

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

ESTUDO DAS CONDIÇÕES DE MARCAÇÃO DA GENTAMICINA COM ^{99m}Tc .
COMPLEXAÇÃO COM Re. ESTABELECIMENTO DOS PARÂMETROS
FARMACOCINÉTICOS COM O AUXÍLIO DA
ANÁLISE COMPARTIMENTAL

OLGA GONÇALVES DE CARVALHO

Tese apresentada como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de Doutor em
Tecnologia Nuclear.

Orientadora: Dra. Maria Aparecida T. M. de Almeida

SÃO PAULO

1988

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Ao Dr. Claudio Rodrigues, Superintendente do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares-CNEN/SP, e ao, Dr. Roberto Fulfaro, Diretor da Diretoria de Aplicações de Técnicas Nucleares pela oportunidade concedida para a realização desta tese.

À Dra. Constância P.G. da Silva, Chefe do Departamento de Processamento, pelas facilidades oferecidas para execução deste trabalho.

À Dra. Maria Aparecida T.M. de Almeida, Chefe da Divisão de Radiofarmácia, pela orientação, apoio e dedicação recebidos durante a elaboração desta tese.

Ao Prof.Dr. Massayoshi Yoshida e à Dra. Emiko Muramoto, pelas sugestões, esclarecimentos e contribuições transmitidos durante a realização deste trabalho.

Aos pesquisadores Antonio Soares Gouvea e Maria do Carmo Costa Falcão, pelos trabalhos de computação.

Aos pesquisadores Elaine Bortoleti de Araújo, Marycel F.Barbosa, Maria Tereza Cotulrato, Maria Helena Bellini e aos técnicos Alfredo dos Santos, Marina Leonel da Silva e Tereza de Marilaque S. Vasconcelos pela valiosa colaboração na execução da parte biológica desta tese.

Aos meus amigos do Instituto de Pesquisas Energéti-
cas e Nucleares que acreditaram e colaboraram na elaboração
deste trabalho e a todos aqueles que de uma forma ou de outra
participaram na sua realização.

ESTUDO DAS CONDIÇÕES DE MARCAÇÃO DA GENTAMICINA COM ^{99m}Tc . COM-
PLEXAÇÃO COM Re. ESTABELECIMENTO DE ALGUNS PARÂMETROS FARMA-
COCINÉTICOS COM O AUXÍLIO DA ANÁLISE COMPARTIMENTAL.

Olga Gonçalves de Carvalho

RESUMO

Sulfato de gentamicina é um antibiótico do tipo aminoglicosídeo usado especialmente contra as infecções causadas por bactérias Gram-negativas, e que apresenta a ototoxicidade como efeito colateral mais grave.

A marcação da gentamicina com ^{99m}Tc , tem por finalidade propor um traçador para o estudo da distribuição biológica e compartimentalização do antibiótico.

As condições de marcação de sulfato de gentamicina com ^{99m}Tc , a partir de pertecnetato de sódio eluído de um gerador $^{99}\text{Mo}-^{99m}\text{Tc}$, foram estabelecidas quanto à massa de antibiótico, do redutor ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), tempo de reação e pH final de marcação.

O mesmo procedimento de marcação foi realizado com Re (perrenato de amônio), com a finalidade de se obter algumas aproximações de carácter semiquantitativo, no estudo de estrutura do complexo formado, dadas às características químicas similares entre Re e Tc; sendo dessa forma possível sugerir o envolvimento do grupamento NH_2 e da ligação C-O da gentamicina na complexação.

Do estudo de captação biológica em ratos com sulfato de gentamicina ^{99m}Tc definimos que os rins se constituem nos órgãos que apresentam maior afinidade pelo antibiótico, com um máximo de captação em torno de 180 a 240 minutos, declinando após esse tempo; para a dose e tempo estudados não houve uma significativa captação pela cabeça (região auricular).

Foi determinada a curva de decaimento plasmático de gentamicina ^{99m}Tc , calculando-se então as meias-vidas biológicas das respectivas exponenciais obtidas. Calculou-se também o volume de distribuição aparente e com as medidas de corpo inteiro foram determinados os valores da meia-vida biológica e da depuração total.

O modelo de distribuição do sulfato de gentamicina ^{99m}Tc em ratos, se constitui num modelo compartimental com um de retenção para intervalo de tempo de 24 horas em que foi estudado.

STUDIES OF LABELLING CONDITIONS FOR GENTAMICIN WITH ^{99m}Tc .
COMPLEXATION WITH RHENIUM. ESTABLISHMENT OF PHARMACOKINETICS
PARAMETERS THROUGH COMPARTMENTAL ANALYSIS

Olga Gonçalves de Carvalho

ABSTRACT

Gentamicin sulphate is an aminoglycoside antibiotic type specifically used for treatment of infections produced by Gram-negative bacterias but at the other hand it presents ototoxic reactions as a serious side effect.

The main purpose of labelling gentamicin with ^{99m}Tc was to obtain a radioactive tracer to carry out biological studies and compartmental analysis of this antibiotic.

The optimal labelling conditions of gentamicin sulphate with ^{99m}Tc , using sodium pertechnetate solution eluted from a ^{99}Mo - ^{99m}Tc generator, were established by testing different masses of antibiotic, and reduction agent ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), and also different reaction time and final labelling pH.

The same labelling procedure was used with Re (ammonium perrenate) in order to obtain some semi-quantitative approximations of the chemical structure of the complex formed, since Re and Tc present similar chemical characteristics. In this way it is possible to suggest the role that the groups NH_2 and C-O bonding of the gentamicin play in the complexation process.

From the studies of the biological uptake of ^{99m}Tc -gentamicin sulphate in rats, the kidneys showed the highest affinity for the antibiotic. The maximum uptake was observed in 180 to 240 minutes followed by a decrease of it afterwards. For the dose and time used, no significant uptake by the auricular region was detected.

Curve of plasma decay of ^{99m}Tc -gentamicin was obtained, and from the exponentials of each branch of this curve respective half-lives were calculated. Furthermore the apparent volume of distribution was determined, and with the residual radioactivity in the body, the biological half-life and total clearance were obtained.

The distribution of ^{99m}Tc -gentamicin in rats was set in a bi-compartments in addition to a retention one for the 24 hours time interval studied.

ÍNDICE

	<u>PÁGINA</u>
<u>CAPÍTULO I</u> - INTRODUÇÃO	01
I.2. Características de Tecnécio: ^{99m}Tc ...	07
I.3. Estudos Farmacológicos com o Uso de Ra dioisótopos	09
I.4. Farmacocinética	12
I.5. Objetivos do Trabalho	18
 <u>CAPÍTULO II</u> - PARTE EXPERIMENTAL	 20
 Materiais e Métodos	
II.1. Materiais	20
II.1.1. Reagentes	20
II.1.2. Material Biológico	21
II.1.3. Equipamentos	21
II.2. Métodos	22
II.2.1. Técnica de Marcação e Otimização das Condições de Marcação do Sulfato de Gen tamicina com ^{99m}Tc	 22
II.2.2. Otimização das Condições de Marcação .	23
II.2.3. Estudos Químicos	23

ÍNDICE

	<u>PÁGINA</u>
II.2.4. Estudos Biológicos	24
II.2.4.1. Distribuição Biológica	24
II.2.4.2. Medidas do Hematócrito Real, Volume San- guíneo e Volume Plasmático	26
II.2.4.3. Medidas de Corpo Inteiro	26
II.2.4.4. Coleta de Fezes e Urinas	27
II.2.5. Programas de Computador Empregados nos Cálculos	27
<u>CAPÍTULO III</u> - RESULTADOS	29
III.1. Estudo das Condições de Marcação do Sul- fato de Gentamicina com ^{99m}Tc	29
III.2. Estudos Químicos	30
III.2.1. Espectros de Absorção na Região do In- fravermelho	30
III.2.2. Espectrometria de Ressonância Nuclear Magnética Protônica	31
III.2.3. Análise Elementar	31
III.3. Estudos Biológicos	36
III.3.1. Distribuição Biológica do Sulfato de Gentamicina Marcado com ^{99m}Tc após Ad-	36

ÍNDICE

PÁGINA

III.3.2.	Níveis Sanguíneos e Plasmáticos do Sulfato de Gentamicina Marcado com ^{99m}Tc após Injeção Endovenosa	36
III.3.3.	Níveis Plasmáticos de Sulfato de Gentamicina ^{99m}Tc após uma Administração Endovenosa	36
III.3.4.	Cálculo do $T_{1/2}$ de Cada Exponencial da Curva Plasmática do Sulfato de Gentamicina ^{99m}Tc	49
III.3.5.	Determinação do Volume Aparente de Distribuição	49
III.3.6.	Determinação da Meia-Vida Biológica ..	49
III.3.7.	Determinação da Depuração Total	51
III.4.	Modelo Compartimental do Sulfato de Gentamicina ^{99m}Tc após uma Injeção Endovenosa em Ratos Wistar	56
III.4.1.	Modelo Bi-Compartimental	56
III.4.2.	Modelo Bi-Compartimental com um Compartimento de Retenção	57
<u>CAPÍTULO IV</u>	<u>- DISCUSSÃO E CONCLUSÕES</u>	69

ÍNDICE

PÁGINA

	Discussão	69
IV.1.	Estudo das Condições de Marcação do Sulfato de Gentamicina com ^{99m}Tc	69
IV.2.	Complexação com Re	70
IV.3.	Estudos de Parâmetros Farmacocinéticos do Sulfato de Gentamicina ^{99m}Tc com o Auxílio da Análise Compartmental ...	73
IV.3.1.	Distribuição Biológica do Sulfato de Gentamicina ^{99m}Tc	73
IV.3.2.	Estudo Farmacocinético do Sulfato de Gentamicina ^{99m}Tc por Via Endovenosa .	74
	Conclusões	79
	<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	83

INTRODUÇÃO

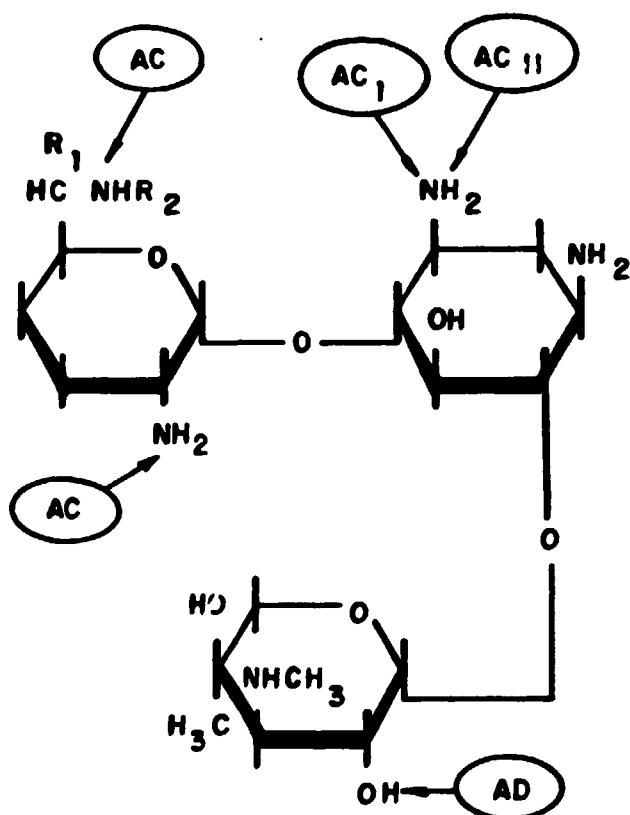
O antibiótico denominado gentamicina foi estudado e descrito pela primeira vez por Weinstein e colaboradores em 1963⁽⁶⁶⁾, e isolada, purificada e caracterizada por Rosselot e colaboradores em 1964⁽⁵¹⁾. Ela é utilizada preferencialmente no tratamento das infecções graves produzidas por bactérias Gram-negativas.

Quimicamente constitui-se em um antibiótico do tipo aminoglicosídeo derivado de microorganismos actinomicetos do gênero Micromonospora.

Os antibióticos aminoglicosídeos são formados por dois ou mais aminoaçúcares unidos por ligação glicosídica a um aminociclitol. A gentamicina possui dois aminoaçúcares ligados ao 2-desoxiestreptamina e possui a seguinte fórmula estrutural, Fig. I.1.

As variações do aminoaçúcar na posição I, resultam em três componentes diferentes da gentamicina, que segundo Goodman, L.S. e Gilman A., essas diferenças parecem ter pouco efeito sobre a atividade antibiótica⁽²⁹⁾.

Os antibióticos aminoglicosídeos agem interferindo nas síntese das proteínas nos ribossomas das bactérias Gram-negativas sensíveis, têm a capacidade de induzir a uma leitura errônea quanto ao código genético do modelo do RNA mensageiro, incorporando aminoácidos incorretos nas cadeias poli



FÓRMULA ESTRUTURAL DA GENTAMICINA

GENTAMICINA C₁: R₁ = R₂ = CH₃

 C₂: R₁ = CH₃, R₂ = H

 C₁₀: R₁ = R₂ = H

AC → ACETILASE

AD → ADEMLASE

Figura I.1. - Fórmula Estrutural da Gentamicina.

peptídicas em crescimento. Especificamente a gentamicina age ao interferir com a síntese das proteínas nos microorganismos.

As bactérias podem resistir à atividade antimicrobiana dos aminoglicosídeos devido aos seguintes fatores:

- a) incapacidade de penetração celular do aminoglicosídeo.
- b) baixa afinidade da droga pelo ribossoma bacteriano.
- c) inativação da droga por enzimas microbianas, sendo que isso explica a resistência microbiana aos aminoglicosídeos, observada na prática clínica.

Podemos observar na figura I.1, que os grupamentos amino e hidroxila da gentamicina têm a capacidade de sofrer ação das enzimas acetilase (AC) e adenilase (AD).

No tratamento das infecções microbianas graves causadas por bactérias Gram-negativas tais como: Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Serratia marcescens, Enterobacter (várias espécies), utilizam-se geralmente os antibióticos aminoglicosídeos. Dentre as infecções a considerar, temos aquelas do trato urinário, a bacteremia, a meningite, a pneumonia, a otite e a peritonite.

Embora os antibióticos aminoglicosídeos não sejam indicados para o tratamento das infecções sem complicações nas vias urinárias, existem dados de Ronald e colaboradores⁽⁴⁹⁾ e de Varese e colaboradores⁽⁶⁴⁾, indicando que uma única dose

de administração intra-muscular de gentamicina, (5 mg/kg) seria eficaz, produzindo cura em 90% dos casos.

A Tabela I.1 fornece a concentração inibitória mínima (CIM), e a porcentagem de microorganismos isolados, considerados sensíveis pela gentamicina.

	Concentração Plasmática (µg/ml)	Pseudomonas aeruginosa		Enterobacter (várias espécies)		Klebsiella pneumoniae		Serratia marcescens	
		CIM	%	CIM	%	CIM	%	CIM	%
Gentamicina	4-8	8,0	87	1,3	90	4,0	97	4,0	95

Tabela I.1 - Atividade Antibacteriana da Gentamicina (Atkinson, 1980) (5)

CIM - Concentração Inibitória Média

% - Porcentagem de Microorganismos Isolados Sensíveis

Definimos microorganismos sensíveis, como sendo aqueles inibidos por concentrações plasmáticas otimizadas obtidas clinicamente, mas que não estejam associadas a incidência de toxicidade.

Os antibióticos aminoglicosídeos são mal absorvidos pelo trato intestinal, e no caso particular da gentamicina essa absorção pode aumentar na ocorrência de desintéria bacteriana⁽²²⁾. No caso de administração oral ou retal repetida, poderá resultar em acúmulo de concentrações tóxicas em pacien

tes com disfunção renal. Da mesma forma quando os antibióti
cos aminoglicosídios são aplicados topicamente em grandes fe
ridas ou queimaduras, poderá ocorrer intoxicação se existir
insuficiência renal (29).

Quanto à distribuição orgânica, observam-se concen
trações altas de antibióticos aminoglicosídios apenas no cór
tex renal, na endolinfa e na perilinf do ouvido interno, o
que provavelmente estaria contribuindo para a nefrotoxicidade
e ototoxicidade dessas drogas. Temos ainda também, concentra
ções secundárias de aminoglicosídios nas secreções e nos te
cidos (29).

Os antibióticos aminoglicosídios são excretados qua
se que exclusivamente por filtração glomerular (29).

Dado que, a incidência de nefrotoxicidade e ototoxi
cidade está diretamente relacionada à concentração na qual se
acumula o aminoglicosídio, isto torna obrigatório a redução
da dose de manutenção em pacientes com disfunção renal e isto
deve ser acompanhado com precisão, visto que, a concentração
plasmática associada à toxicidade não é muito maior do que
aquela necessária para o tratamento de numerosas infecções
bacterianas.

O efeito colateral da gentamicina mais importante e
muito grave é a ototoxicidade irreversível, sendo esta o re
sultado da destruição progressiva das células sensoriais ves
tibulares do ouvido interno, extremamente sensíveis e do sis
tema acústico, estendendo-se às células cocleares (12,68). A dege

neração das células sensoriais e do nervo auditivo resultam na perda irreversível da audição⁽²⁹⁾.

A gentamicina pode produzir também maior nefrotoxicidade do que os outros antibióticos aminoglicosídios utilizados por vias sistêmicas.

A nefrotoxicidade resulta da alteração da estrutura e da função das células tubulares proximais dos rins. A toxicidade está relacionada com a quantidade total da droga administrada e o potencial nefrotóxico varia de acordo com o antibiótico aminoglicosídeo em questão. Há uma corrente de pesquisadores representados por Jackson, G.G., Black, Abramowicz, M. e colaboradores^(1,29,32), para os quais o potencial nefrotóxico da gentamicina em uso clínico foi apresentado como raro e desprezível. Entretanto para animais, como por exemplo ratos, necessita-se de uma dose de 12 a 60 vezes maior de que a dose terapêutica humana para produzir nefrotoxicidade; a quantidade exata depende entre outros fatores, da idade do animal, segundo esses mesmos pesquisadores^(1,29,32). Falco, Smith e Arcieri, concluíram em seus estudos em humanos que a probabilidade de incidência de nefrotoxicidade a partir do emprego de gentamicina situa-se em torno de 2%⁽²⁷⁾.

A administração intratecal ou intraventricular pode causar inflamação local e resultar no desenvolvimento de outras complicações⁽²⁹⁾.

A forma de sulfato de gentamicina é a mais comumente usada em terapêutica, sendo solúvel em água⁽²⁹⁾.

O sulfato de gentamicina, conhecido comercialmente como "Garamicina", é utilizado na forma farmacêutica para uso parenteral, em dispositivos para injeção intratecal e produtos de aplicação local (pomadas, cremes e solução oftálmica)⁽²⁹⁾.

Sabe-se que a concentração máxima de gentamicina alcançada no plasma é de 4 $\mu\text{g/ml}$ após administração intramuscular, em pacientes que receberam 1 mg/kg; contudo para alguns estudiosos, as doses recomendadas quando emprega-se gentamicina, não proporcionam concentrações previsíveis, havendo um grau elevado de variação individual, existindo portanto a necessidade de controles periódicos da concentração plasmática do antibiótico nos indivíduos em tratamento prolongado. Por outro lado, embora não se conheça com precisão a concentração plasmática tóxica; sabe-se que tais concentrações máximas superiores a 10 $\mu\text{g/ml}$ e valores mínimos de cerca de 2 $\mu\text{g/ml}$ mantidos durante mais de 10 dias tem sido associados à toxicidade⁽²⁹⁾.

I.2. Características do Tecnécio: $^{99\text{m}}\text{Tc}$

O tecnécio é um metal de transição de número atômico 43, ocupando na tabela periódica o grupo VII B do 5º período. Do ponto de vista químico Tc e Re têm semelhanças químicas⁽²¹⁾. Dentre os seus radionuclídeos, o $^{99\text{m}}\text{Tc}$ é o isótopo de maior interesse em Medicina Nuclear por suas características nucleares: $t_{1/2}$ de 6,02 horas, emissão γ de 140 keV, ausência de emissão β . Disso resulta que a exposição para animais e homens é baixa.

O ^{99m}Tc é formado a partir do ^{99}Mo e decai por transição isomérica ao ^{99}Tc .

O ^{99m}Tc utilizado em Radiofarmácia é obtido a partir de geradores $^{99}\text{Mo}-^{99m}\text{Tc}$.

Na figura 1.2 temos a curva de crescimento do sistema gerador $^{99}\text{Mo}-^{99m}\text{Tc}$.

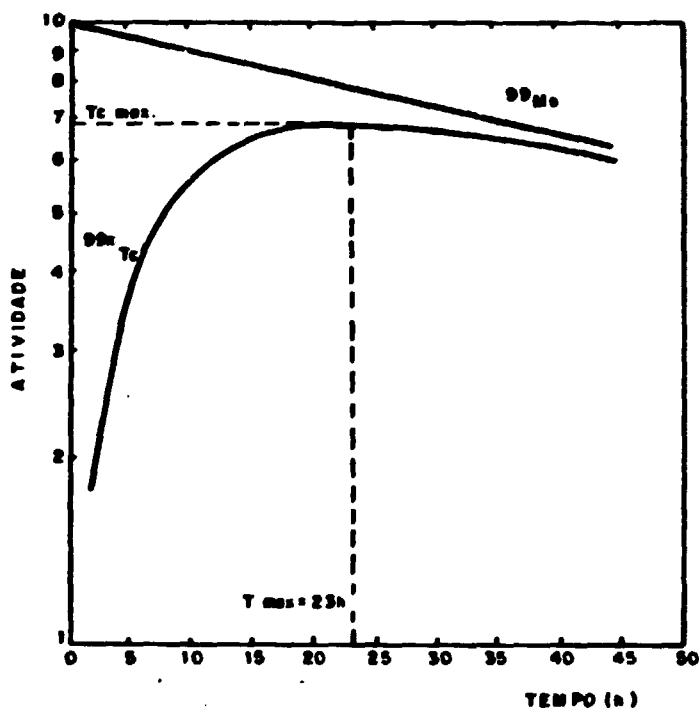


Fig. 1.2. Curva de Crescimento do ^{99m}Tc num Gerador $^{99}\text{Mo}-^{99m}\text{Tc}$ (44).

