

edly higher with the suppositories prepared with the water-soluble base than with those made with the cocoa butter base. This is particularly noticeable up to 5 hours after the administration of the suppository.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Verfasser haben die rectale Absorption des Streptomycins am Tier (Kaninchen) studiert, indem sie als Excipienssubstanz der Suppositorien zwei verschiedene Produkte anwandten: die Kakaobutter und ein Mischung aus Polyäthylenglykolen (Polyäthylenglykol 6000 75 % und Polyäthylenglykol 1500 15 %).

Die Suppositorien wurden bei 50 mg Streptomycin (in Form von Sulfat) titriert.

Das fuer das Serum destinierte Blut wurde der Marginalvene des Kaninchens 15 Minuten, 30 Minuten, 5, 7, 9, und 11 Studen nach Verabreichung eines einzigen Suppositoriums entnommen.

Die Verfasser haben sich des F. D. A. — Verfahrens zur Bestimmung der Streptomycinkonzentrationen in Serum bedient (Methode der Platten mit Zylindern unter Anwendung des *Bacillus subtilis*).

Die Verabreichung eines einzigen Suppositoriums, 50 mg Streptomycin enthaltend, in der Rectalregion des Kaninchens (in Sulfatform) loest Antibioticumkonzentrationen im Blute aus, die sich schon 15 Minuten spaeter anzeigen, Zeitpunkt, nach Anwendung des Suppositoriums, an welchem die erste Blutentnahme unternommen wurde.

Dies kann nicht nur bei Anwendung der Polyäthylenglykodensuppositorien beobachtet werden sondern auch im Falle des Gebrauchs von Suppositorien, die mit Kakaobutter präpariert wurden. Der einzige Unterschied besteht jedoch darin, dass die Antibioticumkonzentrationen im Blute bei Verabreichung der mit wasserlöslichen Substanzen präparierten Suppositorien bezeichnend höhere Werte erreichen, als unter Anwendung von solchen, die mit Kakaobutter hergestellt wurden. Diese Tatsache ist hauptsächlich bis zu fünf Stunden nach Verabreichung des Suppositoriums erweisbar.

da Ordem dos Farmacêuticos

BIBLIOGRAFIA

- (¹) ADCOCK, J. D. e HETTIG, R. A.: *Arch. Internal Med.*, **77**, 179 (1946).
- (²) BLOCH, L.; MILZER, A. e KERDEMAN, E.: *Gastroenterology*, **12**, 509 (1949).
- (³) BRISOU, J. e ARDISSON, A.: *Ann. inst. Pasteur*, **32**, 603 (1952).
- (⁴) BUGGS, C. W.; PILLING, M. A.; BRONSTEIN, B.; HIRSHFELD, J. W.; WORZNIAK, L. e KEY, L. J.: *J. Clin. Invest.*, **25**, 94 (1945).
- (⁵) CHANG, S. Y. e SU, T. F.: *J. Pediat.*, **38**, 602 (1951).
- (⁶) COCOZZA, G. e FEROLA, R.: *Pediatrics*, **59**, 90 (1951).
- (⁷) DONALDSON, R. C. e BRICKER, E. M.: *A. M. A. Arch. Surg.*, **62**, 118 (1951).
- (⁸) ELSDON-DEW, ARMSTRONG, T. G. e WILMOT, A. J.: *Lancet*, **263**, 104 (1952).
- (⁹) FULLER, F. P.: *Pediat. am.*, **7**, 392 (1949).
- (¹⁰) GORZYNSKI, E. A. e NETER, E.: *Antibiotics and Chemotherapy*, **3**, 798 (1953).
- (¹¹) HEILMAN, D. H.; HEILMAN, F. R.; HINSHAW, H. C.; NICHOLS, D. R. e HERRELL, W. E.: *Am. J. Med. Sci.*, **210**, 576 (1945).
- (¹²) HEILMAN, D. H.; HEILMAN, F. R.; HINSHAW, H. C.; NICHOLS, D. R. e HERRELL, W. E.: *Proc. Staff Meeting Mayo Clinic*, **20**, 408 (1945).

- (¹²) HERFORD, R. A. e STANDARD, S.: *Ann. Surg.*, **128**, 987 (1948).
- (¹¹) HERRELL, W. E. e NICHOLS, D. R.: *Proc. Staff Meeting, Mayo Clinic*, **20**, 449 (1945).
- (¹⁰) HERRELL, W. E. e WELLMAN, W. E.: *M. Clin. North Amer.*, **34**, 319 (1950).
- (⁹) HUGHES, J. D.: *J. Am. Med. Assoc.*, **150**, 1456 (1952).
- (⁸) KANE, L. W. e FOLEY, G. E.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **66**, 201 (1947).
- (⁷) KEEFER, C. S.; BLAKE, F. G.; LOCKWOOD, J. S.; LONG, P. H.; MARSHALL, E. K. Jr. e WOOD, W. B. Jr.: *J. Am. Med. Assoc.*, **132**, 4 (1946).
- (⁶) KIRSCHNER, W. F.: *N. Y. State J. Med.*, **46**, 525 (1946).
- (⁵) LIEBERMAN, W.: *N. Y. State J. Med.*, **46**, 2178 (1946).
- (⁴) MANDEL E. E. e THAYER J. D., *Fred. Proc.*, **6**, 353 (1947).
- (³) MANTEROLA, A.; UNDIRRAGA, O. e MENEGHELLO, J.: *Rev. chilena pediat.*, **22**, 1 (1951).
- (²) MOLITOR H., *Bull. N. Y. Acad. Med.*, **23**, 196 (1947).
- (¹) MORTON, H. S. e SMITH F.: *Arch. Surg.*, **57**, 520 (1948).
- (²³) NICHOLS, D. R. e HERRELL, W. E.: *J. Am. Med. Assoc.*, **132**, 200 (1946).
- (²⁴) NITSCH, K. e ADAMEK, H.: *Monatsschr. Kinderheilk.*, **98**, 21 (1950).
- (²⁵) PICHON, R.: *Maroc. med.*, **28**, 715 (1949).
- (²⁶) PULASKI, E. J. e AMSPACHER, W. H.: *Bull. U. S. Army Med. Dep.*, **6**, 750 (1946).
- (²⁷) PULASKI, E. J. e AMSPACHER, W. H.: *New Engl. J. Med.*, **237**, 419 (1949).
- (²⁸) PULASKI, E. J. e BAKER, H. J.: *J. Lab. Clin. Med.*, **34**, 186 (1949).
- (²⁹) PULASKI, E. J.; CONNELL, J. F., Jr. e SEELEY, S. F., *Ann. Surg.*, **132**, 225 (1950).
- (³⁰) REID, J. J. R.; JENKINS, D. E. e OWEN, C. R.: *Am. J. Med. Sci.*, **218**, 145 (1949).
- (³¹) REIMANN, H. O.; ELIAS, W. F. e PRICE, A. H.: *J. Am. Med. Assoc.*, **128**, 175 (1945).
- (³²) REIMANN, H. A.; PRICE, A. H. e ELIAS, W. F.: *Arch. Internal Med.*, **76**, 269 (1945).
- (³³) REIMANN, W. F. e PRICE, A. H.: *J. Am. Med. Assoc.*, **128**, 175 (1945).
- (³⁴) ROBINSON, H. J.; GRAESSLE e SMITH, D. G.: *Am. J. Med. Sci.*, **209**, 128 (1945).
- (³⁵) ROGS, S.; BURKE, F. G.; RICE, E. C.; BISCHOFF, H. e WASHINGTON, J. A.: *J. Am. Med. Assoc.*, **141**, 183 (1949).
- (³⁶) RUTSTEIN, D. D.; STEBBINS, R. B.; CATHCART, R. T. e HARVEY, R. M.: *J. Clin. Invest.*, **24**, 898 (1945).
- (³⁷) SILVANI, H. L.; ROTHENBERG, S.; WASMER, H.; AMLUXEN, J. e McCORKLE, H. J.: *Surg., Gynecol. Obstet.*, **85**, 721 (1947).
- (³⁸) SMITH, D. G. e ROBINSON, H. J.: *J. Bacteriol.*, **50**, 613 (1945).
- (³⁹) STEBBINS, R. B.; GRAESSLE, O. E. e ROBINSON, H. J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **60**, 68 (1945).
- (⁴⁰) TIETZ, C. J. e SCHNEIDER, P. W.: *Zentr. Bakteriolog., Parasitenk., Abt.*, **156**, 57 (1950).
- (⁴¹) ZIMMERMAN, L. E.; COOPER, M. e GRABER, C. D.: *Am. J. Clin. Pathol.*, **22**, 549 (1952).
- (⁴²) ZINTEL, H. A.; FLIPPIN, H. E.; NICHOLS, A. C.; WILEY, M. M. e RHOADS, J. E.: *Am. J. Med. Sci.*, **210**, 421 (1945).

(Departamento de Investigação e Verificação, Secção de Bacteriologia, dos Laboratórios Atral, de Lisboa).

ESTUDO DO ESTABELECIMENTO DE UMA TÉCNICA DE DOSAGEM MICROBIOLÓGICA DE UMA ASSOCIAÇÃO POLIANTIBIÓTICA: ESTREPTOMICINA, BACITRACINA, NEOMICINA E POLIMIXINA (*)

L. SILVA CARVALHO e MARIA DE LOURDES ALVES SANTOS

Em dado momento, apresentou-se ao Departamento de análises do nosso Laboratório a necessidade de doseamento de cápsulas contendo a mistura de 3 antibióticos, bacitracina, neomicina e estreptomicina (*Tri-Sinerge*) e a de 4: aquelas três citadas substâncias mais a polimixina (*Poli-Sinerge*).

Certas associações poliantibióticas podem apresentar dificuldades na realização da sua dosagem microbiológica individual, por alguns desses antibióticos poderem possuir, simultaneamente, acção inibidora contra o organismo utilizado no ensaio de um deles.

Pode até dar-se a circunstância de dado organismo ser apenas sensível a determinado antibiótico, mas verificar-se efeito sinérgico quando a acção inibidora se exerça em presença de um outro para o qual, isoladamente, tal organismo seria insensível.

Por vezes, a simples especificidade verificada nos organismos e meios de ensaio a utilizar em cada dosagem individual é suficiente para excluir a interferência de dado antibiótico na dosagem de outro. As próprias fracas diluições finais a que é levado um antibiótico interferente na dosagem afectada poderão afastar essa interferência.

O problema que se nos apresentou, antes de mais, foi reconhecer a viabilidade da dosagem de cada um dos antibióticos figurando na citada associação em presença dos outros.

Procedeu-se, pois, como ponto de partida, à dosagem individual de cada um dos componentes do conjunto poliantibiótico, em presença dos outros restantes.

Resultados

Verificou-se que, nas condições analíticas usadas (métodos da F. D. A., *vide* adiante), os ensaios da estreptomicina, da bacitracina e da polimixina — mercê dos organismos e meios culturais próprios e distintos para cada caso — eram realizáveis sem se observar interferência dos outros antibióticos presentes.

No caso, porém, da dosagem da neomicina ocorria interferência que se traduzia por um aumento do diâmetro dos discos de inibição bacteriana.

Procedendo-se à dosagem do mesmo antibiótico em presença apenas de cada um dos outros, reconheceu-se que a interferência era determinada pela associação da estreptomicina.

Nestes ensaios utilizou-se como solução padrão nas placas uma solução de neomicina isolada, para confrontar o diâmetro do disco de inibição bacteriana neste caso com o determinado pela solução mista de neomicina + um dos outros antibióticos.

(*) Trabalho apresentado no 3.º Congresso Luso-Espanhol de Farmácia, Santiago de Compostela, Agosto de 1954.

A presença da estreptomomicina revelou afectar notavelmente os resultados a obter na dosagem da neomicina.

A título esclarecedor, referimos que, numa das dosagens, encontrámos para valor médio do diâmetro de inibição do padrão (solução de neomicina de igual concentração à solução a titular em presença da estreptomomicina) 14 mm, enquanto para a amostra se leu um valor mediano de 29,5 mm, valor exageradíssimo e muito superior àquele.

Nítida e acentuada interferência se observa, pois, na dosagem da neomicina, devido à presença da estreptomomicina.

Um de três caminhos se pode tentar para remover uma tal dificuldade. A inactivação do agente interferente, a sua separação física ou a substituição do organismo de ensaio. Esta substituição poderá não ir além do desenvolvimento prévio de resistência ao antibiótico interferente e a que normalmente era sensível.

Nem sempre são vantajosos, fáceis ou mesmo viáveis tais processos.

A separação física nem sempre é praticável por não completa disparidade de características extractivas das 2 drogas interferentes.

A utilização de organismo de ensaio diferente do estabelecido para dado ensaio, pode, além de criar defeitos de rigor na dosagem, afastar a interferência ocasionada por dado antibiótico mas criar outra, então inexistente, determinada por outro composto — facto sempre possível numa associação poliantibiótica.

A utilização de uma estirpe do organismo do ensaio que adquiriu resistência ao antibiótico interferente apresenta as suas desvantagens e riscos: demora no desenvolvimento da resistência, ensaios prévios para estabelecer a medida de não afectar a dosagem do antibiótico que era interferida, possibilidade de resistência cruzada e a própria dificuldade de manter fixo esse grau de resistência desenvolvida.

Por estas razões, procurámos solucionar o problema que se apresentava por meio de inactivação da estreptomomicina antes da dosagem de neomicina.

Como é óbvio, neste caso, a viabilidade de emprego de dado agente inactivador mede-se pela eficiência inactivante sobre o antibiótico interferente (pelos menos inutilizando a sua acção na concentração em que virá a ficar ao dosear-se a droga que era afectada e nos meios próprios para esta dosagem) e por não exercer efeito prejudicial, nas condições ocorrentes, sobre o antibiótico em doseamento.

A simples citação na bibliografia de que dado produto inactiva o antibiótico que se pretende destruir está longe de constituir, pois, suficiente indicação para a sua possível utilização.

DISPOSIÇÕES EXPERIMENTAIS

— Os métodos de dosagem que seguimos para avaliação de todos os 4 antibióticos foram precisamente os métodos respectivamente estabelecidos pela F. D. A. (Washington). Trata-se de métodos de placas com cilindros, em que os organismos usados são o *Micrococcus flavus*, o *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* (estirpe ATCC pl44), o *Bacillus subtilis* (estirpe ATCC 6633) e a *Brucella bronchiseptica* (estirpe ATCC 4617),

respectivamente nos ensaios de dosagem da bacitracina, da neomicina, da estreptomina e da polimixina B.

— As dosagens praticadas para se avaliar o grau de eficiência dos diferentes produtos experimentados como agentes inactivadores da estreptomina foram de 3 naturezas diferentes:

a) — Dosagens da actividade antimicrobiana da estreptomina, depois de tratamentos inactivantes de soluções simples daquele antibiótico, utilizando como técnica de dosagem o método estabelecido pela F. D. A. para a avaliação deste antibiótico. Como padrão foram usadas tanto soluções de igual título de estreptomina não submetidas a tratamento inactivante, que permitiriam evidenciar a eventual redução sofrida pela actividade inibidora do antibiótico, como solução tampão de fosfatos de pH apropriado que, em caso de dúvida de total inactivação, facultaria uma perfeita interpretação da leitura das placas.

b) — Dosagens da actividade antimicrobiana da estreptomina, depois de submetida ao contacto dos agentes inactivadores, na concentração para que será levada ao dosear-se a neomicina na mistura poliantibiótica e usando meios culturais e organismo de ensaio próprio da dosagem deste último antibiótico.

Na verdade, é nestas condições culturais que interessa que a estreptomina deixe de manifestar a sua actividade antimicrobiana, a fim de permitir a dosagem da neomicina sem exercer interferência.

Nestas dosagens, como é óbvio, usaram-se por idênticas razões, os mesmos padrões referidos no caso anterior.

c) — Dosagens da neomicina em mistura com estreptomina sujeita a tratamento inactivante (tomando como padrão soluções simples de neomicina de igual título).

Podendo uma simples inactivação parcial da estreptomina ser suficiente para afastar totalmente a sua interferência na dosagem da neomicina — dada a relativa especificidade de organismos e meios culturais — estava indicado ultimar o estudo de eficiência dos agentes inactivantes doseando a própria neomicina — aliás, escopo final do trabalho.

d) — Praticaram-se, ainda, os ensaios anteriores procurando inactivar a estreptomina não apenas em presença da neomicina, mas também dos outros antibióticos figurando na associação em análise.

Na realidade, em última análise, ao procurar-se inactivar a estreptomina, para se poder dosear a neomicina, a operação inactivante tem de ocorrer estando presentes os outros antibióticos. Ora nesta condição de ambiente diferente da oferecida por uma simples solução de estreptomina, poderiam, por ventura, os resultados na inactivação deste antibiótico serem um tanto modificados.

— Como para duas fórmulas se pretendia estabelecer o método de dosagem,

Tri - Sinerge
(uma cápsula)

Sulfato de neomicina	25 mg.
Estreptomina (Sulfato)	0,25 g.
Bacitracina	2500 U

Poli - Sinerge
(uma cápsula)

Sulfato de neomicina	25 mg.
Sulfato de Estreptomicina	150 g.
Bacitracina	2500 U
Polimixina B	100.000 U

algumas tentativas de inactivação da estreptomicina foram praticadas considerando as proporções deste antibiótico para a neomicina como 500 mg: 50 mg (2 cápsulas da fórmula 1), enquanto noutras a experimentação incidiu sobre soluções em que aquela proporção se estabelecia em 300 mg: 50 mg (2 cápsulas da fórmula 2).

— Como o efeito de dado agente inactivante poderia ser um tanto diferente consoante a diluição em que se encontrasse e a própria concentração da estreptomicina, apesar de constante a relação dessa substância inactivadora para o antibiótico, todas as tentativas de inactivação foram levadas a efeito em soluções de igual volume: ou numa solução de 200 ml contendo 500 mg de sulfato de estreptomicina (correspondente a 2 cápsulas da fórmula n.º 1) ou 300 mg do sal antibiótico numa solução prefazendo o volume de 100 ml (correspondente a 2 cápsulas da fórmula n.º 2).

— Por comodidade, no texto, sempre que referimos estreptomicina e neomicina foram os respectivos sulfatos que usámos.

PARTE EXPERIMENTAL (continuação)

Procederam-se a ensaios atinentes a apreciar a eficiência inactivante de compostos descritos como agentes inactivadores da estreptomicina, e a estabelecer as quantidades mínimas eficazes para o efeito, consoante a variação de certos factores: pH do meio, tempo de contacto, temperatura.

As substâncias inactivantes experimentadas foram:

Cloreto de semicarbazida

Cloreto de hidroxilamina

Cloreto de cisteína

Ureia

Glicose

ESTUDO COM O CLORETO DE SEMICARBAZIDA

Tem sido referido que o cloreto de semicarbazida é uma substância capaz de impedir a acção antimicrobiana da estreptomicina.

Dosagem da estreptomicina

ESTUDO DO EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO AGENTE INACTIVANTE

Protocolo do tratamento inactivante

1) Fez-se actuar numa solução de 200 ml contendo 500 mg de sulfato de estreptomicina as quantidades, variáveis, de cloreto de semicarba-

zida em seguida referidas, e mantendo o tempo de contacto durante 1 hora, à temperatura ambiente.

- a) — 0,025 g
- b) — 0,050 g
- c) — 0,100 g
- d) — 0,250 g

Resultados (condições do ensaio de dosagem da estreptomicina)

Os valores apontados representam a média dos diâmetros dos círculos de inibição de 12 placas (meios e organismo do ensaio de dosagem da estreptomicina; concentração da estreptomicina (expressa em base): 1,8 mcg/ml).

A *Amostra* corresponde a diâmetros dos discos de inibição obtidos com solução de estreptomicina submetida ao tratamento inactivante; o *Padrão* diz respeito a diâmetros de círculos de inibição resultantes com uma solução do mesmo antibiótico, na mesma concentração, mas não submetido à acção do cloreto de semicarbazida.

- a) — Amostra = 13,58; Padrão = 13,78
- b) — Amostra = 13,30; Padrão = 13,95
- c) — Amostra = 13,11; Padrão = 13,92
- d) — Amostra = 11,07; Padrão = 13,1

Estes valores foram perfeitamente reproduzíveis noutras séries de ensaios. Eis os números encontrados noutros ensaios, em que é manifestamente homólogo o efeito do agente inactivante:

- a) — Amostra = 14,65; Padrão = 14,95
- b) — Amostra = 14,02; Padrão = 15,07
- c) — Amostra = 13,5 ; Padrão = 14,8
- d) — Amostra = 11,77; Padrão = 14,70

Conclusões

Nas condições do ensaio, as quantidades ensaiadas de cloreto de semicarbazida inactivam a estreptomicina apenas parcialmente.

2) Praticaram-se, também, dosagens da estreptomicina submetida a tratamento inactivante, com igual protocolo, mas utilizando o organismo e meios em que actuará no ensaio da dosagem da neomicina.

- a) — 0,025 g
- b) — 0,050 g
- c) — 0,100 g
- d) — 0,250 g

Resultados (condições do ensaio de dosagem da neomicina)

Os valores apresentados correspondem à média dos diâmetros dos círculos de inibição de 12 placas (meios e organismo do ensaio de dosagem da neomicina; concentração do sulfato de estreptomicina igual à diluição em que ficará no ensaio da dosagem da neomicina: 61,6 mcg de base/ml).

A *Amostra* corresponde a diâmetros de círculos de inibição obtidos com solução de sulfato de estreptomicina submetida à acção do cloreto de semicarbazida; o *Padrão*

diz respeito a diâmetros das zonas de inibição do mesmo antibiótico, em igual concentração, mas não sujeito à acção do agente inactivante.

- a) — Amostra = 15,23; Padrão = 15,86
- b) — Amostra = 13,9 ; Padrão = 16,26
- c) — Amostra = 11,5 ; Padrão = 16,3
- d) — Amostra = 10,14; Padrão = 15,89

Conclusões

Confirma-se o crescente poder inactivante do cloreto de semicarbazida, quando se aumentam as quantidades usadas. Porém, se se cotejarem os resultados obtidos neste ensaio, em que se usaram meios de cultura e organismo próprios do ensaio de dosagem da neomicina, com os obtidos com os meios e organismo recomendáveis para a dosagem da estreptomina, repara-se que, para uma mesma concentração de agente inactivante, por exemplo 0,100 g, o poder inactivador do cloreto de semicarbazida se revela mais expressivo. O facto é bem mais acentuado do que a aparência dos números correspondentes nos dois ensaios pode deixar transparecer, considerando que a concentração da estreptomina é, no segundo grupo de ensaios, 34 vezes mais elevada.

A circunstância deve-se ao facto da diferença de sensibilidade ao antibiótico dos organismos usados em cada caso.

Pelos resultados obtidos, pareceria que uma ligeira quantidade de cloreto de semicarbazida superior aos 250 mg usados, seria suficiente, para, nas mesmas condições, determinar inactivação total dos 500 mg de sulfato de estreptomina.

Tal, porém, não sucede, visto que um factor novo, interferente, ocorre.

3) Praticando ensaios de estreptomina com meios e organismo próprios da dosagem deste antibiótico, segundo o protocolo anteriormente descrito, mas usando quantidades mais elevadas de cloreto de semicarbazida:

- e) — 0,300 g
- f) — 0,350 g

Obtiveram-se os seguintes

Resultados

- e) — Amostra = 12,81; Padrão = 15,06
- f) — Amostra = 12,7 ; Padrão = 15,23

Conclusões

Se nada se passasse de anormal, parece que estas quantidades deveriam já ser capazes de inactivar completamente a estreptomina, conside-

rando os resultados obtidos com as quantidades de inactivante inferiores a estas. Esta observação levou-nos a praticar ensaios, adiante, apreciando o efeito, exclusivo, do cloreto de semicarbazida sobre o organismo de ensaio.

Complementando esta observação, praticaram-se mais os seguintes ensaios, utilizando meios e organismo do ensaio de dosagem da neomicina.

Dosagem da neomicina

ESTUDO DO EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO AGENTE INACTIVANTE

Protocolo do tratamento inactivante

4) Fez-se actuar, numa solução de 200 ml incluindo 500 mg de sulfato de estreptomicina e 50 mg de sulfato de neomicina, as quantidades em seguida anotadas de cloreto de semicarbazida e mantendo o tempo de contacto durante 1 hora, à temperatura ambiente.

- c₁) — 0,200 g
- d₁) — 0,250 g
- e₁) — 0,300 g
- f₁) — 0,350 g

Resultados

Os valores anotados constituem a média dos valores dos diâmetros dos círculos de inibição de 10 placas (meios e organismo do ensaio de dosagem da neomicina; concentração do sulfato de estreptomicina igual a 61,6 mcg de base/ml; concentração do sulfato de neomicina igual a 5,6 mcg de base/ml).

A Amostra corresponde à média dos diâmetros dos círculos de inibição obtidos com solução de sulfato de neomicina mais sulfato de estreptomicina submetido à acção do cloreto de semicarbazida; o Padrão reporta-se à média dos diâmetros das áreas de inibição com uma solução de sulfato de neomicina de igual concentração à da anterior solução mista.

- c₁) — Amostra = 16,17 ; Padrão = 15,60
- d₁) — Amostra = 15,80 ; Padrão = 15,55
- e₁) — Amostra = 16,08 ; Padrão = 15,36
- f₁) — Amostra = 16,07 ; Padrão = 15,55

Conclusões

Também nestas condições analíticas, à medida que cresce a quantidade de cloreto de semicarbazida até 0,250 g, para inactivar os 500 mg de sulfato de estreptomicina, nas condições do ensaio, o efeito destruidor da actividade antibiótica vai-se progressivamente acentuando. Para valores acima, deixa de se observar essa acentuação. Até quase parece observar-se, à medida que cresce agora a proporção de agente inactivante, um muito ligeiro aumento dos diâmetros de inibição bacteriana. Embora a aparente sistematização do facto notado nos resultados, tal pequeno acréscimo poderia caber dentro dos pequenos afastamentos do método biológico de análise.

ESTUDO DO EFEITO DO CLORETO DE SEMICARBAZIDA SOBRE A CULTURA MICROBIANA

(condições do ensaio de dosagem da estreptomycin)

Como a parcela de actividade que se mantém nos ensaios em que se usou maiores concentrações de agente inactivante poderia ser devida a uma inibição bacteriana provocada pelo próprio cloreto de semicarbazida, encobrindo uma inactivação já total da estreptomycin, praticaram-se os seguintes ensaios:

Protocolo do tratamento inactivante

5) Fez-se actuar, numa solução de 200 ml contendo 500 mg de sulfato de estreptomycin, as quantidades, variáveis, de cloreto de semicarbazida em seguida referidas, e mantendo o tempo de contacto durante 1 hora, à temperatura ambiente.

- a') — 0,025 g
- b') — 0,050 g
- c') — 0,100 g
- d') — 0,250 g

Resultados

Os valores assinalados correspondem à média dos diâmetros dos círculos de inibição bacteriana de 12 placas, utilizando meios e organismo do ensaio de dosagem da estreptomycin; concentração da estreptomycin (expressa em base): 1,8 mcg/ml.

