado fluxo sanguíneo e também a nível cerebral.

Os resultados das análises de regressão linear efectuadas são apresentados nas tabelas VI.9, VI.10 e VI.11, evidenciando valores de coeficiente de determinação que tendem a aproximar-se da unidade à medida que a robustez da correlação linear aumenta.

Para avaliar a velocidade e a extensão da distribuição tecidual do enantiómero S-Lic e dos seus metabolitos em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de S-Lic, as razões tecido/plasma para os parâmetros farmacocinéticos C_{max} e $AUC_{0-\infty}$, correspondentes a cada composto, foram calculadas e apresentadas na tabela VI.12. As razões tecido/plasma para os parâmetros farmacocinéticos C_{max} e $AUC_{0-\infty}$ correspondentes ao enantiómero R-Lic não foram estimadas porque as concentrações plasmáticas deste metabolito foram encontradas em níveis inferiores ao LQ da técnica analítica empregue, em todos os tempos de amostragem. As razões cérebro/plasma obtidas mostram diferenças importantes na distribuição do enantiómero S-Lic e da OXC para o cérebro. Concretamente, atendendo à exposição sistémica, a velocidade de penetração cerebral e a extensão da distribuição plasma-cérebro foram, respectivamente, 2,1 e 1,7 vezes maiores para a OXC que para o enantiómero S-Lic. Estes dados indicam que a distribuição plasma-cérebro é menos favorável para o enantiómero S-Lic que para a OXC e, em adição, outros argumentos convergem neste mesmo sentido, nomeadamente, a simultaneidade entre os t_{max} observados no plasma e no cérebro para a OXC e o deslocamento para a direita do t_{max} cerebral do enantiómero S-Lic em relação ao t_{max} plasmático (tabelas VI.2 e VI.4). Em relação aos valores obtidos para as razões fígado/plasma e rim/plasma parece ser evidente uma predisposição para a acumulação hepática e renal de S-Lic, sendo o fígado o principal reservatório. Em contraste, a OXC apareceu numa maior extensão no plasma.

4.1.6 – Biodisposição do enantiómero R-Lic no plasma

Os perfis plasmáticos médios concentração-tempo obtidos em murganhos após a administração oral do enantiómero R-Lic, numa dose única de 350 mg/kg, mostram que o composto administrado atingiu rapidamente a circulação sistémica e, para além do enantiómero R-Lic, nas condições experimentais estabelecidas, foram também quantificados no plasma os metabolitos OXC e S-Lic (figura VI.10 e tabela VI.13). Um outro metabolito, mais polar que os anteriores, foi também detectado no plasma de murganho em quantidades consideráveis, o qual não foi determinado quantitativamente porque a técnica analítica usada não estava validada para este fim. No entanto, este metabolito adicional gerado no murganho apenas mediante tratamento com o

enantiómero R-Lic corresponderá, muito provavelmente, ao *trans*-diol. A suportar esta ideia estão os estudos realizados por HAINZL e colaboradores (2001) em ratos e murganhos, os quais indicam que a formação de *trans*-diol só ocorre em quantidades significativas após a administração de R-Lic ou do seu precursor, o acetato de R-Lic (BIA 2-059). O *trans*-diol passou mesmo a constituir o principal metabolito presente no plasma de murganhos 3 h após a administração do acetato de R-Lic. Assim, no murganho, comparativamente, o enantiómero R-Lic parece apresentar um metabolismo oxidativo mais complexo que aquele apresentado pelo enantiómero S-Lic.

Ao analisar a evolução em função do tempo das razões entre as concentrações plasmáticas médias do enantiómero R-Lic e dos metabolitos OXC e S-Lic, constatou-se que a relação entre as concentrações de R-Lic e de OXC atingiu o equilíbrio à 1 h após a administração, variando entre 4 e 8, enquanto que a razão entre as concentrações de R-Lic e S-Lic decresceu abruptamente até às 6 h, não tendo sido estimada a partir desse momento porque as concentrações do enantiómero S caíram para níveis não mensuráveis ($< 0,4 \mu\text{g/mL}$) (figura VI.11).