Em sistema do tipo gerador de $^{99}\text{Mo}-^{99m}\text{Tc}$, somente 86% do ^{99}Mo decai para o ^{99m}Tc , portanto o crescimento do ^{99m}Tc será inferior ao do pai, o ^{99}Mo , como podemos observar na figura 1.2. No tempo $t = 0$, temos somente o ^{99}Mo que está gerando o ^{99m}Tc , no tempo de equilíbrio, que no caso é de 23 horas; a atividade do ^{99m}Tc é máxima, a partir da qual ele passa a

decair com a meia-vida do ^{99}Mo (66 horas). Se eluirmos o $^{99\text{m}}\text{Tc}$ nesse instante, ele assume as suas características nucleares e novamente o ^{99}Mo começa a produzir o $^{99\text{m}}\text{Tc}$ até um novo equilíbrio ser instalado.

Na prática, o gerador ^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$ utilizado no IPEN-CNEN/SP é constituído por uma coluna de alumina onde íons molibdato e pertecnetato estão adsorvidos; obtém-se o pertecnetato de sódio ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$), eluindo-se a coluna com solução fisiológica (NaCl 0,9%).

Existem compostos de tecnécio em todos os estados de oxidação desde +7 até -1; entretanto na preparação de radiofármacos marcados com $^{99\text{m}}\text{Tc}$, devemos inicialmente reduzir o ânion TcO_4 (+VII), seguida da reação com o agente complexante adicionado.

Tecnécio e Rênio formam poucos compostos no estado de oxidação +2 e apresentam vários no estado de oxidação +4⁽²¹⁾. O interesse na química dos complexos de Re está no crescimento da importância e utilização do $^{99\text{m}}\text{Tc}$ em Medicina Nuclear. Estudos eletroquímicos de complexos de Re e Tc, realizados por Seeber, Mazzochim e colaboradores^(40,41,58,59,60) permitiram fazer comparações entre os dois tipos complexos e com base na similaridade química foram preparados complexos de Re e Tc e que analisados quimicamente apresentaram aproximadamente também semelhanças de comportamento⁽⁵⁸⁾.

1.3. Estudos Farmacológicos com o Uso de Radioisótopos

O entendimento e a quantificação dos eventos que

ocorrem no sistema biológico são facilitados pelo uso de isótopos radioativos ou estáveis⁽⁴⁷⁾.

O sangue e a linfa são os tecidos orgânicos que conduzem preferencialmente os fármacos após administrados, introduzindo-os no local de ação. O sangue é o compartimento central a partir do qual um produto é distribuído aos tecidos, aos órgãos excretores e receptores específicos⁽¹⁸⁾.

Os produtos, uma vez que atingem a corrente sanguínea vão estar dissolvidos na fase aquosa, ligados às proteínas ou então incorporados às células do sangue. No transporte da droga pela corrente sanguínea, podemos considerar a seguinte sequência: fase celular do sangue - fase proteica - fase aquosa. Durante a absorção da droga o deslocamento se dá da direita para esquerda (fase aquosa - fase proteica - fase celular do sangue), e durante a difusão da esquerda para direita (fase celular do sangue - fase proteica - fase aquosa); se a droga estiver ligada às proteínas na fase aquosa, antes da difusão ela deverá ser liberada, o mesmo acontecendo se ela estiver ligada às células do sangue. Após a difusão, a distribuição acontecerá progressivamente para os espaços extracelulares, às reservas lipídicas, para os excretores, para as zonas de biotransformação e finalmente para os receptores específicos; em não havendo uma ordem preferencial para esta distribuição, haverá a possibilidade dos eventos ocorrerem todos simultaneamente⁽¹⁸⁾.

Wilson T.W. e colaboradores⁽⁶⁹⁾, estudando a eliminação da gentamicina tritiada em pacientes normais e com falhas renais severas, verificaram discrepâncias entre as meia-

-vidas aparentes obtidas em pacientes normais (3,3h) e a média das meia-vidas aparentes da gentamicina obtidas por outros pesquisadores (16,31,42); justificaram esse fato da seguinte forma: em baixas concentrações plasmáticas existe uma grande parte de gentamicina ligada as proteínas plasmáticas reduzindo portanto a clarificação renal. Isto também explicaria a não adequação do modelo de um só compartimento para explicar o comportamento cinético da gentamicina tritiada. Outro fato de interesse, seria também a disparidade entre a velocidade de desaparecimento do produto do plasma e a taxa de aparecimento na urina (69).

K. Özker e colaboradores (45), estudando a contribuição da gentamicina marcada com ^{99m}Tc em estudos da imagem da função renal em animais, verificaram que, embora a gentamicina seja excretada rapidamente por filtração glomerular, a velocidade de clarificação observada foi mais baixa do que 30 minutos após injeção endovenosa, demonstrando portanto a sua utilidade no diagnóstico cintilográfico das falhas renais com respeito a filtração glomerular e a reabsorção, sendo que a retenção razoavelmente longa nos rins facilitaria a imagem renal.

Existem vários trabalhos publicados que fazem o estudo da cinética da gentamicina em humanos, tendo como objetivo o estabelecimento do critério de dosagem da mesma entre pacientes normais e pacientes com função renal comprometida. Foram obtidos valores para a meia-vida, volume de distribuição e a clarificação renal, estudando-se também a interferência da idade, do peso das várias formas de administração da droga. Embora alguns autores admitam que a cinética da gentamicina fique caracterizada com o modelo de um só compartimento, existem outros que admitem um decaimento bifásico na concentração plas

1.4. Farmacocinética

A Farmacocinética, segundo Wagner⁽¹⁵⁾ tem como objetivo o estudo das velocidades de troca das concentrações das drogas e de seus metabólitos nos fluídos biológicos, tecidos e excretas, bem como também a resposta farmacológica e a construção de modelos adequados para interpretação de tais dados.

O estudo cinético de uma droga depende do tipo e da forma como foi administrada⁽¹⁸⁾.

A construção de modelos em Farmacocinética supõe o organismo dividido num sistema de compartimentos unidos entre si no qual a droga vai ser distribuída após a sua administração. O modelo construído deve representar o sistema em estrutura e/ou comportamento de uma determinada droga baseado nos dados disponíveis. Entende-se por compartimento um grupo de tecidos com características fisiológicas e fisicoquímicas similares.

A partir dos fundamentos dados em Farmacocinética nos quais em qualquer momento deve haver relações de proporcionalidade entre os componentes estudados, podemos definir algumas constantes biológicas.

1. Volume de distribuição aparente⁽¹⁵⁾

O volume de distribuição aparente relaciona a quantidade da droga no corpo com a concentração plasmática.

Em uma administração endovenosa, a droga deverá dis

tribuir-se em todos os tecidos, e quando em equilíbrio teremos a relação:

$$V_d = \frac{\text{quantidade da droga no corpo}}{\text{concentração plasmática}}$$

Esta relação se aplica àquelas drogas que são eliminadas do plasma lentamente.

Na prática, podemos calcular o volume de distribuição aparente para uma droga administrada por via endovenosa, por meio da seguinte relação:

$$V_d = \frac{\text{Dose (administrada)}}{C_0}$$

onde C_0 é obtido através do gráfico logarímico da curva plasmática em função do tempo; extrapolando-a para $t = 0$, nós teremos C_0 .

O volume de distribuição é uma constante ligada a cada droga, é dependente do fluxo sanguíneo nos diferentes tecidos, do coeficiente de partição da droga nos sistemas orgânicos (lipídeo/água) e da afinidade desta com as proteínas plasmáticas.

2. Constante de velocidade⁽¹⁵⁾

As constantes de velocidade caracterizam as trocas na concentração da droga num determinado compartimento; elas representam a velocidade com que a mesma entra num compartimento, se distribui e é eliminada resultando respectivamente nas constantes de absorção, de distribuição e eliminação.

A constante K de velocidade de eliminação é defini
da como:

$$K = k_e + k_m + k_p + \dots$$

onde k_e : constante de eliminação por excreção urinária e bi
liar

k_m : constante de eliminação por biotransformação

k_p : constante de eliminação por todos os processos de
remoção dos fármacos do organismo.

K tem unidades de tempo recíproco (h^{-1} ou min^{-1})

A propriedade aditiva das constantes de velocidade
permitem o cálculo das constantes desconhecidas e a fração to
tal da droga removida do organismo por uma via específica.

3. Meia-vida biológica⁽¹⁵⁾

A meia-vida biológica representa o tempo necessário
para que a quantidade da droga presente no organismo se redu
za a metade.

$$T_{1/2} = \frac{0,693}{K}$$

4. Depuração total⁽¹⁵⁾

A depuração total de uma droga é o resultado da eli
minação desta por todos os mecanismos eliminatórios do orga

nismo: excreção renal, hepática etc⁽¹⁸⁾. Podemos relacioná-la com a constante de depuração total (b) por meio da seguinte expressão:

$$D^t = b \times Vd$$

D^t — depuração total da droga no organismo

b — constante de depuração total

Vd — volume de distribuição aparente

Análise compartimental^(15,47)

A análise dos valores experimentais do estudo cinético de uma droga requer um modelo que é análogo a um sistema de compartimentos no qual ocorre a distribuição da droga.

Um sistema está no estado estacionário se a quantidade da droga num tempo permanece constante e isto, implica necessariamente na manutenção das velocidades de absorção e eliminação em valores constantes.

Muitos tipos de modelos compartimentais para estudos dinâmicos da droga são descritos na literatura, utilizando-se sistemas representativos do tipo mamilar e quaternário entre outros. Tanto o sistema quaternário como o mamilar, são os mais utilizados para representar sistemas biológicos.

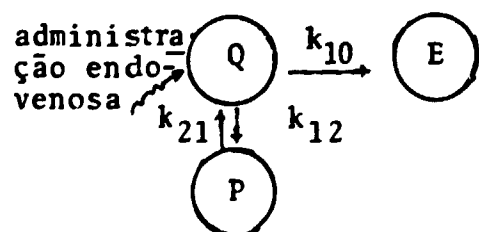
No sistema quaternário os compartimentos estão associados em cadeia, enquanto que no sistema mamilar todos os compartimentos estão disponíveis para a troca com o compartimento central. A compartimentalização da droga pode ser representada por uma ou mais exponenciais.

Na prática para se construir um modelo, teremos que analisar primeiramente os dados experimentais, em seguida descreveremos o sistema de equações diferenciais que se ajustam aos dados, devendo haver tantas exponenciais quantos forem o número de compartimentos. A resolução do sistema de equações diferenciais deverá ser feita por computadores. Um dos programas de grande utilização em análise compartimental é o programa SAAM de Mones e Berman⁽⁹⁾. Resolvido o sistema de equações diferenciais comparam-se os dados numéricos com os dados obtidos experimentalmente: em havendo concordância, teremos o modelo que simula o sistema em estudo.

Modelo aberto de dois compartimentos⁽¹⁵⁾

O sistema aberto constando de dois compartimentos, constitui-se no modelo mais comum, aplicado à maioria de estudos cinéticos de drogas; nesse modelo supõe-se o organismo constituído por um compartimento central, e outro periférico.

Esquemáticamente temos:



Q = compartimento central

P = compartimento periférico

E = eliminação

k_{10} = constante de eliminação

k_{12} = constante de transferência de Q para P

k_{21} = constante de transferência de P para Q

A droga ao chegar no compartimento central Q se dis

tribui para um compartimento periférico P de uma forma reversível com constantes de transferência k_{12} e k_{21} respectivamente, e é eliminada do compartimento central para o exterior com uma constante de eliminação k_{10} .

Quando um medicamento é administrado por via endovenosa teremos em um primeiro estágio que supor a distribuição do produto de maneira uniforme no compartimento central, entendendo-se este como sendo o sangue; e que a quantidade de fármaco no compartimento periférico no momento da administração é zero, sendo a eliminação também igual a zero.

Em um sistema de dois compartimentos teremos um decaimento biexponencial representado pela seguinte equação:

$$C(t) = A e^{-\alpha t} + B e^{-\beta t} \quad (I)$$

Representando-se graficamente o logaritmo de C em função do tempo (t), obteremos uma curva que será analisada submetendo-a ao método de decomposição (peeling).

A e B são respectivamente os valores das duas componentes da curva biexponencial, no tempo $t = 0$, obtidas experimentalmente.

α e β são respectivamente os coeficientes angulares das duas componentes da curva biexponencial.

Temos então que A e B, α e β são valores que poderão ser calculados a partir da curva representativa do logaritmo da concentração plasmática em função do tempo (t).

As constantes de transferência k_{12} e k_{21} , e a cons

tante de eliminação k_{10} podem ser definidas a partir das seguintes relações:

$$\alpha + \beta = k_{12} + k_{21} + k_{10} \quad (II)$$

$$\alpha \cdot \beta = k_{21} \cdot k_{10} \quad (III)$$

Integrando-se a equação (I), em função do tempo teremos:

$$\int_0^{\infty} C dt = \frac{A}{\alpha} + \frac{B}{\beta} = \frac{C_0}{k_{10}} = \frac{\text{Dose}}{Vd} \quad (IV)$$

onde C_0 = concentração inicial do fármaco

Vd = volume de distribuição aparente da droga

Dose = quantidade do fármaco injetada

de onde teremos:

$$k_{10} = \frac{\alpha \cdot \beta}{k_{21}}$$

$$k_{12} = \alpha + \beta - k_{21} - k_{10}$$

$$k_{21} = \frac{A\beta + B\alpha}{A + B} = \frac{\alpha B}{k_{10}}$$

1.5. Objetivo do Trabalho

Tendo em vista a importância da aplicação da gentamicina no combate às infecções provocadas por bactérias Gram-

-negativas, infecções essas, principalmente renais e os seus efeitos colaterais, entre eles o mais grave a ototoxicidez, nos propusemos a realização do seguinte projeto:

1. Preparação da gentamicina marcada com o isótopo de fácil obtenção no IPEN e de interesse em Radiofarmácia: ^{99m}Tc .

Otimização das condições de marcação do sulfato de gentamicina marcada com ^{99m}Tc : estudo da variação da massa do sulfato de gentamicina; estudo da variação do pH final de marcação; estudo da massa de redutor e estudo da variação do tempo de reação.

2. Estudos químicos.

Algumas contribuições no estudo da estrutura química da complexação do sulfato de gentamicina com a utilização do perrenato de amônio, dadas às características semelhantes do Rênio com o Tecnécio.

3. Estudos biológicos.

- a) Realização de estudos da distribuição biológica do sulfato de gentamicina marcado com ^{99m}Tc em ratos.
- b) Proposição de um modelo cinético da atuação do sulfato de gentamicina marcado com ^{99m}Tc .

II. PARTE EXPERIMENTAL

MATERIAIS E MÉTODOS

II.1. Materiais

II.1.1. Reagentes

Sulfato de gentamicina: Sigma Chemical Company, EUA

Perrenato de amônio p.a.: Merck, Alemanha

Cloreto estanoso bihidratado p.a.: Merck, Alemanha

Dimetilglioxima p.a.: Merck, Alemanha

Uretana p.a.: Merck, Alemanha

"Liquemine": 5000 UI/ml de heparina: Roche, Brasil

Álcool etílico p.a.: Merck, Alemanha

Ácido clorídrico d = 1,19 p.a.: Merck, Alemanha

Cloreto de sódio 0,9% - solução estéril e apirogenica: Droga
sil, Brasil

Eter etílico p.a.: Merck, Alemanha

Metiletilcetona p.a.: Carlo Erba, Itália

Pertecnetato de sódio, Gerador ^{99}Mo - $^{99\text{m}}\text{Tc}$: IPEN-CNEN/SP, Bra
sil

Papel cromatográfico Whatman nº 3 MM: W & R Balston Ltda, In
glaterra

"Sephadex" G.10-120, partícula 40-120 μ : Sigma, EUA

Filtro millipore 0,2 μ m: Gelman, EUA

II.1.2. Material Biológico

Animal utilizado: "Rattus norvegicus albinus" linhagem Wistar, machos, pesando 275 \pm 25 g. Os animais recebem durante todos os experimentos, ração comercial e água "ad libitum".

II.1.3. Equipamentos

Contadores de radioatividade:

Contador gama de poço com cristal de NaI(Tl) de 3 polegadas, Nuclear Chicago, EUA

Curietest: Siemens, Alemanha

Contador com cristal NaI(Tl): Abbot, EUA

Aparelho contador de corpo inteiro comportando um cristal de NaI(Tl), 8" x 4": Harshaw Chemical Company, EUA

Aparelho para análise elementar: Perkin Elmer-240, EUA; (Instituto de Química - USP)

Centrífuga: "Sorval" GLC-1, EUA

Espectrômetro infravermelho: Infrared Fourier FT-1750 Perkin Elmer, EUA; (Instituto de Química - USP)

Espectrômetro de ressonância nuclear magnética: Varian, modelo T-60-A, EUA; (Instituto de Química - USP)

Liofilizador: The Virtis Company Gardiner - N.Y. 12525, EUA

Separador de frações: LBK 2070 URTRORAC II - Suécia

Bomba: LBK Varioperpex II, Pump 2120, LBK Produkter AB
S-16125 Bromma 1, Suécia.

Gaiola metabólica para a coleta das fezes e urinas eliminadas, de acordo com o modelo idealizado por Lucas e colaboradores⁽⁷⁰⁾.

II.2. Métodos

II.2.1. Técnica de Marcação e Otimização das Condições de Marcação do Sulfato de Gentamicina com ^{99m}Tc

A metodologia empregada na marcação do sulfato de gentamicina com ^{99m}Tc baseou-se no trabalho de Kutlan e colaboradores⁽⁴⁶⁾, tendo sido otimizado e padronizado por nós.

Uma solução de 1 ml de pertecnetato de sódio ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$), foi adicionada em um frasco tipo penicilina, contendo 10 mg de sulfato de gentamicina dissolvidos em 1 ml de água destilada; em seguida adicionaram-se 0,5 ml de solução de cloreto estânico 0,5 mg/ml em HCl 0,5N. O conteúdo do frasco foi agitado, durante um minuto e deixado reagir por 30 minutos à temperatura ambiente, perfazendo-se um volume de reação de 2,5 ml e um pH final de 1,7.

O rendimento de marcação foi calculado por meio de análise cromatográfica, sistema ascendente, em papel Whatman nº 3 MM e como solventes, solução de NaCl 0,9% e metiletilce

tona. Em cada fita de papel de 25 x 1,5 cm foi semeada a solução do produto marcado. As fitas após a corrida nos solventes, foram cortadas em segmentos de 1 cm num total de 15 e as suas atividades avaliadas em contador gama tipo poço com cristal NaI(Tl), Abbot.

O Rf do produto marcado em solução salina é zero e em metiletilcetona o Rf é 1.

II.2.2. Otimização das Condições de Marcação

Estudaram-se os seguintes parâmetros: a) variação da massa de sulfato de gentamicina; b) variação do pH final de marcação; c) variação da massa de redutor (Sn^{+2}); d) variação do tempo de reação.

II.2.3. Estudos Químicos

Tendo em vista a impossibilidade de serem efetuados estudos químicos com o elemento Tc, procedemos a complexação do sulfato de gentamicina com Re, devido à semelhança do comportamento químico entre os dois elementos⁽²¹⁾.

A metodologia empregada foi semelhante a descrita no item II.2.1, sendo entretanto introduzida algumas modificações:

- em tubos de reação foram colocados 1 ml de solução de NH_4ReO_4 (5,7 mg/ml em solução fisiológica), e 0,5ml de solução de cloreto estano (0,5 mg/ml HCl). A mistura foi aquecida até 50°C e após o resfriamento foi acrescentado 10mg

de solução de sulfato de gentamicina dissolvidos em 1 ml de água destilada. Agitou-se o tubo e deixou-se reagir por 30 minutos. A solução foi percolada numa coluna de Shephadex G-10 (1,5 x 23 cm), sendo eluída com solução de cloreto de sódio 0,9%. Foram recolhidas amostras de 2,5 ml em 35 tubos, mantido um fluxo de 0,5 ml por minuto. Todos os tubos com os eluatos foram submetidos à reação de toque para se detectar a presença de Re: reagindo-se a solução eluída com solução saturada de dimetilglioxima em etanol e com solução de cloreto estannoso 25% em HCl 10N⁽³⁴⁾, observou-se uma coloração vermelha alaranjada característica da presença de Re. Em seguida os tubos contendo Re foram liofilizados; a solução foi refeita com 0,5 ml de água destilada e recromatografada em coluna de Sephadex G-10, recolhendo-se novamente amostras em 35 tubos e analisando-se qualitativamente a presença de Re; os tubos com reações positivas foram novamente liofilizados e destinados a análises físico-químicas utilizando-se dos seguintes métodos: espectroscopia no infravermelho e ressonância nuclear magnética.

Foi realizada também a análise elementar.

II.2.4. Estudos Biológicos

II.2.4.1. Distribuição biológica

Utilizaram-se 14 grupos de 6 ratos machos para o estudo de captação de sulfato de gentamicina marcada com ^{99m}Tc pelos órgãos, músculo e para avaliação dos níveis plasmáticos.

Inicialmente os animais foram pesados e anestesiados com uretana (100 mg/100 g peso). Prepararam-se amostras com pH ajustado para valor 6,5 com solução fisiológica, contendo cada uma 0,075 ml da solução de gentamicina marcada com ^{99m}Tc (4 mg/ml), com atividades específicas entre 216 e 316 $\mu\text{Ci/mg}$: as respectivas doses foram injetadas na artéria dorsal do pênis de cada animal. Tomaram-se amostras de 2 ml de sangue por punção cardíaca nos seguintes tempos: 3, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90 minutos e 2; 3; 4; 6; 16,20 e 24 horas. O sangue foi coletado em frascos heparinizados com Liquemine, parte foi destinado a leitura do hematócrito. O plasma foi obtido por centrifugação (2500 rotações por minuto durante meia hora), a radioatividade contada, e o volume medido.

Após a coleta de sangue, os animais foram sacrificados para a retirada dos seguintes órgãos: baço, coração, rins, estômago, fígado, pulmão, intestino delgado, intestino grosso, amostra do músculo da pata traseira e parte da cabeça (região auricular).

Os materiais biológicos foram pesados e em seguida contados em contador gama.

Todas as contagens foram efetuadas e calculadas em relação a um padrão contendo exatamente a mesma dose injetada nos animais. Manteve-se a mesma geometria e o tempo de contagem para todas as medidas.