A *Amostra* relaciona-se com os diâmetros dos discos de inibição obtidos com a solução estreptomycinica submetida à acção do agente inactivante; o *Padrão* refere-se a diâmetros de círculos de inibição obtidos com soluções de cloreto de semicarbazida em concentrações iguais às que resultaram ao diluírem-se as soluções de estreptomycin submetidas às várias quantidades do inactivante.

- a') — Amostra = 14,30; Padrão = 11,79
- b') — Amostra = 13,45; Padrão = 12,86
- c') — Amostra = 12,62; Padrão = 12,45
- d') — Amostra = 11,42; Padrão = 11,5

Conclusões

Como se observa, a própria solução do agente inactivante exerceu, aparentemente, um certo efeito inibidor, o que, na realidade, permite mascarar uma inactivação total do antibiótico nos ensaios anteriores. Evidentemente que para se reconhecer tal efeito bastaria encher cilindros nas placas com solução do inactivante em tampão. Operando tal como se procedeu, pôde-se verificar, porém, por um lado, que o efeito, sendo independente da quantidade de cloreto de semicarbazida, poderia ser ocasionado não verdadeiramente por esta substância, mas pelo simples tampão usado na obtenção da sua solução e, por outro, levou ao reconhecimento de que as zonas de inibição anotadas como resultados para 1), d) podem já não traduzir qualquer actividade estreptomycinica, mas apenas o efeito do próprio tampão dissolvente, efeito verificado nas condições do ensaio.

ESTUDO DO EFEITO DO SIMPLES TAMPÃO DE FOSFATO

(condições do ensaio de dosagem da estreptomicina)

A circunstância do efeito inibidor se mostrar nos ensaios anteriores independente da concentração de cloreto de semicarbazida levou-nos a praticar ainda uma outra série de ensaios, tendo em vista verificar se essa zona de inibição que se apresenta independente da quantidade de agente inactivante poderia ser determinada pelo simples dissolvente, isto é, pelo tampão de fosfatos a pH 7,8-8,0.

Protocolo do tratamento inactivante

6) Fez-se actuar, numa solução de 200 ml contendo 500 mg de sulfato de estreptomicina as quantidades, variáveis, de cloreto de semicarbazida em seguida referidas, e mantendo o tempo de contacto durante 1 hora à temperatura ambiente.

- a'') — 0,025 g
 b'') — 0,050 g
 c'') — 0,100 g
 d'') — 0,250 g
 f'') — 0,350 g

Resultados

Os valores assinalados correspondem à média dos diâmetros dos círculos de inibição bacteriana de 12 placas, utilizando meios e organismo de ensaio de dosagem da estreptomicina; concentração da estreptomicina (expressa em base): 1,8 mcg/ml.

A Amostra relaciona-se com os diâmetros dos discos de inibição obtidos com solução de estreptomicina submetida à acção do agente inactivante; o Padrão reporta-se a diâmetros de círculos de inibição obtidos com simples solução de tampão de fosfato.

- a'') — Amostra = 13,9 ; Padrão = 12,63
 b'') — Amostra = 13,95; Padrão = 12,74
 c'') — Amostra = 12,6 ; Padrão = 11,34
 d'') — Amostra = 11,36; Padrão = 10,53
 f'') — Amostra = 12,8 ; Padrão = 10,0

Conclusões

Como se tornava de suspeitar, o simples tampão de fosfato a pH 7,8-8,0 usado como dissolvente na dosagem da estreptomicina (bem como na da neomicina) promove nas condições do ensaio, discos de inibição.

O facto do simples tampão de fosfato utilizado como dissolvente, determinar por si zonas de inibição, circunstância um tanto surpreendente e perturbadora dos ensaios praticados nas condições referidas, poder-se-ia deixar de observar quando a avaliação do grau de inactivação da estreptomicina for apreciado não empregando meios de cultura e organismo usáveis propriamente na dosagem da estreptomicina, mas utilizando os meios e organismos preconizados na dosagem da neomicina.

O problema que nos interessa resolver é precisamente impedir a actividade antimicrobiana da estreptomicina quando se doseie a neomicina.

Praticaram-se, então, mais os seguintes ensaios:

ESTUDO DO EFEITO DO CLORETO DE SEMICARBAZIDA SOBRE A CULTURA MICROBIANA (continuação)

(condições do ensaio de dosagem da neomicina)

Protocolo do tratamento inactivante

6) Fez-se actuar, numa solução de 200 ml contendo 500 mg de sulfato de estreptomina, as quantidades, variáveis, de cloreto de semicarbazida em seguida referidas, e mantendo o tempo de contacto durante 1 hora, à temperatura ambiente.

- a'') — 0,025 g
- b'') — 0,050 g
- c'') — 0,100 g
- d'') — 0,250 g

Resultados

Os valores apontados representam a média dos diâmetros dos círculos de inibição de 12 placas (meios e organismo de ensaio do método de dosagem da neomicina; concentração da estreptomina (expressa em base): 61,6 mcg/ml).

A Amostra corresponde a diâmetros dos discos de inibição obtidos com solução de estreptomina submetida ao tratamento inactivante; o Padrão refere-se a diâmetros de círculos de inibição obtidos com soluções de cloreto de semicarbazida em concentrações iguais às que resultaram ao diluírem-se as soluções de estreptomina submetidas às várias quantidades do inactivante.

- a''') — Amostra = 14,75; Padrão = sem inibição
- b''') — Amostra = 14,06; Padrão = » »
- c''') — Amostra = 12,05; Padrão = » »
- d''') — Amostra = 10,27; Padrão = » »

Conclusões

Enquanto a solução de semicarbazida em tampão de fosfato de pH 7,8-8,0, determinava zonas de inibição quando se usavam meios e organismo culturais próprios da dosagem da estreptomina, essa mesma solução nenhuma inibição mostrou exercer no caso de se usarem os meios e organismo estabelecidos para a dosagem da neomicina e isto apesar da concentração final em agente inactivante da diluição que se encheu os cilindros ser muito mais elevada neste último caso.

Estes resultados levariam, necessariamente, a aceitar que o simples tampão de fosfatos, no ensaio praticado nas condições de dosagem da neomicina, não determinaria zonas de inibição.

Os resultados obtidos nos ensaios seguintes assim o vieram confirmar.

ESTUDO DO EFEITO DO SIMPLES TAMPÃO DE FOSFATOS

(condições do ensaio de dosagem da neomicina)

Protocolo do tratamento inactivante

7) Fez-se actuar, numa solução de 200 ml contendo 500 mg de sulfato de estreptomina as quantidades, variáveis, de cloreto de semicarba-

zida em seguida referidas e mantendo o tempo de contacto durante 1 hora, à temperatura ambiente.

- a''''') — 0,025 g
 b''''') — 0,050 g
 c''''') — 0,100 g
 d''''') — 0,250 g

Resultados

Os resultados apontados representam a média dos diâmetros dos círculos de inibição de 12 placas (meios e organismo do ensaio de dosagem da neomicina: concentração da estreptomicina (expressa em base): 61,6 mcg/ml).

A *Amostra* corresponde a diâmetros dos discos de inibição obtidos com solução de estreptomicina submetida ao tratamento inactivante; o *Padrão* corresponde a diâmetros de círculos de inibição obtidos com o simples tampão de fosfatos de pH 7,8-8,0.

- a''''') — Amostra = 14,7 ; Padrão = sem inibição
 b''''') — Amostra = 13,71; Padrão = » »
 c''''') — Amostra = 11,18; Padrão = » »
 d''''') — Amostra = 10,18; Padrão = » »

Conclusões

O tampão de fosfato a pH 8,0, quando enchendo cilindros aplicados em placas com meios e organismo usados na dosagem da neomicina não determina zonas de inibição microbiana. Neste caso, usa-se o *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*, ao contrário do que sucedia quando se utilizava os meios e organismos próprios para a dosagem da estreptomicina em que se empregava *Bacillus subtilis*.

ESTUDO DO EFEITO DO PROLONGAMENTO DE CONTACTO E DO AUMENTO DE TEMPERATURA

(condições do ensaio de dosagem da neomicina)

Nestes ensaios, teve-se em vista duas ordens de objectivos.

a) — Verificar se a modificação das circunstâncias duração do tratamento inactivante e aumento da temperatura, durante a sua ocorrência, acentuavam o efeito inactivante do cloreto de semicarbazida sobre a estreptomicina.

b) — Verificar se o prolongamento do tempo de contacto e/ou a elevação de temperatura, durante o tratamento inactivante, permitiriam eliminar completamente a pequena zona de inibição ainda verificada quando se utilizava 0,250 g de cloreto de semicarbazida. O uso de quantidades superiores de inactivante (resultados dos ensaios de 3) e 4) mostrou não resolver o problema, pois se observava acréscimo dos diâmetros das áreas de inibição.

Para se poder denunciar uma eventual maior acção por um lapso de tempo de contacto mais prolongado, ou por elevação de temperatura,

convinha-nos avaliar o efeito de uma quantidade ligeiramente inferior de cloreto de hidroxilamina (0,0200 g). Como, por outro lado, para se poder cotejar perfeitamente os diâmetros dos discos de inibição encontrados nos ensaios em que o tempo de contacto foi de 1 hora com os resultantes quando se passou para 6 horas, ou se fez subir a temperatura, havia necessidade de todas as provas terem sido realizadas nas mesmas condições, isto é, usando precisamente a mesma suspensão do organismo (visto que, segundo a sua concentração, os diâmetros de inibição seriam variáveis), houve que, neste momento, praticar um ensaio não só com 0,200 g mas repetir o já feito anteriormente com 0,250 g e cujos valores não poderiam facilmente ser cotejados com os que agora se viessem a encontrar aumentando o tempo de contacto do agente inactivante, ou elevando a temperatura.

Por isso executaram-se as seguintes provas:

Protocolo do tratamento inactivante

9) Fez-se actuar, numa solução de 200 ml contendo 500 mg de sulfato de estreptomicina, 0,250 g de cloreto de semicarbazida.

Experimentou-se 0,200 g por ser uma quantidade ligeiramente inferior àquela que, à temperatura ambiente, por contacto de 1 hora, quase promovia total desaparecimento de zonas de inibição, (0,250 g) e que, por isso, se poderia prestar melhor a deixar reconhecer o reforçamento de acção pelo aumento do tempo de contacto ou pelo acréscimo da temperatura, durante o tratamento inactivante.

Resultados

Os valores assinalados representam a média dos diâmetros dos círculos de inibição de 10 placas (meios e organismo de ensaio do método de dosagem da neomicina; concentração da estreptomicina (expressa em base): 61,6 mcg/ml).

A *Amostra* corresponde a diâmetros dos círculos de inibição resultantes de uma solução de estreptomicina submetida ao tratamento inactivante; o *Padrão* representa a média dos diâmetros das zonas de inibição obtidas com uma solução de igual antibiótico e em igual concentração à das soluções das Amostras, mas não submetida a acção do agente inactivante.

Condições de tratamento	0,200 g de cloreto de semicarbazida		0,250 g de cloreto de semicarbazida	
	Amostra	Padrão	Amostra	Padrão
1 hora à temp. amb.	10,09	15,3	9,05	15,3
6 horas à temp. amb.	9,26	15,3	Inibição só no diâmetro do cilindro	15,57
1 hora a 60°	Inibição só no diâmetro do cilindro	15,05	Inibição só no diâmetro do cilindro	14,9
6 horas a 60°	Inibição só no diâmetro do cilindro	14,9	Inibição só no diâmetro do cilindro	15,0

Conclusões

Como se reconhece pelos resultados obtidos, tanto o prolongamento do tempo de acção do cloreto de semicarbazida, como a elevação de temperatura, esta por uma forma mais acentuada do que aquele, reforçam ligeiramente o efeito inactivante do cloreto de semicarbazida.

CONCLUSÕES GERAIS SOBRE A UTILIZAÇÃO DO CLORETO DE SEMICARBAZIDA

I — Esta substância, na quantidade apropriada — que vimos ser, nas condições que estabelecemos para a técnica inactivante, à volta de 250 mg para inactivar 500 mg de sulfato de estreptomina — antagoniza quase totalmente este antibiótico, mas não completamente.

II — O aumento da quantidade de agente inactivante não revelou qualquer benefício.

III — A dosagem da estreptomina após tratamento inactivante é, nestas concentrações residuais, fracas, da quantidade remanescente que escapou à inactivação, praticamente impraticável pelo método da F. D. A., para a dosagem da estreptomina, devido a que, nestas condições, o simples tampão de fosfatos, dissolvente do antibiótico, dá, embora ligeiras, zonas aparentes de inibição.

IV — Tal facto deixa, porém, de se observar quando se pratica a dosagem da estreptomina inactivada, não nos meios e com o organismo estabelecido pela F. D. A., mas com os meios e organismo recomendado para a dosagem da neomicina.

Como precisamente o que temos em vista neste trabalho é estabelecer a possibilidade de dosagem da neomicina sem ser afectada pela estreptomina presente, a circunstância de o tampão de fosfatos não dar, neste caso, as zonas de inibição observadas com o *Bacillus subtilis*, representa uma circunstância favorável para o rigor do ensaio.

V — Tanto o prolongamento, de 1 hora para 6 horas à temperatura ambiente, do tratamento inactivante, como a elevação de temperatura, da ambiente para 60° C, durante esse tratamento, mostraram acentuar ligeiramente a acção inactivadora do cloreto de semicarbazida sobre a estreptomina.

O reconhecimento desta circunstância permitiu, praticamente, inactivar a totalidade da estreptomina, isto é, reduzir a zero a zona de inibição cultural, quando o ensaio se praticou usando os meios e organismo do ensaio de dosagem da neomicina. Deste modo, tornou-se viável, dosear, com rigor, os 50 mg de sulfato de neomicina em presença dos 500 mg de sulfato de estreptomina inactivado.

ESTUDO COM O CLORETO DE HIDROXILAMINA

A hidroxilamina tem sido referida como outra substância que antagoniza a actividade da estreptomina (*).

Dosagem da estreptomina

Com este agente inactivante, começou por se estudar o seu efeito doseando a estreptomina submetida a tratamento, mas nas concentrações e utilizando os meios em que ficará no ensaio da dosagem da neomicina.

ESTUDO DO EFEITO DA CONTRAÇÃO DO AGENTE INACTIVANTE

Protocolo do tratamento inactivante

1) Fez-se actuar numa solução de 200 ml contendo 500 mg de sulfato de estreptomina de quantidades, variáveis, de cloreto de hidroxilamina em seguida apontadas e mantendo o tempo de contacto durante 1 hora, à temperatura ambiente.

Procedeu-se, simultaneamente, a idêntico ensaio inactivando a estreptomina não isoladamente, mas em presença dos outros antibióticos.

- a) — 0,01 g
- b) — 0,02 g
- c) — 0,05 g

Resultados (condições do ensaio de dosagem da neomicina)

Os valores apontados representam a média dos diâmetros de círculos de inibição de 10 placas (meios e organismo do ensaio da neomicina; concentrações do sulfato de estreptomina igual à diluição em que ficará no ensaio de dosagem da neomicina).

A *Amostra* corresponde a diâmetros obtidos com solução de sulfato de estreptomina submetida ao tratamento inactivante; o *Padrão* são diâmetros resultantes com uma solução do mesmo antibiótico em igual concentração, mas não sujeito à acção do cloreto de hidroxilamina.

- a) — Amostra = 14,54; Padrão = 14,95
- b) — Amostra = 13,42; Padrão = 14,42
- c) — Amostra = 12,91; Padrão = 14,79

Conclusões

Nestas quantidades, proporções relativas e condições, o cloreto de hidroxilamina mostra inactivar a estreptomina só reduzidamente.

Os ensaios praticados doseando-se a estreptomina tratada em presença dos outros antibióticos deu igualmente resultados confirmando o desprezível efeito inibidor nas quantidades usadas.

Dosagem da neomicina

Por este motivo, passou a experimentar-se em maiores quantidades, mas praticando-se antes o exame nas condições em que, em última análise, ocorre no problema a solucionar, isto é, inactivação da estreptomina na dosagem da neomicina.

Protocolo do tratamento

2) Fez-se actuar, numa solução de 200 ml contendo 500 mg de sulfato de estreptomina e 50 mg de sulfato de neomicina, as quantidades de cloreto de hidroxilamina em seguida assinaladas e mantendo o tempo de contacto durante 1 hora, à temperatura ambiente.

- k) — 0,4 g
- l) — 0,8 g
- m) — 1,0 g

Resultados

Os valores apontados representam a média dos diâmetros de círculos de inibição de 10 placas (meios e organismo do ensaio da neomicina; concentrações do sulfato de estreptomina igual à diluição em que ficará no ensaio de dosagem da neomicina).

A *Amostra* corresponde a diâmetros obtidos com solução de sulfato de neomicina e de sulfato de estreptomina submetida ao tratamento inactivante; o *Padrão* reporta-se a diâmetros obtidos com uma solução de sulfato de neomicina de igual concentração.

- k) — Amostra = 13,0 ; Padrão = 13,31
- l) — Amostra = 12,5 ; Padrão = 13,18
- m) — Amostra = 11,94 ; Padrão = 13,21

Conclusões

Estes resultados levantam a suspeita de que as quantidades de cloreto de hidroxilamina ensaiadas exercem um efeito destrutivo sobre a própria neomicina, visto que, à medida que as proporções de inactivante aumentam, também, progressivamente, vão sendo cada vez mais reduzidas as zonas de inibição cultural em relação às obtidas com a solução de neomicina não submetida ao efeito do inactivante.

Para se tentar confirmar esta hipótese, estudou-se o efeito do cloreto de semicarbazida sobre a neomicina isoladamente nos ensaios a seguir.

ESTUDO DO EFEITO DO CLORETO DE HIDROXILAMINA SOBRE A NEOMICINA**Protocolo do tratamento inactivante**

3) Fez-se actuar, numa solução de 200 ml contendo 50 mg de sulfato de neomicina, as quantidades de cloreto de hidroxilamina em seguidas anotadas e manteve-se o tempo de contacto por 1 hora, à temperatura ambiente.

- h) — 0,20 g
- i) — 0,24 g
- j) — 0,28 g
- k) — 0,40 g
- l) — 0,80 g
- m) — 1,00 g

Resultados

Os valores anotados representam a média dos diâmetros dos círculos de inibição de 10 placas (meios e organismo do ensaio de dosagem da neomicina).

A *Amostra* corresponde a diâmetros obtidos com soluções de neomicina submetidas à acção do cloreto de hidroxilamina; o *Padrão* a diâmetros de zonas de inibição obtidas com uma solução do mesmo antibiótico de igual concentração, mas não sujeita à acção do cloreto de hidroxilamina.

- h) — Amostra = 13,91; Padrão = 13,95
- i) — Amostra = 13,78; Padrão = 13,32
- j) — Amostra = 13,38; Padrão = 13,84
- k) — Amostra = 13,68; Padrão = 13,72
- l) — Amostra = 12,17; Padrão = 13,6
- m) — Amostra = 12,55; Padrão = 13,98

Conclusões

Estes valores parecem confirmar que as quantidades mais elevadas de cloreto de hidroxilamina exercem, pelo contacto de 1 hora, à temperatura ambiente, um efeito parcialmente destruidor sobre a neomicina.

Dosagem da estreptomina (continuação)

Em virtude destes resultados, passou-se a estudar o efeito inactivante utilizando quantidades ligeiramente superiores às inicialmente usadas, mas inferiores às que se reconheceu parecerem actuar prejudicialmente sobre a própria neomicina.

ESTUDO DO EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO AGENTE INACTIVANTE (continuação)

Protocolo do tratamento inactivante

4) Fez-se actuar, numa solução de 200 ml contendo 500 mg de sulfato de estreptomina as quantidades adiante registadas de cloreto de hidroxilamina, e mantendo o tempo de contacto durante 1 hora, à temperatura ambiente.

- d) — 0,10 g
- e) — 0,12 g
- f) — 0,14 g
- g) — 0,16 g
- h) — 0,20 g
- i) — 0,24 g
- j) — 0,28 g

Resultados (condições do ensaio de dosagem da neomicina)

Os valores apontados representam a média dos diâmetros dos círculos de inibição de 10 placas (meios e organismo do ensaio da neomicina; concentrações do sulfato de estreptomina iguais àquelas em que ficará no ensaio de dosagem da neomicina).

A *Amostra* corresponde a diâmetros obtidos com solução de sulfato de estreptomicina submetido ao tratamento inactivante; o *Padrão* são diâmetros resultantes com uma solução do mesmo antibiótico em igual concentração, mas não sujeito à acção do cloreto de hidroxilamina.

d) — *Amostra* = 10,82; *Padrão* = 15

e) — *Amostra* = Zonas
com o aspecto
idêntico ao das
obtidas com tam-
pão de fosfatos,
isto é, inibição
nula;

Padrão = 15,4

f) — *Amostra* = idem; *Padrão* = 15,88

g) — *Amostra* = idem; *Padrão* = 14,96

h) — *Amostra* = idem; *Padrão* = 15,35

i) — *Amostra* = idem; *Padrão* = 15,04

j) — *Amostra* = idem; *Padrão* = 16,01

Conclusões

Segundo os resultados obtidos, o cloreto de hidroxilamina, nas condições do ensaio, inactivaria os 500 mg de estreptomicina, de forma a esta ficar impedida de provocar inibição do organismo de ensaio na concentração em que vem a ficar nas diluições praticadas no ensaio de dosagem da neomicina, em quantidades superiores a 0,10 g, valor que ainda não determinaria uma inactivação completa da estreptomicina.

Dosagem da neomicina (continuação)

Interessou-nos, pois, confirmar o comportamento destas quantidades de cloreto de hidroxilamina, mas propriamente no ensaio de dosagem da neomicina.

da Ordem dos Farmacêuticos

ESTUDO DO EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO AGENTE INACTIVANTE (continuação)

Protocolo do tratamento inactivante

5) Fez-se actuar, numa solução de 200 ml contendo 500 mg de sulfato de estreptomicina e 50 mg de sulfato de neomicina, as quantidades adiante anotadas de cloreto de hidroxilamina, e mantendo a actuação durante o lapso de tempo de 1 hora, à temperatura ambiente.

c') — 0,05 g

h') — 0,20 g

i') — 0,24 g

j') — 0,28 g

Resultados

Os valores indicados constituem a média dos diâmetros dos discos de inibição de 10 placas (meios e organismo do ensaio da neomicina). A *Amostra* corresponde a diâmetros obtidos com solução de neomicina e estreptomina submetida à acção do cloreto de hidroxilamina; o *Padrão* a diâmetros de círculos de inibição ocasionados por uma solução de neomicina, da mesma concentração.

- c') — *Amostra* = 13,7 ; *Padrão* = 12,4
h') — *Amostra* = 13,23; *Padrão* = 12,55
i') — *Amostra* = 12,99; *Padrão* = 12,88
j') — *Amostra* = 12,54; *Padrão* = 12,82

Conclusões

Confirma-se, doseando a estreptomina usando os meios e organismo próprios do ensaio de dosagem da neomicina, que o cloreto de hidroxilamina pode ser usado até cerca de 0,25 g para inactivar, nas condições do ensaio, os 500 mg de sulfato de estreptomina, sem começar a exercer efeito prejudicial sobre a neomicina.

ESTUDO DO EFEITO DO CLORETO DE HIDROXILAMINA SOBRE O ORGANISMO DE ENSAIO

GRAY e LAMBERT⁽⁶⁾ observaram que o cloreto de hidroxilamina exercia um efeito inibidor sobre o *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*, ou seja, o organismo usado na dosagem da neomicina na concentração de 1:800.

Interessou-nos verificar se, por ventura, nas condições do ensaio, o inactivante exerceria algum efeito sobre o organismo de ensaio.

Protocolo experimental

6) Prepararam-se soluções aquosas contendo 0,28 g e 0,40 g de cloreto de hidroxilamina em 200 ml que, depois, se diluíram com tampão de fosfatos de pH 8, de forma a resultarem soluções com iguais concentrações de inactivante às que apresentam as soluções 4), j) e 7), k).

Resultados

A *Amostra* reporta-se às soluções de cloreto de hidroxilamina. O *Padrão* era tampão de fosfatos a pH 8.

Tanto com a *Amostra* (em qualquer das diluições) como com o *Padrão*, não se obtiveram zonas de inibição cultural.

Conclusões

Nas condições do ensaio, a quantidade de cloreto de hidroxilamina usada não exerceu efeito sobre o *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*.

ESTUDO DO EFEITO DO TEMPO DE CONTACTO DO AGENTE INACTIVANTE

Protocolo do tratamento inactivante

7) Fez-se actuar, numa solução de 200 ml contendo 500 mg de sulfato de estreptomicina e 50 mg de sulfato de neomicina, 0,05 g de cloreto de hidroxilamina — quantidade que, anteriormente, por contacto de 1 hora, se reconheceu ser nitidamente insuficiente para inactivar totalmente a estreptomicina — mantendo o contacto inactivante por 6 horas, à temperatura ambiente.

Resultados

Os valores indicados constituem a média dos diâmetros dos discos de inibição de 10 placas (meios e organismo do ensaio da neomicina). A *Amostra* corresponde a diâmetros obtidos com solução de neomicina e estreptomicina submetida à acção do cloreto de hidroxilamina; o *Padrão* a diâmetros de círculos de inibição ocasionados por uma solução de neomicina, da mesma concentração.

c'') — *Amostra* = 13,2; *Padrão* = 12,8

Conclusões

Não parece que o aumento do tempo de contacto amplie, apreciavelmente, o efeito inibidor do cloreto de hidroxilamina sobre a estreptomicina.

ESTUDO DO EFEITO DA TEMPERATURA

8) Praticaram-se ensaios precisamente com o mesmo protocolo do anterior, mas em que o contacto num foi de 1 hora (c''') e no outro de 6 horas (c''''), em ambos mantidos à temperatura de 60°.

Resultados

c''') — *Amostra* = 13,56; *Padrão* = 12,54

c''''') — *Amostra* = 12,7; *Padrão* = 12,87

Conclusões

O aumento da temperatura parece ampliar o efeito inactivador do cloreto de hidroxilamina sobre a estreptomicina.

Particularmente quando a temperatura de 60° se prolonga por 6 horas, o efeito destruidor da estreptomicina é bem reforçado, mas é, possível, que nestas condições, também a própria neomicina sofra destruição parcial.

VERIFICAÇÃO DE QUE A ELEVAÇÃO DE TEMPERATURA NÃO EXERCE EFEITO DESTRUTIVO SOBRE A NEOMICINA

Os ensaios anteriores pressupuseram a verificação de que o Poli-Sinerge podia ser submetido ao aquecimento a 60° sem se verificar alteração da neomicina.

Para isso procedeu-se ao seguinte ensaio.

Protocolo do tratamento inactivante

9) Submeteu-se a aquecimento a 60°, por 2 horas, a solução aquosa de Poli-Sinerge (os 4 antibióticos) numa quantidade tal que incluía 50 mg de sulfato de neomicina em 200 ml, diluindo-se depois com tampão de fosfatos de pH 8, até à concentração habitual daquele antibiótico.

Resultados

Os valores apontados constituem a média dos diâmetros dos círculos de inibição de 10 placas (meios e organismo do ensaio da neomicina).

A *Amostra* corresponde a diâmetros obtidos com a solução de Poli-Sinerge aquecido; o *Padrão* a diâmetros resultantes com igual solução não submetida a aquecimento.