Pela análise cinética não-compartimental dos perfis plasmáticos médios concentração-tempo obtidos em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic, observou-se que as concentrações máximas de R-Lic (74,55 $\mu\text{g/mL}$) e de S-Lic (1,09 $\mu\text{g/mL}$) foram atingidas aos 15 min e as concentrações máximas de OXC (4,43 $\mu\text{g/mL}$) foram alcançadas aos 45 min pós-dose. Assim, em relação ao composto administrado (R-Lic), observou-se um deslocamento para a direita do t_{max} correspondente à OXC, sugerindo que a oxidação do enantiómero R-Lic em OXC não ocorre prontamente no murganho. Surpreendente foi o facto de os t_{max} relativos ao enantiómero R-Lic administrado e ao enantiómero S-Lic formado terem sido coincidentes. Considerando os parâmetros farmacocinéticos C_{max} e $\text{AUC}_{0-\infty}$, os valores encontrados para as razões plasmáticas R-Lic/OXC foram, respectivamente, de 16,83 e 6,70, e para as razões R-Lic/S-Lic foram, respectivamente, de 68,39 e 24,22. Neste caso, o composto administrado (R-Lic) foi também o principal responsável pela exposição farmacológica sistémica, porém, não foi indicado objectivamente o valor percentual dessa exposição pela impossibilidade de quantificar o metabolito extra detectado. A $t_{1/2}$ e o MRT estimados apresentaram os valores de 12,24 h e 12,30 h para o enantiómero R-Lic, de 8,98 h e 13,21 h para o enantiómero S-Lic e de 8,47 h e 12,54 h para a OXC (tabela VI.14).

4.1.7 – Biodisposição do enantiómero R-Lic no cérebro

Em concordância com os dados plasmáticos, os perfis cerebrais médios concentração-tempo obtidos em murganhos após a administração oral do enantiómero R-Lic, numa dose única de 350 mg/kg, indicam que o composto administrado foi o principal responsável pela exposição farmacológica cerebral e, ao primeiro tempo de amostragem (15 min), as concentrações cerebrais de R-Lic tinham já atingido níveis próximos do C_{max} cerebral. O metabolito OXC foi quantificado no cérebro até às 6 h e, em contraste com o observado no plasma, as concentrações do metabolito S-Lic surgiram em valores BLQ ($< 0,4 \mu\text{g/g}$) em todos os pontos experimentais (figura VI.12 e tabela VI.15). O metabolito adicional detectado no plasma foi também encontrado no tecido cerebral.

Ao confrontar as concentrações cerebrais médias de R-Lic e OXC obtidas em função do tempo, verificou-se que as razões correspondentes foram sempre superiores à unidade e exibiram valores relativamente estáveis, os quais se mantiveram entre 4 e 5,3 (figura VI.13).

Mediante uma análise cinética não-compartimental dos perfis cerebrais médios concentração-tempo obtidos em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic, constatou-se que as concentrações cerebrais máximas de R-Lic ($8,76 \mu\text{g/g}$) e de OXC ($1,89 \mu\text{g/g}$) foram atingidas, em simultâneo, às 0,75 h pós-dose. Atendendo aos parâmetros C_{max} e $AUC_{0-\infty}$, as razões cerebrais R-Lic/OXC foram, respectivamente, de 4,63 e 7,07. A $t_{1/2}$ e o MRT estimados apresentaram os valores de 7,63 h e 10,27 h para o enantiómero R-Lic e de 3,25 h e 4,62 h para a OXC (tabela VI.16).

4.1.8 – Biodisposição do enantiómero R-Lic no fígado

Pela observação dos perfis hepáticos médios concentração-tempo obtidos em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic, é evidente a ocorrência de uma célere exposição hepática ao composto administrado, indicando que o enantiómero R-Lic é prontamente absorvido a partir do tracto gastrointestinal do murganho. No tecido hepático, tal como sucedeu no plasma, os

metabolitos OXC e S-Lic surgiram em concentrações mensuráveis e o metabolito desconhecido detectado no plasma e no cérebro surgiu também nas amostras de fígado (tabela VI.17 e figura VI.14). Paralelamente, confirma-se que no murganho a biotransformação hepática do enantiómero R-Lic é mais complexa que aquela observada para o enantiómero oposto (S-Lic). Ainda assim, no murganho, à semelhança do que acontece no rato, o enantiómero R-Lic apresenta uma estabilidade metabólica aceitável (HAINZL, PARADA e SOARES-DA-SILVA, 2001). No entanto, assumindo que o metabolito de natureza desconhecida corresponde ao *trans*-diol, tratar-se-á, portanto, de um metabolito farmacologicamente inactivo (MATAR *et al.*, 1999) e, conseqüentemente, o enantiómero R-Lic terá maior propensão para inactivação precoce.