11.2.4.2. Medidas do hematócrito real, volume sanguíneo e volume plasmático ^(4,65)

O hematócrito real foi medido por meio da seguinte fórmula:

$$\text{Hematócrito real} = \frac{\text{Hematócrito lido no tubo} \times 0,91}{0,96} \text{ (65)}$$

O volume plasmático foi calculado por meio da seguinte fórmula:

$$\text{Volume plasmático} = \frac{\text{volemia(ml)} \times (100 - \text{hematócrito real})}{100} \text{ (65)}$$

A volemia de cada rato foi determinado usando-se a seguinte fórmula:

$$\text{Volemia} = \text{Peso do animal} \times 0,0528 \text{ (4)}$$

11.2.4.3. Medidas de corpo inteiro

As medidas de corpo inteiro foram efetuadas em um lote de 5 ratos machos, injetados endovenosamente na artéria dorsal do pênis com 0,075 ml de solução de sulfato de gentamicina ^{99m}Tc (4 mg/ml), com atividade específica de 216 a 316 μ Ci/mg. Os animais foram mantidos individualmente durante um período de 24 horas em gaiolas metabólicas e contados em contador de corpo inteiro para avaliação da atividade nos seguintes tempos: 1; 3; 4; 6,30 e 24 hs. A cada medida nos tempos

previstos foi efetuada também a contagem de um padrão, consistindo em uma simulação representada por um frasco de volume e forma cilíndrica aproximadamente equivalente a um rato de 275g, preenchido com água e contendo a mesma dose previamente injetada nos animais. Foi mantida também a mesma geometria entre a gaiola do animal e o colimador do contador de corpo inteiro para animais e padrão.

II.2.4.4. Coleta de fezes e urinas

Foram recolhidas urinas e fezes dos ratos mantidos em gaiolas metabólicas e injetados endovenosamente com sulfato de gentamicina ^{99m}Tc como em II.2.4.3. Recolheram-se urinas após 3, 5, 24 e 48 horas da aplicação de sulfato de gentamicina ^{99m}Tc . Foram medidos os volumes de urina e contados em um contador gama.

As fezes foram recolhidas das gaiolas metabólicas nos seguintes tempos: 24 e 48 horas, levadas a uma estufa a 50°C para secar; tendo sido então trituradas pesadas e levadas ao contador tipo poço para a medida de radioatividade. Todas essas medidas foram realizadas e calculadas em relação a um padrão, que continha a mesma dose injetada nos animais.

As contagens obedeceram aos critérios de igualdade de geometria para o padrão e amostras.

II.2.5. Programas de Computador Empregados nos Cálculos

O estudo estatístico dos dados referentes à distri

huição biológica foi realizado no computador IBM/4341 utilizando-se o programa SAS (Statistical Analysis System)⁽⁵²⁾.

A determinação do volume plasmático aparente de distribuição foi realizada utilizando-se os dados experimentais das concentrações plasmáticas expressos em porcentagem de radioatividade por mililitro. Estes dados foram ajustados numericamente, empregando-se o método iterativo Gauss-Newton de mínimos quadrados não linear disponível no programa SAS (Statistical Analysis System)⁽⁵²⁾.

A meia-vida biológica foi calculada utilizando-se os dados obtidos nas medidas de corpo inteiro, expressos em porcentagem de radioatividade. Estes dados foram ajustados numericamente, empregando-se o método dos mínimos quadrados linear disponível no programa SAS (Statistical Analysis System)⁽⁵²⁾.

Na análise compartimental, a determinação numérica dos coeficientes de transferência foi realizada a partir dos pontos experimentais da curva plasmática em porcentagem de dose utilizando-se o código SAAM25, (Simulation Analysis and Modeling), desenvolvido por M. Berman e M.F. Weiss⁽⁹⁾. Obtidos os coeficientes de transferência foram substituídos no sistema de equações diferenciais e a solução foi obtida com o auxílio do sistema CSMP, (Continuous System Modeling Program)⁽⁶¹⁾.

As curvas foram construídas com o SAS/GRAPH, e foram traçadas numa unidade gráfica TK4662.

III. RESULTADOS

III.1. Estudo das Condições de Marcação do Sulfato de Gentamicina com ^{99m}Tc

Tabela III.1.1. - Variação da Massa de Sulfato de Gentamicina

Massa de Sulfato de Gentamicina (mg)	vol. SnCl_2 (ml) (0,5 mg/ml)	Atividade $^{99m}\text{TcO}_4$ (mCi) ($1\text{mCi}=3,7\times 10^7\text{Bq}$)	pH final	% Marcação	
				\bar{x}	δ
05	0,5	1	1,7	96,0	2,5
10	0,5	1	1,7	95,5	2,4
15	0,5	1	1,7	95,4	2,3
20	0,5	1	1,7	96,8	1,0
25	0,5	1	1,7	95,5	1,9

Tabela III.1.2. - Variação do pH Final de Marcação

Massa de Sulfato de Gentamicina (mg)	vol. SnCl_2 (ml) (0,5 mg/ml)	Atividade $^{99m}\text{TcO}_4$ (mCi) ($1\text{mCi}=3,7\times 10^7\text{Bq}$)	pH final	% Marcação	
				\bar{x}	δ
10	0,5	1	1,3	80,2	5,2
10	0,5	1	1,7	96,4	3,8
10	0,5	1	2,1	48,5	4,8
10	0,5	1	4,0	32,5	1,0
10	0,5	1	4,3	39,1	2,9
10	0,5	1	4,5	25,0	1,2

Tabela III.1.3. - Variação da Massa do Redutor Sn^{2+}

Massa de Sulfato de Gentamicina (mg)	pH Final	Atividade $^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ (mCi) (1mCi= $3,7 \times 10^7$ Bq)	Massa de Redutor SnCl_2 (mg) (0,5 mg/ml)	% Marcação	
				\bar{x}	δ
10	1,7	1	0,063	75,6	5,5
10	1,7	1	0,125	81,9	0,4
10	1,7	1	0,250	95,9	2,5
10	1,7	1	0,375	85,1	5,5

Tabela III.1.4. - Variação do Tempo de Reação

Massa de Sulfato de Gentamicina (mg)	pH Final	Atividade $^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ (mCi) (1mCi= $3,7 \times 10^7$ Bq)	vol. SnCl_2 (ml) (0,5 mg/ml)	Tempo de Reação (min.)	% Marcação	
					\bar{x}	δ
10	1,7	1	0,5	15	90,5	7,8
10	1,7	1	0,5	30	97,6	1,9
10	1,7	1	0,5	60	98,6	0,6
10	1,7	1	0,5	90	99,0	0,3

III.2. Estudos Químicos

III.2.1. Espectros de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção no infravermelho do sulfato de gentamicina não complexado e complexado com Re, foram obtidos nos limites de comprimento de onda entre 500 e 4.000

cm^{-1} . As amostras foram preparadas na forma de pastilhas de brometo de potássio, na concentração de 0,01%.

As figuras III.2.1 e III.2.2 apresentam os espectros infravermelho do sulfato de gentamicina antes e após a complexação com Re, respectivamente.

III.2.2. Espectrometria de ressonância nuclear magnética protônica

Os espectros de ressonância nuclear magnética do sulfato de gentamicina não complexado e do complexado com Re foram obtidos em aparelho com frequência de 60 MHz, sendo utilizado como solvente a D_2O .

As figuras III.2.3 e III.2.4 apresentam os espectros de ressonância nuclear magnética protônica do sulfato de gentamicina não complexado e do complexado com Re respectivamente.

III.2.3. Análise elementar

Determinou-se a porcentagem de C, H e N do sulfato de gentamicina complexado com Re, sendo que os valores experimentais obtidos e calculados para estes elementos foram:

C 16,74%

H 3,75%

N 7,16%

Os valores teóricos para este composto são:

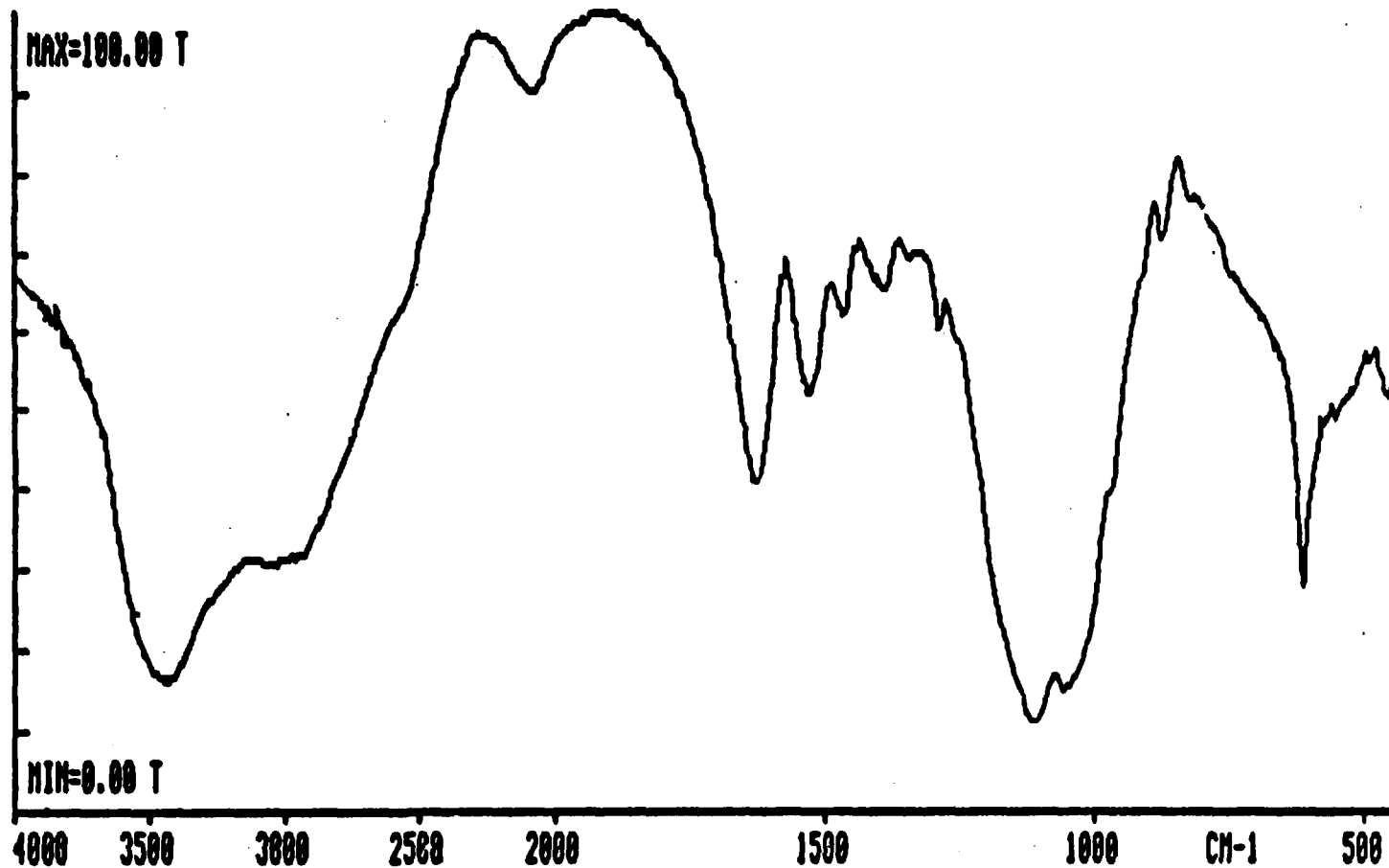


Figura III.2.1. - Espectro de Absorção no Infravermelho do Sulfato de Gentamicina.

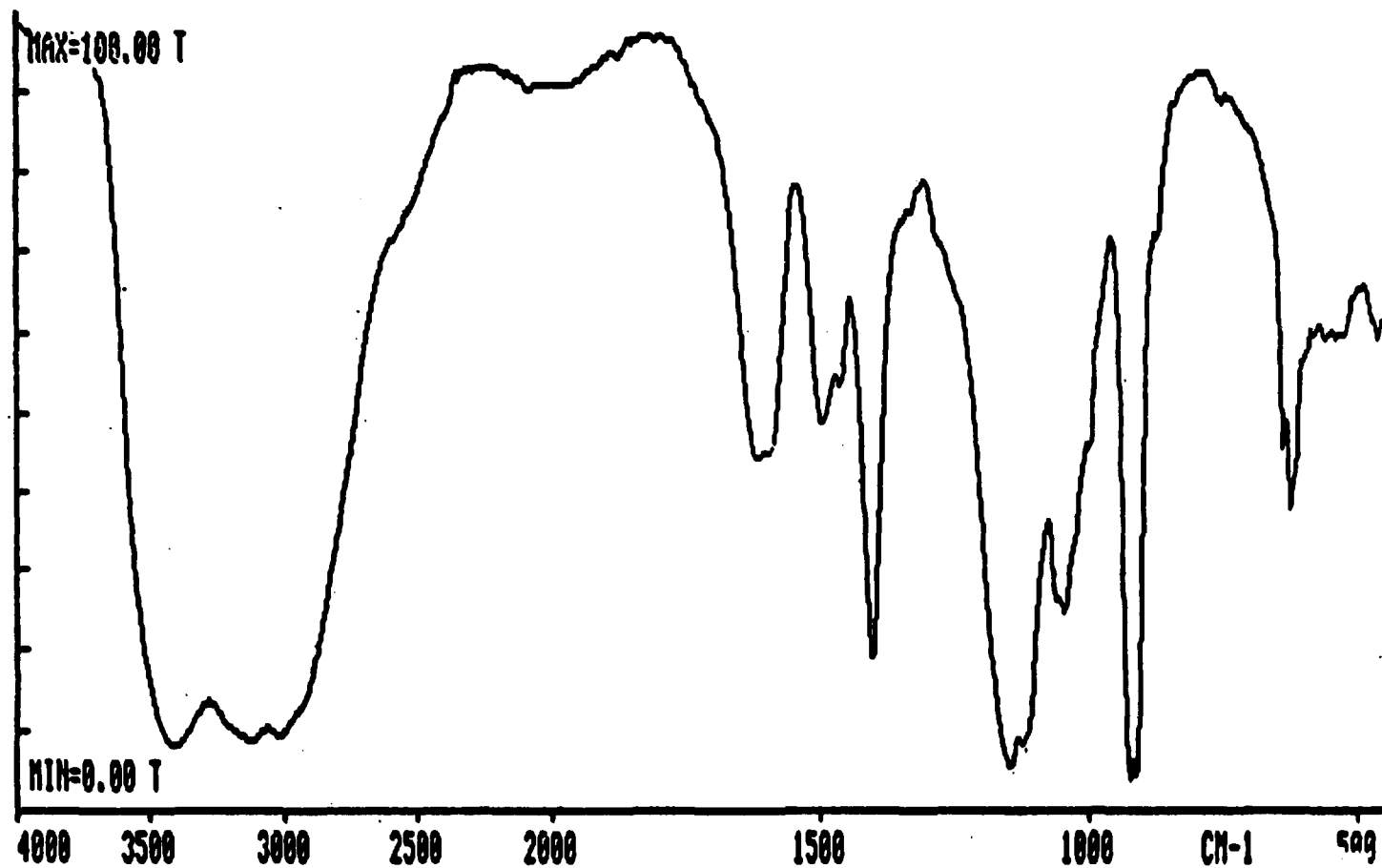


Figura III.2.2. - Espectro de Absorção no Infravermelho do Sulfato de Gentamicina Complexado com Re.

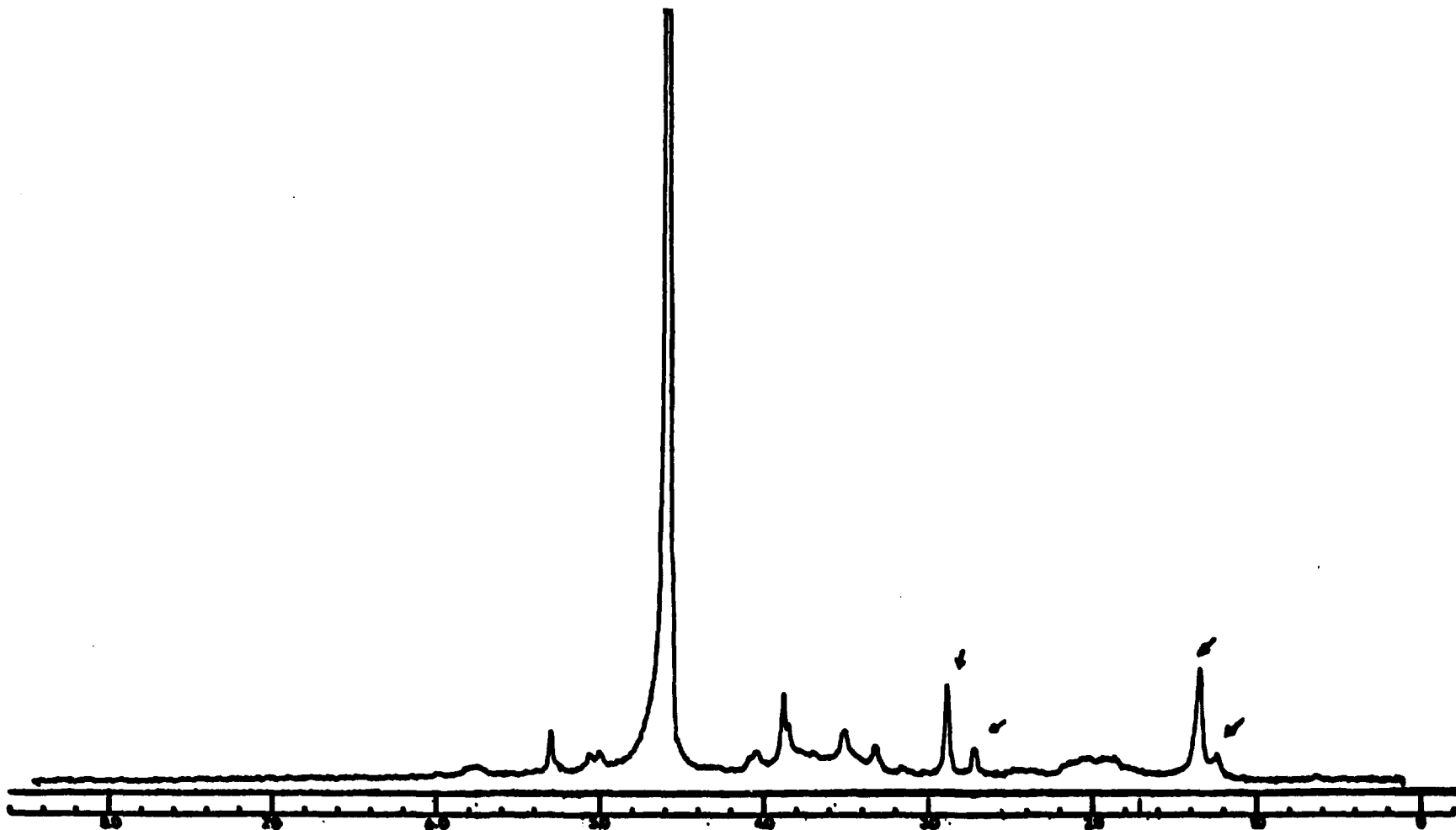


Figura III.2.3. - Espectro de Ressonância Nuclear Magnética Protônica do Sulfato de Genticina.

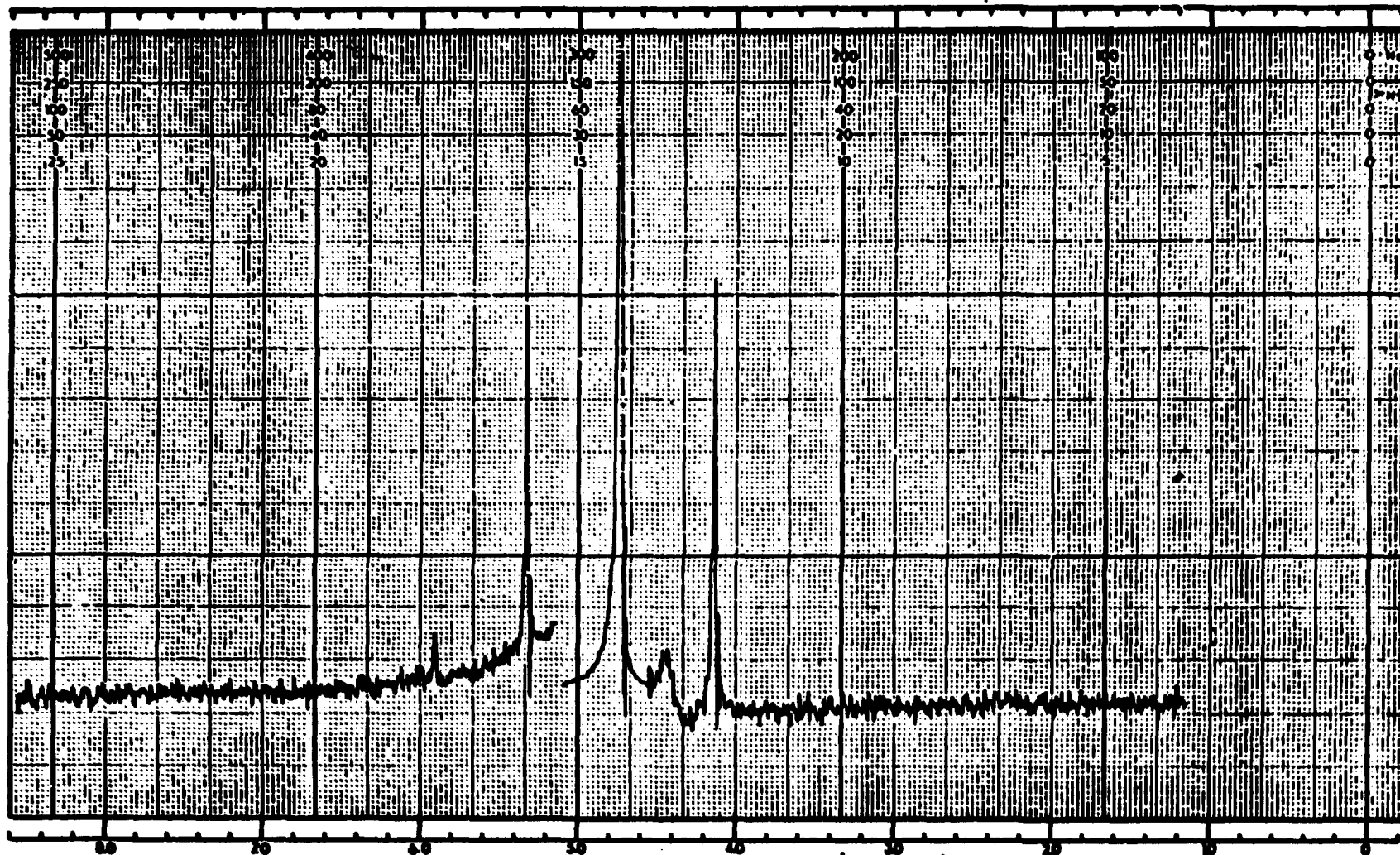


Figura III.2.4. - Espectro de Ressonância Nuclear Magnética Protônica do Sulfato de Gentamicina Complexado com Re.