Amostra = 14,78; Padrão = 14,65

Conclusões

O aquecimento de Poli-Sinerge a 60°, durante 2 horas, não afectou a neomicina.

CONCLUSÕES GERAIS SOBRE A POSSIBILIDADE DE EMPREGO DO CLORETO DE HIDROXILAMINA

I) — O cloreto de hidroxilamina revelou poder inactivante sobre a estreptomina, tanto em ensaios com o organismo e meios especificados pela F. D. A. para a dosagem deste antibiótico, como nas condições protocolares estabelecidas pelo mesmo compêndio de métodos para a dosagem da neomicina.

A quantidade necessária de cloreto de hidroxilamina a usar para inactivar 500 mg de sulfato de estreptomina, nas condições apontadas (200 ml de solução, 1 hora de contacto à temperatura ambiente), no ensaio de dosagem da neomicina, isto é, ficando na concentração final de 61,6 mcg de estreptomina base por ml, anda à volta de 0,25 g.

II) Se a quantidade de agente inactivante for aumentada, surge uma causa de erro. Ao usarem-se proporções mais elevadas de cloreto de hidroxilamina, passa a exercer-se um efeito destruidor sobre a própria neomicina.

Em resumo, o cloreto de hidroxilamina presta-se muito bem para inactivar a estreptomina, permitindo a dosagem da neomicina em presença daqueloutro antibiótico, sem exercer interferência, desde que o inactivante seja utilizado numa quantidade criteriosamente escolhida.

ESTUDO COM O CLORETO DE CISTEÍNA

Tem sido largamente reconhecido que a cisteína antagoniza a acção antibacteriana da estreptomina (2, 4, 7, 9).

Dosagem da estreptomina

ESTUDO DO EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO AGENTE INACTIVANTE

1) Com solução aquosa prefazendo 100 ml, fez-se actuar sobre 300 mg de estreptomina, as quantidades, variáveis, de cloreto de cisteína adiante

assinaladas, mantendo o tempo de contacto durante 1 hora à temperatura ambiente.

- a) — 1,0 g
- b) — 2,5 g
- c) — 3,0 g

Nota: As soluções obtidas respectivamente com as quantidades expressas em a), b) e c) apresentam, respectivamente, os valores de pH de 1,65, 1,40 e 1,35. Depois da adequada diluição com tampão de fosfatos a pH 7,8 - 8,0 ficam a possuir o valor de pH do diluente.

Resultados (condições do ensaio de dosagem da estreptomicina)

Os valores apontados representam a média dos diâmetros dos círculos de inibição de 10 placas (meios e organismo do ensaio da neomicina; concentração do sulfato de estreptomicina igual à diluição em que ficará no ensaio de dosagem da neomicina: 73 mcg/ml). A *Amostra* corresponde a diâmetros obtidos com solução de sulfato de estreptomicina submetida ao tratamento inactivante; o *Padrão* são diâmetros resultantes com uma solução do mesmo antibiótico em igual concentração, mas não sujeito à acção do cloreto de hidroxilamina.

- a) — Amostra = 15,7; Padrão = 17,7
- b) — Amostra = 12,8; Padrão = 18
- c) — Amostra = 11,7; Padrão = 17,5

Conclusão

As quantidades usadas de cloreto de cisteína, nas condições do ensaio, inactivam parcialmente a estreptomicina. A quantidade de 2,5 g quase inactiva, nas condições do ensaio, os 300 mg de sulfato de estreptomicina.

Aparentemente, 3,0 g ainda não inactivariam totalmente, visto para a Amostra ainda se obter zonas de inibição. Se se ponderar, porém, que nas condições do presente ensaio, o simples tampão de fosfatos determina zonas de inibição, poderemos suspeitar que, com esta última quantidade de cloreto de cisteína, já a inactivação da estreptomicina seja total.

A fim de se esclarecer se assim sucede, e se os discos de inibição cultural são apenas determinados pela solução tampão veiculante da estreptomicina inactivada, praticaram-se os ensaios seguintes.

Dosagem da neomicina

ESTUDO DO EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO AGENTE INACTIVANTE

(continuação)

Como no ensaio segundo o protocolo da dosagem da neomicina, isto é, utilizando meios e organismo próprio deste ensaio, deixa de se observar inibição da cultura por efeito do simples tampão, doseou-se nestas condições a estreptomicina inactivada para se observar se os 2,5-3,0 g de cloreto de cisteína já eram realmente suficientes.

Protocolo do tratamento inactivante

2) Fez-se actuar numa solução de 100 ml, contendo 300 mg de sulfato de estreptomina e 50 mg de sulfato de neomicina, as quantidades de cloreto de cisteína adiante apontadas, mantendo o lapso de tempo de contacto durante 1 hora, à temperatura ambiente.

a) — 1,0 g

b) — 2,5 g

Resultados

Os valores indicados constituem a média dos diâmetros dos discos de inibição de 10 placas (meios e organismo do ensaio da neomicina). A *Amostra* corresponde a diâmetros obtidos com solução de neomicina e estreptomina submetida à acção do cloreto de cisteína; o *Padrão* a diâmetros de círculos de inibição ocasionados por uma solução de neomicina, da mesma concentração.

a) — Amostra = 15,81; Padrão = 12,3

b) — Amostra = 12,5 ; Padrão = 11,8

Outros ensaios:

b') — Amostra = 12,40; Padrão = 12,38

Conclusões

Nestas condições, deixa quase de se observar interferência da estreptomina na dosagem da neomicina quando se empregue 2,5 g de cloreto de cisteína. Poder-se-á, no entanto, estar em presença de uma interpretação errada. Evidentemente que a iguais resultados se poderá, por coincidência, chegar, não ocorrendo uma inactivação total da estreptomina, mas apenas parcial, e a actividade remanescente não se tornar aparente por ser compensada por uma concomitante inactivação parcial da neomicina.

Impõe-se, pois, verificar que a inactivação da neomicina não ocorre.

Foi o que se praticou no ensaio seguinte.

VERIFICAÇÃO DE QUE O CLORETO DE CISTEÍNA NÃO INACTIVA A NEOMICINA

Protocolo experimental

3) Fez-se actuar, em solução aquosa de 100 ml, 2,5 g de cloreto de cisteína sobre 50 mg de sulfato de neomicina, mantendo o contacto por 1 hora, à temperatura ambiente.

Resultados

Os valores apontados representam a média dos diâmetros de inibição de 10 placas; na *Amostra*, da solução do sulfato de neomicina submetida ao tratamento com o cloreto de cisteína, e no *Padrão*, de solução do mesmo antibiótico e concentração sem qualquer tratamento prévio.

Amostra = 12,91; Padrão = 12,88

Conclusões

O cloreto de cisteína, pelo menos nas condições do ensaio, não exerce qualquer efeito prejudicial sobre a actividade do sulfato de neomicina.

A aparente discordância entre as quantidades de cloreto de cisteína capazes de inactivarem a estreptomina verificada nas condições do ensaio 1) e 2) deve-se, pois, a que, também em 1), embora a estreptomina esteja inactivada, jãmais resultam zonas de inibição cultural nula, uma vez que o simples tampão de fosfatos as promove.

CONCLUSÕES GERAIS SOBRE A UTILIZAÇÃO DO CLORETO DE CISTEÍNA

I — O cloreto de cisteína mostrou ser capaz de inactivar totalmente a estreptomina, sendo a quantidade apropriada para inactivar 500 mg de sulfato de estreptomina, nas condições exploradas, cerca de 3,0 g.

I — Embora esta quantidade de inactivante determine uma inactivação total do antibiótico, no ensaio de apreciação utilizando os meios e organismo estabelecidos pela F. D. A. para dosagem da estreptomina, o facto é inaparente por a simples solução de tampão de fosfatos dissolvente determinar zonas aparentes de inibição.

ESTUDO COM UREIA

A ureia é outra substância que está descrito inibir, *in vitro*, a acção da estreptomina (*, *).

Dosagem da estreptomina

ESTUDO DO EFEITO DA QUANTIDADE DO AGENTE INACTIVANTE

Protocolo do tratamento inactivante

1) Fez-se actuar, numa solução aquosa de 100 ml contendo 300 mg de sulfato de estreptomina, as quantidades em seguida referidas de ureia e mantendo o tempo de contacto durante 1 hora, à temperatura ambiente.

- a) — 1 g
- b) — 5 g
- c) — 10 g

Obtiveram-se soluções que apresentavam respectivamente os valores de pH de 5,95, 6,35 e 6,5.

Resultados (condições da dosagem da neomicina)

Os valores indicados correspondem à média dos diâmetros dos círculos de inibição de 10 placas (meios e organismo do ensaio da neomicina); concentração do sulfato de estreptomicina igual à diluição em que ficará no ensaio da dosagem da neomicina: 73 mcg/ml.

A *Amostra* são diâmetros obtidos com solução de sulfato de estreptomicina submetido ao tratamento inactivante; o *Padrão* são diâmetros resultantes com uma solução do mesmo antibiótico em igual concentração, mas não submetido à acção da ureia.

a) — *Amostra* = 15,37; *Padrão* = 14,95

b) — *Amostra* = 15,80; *Padrão* = 15,55

c) — *Amostra* = 15,47; *Padrão* = 15,08

Noutra série de ensaios, encontrámos:

c₁) — *Amostra* = 14,80; *Padrão* = 13,30

d₁) — *Amostra* = 14,20; *Padrão* = 13,54

e₁) — *Amostra* = 14,30; *Padrão* = 13,55

f₁) — *Amostra* = 13,92; *Padrão* = 13,32

g₁) — *Amostra* = 14,00; *Padrão* = 13,20

a) — *Amostra* = 13,88; *Padrão* = 13,95

b) — *Amostra* = 13,51; *Padrão* = 13,88

c) — *Amostra* = 13,99; *Padrão* = 14

Conclusões

A ureia não mostrou inactivar a estreptomicina.

ESTUDO DO EFEITO DO TEMPO DE CONTACTO

Protocolo do tratamento inactivante

2) Fez-se actuar numa solução aquosa de 100 ml contendo 300 mg de sulfato de estreptomicina 10 g de ureia, mantendo o tempo de contacto durante 6 horas, à temperatura ambiente, e diluindo depois com tampão de fosfatos de pH 8,0.

Resultados (condições do ensaio de dosagem da estreptomicina)

Os valores encontrados representam a média dos diâmetros dos discos de inibição de 10 placas (meios e organismo de ensaio da estreptomicina; concentração do sulfato de estreptomicina igual à diluição em que ficará no ensaio de dosagem da neomicina). A *Amostra* são diâmetros obtidos com solução de sulfato de estreptomicina submetido ao tratamento inactivante; O *Padrão* são diâmetros resultantes com uma solução do mesmo antibiótico em igual concentração, mas não submetido à acção da ureia.

c'') *Amostra* = 13,16; *Padrão* = 13,31

Conclusões

O aumento de tempo de contacto do agente inactivante não mostrou favorecer a acção destruidora da actividade antimicrobiana da estreptomina.

3) Praticou-se outro ensaio com o mesmo protocolo experimental da técnica inactivante (300 mg de sulfato de estreptomina), mas praticando a dosagem da estreptomina utilizando os meios e organismos a usar na dosagem da neomicina, prolongando o contacto do agente inactivante igualmente por 6 horas.

Resultados (condições do ensaio de dosagem da neomicina)

c_1'') — Amostra = 16,36; Padrão = 15,15

Conclusões

Confirma-se a nula inactivação por parte da ureia sobre a estreptomina.

ESTUDO DO EFEITO DA TEMPERATURA**Protocolo do tratamento inactivante**

4) Fez-se actuar, numa solução de 100 ml contendo 300 mg de sulfato de estreptomina 10 g de ureia (a maior quantidade experimentada anteriormente) e manteve-se o contacto, num caso, c''), 1 hora à temperatura de 60°, e noutro, c_1'''), durante 6 horas àquela mesma temperatura.

A fim de se obter um valor resultante precisamente nas mesmas condições (a mesma solução antibiótica, a mesma suspensão bacteriana, etc.), respeitante ao tratamento inactivante à temperatura ambiente, procedeu-se a ensaio com as mesmas disposições protocolares, mas em que aquele tratamento se observou durante 1 hora, à temperatura ambiente: c).

Resultados (condições do ensaio de dosagem da estreptomina)

Os valores indicados correspondem à média dos diâmetros dos círculos de inibição de 10 placas (meios e organismo do ensaio de dosagem da estreptomina).

A Amostra diz respeito a diâmetros de círculos obtidos com solução de sulfato de estreptomina submetido à acção do agente inactivante; o Padrão refere-se a diâmetros de zonas de inibição resultantes de uma solução do mesmo antibiótico e de igual concentração, mas que não foi submetido à acção da ureia.

c) — Amostra = 15,07 ; Padrão = 15,5
 c'') — Amostra = 14,01 ; Padrão = 15,51
 c_1''') — Amostra = zona de inibição quase nula; Padrão = 15,82

Conclusões

O tratamento inactivante à temperatura de 60° parece já exercer um certo efeito destruidor sobre a estreptomicina, quando se mantém durante 1 hora. Não há dúvida, porém, que o prolongamento do tratamento àquela temperatura por 6 horas acentua fortemente o efeito inactivador, levando, praticamente à destruição total da estreptomicina.

ESTUDO DO EFEITO DO VALOR DE pH

Protocolo do tratamento inactivante

5) Fez-se actuar, numa solução aquosa de 100 ml e que se ajustou a pH 2,0 contendo 300 mg de sulfato de estreptomicina, as quantidades em seguida referidas de ureia e mantendo o tempo de contacto durante 1 hora, à temperatura ambiente.

- a') — 1 g
- b') — 5 g
- c') — 10 g

Nota — Após as diluições convenientes com tampão de fosfatos de pH 8,0, a solução fica a apresentar este valor de pH, portanto com um valor apropriado ao ensaio da dosagem.

Resultados (condições do ensaio de dosagem da neomicina)

Os valores indicados correspondem à média dos diâmetros dos círculos de inibição de 10 placas (meios e organismo do ensaio da neomicina; concentração do sulfato de estreptomicina igual à diluição em que ficará no ensaio da dosagem da neomicina: 73 mcg/ml). A Amostra são diâmetros obtidos com solução de sulfato de estreptomicina submetido ao tratamento inactivante; o Padrão são diâmetros resultantes com uma solução do mesmo antibiótico em igual concentração, mas não submetido à acção da ureia.

- a') — Amostra = 16,08; Padrão = 15,76
- b') — Amostra = 16,02; Padrão = 15,60
- c') — Amostra = 15,91; Padrão = 15,56

Conclusões

A acidificação, para pH 2,0, durante o tratamento com a ureia, não mostrou favorecer o efeito inactivante sobre o antibiótico.

CONCLUSÕES GERAIS SOBRE A UTILIZAÇÃO DA UREIA

I — A ureia, experimentada até uma quantidade bastante elevada (10 g para inactivar 300 mg de sulfato de estreptomicina numa solução de 100 ml), não mostrou inactivar a estreptomicina, por contacto de 1 hora à temperatura ambiente.

II — A acidificação do meio durante o tratamento com ureia para pH 2,0 bem como o prolongamento de contacto com a ureia durante esse tra-

tamento não mostraram favorecer o efeito inactivante, que se manteve sempre nulo.

A execução do tratamento com a ureia, não à temperatura ambiente mas a 60°, já mostra destruir ligeiramente o antibiótico, quando o contacto se mantém por 1 hora, tornando-se praticamente total a destruição quando o tratamento se prolonga por 6 horas àquela temperatura.

ESTUDO COM A GLICOSE

Está descrito que a glicose antagoniza a actividade da estreptomina (1.º).

Dosagem da estreptomina

Começou por se apreciar o efeito deste agente inactivante doseando a estreptomina submetida à sua acção, mas nas concentrações e utilizando os meios em que ficará no ensaio de dosagem da neomicina.

ESTUDO DO EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO AGENTE INACTIVANTE

Protocolo do tratamento inactivante

1) Fez-se actuar, numa solução aquosa de 100 ml contendo 300 mg de sulfato de estreptomina, as quantidades em seguida referidas de glicose e mantendo o tempo de contacto durante 1 hora, à temperatura ambiente.

- a) — 1 g
- b) — 5 g
- c) — 10 g

Resultados

Os valores indicados correspondem à média dos diâmetros dos círculos de inibição de 10 placas (meios e organismo do ensaio da neomicina; concentração do sulfato de estreptomina igual à diluição em que ficará no ensaio da dosagem da neomicina: 73 mcg/ml).

A *Amostra* são diâmetros obtidos com solução de sulfato de estreptomina submetido ao tratamento inactivante; o *Padrão* são diâmetros resultantes com uma solução do mesmo antibiótico em igual concentração, mas não submetido à acção da glicose.

- a) — Amostra = 19,03; Padrão = 19,1
- b) — Amostra = 20,30; Padrão = 19,88
- c) — Amostra = 20,30; Padrão = 20,03

Conclusões

Nestas quantidades e condições, a glicose não inactivou a estreptomina.

ESTUDO DO EFEITO DA GLICOSE SOBRE A CULTURA MICROBIANA

Como poderia haver uma inibição microbiana provocada pela glicose, o que em todo o caso não nos parecia natural, que poderia encobrir uma inactivação parcial da estreptomina, praticou-se o presente ensaio.

Protocolo experimental

2) Encheram-se os cilindros com solução de glicose em tampão de fosfato numa concentração idêntica à que resultou após a diluição em c).

Resultados

A *Amostra* corresponde à leitura em placas em que os cilindros foram cheios com solução aquosa de glicose, 10 g em 100 ml, e depois diluída, com tampão de fosfatos de pH8, até resultar igual concentração à que figurava em I), c). O *Padrão* era uma solução de tampão de fosfato de pH8.

Não se verificou inibição bacteriana. Na *Amostra* notou-se o esboço de zonas ligeiramente mais nítidas do que as que resultaram para o *Padrão* (tampão de fosfatos), mas, no entanto, sem deixar de se observar uma cultura suficientemente fértil para se poder aceitar qualquer zona de inibição.

Conclusões

A glicose não exerce efeito inibitivo sobre a cultura do *B. subtilis*, nas condições do ensaio.

Dosagem da neomicina

ESTUDO DO EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO AGENTE INACTIVANTE (continuação)

Como as quantidades ensaiadas são já bastante elevadas, não procedemos a novos ensaios aumentando ainda mais as proporções de inactivante. Passámos, por isso, a apreciar como se traduziria o efeito da actuação da glicose mas propriamente no ensaio da dosagem da neomicina.

Protocolo do tratamento inactivante

3) Fez-se actuar, numa solução de 100 ml, contendo 300 mg de sulfato de estreptomicina e 50 mg de sulfato de neomicina, as quantidades de glicose adiante apontadas, mantendo o lapso de tempo de contacto durante 1 hora, à temperatura ambiente.

a) — 1 g

b) — 5 g

c) — 10 g

Resultados

Os valores indicados constituem a média dos diâmetros dos discos inibidores de 10 placas (meios e organismo do ensaio da neomicina). A *Amostra* corresponde a diâmetros obtidos com solução de neomicina e estreptomicina submetida a acção da glicose; o *Padrão* a diâmetros de círculos de inibição ocasionados por uma solução de neomicina da mesma concentração.

a) — *Amostra* = 18,6 ; *Padrão* = 12,1

b) — *Amostra* = 18,47 ; *Padrão* = 12,19

c) — *Amostra* = 17,2 ; *Padrão* = 11,7

Noutra série de ensaios:

a') — *Amostra* = 16,63 ; *Padrão* = 11,5

b') — *Amostra* = 15,1 ; *Padrão* = 11,3

c') — *Amostra* = 14,91 ; *Padrão* = 10,69

Conclusões

Não se observou inactivação (se ocorreu foi só reduzidamente) da estreptomicina por parte da glicose, nas condições em que utilizou, uma vez que os diâmetros dos discos inibidores das Amostras e Padrões estão muito afastado, o que resultou de nas Amostras ter ocorrido a sobreposição do efeito inibidor da estreptomicina (pelo menos, parcial) ao da neomicina.

Dosagem da estreptomicina

ESTUDO DO EFEITO DO VALOR DE pH

Protocolo do tratamento inactivante

4) Fez-se actuar, numa solução de 100 ml contendo 300 mg de sulfato de estreptomicina, 1 g de glicose, tendo-se descido o valor de pH da solução, que era de à volta de 5,2, para 2,0 e mantendo-se o tempo de contacto durante 1 hora, à temperatura ambiente.

Nota: — Após as diluições convenientes com tampão de fosfatos de pH 8,0, a solução fica a apresentar este valor de pH, portanto com um valor apropriado ao ensaio da dosagem.

Resultados (condições do ensaio de dosagem da neomicina)

Os resultados indicados correspondem à média dos diâmetros dos círculos de inibição de 10 placas (meios e organismo do ensaio da neomicina; concentração do sulfato de estreptomicina igual à diluição em que ficará no ensaio da dosagem da neomicina).

A *Amostra* são diâmetros obtidos com solução de sulfato de estreptomicina submetido ao tratamento inactivante; o *Padrão* são diâmetros resultantes com uma solução do mesmo antibiótico em igual concentração, mas não submetido à acção da glicose.

Conclusões

A modificação do valor de pH da solução inactivante não modificou o resultado obtido com esta substância, isto é, a glicose mostrou continuar a não inactivar a estreptomicina mesmo quando se fez descer o valor de pH durante o tratamento inactivante.

ESTUDO DO EFEITO DA TEMPERATURA E DA DURAÇÃO DO CONTACTO

Protocolo do tratamento inactivante

5) Fez-se actuar, numa solução de 100 ml contendo 300 mg de sulfato de estreptomicina, 10 g de glicose (a maior das quantidades ensaiadas e que não havia inactivado), mantendo-se o tempo de contacto durante 6 horas, à temperatura de 60°.

Resultados (condições do ensaio de dosagem da neomicina)

Os valores indicados correspondem à média dos diâmetros dos círculos de inibição de 10 placas (meios e organismo do ensaio da neomicina; concentração do sulfato de estreptomicina igual à diluição em que ficará no ensaio da dosagem da neomicina).

A *Amostra* são diâmetros obtidos com solução de sulfato de estreptomicina submetido ao tratamento inactivante; o *Padrão* são diâmetros resultantes com uma solução do mesmo antibiótico em igual concentração, mas não submetido à acção da glicose.

Amostra = 15,32; Padrão = 15,2

Conclusões

O efeito do prolongamento do contacto, bem como a elevação de temperatura durante a sua actuação, não favorecem a acção inactivante da glicose sobre a estreptomicina, que continua, mesmo nestas condições, a ser nula.

CONCLUSÕES GERAIS SOBRE A UTILIZAÇÃO DA GLICOSE

I) — A glicose não revelou possuir qualquer efeito inactivante da estreptomicina, tanto nos ensaios de dosagem da estreptomicina com o organismo e meios próprios como nos específicos do ensaio de dosagem da neomicina, actuando à temperatura ambiente.

I) — A acidificação durante o tratamento inactivante, bem como o prolongamento deste tratamento e a sua realização a temperatura mais elevada (60° C) não mostraram favorecer a nula acção inactivante da glicose.

DISCUSSÃO

O estudo realizado para estabelecer o melhor agente inactivante que permitisse dosar a neomicina em presença da estreptomicina acabou por se tornar num verdadeiro estudo da inactivação da estreptomicina, em determinadas condições, por dadas substâncias.

Por ele se deu conta de que a simples referência na literatura de que determinado composto antagoniza a acção antimicrobiana da estreptomicina não é suficiente para garantir o seu uso, com êxito, num tratamento com tal finalidade. Nalguns casos (o da ureia não aquecendo e da glicose), as substâncias revelaram-se praticamente isentas de qualquer efeito inibidor, sobre a estreptomicina, pelo menos nas condições decorrentes. Noutros (como no caso do cloreto de hidroxilamina), o agente inactivante mostrou-se eficiente, mas reconheceu-se a necessidade de se empregar uma quantidade conveniente, determinada.

No caso do cloreto de hidroxilamina, esta quantidade localiza-se dentro de limites um tanto estreitos; com uma quantidade abaixo, a inactivação da estreptomicina pode ser apenas parcelar (aparecendo o efeito inibidor próprio da estreptomicina, no ensaio de dosagem da neomicina, por aumento dos diâmetros dos círculos de inibição cultural) e com uma acima dela pode observar-se, também, um efeito estorvante da dosagem da neomicina e que resulta, de, com tais quantidades de cloreto de hidroxilamina, se poder exercer um efeito destruidor sobre a própria neomicina.

Uma circunstância, deveras interessante, que supomos não descrita e que os nossos ensaios nos permitiram revelar, reside no facto de a simples solução, também, de fosfatos, utilizada no ensaio de dosagem da estrepto-

micina, segundo a técnica descrita pela F. D. A., determinar zonas perfeitas de inibição cultural.

Por outras palavras, o método estabelecido pela F. D. A. para dosagem da estreptomycinina deixa de ser válido quando o teor estreptomycinico a avaliar estiver abaixo de certa percentagem em relação ao padrão, visto, nestas circunstâncias, interferir com o rigor dos resultados o facto do simples dissolvente do antibiótico provocar discos de inibição na cultura das placas.

É evidente que a nossa observação não afecta em si a técnica descrita pela F. D. A., pela razão simples de que ela está estabelecida apenas para dosar amostras cujo titulo antibiótico é próximo do do padrão ou, não o sendo, se torna equiparável o seu efeito antimicrobiano por compensação adequada do peso tomado.

Basta observar que a técnica descrita pela F. D. A. precisando, para traçar a curva a usar na dosagem da estreptomycinina, como quantidade para estabelecer o ponto de referência padrão, 1 *mcg/ml* de estreptomycinina base e como quantidade para determinar o ponto limite mais baixo da mesma curva 0,6 *mcg/ml* da mesma base antibiótica, para se reconhecer que tal curva não permite avaliar quantidades inferiores a 60 % da contida em igual volume da solução padrão.

Nos nossos ensaios, porém, em que se pretendeu chegar ao conhecimento de quantidades sucessivamente decrescentes de estreptomycinina até ao desaparecimento total da sua presença (inactivação), o problema é diferente e a técnica de dosagem da F. D. A. para este antibiótico mostra-se incapaz de nos revelar a sua completa inexistência visto, como se referiu, a simples solução de tampão de fosfatos, utilizada como dissolvente, só por si determinar zonas de inibição cultural.

Sucede, porém, que, como o nosso objectivo final é estabelecer as condições em que a estreptomycinina deixe de interferir no ensaio de dosagem da neomicina, aquele factor perturbante não se torna de considerar, uma vez que se observou que, na dosagem da neomicina, a solução tampão de fosfatos não exerce qualquer efeito inibidor sobre o organismo usado, nas condições de cultura estabelecidas.

Depois deste trabalho concluído, foram publicados dois outros^(8, 9) em que se procurava resolver um problema idêntico: a dosagem da neomicina em presença da didroestreptomycinina (composto que tem comportamento diferente da estreptomycinina no que se reporta à acção de certas substâncias inactivantes).

Num desses trabalhos⁽⁸⁾, procurou-se resolver o problema, usando, na dosagem da neomicina, um organismo tornado resistente ao antibiótico interferente, solução que, como assinalámos na introdução, oferece as suas contingências e dificuldades.