Os perfis estimados no fígado para as razões R-Lic/OXC e R-Lic/S-Lic sugerem que o composto administrado (R-Lic) é o principal responsável pela exposição farmacológica hepática nas condições experimentais estabelecidas. Porém, a magnitude dos perfis estimados indica que nesta matriz as concentrações determinadas para o metabolito S-Lic são largamente superiores àquelas obtidas para o metabolito OXC (figura VI.15).

Pela análise cinética não-compartimental dos perfis hepáticos médios concentração-tempo obtidos em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic, verificou-se que as concentrações máximas de R-Lic (74,96 µg/g) e de S-Lic (5,24 µg/g) foram alcançadas ao primeiro tempo de amostragem (0,25 h) e as concentrações máximas de OXC (3,59 µg/g) foram atingidas às 0,75 h pós-dose. Considerando os parâmetros farmacocinéticos C_{max} e $AUC_{0-\infty}$, os valores encontrados no fígado para as razões R-Lic/OXC foram, respectivamente, de 20,88 e 14,60, e para as razões R-Lic/S-Lic foram, respectivamente, de 14,31 e 5,70. A $t_{1/2}$ e o MRT estimados apresentaram os valores de 6,74 h e 9,98 h para o enantiómero R-Lic, de 9,06 h e 14,03 h para o enantiómero S-Lic e de 6,14 h e 9,38 h para a OXC (tabela VI.18).

Estes dados sugerem que o enantiómero R-Lic é parcialmente oxidado em OXC no murganho e, eventualmente, em *trans*-diol. Ao mesmo tempo, confirmam a ocorrência de inversão quiral R→S. Efectivamente, a sincronidade observada para os t_{max} hepáticos correspondentes ao enantiómero administrado (R-Lic) e ao enantiómero formado (S-Lic) conjugada com o facto de o t_{max} da OXC surgir mais tardiamente, afasta a possibilidade de a OXC ser a principal fonte do enantiómero S-Lic produzido

no murganho. HAINZL, PARADA e SOARES-DA-SILVA (2001) documentaram a redução da OXC ao enantiômero S-Lic no fígado de rato e de murganho, mas salientaram também que o último não tem capacidade para reduzir a OXC eficientemente. Esta informação menospreza o efeito da OXC enquanto intermediário na formação do enantiômero S-Lic no murganho, contrariamente ao que acontece no homem, e reforça a hipótese de ocorrência de inversão quiral R→S no murganho.

4.1.9 – Biodisposição do enantiômero R-Lic no rim

Os perfis renais médios concentração-tempo obtidos em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic, demonstram uma rápida exposição renal ao composto administrado e aos metabolitos OXC e S-Lic (tabela VI.19 e figura VI.16). Em analogia com o sucedido nas restantes matrizes biológicas, qualitativamente, a exposição renal ao metabolito desconhecido também ocorreu em níveis consideráveis.

No rim, a evolução em função do tempo das razões entre as concentrações médias de R-Lic e dos metabolitos OXC e S-Lic sugerem que o composto administrado (R-Lic) é o principal responsável pela exposição farmacológica renal. Por outro lado, a proximidade dos perfis respectivos estimados indica que as concentrações dos metabolitos OXC e S-Lic alcançadas no tecido renal são similares (figura VI.17).

Da análise cinética não-compartmental dos perfis renais médios concentração-tempo obtidos em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic, constatou-se que as concentrações máximas de R-Lic (54,62 µg/g) e de S-Lic (2,52 µg/g) foram alcançadas ao primeiro tempo de amostragem (0,25 h) e as concentrações máximas de OXC (3,66 µg/g) foram atingidas às 0,75 h após a administração. Considerando os parâmetros farmacocinéticos C_{max} e $AUC_{0-\infty}$, os valores encontrados no rim para as razões R-Lic/OXC foram, respectivamente, de 14,92 e 14,00, e para as razões R-Lic/S-Lic foram, respectivamente, de 21,67 e 14,77. A $t_{1/2}$ e o MRT estimados apresentaram valores de 9,18 h e 11,59 h para o enantiômero R-Lic, de 4,16 h e 5,92 h para o enantiômero S-Lic e de 4,56 h e 6,99 h para a OXC.