C 15,64%

H 3,71%

N 8,21%

III.3. Estudos Biológicos

III.3.1. Distribuição biológica do sulfato de gentamicina marcado com ^{99m}Tc após administração por via endovenosa

A captação de sulfato de gentamicina ^{99m}Tc por grama de órgãos e tecido é apresentada na tabela III.3.5.

III.3.2. Níveis sanguíneos e plasmáticos do sulfato de gentamicina marcado com ^{99m}Tc após injeção endovenosa

Nas tabelas III.3.16 e III.3.17 são apresentadas as porcentagens de radioatividade no sangue e plasma por mililitro, em ratos Wistar respectivamente, em relação a um padrão.

Para o cálculo da porcentagem de radioatividade no sangue e no plasma total foi necessário a determinação da volemia e do volume plasmático de cada animal respectivamente.

III.3.3. Níveis plasmáticos de sulfato de gentamicina ^{99m}Tc após uma administração endovenosa

Os dados experimentais do plasma expressos em porcentagem de dose por mililitro, que foram ajustados numericamente pelo programa SAS⁽⁵²⁾, correspondem a uma expressão

Tabela III.3.5. - Porcentagem de Radioatividade por g de Órgãos e Tecidos de Ratos Wistar: Via Endovenosa-Sulfato de Gentamicina

^{99m}Tc: Volume Injetado: 0,075 ml, Atividade Específica: 216-316 µCi/ml

Tempo (min)	BAÇO		CORACÃO		RINS		ESTÔMAGO		PULMÃO		INTESTINO GROSSO		INTESTINO DELGADO		MÚSCULO		CABEÇA		FÍGADO	
	\bar{x}	δ	\bar{x}	δ	\bar{x}	δ	\bar{x}	δ	\bar{x}	δ	\bar{x}	δ	\bar{x}	δ	\bar{x}	δ	\bar{x}	δ	\bar{x}	δ
05	0,31	0,01	0,27	0,03	0,48	0,02	0,33	0,03	0,50	0,01	0,35	0,02	0,37	0,03	0,12	0,01	0,26	0,04	0,44	0,02
10	0,24	0,03	0,22	0,01	0,36	0,02	0,42	0,02	0,44	0,01	0,46	0,04	0,44	0,03	0,21	0,01	0,40	0,02	0,44	0,04
15	0,35	0,01	0,37	0,02	2,54	0,27	0,32	0,02	0,50	0,03	0,28	0,02	0,42	0,01	0,12	0,02	0,30	0,01	0,66	0,04
20	0,36	0,03	0,28	0,01	1,75	0,13	0,33	0,02	0,46	0,02	0,11	0,01	0,30	0,01	0,04	0,00	0,10	0,01	0,55	0,04
30	0,24	0,03	0,29	0,02	2,03	0,61	0,62	0,62	0,43	0,03	0,23	0,01	0,56	0,03	0,12	0,02	0,24	0,01	0,48	0,02
45	0,23	0,01	0,23	0,03	2,50	0,34	0,61	0,03	0,38	0,02	0,29	0,01	0,40	0,03	0,11	0,01	0,37	0,02	0,55	0,04
60	0,26	0,03	0,24	0,03	4,00	0,41	1,05	0,16	0,45	0,02	0,36	0,02	0,35	0,01	0,19	0,02	0,40	0,03	1,02	0,06
90	0,36	0,04	0,26	0,02	4,55	0,22	1,09	0,01	0,38	0,08	0,42	0,04	0,42	0,01	0,09	0,00	0,26	0,04	0,89	0,05
120	0,23	0,02	0,16	0,02	4,95	0,80	1,30	0,02	0,34	0,03	0,28	0,01	0,67	0,02	0,09	0,01	0,19	0,02	0,68	0,01
180	0,36	0,04	0,18	0,02	6,96	0,48	0,38	0,02	0,43	0,02	0,31	0,02	0,43	0,03	0,11	0,02	0,25	0,04	0,74	0,04
240	0,47	0,02	0,17	0,02	6,53	0,62	0,35	0,05	0,44	0,03	0,34	0,01	0,42	0,03	0,06	0,01	0,14	0,03	0,67	0,04
360	0,55	0,03	0,23	0,02	4,66	0,52	0,29	0,03	0,36	0,04	0,34	0,03	0,62	0,02	0,08	0,02	0,14	0,03	0,77	0,02
980	0,13	0,03	0,04	0,00	2,34	0,16	0,24	0,04	0,10	0,01	0,06	0,01	0,09	0,01	0,02	0,01	0,10	0,01	0,39	0,01
1440	0,05	0,01	0,02	0,01	1,65	0,14	0,24	0,01	0,04	0,01	0,03	0,00	0,04	0,01	0,04	0,01	0,04	0,01	0,19	0,02

Tabela III.3.6. - BAÇO - Porcentagem de Dose/Grama

Tempo (min)	Média	Desvio Padrão	Valor Máximo	Valor Mínimo	Variância
5	0,31	0,01	0,32	0,30	1,53E-04
10	0,24	0,03	0,28	0,21	8,67E-04
15	0,35	0,01	0,35	0,34	3,33E-05
20	0,36	0,03	0,40	0,34	7,20E-04
30	0,24	0,03	0,29	0,22	1,10E-03
45	0,23	0,01	0,24	0,23	3,53E-05
60	0,26	0,03	0,29	0,22	1,16E-03
90	0,36	0,04	0,39	0,30	1,63E-03
120	0,23	0,02	0,26	0,22	3,67E-04
180	0,36	0,04	0,39	0,32	1,23E-03
240	0,47	0,02	0,48	0,45	2,33E-04
360	0,55	0,03	0,58	0,53	7,00E-04
980	0,13	0,03	0,17	0,10	8,92E-04
1440	0,05	0,01	0,05	0,04	3,33E-05

Tabela III.3.7. - CORAÇÃO - Porcentagem de Dose/Grama

Tempo (min)	Média	Desvio Padrão	Valor Máximo	Valor Mínimo	Variância
5	0,27	0,03	0,30	0,25	6,33E-04
10	0,22	0,01	0,24	0,21	2,00E-04
15	0,37	0,02	0,39	0,36	3,00E-04
20	0,28	0,01	0,28	0,27	3,33E-05
30	0,29	0,02	0,31	0,27	4,33E-04
45	0,23	0,03	0,26	0,20	7,58E-04
60	0,24	0,03	0,27	0,20	1,10E-03
90	0,26	0,02	0,29	0,25	3,67E-04
120	0,16	0,02	0,18	0,14	3,67E-04
180	0,18	0,02	0,19	0,15	5,33E-04
240	0,17	0,02	0,19	0,14	4,92E-04
360	0,23	0,02	0,26	0,21	4,92E-04
980	0,04	0,00	0,04	0,04	8,67E-19
1440	0,02	0,01	0,02	0,01	3,33E-05

Tabela III.5.8. - RIM - Porcentagem de Dose/Grama

Tempo (min)	Média	Desvio Padrão	Valor Máximo	Valor Mínimo	Variância
5	0,48	0,02	0,49	0,45	5,55E-04
10	0,36	0,02	0,38	0,34	4,33E-04
15	2,54	0,27	2,73	2,23	7,45E-02
20	1,75	0,13	1,88	1,62	1,69E-02
30	2,03	0,61	2,53	1,35	3,71E-01
45	2,50	0,34	2,87	2,20	1,16E-01
60	4,00	0,41	4,48	3,75	1,71E-01
90	4,55	0,22	4,79	4,36	4,81E-02
120	4,95	0,80	5,83	4,26	6,43E-01
180	6,96	0,48	7,44	6,49	2,26E-01
240	6,53	0,62	6,97	6,09	3,87E-01
360	4,66	0,52	5,03	4,29	2,74E-01
980	2,34	0,16	2,46	2,23	2,65E-02
1440	1,65	0,14	1,75	1,55	2,00E-02

Tabela III.3.9. - ESTÔMAGO - Porcentagem de Dose/Grama

Tempo (min)	Média	Desvio Padrão	Valor Máximo	Valor Mínimo	Variância
5	0,33	0,03	0,36	0,31	7,00E-04
10	0,42	0,02	0,44	0,40	4,00E-04
15	0,32	0,02	0,35	0,31	5,33E-04
20	0,33	0,02	0,35	0,32	3,00E-04
30	0,62	0,05	0,66	0,56	2,63E-03
45	0,61	0,03	0,63	0,58	6,33E-04
60	1,05	0,16	1,23	0,96	2,43E-02
90	1,09	0,01	1,10	1,09	3,33E-05
120	1,30	0,02	1,32	1,28	4,00E-04
180	0,38	0,02	0,40	0,37	2,33E-04
240	0,35	0,05	0,40	0,31	2,03E-03
360	0,29	0,03	0,31	0,25	1,03E-03
980	0,24	0,04	0,28	0,20	1,63E-03
1440	0,24	0,01	0,24	0,23	3,33E-05

Tempo (min)	Média	Desvio Padrão	Valor Máximo	Valor Mínimo	Variancia
5	0,44	0,02	0,47	0,42	4,67E-04
10	0,44	0,04	0,47	0,40	1,23E-03
15	0,66	0,04	0,69	0,60	1,63E-03
20	0,55	0,04	0,59	0,49	1,80E-03
30	0,48	0,02	0,50	0,47	2,33E-04
45	0,55	0,04	0,58	0,51	1,23E-03
60	1,02	0,06	1,09	0,98	3,43E-03
90	0,89	0,05	0,93	0,84	2,10E-03
120	0,68	0,01	0,69	0,67	1,33E-04
180	0,74	0,04	0,77	0,68	1,83E-03
240	0,67	0,04	0,72	0,64	1,90E-03
360	0,77	0,02	0,79	0,75	4,00E-04
980	0,39	0,01	0,40	0,38	1,33E-04
1440	0,19	0,02	0,21	0,18	2,33E-04

Tabela III.3.11. - PULMÃO - Porcentagem de Dose/Grama

Tempo (min)	Média	Desvio Padrão	Valor Máximo	Valor Mínimo	Variancia
5	0,50	0,01	0,50	0,49	3,33E-05
10	0,44	0,01	0,44	0,43	3,33E-05
15	0,50	0,03	0,53	0,48	6,33E-04
20	0,46	0,02	0,47	0,44	2,33E-04
30	0,43	0,03	0,46	0,41	6,33E-04
45	0,38	0,02	0,40	0,37	3,00E-04
60	0,45	0,02	0,47	0,43	4,33E-04
90	0,38	0,08	0,47	0,33	6,10E-03
120	0,34	0,03	0,36	0,31	8,33E-04
180	0,43	0,02	0,45	0,42	2,33E-04
240	0,44	0,03	0,47	0,41	9,33E-04
360	0,36	0,04	0,39	0,32	1,30E-03
980	0,10	0,01	0,11	0,09	1,33E-04
1440	0,04	0,01	0,05	0,03	1,00E-04

Tabela III.3.12. - INTESTINO GROSSO - Porcentagem de Dose/Grama

Tempo (min)	Média	Desvio Padrão	Valor Máximo	Valor Mínimo	Variância
5	0,35	0,02	0,37	0,34	2,35E-04
10	0,46	0,04	0,50	0,43	1,43E-03
15	0,28	0,02	0,30	0,27	2,33E-04
20	0,11	0,01	0,11	0,10	3,33E-05
30	0,23	0,01	0,24	0,22	1,00E-04
45	0,29	0,01	0,29	0,28	3,33E-05
60	0,36	0,02	0,37	0,34	2,33E-04
90	0,42	0,04	0,46	0,38	1,65E-03
120	0,28	0,01	0,29	0,27	1,00E-04
180	0,31	0,02	0,33	0,30	2,33E-04
240	0,34	0,01	0,35	0,33	1,00E-04
360	0,34	0,03	0,38	0,32	1,20E-03
980	0,06	0,01	0,06	0,05	3,33E-05
1440	0,03	0,00	0,03	0,03	1,90E-19

Tabela III.3.13. - INTESTINO DELGADO - Porcentagem de Dose/Grama

Tempo (min)	Média	Desvio Padrão	Valor Máximo	Valor Mínimo	Variância
5	0,37	0,03	0,40	0,34	9,00E-04
10	0,44	0,03	0,47	0,41	9,33E-04
15	0,42	0,01	0,42	0,41	3,33E-05
20	0,30	0,01	0,31	0,30	3,33E-05
30	0,56	0,03	0,59	0,53	9,00E-04
45	0,40	0,03	0,43	0,37	9,33E-04
60	0,35	0,01	0,36	0,34	1,00E-04
90	0,42	0,01	0,42	0,41	3,33E-05
120	0,67	0,02	0,68	0,65	2,33E-04
180	0,43	0,03	0,46	0,41	8,33E-04
240	0,42	0,03	0,46	0,40	1,03E-03
360	0,62	0,02	0,63	0,60	2,33E-04
980	0,09	0,01	0,10	0,08	1,33E-04
1440	0,04	0,01	0,04	0,03	3,33E-05

Tabela III.5.14. - MÚSCULO - Porcentagem de Dose/Volume

Tempo (min)	Média	Desvio Padrão	Valor Máximo	Valor Mínimo	Variância
5	0,12	0,01	0,13	0,11	1,00E-04
10	0,21	0,01	0,21	0,20	3,33E-05
15	0,12	0,02	0,13	0,10	2,33E-04
20	0,04	0,00	0,04	0,04	8,67E-19
30	0,12	0,02	0,14	0,11	2,33E-04
45	0,11	0,01	0,12	0,10	1,00E-04
60	0,19	0,02	0,21	0,18	3,00E-04
90	0,09	0,00	0,09	0,09	0,00E-00
120	0,09	0,01	0,10	0,08	1,00E-04
180	0,11	0,02	0,12	0,09	2,33E-04
240	0,06	0,01	0,07	0,05	1,00E-04
360	0,08	0,02	0,10	0,07	2,33E-04
980	0,02	0,01	0,02	0,01	3,33E-05
1440	0,04	0,01	0,05	0,03	1,00E-04

Tabela III.3.15. - CABEÇA - Porcentagem de Dose/Grama

Tempo (min)	Média	Desvio Padrão	Valor Máximo	Valor Mínimo	Variância
5	0,26	0,04	0,30	0,22	1,63E-03
10	0,40	0,02	0,41	0,38	2,33E-04
15	0,30	0,01	0,30	0,29	3,33E-05
20	0,10	0,01	0,11	0,08	2,00E-04
30	0,24	0,01	0,24	0,23	3,33E-05
45	0,37	0,02	0,38	0,35	2,33E-04
60	0,40	0,03	0,43	0,36	1,16E-03
90	0,26	0,04	0,29	0,21	1,56E-03
120	0,19	0,02	0,21	0,18	2,33E-04
180	0,25	0,04	0,30	0,22	1,73E-03
240	0,14	0,03	0,19	0,11	1,10E-03
360	0,14	0,03	0,17	0,11	7,58E-04
980	0,10	0,01	0,10	0,09	3,33E-05
1440	0,04	0,01	0,05	0,02	2,00E-04

por ml Obtida Experimentalmente de Ratos
Wistar: Injeção Endovenosa de Sulfato de
Gentamicina ^{99m}Tc

Tempo (Minuto)	% Radioatividade ml
03	6,67 \pm 0,60
10	2,16 \pm 0,21
15	1,79 \pm 0,16
20	1,33 \pm 0,08
30	0,66 \pm 0,07
45	0,53 \pm 0,08
60	0,66 \pm 0,03
90	0,51 \pm 0,05
120	0,52 \pm 0,05
180	0,46 \pm 0,03
240	0,35 \pm 0,04
360	0,26 \pm 0,02
980	0,06 \pm 5×10^{-3}
1440	0,02 \pm 5×10^{-3}

por ml Obtida Experimentalmente de Ratos
Wistar: Injeção Endovenosa de Sulfato de
Gentamicina ^{99m}Tc

Tempo (Minuto)	% Radioatividade ml
03	9,55 \pm 0,90
10	3,63 \pm 0,33
15	1,40 \pm 0,20
20	0,98 \pm 0,13
30	0,82 \pm 0,05
45	0,73 \pm 0,04
60	0,63 \pm 0,06
90	0,61 \pm 0,06
120	0,56 \pm 0,04
180	0,46 \pm 0,05
240	0,42 \pm 0,09
360	0,30 \pm 0,07
980	0,07 \pm 5×10^{-3}
1440	0,02 \pm 7×10^{-3}

$$\text{Volemia (ml)} = \text{Peso do Rato} \times 0,0528^{(4)}$$

Tempo (Minuto)	Volemia (ml)	
	\bar{x}	δ (média de 6 ratos)
03	14,50	+ 0,50
05	14,50	+ 0,60
10	14,47	+ 0,74
15	14,27	+ 0,81
20	15,00	+ 0,77
30	15,03	+ 0,88
45	14,71	+ 0,60
60	13,59	+ 0,27
90	14,37	+ 0,24
120	14,34	+ 0,18
180	14,22	+ 0,54
240	14,29	+ 0,80
360	14,34	+ 0,85
980	13,74	+ 0,22
1440	14,80	+ 0,67

Tabela III.5.19. - volume plasmático

$$\text{Volume Plasmático(ml)} = \frac{\text{Volemia} \times (100 - H_T)^{(65)}}{100}$$

Tempo (Minuto)	Volume Plasmático (ml)	
	\bar{x}	δ (média de 6 ratos)
03	6,80	+ 0,18
05	6,44	+ 0,60
10	6,73	+ 0,30
15	7,26	+ 0,59
20	7,93	+ 0,79
30	7,39	+ 0,36
45	7,06	+ 0,29
60	6,48	+ 0,16
90	6,36	+ 0,22
120	7,29	+ 0,69
180	6,80	+ 0,37
240	6,92	+ 0,63
360	7,46	+ 0,65
980	6,75	+ 0,26
1440	6,86	+ 0,32

Tabela III.3.20. - Porcentagem de Radioatividade nas Urinas e Fezes de Ratos Wistar, Obtida Experimentalmente, Após Injeção Endovenosa de Sulfato de Gentamicina ^{99m}Tc

Tempo (horas)	Urina Total		Cumulativo	Urina/ml		Fezes Totais		Cumulativo	Fezes/g	
	\bar{x}	δ		\bar{x}	δ	\bar{x}	δ		\bar{x}	δ
3,00	6,66	$\pm 2,20$	6,66	3,25	$\pm 1,40$	-	-	-	-	-
5,00	0,31	$\pm 0,14$	6,97	7,88	$\pm 5,44$	-	-	-	-	-
24,00	22,13	$\pm 6,78$	29,10	4,23	$\pm 2,74$	26,67	$\pm 4,33$	26,67	6,91	$\pm 1,35$
48,00	2,23	$\pm 0,99$	31,33	0,61	$\pm 0,20$	5,29	$\pm 1,92$	31,96	1,86	$\pm 0,90$

Tabela III.3.21. - Porcentagem de Radioatividade no Corpo Inteiro de Ratos Wistar Obtida Experimentalmente Após Injeção Endovenosa de Sulfato de Gentamicina ^{99m}Tc

Tempo (Horas)	% de Radioatividade	
	\bar{x}	δ
1,00	75,87	$\pm 5,16$
3,00	70,36	$\pm 1,27$
4,00	54,95	$\pm 0,93$
6,30	50,20	$\pm 2,27$
22,50	29,39	$\pm 2,35$
24,00	25,93	$\pm 1,63$

$$P(t) = A_1 e^{-b_1 t} + A_2 e^{-b_2 t} \quad (I)$$

Análise de Variância

Fonte de Variação	G.L.	Soma de Quadrados	Quadrado Médio
Modelo	4	107,8780	26,9695
Resíduo	10	0,2930	0,0293
Total (não corrigido)	14	108,1710	
Total (corrigido)	13	79,3705	

Estimativa dos Parâmetros

Parâmetro	Valor	Desvio Padrão	Intervalo de Confiança(95%)	
	Estimado		Lim.Inferior	Lim.Superior
A_1	14,7821	0,5044	13,6583	15,9059
A_2	0,6866	0,1109	0,4395	0,9337
b_1	0,1725	0,0095	0,1514	0,1936
b_2	0,0021	0,0011	- 0,0004	0,0046

Temos então a seguinte curva ajustada pelos pontos experimentais:

$$P(t) = 14,7821 e^{-0,1725 t} + 0,6866 e^{-0,0021 t} \quad (II)$$

No tempo $t=0$, a concentração inicial C_0 , apresenta os seguintes valores:

$$C_0 = A_1 + A_2 = 14,7821 + 0,6866 = 15,4687\%/ml$$

mática do sulfato de gentamicina ^{99m}Tc

A partir da expressão (II), podemos calcular o $T_{1/2}$ de cada exponencial da curva do plasma:

Temos então:

$$T_{1/2} = \frac{\ln 2}{b_1} = \frac{0,693}{0,1725} = 0,07 \text{ horas}$$

e

$$T_{1/2} = \frac{\ln 2}{b_2} = \frac{0,693}{0,01} = 5,5 \text{ horas}$$

III.5.5. Determinação do volume aparente de distribuição

De acordo com a definição, descrita em I.4.1, temos:

$$V_d = \frac{\text{Dose}}{C_0}$$

Portanto, substituindo pelos valores encontrados:

$$V_d = \frac{100}{15,4687} = 6,4647 \text{ ml}$$

$$V_d = 6,4647 \text{ ml}$$

III.5.6. Determinação da meia-vida biológica

Os dados experimentais do corpo inteiro expressos

em porcentagem de dose foram ajustados numericamente pelo método dos mínimos quadrados linear de Gauss - Markov disponível no SAS⁽⁵²⁾, com o seguinte modelo para o ajuste: $\ln A - bt$

Análise de Variância

Fonte de Variação	G.L.	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Valor F.	Prob>F
Modelo	1	0,5849	0,5849	48,580	0,200
Resíduo	2	0,0241	0,0120		
Total(corr.)	3	0,6090			

Quadrado do coeficiente de correlação $R^2 = 0,9605$

R^2 é definido como o quociente entre a soma dos quadrados do modelo e a do resíduo.