RESUMO E CONCLUSÕES FINAIS

I — Ao pretender-se dosar cada um dos constituintes de uma associação poliantibiótica — «Poli-Sinerge» — estreptomycinina (sulfato), bacitracina, neomicina (sulfato) e polimixina B, verificou-se ser possível dosar cada um deles, como se isoladamente se encontrassem, utilizando os métodos próprios descritos pela F. D. A., à excepção da neomicina (sulfato).

Quando tentámos a dosagem deste último antibiótico em presença dos restantes citados, observaram-se zonas exageradas de inibição.

Alguns ou alguns dos outros antibióticos exerciam, nas condições do ensaio de dosagem da neomicina, efeito antimicrobiano aditivo ou sinérgico sobre o *Micrococcus pyogenes* var. *aureus*, organismo utilizado na dosagem daquele antibiótico.

II — Para estabelecer quais dos outros constituintes da associação poliantibiótica interferia na dosagem da neomicina, procedeu-se à dosagem deste antibiótico em presença apenas de cada um dos outros. Chegou-se, por esta forma, à observação de que era a estreptomomicina que afectava o ensaio de dosagem da neomicina, pelo referido fenómeno de exaggeração dos diâmetros dos discos de inibição bacteriana.

III — Procurou-se resolver o problema da dosagem da associação poliantibiótica referida estudando a possibilidade de inactivação da estreptomomicina, nas condições do ensaio, para assim tornar viável a dosagem do componente neomicina.

Experimentaram-se as seguintes substâncias descritas como inactivantes da estreptomomicina; semicarbazida (cloreto), hidroxilamina (cloreto), cisteína (cloreto), ureia e glicose.

Em cada um dos casos, procurou-se estabelecer a quantidade adequada de agente inactivante susceptível de desempenhar-se do efeito desejado, não só em ensaios de dosagem propriamente da estreptomomicina submetida a tratamento inactivante, como em ensaios de dosagem da neomicina em presença daqueloutro antibiótico.

Os ensaios de dosagem da estreptomomicina foram praticados utilizando tanto o organismo e meios descritos pela F. A. D. para a dosagem desta substância, como empregando os referidos para a dosagem da neomicina — que em última análise é numa prova desta natureza que a não interferência e, portanto, a inactivação da estreptomomicina tem de ocorrer.

IV — A utilização de quantidades progressivamente crescentes de cloreto de semicarbazida permitiu-nos reconhecer que 0,250 g-0,300 g era a quantidade mais adequada para inactivar, por contacto de 1 hora à temperatura ambiente e nas demais condições do ensaio, 0,500 g de sulfato de estreptomomicina.

Nestas condições, a inactivação não é, porém, total, embora quase completa. O aumento da quantidade de cloreto de semicarbazida parece não se mostrar vantajoso.

O prolongamento do contacto para algumas horas à temperatura ambiente, ou preferentemente o tratamento a 60°, durante 1 hora, tornam mais completa a inactivação da estreptomomicina.

V — Experiências com quantidades variáveis de cloreto de hidroxilamina revelaram que para deixar de se observar a interferência da estreptomomicina no ensaio de dosagem da neomicina a quantidade de 0,250 g é a apropriada para, nas condições do ensaio, tratar 0,500 g de sulfato de estreptomomicina.

Nestas condições a inactivação da estreptomomicina é total.

Deve evitar-se a utilização de quantidades superiores de agente inactivante, visto em maiores quantidades parecer exercer um efeito parcialmente destruidor sobre a própria neomicina.

A elevação de temperatura para 60° durante o tratamento inactivante parece favorecer a inactivação, mas é possível que se corra o risco de a própria neomicina ser parcialmente destruída nestas condições.

VI — O estudo das proporções convenientes de cloreto de cisteína para inactivar, nas condições do ensaio, 0,300 g de sulfato de estreptomicina mostrou que a quantidade conveniente para permitir a dosagem da neomicina, sem interferência daqueloutro antibiótico, se localizava no valor de 2,5 g.

VII — O emprego de quantidades tão elevadas como 10 g de ureia para inactivar, por contacto de 1 hora à temperatura ambiente e nas demais condições do ensaio, 0,300 g de sulfato de estreptomicina, mostrou não exercer qualquer influência na acção antimicrobiana deste antibiótico, sobre os organismos usados.

A acidificação a pH 2, durante o tratamento inactivante, da solução do antibiótico (ao diluir-se para verter nos cilindros, fica com o pH do tampão de fosfatos usado, 7,8-8,0) não mostrou favorecer a nula inactivação observada.

O prolongamento do tempo de tratamento pelo agente inactivante, de 1 hora para 6 horas, também não se mostrou capaz de exercer inactivação.

A elevação da temperatura, durante o tratamento inactivante, para 60°, revelou, porém, favorecer a inactivação estreptomicínica. Quando o tratamento se fez a esta temperatura por 1 hora, já se notou inactivação parcial, tornando-se praticamente total quando o contacto com a ureia a 60° se manteve durante 6 horas.

VIII — A experimentação de 1,5 e 10 g de glicose para inactivar 0,300 g de sulfato de estreptomicina, contactando 1 hora à temperatura ambiente e nas demais condições do ensaio, não permitiu obter qualquer diminuição do efeito antimicrobiano daquele antibiótico.

Foram igualmente infrutíferos os resultados quando se procedeu a uma acidificação para pH 2 da solução antibiótica, durante o contacto inactivante, bem como quando se prolongou esse contacto por 6 horas em vez de 1 hora, ou se elevou a temperatura para 60°.

da Ordem dos Farmacêuticos

SUMMARY

I — In attempts to determine the constituents of a poliantibiotic association of Streptomycin (sulfate), Bacitracin, Neomycin (sulfate) and Polymyxin B — Poli-sinerge —, using suitable methods describing by F. D. A., it was found to be possible with the exception of Neomycin (sulfate). When the determination of neomycin was tried in the presence of the remaining three antibiotics, the inhibition zones were too large because one or more of the antibiotics showed synergism on *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* under the standard conditions for the neomycin assay.

II — In order to learn which of the antibiotics interfered with the determination of neomycin, the assay was carried out in the presence of each

one of the other three antibiotics. It was concluded that streptomycin was responsible for the interference, that is to say, the increase in diameter of the inhibition zones.

III — Attempts were made to inactivate streptomycin under the conditions of the neomycin assay. The following known inactivants were tried: semicarbazide hydrochloride, hydroxylamine hydrochloride, cysteine hydrochloride, urea, and glucose.

The best conditions of inactivation were established for each inactivant not only under the conditions of the streptomycin assay but also under those of the assay of neomycin in the presence of streptomycin.

All the assays of streptomycin were made using the organism and the media of the F. D. A. for that assay as well as those described for the neomycin.

IV — Using increasing quantities of semicarbazide hydrochloride it was found that 0.250 - 0.300 Gm. was the most effective quantity to inactivate 0.500 Gm. of streptomycin sulfate after one hour at room temperature under the conditions of the assay.

The inactivation under these conditions is not, however, complete, although almost so. Increasing the quantity of semicarbazide hydrochloride does not seem to have any advantage.

If the time of exposure to the contact be extended for a few hours at room-temperature or, preferably, if the treatment be carried on for an hour at 60° C, the inactivation of the streptomycin will be nearer completion.

V — Trials with variable amounts of hydroxylamine chloride revealed that 0.250 Gm. is the required weight of this substance to stop the interference of 0.500 Gm. streptomycin sulphate in a neomycin dosage test.

Under these conditions the inactivation of streptomycin is complete.

The use of larger amounts of the inactivating agent should be avoided, because it seems that greater amounts have a partial destructive action on neomycin itself.

The increase up to 60° C in the temperature throughout the inactivating treatment is supposed to favour the inactivation, but it is possible that, in such circumstances, a partial destruction of neomycin may also take place.

VI — The study of the adequate proportions of cysteine chloride required to inactivate the interference of 0.300 Gm. of streptomycin with the dosage of neomycin shows, according to the conditions of the test, that the amount of cysteine chloride should be 2.5 Gm.

VII — The use of amounts as large as 10 Gm. of urea to inactivate 0.300 Gm. of streptomycin sulphate, after an hour's contact at room-temperature and under the other conditions of the test, showed that these large amounts did not affect the bactericidal action of this antibiotic on the micro-organisms tested.

The acidification of the antibiotic solution up to pH 2 during the inactivating treatment did not show it assisted the zero inactivation. It should be noted, however, that when the antibiotic was diluted in order to be poured into the cylinders, its pH equaled that of the phosphate buffer used,

viz., 7.8-8.0 the extension of the period of treatment by the inactivating agent from one to six hours was also unable to produce inactivation.

The raising of the temperature during the inactivating treatment up to 60° C showed, however, that it assisted inactivation by the streptomycin. After an hour's treatment at the same temperature, a partial inactivation was already noted and this inactivation became practically complete when the contact with urea at 60° C was maintained during 6 hours.

VIII — There was no inhibition of the streptomycin using 1,5, and 10 Gm. of glucose to inactivate 0,300 Gm. of streptomycin sulfate by allowing both to stand 1 hour at room temperature under the conditions of the assay.

There was no inhibition if the contact took place at pH 2, was increased to 6 hours, or was carried out at 60° C.

ZUSAMMENFASSUNG

I — Bei dem Dosierungsversuch der Komponenten einer polyantibiotischen Assoziation — «Poly-Synergie» — des Streptomycins (Sulfat), Bacitracins, Neomycins (Sulfat) und des Polymixins B, ergab sich die Möglichkeit, jeden dieser Bestandteile zu bestimmen, mit Ausnahme des Neomycins (Sulfat), als ob diese einzeln vorhanden wären, indem dafür das besondere, von der F. D. A. beschriebene Verfahren angewandt wurde.

Bei dem Versuch, letzteres Antibioticum in Gegenwart der andern schon genannten zu dosieren, wurden vergrößerte Hemmungszonen beobachtet.

Ein oder einige der andern Antibiotica übten unter den Dosierungsversuchsbedingungen des Neomycins eine zusätzliche oder synergistische antimikrobianische Wirkung auf den *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* aus, der bei der Bestimmung dieses Antibioticums angewandt wurde.

II — Um herauszufinden, welche der andern Komponenten der polyantibiotischen Assoziation eingreifende Wirkung auf die Dosierung des Neomycins ausübte, wurde dieses Antibioticum in Gegenwart immer nur eines einzelnen der andern Antibiotica bestimmt. Auf diese Weise wurde festgestellt, dass das Streptomycin den Dosierungsversuch des Neomycins durch die angeführte Erscheinung, der Vergrößerung der Durchmesser der bakterianischen Inhibitionshoefe, beeinträchtigte.

III — Es wurde versucht, das Dosierungsproblem dieser polyantibiotischen Assoziation zu lösen, indem man die Möglichkeit einer Inaktivierung des Streptomycins unter den Versuchsbedingungen in Betracht zog, um auf diese Weise die Bestimmung der Komponente Neomycin möglich zu machen.

Es wurden folgende als streptomycininaktivierend beschriebene Substanzen erprobt: Semicarbazid (Chlorid), Hydroxylamin (Chlorid), Cistein (Chlorid), Urea und Glukose.

In jedem der Faelle wurde versucht, das fuer die erwuenschte Wirkung geeignete Quantum an Inaktivierungsmittel festzustellen, nicht nur durch Dosierungsversuche an dem der Inaktivierungsbehandlung unter-

zogenen Streptomycin, sondern auch mittels Versuchen, die zum Zweck hatten, das Neomycin in Gegenwart ersteren Antibioticums zu bestimmen.

Sowohl bei der Dosierung des Streptomycins als bei der des Neomycins wurden Organismen und die von der F. D. A. beschriebenen Mittel zur Streptomycinbestimmung angewandt, eine Art von Versuchen also, worin schliesslich die Nichtinterferenz und folglich die Inaktivierung des Streptomycins in Erscheinung treten muss.

IV — Der Gebrauch von fortgehend zunehmenden Dosen an Semicarbazidchloriden erlaubte festzustellen, dass 0,250 g - 0,300 g das geeignetste Quantum darstelle, um 0,500 g Streptomycinsulfat bei einstuendigem Kontakt, Aussentemperatur und den restlichen Versuchsbedingungen zu inaktivieren.

Unter diesen Bedingungen ist die Inaktivierung nicht total, sondern fast vollstaendig.

Die Steigerung der Dosis an Semicarbazidchlorid erscheint nicht zweckdienlich, da das Inaktivierungsmittel selbst, ueber das bekannte Quantum hinaus und unter den Versuchsbedingungen anfaengt, auf die Kultur hemmend zu wirken und daher die Genauigkeit des Versuchsergebnisses beeinträchtigt.

Die Verlaengerung der Kontaktfrist auf einige Stunden bei Aussentemperatur oder, vorzugsweise, die einstuendige Behandlung bei 60° bewirken eine vollstaendigere Inaktivierung des Streptomycins.

V — Versuche mit verschiedenen Dosen von Hydroxylaminchlorid ergaben, dass 0,250 g das geeignete Quantum zur Behandlung von 0,500 g Streptomycinsulfat darstellen, um die Interferenzwirkung des Streptomycins auf den Dosierungsversuch des Neomycins zu unterbinden.

Unter diesen Bedingungen ist die Inaktivierung des Streptomycins total.

Der Gebrauch von hoeheren Dosen an Inaktivierungsmittel muss vermieden werden, da dieses in grosseren Quanten teilweise zerstuerend auf das Neomycin selbst zu wirken scheint.

VI — Beim Studium der geeigneten Verhaeltnisse, in denen das Cisteinchlorid 0,300 g Streptomycinsulfat inaktiviert wurde festgestellt, dass die Optimaldosis, die die Neomycindosierung ohne Interferenzerscheinungen des andern Antibioticums gestattete, den Wert von 2,5 g betrug.

VII — Die Anwendung von so hohen Dosen wie 10 g Urea zur Inaktivierung von 0.300 g Streptomycinsulfat bei einstuendigem Kontakt, Aussentemperatur und den restlichen Versuchsbedingungen bewies, gar keinen Einfluss in der antimikrobianischen Wirkung dieses Antibioticums auf die angewandten Organismen auszuueben.

Die Saeuerung auf pH 2 waehrend der Inaktivierungsbehandlung der Antibioticumloesung (Beim Verduennen zum Abfuellen in die Zylinder behaelt sie das pH des benutzten Phosphatpuffers bei, 7,8-8,0) zeigte nicht, die beobachtete Nichtinaktivierung zu beguenstigen.

Die Verlaengerung der Behandlungszeit mit dem Inaktivierungsmittel von einer Stunde auf 6 Stunden, erwies sich ebenfalls unfaeelig, inaktivierend zu wirken.

Die Erhoehung der Temperatur bis zu 60° waehrend der Inaktivierungsbehandlung liess jedoch eine Beguenstigung der Streptomycininaktivierung feststellen.

Wenn die Behandlung eine Stunde lang, bei 60° Temperatur vorgenommen wurde, konnte schon teilweise Inaktivierung beobachtet werden, und diese vervollstaendigte sich, wenn der Kontakt mit der Urea bis zu 6 Stunden, bei 60°, aufrecht erhalten wurde.

VIII — Der Versuch, der mit 1,5 und 10 g Glukose zwecks Inaktivierung von 0,300 g Streptomycinsulfat bei einstuendigem Kontakt, Aussentemperatur und den restlichen Versuchsbedingungen, angestellt wurde, vermochte keine Verringerung der antimikrobianischen Wirkung dieses Antibioticums zu erlangen.

Die Resultate waren ebenfalls fruchtlos sowohl bei Vornahme einer Saeuerung der antibiotischen Loesung auf pH 2 waehrend des inaktivierenden Kontaktes, als beim Verlaengern der Kontaktfrist von einer auf 6 Stunden, als beim Erhoehen der Temperatur auf 60°.



BIBLIOGRAFIA

- (¹) BARON, A. L., *Handbook of Antibiotics*, 1950, p. 223.
 (²) DENKELWATER, R., COOK, M. A. e TISHLER, M., *Science*, **102**, 12 (1945).
 (³) DENUNZIO, J. C., BOWMAN, F. W. e KIRSHBAUM, A., *Antibiotics and Chemotherapy*, **4**, 300 (1954).
 (⁴) VAN DOLAH, R. H. e CHRISTENSON, C. L., *Arch. Biochem.*, **12**, 7 (1947).
 (⁵) FITGERALD J. e BERNHEIM F., *J. Biol. Chem.*, **172**, 845, (1948).
 (⁶) GRAY, J. D. A. e LAMBERT, R. A., *Nature*, **162**, 733 (1948).
 (⁷) INGRAO, F. e YELLA, L., *Ann. ist. «Carlo Forlanini»*, **12**, 177.
 (⁸) LEVINE, J., FISCHBACH, H. e ARRET, B., *Antibiotics and Chemotherapy*, **4**, 266 (1954).
 (⁹) SIMON, R. D., *Brit. J. Exp. Pathol.*, **29**, 202 (1948).
 (¹⁰) WAKSMAN, S. A., BUGIE, E. e SCHATZ, A., *Proc. Staff Meetings Mayo Clinic*, **19**, 537 (1944).

Centro de Documentação Farmacêutica
 (Departamento de Investigação e Verificação, Secção de
 Bacteriologia, dos Laboratórios Atral, de Lisboa).

da Ordem dos Farmacêuticos

ISOLAMENTO DE UMA ORTO-QUINONA NO *DIOSPYROS TRICOLOR* HIERN

L. NOGUEIRA PRISTA

1.º Assistente da Faculdade de Farmácia do Porto

Ultimamente, vários *Diospyros* têm merecido a atenção dos investigadores que neles têm encontrado princípios, dotados de actividade farmacodinâmica, mais ou menos marcada. Assim, o estudo do *Diospyros mollis* revela uma hidroquinona, possuidora de nítida acção vermícida (⁶⁷); o *Diospyros xanthoclamys* e o *Diospyros mespiliformis* apresentam propriedades antibióticas, frente ao estafilo e estreptococo (⁶²). Também, no *Diospyros marítima*, se encontrou plumbagina, (⁵) a qual é dotada de poder antimicrobiano.

Por outro lado, o aparecimento de quinonas nestas espécies, aparecimento esse cujo interesse é bem superior à simples propriedade corante a que primitivamente se restringia, abre na química actual novas perspectivas (¹⁷). Com efeito, depois dos trabalhos de FIESER (⁹), HOOKER (¹⁸), GISVOLD (¹⁵), ROBINSON (²⁰) e outros, as quinonas estão merecendo particular e justa atenção. Fora do ponto de vista da síntese química e estendendo o aspecto também à extracção de produtos naturais têm sido isoladas, nos últimos anos, muitas quinonas cuja actividade farmacológica está sendo estudada com afinco (⁷), (¹⁰), (¹²), (¹⁹). É, contudo, difícil conseguir-se uma boa revisão bibliográfica sobre o assunto e daí talvez a principal dificuldade com que o investigador depara no seu trabalho. É, no entanto, curioso notar-se que são as para-quinonas os compostos que até agora têm aparecido, em maior número. Quanto às quinonas em orto, raras são, na realidade, as descobertas em produtos naturais pertencentes, quer à série benzénica, naftalénica, antracénica ou mesmo fanantrénica. Apenas entre elas podemos citar exemplos como o celastrol (⁸), a duniona (¹¹) e poucos mais.

A conselho do Prof. René Paris da Faculdade de Farmácia de Paris, empreendemos o estudo do *Diospyros tricolor* Hiern, planta indígena do norte de África e cujas aplicações locais para a lepra, como vermífugo e abortivo justificavam a sua investigação.

O *Diospyros tricolor* pertence à família das Ebenaceas e apresenta-se como um arbusto de 1 a 2 metros de altura e de ramos sinuosos. As flores são unissexuais, agrupadas em conjuntos axilares sesséis. O fruto é uma baya, amarela alaranjada, ovoides, de 2 a 3 cm de comprimento. As folhas apresentam 4 a 8 cm de comprimento por cerca de 1 a 2 cm de largura; são elípticas e de cor verde pálida na face interior.

As cascas da raiz são constituídas por pequenos fragmentos de 4 a 6 cm de comprimento por 1 cm de largura. As cascas do caule são sensivelmente das mesmas dimensões, apresentando a superfície externa pouco rugosa e a interna lisa.

PARTE EXPERIMENTAL

Os ensaios efectuados não são já os primitivamente executados com a droga. Assim, de colaboração com René Paris, publicámos uma nota sobre a existência de quinonas, referindo-nos também a algumas das principais propriedades dos compostos isolados (23). Pretendemos, neste relato, desenvolver o assunto, mencionando novos dados de posteriores investigações.

Os ensaios incidiram sobre as cascas de raízes e caules e sobre as folhas. Em todos os casos, pretendemos sempre caminhar no sentido do isolamento de um princípio ou princípios a que se pudesse atribuir qualquer actividade farmacodinâmica.

As pesquisas preliminares, efectuadas sobre o pó das cascas e folhas, indicaram-nos quinonas existentes em grande quantidade nas raízes e caules, mostrando apenas as folhas, porção muito diminuta daqueles compostos.

A dosagem de princípios quinoides executou-se pelo processo ponderal sobre 20 gramas de pó (24) e indicou a percentagem de 1,63 nas raízes e 1,16 nos caules. Nas folhas, simultaneamente com vestígios de quinonas, foi encontrado um princípio de P. F. 127-29° que produziu positivas todas as reacções dos ácidos triterpênicos.

EXTRACÇÃO — Para esgotar o pó de planta (raízes e caules) das suas quinonas, empreendemos o processo dos solventes sucessivos, principiando com o clássico éter de petróleo (30). Trabalhamos em aparelho de Soxhlet até esgotamento total. Durante o arrefecimento, foi precipitando no balão extrativo um resíduo vermelho que, após secagem, deu um rendimento de 0,6 %. A destilação em aparelho de Claisen e a subsequente evaporação do éter de petróleo residual conduziu ao aparecimento de um precipitado amarelo, contendo aderente uma apreciável quantidade de gordura. O produto vermelho que precipitou no éter de petróleo foi centrifugado e lavado repetidas vezes com aquele solvente. Determinado o seu ponto de fusão, após secagem em vazio fosfórico, encontrou-se no bloco de Maquenne 186-90°. Procedemos seguidamente à sua dissolução no menor volume possível de álcool fervente, colocando o soluto na geleira. Ao fim de 48 horas, originou-se um precipitado, vermelho alaranjado, cristalino, sob a forma de agulhas agrupadas em feixes. Determinado o seu ponto de fusão, encontrámos o valor de 198-99° (Maquenne) e 197-98° (capilar) em banho de parafina.

A redissolução da substância, em álcool absoluto a quente, conduziu à formação de cristais que fundiram à mesma temperatura.

Evaporado o éter de petróleo restante, obtivemos um resíduo amarelo-claro que se encontrava bastante inquinado com gordura. Solubilizámos esse resíduo em álcool fervente e, colocada a solução na geleira, originou um precipitado ao fim de 48 horas. Redissolvido em éter de petróleo, foi o resíduo de evaporação daquele retomado por álcool, cristalizando então um corpo de ponto de fusão 243-45° (Maquenne). Uma nova cristalização não altera aquele valor. A percentagem deste princípio foi de 0,05 %, em relação ao pó de planta.

Ocupamo-nos nesta nota apenas do composto de ponto de fusão 197-98° visto ser o mais abundante e também aquele de que temos em curso algumas experiências biológicas.

QUINONA DE PONTO DE FUSÃO 197-98°

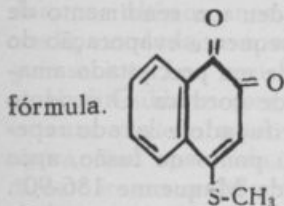
O pigmento extraído do *Diospyros tricolor* é vermelho alaranjado (do álcool) ou castanho, quando se cristaliza no benzeno. Apresenta-se em agulhas agrupadas como ramos de giesta. É solúvel em éter, clorofórmio, éter de petróleo, acetato de etilo, ácido acético, piridina, dioxano e óxido de butilo. Na água quente solubiliza-se parcialmente; já em compensação dissolve-se de modo notável nos alcalis que cora de violeta intenso.

Não é fluorescente à luz ultravioleta, mas as suas soluções benzênicas têm emissão de cor de laranja e as alcoólicas são alaranjadas muito escuras. Não se observou qualquer desvio à luz polarizada, quando se viu sob uma espessura de 2 dm, em solução benzênica a 0,5 %.

Aquecida até 230°, temperatura a que carbonizou, não deu origem à formação de qualquer sublimado.

Submetida a uma corrente de vapor de água, não foi arrastada por aquela ao fim de uma hora de aquecimento.

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL — Verificada a ausência de água de cristalização e de cinzas, procedemos à pesquisa de azoto, enxôfre e halogénios. Os métodos usados foram os de Lassaigne e de Beilstein. A pesquisa de enxôfre mereceu-nos particular atenção visto que encontramos na literatura um composto, descrito com as mesmas características do nosso (2). Com efeito, tratava-se de uma orto-quinona sulfurada, correspondente à



O ponto de fusão era idêntico e as propriedades físico-químicas muito semelhantes. Estes dados desorientaram-nos um pouco, agravando-se ainda as circunstâncias pela análise centesimal que dava valores muito aproximados. Isto levou-nos a executar a pesquisa do enxôfre por processos menos correntes, designadamente pelo método de Carius. Como sempre, não foi detectado aquele metaloide.

A análise do carbono e hidrogénio, executada por semi-micrométodo conduziu aos resultados:

	Carbono %	Hidrogénio %
Calculado para C ₁₀ H ₈ O ₂	68,96	3,47
Encontrado	68,74	3,74

PESO MOLECULAR — A determinação do peso molecular foi executada por crioscopia, em vários solventes, designadamente no benzeno, ácido acético e cânfora. Nesta última substância, recorreu-se ao método de RAST (4) que já havíamos utilizado com êxito para as flavonas (23 bis).

	concentração	peso molecular
Benzeno (K=50)	0,50 %	171
	0,51 %	192
	0,90 %	180
Ácido acético (K=39)	0,50 %	177
	3,8 %	189
Cânfora (K=400)	4,0 %	160

Peso molecular calculado para $C_{10}H_8O_3$ 174,10

GRUPOS METOXILO E ETOXILO — Procedemos à pesquisa de $-OCH_3$ e $-OC_2H_5$. Não conseguimos detectá-los recorrendo ao método VIEBOCKE e BRECHER ⁽¹³⁾ e operando por $1/2$ e 2 horas respectivamente. Utilizámos como testemunha a vanilina.

FUNÇÃO QUINONA — Para evidenciarmos a função quinona, no composto em estudo, executámos vários ensaios físicos e químicos que passamos a descrever.

a) — *Reacções coradas* — e substância isolada de *Diospyros tricolor* e de ponto de fusão 197-98° apresentava todas as reacções das quinonas. Com efeito, tratada pelo acetato de níquel ⁽²⁾, produzia cor violácea, característica das naftoquinonas oxidiladas; com acetato de cobre, originava coloração roxa ⁽²⁰⁾, ⁽²¹⁾, ⁽²⁶⁾; com soda e amónia cor de vinho tinto, mais ou menos intensa, consoante o aumento de Ph.

b) — *Derivados* — com cloridrato de fenilhidrazina originou um precipitado castanho flocoso; com a 2-4-dinitro fenilhidrazina obteve-se uma hidrazona acastanhada de ponto de fusão 130-32°.