4.1.10 – Distribuição tecidual do enantiómero R-Lic e dos seus metabolitos

Pela análise visual da relação existente entre os perfis plasmáticos e tecidulares médios concentração-tempo obtidos em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic, reconhece-se, indubitavelmente, a presença de diferenças na biodistribuição do enantiómero R-Lic e dos seus metabolitos (figura VI.18). Assim, com o intuito de aprofundar o processo de distribuição do enantiómero R-Lic e dos seus metabolitos OXC e S-Lic, as concentrações plasmáticas e tecidulares correspondentes foram correlacionadas em diferentes intervalos de tempo (tabelas VI.21, VI.22 e VI.23). Para o enantiómero R-Lic observou-se a presença de uma correlação linear significativa entre as concentrações determinadas no plasma e no cérebro ($r=0,788$; $p<0,01$), no plasma e no fígado ($r=0,975$; $p<0,0001$) e no plasma e no rim ($r=0,961$; $p<0,0001$), incluindo o primeiro ponto de amostragem após a administração (0,25 h). No entanto, a robustez da correlação entre as concentrações plasmáticas e cerebrais de R-Lic só se aproximou daquela apresentada pelas correlações plasma/fígado e plasma/rim a partir do momento em que se alcançou o pico cerebral (0,75 h) ($r=0,975$; $p<0,0001$). Da mesma forma, para a OXC foram também encontradas correlações lineares significativas entre as concentrações plasmáticas e cerebrais ($r=0,944$; $p<0,001$), plasmáticas e hepáticas ($r=0,862$; $p<0,01$) e plasmáticas e renais ($r=0,864$; $p<0,01$), logo a partir do primeiro ponto experimental (0,25 h). Em relação ao metabolito S-Lic só foram efectuadas análises de correlação entre as concentrações plasma/fígado e plasma/rim, pois, as concentrações cerebrais de S-Lic não foram determinadas quantitativamente. Os resultados obtidos para o enantiómero S-Lic mostraram uma ausência de correlação linear entre os níveis plasmáticos e hepáticos e entre os níveis plasmáticos e renais, respectivamente, a partir da 0,5 h e 1 h pós-dose. Em síntese, considerando globalmente as análises de correlação efectuadas pode concluir-se que as alterações nas concentrações de R-Lic e OXC no plasma terão repercussão quase imediata nas respectivas concentrações cerebrais, hepáticas e renais, contrastando com o observado para o metabolito S-Lic.

Os resultados das análises de regressão linear efectuadas são apresentados nas tabelas VI.21, VI.22 e VI.23, mostrando valores de coeficiente de determinação que tendem a aproximar-se da unidade à medida que a significância da correlação entre as variáveis aumenta.

Para avaliar a velocidade e a extensão da distribuição tecidual do enantiómero R-Lic e dos seus metabolitos em murganhos, após a administração oral de uma dose única de 350 mg/kg de R-Lic, as razões tecido/plasma para os parâmetros farmacocinéticos C_{\max} e $AUC_{0-\infty}$, referentes a cada um compostos, foram calculadas e apresentadas na tabela VI.24. As razões cérebro/plasma para os parâmetros farmacocinéticos C_{\max} e $AUC_{0-\infty}$ correspondentes ao metabolito S-Lic não foram estimadas porque as concentrações cerebrais deste foram encontradas em níveis BLQ, em todos os tempos de amostragem. As razões cérebro/plasma obtidas para o enantiómero R-Lic e para a OXC apresentaram valores bastante inferiores à unidade, indicando uma fraca distribuição destes compostos para o cérebro. Todavia, ainda que a extensão de distribuição para o cérebro seja similar para o enantiómero R-Lic e para a OXC (considerando o parâmetro $AUC_{0-\infty}$), a razão cérebro/plasma é 3,6 vezes maior para a OXC (considerando o parâmetro C_{\max}), sugerindo a existência de diferenças entre eles na velocidade de travessia da BHE. Efectivamente, o t_{\max} para o enantiómero R-Lic no plasma é menor que o observado no cérebro, enquanto o t_{\max} para a OXC ocorreu simultaneamente em ambas as matrizes (tabelas VI.14 e VI.16). Atendendo aos valores obtidos para as razões fígado/plasma parece ser evidente que o composto administrado (R-Lic) não tem propensão para acumulação no tecido hepático (razões próximas da unidade). Em contraste, o metabolito S-Lic formado tende a sofrer acumulação hepática e o metabolito OXC parecer ser libertado para a circulação sistémica. Os valores obtidos para as razões rim/plasma também suportam a acumulação renal do metabolito S-Lic, mas em menor extensão que a observada no fígado. No que se refere ao enantiómero R-Lic e à OXC, eles surgiram em maiores quantidades no plasma que no tecido renal.