Estimativa dos Parâmetros

Parâmetro	Valor Estimado	Desvio Padrão	t para H_0 , parâmetro = 0	Prob > t
$\ln A$	4,2560	0,0773	55,075	0,0003
b	0,0007	0,0001	- 6,970	0,0200

Na estimativa dos parâmetros foi aplicado o teste t (Student); temos então que t para H_0 , parâmetro = 0, significa o valor de t para o teste da hipótese nulidade do parâmetro. Os valores apresentados na coluna Prob > |t|, signifi

... ..
dade que os parâmetros sejam diferentes de zero e portanto
são significativos para o modelo escolhido.

$$\text{Temos então: } T_{1/2} = \frac{0,693}{b}$$

$$T_{1/2} = \frac{0,693}{0,007} = 990 \text{ min} = 16,5 \text{ h}$$

III.3.7. Determinação da depuração total

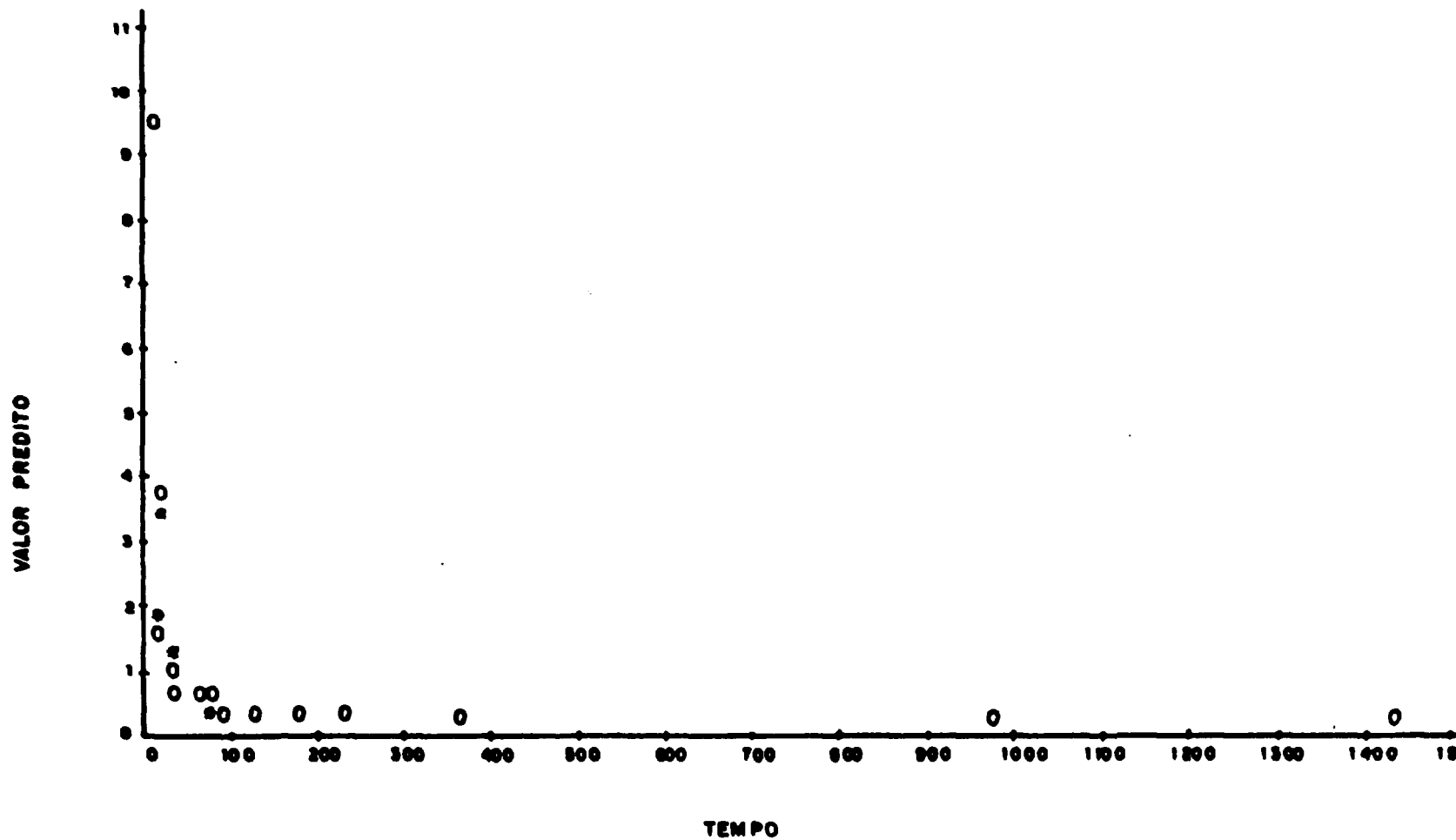
A depuração total é expressa considerando-se como sendo o produto da constante de depuração total (b), pelo volume de distribuição aparente Vd.

Dessa foram temos:

$$D^t = b \times Vd$$

$$D^t = 0,0007 \times 6,4647$$

$$D^t = 0,0045 \text{ ml/min.}$$



NOTA: 10 OBS COINCIDENTES

Figura III.3.5. - Medidas de radioatividade por mililitro de plasma - Análise Estatística
 Valores previstos x Tempo (o → valores simulados; * → valores observados).

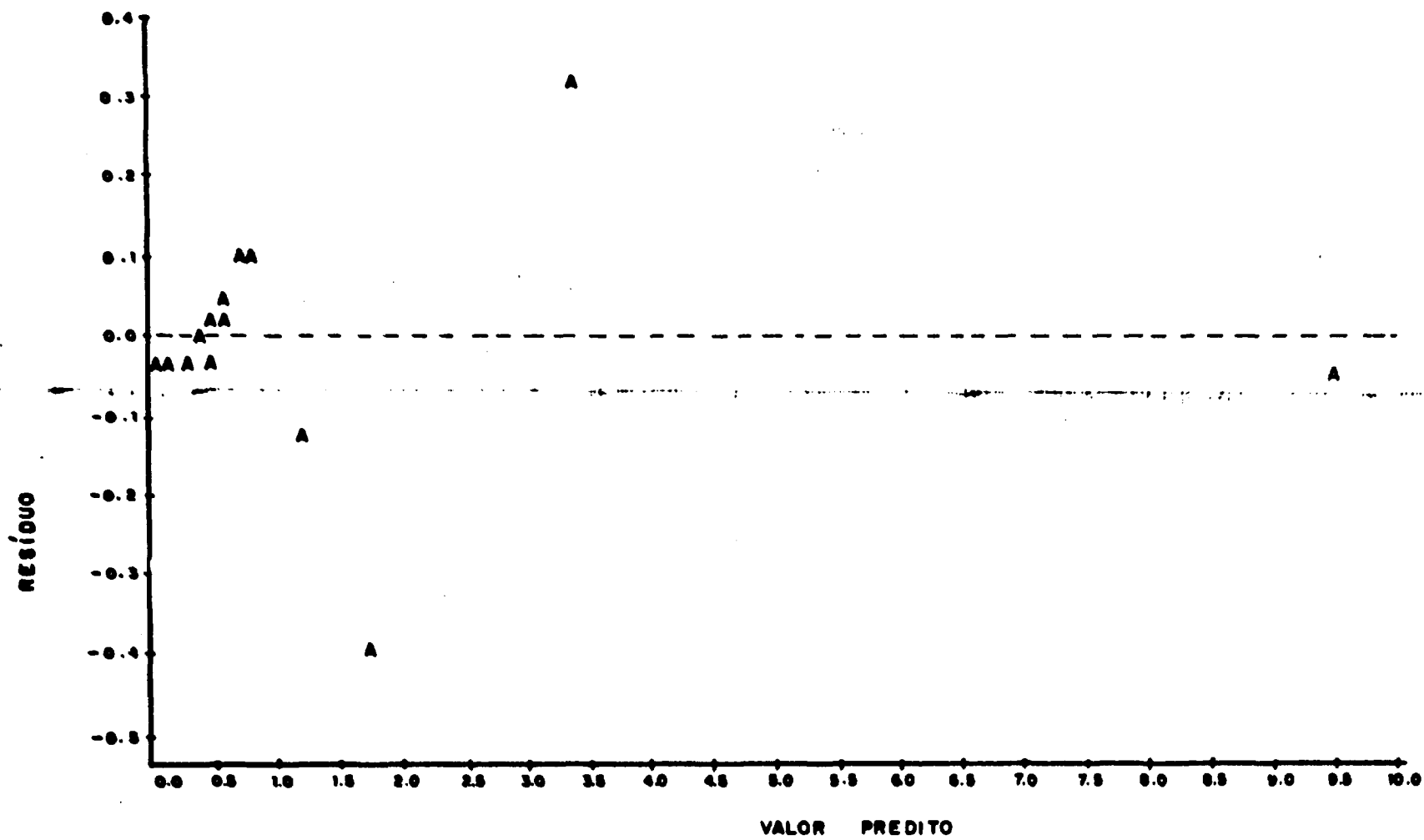


Figura III.3.6 - Medidas de radioatividade por mililitro de plasma - Análise Estatística
Resíduos x Valores preditos

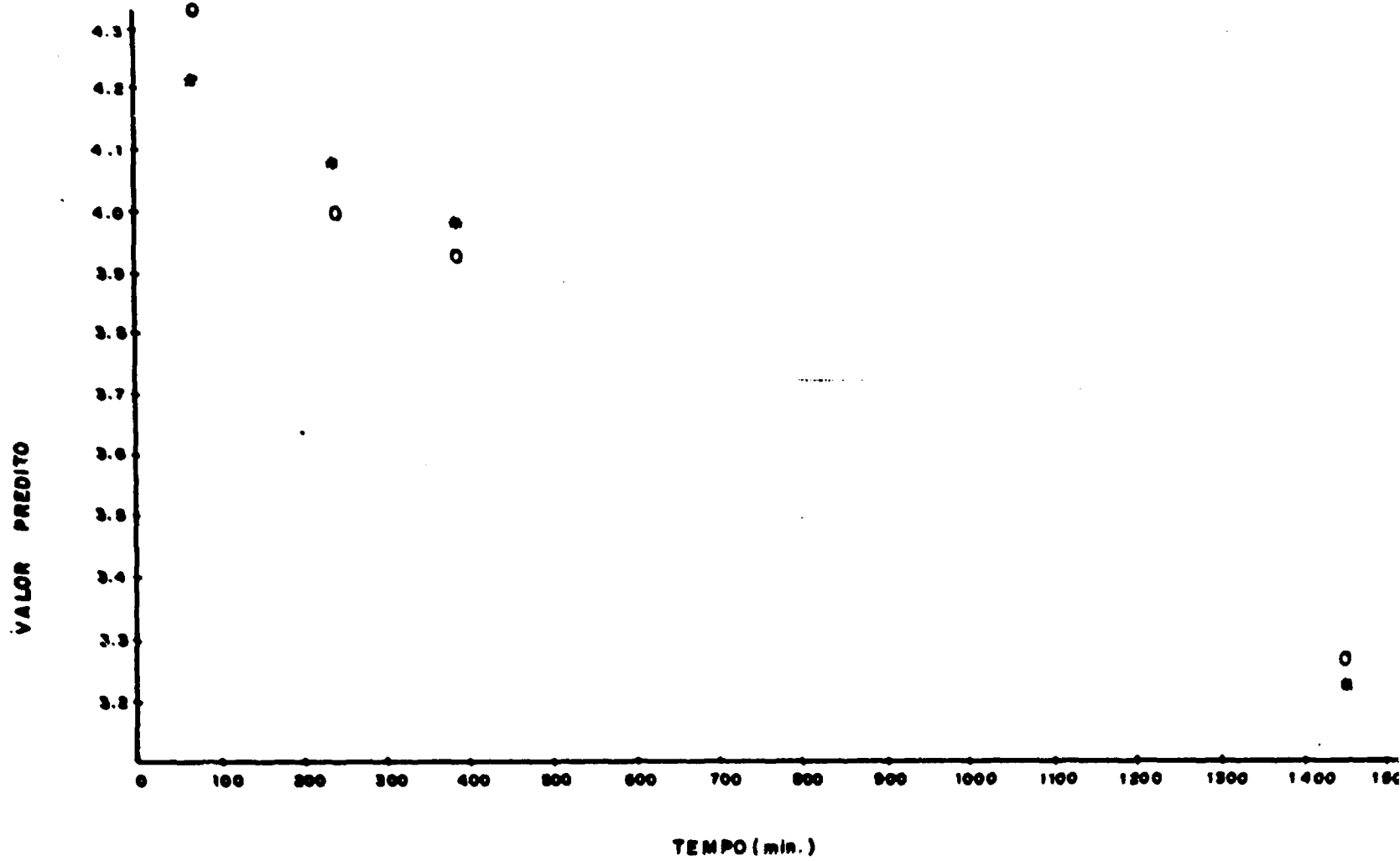


Figura III.3.7. - Medidas de radioatividade de corpo inteiro (% de dose) - Análise Estatística
 Valores preditos x Tempo

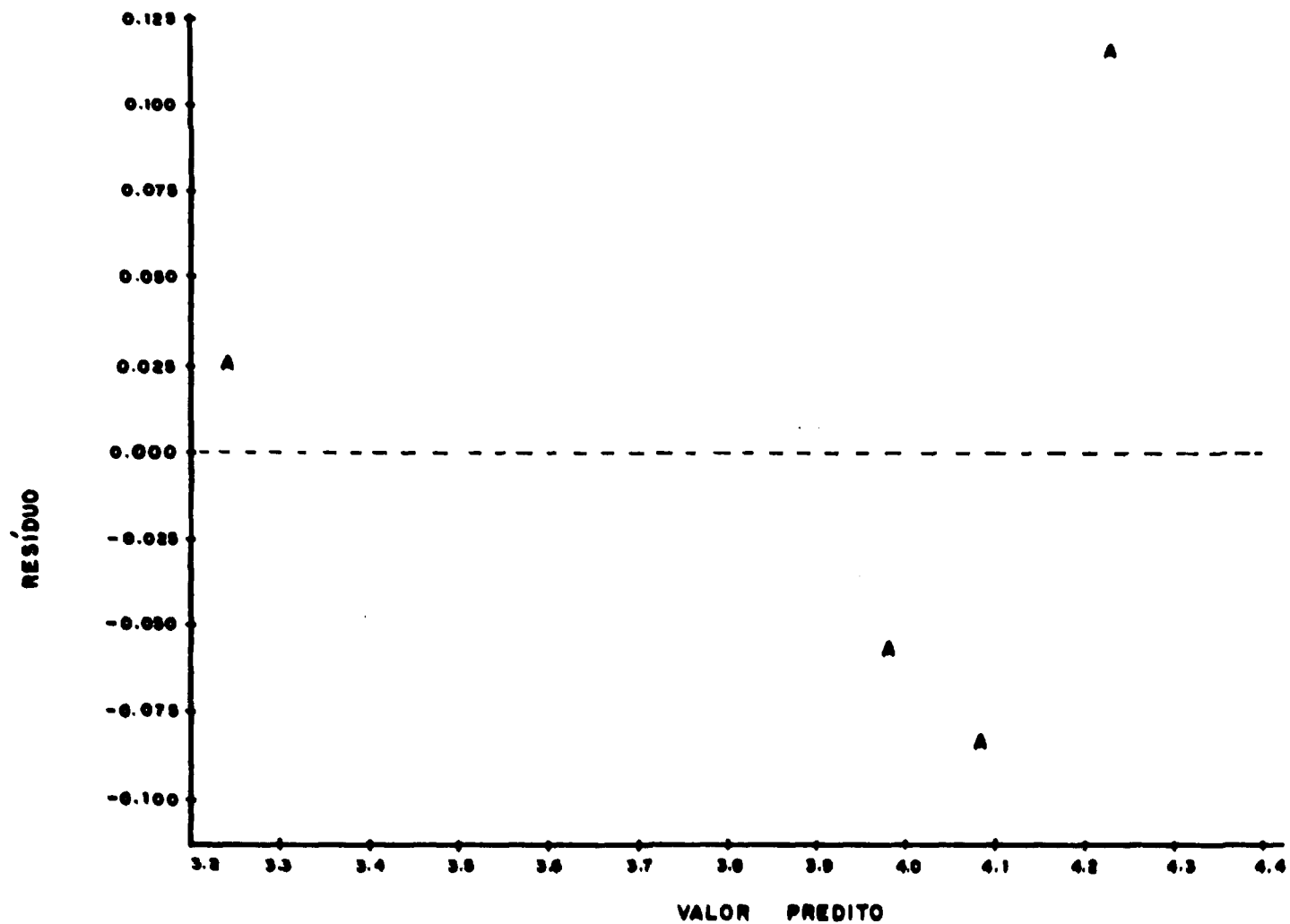


Figura III.3.8. - Medidas de radioatividade no corpo inteiro - Análise Estatística
Resíduos x Valores preditos

III.4. MODELO COMPARTIMENTAL DE DOIS COMPARTIMENTOS

Após uma Injeção Endovenosa em Ratos Wistar

III.4.1. Modelo bi-compartimental

Os dados da concentração plasmática em função do tempo ajustaram-se a uma soma de duas exponenciais. Temos portanto, um modelo aberto de dois compartimentos⁽³⁰⁾ esquematizados na figura III.4.9.

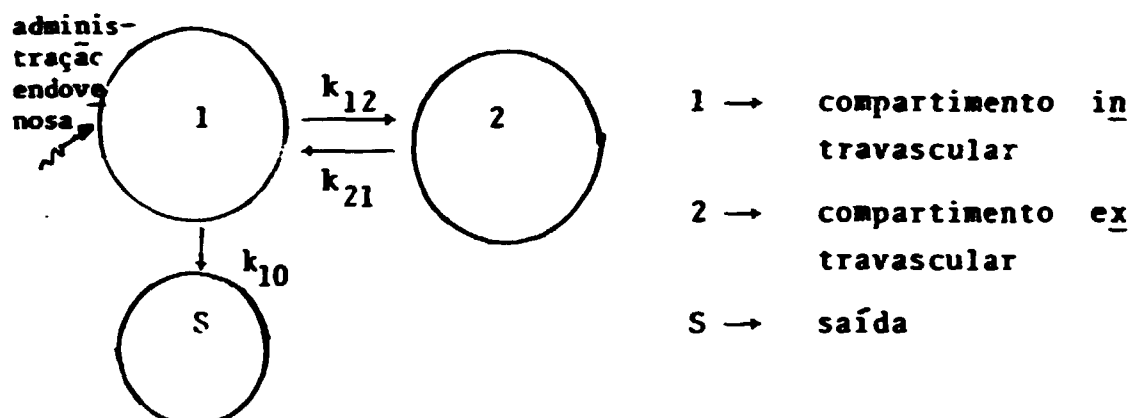


Figura III.4.9. - Esquema de Modelo Aberto de Dois Compartimentos.

A determinação das constantes de transferência k_{12} , k_{21} e da constante de eliminação k_{10} , foi realizada empregando-se o código SAAM25⁽⁹⁾.

Temos então:

$$k_{12} = 0,1225 \pm 0,0068 \quad (\text{min}^{-1})$$

$$k_{21} = 0,0113 \pm 0,0007 \quad (\text{min}^{-1})$$

$$k_{10} = 0,0382 \pm 0,0010 \quad (\text{min}^{-1})$$

Na tabela III.4.22 é apresentada a simulação de um

modelo bi-compartimental durante 1440 minutos, com registro de valores a cada 10 minutos.

Na figura III.4.10 temos o gráfico onde estão registradas as seguintes curvas:

$P_1(t)$ versus t - curva atividade plasmática versus tempo

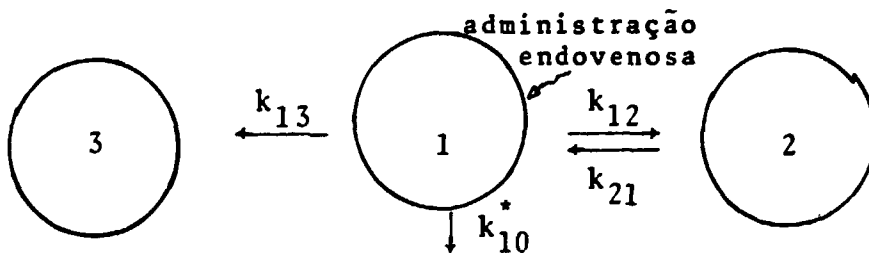
$P_2(t)$ versus t - curva atividade extravascular versus tempo

$S(t)$ versus t - curva de excreção versus tempo

$CI(t)$ versus t - curva de corpo inteiro versus tempo

III.4.2. Modelo bi-compartimental com um compartimento de retenção

O modelo com dois compartimentos intravascular e extravascular (1 e 2) e um compartimento de retenção 3 está esquematizado na figura III.4.11.



1: compartimento intravascular

2: compartimento extravascular

3: compartimento de retenção

k_{13} : constante de transferência da droga para um compartimento de retenção (durante a observação do experimento)

k_{10}^* : constante de eliminação para o exterior

Figura III.4.11.- Modelo de 2 Compartimentos e Um de Retenção

sentada na figura III.4.9 do compartimento intravascular foi sub-dividida em duas componentes:

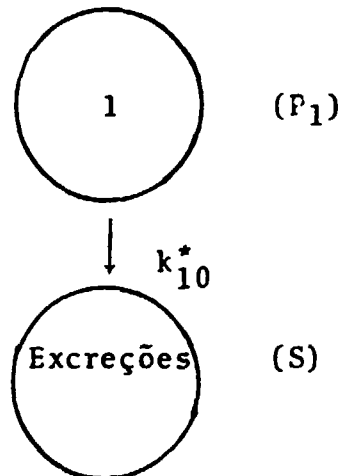
$$k_{10} = k_{10}^* + k_{13}$$

Para calcular a constante k_{10}^* foram utilizados os dados experimentais do plasma e os das excreções totais.

Os dados referentes às excreções totais foram calculados a partir dos dados do corpo inteiro, ou sejam:

$$\text{Excreção total} = 100 - \text{corpo inteiro}$$

Supondo-se o compartimento 1, como precursor direto das excreções, tem-se o seguinte modelo:



ou seja:

$$\frac{dS}{dt} = k_{10}^* P_1(t) \quad \text{com} \quad S(t=0) = 0 \quad (I)$$

Integrando-se a equação anterior (I) dos instantes $t=0$ ao instante $t = t_1$, tem-se:

$$S(t_1) = k_{10}^* \int_0^{t_1} P_1(t) dt \quad (II)$$

sabe-se que: $P_1(t) = A_1 e^{-b_1 t} + A_2 e^{-b_2 t}$

segue-se que:

$$\int_0^{t_1} P_1(t) dt = \frac{A_1 e^{-b_1 t_1}}{b_1} + \frac{A_2 e^{-b_2 t_1}}{b_2} \quad (III)$$

substituindo-se em (II), tem-se:

$$k_{10}^* (t=t_1) = \frac{S(t_1)}{\frac{A_1(1-e^{-b_1 t_1})}{b_1} + \frac{A_2(1-e^{-b_2 t_1})}{b_2}}$$

Substituindo-se para os valores numéricos conhecidos, obtem-se um $\bar{k}_{10}^* = 0,0307 \pm 0,0026 \text{ (min}^{-1}\text{)}$.