O cloridrato de hidroxilamina, segundo a técnica de Beilstein, ⁽¹⁾ originou uma óxima que cristalizou em agulhas no álcool a 80°. Aquecida, escurece a 170°, fundindo a 180-82°. A dosagem do azoto mostra que se trata de uma monoxima:

N % Calculado para $C_{10}H_7O_3N$	7,40
N % Encontrado	7,35

c) — *Espectro de absorção* — Foi ensaiado o espectro de absorção, na região do ultra-violeta, utilizando-se uma solução alcoólica de quinona a 1:100000. O aparelho empregado foi o espectrofotómetro Unicam Cambridge England S. P. 500.

Observaram-se os máximos mais importantes a 2160, 2500, 2950, 3250 e 4300 A° bem como uma inflexão a 2700. Os mínimos mais pronunciados acham-se a 2300, 2850 e 3400 A°.

A observação destes espectros coloca-a entre as naftoquinonas, cujos máximos característicos são a 2500, 3200-3300 A° (devido ao grupo C_6H_4CO-) e a 2700 e 4000-4500 A° (motivada pelos agrupamentos quinoídes) ^(20 bis). Por outro lado, a presença de uma faixa de absorção na zona de 4300 A° parece característica das orto-naftoquinonas ⁽⁶⁾.

d) — *Cromatografia em papel* — A cromatografia em papel foi um dos métodos físico-químicos a que também recorreremos na identificação do princípio do *Diospyros tricolor*. Utilizou-se o processo ascendente com o butanol acético de PARTRIDGE, sobre o papel Durieux 122 bis. As manchas foram feitas com uma solução metilica de quinona e o tempo de ascensão foi de 14 horas. A revelação efectuou-se por intermédio da potassa alcoólica ou da luz de Wood. Feita a comparação com outras quinonas, verificou-se que o princípio em estudo se poderia colocar entre as orto ou para naftoquinonas. O Rf encontrado foi de 0,95.

PRESENÇA DE UM OXIDRILLO — Demonstrada a existência de funções quinona, o que aliás era de prever, atendendo às características físicas do composto, iniciou-se o estudo da restante parte da molécula. Com efeito, algumas das reacções conseguidas com o composto quinoide do *Diospyros tricolor* não se podiam atribuir exclusivamente aos agrupamentos =CO. Neste caso particular, encontravam-se as colorações obtidas com acetatos de cobre e de níquel e ainda com soda ou amónia. Por outro lado, o ponto de fusão, a composição centesimal e o peso molecular eram de molde a demonstrar que estávamos em presença de uma quinoma substituída.

Atendendo à negatividade das pesquisas de metoxilos e etoxilos, incidiram os nossos esforços no sentido de evidenciar oxidrillos. Ensaaiadas as reacções dos fenois (dicroinas, aurinas e Follin Wu) deram negativas. Contudo, com o cloreto férrico em solução alcoólica a 1 %, obteve-se uma cor castanha que se intensificou por aquecimento. Por outro lado, procedemos à determinação do hidrogénio móvel pelo Zerewitinoff⁽²⁰⁾. Como solvente, foi usado o óxido de butilo, tornado anidro sobre sódio e redistilado; o iodeto de metil-magnésio foi preparado com 4,8 gramas de Mg sobre 17,8 grs. de iodeto de metilo e aquecendo a B. M. por meia hora.

Utilisámos 0,025 e 0,050 gramas de substância em cada ensaio. Os volumes de gás libertado e medidos nas condições normais de pressão e temperatura foram de 3 e 5,8 cc. respectivamente. O cálculo teórico indicava para cada caso e admitindo um oxidrillo por molécula 3,2 e 6,4 cc.

Parece pois que a quinona por nós isolada apresenta um hidrogénio móvel por molécula ou, o que é o mesmo, um oxidrillo por cada 174 gramas.

ESTRUTURA: ORTO-QUINONA — Estabelecida a existência de um oxidrillo na mole de quinona, resta-nos saber a estrutura que este corante apresenta.

Assim, interessa-nos primeiramente determinar qual a posição relativa dos carbonilos, para depois verificar a do oxidrillo. Neste trabalho ocupamo-nos do primeiro caso, deixando o estudo da localização do oxidrillo, que se encontra em curso, para outro relato.

A cor da quinona, vermelho alaranjado, imediatamente nos impele para as 1-2 naftoquinonas em que o aspecto é semelhante. Assim, FIESER indica que as para-quinonas são geralmente amarelas, enquanto que as orto-quinonas se apresentam vermelhas.

A quinona do *Diospyros tricolor* não é arrastada pelo vapor da água nas condições atrás mencionadas. Ora cita-se também essa propriedade,

como distinção entre as 1-2 e 1-4 naftoquinonas. É este pois mais um argumento no sentido das orto-quinonas.

A determinação do espectro de absorção, embora não sendo concludente, é sem dúvida a favor de naftoquinona 1-2. Com efeito, o aspecto da curva, as bandas de absorção na faixa de 3200 a 3300 A° e finalmente o máximo a 4300 A° são de molde a fazer admitir essa hipótese.

ROBINSON e PRICE (20 bis) indicam como caracter diferencial entre os dois tipos de quinona o facto dos derivados das ortoquinonas darem compostos de adição com o bissulfito de sódio solúveis na água. Operando com o SO_3HNa , em meio aquoso, lográmos solubilizar a quinona do *Diospyros tricolor*. Essa combinação, que não dava positiva a reacção do acetato de níquel, decompunha-se por acção do hidróxido de sódio, sendo, após acidificação com ácido clorídrico, susceptível de se solubilizar em éter. Evaporado este, o residuo dava positiva a reacção de BRISSEMORET e COMBÉS.

Também L'ESPAGNOL indica que as orto-quinonas, ao contrário das para-quinonas, originam hidrazonas, quando tratadas com a fenilhidrazina. Esta destreza está de acordo com os ensaios por nós relatados, a propósito da função quinona. Finalmente, após estas provas, executámos a clássica reacção da orto-fenilenadiazina. Trata-se da possibilidade das orto-quinonas produzirem frente a esse reagente uma quinoxalina. 0,5 gramas de quinona foram tratados por 0,3 gramas de o-fenilenadiazina e cerca de 5 cc. de acido acético. Fervemos durante 10 minutos a calor brando; formou-se um precipitado flocooso amarelo que se separou por filtração em Buchner. O precipitado foi redissolvido em acetona, mostrando esta solução fluorescência à luz de Wood. Cristalizou em ácido acético e, após secagem, foi determinado o seu azoto pelo Kjeldhal, utilizando-se o selênio como catalizador:

N calculado para $\text{C}_{16} \text{H}_{10} \text{N}_2 \text{O}$	11,3 %
N encontrado	10,9 %

Em face dos resultados obtidos, parece lógico deduzir-se que a quinona vermelha, extraída das cascas do *Diospyros tricolor* Hiern, se comporta como uma hidroxinaftoquinona 1-2. Ora conhecem-se 4 isómeros de posição destes compostos e a quinona em estudo não se pode identificar com nenhum deles. Destes modo, parece lícito concluir que estamos em presença de um corpo novo para o qual propomos a designação de DIOSQUINONA.

SUMMARY

During the present research the chemical study of a Quinone extracted of *Diospyros tricolor* Hiern is being continued, the gross formula of which is: $\text{C}_{16} \text{H}_{10} \text{O}_3$. Its physical constancies are being established and some of its chemical properties determined.

Its is being verified, that it is the question of Orto-Quinone oxydriated, appertaining to the Naphtalenic series.

ZUSAMMENFASSUNG

Bei den gegenwärtigen Arbeiten wird das chemische Studium eines Chinons e extrahiert aus *Diospyros tricolor* Hiern fortgesetzt, dessen Brutto-Formel $C_{10}H_6O_3$ ist. Seine physischen Konstanten werden festgestellt und einig chemische Eigentümlichkeiten bestimmt.

Es wird festgestellt, das es sich um Ortho-Chinon oxydriert handelt, das zur Serie der Naphtalenics gehört.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) BEILSTEIN: *handbuch der organischen chemie*, VIII 309 (1925).
 (²) BEILSTEIN: *handbuch der organischen chemie*, VII, VII 1st-613.
 (³) BRISSEMORET e COMBES: *J. Pharm. Chem.*, **25-6**, (1907).
 (⁴) CASARES GIL: *Técnica física*, Madrid (1932), 213.
 (⁵) *C. A.*, **41**, 6607 g (1947).
 (⁶) COOK, MACBETH e WINZOR: *J. Chem. Soc.*, 878 (1939).
 (⁷) FERNHOLDZ: *J. Am. Chem. Soc.*, **62**, 430 (1940).
 (⁸) FIESER, L.: *J. Am. Pharm. Assoc.*, **31**, 315-317 (1942).
 (⁹) FIESER, L.: *J. Am. Chem. Soc.*, **49**, 857 (1927).
 (¹⁰) FIESER, L. e Colab.: *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 3151 (1948).
 (¹¹) FIESER, L. e FIESER, M.: *Química orgánica* (1948), 759.
 (¹²) FRIEDHEIM: *Biochem. J.*, **28**, 180-185 (1934).
 (¹³) FRIEDRICH, A.: *La pratique de la microanalyse organique quantitative* (1931)
 270.
 (¹⁴) GISVOLD: *J. Am. Pharm. Assoc.*, **28**, 440 (1939).
 (¹⁵) GISVOLD: *J. Am. Pharm. Assoc.*, **29**, 432 (1940).
 (¹⁶) HOFFMANN, OSTENHOF, O.: *Die biochemie der chinone — Experientia*, **3**, 137-176 (1947).
 (¹⁷) HOOKER: *J. Am. Chem. Soc.*, **58**, 1163 e seg. (1936).
 (¹⁸) *J. Pharm. Soc. Japan*, **73**, 20 (1953).
 (¹⁹) MANGINI: *Gazz. chim. ital.*, **62**, 686-693 (1932).
 (²⁰ bis) MORTON e EARLAM: *J. Chem. Soc.*, 159 (1941).
 (²¹) MYLIUS: *Ber. deut. chem. Ges.*, **18**, 463-474 (1885).
 (²²) PARIS, R. e MOYSE-MIGNON, H.: *Extrait des Comptes Rendus des seances de l'Academie des Sciences*, **228**, 2063-2064 (1949).
 (²³) PARIS, R. e PRISTA, L.: *Comunicação apresentada á Academia de Farmacia de Franca (em 7 de Abril de 1954)*.
 (²³ bis) PRISTA, L.: *Ptaeroxylon obliquum*, Porto (1951) 77.
 (²⁴) RABENORO, C.: *Recherches sur quelques myrsinacees de Madagascar*, (1949), 81.
 (²⁵) REISCHAUER: *Ber. deut. chem. Ges.*, **10**, 1542-1546 (1887).
 (²⁶) ROBINSON: *Nature*, (1938), 142-147.
 (²⁶ bis) ROBINSON e PRICE: *J. Chem. Soc. Lon.*, 1522-1523 (1939).
 (²⁷) TUOC, Nguyen Ba: *Tese de doutoramento*, Paris (1953).
 (²⁸) VOGEL, A.: *Practical Organic Chemistry*, (1951), 712.
 (²⁹) ZEREWITINOFF, T.: *Ber deut. chem. Ges.*, **40**, 2023-2031 (1907).
 (³⁰) WATTIEZ e STERNON, F.: *Elements de Chimie vegetal*, (1942).

REVISÕES DE CONJUNTO

CLORAGEM: BREVE ESTUDO DA SUA EVOLUÇÃO

CARLOS CÂNDIDO COUTINHO

Capitão-tenente farmacêutico naval

III

MÉTODOS LABORATORIAIS DE DOSAGEM DO CLORO

Como já dissemos nos artigos anteriores, a água de abastecimento quando tratada pelo cloro ou seus derivados deve conter determinado teor de cloro residual cujo doseamento se efectua nas estações de depuração e mesmo durante o percurso, com o fim de verificar, embora indirectamente, a eficácia do tratamento. É claro que não se pode de forma alguma dispensar a fiscalização bacteriológica.

O emprego cada vez mais corrente da cloragem fez com que se estudassem novos métodos de dosagem e se melhorassem os já existentes.

Vamos em seguida fazer uma resenha desses vários métodos por meio dos quais poderemos avaliar separada ou conjuntamente o cloro livre e o cloro combinado (cloraminas) consoante os reagentes empregados. As determinações mais frequentes são a do *cloro residual total* (cloro livre e combinado) e a do *cloro residual livre*, fazendo-se esta última quando se pretende conhecer o ponto crítico ou verificar durante o tratamento se esse ponto foi atingido e mesmo ultrapassado.

Infelizmente ainda não há métodos exactos para a determinação do cloro livre quando em presença de compostos com que se combinou.

Centro de Documentação Farmacêutica

a) *Processo iodométrico*

É o processo mais antigo de dosagem de cloro na água.

A 500 cm³ da água a ensaiar adicionar 10 cm³ de ácido clorídrico diluído a 10 %, 5 cm³ de soluto de iodeto de potássio a 10 % e abandonar a mistura durante 10 minutos.

Adicionar 25 cm³ de soluto de hipossulfito de sódio N/100, 1 cm³ de cozimento de amido e soluto de iodo N/100 contido numa galheta, gota-a-gota até leve coloração azul. Seja *n* o número de cm³ de soluto de iodo gastos; calcula-se a quantidade de cloro residual pela seguinte fórmula:

$$\begin{aligned} \text{Cl mg/L} &= (25 - n) \times \frac{35460}{100.000} \times 2 \\ &= (25 - n) \times 0,7092 \end{aligned}$$

Neste método doseiam-se conjuntamente o cloro livre, as cloraminas, o ferro, etc.

b) *Método O. T.*

Um dos métodos ainda hoje mais usados é o da ortotolidina em solução clorídrica.

Adiciona-se 1 cm³ deste soluto a 100 cm³ da amostra da água e decorridos 15 minutos faz-se a comparação da cor obtida com a duma escala-padrão.

Podem-se empregar para comparar as cores:

- 1) Colorímetro Duboscq ou outro modelo.
- 2) Provetas de Henner.
- 3) Colorímetro de Hellige.
- 4) Célula foto-eléctrica.

Utilizando 1), 2) ou 3) parte-se dum termo da escala-padrão (⁵²); para 4) é necessário fazer um gráfico em que se marcam em abscissas os graus da escala da célula e em ordenados os diferentes teores de cloro expressos em mg/L.

Este método, conhecido como «teste O. T.», dá-nos o cloro livre, as cloraminas menos activas do que o cloro e ainda o cloro combinado com a matéria orgânica, que geralmente não tem capacidade bactericida.

Os compostos orgânicos ou inorgânicos do ferro, manganésio, nitritos, linhocelulose, algas, etc., presentes na água coram também a ortotolidina.

Os limites máximos para as 3 primeiras substâncias interferentes são:

Ferro	0,3 mg/L
Manganésio	0,01 mg/L
NO ₂ exp. em N	0,1 mg/L

A interferência dos nitritos pode ser atenuada fazendo a reacção em câmara escura.

Para evitar a interferência do ferro e do manganésio usámos com bons resultados um soluto fosfórico de ortotolidina nas seguintes proporções:

Ortotolidina	0,1 g
Ácido fosfórico	50 cm ³
Água destilada q. b. p.	250 cm ³

O ácido fosfórico precipita o ferro e o manganésio.

Deve-se adicionar a água ao soluto de ortotolidina e não este à água.

c) *Método O. T. A.*

Este método é devido a GILCREAS e HALLINAN.

Em 1944 F. J. HALLINAN (²) fez uma simples modificação ao teste O. T. (ortotolidina), que consiste no emprego dum reagente adicional, o arsenito de sódio.

Este método permite, segundo o autor, diferenciar, medir o cloro residual livre e o cloro residual combinado, e eliminar as interferências.

GILCREAS e HALLINAN propuzeram então a técnica a seguir descrita, que designaram por O. T. A.

É um método hoje muito usado na verificação da cloragem da água.

REAGENTES NECESSÁRIOS

1.º — Solutos de ortotolidina

Ortotolidina	1 g
Ácido clorídrico	100 cm ³
Água destilada	1.000 cm ³

2.º — Solutos de arsenito de sódio

Anidrido arsenioso	5 g
Bicarbonato de sódio	5 g
Água destilada q. b. p.	1.000 cm ³

misturar o anidrido com o bicarbonato, adicionar 200 cm³ da água e ferver até completa dissolução. Completar o volume de 1.000 cm³. Filtrar.

Técnica: Medir para 3 tintas do comparador marcadas com A, B e OT 10 ou 15 cm³ da água a ensaiar. As quantidades de ortotolidina e arsenito a adicionar serão 0,5 cm³ ou 0,75 cm³ consoante o volume de água medido.

Adicionar à tina A o soluto de ortotolidina, misturar e decorridos exactamente 15 segundos juntar o soluto de arsenito e misturar novamente.

À tina B adicionar o arsenito e misturar; adicionar depois a ortotolidina e misturar.

À tina O.T. adicionar apenas soluto de ortotolidina.

Comparar as cores logo que se atinja o máximo de coloração (cerca de 15 minutos).

A temperatura deve ser de 20º aproximadamente e não se devem expor as amostras à luz directa.

Exemplo:

	Tina A	Tina B	Tina O.T.
Água a analisar	15,0 cm ³	15,0 cm ³	15,0 cm ³
Solutos de ortotolidina	0,75 »	—	0,75 »
Solutos de arsenito	0,75 »	0,75 »	—
Solutos de ortotolidina	—	0,75 »	—

A coloração obtida na tina A pode ser devida ao cloro livre e às substâncias que interferem, como o ferro, o manganésio e os nitritos. A cor resultante da tina B, se a houver é devida à presença do ferro, manganésio e nitritos; portanto:

$$A - B = \text{cloro residual livre}$$

A cor da tina OT é devida ao *cloro residual livre*, *cloro residual combinado* (cloraminas ou outros compostos clorados), ao ferro, manganésio e nitritos.

OT — A=CLORO RESIDUAL COMBINADO

A	B	O.T.
Cloro livre Interferências	Interferências	Cloro livre Cloro combinado Interferências
A — B = cloro residual livre O.T. — A = cloro residual combinado		

A comparação pode fazer-se ou com padrões fixos ou por outro qualquer método colorimétrico.

É susceptível de erros logo que seja grande a quantidade de matéria orgânica e as substâncias que interferem ultrapassem determinados limites.

É fácil conceber-se qual o maior defeito dum método, como este, que se baseia na diferença de velocidade de duas reacções.

Assim, em amostras contendo grandes quantidades de cloro residual combinado podem indicar mais cloro livre do que o existente, pois que, para pequenas concentrações de cloro livre, a reacção é lenta e, quando a cloramina aumenta, a reacção é mais rápida.

Os tempos de espera para as leituras do final das reacções (15 segundos, 3 minutos e 15 minutos) são dados para determinadas temperaturas, e a temperatura no laboratório não é sempre a mesma.

d) «Teste»relâmpago de Laux

Este método permite separar o cloro residual livre do cloro residual combinado.

Adicionar a 100 cm³ da água 1 cm³ de soluto clorídrico de ortotolidina e fazer a leitura 15 segundos após a adição do reagente (cloro livre). Fazer nova leitura decorridos cinco minutos (cloro total). Deve operar-se à temperatura de 20° C. (43).

Também é influenciado por interferências.

e) Método de Connel (38)

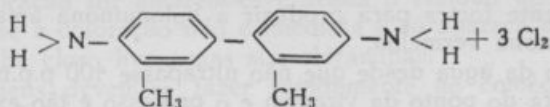
Neste método empregam-se dois reagentes, soluto a 1 ‰ de ortotolidina e ácido clorídrico diluído.

A técnica é diferente da usual, pois que se junta, pouco a pouco, o soluto de ortotolidina contido numa galheta, à água já adicionada de ácido clorídrico, de forma que o pH seja aproximadamente 1,8.

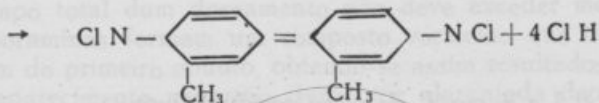
Quando se adiciona soluto de ortotolidina à água acidulada contendo cloro residual livre dá-se o seguinte:

1.º — Com a primeira ou segunda gota forma-se instantâneamente

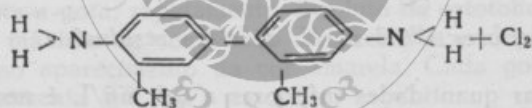
uma coloração âmbar ou âmbar-amarelada, devido à formação de pequenas quantidades de cloro-holoquinona (vermelha).



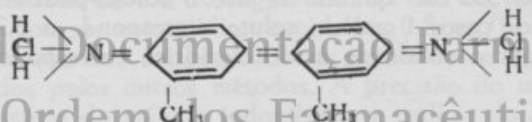
Ortotolidina

Cloro-holoquinona substituída (vermelha)
(reação intermediária)

2.º — Adicionando mais soluto de ortotolidina a cor vermelha acentua-se, atingindo o máximo quando a relação é de uma molécula de ortotolidina para 6 átomos de cloro, mas como este ponto é difícil de se reconhecer continua-se a adicionar o soluto de ortotolidina até que o líquido se core de amarelo (formação de holoquinona), tendo então atingido a relação de 1 molécula de ortotolidina para dois átomos de cloro.



Ortotolidina (p.m. 212)



Holoquinona da ortotolidina (amarela) *

1 cm³ de sol. a 1 ‰ ou 0,334 mg de Cl

Em amostras que contenham menos de 2 mg de cloro, por litro, forma-se a cor âmbar (avermelhada ou alaranjada) e quando a concentração é superior a 3 mg/L, a coloração é vermelho-morango.

A dosagem faz-se rapidamente e é suficientemente exacta. O azoto nitroso, o ferro férrico e o manganésio não interferem e a presença da cloramina tem pouca importância, pois reage mais lentamente do que o

* Holo do grego *holor* (inteiramente). A ortotolidina é inteiramente oxidada, convertendo-se na forma quinona.

cloro livre, sendo portanto um método destinado a dosear o cloro residual livre.

Os nitritos, o ferro e o manganésio não interferem, pois são oxidantes suficientemente fortes para produzir a holoquinona amarela, mas não a cloro-holoquinona vermelha.

A turvação da água desde que não ultrapasse 400 p.p.m. também não dificulta a leitura do ponto da viragem e o processo é tão exacto, segundo o autor, como o do arsenito-ortotolidina, ainda com vantagem de se poderem dosear quantidades mais elevadas de cloro.

TÉCNICA

a) Teores de 0,3 a 4 mg/L de cloro residual livre

1.º — Num matraz de 500 cm³ deitar 333 cm³ da amostra.

2.º — Acidular com 1 cm³ de soluto de ácido clorídrico 6 N.

3.º — Duma galheta adicionar 1 ou 2 gotas de soluto de ortotolidina.

Se aparecer dentro de 2 a 4 segundos coloração amarelada ou laranja-clara continuar a adicionar rapidamente o reagente, agitando, até atingir coloração amarela.

Antes de atingir esta coloração o líquido vai-se corando até atingir a máxima cor vermelha, formação da cloro-holoquinona substituída, como já foi dito. A dosagem deve fazer-se o mais rapidamente possível.

b) Teores inferiores a 0,3 mg/L de cloro residual

Para dosear quantidades inferiores a 0,3 mg/L é necessário ou usar maior volume de água ou empregar solutos de ortotolidina mais diluídos.

O volume conveniente é 1 litro quando se empregue o soluto de ortotolidina-padrão ou 333 cm³ quando se use o soluto-padrão diluído a 1:3. Em qualquer dos casos 1 cm³ do soluto corresponde a 0,33 mg de Cl/L. Deve-se empregar o soluto de ácido clorídrico correspondente ao volume da água.

da Ordem dos Farmacêuticos

c) Teores superiores a 4 mg/L

Para dosear cloro residual existente em quantidades de 4 mg/L a 15 mg/L devem empregar-se 100 cm³ da amostra, adicionar soluto de ácido clorídrico e soluto-padrão de ortotolidina. A dosagem deve ser rápida.

Logo que se trate de quantidades superiores a 15 mg devem-se empregar menores quantidades de água, mas completa-se o volume de 100 cm³ com água destilada isenta de amoníaco.

O soluto empregado de ortotolidina é obtido dissolvendo 1 g de ortotolidina em uma mistura de 100 cm³ de ácido clorídrico e 400 cm³ de água destilada, aquecendo a cerca de 60° C, deixando arrefecer e completando o volume de 1 litro.

Quando pela adição de 2 gotas de soluto de ortotolidina a 333 cm³ da água previamente acidulada aparece imediatamente coloração âmbar-

-claro ou alaranjada, indicando a presença de cloro livre (aprox. 0,2 p.p.m.), a dosagem deve continuar imediatamente.

Se a coloração for amarela-esverdeada o resíduo de cloro é inferior a 0,2 p.p.m.; se a coloração não é imediata e só aparece decorridos 1 a 3 minutos, não há cloro livre, mas sim cloraminas.

As dosagens devem-se fazer rapidamente no começo para impedir reacções secundárias produzidas pelo cloro em excesso e pequena quantidade de ortotolidina. Esta precaução é particularmente importante quando se trate de amostras que contenham grandes quantidades de cloro livre.

O tempo total dum doseamento não deve exceder meio minuto.

As cloraminas formam um composto vermelho que dará cor alaranjada ao fim do primeiro minuto, obtendo-se assim resultados mais elevados.

O reaparecimento vagaroso duma cor alaranjada depois da viragem a amarelo é indicio da presença de cloraminas.

No campo pode tornar-se o método mais prático, pois que basta pouco material: um frasco de boca larga de 125 cm³, de vidro branco, tendo marcados 84, 42 e 21 cm³; um frasco com ácido clorídrico diluído com igual volume de água, e, finalmente, um frasco conta-gotas com o soluto de ortotolidina. O frasco de conta-gotas deve ser calibrado de forma que 20 gotas correspondam a 1 cm³.

Deve-se fazer um ensaio prévio para se poder calcular a quantidade de água a empregar.

1) Loço que a quantidade de cloro residual seja inferior a 3 mg/L, empregar 84 cm³ da água adicionada de 3 gotas de ácido clorídrico. Adicionar então gota-a-gota, rapidamente, o soluto de ortotolidina até ao aparecimento dum máximo de cor âmbar ou vermelha e depois com rapidez moderada até ao aparecimento da cor amarela. Cada gota de soluto de ortotolidina representa 0,2 mg/.

2) Para resíduos de 3 a 6 mg/L empregar 42 cm³ de água e 4 gotas do ácido. Cada gota de ortotolidina equivale a 0,4 mg/L.

3) Para resíduos de 6 a 10 mg/L usar 21 cm³ da amostra e 2 gotas do ácido. Cada gota de ortotolidina equivale a 0,8 mg/L.

O autor diz que este método dá bons resultados e que se aproxima muito dos obtidos pelos outros métodos. A precisão do método é aproximadamente a mesma do método iodométrico e melhor do que o conhecido por O.T.A. Termina por afirmar:

1.º — É um método satisfatório para a dosagem do cloro residual livre para muitos tipos de água.

2.º — É mais rigoroso do que os métodos colorimétricos vulgares.