4.1.11 – Estereoselectividade na exposição aos enantiómeros S-Lic e R-Lic

As diferenças na exposição sistémica, cerebral, hepática e renal aos enantiómeros S-Lic e R-Lic após a administração oral e separada de cada um deles em murganhos, numa dose única de 350 mg/kg, foram investigadas com base razão enantiomérica para os parâmetros farmacocinéticos C_{\max} e $AUC_{0-\infty}$ (figura VI.19). As razões S/R estimadas para o parâmetro $AUC_{0-\infty}$ foram superiores à unidade em todas as matrizes estudadas, indicando uma maior exposição ao enantiómero S-Lic que ao enantiómero R-Lic após tratamento equivalente. Ainda que a exposição sistémica seja

comparável para ambos os enantiómeros S-Lic e R-Lic, grandes diferenças foram evidenciadas na exposição cerebral, hepática e renal. Concretamente, estes dados suportam a ocorrência de acumulação hepática e renal do enantiómero S-Lic e a sua maior distribuição para o cérebro, demonstrando a ocorrência de fenómenos de discriminação quiral dos enantiómeros Lic no murganho. Em adição, considerando o parâmetro C_{max} , as razões S/R estimadas no plasma (0,66), no fígado (0,95) e no rim (0,95) e referentes aos 15 min pós-dose, confirmam a afinidade aumentada do enantiómero S-Lic, desde os primeiros pontos do tempo, para os tecidos hepático e renal.

4.1.12 – Estereoselectividade no metabolismo dos enantiómeros S-Lic e R-Lic e inversão enantiomérica

O metabolismo enantioselectivo de fármacos quirais catalizado pelas enzimas de fase I ou fase II é, muitas vezes, o factor predominante para a estereoselectividade observada na farmacocinética e na disposição de fármaco quirais, embora outros factores como a via de administração, o sexo, a idade, a presença de patologias e de polimorfismos genéticos possam também contribuir de forma significativa. Portanto, nas fases iniciais do desenvolvimento pré-clínico de fármacos quirais é importante avaliar o metabolismo destes em diferenças espécies para melhor predizer a farmacocinética no homem. Os primeiros estudos metabólicos são, geralmente, conduzidos em condições *in vitro*, usando suspensões de microssomas hepáticos ou hepatócitos (LU, 2007). De facto, durante a fase de desenvolvimento pré-clínico do ESL foram realizados estudos exploratórios de metabolismo em microssomas de fígado humano, de rato, de murganho, de coelho, de cão e de macaco e, entre algumas espécies, foram encontradas diferenças importantes nos perfis metabólicos. Paralelamente, foram também executados estudos *in vivo* em ratos e murganhos, os quais confirmaram as diferenças encontradas *in vitro* (HAINZL, PARADA e SOARES-DA-SILVA, 2001).

Concretamente, em relação aos perfis metabólicos obtidos no murganho para os enantiómeros S-Lic e R-Lic, após a administração oral e separada de doses únicas de 350 mg/kg, foram identificadas diferenças importantes que apoiam a presença de