Utilizando-se o "Continuous System Modeling Program"⁽⁶¹⁾, foram feitas diversas simulações e verificou-se, comparando-as com a curva de corpo inteiro e de excreções, que o melhor valor para o k_{10}^* seria igual a $0,0285 \text{ min}^{-1}$, valor este que se encontra dentro do intervalo do desvio padrão registrado.

Chegando-se portanto aos novos coeficientes de transferência temos:

$$k_{12} = 0,1225 \text{ (min}^{-1}\text{)}$$

$$k_{21} = 0,0113 \text{ (min}^{-1}\text{)}$$

$$k_{10} = 0,0285 \text{ (min}^{-1}\text{)}$$

$$k_{13} = (0,0382 - 0,0285) = 0,0097 \text{ (min}^{-1}\text{)}$$

Na tabela III.4.23 é apresentada a simulação do modelo compartimental com um compartimento de retenção durante 1440 minutos, com dados registrados a cada 10 minutos.

Na figura III.4.12 apresentamos um gráfico onde estão construídas as seguintes curvas:

$P_1(t)$ versus t : curva atividade plasmática versus tempo

$P_2(t)$ versus t : curva atividade extravascular versus tempo

$S(t)$ versus t : curva excreção versus tempo

$CI(t)$ versus t : curva corpo inteiro versus tempo

$P_3(t)$ versus t : curva compartimento retenção versus tempo.

TEMPO (MIN)	ATIVIDADE PLASMA (O) (% DOSE)	CORPO INTERIO (C) (% DOSE)	SICREÇÃO (O) (% DOSE)	ATIVIDADE PLASMA (IS) (% DOSE)	ATIVIDADE RIVAS (IS) (% DOSE)	CORPO INTERIO (IS) (% DOSE)	SICREÇÃO (IS) (% DOSE)
0				100,0000	0,0000	100,0000	0,0000
5	64,01			22,5190	50,0660	80,9850	19,0150
10	27,10						
15	10,60			0,10130	67,2720	75,4500	24,5060
20	0,40			5,4060	67,5000	72,9860	27,0140
30	0,60			0,00010	66,2010	71,0450	20,0550
45	5,05						
50				0,63710	60,6020	69,2390	30,7610
60	0,40		20,13	0,50450	62,9890	67,4900	32,5060
70		75,07		0,30030	61,4070	65,7950	34,2040
80				0,27740	59,0630	64,1400	35,0590
90	0,10			0,16970	50,3570	62,5270	37,0720
100				0,06480	56,0900	60,9540	39,0450
110				3,96250	55,0590	59,4210	40,5700
120				3,06290	54,0640	57,9270	42,0730
130				3,76570	52,7040	56,4700	43,5300
140				3,67100	51,3780	55,0490	40,0500
150				3,57070	50,0860	53,6650	46,3350
160				3,00260	48,0260	52,3150	47,6040
170				3,00090	47,5900	50,9990	49,0000
180	2,90			3,31540	46,4010	49,7160	50,2030
190				3,23200	45,2340	48,4660	51,5330
200				3,15070	40,0960	47,2470	52,9520
210				3,07140	42,9070	46,0580	53,9410
220				2,99020	41,9060	40,9000	55,0990
230				2,91090	40,0520	43,7710	56,2290
240		50,95	05,05	2,84540	39,0200	42,6700	57,3290
250				2,77390	38,0230	41,5660	58,4030
260				2,70410	37,0460	40,5500	59,0090
270				2,63610	36,0900	39,5300	60,4690
280				2,56980	35,0660	38,5360	61,0630
290				2,50520	35,0620	37,5670	62,0320
300				2,44210	34,1000	36,6220	63,3770
310				2,38070	33,3200	35,7010	64,2980
320				2,32080	32,0020	34,8030	65,1960
330				2,26250	31,6650	33,5270	66,0710
340				2,20560	30,0400	33,0740	66,9250
350				2,15010	30,0920	32,2420	67,7570
360	2,17			2,09600	29,3350	31,0310	68,5600
370				2,04330	28,5970	30,6410	69,3580
380		50,20	09,00	1,99190	27,0700	29,4700	70,0800
390				1,94180	27,1770	29,1190	70,8000
400				1,89290	26,0930	28,3060	71,6120
410				1,84530	25,0270	27,6720	72,3260
420				1,79890	25,1770	26,9760	73,0220
430				1,75370	24,5000	26,2900	73,9010
440				1,70960	23,9270	25,6360	74,3620
450				1,66660	23,3250	24,9910	75,0070
460				1,62060	22,7300	24,3630	75,0360

PLASMA - PLASMÁTICA

Tabela III.4.22. - Simulação de um modelo bi-compartimental
Programa CSMP

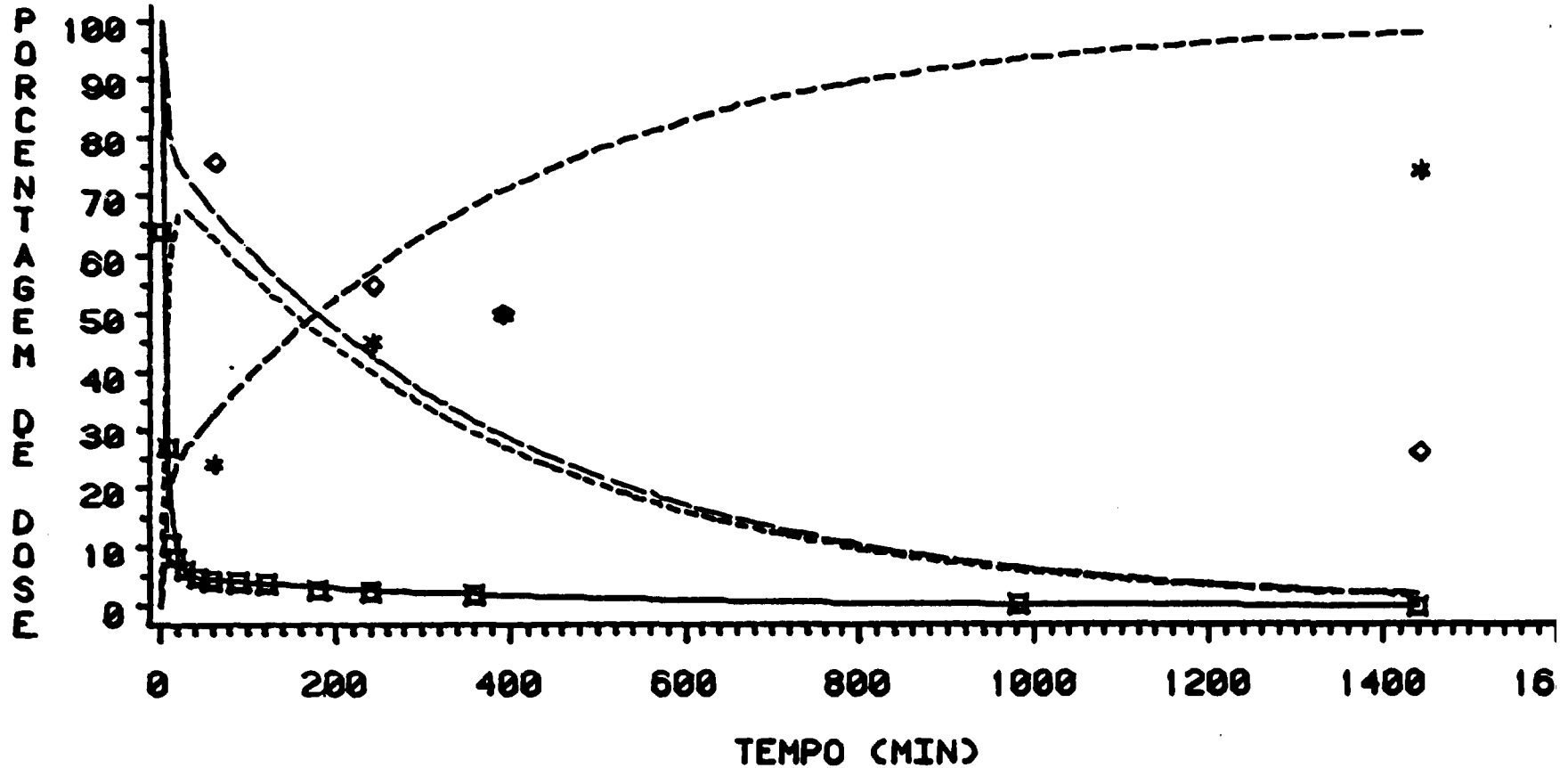
TEMPO (MIN)	ATIVIDADE PLAS. (O) (% DOSE)	CORPO INTERIO (C) (% DOSE)	EXCREÇÃO (O) (% DOSE)	ATIVIDADE PLAS. (S) (% DOSE)	ATIVIDADE? EXVAS. (S) (% DOSE)	CORPO INTERIO (S) (% DOSE)	EXCREÇÃO (S) (% DOSE)
870	1,58360			22,16600		23,71000	76,24800
880	1,54390			21,60900		23,15300	76,84600
890	1,50510			21,06500		22,57000	77,42600
900	1,46720			20,53500		22,00300	77,99600
910	1,43030			20,01900		21,44900	78,54900
920	1,39440			19,51500		20,91000	79,08900
930	1,35930			19,02400		20,38400	79,61500
940	1,32510			18,54600		19,87100	80,12700
950	1,29180			18,07900		19,37100	80,62700
960	1,25930			17,62500		18,88400	81,11400
970	1,22760			17,18100		18,40900	81,58900
980	1,19670			16,74900		17,94600	82,05200
990	1,16660			16,32800		17,49500	82,50400
600	1,13730			15,91700		17,05500	82,94400
610	1,10870			15,51700		16,62600	83,37200
620	1,08080			15,12700		16,20700	83,79100
630	1,05360			14,74600		15,80000	84,19800
640	1,02710			14,37500		15,40280	84,59600
650	1,00130			14,01400		15,01500	84,98300
660	0,97609			13,66100		14,63700	85,36100
670	0,95154			13,31800		14,26900	85,72900
680	0,92761			12,98300		13,91000	86,08800
690	0,90428			12,65600		13,56000	86,43800
700	0,88153			12,33800		13,21900	86,77900
710	0,85936			12,02700		12,88700	87,11100
720	0,83775			11,72500		12,56300	87,43500
730	0,81667			11,43000		12,24700	87,75100
740	0,79613			11,14300		11,93900	88,05900
750	0,77611			10,86200		11,63800	88,35900
760	0,75659			10,58900		11,34600	88,65200
770	0,73756			10,32300		11,06000	88,93700
780	0,71901			10,06300		10,78200	89,21600
790	0,70092			9,81000		10,51100	89,48700
800	0,68329			9,56320		10,24700	89,75100
810	0,66611			9,32270		9,98800	90,00900
820	0,64935			9,08820		9,73760	90,26000
830	0,63302			8,85960		9,49260	90,50500
840	0,61710			8,63680		9,25390	90,74400
850	0,60158			8,41950		9,02110	90,97700
860	0,58645			8,20780		8,79420	91,20300
870	0,57170			8,00130		8,57300	91,42500
880	0,55732			7,80010		8,35740	91,64000
890	0,54330			7,60390		8,14720	91,85000
900	0,52963			7,41260		7,94230	92,05500
910	0,51631			7,22620		7,74250	92,25500
920	0,50333			7,04440		7,54780	92,45000
930	0,49067			6,86730		7,35790	92,64000
940	0,47832			6,69450		7,17290	92,82500
950	0,46629			6,52620		6,99240	93,00500
960	0,45457			6,36200		6,81660	93,18100

Tabela III.4.22. - Simulação de um modelo bi-compartimental
Programa CSMP

Tabela III.4.22. - Simulação de um modelo bi-compartimental

GRUPO (MIN)	ATIVIDADE PLASM. (O) (% DOSE)	CONTO INTRINCO (% DOSE)	EXCREÇÃO (O) (% DOSE)	ATIVIDADE PLASM. (S) (% DOSE)	ATIVIDADE BIVAS. (S) (% DOSE)	CONTO INTRINCO (S) (% DOSE)	EXCREÇÃO (S) (% DOSE)
970				0,44313	6,20300	6,44510	93,35206
980				0,43199	6,08600	6,47800	93,51906
990	0,46			0,42112	5,89390	6,31500	93,68200
1000				0,41053	5,76570	6,15620	93,84100
1010				0,40020	5,60170	6,00140	93,99600
1020				0,39014	5,46030	5,85040	94,14700
1030				0,38032	5,32290	5,76330	94,29400
1040				0,37076	5,18910	5,55980	94,43800
1050				0,36143	5,05850	5,42000	94,57700
1060				0,35234	4,93130	5,28370	94,71400
1070				0,34340	4,80730	5,15080	94,84700
1080				0,33464	4,68640	5,02120	94,97600
1090				0,32602	4,56850	4,89490	95,10200
1100				0,31821	4,45360	4,77180	95,22500
1110				0,31020	4,34160	4,65180	95,34500
1120				0,30240	4,23260	4,53480	95,46200
1130				0,29480	4,12590	4,42070	95,57600
1140				0,28738	4,02210	4,30950	95,68800
1150				0,28015	3,92100	4,20110	95,79600
1160				0,27311	3,82240	4,09550	95,90200
1170				0,26624	3,72620	3,99240	96,00500
1180				0,25954	3,63250	3,89200	96,10500
1190				0,25301	3,54110	3,79410	96,20300
1200				0,24665	3,45210	3,69870	96,29800
1210				0,24045	3,36520	3,60570	96,39100
1220				0,23440	3,28060	3,51500	96,48200
1230				0,22850	3,19810	3,42660	96,57000
1240				0,22275	3,11760	3,34040	96,65700
1250				0,21715	3,03920	3,25640	96,74100
1260				0,21169	2,96280	3,17450	96,82200
1270				0,20637	2,88830	3,09460	96,90200
1280				0,20117	2,81560	3,01680	96,98000
1290				0,19611	2,74480	2,94090	97,05600
1300				0,19118	2,67570	2,86690	97,13000
1310				0,18637	2,60880	2,79480	97,20200
1320				0,18169	2,54280	2,72450	97,27200
1330				0,17712	2,47890	2,65600	97,34100
1340				0,17266	2,41650	2,58920	97,40800
1350				0,16832	2,35570	2,52410	97,47300
1360				0,16408	2,29650	2,46060	97,53600
1370				0,15996	2,23870	2,39870	97,59800
1380				0,15593	2,18280	2,33880	97,65800
1390				0,15201	2,12750	2,27950	97,71700
1400				0,14819	2,07400	2,22220	97,77400
1410				0,14446	2,02190	2,16630	97,83000
1420				0,14083	1,97100	2,11180	97,88500
1430				0,13729	1,92140	2,05870	97,93800
1440	0,13	25,93	74,07	0,13383	1,87310	2,00690	97,99000

MODELO BI-COMPARTIMENTAL



CURVA	————	AT. P. SIMULADA	-----	AT. EX. SIMULADA
	-----	EXCR. SIMULADA	— · — · —	C. I. SIMULADO
	□ □ □	AT. P. OBSERVADA	◇ ◇ ◇	C. I. OBSERVADO
	* * *	EXCR. OBSERVADA		

TEMPO (MIN)	ATIVIDADE PLASR. (O) (R DOSE)	CORPO INTERIO(C) (R DOSE)	SICREÇÃO(O) (R DOSE)	ATIVIDADE PLASR. (S) (R DOSE)	ATIVIDADE RIVAS. (S) (R DOSE)	COMPARTIMENTO DE RETENÇÃO(S) (R DOSE)	CORPC INTERIO(C) (R DOSE)	SICREÇÃO(S) (R DOSE)
0				100,0000	0,0000	0,0000	100,0000	0,0000
3	66,01							
10	27,10			22,5190	58,0660	4,3300	85,5150	14,4850
15	10,60							
20	0,40			0,18130	67,27200	6,2320	81,6870	18,3130
30	6,40			5,44600	67,50000	6,8590	70,84500	20,1550
40	5,05			4,84410	66,20100	7,35240	78,39100	21,60200
50								
60	0,40	75,87	24,13	4,63710	64,60200	7,81100	71,05000	22,95000
70				0,50450	62,98900	8,25410	75,78200	24,25200
80				4,38830	61,40700	8,68540	74,48100	25,51900
90	0,10			4,27740	59,86300	9,10560	73,24600	26,75400
100				4,16970	58,35700	9,51530	72,04200	27,95700
110				4,06480	56,85000	9,91460	70,86900	29,13000
120	0,00			3,96250	55,45900	10,30400	69,72500	30,27400
130				3,86290	54,08000	10,68300	68,61000	31,38900
140				3,76570	52,70400	11,05300	67,52300	32,47600
150				3,67100	51,37800	11,41400	66,46300	33,53600
160				3,57870	50,08200	11,76600	65,43000	34,56900
170				3,48860	48,82600	12,10800	64,43000	35,57600
180	2,90			3,40090	47,59800	12,44300	63,46200	36,55800
190				3,31540	46,40100	12,76800	62,52500	37,51500
200				3,23200	45,23400	13,08600	61,62200	38,44800
210				3,15070	44,09600	13,39500	60,74200	39,35700
220				3,07140	42,98700	13,69700	59,88500	40,24400
230				2,99420	41,90600	13,99100	59,05100	41,10800
240				2,91890	40,85200	14,27800	58,23900	41,95100
250	2,75	58,95	05,05	2,84540	39,82400	14,55800	57,44700	42,77200
260				2,77390	38,82300	14,83000	56,68200	43,57300
270				2,70410	37,84600	15,09600	55,94300	44,35300
280				2,63610	36,89400	15,35500	55,23000	45,11800
290				2,56980	35,96600	15,60700	54,54500	45,86600
300				2,50520	35,06200	15,85300	53,88200	46,59900
310				2,44210	34,18000	16,09300	53,24000	47,31900
320				2,38070	33,32000	16,32700	52,62000	48,02600
330				2,32080	32,48300	16,55500	52,02000	48,71900
340				2,26250	31,66500	16,77700	51,43900	49,39800
350				2,20560	30,86900	16,99400	50,88200	50,06200
360				2,15010	30,09200	17,20500	50,35000	50,71100
370	2,17			2,09600	29,33500	17,41100	49,84200	51,34600
380				2,04330	28,59700	17,61200	49,35600	51,96600
390		50,20	09,00	1,99190	27,87800	17,80800	48,89100	52,57100
400				1,94180	27,17700	18,00000	48,44700	53,16200
410				1,89290	26,49300	18,18400	48,02000	53,73800
420				1,84530	25,82700	18,36600	47,60800	54,29900
430				1,79890	25,17700	18,54200	47,20800	54,84600
440				1,75370	24,54400	18,71500	46,82000	55,38000
450				1,70960	23,92700	18,88200	46,45100	55,89000
460				1,66660	23,32500	19,04600	46,09800	56,38600
470				1,62460	22,73800	19,20600	45,76000	56,86800

Tabela III.4.23. - Simulação de um modelo compartimental com um de retenção - Programa CSMP

TEMPO (ANOS)	ATIVIDADE PLASR. (O) (% DOSE)	CORPO INTEIRO (C) (% DOSE)	RECICLAÇÃO (O)	ATIVIDADE PLASR. (S) (% DOSE)	ATIVIDADE EXVAS. (S) (% DOSE)	COMPARTIMENTO DE RETENÇÃO (S) (% DOSE)	CORPO INTEIRO (S) (% DOSE)	RECICLAÇÃO (S) (% DOSE)
470	1,58380			22,16600	19,36100		42,11100	56,88700
480	1,54390			21,60900	19,51300		42,66600	57,33200
490	1,50510			21,06500	19,66100		43,23100	57,76700
500	1,46730			20,53500	19,80500		43,80800	58,19000
510	1,43030			20,01500	19,94600		44,39500	58,60300
520	1,39440			19,51500	20,08300		44,99200	59,00600
530	1,35930			19,02400	20,21400		45,60000	59,39800
540	1,32510			18,54600	20,34600		46,21700	59,78100
550	1,29180			18,07900	20,47300		46,84400	60,15400
560	1,25930			17,62500	20,59700		47,48100	60,51700
570	1,22760			17,18100	20,71700		48,12600	60,87100
580	1,19670			16,74900	20,83500		48,78100	61,21700
590	1,16660			16,32800	20,95000		49,44400	61,55400
600	1,13730			15,91700	21,06100		50,11600	61,88200
610	1,10870			15,51700	21,16800		50,79600	62,20200
620	1,08080			15,12700	21,27600		51,48400	62,51400
630	1,05360			14,74600	21,38000		52,18000	62,81800
640	1,02710			14,37500	21,48100		52,88300	63,11400
650	1,00130			14,01400	21,57900		53,59400	63,40300
660	0,97609			13,66100	21,67500		54,31200	63,68500
670	0,95154			13,31800	21,76800		55,03800	63,96000
680	0,92761			12,98300	21,86000		55,77000	64,22800
690	0,90428			12,65600	21,94800		56,50900	64,48900
700	0,88153			12,33800	22,03500		57,25400	64,74300
710	0,85936			12,02700	22,11900		58,00600	64,99100
720	0,83775			11,72200	22,20200		58,76400	65,23300
730	0,81668			11,42300	22,28200		59,52800	65,46900
740	0,79614			11,13000	22,36000		60,29900	65,69800
750	0,77611			10,84300	22,43600		61,07500	65,92200
760	0,75659			10,56200	22,51100		61,85600	66,14100
770	0,73756			10,28700	22,58300		62,64300	66,35400
780	0,71901			10,06300	22,65400		63,43600	66,56100
790	0,70092			9,81500	22,72300		64,23000	66,76400
800	0,68330			9,56300	22,79000		65,03600	66,96100
810	0,66611			9,32700	22,85500		65,84400	67,15300
820	0,64935			9,08800	22,91900		66,65700	67,34000
830	0,63302			8,85900	22,98100		67,47400	67,52300
840	0,61710			8,63600	23,04200		68,29600	67,70100
850	0,60158			8,41900	23,10100		69,12200	67,87500
860	0,58645			8,20700	23,15800		69,95300	68,04400
870	0,57170			8,00100	23,21500		70,78800	68,20900
880	0,55732			7,80000	23,26900		71,62700	68,37000
890	0,54330			7,60300	23,32300		72,47000	68,52700
910	0,52964			7,41200	23,37500		73,31700	68,68000
920	0,51631			7,22600	23,42500		74,16800	68,82900
930	0,50333			7,04500	23,47500		75,02300	68,97400
940	0,49067			6,86800	23,52300		75,88100	69,11400
950	0,47833			6,69400	23,57000		76,74800	69,25000
960	0,46630			6,53200	23,61600		77,62000	69,38000
980	0,44957			6,38200	23,66000		78,49700	69,50500