3.º — De fácil aplicação no campo.

4.º — Pode ser usado com a maior confiança quando mesmo em presença de nitritos, ferro e manganésio.

Este método pode substituir o método da heliantina, que descreveremos mais adiante.

f) Método de Palin — Sal de Mohr

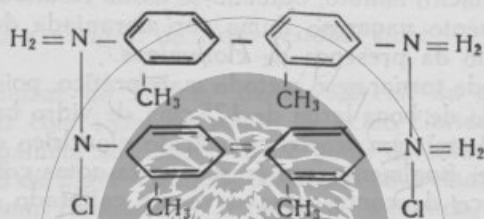
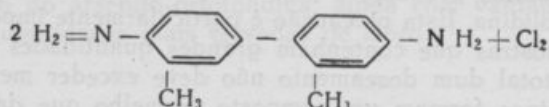
PALIN, químico inglês (39, 65), tem-se dedicado ao estudo da separação do cloro livre (ácido e ião hipocloroso) da monocloramina e da dicloramina.

Um dos seus métodos, que vamos descrever, fundamenta-se na for-

mação da meriquinona de cor azul, empregando um soluto neutro de ortotolidina, e na adição dum soluto titulado de sal de Mohr até ao desaparecimento da cor.

A palavra meri provém do grego *meros* (em parte).

Realmente a ortotolidina é 50 % oxidada, convertendo-se na forma quinona.



Em meio neutro, na água adicionada de um tampão e sem adição de iodeto doseia-se o cloro livre e o tricloreto de azoto. Logo que se adicione iodeto de potássio a monocloramina liberta iodo, provocando nova coloração azul e quando se acidifica o meio (pH=3) a dicloramina liberta novamente iodo. Como para este pH não há formação da meriquinona, a adição de bicarbonato faz aparecer novamente coloração no caso da presença da dicloramina.

Quando há tricloreto de azoto este é doseado juntamente com o cloro livre, isto é, na primeira fracção. Pode separar-se do cloro agitando o líquido com tetracloreto de carbono que dissolve o Cl_3N e doseia-se no líquido aquoso o cloro livre. A diferença das duas leituras dá a quantidade de Cl_3N .

SOLUTOS NECESSARIOS

1.º — Soluto-tampão

Fosfato dissódico anidro	12 g
Fosfato monopotássico	60 »
Hexametáfosfato de sódio	100 »
Água destilada	q. b. p. 1 litro

Adicionar para a conservação 0,02 g de cloreto mercúrico.

2.º — Soluto neutro de ortotolidina

Ortotolidina	1 g
Ácido clorídrico diluído a 20 %	5 cm ³
Água destilada	q. b. p. 1 litro

Guardar em frasco amarelo.

Nota — É preferível dissolver 1,35 g de bicloridrato de ortotolidina em 1 litro de água destilada.

3.º — Soluto de iodeto de potássio a 20 %

4.º — Soluto de ácido sulfúrico a 6 % em volume

5.º — Soluto de bicarbonato de sódio a 5 %

6.º — Soluto padrão de sal de Mohr (F. A. S.)

Sulfato ferroso amoniacal	1,106 g
Ácido sulfúrico diluído a 25 % em volume	1 cm ³
Água destilada fervida ...	q. b. p. 1 litro

Cada cm³ deste soluto equivale a 0,1 mg de cloro como se vê nas equações abaixo:



1 molécula de sal de Mohr < > Cl

392,14 1,106

————— z

z = 0,1 g L de Cl

1 cm³ < > 0,1 mg L de Cl

TÉCNICA

a) Dosagem do cloro livre

Medir para um Erlenmeyer de 250 cm³, 5 cm³ de cada reagente 1 e 2; forma-se um pequeno precipitado que pode ou não desaparecer por agitação. Adicionar 100 cm³ da água e agitar. No caso de formação de cor azul adicionar soluto de sulfato ferroso contido numa microgalheta até ao seu desaparecimento e tomar nota (*leitura n.º 1*).

Nota — Pode empregar-se maior ou menor quantidade de água consoante a sua riqueza em cloro.

b) Dosagem da monocloramina

Adicionar ao líquido anterior 1 cm³ de soluto de iodeto de potássio e agitar. Se reaparecer a cor azul (presença de monocloramina) adicionar soluto de sal ferroso até ao seu desaparecimento. Tomar nota (*leitura n.º 2*).

NOTA — Até este ponto o pH era 6 ou superior.

c) Dosagem da dicloramina

A amostra anterior adicionar 1 cm³ do soluto de ácido sulfúrico, agitar e deixar em repouso durante 1 minuto. O pH desce a cerca de 3 permitindo que a dicloramina liberte o iodo do iodeto de potássio

já adicionado, mas como a meriquinona, de cor azul, se não pode formar com este pH é então necessário elevá-lo ao seu valor inicial, adicionando-se para esse fim bicarbonato de sódio; se houver dicloramina o soluto cora-se novamente de azul ou mesmo de amarelo. Adicionar soluto de sal ferroso até ao desaparecimento da cor e fomar nota (*leitura n.º 3*).

Perto dos finais das descolorações esperar 5 segundos entre cada adição do soluto de sal ferroso.

Para evitar erros é aconselhável fazer a dosagem a temperatura inferior a 20° C.

PALIN verificou que a descoloração da meriquinona azul pelo sulfato ferroso não era instantânea e por isso aconselha esperar 15 segundos entre as adições sucessivas do mesmo soluto quando perto do final da reacção.

O tricloreto de azoto aparece na primeira fracção e ao princípio para o extrair empregava-se o tetracloreto de carbono.

Recentemente verificou-se que a adição de cerca de 10 p. p. m. de azoto amoniacal (cloreto de amónio), para o pH dado pelo soluto tampão, converte praticamente todo o cloro livre em monocloramina, ficando apenas o Cl_2N para dosear na primeira operação.

Há ainda um processo melhor, a adição de ácido oxálico, que destrói o cloro livre ficando o Cl_2N .

Estes processos têm a vantagem sobre o primeiro (extracção com Cl_4C) pois permitem a determinação directa e não por diferença.

d) Dosagem do tricloreto de azoto

Empregam-se 5 cm³ de soluto a 2 % de ácido oxálico para uma amostra de 100 cm³ da água adicionada dos reagentes n.º 1 e 2.

Verificou o autor que bastavam 15 minutos para eliminar o cloro livre. Adicionar então 5 cm³ do reagente 5, e 5 cm³ do reagente 2. Adicionar soluto de sal ferroso até descoloração (*leitura n.º 4*).

INTERPRETAÇÃO

Leitura 1	cloro livre e Cl_2N se houver
» 2	monocloramina
» 3	dicloramina
» 4×2	tricloreto de azoto

Cloro livre (leitura 1 — leitura 4)

PALIN verificou que apenas o manganésio mangânico pode causar erros, e neste caso aconselha a seguinte técnica:

Deitar num Erlenmeyer 5 cm³ do reagente 1, 1 cm³ do soluto de iodeto de potássio e 0,5 cm³ dum soluto de arsenito de sódio a 5‰; adicionar seguidamente 100 cm³ da água a analisar.

O arsenito elimina o cloro sob qualquer forma; adicionar 2 cm³ de soluto da ortotolidina e se houver formação de cor azul esta é devida à presença do manganésio. Adicionar então soluto de sal ferroso e subtrair do resultado da *leitura 1*.

WILLIAMS químico americano (42) que também se tem dedicado ao estudo das dosagens do cloro diz-nos que o método não é mau mas que a temperatura tem influência e que não vale a pena fazer a extracção do Cl_3N porque os erros são pequenos e a sua presença é assinalada pelo cheiro característico.

Em todo o caso verificou que agitando um soluto contendo sómente Cl_3N , com tetracloreto de carbono, só conseguia extrair $\frac{2}{3}$ deste e também que a melhor forma de o dosear seria dosear o cloro total em 2 amostras, tendo uma sido agitada, para eliminar o Cl_3N e a outra não. A diferença dos doseamentos dar-nos-á a quantidade de Cl_3N .

WILLIAMS notou que obteve viragens bem nítidas durante os 4 meses em que trabalhou a temperaturas compreendidas entre $0,3^\circ$ e 4° C. mas o mesmo não lhe sucedeu nos 2 meses em que a temperatura esteve compreendida entre 21° e 24° C.

g) Processo amperométrico de Marks e Glass

O processo amperométrico consiste resumidamente em dosear, por meio dum titulador amperométrico, primeiramente o cloro livre com arsenito, a pH 7, e depois as cloraminas a pH respectivamente 7 e 4, adicionando iodeto antes de cada doseamento.

MARKS e GLASS tinham verificado que as cloraminas só podem ser doseadas em presença do iodeto, enquanto que o ClOH reage quantitativamente com o arsenito.

Mais tarde CHAMBERLAIN e GLASS empregando o método amperométrico verificaram que este era apenas exacto para a dosagem do ClOH e no doseamento da monocloramina. Há um pequeno erro devido a vestígios de dicloramina que também reage.

A monocloramina liberta quantitativamente o iodo a pH 7 e a dicloramina a pH 4 constituindo assim a base do método amperométrico.

Utilizando o arsenito de sódio é necessário levar o pH à neutralidade antes do doseamento pois o arsenito não reage com o iodeto abaixo de pH 6. Felizmente MARKS mostrou que o óxido fenilarsénico se comporta como o arsenito em relação ao cloro e cloraminas, podendo além disso fazer-se a dosagem a pH baixo.

SOLUTOS NECESSARIOS

1.º — Tampão para pH=7

Fosfato monopotássico	35,4 g
Fosfato dissódico PO_4HNa_2 , 12 OH_2 ...	86 »
Água destilada	q. b. p. 1 litro

2.º — Tampão para pH=4

Ácido acético glacial	480 g
Acetato de sódio (3 mol. de OH_2) ...	243 »
Água destilada	q. b. p. 1 litro

3.º — *Soluto-padrão de óxido fenilarsénico*

Óxido fenilarsénico	0,8 g
Soluto de hidróxido de sódio 0,3 N	150 cm ³
Deixe decantar.	

Diluir 110 cm³ deste soluto em 800 cm³ de água destilada e adicionar ácido clorídrico diluído até obter pH compreendido entre 6 e 7.

Titular com soluto de iodo 0,00564 N e agitar; cada cm³ deste soluto equivale a 0,2 mg de cloro.

4.º — *Soluto de iodeto de potássio a 5 %*

TÉCNICA

A 100 cm³ da amostra adicionar 1 cm³ do tampão para obter pH 7 se o pH da água não estiver compreendido em 6,0 e 7,5.

Titular com o soluto de óxido fenilarsénico no aparelho de titulação amperométrica obtendo a leitura 1.

Adicionar à mesma amostra 0,2 cm³ de soluto de iodeto e titular — leitura 2.

Finalmente deitar 1 cm³ do soluto-tampão N.º 2 (para pH=4), 1 cm³ do soluto de iodeto de potássio e titular novamente — leitura 3.

Na ausência de Cl₂ N a leitura 1 dá o ClOH expresso em cloro, a leitura 2 dá a monocloramina expressa em Cl e a leitura 3 a dicloramina igualmente expressa em Cl.

Para a dicloramina quando o pH é superior a 4,5 a reacção torna-se demasiadamente lenta. Abaixo de pH 3,5 começa a ser doseado o mangânio oxidado.

WILLIAMS (42), na sua crítica ao método de PALIN, diz que nas experiências feitas verificou que, quando fazia a determinação amperométrica, uma amostra clorada adicionada de ortotolidina neutra e quando o cloro residual era substituído somente por ClOH, a adição da ortotolidina dava uma leitura amperométrica zero, indicando que o produto da reacção do ácido e da ortotolidina não é reduzido pelo arsenito usado no doseamento.

Logo que se adicionava iodeto de potássio e se baixava o pH até 4,0 então encontrava-se cerca de metade do cloro. Para a monocloramina a leitura era zero, a não ser que se baixasse o pH a 4,0 e se adicionasse iodeto de potássio, sucedendo o mesmo para a dicloramina.

Conclui-se que para as 3 formas o cloro reage com a ortotolidina irreversivelmente na zona neutra e que o método de PALIN não segue estritamente as sugestões de HAROLD.

li) *Método de Palin* — (p. aminodimetilanilina ou cloridrato de dimetilparafenilenadiazina)

Este método permite dosear o cloro livre.

Adicionando cloridrato de dimetilparafeniladiazina sempre que se opere a um pH conveniente (6 a 7) a coloração vermelha só aparece com o cloro livre, e não com as cloraminas.

Este reagente dá a mesma coloração com quantidades equivalentes de cloro e de iodo.

Em presença do iodeto de potássio ou em meio ácido (pH 4,0 ou inferior) obtém-se coloração imediata com o cloro livre e com as cloraminas.

Sempre que o pH da água seja inferior a 6 as cloraminas têm interferência, assim como o ião férrico (mais de 0,1 mg/L) e o manganésio-mangânico. Tamponada para pH 6 ou ligeiramente superior eliminam-se em grande parte essas interferências.

A leitura deve fazer-se entre $\frac{1}{2}$ e 1 minuto após a adição dos reagentes. O oxigénio interfere decorridos aproximadamente 3 minutos, dando coloração equivalente a 0,05 mg de cloro livre.

TÉCNICA

Reagentes:

Indicador

Soluto a 0,2 % de cloridrato de p-aminodimetilanilina em álcool metílico (conservar em frasco amarelo).

Soluto-tampão

Fosfato neutro de sódio	3,55 g
Fosfato ácido de potássio	3,40 g
Água destilada	q. b. p. 100 cm ³

Dosagem do cloro livre:

A 100 cm³ da água juntar 2 cm³ do soluto-tampão e 0,5 cm³ do indicador.

Fazer a leitura em célula fotoelétrica ou qualquer outro aparelho aplicado em colorimetria.

Dosagem do cloro total:

A 100 cm³ da água adicionar um cristal de iodeto de potássio e 0,5 cm³ do indicador. Fazer a leitura.

Pode substituir-se o iodeto de potássio por 3 a 4 gotas de ácido fosfórico diluído a 10 %. A reacção é mais lenta do que com o cloro livre.

Logo que o teor de cloro seja superior a 0,5 mg/L é necessário diluir a amostra com água destilada, completando o volume de 100 cm³.

Para as leituras na célula fotoelétrica é necessário construir um gráfico.

N

Para este efeito preparar um soluto $\frac{\text{N}}{3550}$ de iodo, tal que 1 cm³ corresponda a 0,01 mg de Cl, ou seja 0,1 mg/L se a toma for de 100 cm³.

N

Para preparar esse soluto diluir 10 cm³ dum soluto $\frac{\text{N}}{10}$ de iodo em 10

q. b. de água destilada para obter 1.000 cm³. O soluto obtido é portanto N
 —. A 282 cm³ deste soluto adiciona-se q. b. de água destilada para obter 1000 cm³.

W. ALLAN MOORE aconselha a fazer uso de solutos padrões de cor empregando fucsina básica e acetato de cobre. Estes solutos não se alteram durante 5 semanas.

- 1.º — Solutio-mãe de fucsina básica, 50 mg/L.
- 2.º — Solutio de fucsina básica para os padrões. Obtém-se diluindo 25 cm³ do soluto-mãe em q. b. de água destilada para completar 500 cm³.
- 3.º — Solutio-padrão de acetato de cobre N/10.
 Dissolver 19,96 g de acetato de cobre [(CH₃.CO.O)₂ Cu, 50H₂] em q. b. de água destilada para obter 1 litro de soluto.

TABELA DE PADRÕES PROPORCIONAIS

Cloro	Cm ³ de soluto de fucsina	Cm ³ de soluto de acetato de cobre
0,05	2,2	0,7
0,10	3,5	1,0
0,20	7,0	1,8
0,30	13,5	2,6
0,40	17,0	2,6
Água destilada q. b. para 50 cm ³		

Centro de Documentação Farmacêutica

Logo que o teor de cloro seja superior a 0,4 dever-se-á diluir a amostra.

Pode empregar-se para a dosagem *colorimétrica do cloro residual total* um soluto clorídrico de p.aminodimetilanilina ou dimetilparafenilenadamina.

Aconselha-se a usar também um soluto a 5 % de pirofosfato de sódio para evitar as perturbações que podem dar o ferro e os nitritos.

i) Método da heliantina — Wenkler e Taras

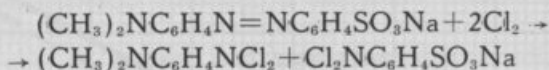
WINKLER verificou que o cloro livre tinha a propriedade de descolorar a heliantina e o vermelho de metilo, além doutros corantes orgânicos e que essa descoloração era não só quantitativa mas também instantânea quando em presença de ácido clorídrico; praticamente é nula quando se trate de cloraminas.

Este método fundamenta-se no facto de o potencial de oxidação das cloraminas, cerca de 0,7 vóltios, não ser suficiente para oxidar a heliantina,

ao passo que o *cloro livre*, tendo um potencial de oxidação da ordem de 1,3 vóltios, a oxida facilmente.

HOLWERDA (25) em 1928 interpreta essa reacção.

Segundo esse autor, a reacção seria:



Em experiências preliminares verificou que 50,0 mg de heliantina eram descorados por 21,9 mg de cloro e sendo portanto 2,28 a relação heliantina-cloro.

Teòricamente, segundo a reacção indicada, essa relação é 2,34, havendo pois um erro experimental de 0,06.

Como também o vermelho de metilo e outros corantes com a função azo são descorados em meio ácido, é lógico que a dupla ligação seja oxidada, resultando daí a cisão da molécula.

BEXMAN e WINKLER empregaram o vermelho de metilo para a determinação quantitativa do cloro livre nas águas usando a seguinte técnica:

A 100 cm³ da água levemente acidulada pelo ácido clorídrico adicionaram gota-a-gota soluto a 0,1 g/L de vermelho de metilo até coloração persistente.

Cada cm³ do soluto de vermelho de metilo corresponde a 0,05 mg de cloro.

TARAS (44) empregou a heliantina (soluto a 0,5 %) operando também em meio levemente clorídrico, aconselhando a juntar o soluto o mais rapidamente possível até ao aparecimento da cor rosada e calcula a quantidade de cloro livre empregando a seguinte fórmula:

$$\text{Cl}_2 \text{ mg/L} = 0,04 + (0,217 \times \text{cm}^3 \text{ de soluto de heliantina gastos})$$

A reacção só é específica em meio clorídrico; a presença do ácido sulfúrico, nítrico ou acético retarda a reacção e o meio não deve ser muito ácido, não devendo o pH tornar-se inferior a 3.

Se a determinação é rápida pode eliminar-se eficazmente a interferência dos agentes oxidantes, excepto a do manganésio-mangânico e a dos halogénios no estado livre.

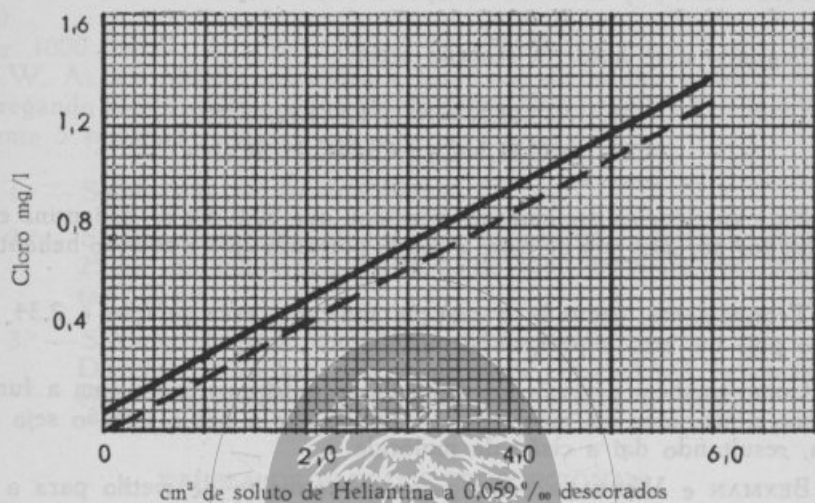
O ferro-férrico e os nitritos até 25 p.p.m. podem ser tolerados, pois necessitam de mais tempo para reagirem com a heliantina.

Vestígios leves de amoníaco ou seus sais impedem fortemente a reacção entre o cloro e a heliantina quando em meio clorídrico.

TARAS verificou experimentalmente que havia um desvio de 0,04 entre o valor teórico e o obtido experimentalmente.

Fez dosagens paralelas usando o método iodométrico e o da helian-

tina. Depois de uma série de dosagens, cujos resultados constam de uma tabela indicada no seu trabalho, construiu o seguinte gráfico:



Os pontos da linha quebrada do gráfico foram calculados teoricamente e os pontos da linha contínua foram obtidos experimentalmente. Ambas as linhas obedecem à equação $y = mx + b$, diferindo unicamente pelos valores da constante b . No caso da linha calculada, o valor de b é zero e para a linha experimental o valor de b é igual a 0,04. O valor de m aproxima-se de 0,217 para as linhas paralelas. A constante é válida para os intervalos de 0,07 a 1,3 p.p.m. Podemos usar concentração mais forte de heliantina, mas deve fazer-se um estudo para determinar a constante b .

As diluições aconselhadas são, segundo TARAS, as seguintes a partir dum soluto a 0,5‰:

1:5 quando haja 2 a 5 p.p.m. de cloro; 1:2 para 5-10 p.p.m. e não diluir quando a quantidade de cloro é superior a 10 p.p.m.

A tabela dá-nos valores obtidos com as respectivas diluições de heliantina.

100 cm³ da amostra

Cloro adicionado	Cloro encontrado
3,00 p.p.m.	3,1 p.p.m.
5,00 »	5,1 »
10,00 »	9,9 »
25,00 »	24,5 »
30,00 »	29,00 »

Na Alemanha para dosear pequenas quantidades de cloro na água clorada usava-se a dimetil.p.fenilenadamina, mas, como era difícil de se encontrar o composto e como o método da ortotolidina apresenta diferentes lacunas, GAD e PRIEZNITZ⁽⁴⁵⁾ aperfeiçoaram o método da heliantina e do vermelho de metilo que permite dosear duma maneira simples e segura fracas quantidades de cloro (0,3 a 0,03 mg/L).

Os autores procuraram facilitar e acelerar a reacção pela adição de diferentes sais e verificaram que a adição de um pequeno cristal de brometo de potássio torna a descoloração pelo vermelho de metilo muito mais rápida mesmo quando na água existam pequenissimas quantidades de cloro.

Os autores verificaram que para os compostos que têm por base o vermelho de metilo como sejam o amarelo de dimetilo (*p. dimetilaminoabobenzol*) e o seu derivado sulfonado, a heliantina, sucedia o mesmo. Quatro átomos de cloro descoram uma molécula de corante.

Decerto que os autores não repararam que a adição do brometo nos dará, não o teor de cloro residual livre, mas sim o teor de cloro residual total, isto é, o cloro livre mais o cloro das cloraminas.

Lembrámo-nos então de empregar os dois métodos, um sem adição de brometo, que nos dará o cloro total e, por diferença, teremos o cloro das cloraminas.

Podem fazer-se para maior comodidade as determinações da mesma amostra.

Acidula-se a água e determina-se o cloro residual, adicionando rapidamente o soluto de heliantina até o liquido se corar de vermelho e em seguida junta-se um cristal de brometo de potássio e continua-se a adicionar o soluto de heliantina até coloração vermelha persistente.

Para empregar o soluto de vermelho de metilo (P. m. = 269) pesar 0,1 g e triturar com 10 cm³ de soluto N de hidróxido de sódio; completar o volume de 1 litro com água destilada.

No caso da heliantina (P. m. = 327) pesar 0,1216 do sal sódico e dissolver em q. b. de água destilada para obter 1 litro de soluto.

No caso do amarelo de metilo pesar 0,0836 g e dissolver em q. b. de ácido clorídrico diluído para perfazer 1 litro de soluto.

Os solutos de heliantina e de amarelo de metilo são mais rapidamente descorados que o de vermelho de metilo.

O reagente mais apropriado é o de heliantina; 0,1 mg de cloro descoram 3 cm³ dum soluto a 0,1216 g/L.

Aconselhamos a empregar o soluto indicado por TARAS para a determinação do cloro residual livre.

- 1.º — *Soluto mãe de heliantina*
 Heliantina 0,5
 Água destilada q. b. p. 1000 cm³
- 2.º — *Soluto de heliantina*
 Soluto mãe de heliantina 100 cm³
 Água destilada q. b. p. 1000 cm³
- 3.º — *Ácido clorídrico diluído (aprox. 5 N)*
 Ácido clorídrico 428 cm³
 Água destilada q. b. p. 1000 cm³

Técnica: Medir para uma cápsula de porcelana ou para um Erlenmeyer 100 cm³ da água, adicionar 2 a 4 gotas do ácido clorídrico e juntar o soluto de heliantina contido numa galheta, agitando constantemente até ao aparecimento da cor vermelha. Se o liquido se descora depois é porque há cloraminas.

No caso de se pretender determinar o cloro total adicionar um cristal de brometo de potássio e continuar a adição do soluto de heliantina até coloração persistente.

Calcular a quantidade de cloro pela fórmula:

$$\text{Cl mg/L.} = 0,04 + (0,217 \times \text{cm}^3 \text{ do soluto de heliantina})$$

É necessário para evitar erros fazer a determinação em local onde não haja amoníaco na atmosfera.

PERÓXIDO DE CLORO — *Dosagem pela ortotolidina*

Em presença de peróxido de cloro a ortotolidina cora-se de amarelo tal como sucede com o cloro.

Pode empregar-se o método conhecido por O. T. A. com modificações.

ASTON⁽⁶²⁾ aconselha a adição de ácido oxálico, que não é oxidado pelo ClO_2 mas sim pelo cloro, formando-se ClH , CO_2 e OH_2 .

O autor verificou que adicionando ácido oxálico N/10 o cloro não dá coloração à ortotolidina e que existindo 0,5 p. p. m. de peróxido de cloro apenas se doseava 0,1 p. p. m. de cloro, isto é, $\frac{1}{5}$ da quantidade de peróxido.

Técnica: Reagentes, aparelhagem e quantidades a empregar idênticas aos do processo OTA

Reagentes, aparelhagem e quantidades a empregar idênticas aos do processo O. T. A.

A quatro amostras da água adicionam-se respectivamente:

- 1.º — Arsenito e depois ortotolidina — Leitura 1;
- 2.º — Ortotolidina — Leitura 2;
- 3.º — Ortotolidina e depois arsenito — Leitura 3;
- 4.º — 1 cm^3 de soluto saturado de ácido oxálico, depois ortotolidina e finalmente arsenito — Leitura 4.

A leitura 1 dá-nos as substâncias interferentes, a 2 as substâncias interferentes, o cloro livre, o peróxido de cloro e as cloraminas, a 3 as substâncias interferentes, o cloro livre e $\frac{1}{5}$ do peróxido de cloro expresso em cloro e finalmente a 4 as substâncias interferentes e o peróxido de cloro.

Podemos portanto determinar por este processo o peróxido mas se o quisermos exprimir em cloro teremos de multiplicar o valor obtido por 5.

Devem exprimir-se os resultados em unidades de O. T. A. pois que os estudos sobre bactérias são sempre expressos em Cl residual ao O. T. A.