estereoselectividade no metabolismo da Lic nesta espécie (figura VI.20 e tabela VI.25). Estes dados mostram claramente que o enantiómero S-Lic foi metabolizado numa maior extensão em OXC. Particularmente, deve salientar-se que a exposição cerebral à OXC foi aproximadamente 4 vezes superior após a administração do enantiómero S-Lic. Por outro lado, a presença de estereoselectividade no metabolismo dos enantiómeros Lic no murganho foi também comprovada pela formação de um metabolito adicional após a administração do enantiómero R-Lic, o qual muito provavelmente corresponderá ao *trans*-diol. Pela análise global dos resultados obtidos parece também não subsistir qualquer dúvida a respeito da ocorrência de inversão quiral dos enantiómeros S-Lic e R-Lic no murganho. Na verdade, pela administração do enantiómero S-Lic foi formado o enantiómero R-Lic e após a administração de R-Lic o seu enantiómero complementar foi também produzido (tabelas VI.5, VI.7, VI.13, VI.17 e VI.19). Atendendo ainda aos perfis farmacocinéticos obtidos, é notória a existência, em ambas as situações, de um paralelismo estreito entre os perfis do enantiómero administrado e do seu antípode formado, sempre que foi possível proceder à quantificação simultânea dos dois enantiómeros (figuras VI.5, VI.7, VI.10, VI.14, VI.16 e tabelas VI.6, VI.8, VI.14, VI.18, VI.20). Estes resultados sugerem que o murganho tem capacidade para promover a interconversão dos enantiómeros Lic, embora numa pequena extensão. Todavia, a formação do enantiómero S-Lic a partir do enantiómero R-Lic é mais favorável. De facto, considerando o parâmetro $AUC_{0-\infty}$, a exposição hepática ao enantiómero S-Lic foi cerca de 40 vezes superior àquela observada para o enantiómero R-Lic após a administração dos enantiómeros opostos correspondentes (tabela VI.25). Então, todas estas evidências apoiam a ocorrência de racemização dos enantiómeros Lic no murganho, a qual ocorrerá, possivelmente, através de uma racemase hepática que favorece a produção de S-Lic a partir de R-Lic e não mediante a redução do metabolito OXC. WSÓL, SKÁLOVÁ e SZOTÁKOVÁ (2004) sugeriram que a inversão quiral é sempre mediada por enzimas e, no homem, foi primeiro demonstrada para o ibuprofeno. Em suma, conjugando os dados decorrentes deste estudo e a informação proveniente dos trabalhos de HAINZL e colaboradores (2001), apresentam-se, de seguida, as principais vias metabólicas propostas para os enantiómeros S-Lic e R-Lic no murganho (figura VI.21).

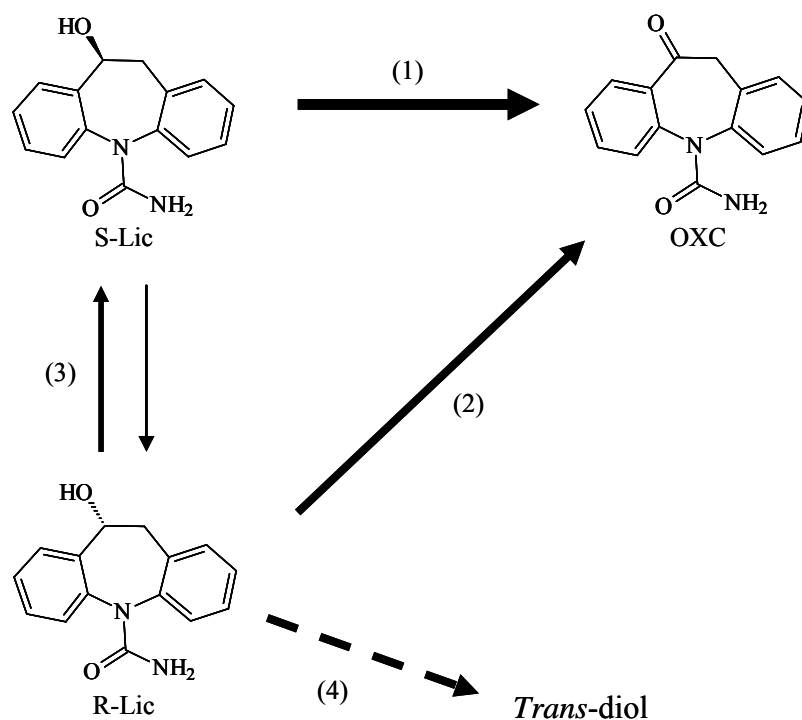


Figura VI.21 – Principais vias metabólicas propostas para o metabolismo dos enantiómeros S-Lic e R-Lic no murganho. A espessura das setas indica a extensão relativa dos processos metabólicos: a OXC é o principal metabolito dos enantiómeros S-Lic (1) e R-Lic (2), a inversão enantiomérica é favorável à formação de S-Lic (3) e conjugando os dados deste estudo com os resultados referidos por HAINZL e colaboradores (2001) o metabolito *trans*-diol será produzido apenas a partir do enantiómero (4).