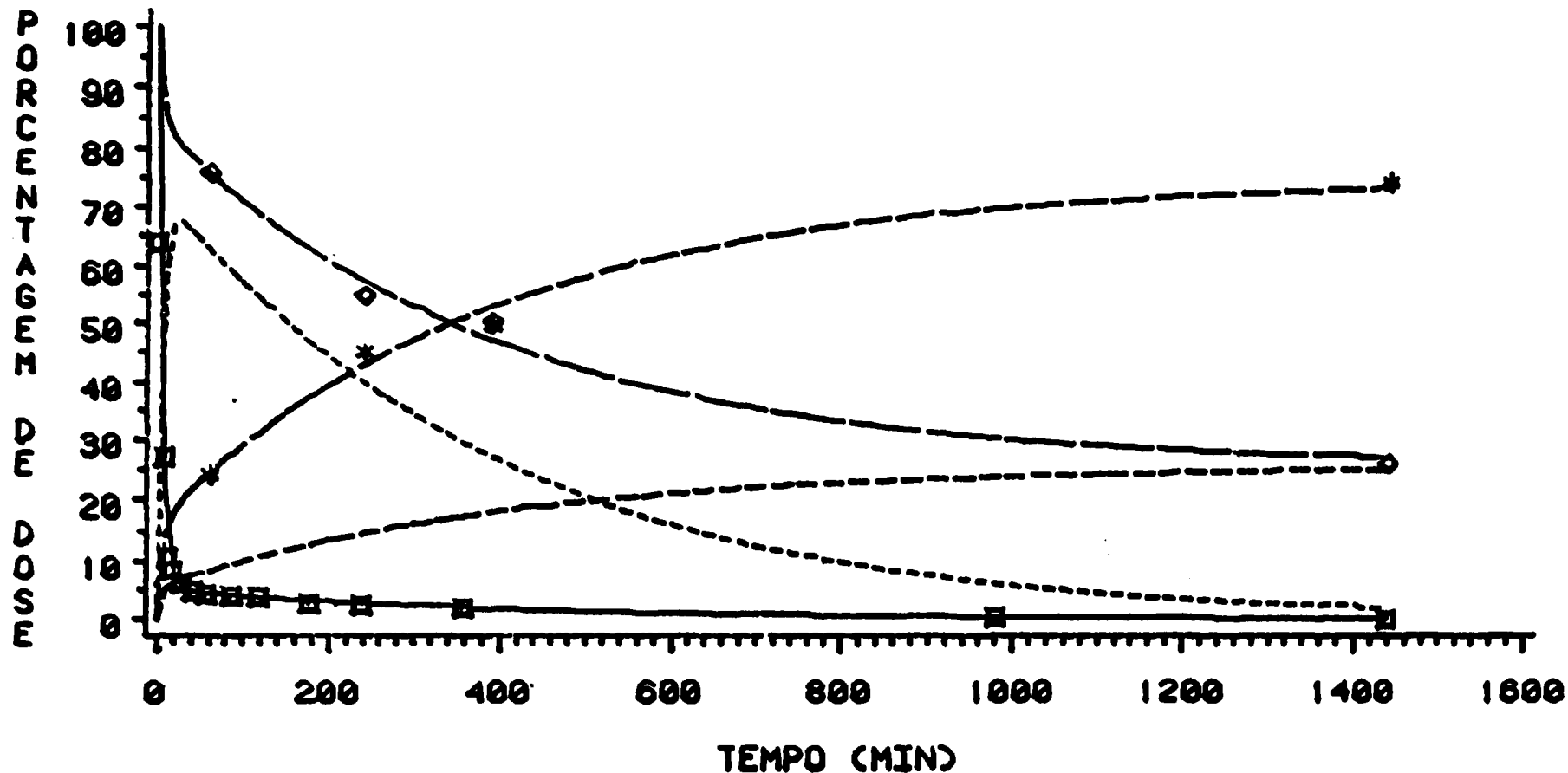
Tabela III.4.23. - Simulação de um modelo compartimental com um de retenção - Programa CSMP

TEMPO (DIA)	ATIVIDADE PLASM. (O) (% DOSE)	CORPO INTEIRO (C) (% DOSE)	EXCREÇÃO (O) (% DOSE)	ATIVIDADE PLASM. (O) (% DOSE)	ATIVIDADE EXVAS. (S) (% DOSE)	COMPARTIMENTO DE RETENÇÃO (S) (% DOSE)	CORPO INTEIRO (S) (% DOSE)	EXCREÇÃO (S) (% DOSE)
970				0,49313	6,26700	23,70400	30,34900	69,64700
980	0,46			0,43199	6,04600	23,78600	30,22000	69,77200
990				0,42112	5,89390	23,78800	30,10300	69,89400
1000				0,41053	5,74520	23,82400	29,98400	70,01200
1010				0,40020	5,60120	23,86700	29,86900	70,12800
1020				0,39014	5,46020	23,90600	29,75600	70,24000
1030				0,38033	5,32300	23,94300	29,64600	70,35000
1040				0,37076	5,18810	23,97900	29,53900	70,45700
1050				0,36143	5,05600	24,01500	29,43600	70,56100
1060				0,35234	4,93130	24,05000	29,33300	70,66300
1070				0,34348	4,80730	24,08300	29,23000	70,76200
1080				0,33484	4,68400	24,11600	29,13700	70,85900
1090				0,32642	4,56850	24,14800	29,04300	70,95300
1100				0,31821	4,45300	24,17900	28,95100	71,04500
1110				0,31021	4,34160	24,21000	28,86200	71,13400
1120				0,30240	4,23240	24,24000	28,77400	71,22200
1130				0,29480	4,12590	24,26900	28,68900	71,30700
1140				0,28730	4,02220	24,29700	28,60600	71,39000
1150				0,28015	3,92100	24,32400	28,52500	71,47100
1160				0,27311	3,82240	24,35100	28,44700	71,54900
1170				0,26624	3,72620	24,37700	28,37000	71,62600
1180				0,25954	3,63250	24,40300	28,29500	71,70100
1190				0,25301	3,54110	24,42800	28,22200	71,77400
1200				0,24665	3,45210	24,45200	28,15000	71,84500
1210				0,24045	3,36520	24,47500	28,08100	71,91500
1220				0,23440	3,28060	24,49800	28,01300	71,98200
1230				0,22850	3,19810	24,52100	27,94300	72,04800
1240				0,22276	3,11760	24,54300	27,88300	72,11300
1250				0,21715	3,03920	24,56400	27,82000	72,17500
1260				0,21169	2,96280	24,58500	27,75800	72,23600
1270				0,20637	2,88830	24,60500	27,70000	72,29600
1280				0,20118	2,81560	24,62500	27,64200	72,35400
1290				0,19612	2,74400	24,64400	27,58500	72,41100
1300				0,19118	2,67500	24,66300	27,53600	72,46600
1310				0,18637	2,60850	24,68100	27,48800	72,51900
1320				0,18169	2,54280	24,69900	27,44200	72,57200
1330				0,17712	2,47890	24,71600	27,39700	72,62300
1340				0,17264	2,41650	24,73300	27,35200	72,67300
1350				0,16832	2,35580	24,75000	27,30800	72,72100
1360				0,16409	2,29650	24,76600	27,26500	72,76900
1370				0,15996	2,23870	24,78200	27,22300	72,81500
1380				0,15594	2,18240	24,79700	27,18000	72,86000
1390				0,15201	2,12750	24,81200	27,13900	72,90400
1400				0,14819	2,07400	24,82600	27,09900	72,94700
1410				0,14446	2,02190	24,84100	27,06000	72,98900
1420				0,14083	1,97100	24,85400	27,02300	73,02900
1430				0,13729	1,92140	24,86600	26,98700	73,06900
1440				0,13383	1,87310	24,87800	26,95000	73,10700
		25,93	74,07					
	0,13							

PLASM. - PLASMATICA

Tabela III.4.23. - Simulação de um modelo compartimental com um de retenção - Programa CSMP

MODELO COMPARTIMENTAL COM UM DE RETENÇÃO



CURVA	————	AT. P. SIMULADA	-----	AT. EX. SIMULADA
	-----	RETEN. SIMULADA	- · - · -	EXCR. SIMULADA
	————	C. I. SIMULADO	□ □ □	AT. P. OBSERVADA
	◇ ◇ ◇	C. I. OBSERVADO	* * *	EXCR. OBSERVADA

AT. P. : ATIVIDADE PLASMÁTICA AT. EX. : ATIVIDADE EXTRA VASCULAR
 RETEN. : RETENÇÃO EXCR. : EXCREÇÃO C. I. : CORPO INTEIRO

IV. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

DISCUSSÃO

IV.1. Estudo das Condições de Marcação do Sulfato de Gentamicina com ^{99m}Tc .

Analisando-se os resultados obtidos após estudo das condições de marcação do sulfato de gentamicina com ^{99m}Tc , observou-se que:

- não houve variação apreciável na porcentagem de marcação, para o aumento da massa do sulfato de gentamicina (Tabela III.1.1)
- para um pH final de valor 1,7 obtivemos a melhor porcentagem de marcação (Tabela III.1.2)
- para uma massa de redutor de 0,25 mg de cloreto estânico obtivemos a mais alta porcentagem de marcação (Tabela III.1.3)
- não há variação sensível na porcentagem de marcação com o aumento do tempo de reação, todas as variações encontram-se dentro do erro estatístico (Tabela III.1.4).

As análises cromatográficas de sulfato de gentamicina na ^{99m}Tc dentro das condições descritas com solventes utilizados, apresentam R_f bem determinados o que nos permitiu realizar os cálculos de rendimentos do produto após cada marcação.

As melhores condições encontradas na marcação do sulfato de gentamicina com ^{99m}Tc foram:

massa de sulfato de gentamicina	:	10 mg
pH final de marcação	:	1,7
massa de redutor $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$:	0,25 mg
volume final de marcação	:	2,5 ml
tempo de reação	:	30 minutos

Dessa forma foi estabelecido um protocolo de marcação que foi aplicado a todas as marcações realizadas para o estudo biológico.

IV.2. Complexação com Re

A complexação de sulfato de gentamicina com Re, destinada à realização de estudos químicos, baseando-se na similaridade dos dois elementos, foi efetuada em pH mais ácido que a complexação com o ^{99m}Tc ; o pH esteve em torno do valor igual a 0,5 e a complexação foi também auxiliada pelo aquecimento à 50°C , condições essas observadas por Duatti e colaboradores⁽²⁴⁾ em seus trabalhos de complexação com Re.

Caracterização do complexo gentamicina-Re

1. Análise Elementar

Pela análise elementar de C, H, N, após cálculos pertinentes conclui-se em uma primeira aproximação de caráter semi-quantitativo que, a composição química mais provável

para o complexo em estudo seria: para cada molécula de gentamicina teríamos o equivalente a quatro moléculas de perrenato de amônio.

2. Espectros de Absorção no Infravermelho

Analisando-se os espectros de absorção no infravermelho do composto não complexado e após a complexação com Re, observa-se uma banda em 3400 cm^{-1} que indica vibrações de estiramento O-H e N-H, que embora apresentando um pequeno deslocamento no espectro do produto complexado com Re, elas estão sobrepostas, dificultando portanto, uma proposição bem definida, mas que indicam alterações nessa região.

A banda de 1630 cm^{-1} que corresponde a vibração de deformação N-H do composto não complexado, sofre um deslocamento para 1617 cm^{-1} no complexado com Re, com fortes indícios de que este deslocamento iria indicar o envolvimento do grupamento NH_2 na complexação.

A banda de 1057 cm^{-1} que corresponde à vibração de estiramento C-O no composto não complexado sofre um deslocamento para 1045 cm^{-1} no complexado com Re, permitindo-nos dizer que provavelmente esta ligação está envolvida também na complexação.

3. Espectros de Ressonância Magnética Nuclear

Analisando-se o espectro de ressonância magnética nuclear protônica do composto não complexado e relacionando-o

com a fórmula estrutural da gentamicina podemos concluir que, os picos em δ 2,95; δ 2,75; δ 1,35 e δ 1,25 coincidem com os descritos nos trabalhos de Calam e colaboradores⁽¹⁴⁾; desta forma podemos afirmar que a amostra utilizada em nossos trabalhos consistiu em sulfato de gentamicina com grau de pureza satisfatório.

Por outro lado, ao analisarmos o espectro de ressonância nuclear magnética protônica do sulfato de gentamicina complexado com Re, notamos que o mesmo apresenta algumas alterações com relação ao espectro da droga pura. Pelos deslocamentos observados nos picos para a região de δ 4,1 a δ 5,9 podemos deduzir que muito provavelmente houve uma modificação estrutural causada pela complexação do Re na molécula de gentamicina; entretanto considerando-se que os dois espectros tenham sido obtidos em condições similares, ao analisarmos o espectro da droga complexada com Re, verificamos nesse caso, que os picos se concentram próximos à região do solvente (D_2O contaminada com H_2O), e a técnica utilizada não permite resoluções mais aprofundadas. Contudo, tratando-se de estudos preliminares, é perfeitamente aceitável uma primeira aproximação, isto é a hipótese de uma alteração estrutural devido a complexação de gentamicina com Re, baseados nos dados experimentais.

Finalizando, as análises apresentadas nos permitem relatar que muito provavelmente esta complexação ocorreu com o envolvimento dos grupamentos NH_2 e a ligação C-O da molécula de sulfato de gentamicina.

IV.3. Estudos de Parâmetros Farmacocinéticos do Sulfato de Gentamicina ^{99m}Tc com o Auxílio da Análise Compartmental

IV.3.1. Distribuição biológica do sulfato de gentamicina ^{99m}Tc

Analisando-se os dados relativos à captação do sulfato de gentamicina ^{99m}Tc por grama de órgãos e de tecidos, em ratos da linhagem Wistar, no intervalo de tempo estudado até 24 horas, observa-se para uma dose de 0,3 mg de gentamicina- ^{99m}Tc injetada, via endovenosa que os rins e o fígado são os órgãos que captam em maior porcentagem a droga marcada; os rins apresentam um máximo de captação 3 horas após a injeção, decrescendo gradualmente, ou seja, o antibiótico se acumula até um máximo e depois é eliminado lentamente; quanto ao fígado, a captação máxima situa-se em torno de uma hora.

F.C. Luft e colaboradores⁽³⁸⁾ em seus trabalhos a nível celular, sobre o acúmulo de antibióticos aminoglicosídeos no parênquima renal de ratos, verificaram que, a gentamicina após uma simples dose de 10 mg/kg, injetada via sub-cutânea apresentou um máximo de captação até 6 horas, e depois disso declinou gradualmente, apresentando uma meia-vida no tecido renal de 109 horas; justificando estes dados foi constatado o acúmulo da gentamicina no córtex renal numa área constituída de túbulos proximais, acarretando meias-vidas relativamente longas desse antibiótico; dessa forma em nossos trabalhos com traçador isotópico e administração endovenosa pudemos observar a redução no tempo máximo de captação dos rins para 3 horas.

K. Özker e colaboradores⁽⁴⁵⁾ após alguns estudos preliminares de captação em ratos e coelhos utilizando gentamicina ^{99m}Tc , destinada a cintilografias renais, verificaram pouca captação de fígado nas imagens obtidas; isso também coincide com nossos dados que oferecem índices de 9,38% de captação na relação rins/fígado após 3 horas por grama de tecido.

Quanto ao efeito colateral ototóxico da gentamicina verificamos que a captação pela cabeça (região auricular) é desprezível no intervalo de tempo estudado e nas doses utilizadas. Isso nos leva a deduzir que o acúmulo de antibiótico, na região do ouvido interno, deve ser relacionada com repetidas doses do antibiótico e níveis plasmáticos mais elevados.

Observa-se ainda uma captação relativamente um pouco mais alta no estômago após 2 horas; isto provavelmente pode ser devido ao Tc na forma iônica não complexada.

A tabela de captação de gentamicina ^{99m}Tc mostram que grande parte dos outros órgãos e tecidos apresentam uma captação desprezível nos intervalos de tempo estudados.

IV.5.2. Estudo farmacocinético do sulfato de gentamicina ^{99m}Tc por via endovenosa

A observação dos dados experimentais quanto ao decaimento plasmático, no intervalo de 24 horas nos permite observar a soma de duas exponenciais, o que a princípio permite-nos relacioná-las com a presença de dois compartimentos que seriam: compartimento 1, o intravascular e o compartimento 2 extravascular⁽³⁰⁾.

Na análise de variância, relacionada com o ajuste numérico dos dados observados dos níveis plasmáticos, verifica-se que a soma dos quadrados do modelo e do resíduo são dois valores bem diferentes, respectivamente: 107,8780 e 0,2950. o que significa que o ajuste do modelo aos dados experimentais foi satisfatório. Podemos observar na figura III.3.5, que apresenta o gráfico dos valores preditos dos níveis plasmáticos em função do tempo, a ocorrência de 10 valores coincidentes entre a simulação e a observação experimental; ainda na figura III.3.6, onde temos a distribuição dos resíduos em relação aos valores preditos, verificamos uma distribuição estatisticamente satisfatória dos valores apresentados.

Analisando-se as meias-vidas de cada componente exponencial da curva referente aos níveis plasmáticos da gentamicina ^{99m}Tc , observa-se que no início os níveis plasmáticos decaem com uma meia-vida rápida, $T/2$ igual a 0,07 horas, passando em seguida para o compartimento extravascular e antes da eliminação, decaindo mais lentamente apresentando um $T/2$ igual a 5,5 horas. Para explicarmos o fato, devemos considerar a ligação da gentamicina a proteína do plasma, visto que somente o material livre no plasma seria eliminado, sendo filtrado pelo glomérulo. Gyselynck e colaboradores⁽³¹⁾ em seus estudos sugerem que uma fração livre da droga é reversivelmente ligada às proteínas plasmáticas, sendo que estas ligações vão refletir quantitativamente no modelo cinético adotado. Os resultados decorrentes do modelo bi-compartimental encontrado após injeção de gentamicina ^{99m}Tc em ratos Wistar se assemelham com os resultados dos trabalhos sobre o comportamento da gentamicina durante tratamento terapêutico em humanos^(55,56,69),

utilizando-se de métodos de detecção microbiológicos e de Ra
dioimunoensaio.

Os trabalhos de Wilson e colaboradores⁽⁶⁹⁾, que uti
lizaran a simulação de um modelo com um só compartimento estu
dando a eliminação da gentamicina triciada em pacientes huma
nos normais e pacientes com a função renal comprometida, apre
sentam gráficos que relacionam a meia-vida aparente da droga
com vários parâmetros da função renal, mas sugerem a apresen
tação de um outro modelo de dois compartimentos, baseados na
disparidade encontrada pelos autores entre a velocidade de de
saparecimento da droga do plasma e a velocidade de aparecimen
to na urina.

A partir dos dados obtidos por nós, quanto a curva
de níveis plasmáticos do sulfato de gentamicina ^{99m}Tc, pude
mos calcular o volume de distribuição aparente, cujo valor é
6,47 ml considerando-se que ele é ligeiramente inferior ao vo
lume plasmático de 7,11 ml, obtido experimentalmente, cor
respondente a um rato normal de 275 g; isto significa que a
droga logo após a aplicação se distribui uniformemente pelo
organismo do animal, num primeiro estágio.

Analisando-se as medidas de radioatividade obser
vas nas excreções urinárias e fecais apresentadas na tabela
III.3.20 destacamos que nas 24 horas após a injeção, tanto a
eliminação pela urina, bem como pelas fezes apresentam o mes
mo nível de eliminação, havendo uma redução sensível nas vin
te e quatro horas subsequentes.

No trabalho de Luft e colaboradores⁽³⁸⁾ foi obser

vado que a gentamicina é eliminada por via renal com filtração glomerular, constituindo-se portanto os rins, os órgãos de eliminação preferencial. Neste ponto podemos associar a eliminação pelas fezes com a radioatividade presente nos intestinos às 24 horas e também a uma provável metabolização da droga pelas enzimas relacionadas, como menciona também Gyselynck e colaboradores⁽³¹⁾ em seus estudos farmacocinéticos da gentamicina em humanos. Além disso, os trabalhos de Cox⁽²²⁾ se referem a uma mal absorção intestinal da gentamicina, o que em parte pode explicar a eliminação fecal relacionada em nosso trabalho.

Os dados experimentais do corpo inteiro foram ajustados a uma curva exponencial do tipo monoexponencial.

O gráfico dos valores preditos em relação ao tempo e os dos resíduos apresentados nas figuras III.3.7 e III.3.8 respectivamente, relacionam valores que foram submetidos a análise de variância, (teste de Fischer ou teste F); observa-se que R^2 , o quadrado do coeficiente de correlação é igual a um valor 0,9605, valor este que indica que o modelo explica quase que aproximadamente 100% dos dados⁽²³⁾.

Temos então para valor da meia-vida biológica 16,5 horas, sendo este relativamente alto; todavia se considerarmos que a gentamicina poderia permanecer acumulada em grande parte no córtex renal dos ratos, antes de ser totalmente eliminada, podemos justificar essa meia-vida biológica prolongada.

Foi calculada também a depuração total da droga do

organismo, cujo valor é 0,0045 ml/minuto, estando relacionada significativamente com a depuração renal estabelecida.

Dentro do intervalo de tempo estudado, o plasma foi o compartimento de entrada do sulfato de gentamicina ^{99m}Tc , sendo conduzida a um segundo compartimento extravascular, onde os rins se constituem nos órgãos que retiram-na da circulação, havendo também uma pequena captação pelo fígado. Nesse sentido foram calculadas as constantes de transferência k_{12}, k_{21} do compartimento intravascular para o extravascular e deste para o intravascular respectivamente e uma constante de eliminação k_{10} . Para a escolha deste modelo foram feitas duas hipóteses:

1. no instante inicial toda a droga está no compartimento 1.
2. a eliminação da droga marcada obedece a um processo de primeira ordem, isto é, a quantidade de substância que sai na unidade de tempo é proporcional à quantidade de substância presente nele.

Contudo ao analisarmos a simulação do modelo bi-compartimental e o gráfico que estão apresentados na tabela III.4.22 e na figura III.4.10 respectivamente, verificou-se a necessidade da inclusão de um compartimento de retenção que pudesse explicar satisfatoriamente a discrepância entre a simulação das curvas de excreção e a do corpo inteiro com as curvas baseadas nos dados observados experimentalmente.