A cor com a ortotolidina é muito mais lenta a formar-se podendo atingir o máximo de intensidade decorridas cerca de 3 horas.

PALIN dá-nos o seguinte quadro:

Ordem dos reagentes	Leituras	Em presença do Cl O ₂ leitura	Em presença do ClO ₂ usando o Cl NH ₄ (*)
A. OT. OT. A. OT	SI SI+Cl ₂ SI+T Cl ₂	SI SI+Cl ₂ +ClO ₂ SI+TCl ₂ +ClO ₂	SI SI+Cl O ₂ SI+TCl ₂ +ClO ₂

A =arsenito

OT=ortotolidina

SI =substâncias interferentes

Cl₂=cloro livre

TCl₂=cloro total (Cl+cloramina)

ClO₂=peróxido de cloro

(*) Adicionando ácido oxálico obtém-se a mesma coisa — no 2.º elimina-se o cloro ficando portanto as interferências+Cl O₂.

Subtraindo desta leitura a obtida na 1.ª (interferências) ficará o ClO₂.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) ULLMANN: *Enciclopedia de Química Industrial* — secção II, pág. 266 (1929) Gustavo Gigli — Barcelona.
- (²) PAUL FRISSON: *Le «test» O. T. A. dans la chloration des eaux L'eau*, 35° (5), 59-63 (1948).
- (³) BERNARDINO A. V. DE PINHO: *Os sais de amónio na correcção da cloragem das águas de abastecimento*, An. com. (1932).
- (⁴) TRUHMANT: *Les méthodes de traitement des eaux destinées à l'alimentation humaine aux État-Unis — L'eau*: 39 (7), 129-131 (1952); 39 (8), 141-145 (1952); 39 (9), 157-160 (1952).
- (⁵) GUINEY, P. L.: *Microbiology of Water and Sewage for Engineering students* (1947).
- (⁶) CLARK, A. E.: *Operation of Small Water Filtration Plants*; VI — Disinfection — WATER & SEWAGE WORKS, 95 (7), 253-254 (1948).
- (⁷) ANDRÉ LE STRAT: *Mesure à prendre contre les saveurs et les nauvais goûts des eaux de distribution publique — La Technique de l'eau*, 62 (2), 13-18 (1952).
- (⁸) GORDON FAIR, MORRIS, SHIB LU CHANG: *The Behavior of chlorine as a Water Disinfectant* — J. Am. Water Works Assoc. 40 (10), 1051-1061 (1948).
- (⁹) EDWARD MOORE: *Fundamentals of chlorination of Sewage und Waste Water & Sewage Works*, 98 (3), 130-136 (1951).
- (¹⁰) LUCAS: *La sterilisation par le chlore et ses derivés. La technique de l'eau* 3 (1) 11-16 (1949).
- (¹¹) PHILIPPE VARRILLA: *La verdunisation des eaux* — Lib. Bailliere et fils, Pars (1928).
- (¹²) SCHILOV AND SALODUSHENKOW: *The velocity of hidrolisis of chlorine* — J. Am. Chem. Soc., 68, 1692-1694 (1946).
- (¹³) JAKOWKIN: *Z. physok Chem.*, 29, 654 (1899).
- (¹⁴) GREEN, D. E. AND STUMPF P. K.: *The mode of action of chlorine* — J. Am. Water Works Assoc. 38 (10), 1031 (1946).
- (¹⁵) LEFEBVRE P. H.: *La chloration des eaux dans les fabriques de conserves — La Technique de l'eau*, 59 (11), 13-20 (1951); 60 (12), 19-24 (1951).

- (16) LEVIEL *La sterilisation des eaux par le chlore et ozone* — *Tech. Sanit. et Munic.*, **45** (2), 46-61 (1950).
- (17) EGGERT J.: *Tratado de química-física* — Labor — Barcelona (1930).
- (18) TOPLEY e WILSON: *Bacteriologia e imunidade* — Salvat — Barcelona (1942).
- (19) DANIEL J. BENGOLEA: *A cloração das águas e sua nomenclatura* — *Revista de Obras Sanitarias de La Nation*, **141** (4-6), 252-255.
- (20) JUAN PUIG: *El agua en la industria textil* — José Montesó — Barcelona (1948).
- (21) CYRIL GOMELLA: *La chloration des eaux de Marseille* — *Tech. Saint. et Manic.*, **45** (2), 51-57 (1950).
- (22) FABER H. A.: *Contemporary chlorination Practices journal of the Institution of Water Engineers*, Vol. I (5), 454 (1947).
- (23) PALIN A. T.: *A study of the chloro derivatives of ammonia and related compounds with special reference to their formation in the chlorination of natural and polluted waters* — *Water and Water Eng.*, **54** (10), 151-159 (1950); **54** (11), 189-200 (1950); **54** (12), 248-256 (1950); *The sterilisation of Water (Symposium) B) Chemical aspect of chlorination* — *J. Inst. Water Engrs.*, **7** (1), 565-581 (1950); — *The Breakpoint chlorination of Water Eng.*, **48** (9), 491-503 (1945).
- (24) CALVERT C. K.: *Superchlorination* — *Water Works & Sewerage*, **87** 299 (1940); *J. Am. Water Works Assoc.*, **34** 285 (1942); *Some chemical aspects of the Ammonia-Chlorine*, **35** (10), 1340 (1943).
- (25) HOLWERDA: *Mededeelingen van den Dienst der Volksgezandheid in Nerlandesch Indie*, **17**, 251 (1928); **19**, 325 (1930).
- (26) W. ALLEN MOORE, STEPHEN MEGREGIAN AND C. RUCHOFT: *Some chemical aspects of the ammonia-chlorine* — *J. Am. Water Works Assoc.*, **35** (10), 1329-1343 (1943).
- (27) FREDERICK O. A. ALMQUIST: *Water Treatment in Connecticut* — *J. Am. Water Works Assoc.*, **35** (10), 1329-1343 (1943).
- (28) GRIFFIN A. E.: *The breakpoint process* — Wallace e Tierman — *Technical Publication*, N.º 213 (1945).
- (29) LEVIEL R.: *La sterilisation des eaux par le chlore et ozono* — *Tech. Sani. Munic.*, **45** (2), 46-50 (1950).
- (30) WILLIAMS M. D. B.: *Nouvelle methode de controle des odeurs* — *La Technique de l'eau*, **3** (12), 21-26 (1949).
- (31) COUTINHO C. C. e NORONHA, M.ª MANHELA: *Influência dos iodetos na exaltação do sabor e cheiro em presença de fenóis* — *Relatório do II Congresso Luso-Espanhol de Farmácia*, II volume, pág. 538-543 (1952).
- (32) INGOLS R. S. AND RIDEMOUR G. M.: *The elimination of Phenolic Taste by chloro-oxidation* — *Water & Sewage Works*, **95** (5), 187-190 (1948).
- (33) M. DE VALLIERS: *La sterilisation de l'eau par le chlore dans la banlieux de Paris* — *Tech. Sanit. et Munic.*, **45** (2), 50-51 (1950).
- (34) GORDON FAIR, J. GARRELL MORRIS AND SHIN LU CHANG: *The dynamics of Water Chlorination* — *J. New Engl. Water Works Assoc.*, **61**, 285-301 (1947).
- (35) ALEXANDRE HOUTON: *La sterilisation des eaux par le chlore à Londres, 1925-1925* — *L'eau*, **20** (1), 3-4 (1927).
- (36) LURE IU. IU. e NIKOLAEVA Z. N.: *Comparaison des diverses methodes pour le dosage du chlore et des chloramines dans les eaux* — *Zavods Kay a Laboratoria*, **16** (7), 793-799 (1950).
- (37) WELLINGTON GRILCREAS F.: *The value of Laboratory Examination To the Water Plant Operator*, *Water Works & Sewerage*, **87** (5), 63-66 (1949).
- (38) CONNELL C. H.: *An o-Tolidine Titration Procedure for Measuring Free Available Chlorine Residuals* — *J. Am. Water Works Assoc.*, **39** (3), 209-218 (1947).
- (39) PALIN A. T.: *The Estimation of Free Chlorine and Chloramine in Water* — *J. Inst. Water Engrs.*, **3**, 100 (1949).
- (40) MARKS H. C. e GLASSE J. R.: *A New Method of Determining Residual chlorine* — *J. Am. Water Works Assoc.*, **34** (4), 263-265 (1942).
- (41) MARKS H. C., WILLIAMS D. B. e GLASCOW G. U.: *J. Am. Water Works Assoc.*, **43**, 201-207 (1951).
- (42) WILLIAMS D. B.: *Mono and Dichloramine* — *Determination in Water Water & Sewage Works*, **98** (10), 429-433 (1951).
- (43) DEGREMONT: *Memento Technique de l'eau, Paris* pág. 142 (1951).
- (44) MICHAEL TARAS: *The microtitration of Free Chlorine With Methyl Orange* — *J. Am. Water Works Assoc.*, **38** (10), 1146-1150 (1946).

(48) GEORG GAD ET ERNA PRIEGNITZ: *Le dosage du chlore libre dans l'eau au moyen de colorants sensibles au chlore* — *Gesundheits — Ingenieur*, **68** (6), 174 (1947).

(49) JOHANNES KEGEL: *Production continue de acido hipochloreux pour le traitement de l'eau* — *Gas — und Wasserfach*, **90** (13), 330-337 (1949).

(50) GUILLERD A. ET VILLEMARINE F.: *Le «test» de chlore dans la javollisation des eaux* 18^e Congrès de chimie Industrielle — Nancy (1938).

(51) WHITLOCK E. A.: *The application of chlorine in the treatment of Water* — *Water and Water Eng.*, **57**, 683 (1953).

(52) COUTINHO C. C.: *Relatório sobre a autojavelização das águas da Companhia das Águas de Lisboa e do poço da ponte do Arsenal da Marinha.* (Junho de 1929).

(53) O ferro e o manganésio na água — *Boletim do Serviços Técnicos da C. A. L.* (1950).

(54) OTTO BIER: *Bacteriologia e imunologia* 5.^a edição (1951) S. Paulo.

(55) CASARES LOPEZ, R., CÂNDIDO COUTINHO, C., GUEDES DE CAMPOS, R. e VILLANÚA FUNGAIRINO, P.: *Guia de ensaios normativos de análise química das águas potáveis — Técnica N.ºs 164-165-166 e 167* (1946).

(56) SYNAN J. F., MAC MAHON J. D. e VINCENT G. P.: *Chlorine Dioxide in Potable Water Treatment* — *Water and Water Eng.*, **48**, 285-286 (1945).

(57) ROYDEN ASTON: *Chlorine Dioxide Use in Plants on the Niagara Border* — *J. Am. Water Works Assoc.*, **39** (7), 687-690 (1947).

(58) ROYDEN ASTON: *Developments in the chlorine Dioxide Process* — *J. Am. Water Works Assoc.*, **42** (2), 151-154 (1950).

(59) PALIN A. T.: *Chlorine Dioxide in Water Treatment* — *J. Inst. Water Engrs.*, **2** (1), 61-74 (1948).

(60) INGOLS R. S. e RIDENOUR G. M.: *chemical Properties of Chlorine Dioxide in Water Treatment* — *J. Am. Water Works Assoc.*, **40** (11), 1207 (1948).

(61) CARLOS SALAS e JOSÉ KEMPY: *El tratamiento del agua por el peroxido de cloro* — *Revista de Obras Sanitarias de la Nation*, **9**, 6-18 (Junho-Julho-1947).

(62) RIDENOUR G. M. e AMBRUSTER E. H.: *Bactericidal Effect of Chlorine Dioxide* — *J. Am. Water Works Assoc.*, **41** (61), 537-550 (1949).

(63) INGOLS R. S.: *Chlorine dioxide as a bactericide for Water Treatment* — *J. Inst. Water Engrs.*, **4** (7), 581-586 (1950).

(64) ANY FABER: *A Theory of taste and odor reduction by chlorine Dioxide* — *J. Am. Water Works Assoc.*, **39** (7), 691-692 (1947).

(65) CANAZ, PUTHARD ET DONANC: *Chlorite de sodium* — *J. phar. Belg.*, **41** (1949).

(66) FAGO — SIGFRID VITTORINO: *Potabilizzazione delle acque Moderne metodi e mezzi* — Ed. Ulrico Hoepli — Milano (1936).

(67) S. HOLST: *Ion*, 23-24 (Fevereiro de 1952).

(68) A. PALIN: *Determining Residual Chlorine in Water by neutral orto-tolidine methods* — *Water & Sewage Works*, **101**, 74-76 (1954).

Centro de Documentação Farmacêutica da Ordem dos Farmacêuticos

Esta obra foi adquirida pelo Centro de Documentação da Ordem dos Farmacêuticos e está depositada no Centro de Documentação da Ordem dos Farmacêuticos. A cópia desta obra foi feita para fins de distribuição em centros de documentação. A reprodução desta obra para fins comerciais é proibida.

RESUMOS

QUÍMICA FARMACÊUTICA

Aldosterona — Isolamento, propriedades e determinação da estrutura química

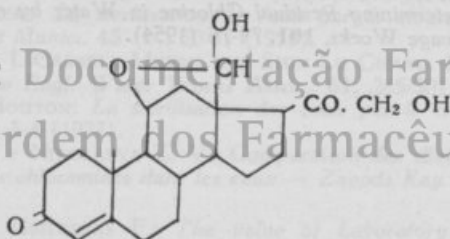
SIMPSON, S. A., TAIT, J. F., WETTSTEIN, A., NEHER, R., EUW, J. V., SCHINDLER O.
& REICHSTEIN I.: *Helv. chim. Acta*, **37**, 1163-1223 (1954)

Nos trabalhos indicados acima, T. Reichstein e colab. descrevem o método de isolamento e as propriedades, e indicam a estrutura química da aldosterona, uma nova hormona do cortex das cápsulas suprarenais.

Com esta substância, a mais activa das hormonas corticais até agora conhecida, são já trinta os esteroides de vinte e um átomos de carbono isolados das cápsulas suprarenais por Reichstein e colab.

Os mesmos autores tinham dado já a conhecer em trabalhos anteriores (*Exper.* **9**, 333 (1953) e **10**, 132 (1954)) alguns pormenores do isolamento e das propriedades desta hormona que, pela sua actividade tão extraordinária, fora designada provisoriamente por electrocortina. Agora, depois de conhecida a estrutura, propõe o nome definitivo de aldosterona. Esta última designação está mais de acordo com a nomenclatura usada internacionalmente pois este corticosteroide difere dos conhecidos anteriormente por possuir um novo ciclo, resultante da formação de um semiacetal à custa de uma função aldeído localizada no carbono 18 e da função álcool do carbono 11.

A aldosterona é quimicamente um semiacetal da 18-oxo-corticosterona



Aldosterona

A acção biológica foi já estudada por diversos autores:

SIMPSON e TAIT, *Endocrinol.* **50**, 150 (1952), verificaram que a aldosterona, em ratos, era cem vezes mais activa do que a cortexona (dexametasona). DESAULLES e colab., *Schweiz. med. Wschr.* **83**, 1088 (1953), encontraram, em relação à cortexona, uma acção vinte e cinco vezes mais acentuada na retenção de sódio e cinco vezes superior na eliminação do potássio. Estes últimos autores verificaram que a aldosterona não influi na eliminação da água, o que distingue a sua acção também sob o ponto de vista qualitativo da da cortexona.

Segundo GROSS e GYSEL, *Acta endocrinol.* **15**, 199 (1954), são necessárias quantidades da aldosterona, 25 a 30 vezes inferiores as da acetilcortexona, para manter vivos cães sem cápsulas suprarenais.

Para tratar pacientes com doença de Addison são precisas quantidades 20 a 30 vezes inferiores às da acetilcortexona.

MACH, FABRE, DUCKERT, BORTH e DUCOMMUN, *Schweiz. med. Wschr.* **84**, 407 (1954); THORN, trab. em pub. e FORSHAM trab. em pub.).

Também nos seres humanos as suas acções diferem quantitativamente e qualitativamente das dos outros corticosteroides. A aldosterona tem acção sobre o metabolismo dos glucidos, não origina a retenção anormal da água e não eleva a pressão sanguínea acima dos valores fisiológicos. Além disso, produz a diminuição da pigmentação mais nitidamente do que qualquer das outras hormonas conhecidas antes.

Estas ligeiras notas, respigadas de outros trabalhos e referentes às acções biológicas da aldosterona, dão uma ideia da importância deste problema e deixam antever as repercursões que a descoberta do Prof. Reichstein e colab. virá a ter na medicina.

Não queremos deixar de referir que o Prof. Reichstein foi, durante muitos anos e até há pouco, professor de química orgânica e director da «Pharmazeutisches Anstalt» de Basileia, escola de onde saiu a maior parte dos seus numerosos e importantíssimos trabalhos os quais, em 1951, viriam a ser premiados com a atribuição do prémio Nobel da Medicina.

Julgamos ser interessante salientar que estes trabalhos da aldosterona foram realizados em três laboratórios de investigação de dois países: the Middlesex Hospital Medical School, London; Forschungslaboratorien der Ciba A. G., Basel e Organisch-chemische Anstalt der Universität, Basel. É de registar ainda que uma firma industrial de um terceiro país — a Organon-Oss, Holanda — contribuiu para estes estudos fornecendo o extracto de uma tonelada de cápsulas suprarenais.

A. J. C. R.

Centro de Documentação Farmacêutica

SÍNTESE DA OXITOCINA

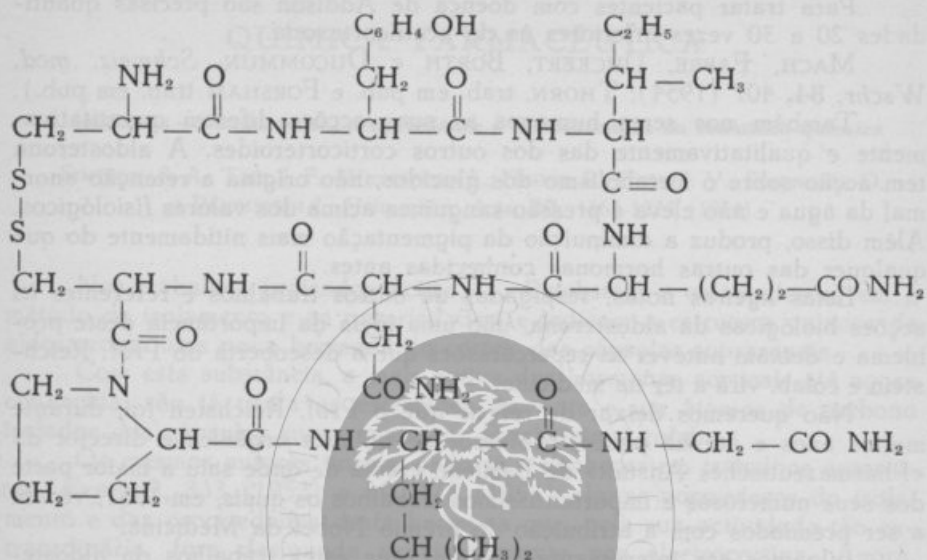
da Ordem dos Farmacêuticos

du VIGNEAUD, V. & Colab.: *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 3115 (1954)

Esta síntese foi conseguido após 20 anos de investigação do autor e seus colab. no Cornell University Medical College. A oxitocina natural pura cristalizada, só foi conseguida em 1947 utilizando, em extractos pituitários, as técnicas de distribuição em contracorrente que, após a 2.^a guerra mundial, tiveram grande desenvolvimento na purificação de penicilina. De posse do produto puro fizeram estudos da composição da hormona, verificando a existência dos seguintes amino-ácidos: cisteína, glicina, ácido glutâmico, ácido aspártico, prolina, tirosina, leucina e isoleucina e ainda de 3 moles de amoníaco. Investigaram depois como esses amino-ácidos estavam ligados e finalmente conseguiram realizar a síntese da oxitocina o que constitue a *primeira síntese de uma homona polipeptídica*.

Depois desta breve introdução histórica útil para se poder avaliar o esforço dos autores e a importância do seu trabalho passemos ao resumo.

do artigo agora publicado. Nele se descreve o método de síntese duma amida cíclica polipeptídica, tendo a actividade hormonal da oxitocina e cuja fórmula é a seguinte:



O produto biologicamente activo obtido, foi purificado por distribuição em contracorrente e comparado com a oxitocina natural, na potência, rotação óptica, coeficiente de distribuição, composição em amino-ácidos, mobilidade electroforética, espectro no infravermelho, peso molecular, inactivação ácida e enzimática e cromatografia na resina IRC 50. Foram ainda comparados farmacodinamicamente. Flavianatos cristalinos preparados a partir do produto sintético e da oxitocina natural mostraram a mesma forma cristalina, o mesmo ponto de fusão e ponto de fusão mixto. Todas estas determinações provaram a identidade entre o produto sintético e a oxitocina natural.

A. P. T.

da Ordem dos Farmacêuticos

FARMÁCIA GALÉNICA

Apreciação dos lubrificantes para a preparação de comprimidos

MÜNDEL, K. & KÄGI, W.: *Pharm. Acta Helv.*, **29**, 53 (1954)

Na preparação de comprimidos podem considerar-se dois tipos de lubrificantes: os *lubrificantes propriamente ditos* (como o talco e o «carbowax 6000») que melhoram o poder de «deslizamento» dos granulados a comprimir; e os *anti-aderentes* (como o ácido esteárico e o estearato de magnésio) que evitam a aderência do produto às superfícies dos punções e da matriz.

Dos ensaios experimentais dos AA. resultaram, entre outras, as seguintes conclusões mais importantes:

a) A natureza hidrófila ou lipófila do granulado não influencia a actividade do lubrificante;

b) Certas substâncias (como por exemplo o cloreto de sódio) deslizam melhor no alimentador da máquina, do que quando adicionadas de lubrificantes;

c) As associações dum lubrificante próprio dito e dum anti-aderente são de recomendar em vez dum só destes produtos (ácido esteárico+talco; estearato de magnésio+talco);

d) Os estearatos, em quantidades exageradas (mais de 5%) prejudicam o poder de «deslizamento»;

e) A natureza das paredes do recipiente onde se encontra o granulado não tem influência no «deslizamento» do granulado;

f) A distribuição dos dois tipos de lubrificantes à superfície do granulado depende da técnica de adição dos mesmos.

A. M. L.

FARMACOGNOSIA E ANÁLISES APLICADAS

A Cristalização dos Desacetil-Lanatosidos A e B (Purpurea-Glucosidos A e B)

STOLL, A.; KREIS, W. & WARTBURG, A. von: *Helv. chim. Acta*, **37** (4), 1.134 (1954)

Os heterosidos cardiotónicos iniciais das folhas de *Digitalis lanata* EHRH. (lanatosidos A, B e C), que possuem um grupo acetilo ligado à 3.^a molécula de digitoxose, podem perder este por um tratamento alcalino feito suave e cuidadosamente, transformando-se desse modo nos correspondentes desacetil-lanatosidos, de que só o componente C é facilmente cristalizável.

Os desacetil-lanatosidos A e B, que são idênticos aos purpurea-glucosidos A e B, heterosidos iniciais das folhas de *Digitalis purpurea* L., mesmo em estado de grande pureza, tinham-se mostrado até agora como substâncias amorfas.

Com os modernos aperfeiçoamentos das técnicas de separação e purificação de substâncias, como seja o método de partilha em dissolventes não miscíveis e a cromatografia sobre diferentes adsorventes (terra de diatomáceas, silicagel, etc.), os A.A. conseguiram cristalizar tanto os desacetil-lanatosidos A e B obtidos dos respectivos lanatosidos como os purpurea-glucosidos A e B extraídos da *D. purpurea* L.

Partindo de lanatosido A, que tinha sido separado do complexo lanatosídico total por cromatografia em silicato de magnésio-celite, dissolveram-no em metanol, adicionaram um soluto diluído e frio de bicarbonato de potássio e abandonaram a solução durante alguns dias, à temperatura ambiente do laboratório. Em seguida, concentraram-na, a pressão reduzida, até pequeno volume e agitaram-na com uma mistura de clorofórmio+álcool. O extracto clorofórmico foi lavado com água neutra, desidratado com sul-

fato de sódio seco e evaporado até à secura. Depois de uma tentativa de cristalização em dioxano + éter, que não conduziu a resultados totalmente aceitáveis, o pó foi ainda purificado por cromatografia sobre silicagel.

Feito o exaurimento da coluna com acetato de etilo adicionado de metanol, o residuo de cada fracção cristalizou, numa mistura de álcool+éter, em pequenas lâminas delgadas agrupadas em roseta, que fundiram a 275-280°.

Das folhas de *D. purpurea* L., após haverem extraído delas o conjunto de heterosidos cardioactivos em condições de evitar a acção degradante dos enzimas e separado dessa mistura o purpurea-glucosido A, purificaram este por cromatografia sobre terra de diatomáceas e assim puderam fazê-lo cristalizar numa mistura de álcool+éter; mas, para uma maior purificação submetem-no ainda a cromatografia sobre silicagel. Depois disto, o purpurea-glucosido A cristalizou então.

Estes cristais fundiram a 278-281° e, pela análise elementar e titulação alcalina, mostraram corresponder a $C_{47} H_{74} O_{18}$.

Pelo que respeita ao desacetil-lanatosido B, semelhantemente ao que antes referimos para o A, ele foi obtido a partir do respectivo lanatosido B por desacetilação com bicarbonato de potássio em solução hidro-metanólica e foi posteriormente purificado por tratamento com carvão animal e por cromatografia em coluna de terra de diatomáceas, que igualmente utilizaram para a purificação de preparados amorfos de purpurea-glucosido B, obtido das folhas de *D. Purpurea* L.

Por exaurimento da coluna com acetato de etilo adicionado de água e metanol, obtiveram várias fracções ricas em substância cristalizável que, depois de várias vezes recristalizada, fundiu a 240°-242° e deu na reacção de KELLER-KILIANI as colorações características do purpurea-glucosido B, assim como pela análise elementar e titulação alcalimétrica demonstrou corresponder a esta substância cristalizada com uma molécula de água: $C_{47} H_{74} O_{19} \cdot OH_2$.

A. P.

Centro de Documentação Farmacêutica CONVITE da Ordem dos Farmacêuticos

Convidam-se todos os diplomados em Farmácia (inscritos ou não neste Sindicato) que necessitem de colocação ou de nova colocação — inclusivamente direcções técnicas — a enviarem-nos um postal ou carta com o nome e morada.

É indispensável indicar se nunca teve colocação; se já a teve e está desempregado ou se tem colocação e procura uma nova.

Também se nos devem dirigir do mesmo modo os pretendentes a compra de farmácias seja qual for o capital de que disponham.

As informações prestadas serão tidas como absolutamente confidenciais se o interessado assim o desejar.