A partir desses dados, simulou-se então um modelo de dois compartimentos com um de retenção, onde o coeficiente de eliminação k_{10} do compartimento plasmático foi dividido em dois componentes: $k_{10} = k_{10}^* + k_{13}$, sendo que k_{10}^* é o coeficiente de eliminação da droga marcada para o exterior do âmbito biológico e k_{13} é responsável pela transferência da gentamicina ^{99m}Tc para o compartimento de retenção.

A simulação deste modelo e o gráfico representativo estão apresentados na tabela III.4.23 e na figura III.4.12 respectivamente. Ao analisarmos estes dados, observamos que a inclusão de um compartimento de retenção explicou a concordância verificada entre as curvas simuladas e as observadas correspondentes.

A explicação para este compartimento de retenção está provavelmente, na absorção pelo trato gastro-intestinal do sulfato de gentamicina marcado com ^{99m}Tc e também no acúmulo do antibiótico pelo córtex renal⁽³⁸⁾, e carcassa em geral, para o intervalo de tempo observado. A simulação deste modelo com a presença de um compartimento de retenção é um dado ligado ao nosso modelo proposto para cinética do antibiótico, não tendo sido descrito portanto na literatura.

CONCLUSÕES

1. A marcação do sulfato de gentamicina com ^{99m}Tc resultou num complexo viável, para serem feitos estudos cinéticos desse importante antibiótico aminoglicosídeo.

2. A complexação do sulfato de gentamicina com Re, que é o elemento que tem características químicas mais similares ao Tc, possibilitou alguns estudos preliminares estruturais, permitindo-nos sugerir que os grupamentos NH_2 e a ligação C-O estão envolvidos na complexação com Re e portanto do mesmo modo com o $^{99\text{m}}\text{Tc}$.
3. A distribuição biológica do sulfato de gentamicina marcado com $^{99\text{m}}\text{Tc}$, por via endovenosa, em ratos Wistar, revelou uma maior afinidade dos rins pela droga, sendo este, o órgão excretor principal do produto.
4. A curva de decaimento plasmático traçada a partir dos dados experimentais do produto marcado com $^{99\text{m}}\text{Tc}$, resultou numa curva biexponencial, comportando dois compartimentos: o intravascular e extravascular; num primeiro tempo a gentamicina abandona o plasma com uma meia-vida muito curta: $T_{1/2} = 0,07$ horas, para em seguida, decair com um $T_{1/2}$ mais longo de 5,5 horas.
5. O cálculo do volume de distribuição aparente nos leva a concluir que num primeiro instante, após a administração, via endovenosa, a gentamicina se difunde pelo organismo todo do animal, para depois ir sendo captada pelos órgãos afins.
6. A eliminação da gentamicina por via urinária bem como também pela fecal apresentam níveis aproximadamente iguais nas 24 horas, reduzindo-se sensivelmente nas 24 horas subsequentes. A eliminação pelas fezes nos leva a sugerir em parte, uma provável metabolização da droga.

7. O coeficiente de depuração renal nos revela que a gentamicina no total é uma droga que é de eliminação relativamente lenta.
8. A meia-vida biológica da gentamicina é de 16,5 horas, para uma dose única injetada de 0,3 mg de gentamicina em ratos de 275 gramas de peso.
9. O modelo compartimental escolhido para o intervalo de tempo de 24 horas estudado, resultou na difusão da droga, através da circulação por todo o organismo do animal num primeiro instante, sendo depois captada e eliminada preferencialmente pelos rins com uma meia vida de 16,5 horas e os 25% de resíduos que permaneceram no organismo do animal, representaram a quantidade da droga que ficou acumulada no córtex renal, além da que ficou depositada na carcaça e do que foi absorvida pelo trato gastro-intestinal, sendo estas duas últimas provavelmente em menor proporção em relação à primeira.
10. O modelo matemático obtido pela análise compartimental apresentou bom ajuste, havendo uma boa concordância entre as curvas simuladas e as obtidas experimentalmente.
11. Os compartimentos intra e extravascular se constituem em dois compartimentos de troca, sendo mais rápida no sentido da passagem do compartimento intravascular para o extravascular, pois k_{12} é maior do que k_{21} , e observa-se também, que no intervalo de 24 horas estudado, para uma dose de 0,3 mg de gentamicina aplicada existe um k_{13} relativamente pequeno, mas presente no tempo de observação do

experimento, representando a transferência da gentamicina ^{99m}Tc para um compartimento de retenção.

12. A cinética apresentada pela gentamicina ^{99m}Tc em ratos Wistar, poderá ser utilizada para explicar nas condições estudadas, um possível acúmulo relacionado com os efeitos colaterais da droga.
13. Julgamos assim, com a técnica radioisotópica utilizada termos dados um passo adiante dentro do âmbito da moderna Radiofarmacologia, especificamente no conhecimento de antibióticos importantes como no caso do sulfato de gentamicina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ABRAMOWICZ, M. & EDELMANN JR., C.M. Nephrotoxicity of anti-infective drugs. Clin. Pediat., 7:389-90, 1968 apud FALCO, F.G.; SMITH, H.M.; ARCIERI, G.M. Nephrotoxicity of aminoglycosides and gentamicin. J.Infect. Dis., 119:406-9, 1969.
02. ADRIAENSEN, H.; EYCKMANS, L.; TRIANGLE, A.M.; WALLE, J. Van de. Serum levels of gentamicin after a single injection by various routes. Acta Clin. Belg., 30:6, 1975.
03. ALMEIDA, M.A.T.M. Distribuição biológica de heparina marcada com ^{51}Cr . Estudos farmacocinéticos com o auxílio da análise compartimental. São Paulo, 1979. (Tese de doutoramento, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares).
04. ALTMAN, P.; DITTMER, D., eds. Blood and other body fluids. Washington, D.C., Dittmer, 1961 apud ALMEIDA, M.A.T.M. Distribuição biológica de heparina marcada com ^{51}Cr . Estudos farmacocinéticos com o auxílio da análise compartimental. São Paulo, 1979. (Tese de doutoramento, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares).
05. ATKINSON, B.A. Species incidence, trends of susceptibility to antibiotics in the United States, and minimum inhibitory concentration. In: LORIAN, V., ed. Antibiotics in laboratory medicine. Baltimore,

- Williams & Wilkins, 1980. p.607-722 apud GOODMAN, L. L. & GILMAN, A. As bases farmacológicas da terapêutica. 7. ed. s.l., Guanabara, 1987. p.754.
06. FARZA, M.; BROWN, R.B.; SHEN, D.; GIBALDI, M.; WEINSTEIN, L. Predictability of blood levels of gentamicin in man. J. Infect. Dis., 132(3):165-74, 1975.
07. BAUER, L.A. & BLOVIN, R.A. Gentamicin pharmacokinetics: effects of aging in patients with normal renal function. J. Am. Geriatr. Soc., 30(5):309-11, 1982.
08. BENNETT, W.M.; HARTNETT, M.N.; CRAVEN, R.; GILBERT, D. N.; PORTER, G.A. Gentamicin concentrations in blood, urine, and renal tissue of patients with end-stage renal disease. J. Lab. Clin. Med., 90(2):389-93, 1977.
09. BERMAN, M. & WEISS, M.F. User's manual for SAAM-(Simulation Analysis and Modeling) Version: SAAM 25. Bethesda, MD National Institutes of Health, 1974.
10. BROWNELL, G.I.; BERMAN, M.; ROBERTSON, J.S. Nomenclature for tracer kinetics. Int. J. Appl. Radiat. Isot., 19: 249-62, 1968.
11. BRUMMET, R.E. Animal models of aminoglycoside antibiotic ototoxicity. Rev. Infect. Dis., 5(Suppl.2):S294-S303, 1983.
12. BRUMMETT, R.E. & FOX, K.E. Studies of aminoglycoside ototoxicity in animal models. In: WHELTON, A. & NEU, H.C., eds. The aminoglycosides: microbiology, clinical use and toxicity. New York, Marcel Dekker, 1982. p.

- 419-51 apud GOODMAN, L.L. & GILMAN, A. As bases farmacologicas da terapeutica. 7.ed. s.l., Guanabara, 1987. p.754.
13. FULGER, R.J.; SIDELL, S.; KIRBY, W.M.M. Laboratory and clinical studies of gentamicin. A new broad-spectrum antibiotic. Ann. Inter. Med., 59(5):593, 1963.
14. CALAM, D.H.; GILBERT, J.N.T.; LIGHTBROWN, J.W.; POWELL, J.W.; THOMAS, A.M. Control of the composition of gentamicin sulphate by proton magnetic resonance spectroscopy. J. Pharm. Pharmacol., 30:220-3, 1978.
15. CÁRCAMO, E.C. Introduccion a la farmacocinetica. Washington, D.C., Secretaria General de la OEA, 1982. (Serie de biologia, 25).
16. CHAN, R.A.; BENNER, E.J.; HOEPRICH, D.P. Gentamicin therapy in renal failure: a nomogram for dosage. Ann. Inter. Med., 76:773-8, 1972.
17. CHOW, M.; DEGLIN, J.; HARRAISON, A.; LARTLETT, R.; QUINTILIANI, R. Prediction of gentamicin serum levels using a one-compartment open linear pharmacokinetic model. Am. J. Hosp. Pharm., 35:1078-81, 1978.
18. COHEN, Y. Transport function of the blood pharmacological studies using radioisotopes. J. Nucl. Biol. Med., 12:26-34, 1968.

19. COOPER, D.J.; YUDIS, M.D.; GUTHRIE, R.D.; PRIOR, A.M.
The gentamicin antibiotics. Part I: structure and absolute stereochemistry of methyl garasominide. J. Chem. Soc. (London), C. Org., :960-3, 1971.
20. COTTON, F.A. & LIPPARD, S.J. Clinical and structural studies of rhenium (V) oxyhalide complexes. II. (M ReX₄O) and M (ReX₄OL) complexes from K ReO₄. Inorg. Chem., 5(1):9, 1966.
21. COTTON, F.A. & WILKINSON, G. Advanced inorganic chemistry, a comprehensive text. New York, Wiley-Interscience, 1980. p.883.
22. COX, C.E. Gentamicin. Med. Clin. North Am., 54:1305-15, 1970 apud GOODMAN, L.L. & GILMAN, A. As bases farmacológicas da terapêutica. 7. ed. s.l. Guanabara, 1987. p.754.
23. DRAPER, N. & SMITH, H. Applied regression analysis. New York, N.Y., Wiley, 1966.
24. DUATTI, A.; ROSSI, R.; MAGON, L.; MAZZI, U. Synthesis and characterization of paramagnetic Schiff base complexes of rhenium (IV). Transition Met. Chem., 8:170-4, 1983.
25. DYER, J.R. Aplicações da espectroscopia de absorção aos compostos orgânicos. São Paulo, Edgar Blücher, 1969.
26. EISENHUT, M. Preparation of ¹⁸⁶Re-Perrhenate for nuclear medical purposes. Int. J. Appl. Radiat. Isot., 33:99, 1982.

27. FALCO, F.G.; SMITH, H.M.; ARCIERI, G.M. Nephrotoxicity of aminoglycosides and gentamicin. J. Infect. Dis., 119:406-9, 1969.
28. GIULIANO, B.; MAZZI, U.; RONCARI, E. Cristal structures of technetium compounds. Coordination Chem. Reviews, 44:191-227, 1982.
29. GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. As bases farmacológicas da terapêutica. 7. ed. s.l., Guanabara, 1987. p.754.
30. GOUVEA, A.S. Estudo da cinética de sistemas multicompartimentalizados com traçadores radioativos. São Paulo, 1976. (Dissertação de mestrado, Escola Politécnica, Universidade de São Paulo). (IEA-DT-57).
31. GYSELYNCK, A.M.; FARREY, A.; CUTLER, R. Pharmacokinetics of gentamicin: distribution and plasma and renal clearance. J. Infect. Dis., Suppl., 124:S70-75, Dec. 1971.
32. JACKSON, G.G. Current therapeutics 234. Gentamicin. Practitioner, 198:855-66, 1967 apud FALCO, F.G.; SMITH, H.M.; ARCIERI, G.M. Nephrotoxicity of aminoglycosides and gentamicin. J. Infect. Dis., 119:406-9, 1969.
33. JAHRE, J.A.; FU, K.P.; NEU, H.C. Kinetics of netilmicin and gentamicin. Clin. Pharmacol. Ther., 23(5):591-7, 1978.
34. JASIM, F.; MAGIE, R.I.; WILSON, C.L. The separation and identification of manganese, technetium, rhenium, ruthenium and molybdenum on the ultramicroscale. Talanta,

35. JAO, R.L. & JACKSON, G.G. Gentamicin sulphate, new antibiotic against gram-negative bacilli. J. Am. Med. Assoc., 189:817-22, 1964.
36. JUNQUEIRA, L.C. & CARNEIRO, J. Histologia básica. 3. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1974.
37. KAYE, D.; LEVISON, M.E.; LABOVITZ, E.D. The unpredictability of serum concentrations of gentamicin: pharmacokinetics of gentamicin in patients with normal and abnormal renal functions. J. Infect. Dis., 130(2):150-4, 1974.
38. LUFT, F.C. & KLEIT, S.A. Renal parenchymal accumulation of aminoglycoside antibiotics in rats. J. Infect. Dis., 130(6):656-9, 1974.
39. MAZZI, U.; REFOSCO, F.; TISATO, F.; BANDOLI, G.; NICOLINI, M. Mixed Tri- and Bi-dentate Schiff-base complexes of Technetium V and Rhenium (V). The crystal structure of N-(2 Oxidophenyl salicylideneiminato-NOO') oxo (8-quinolinolato-NO) technetium V. J. Chem. Soc. (London), Dalton Trans., :1623-8, 1986.
40. MAZZI, U.; RONCARI, E.; SEEBER, R.; MAZZOCCHIN, G.A. Inorg. Chim. Acta, 41:95, 1980 apud SEEBER, R.; MAZZOCCHIN, G.A.; MAZZI, U.; REFOSCO, F.; TISATO, F. Electrochemistry of rhenium (V) complex with bidentate-bidentate and tridentate-bidentate Schiff base ligands. Polyhedron, 5(12):1975-82, 1986.

41. MAZZOCCHIN, G.A.; SEEBER, R.; MAZZI, U.; RONCARI, E.
Inorg. Chim. Acta, 29:5, 1978 apud SEEBER, R.;
MAZZOCCHIN, G.A.; MAZZI, U.; REFOSCO, F.; TISATO, F.
Electrochemistry of rhenium (V) complex with bidentate-
bidentate and tridentate-bidentate Schiff base ligands.
Polyhedron, 5:1975-82, 1986.
42. MC HENRY, M.C.; GAVAN, T.L.; GIFFORD JR., R.W.; GEURKINK,
N.A.; OMMEN, R. A Van; TOWN, M.A.; WAGNER, J.G. Gen-
tamicin dosage for renal insufficiency. Ann. Intern.
Med., 74:192-7, 1971.
43. MEISEL, S. Gentamicin pharmacokinetics. Am. J. Hosp.
Pharm., 35:660-5, 1978.
44. MESTNIK, S.A.C. Separação de ^{99}Mo do ^{132}Te usando tiou-
rêia como agente complexante. Aplicação à separação do
 ^{99}Mo dos produtos de fissão. São Paulo, 1987. (Tese
de doutoramento, Instituto de Pesquisas Energéticas e
Nucleares).
45. ÖZKER, K. & URGANCIOĞLU, İ. Assessment of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ labelled
gentamicin in renal functional imaging. J. Labelled
Compd. Radiopharm., 22(9):939-45, 1985.
46. ÖZKER, K. & URGANCIOĞLU, İ. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -gentamicin: chemical
and biological evaluation. Eur. J. Nucl. Med., 6:173-
6, 1981.
47. RAYUDU, G.V.S.; COLOMBETTI, L.G. ed. Radiotracers for
medical applications. Boca Raton, CRC Press, 1983.
v.2.

48. RESCIGNO, A. & SEGRE, G. Drug and tracer kinetics.
Waltham, Mass., Blaisdell, 1966.
49. RONALD, A.R.; BOUTROS, P.; MOURTADA, H. Bacteriuria localization and response to single-dose therapy in women. JAMA, J. Am. Med. Assoc., 235:1854-6, 1976.
50. RONCARI, E.; MAZZI, U.; SEEBER, R.; ZANELLO, P.; ZANELLO, J. J. Electroanal. Chem., 132:221, 1982 apud SEEBER, R.; MAZZOCCHIN, G.A.; MAZZI, U.; REFOSCO, F.; TISATO, F. Electrochemistry of rhenium (V) complex with bidentate-bidentate and tridentate-bidentate Schiff base ligands. Polyhedron, 5(12):1975-82, 1986.
51. ROSSELOT, J.P.; MARQUEZ, J.; MESECK, E.; MURAWSKI, A.; HAMDAN, A.; JOYNER, C.; SCHIMIDT, R.; MIGLIORE, D.; HERZOG, L.L. Isolation, purification, and characterization of gentamicin. In: SILVESTER, J.C., ed. Antimicrobial agents and chemotherapy. Ann. Arbor Mich., American Society for Microbiology, 1964. p.14-6 apud GOODMAN, L.L. & GILMAN, A. As bases farmacológicas da terapêutica. 7. ed. s.l., Guanabara, 1987. p.754.
52. SAS user's guide: statistics Version 5. Cary, North Carolina, SAS Institute, 1985.
53. SAS/GRAPH user's guide, Version 5. Cary, North Carolina, SAS Institute, 1985.
54. SAWCHUK, R.J.; ZASKE, D.E.; CIPOLLE, R.J.; WARGIN, W.A.; STRATE, R.G. Kinetic model for gentamicin dosing with the use of individual patient parameters. Clin. Pharmacol Ther 21(3):362-0 1977.

55. SCHENTAG, J.J. & JUSKO, W.J. Renal clearance and tissue accumulation of gentamicin. Clin. Pharmacol. Ther., 22(3):364-70, 1977.
56. SCHENTAG, J.J.; JUSKO, W.J.; PLAUT, M.E.; CLEMBO, T.J.; VANCE, J.W.; ABRUTYN, E. Tissue persistence of gentamicin in man. JAMA, J. Am. Med. Assoc., 238(4):327, 1977.
57. SCHUMACKER, G.E. Biopharmaceutics and pharmacokinetics. Practical pharmacokinetic techniques for drug consultation and evaluation. IV: Gentamicin blood level versus time profiles of various dosage regimens recommended for renal impairment. Am. J. Hosp. Pharm., 32:299-308, 1975.
58. SEEBER, R.; MAZZOCCHIN, G.A.; MAZZI, U.; REFOSCO, F.; TISATO, F. Electrochemistry of rhenium (V) complexes with bidentate-bidentate and tridentate-bidentate Schiff base ligands. Polyhedron, 5(12):1975-82, 1986.
59. SEEBER, R.; MAZZOCCHIN, G.A.; MAZZI, U.; RONCARI, E.; REFOSCO, F. Transition Met. Chem., 9:315, 1984 apud SEEBER, R.; MAZZOCCHIN, G.A.; MAZZI, U.; REFOSCO, F.; TISATO, F. Electrochemistry of rhenium (V) complexes with bidentate-bidentate and tridentate-bidentate Schiff base ligands. Polyhedron, 5(12):1975-82, 1986.
60. SEEBER, R.; MAZZOCCHIN, G.A.; RONCARI, E.; MAZZI, U. Transition Met. Chem., 6:123, 1981 apud SEEBER, R.; MAZZOCCHIN, G.A.; MAZZI, U.; REFOSCO, F.; TISATO, F. Electrochemistry of rhenium (V) complex with bidentate-bidentate and tridentate-bidentate Schiff base ligands. Polyhedron, 5(12):1975-82, 1986.

61. SYSTEM/360 Continuous system modeling program user's manual, White Plains, N.Y., IBM, 1972.
62. SWED, J.J.; LUFT, F.C.; BLANCK, H.R.; ELLIOTT, R.A.; KEIT, S.A. Comparison of the distribution of tobramycin and gentamicin in body fluids of dogs. Antimicrob. Agents Chemother., 5(5):444-6, 1974.
63. THOMAS, A.H. Comparison of three methods of evaluating the composition of gentamicin sulphate. J. Pharm. Pharmacol., 30:378, 1978.
64. VARESE, L.A.; GRAZIOLO, F.; VIRETTO, A.; ANTONIOLA, P. Single-dose (bolus) therapy with gentamicin in management of urinary tract infection. Int. J. Pediatr. Nephrol., 1:104-5, 1980 apud GOODMAN, L.L. & GILMAN, A. As bases farmacológicas da terapêutica. 7. ed. s.l., Guanabara, 1987. p.754.
65. VEALL, N. & VETTER, H. Técnicas con radioisótopos para la investigación y el diagnóstico em clínica. Buenos Aires, Univ. de Buenos Aires, 1964. p.236 apud ALMEIDA M.A.T.M. Distribuição biológica de heparina marcada com ⁵¹Cr. Estudos farmacocinéticos com o auxílio da análise compartimental. São Paulo, 1979. (Tese de doutoramento, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares).
66. WEINSTEIN, M.J.; LUEDEMANN, G.M.; ODEN, E.M.; WAGMAN, G. H. Gentamicin, new broad spectrum antibiotic complex. In: SYLVESTER, J.C. Antimicrobial agents and chemotherapy. Ann Arbor, Mich., American Society for Micro

- biology, 1964. p.1-7 apud COOPER, D.J.; YUDIS, M.D.; GUTHRIE, R.D.; PRIOR, A.M. The gentamicin antibiotics. Part I: Structure and absolute stereochemistry of methyl garasominide. J. Chem. Soc. (London). C. Org., :960-3, 1971.
67. WEINSTEIN, M.J.; WAGMAN, G.H.; ODEN, E.M.; MARQUEZ, J.A. Biological activity of the antibiotic components of the gentamicin complex. J. Bacteriol., :789-90, Sept. 1967.
68. WERSALL, J.; LUNDQUIST, P.G.; BJÖRKROTH, B. Ototoxicity of gentamicin. J. Infect. Dis., 119:411-6, 1969.
69. WILSON, T.M.; MAHON, W.A.; INABA, I.; JOHNSON, G.E.; KADAR, D. Elimination of triated gentamicin in normal human subjects and in patients with severely impaired renal function. Clin. Pharmacol. Ther., 14(5):815-22, 1973.
70. ZUCAS, S.M.; LAJOLO, F.; BARBÉRIO, J.C. Gaiola metabólica para ratos testados por meio de zinco radioativo ⁶⁵Zn. Rev. Fac. Farm. Bioquim., 7(2):353-9, 1969.