BIBLIOGRAFIA

DOSAGENS NAS ESSENCIAS

A. Fernandes Costa e J. Cardoso do Vale

Trata-se de um volume de 352 páginas, excelentemente encadernado, onde, mais uma vez, se patenteia o mérito dos seus autores, que já nos deram mais de meia centena de publicações, de que nos permitimos destacar, além desta e das suas respectivas teses de doutoramento e agregação: *Subsídios para o estudo das plantas aromáticas portuguesas — algumas essências de Thymus L., Contribuição para o estudo do Chenopodium ambrosioides L., var & genuinum Willk.*, outras que, pelo seu carácter geral, podem interessar não só os investigadores, mas ainda os profissionais, como sejam: *Práticas de Farmacognosia — Identificação dos simples da Farmacopeia Portuguesa, Métodos de análise de plantas com alcalóides e Métodos de análise dos corpos gordos.*

Estes professores da Universidade de Coimbra vêm desenvolvendo, com entusiasmo metódico e persistente, um fecundo labor em prol da Farmacognosia, ciência que conta poucos apaixonados e é até incompreendida por muitos, mas que tem sido e continuará a ser, com a renovação incessante dos seus métodos de pesquisa e alargamento dos seus horizontes, um dos mais fortes pilares da Farmácia. Por maiores que sejam os prodígios da Química de síntese, jamais poderá ser dispensada a Farmacognosia, ciência das *drogas naturais*, de que sempre aquela há-de precisar.

Por isso aumentará a riqueza nacional e servirá bem a Nação tudo o que concorrer para o conhecimento, estudo e aproveitamento das matérias-primas nacionais, quer sejam para fins farmacêuticos ou outras indústrias. É o que têm feito estes ilustres professores, que ao estudo da flora aromática nacional têm dedicado muito do seu esforço intelectual.

Em «DOSAGENS NAS ESSENCIAS» reuniram os sucessivos artigos publicados na revista *Notícias Farmacêuticas* e que agora constituem outros tantos capítulos: Dosagem dos alcoóis e ésteres; Dosagem dos fenóis e éteres fenólicos; Dosagem dos aldeídos e cetonas; Dosagem do furfural; Dosagem do cineol; Dosagem do ascaridol; Dosagem do ácido cianídrico; Dosagem dos antranilato e metil-antranilato de metilo; Dosagem do indol e Dosagem do alil-senevol.

Cada um destes assuntos é extensa e profundamente tratado à luz da própria experiência pessoal, joeirando as muitas técnicas conhecidas, discutindo e apreciando as mais difundidas, a que, por vezes, propõem modificações e até métodos novos e indicando numerosa bibliografia.

Poucas deficiências se notam nesta obra e algumas que mais saltam aos olhos são devidas a má revisão tipográfica, tão difícil em trabalhos desta natureza, como, por experiência própria, temos tido ocasião de verificar.

É certamente devido a isso que na página 228 a fórmula II do 1^o-ascaridol saiu errada (3 átomos de O e 2 átomos de C pentavalentes...).

Ao terminarmos estas ligeiras notas de apreciação, queremos testemunhar aos autores o nosso profundo agradecimento pelo serviço que prestaram à profissão e ensino farmacêuticos, e também pela oferta de um exemplar para a biblioteca do nosso Sindicato.

A. PEREIRA

BODAS DE ORO DE LA REAL SOCIEDAD ESPAÑOLA DE FISICA Y QUIMICA Madrid 1954

Enviado pela «Real Sociedad Española de Física y Química», recebemos um volume de 368 págs., editado por esta Sociedade por altura da celebração das suas Bodas de Ouro, que teve lugar de 15 a 31 de Abril de 1953, e na qual se fizeram representar as principais Sociedades Científicas mundiais e a que assistiu grande número de cientistas de todo o mundo.

Esta obra, que dá conta da grandiosidade da celebração dessas Bodas de Ouro, insere:

- Crónica dos actos comemorativos.
- Mensagens das sociedades congêneres nacionais e estrangeiras.
- Tradução espanhola de importantes trabalhos apresentados nas conferências gerais.
- Actas das sessões científicas, nas quais foram apresentadas numerosas comunicações, assim distribuídas:

- 1.ª Secção (Física): 33 comunicações.
- 2.ª » (Química Física e Inorgânica): 52 comunicações.
- 3.ª » (Química Orgânica e Biológica): 48 comunicações.
- 4.ª » (Química analítica pura e aplicada): 49 comunicações.
- 5.ª » (Engenharia Química e Química aplicada): 28 comunicações.

A última parte é dedicada a quatro colóquios de importantes assuntos de física e química.

Pela oferta desta valiosa obra, deixamos aqui expressa a nossa gratidão à «Real Sociedad Española de Física y Química», augurando-lhe as maiores venturas.

M. LOPES

«REVISTA FARMACÊUTICA»

(do Sindicato Nacional dos Farmacêuticos da Índia Portuguesa)

Para efeitos de permuta, que faremos com o maior prazer, e também por amável gentileza da Direcção do Sindicato Nacional dos Farmacêuticos da Índia Portuguesa, recebemos alguns exemplares do primeiro número desta revista que se apresenta com óptimo aspecto gráfico e pelo seu conteúdo está destinada a obter o maior sucesso entre todos os farmacêuticos principalmente os da língua portuguesa.

Abrindo com a publicação dum vibrante e patriótico telegrama enviado a Sua Excelência o Presidente do Conselho, a propósito do seu memorável discurso de 12 de Abril sobre a posição de Portugal, quanto ao Estado Português da Índia, o ilustre director da «Revista Farmacêutica» e Presidente do Sindicato, teve a felicidade e o orgulho de poder manifestar de maneira iniludível os sentimentos patrióticos dos nossos colegas daquele Estado.

No momento em que escrevemos e em que vivemos horas de anseio sobre o destino desta parcela de Portugal no Oriente, os farmacêuticos da Metrópole envolvem num grande, fraternal e significativo abraço os seus colegas da Índia Portuguesa.

Ao nosso Colega José Martinho Cordeiro, queremos deixar aqui expresso os agradecimentos da «Revista Portuguesa de Farmácia».

O primeiro número apresenta o seguinte e interessante sumário:

- A margem da nossa farmácia — *J. M. Cordeiro.*
 A Medicina e a Farmácia — *Prof. Dr. Alvaro Colaço.*
 Duas Palavras — *Dr. Armando Madeira.*
 Uma data na vida da Farmácia Portuguesa — *Dr.ª Silvina Fontoura de Carvalho.*
 Algumas palavras aos meus irmãos da Índia — *Dr. Rodolfo da Silva Paixão.*
 O Ensino da Farmácia em Goa — *Prof. Dr. António da P. Noronha.*
 Saudação — *Prof. Dr. Alberto Correia da Silva.*
 Em volta do Exercício Farmacêutico — *Noémia Correia da Silva Albuquerque.*
 O sero-diagnóstico da sífilis pelo método de Kline — *Augusto Barreto.*
 O Progresso da Farmácia — *Eduardo Sousa.*
 O Presente e o Passado — *Armando Cotta.*
 A Lixiviação aplicada à preparação de extractos fluídos — *Cipriano da Cunha Gomes.*
 Estudo sobre a história da Farmácia Ayurvédica — *Xripati R. Vaidia.*
 Secção Profissional — Notícias Oficiais.

REGISTO DA BIBLIOTECA

Foi registada a entrada das seguintes obras na «Biblioteca da Sociedade Farmacêutica Lusitana» (Sindicato Nacional dos Farmacêuticos):

- OREN LEE (Charles) — *The Official preparations of pharmacy*, Enc. 544 Págs. London, 1953.
- Organização (A) do tratado do Atlântico Norte* — «Pacto do Atlântico», Broch. 61 Págs. Lisboa, 1954.
- PIRES DE LIMA (A.) — *Regulamentos sanitários, etc.*, Broch. 6 Págs. Porto, 1953; *O Conselho Nacional do leite*, Broch. 4 Págs. Porto, 1953.
- Prevision (La) Social en las Profissões Liberales*, Broch. 20 Págs. Madrid, 1953.
- Problema (O) do Analfabetismo*, Ed. pela Camp. Nac. de Educação de Adultos, Broch. 74 Págs. Lisboa, 1954.
- Regimento dos preços dos Medicamentos e Manipulação*, Ed. pelo Ministério do Interior. Broch. 41 Págs. Lisboa, 1952. (Oferta do Grémio Nacional das Farmácias).
- Relatório e Contas da Direcção em 31 de Dezembro de 1953*, Ed. pelo Sind. Nac. dos Ajudantes de Farmácia e Offícios Correlativos do Distrito de Lisboa. Brach. 5 Págs. Lisboa, 1954.
- SAN MARTÍN (R.) — *Valoraciones biológicas de drogas y medicamentos*, Broch. 197 Págs. Barcelona, 1953.
- SMITH (Layman B.) — *Brameliad malaria*, Broch. 14 Págs. Washington, 1953.
- SCHWARTZ (Benjamin) — *Livestock parasitology in the United States*, Broch. 15 Págs. Washington, 1953.
- TOVAR DE LEMOS (A.) — *Inquérito acerca da prostituição e doenças venéreas em Portugal, 1950*, Broch. 145 Págs. Lisboa, 1953.
- VERDIER (P. A.) y LOTITO (S. J.) — *Guia practica de física farmacêutica*, Broch. 312 Págs. Buenos Aires, 1952.
- VILLAVECCHIA (G. Vittorio) — *Dizionario di merceologia e di chimica applicata*. 4 Vols. Broch. I Vol. 1122 Págs.; II Vol. 1095 Págs.; III Vol. 1043 Págs.; IV Vol. 1208 Págs.; Milano, 1952. *Química Analítica Aplicada*. 2 Vol. Encds. I Vol. 790 Págs.; II Vol. 1012 Págs. Barcelona, 1949.
- WELGH (Henry) — *Pharmacology of Antibiotics*, Broch. 20 Págs. Washington, 1953.

CATALOGOS

DEMA — de material cirúrgico e aparelhagem de laboratórios farmacêuticos.

Centro de Documentação Farmacêutica

PERMUTA DE LIVROS

da Ordem dos Farmacêuticos

Por acertada sugestão da Direcção da Secção do Porto do Sindicato Nacional dos Farmacêuticos, criamos esta nova Secção que se destina à troca, compra e venda de livros entre todos os nossos leitores.

Desnecessário se torna encarecer as vantagens que daqui podem advir e, por isso, esperamos que os leitores passem a utilizar esta Secção de modo a que no próximo número já possamos anunciar algumas ofertas e procuras.

O CORPO REDACTORIAL

SECÇÃO PROFISSIONAL

I — DOCTRINA

ASPECTOS DA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA NACIONAL

(Sugestões para o condicionamento das especialidades farmacêuticas)

ALBERTO MOURATO

Lic. em Farmácia

NOTA

O artigo apresentado a seguir foi escrito aproximadamente há um ano. Hoje, que estão em projecto medidas para o condicionamento das Especialidades Farmacêuticas, parece que é oportuno publicarem-se as sugestões nele contidas; não há a pretensão de as apresentar como ideia original mas em compensação existe a convicção de que a solução a adoptar não pode afastar-se essencialmente do que aqui se sugere, pois que este esquema é a síntese de uma demorada reflexão baseada na observação dos factos e inspirada nas soluções adoptadas noutros países e cujos resultados foram bons.

1 — Introdução

A falta de critério no lançamento das especialidades farmacêuticas tem permitido que se tenha vindo a criar, nestes últimos anos, uma situação que apresenta numerosos inconvenientes para todas as pessoas relacionadas, directa ou indirectamente, com as actividades farmacêuticas.

Os dois principais aspectos desta situação são a *Abundância de marcas* e a *Inexistência ou insuficiência de «contrôles»*.

A abundância de marcas é, além de grande, crescente.

O «contrôle» é limitado a poucos produtos, incompleto, e não tem normas oficiais publicadas.

Os inconvenientes desta situação são grandes e tendem a acentuar-se. Do primeiro aspecto, a abundância de marcas, resultam os seguintes: Os médicos veem-se impossibilitados de conhecer todos os produtos que a indústria lhes oferece e nem podem seleccionar os de maior interesse. Os laboratórios industriais veem-se forçados a fabricar uma grande variedade de produtos de pouca venda, com grande aumento de trabalho e despesas de estudo e propaganda, sem que recebam compensação material para o seu esforço. As farmácias são prejudicadas no seu comércio, pois não conseguem abastecer-se de todos os produtos existentes no mercado, e são obrigadas, além disso, a empregar uma parte considerável dos seus lucros na aquisição das novas especialidades.

Do segundo aspecto da situação, a insuficiência de «contrôle», resultam inconvenientes cuja gravidade pode ser maior ou menor mas que, em todos os casos, são grandes, como seja a preparação e venda de produtos nem sempre bem realizados.

Podia-se ainda acrescentar a estes inconvenientes aquele de importância para a economia nacional, de importar muitos medicamentos estrangeiros que a indústria nacional pode ou deve poder preparar com a mesma perfeição. Na realidade se, nestes últimos anos, a venda de especialidades farmacêuticas nacionais tem aumentado, principalmente em variedade de marcas, a venda de especialidades estrangeiras tem aumentado em quantidade.

* * *

Os factos apresentados são do conhecimento geral e têm sido, com frequência, considerados na sua gravidade, pelos interessados. Não parece, contudo, que se tenha apresentado ainda, para eles, uma solução conveniente. O objectivo deste artigo é, justamente, o de apresentar algumas ideias para essa solução.

Antes de se exporem as ideias seria, talvez, vantajoso para a sua melhor compreensão, fazer algumas considerações sobre a natureza e as causas da situação presente.

Quanto à natureza: As actividades farmacêuticas em Portugal exercem-se sem uma ideia orientadora e sem espírito de colaboração, até mesmo, em muitos casos, em condições de concorrência desleal. Não se visam, em geral, fins elevados e nem mesmo, no plano dos interesses particulares, se procede da maneira mais vantajosa.

Quanto às causas: Os inconvenientes da situação são devidos a defeitos profundos das pessoas ou simplesmente à desorientação ou a ambas as causas? Esta última hipótese deve ser a verdadeira, e a causa principal deve ser a segunda.

Na verdade, como em tudo, nas actividades farmacêuticas há más vontades; mas, na generalidade dos casos as intenções são boas; simplesmente, nenhuma norma estabelece o caminho a seguir. Portanto é necessário assentar nesta ideia e dela concluir que, se o defeito está na falta de orientação, o remédio estará em defini-la. Uma vez definida uma orientação é natural que a situação se modifique.

Estas considerações são importantes, pois interessa ter uma ideia bem definida antes de se iniciar uma acção; assim, é necessário saber o que se pretende ao procurar uma solução para os problemas referidos; e o que se pretende é, com certeza, que as actividades farmacêuticas se orientem em benefício de todos.

2 — Bases para o condicionamento

Tendo este fim em vista qual seria a solução?

A solução que se tem proposto, embora de um certo ponto de vista, justa, não está de acordo com a ideia exposta. Na verdade, o que se tem proposto como solução, é a proibição por uma entidade oficial, das especialidades farmacêuticas que não tenham justificação terapêutica comprovada.

Tal critério seria demasiado exclusivista e teria o inconveniente de eliminar um grande número das especialidades farmacêuticas existentes, com prejuizos fáceis de antever; além do que, daria lugar a que se cometessem, de boa ou má fé, injustiças; e um sistema que viesse ferir tantos interesses nunca seria possível de pôr em prática. Não há, de resto, necessidade absoluta de proibir a venda de um produto pela única razão de que esse produto não tem uma acção inteiramente definida e estudada; muitos dos produtos farmacêuticos que estão à venda se encontram nestas condições sem que se possa, contudo, negar-lhes algum interesse. Uma legislação radical seria contraproducente. Por outro lado, tal critério seria insuficiente por não indicar o caminho a seguir nem fornecer os meios para o fazer.

A solução conveniente seria, talvez, a de se adoptar um critério intermédio à situação existente e àquele proposto: um critério que só fosse severo para reprimir actos desonestos e para evitar os perigos da inconsciência profissional e da incompetência, e que deixasse uma grande liberdade de acção nos outros casos, mas distinguindo e protegendo dentre estes, os que o merecessem, indicando, ao mesmo tempo, a maneira perfeita de agir: seriam eliminados apenas, mas todos, os produtos que não oferecessem um mínimo de garantias; todos os outros produtos seriam autorizados, mas destes seriam seleccionados os produtos inteiramente sérios, os produtos ditos «éticos», os quais seriam favorecidos por condições especiais.

Este critério pode ser condensado em dois princípios:

1 — Proibir em absoluto a preparação e venda de produtos que não ofereçam um mínimo de garantias para a saúde pública ou não obedeçam a certas exigências gerais para todos os medicamentos (pureza e integridade dos componentes, conservação perfeita, inocuidade).

2 — Seleccionar de entre os produtos autorizados aqueles que tenham insofismável interesse terapêutico, comprovado por trabalhos sérios de farmacologia e clínicos, e que ofereçam meios de verificação pormenorizados e completos da sua integridade, acção e inocuidade.

* * *

A adopção deste critério, embora não trouxesse só por si a solução para os problemas existentes, teria contudo o valor de encaminhar as coisas para uma solução, solução que seria mais aconselhada do que imposta.

Algumas vantagens, de resto, far-se-iam sentir muito cedo:

Em primeiro lugar, o público sabia que dispunha de um certo número de medica-

mentos de acção segura e realizados nas condições devidas. O médico, por seu turno, estava apto a escolher os melhores produtos e tinha a possibilidade de receitar em plena consciência e com absoluta confiança. As farmácias que não pudessem abastecer-se de todos os produtos existentes no mercado, tinham, ao menos, a garantia de possuir em armazém todos os produtos de maior interesse terapêutico e comercial, além de que, podiam fazer economia na aquisição de similares, pois, em presença de uma garantia oficial, o público não mostraria preferência por uma marca especial.

Quanto se verificasse que os produtos nacionais ofereciam a mesma garantia que os estrangeiros e não se reconhecesse vantagem, por razões de uma emulação salutar, na existência de produtos estrangeiros no mercado, as entidades oficiais poderiam, por qualquer meio, criar um regime de protecção aos produtos nacionais; tal protecção seria, talvez, mesmo, supérflua, pois, em igualdade de circunstâncias o médico daria, certamente, preferência aos produtos nacionais.

* * *

Sendo adoptado este critério, todas as especialidades farmacêuticas existentes e a lançar seriam submetidas a uma apreciação obrigatória de que resultaria serem ou não autorizadas. Concedida a autorização, os fabricantes que o desejassem poderiam requerer uma segunda apreciação com o fim de julgar se o produto merecia ou não ser incluído na categoria especial dos produtos seleccionados.

Tanto a primeira apreciação (obrigatória) com a segunda (facultativa) seriam efectuadas por uma comissão expressamente constituída para esses fins. Essa comissão seria composta de três membros:

1 — Um médico nomeado pela Direcção Geral de Saúde, que apreciaria os produtos do ponto de vista do interesse público.

2 — Um médico nomeado pela Ordem dos Médicos, que apreciaria os produtos do ponto de vista médico.

3 — Um farmacêutico nomeado pelo Sindicato dos Farmacêuticos, que apreciaria os produtos nos seus aspectos químicos e farmacêuticos.

A comissão poderia designar os técnicos que entendesse necessários para apreciar os produtos e daria a sua decisão que só seria favorável quando houvesse unanimidade dos tres membros.

A comissão enviaria mensalmente à redacção do Boletim da Ordem dos Médicos e da Revista Portuguesa de Farmácia, para publicação, uma relação simples dos produtos autorizados e noticias pormenorizadas dos produtos seleccionados.

A noticia dos produtos seleccionados reuniria todas as especificações necessárias, sob o nome do medicamento base segundo a denominação oficial ou segundo uma denominação escolhida e conteria os seguintes dados:

- 1 — Nome do medicamento base (produto químico, preparado ou droga).
- 2 — Livros oficiais em que venha mencionado.
- 3 — Descrição.
- 4 — Emprego.
- 5 — Posologia.
- 6 — Normas gerais a que deve obedecer.
- 7 — Normas especiais a que deve obedecer.
- 8 — Testes gerais ou especiais, analíticos ou de outra natureza, de verificação de actividade e inocuidade.
- 9 — Marcas nacionais e estrangeiras contendo o medicamento em questão, mencionando a composição em substâncias activas, conservadoras e outras, o excipiente, a forma farmacêutica e o tipo de embalagem.

Todos os elementos de que a comissão necessitasse seriam fornecidos pelos fabricantes considerando-se a sua inexistência razão suficiente para a não selecção.

A comissão publicaria anualmente para venda livre, um livro que contivesse todos os produtos seleccionados, ordenados sob a designação do medicamento base, segundo um método farmacológico e não alfabético.

Os produtos seleccionados teriam de obedecer a um certo número de exigências e, em contrapartida, beneficiariam de um certo número de privilégios.

Entre as exigências teriam de obedecer às seguintes:

- 1 — Levar impressa na embalagem a designação oficial ou adoptada pela comissão, em caracteres, pelo menos do mesmo tamanho dos do nome comercial.
- 2 — Não deveriam, salvo quando se justificasse inteiramente, compreender associações.

Entre os privilégios gozariam dos seguintes:

- 1 — Atribuição de maior margem, no cálculo do preço, para investigação e verificação.
- 2 — Exclusividade, salvo quando houvesse justificação comprovada para o contrário, no receituário médico da Federação das Caixas de Previdência, dos Hospitais e de todas as associações de carácter público.

A comissão constituída, aprovada e com poderes atribuídos iniciaria desde logo os trabalhos. Começaria, simultaneamente, a apreciação dos produtos existentes e dos novos, designando os técnicos necessários para que o exame dos produtos existentes não atrasasse a autorização dos novos.

Todos os produtos que os industriais desejassem lançar no mercado teriam, por conseguinte, de ser submetidos à apreciação da comissão. A apreciação seria feita mediante requerimento, o qual iria acompanhado de um documento em que se forneceriam os seguintes dados:

- 1 — Marca comercial.
- 2 — Forma farmacêutica.
- 3 — Composição por unidade-dose em substâncias activas, conservantes e excipiente.
- 4 — Embalagem e peso ou volume total e por dose.
- 5 — Normas gerais ou especiais a que obedece (estas normas serão designadas pela comissão, devendo em princípio ser as da Farmacopeia Portuguesa, mas podendo ser provisoriamente as de um livro oficial estrangeiro, na ausência de normas nacionais publicadas).

Todos os produtos que os fabricantes entendessem merecer ser seleccionados poderiam ser submetidos a uma segunda apreciação para o que apresentariam um requerimento, igualmente acompanhado de um documento em que se forneceriam os dados seguintes:

- 1 — Designação oficial ou vulgar do medicamento.
- 2 — Marca comercial.
- 3 — Forma farmacêutica.
- 4 — Composição por unidade-dose em substâncias activas, conservantes, excipiente e outros componentes de que haja conveniência haver conhecimento.
- 5 — Embalagem e peso ou volume total e por dose.
- 6 — Normas gerais ou especiais a que obedece.
- 7 — Dados farmacológicos e terapêuticos, baseados em trabalhos científicos originais ou não que justifiquem o seu emprego e indiquem claramente a maneira de usar, as contra-indicações e as condições de conservação.
- 8 — Processos de análise química qualitativa e quantitativa ou de verificação farmacológica ou de ambas (sendo conhecidos basta mencionar os livros em que vêm publicados).
- 9 — Processos de verificação de inocuidade absoluta ou relativa sob os pontos de vista toxicológico ou bacteriológico.
- 10 — Especificações eventuais consideradas convenientes.

* * *

A Comissão apreciaria ou encarregaria outros técnicos de apreciar a documentação apresentada, podendo, se entendesse necessário, requisitar amostras para verificar os mé-

todos e pedir ao fabricante dados complementares, e, conforme os produtos obedecessem ou não às normas estabelecidas e consoante a Comissão achasse ou não aceitáveis os argumentos apresentados pelo fabricante a favor do seu emprego na terapêutica, assim daria a sua decisão.

3 — Normas para o «contrôle» e selecção

A Comissão adoptaria, para a apreciação dos produtos, as normas da Farmacopeia Portuguesa; na falta ou insuficiência destas, adoptaria normas das Farmacopeias estrangeiras ou estabelecê-las-ia; as novas normas seriam publicadas na Revista Portuguesa de Farmácia e incluídas na próxima edição da Farmacopeia Portuguesa ou em suplemento à edição em vigor, se a nova edição estivesse demorada. As normas consideradas necessárias na prática mas que, pela sua natureza não devessem ser incluídas na Farmacopeia, sê-lo-iam num segundo livro que poderia ser designado por Formulário Farmacêutico Português ou, quando muito especializadas, no livro dos Produtos Seleccionados.

A Comissão elaboraria um projecto de ampliação da Farmacopeia e da criação do Formulário Farmacêutico Português nas bases seguintes:

FARMACOPEIA PORTUGUESA

- 1.ª — Seria editada todos os 5 anos e nestes prazos editar-se-iam suplementos;
- 2.ª — Compreenderia as seguintes partes, capítulos e artigos:

1.ª PARTE:

Capítulo 1.º: *Normas e Padrões dos medicamentos em geral e de cada uma das formas farmacêuticas, e dos preparados em geral.*

Capítulo 2.º: *Testes e Métodos*

- Métodos gerais de análise qualitativa e quantitativa.
- Métodos de pesquisa de impurezas e falsificações.
- Métodos físicos.
- Métodos bacteriológicos.
- Métodos biológicos.

Capítulo 3.º: *Instalações, Aparelhos e Utensílios*

- Instalação de uma Farmácia.
- Instalação de uma Indústria Farmacêutica.
- Instalação de um Laboratório de Análise Química.
- Instalação de um Laboratório de Química.
- Instalação de um Laboratório de Farmacologia.
- Instalação de uma Biblioteca.
- Aparelhos diversos.
- Utensílios padrão.

Capítulo 4.º: *Reagentes, Solutos titulados, Indicadores, Solutos tampão*

Capítulo 5.º: *Tabelas:*

- a) Produtos minerais: Fórmula, Peso e número atómico, Peso molecular, Constantes físicas, Cristalografia, Solubilidade, etc.
- b) Produtos orgânicos: Nome, Fórmula racional, Nomenclatura, Peso molecular, Constantes físicas, Solubilidade.
- c) Tabela de pontos de fusão por ordem crescente.
- d) Equivalentes métricos e termométricos.
- e) Tabela alcoolométrica.
- f) Doses máximas.
- g) Equivalentes de gotas.
- h) Peso e volume de colheres.
- i) Gráficos de pressão osmótica (como Pharmacopœa Danica).

- j) Valores de pH, temperatura e tempo de esterilização de solutos injectáveis.
- k) Classificação de corantes.
- l) Tabelas diversas.

2.ª PARTE *Fármacos:*

- a) Descrição
- b) Propriedades
- c) Padrões
- d) Métodos especiais de análise.
- e) Especificações diversas.

3.ª PARTE *Medicamentos officinais:*

- a) Definição.
- b) Padrões.
- c) Normas.
- d) Métodos especiais de análise.
- e) Especificações diversas.

4.ª PARTE *Legislação*

FORMULÁRIO FARMACÊUTICO PORTUGUÊS

- 1.ª — Seria editado todos os 5 anos e durante estes prazos editar-se-iam suplementos.
- 2.ª — Compreenderia as seguintes partes, capítulos e artigos:

1.ª PARTE:

Capítulo 1.º: *Normas e padrões úteis não constantes da Farmacopeia.*

Capítulo 2.º: *Testes e métodos nas mesmas condições.*

Capítulo 3.º: *Instalações, Aparelhos e Utensílios nas mesmas condições.*

- P. ex.: — Instalação de um laboratório de análises clínicas.
— Posto de primeiros socorros.
— Exame médico-legal.

Capítulo 4.º: *Correspondente ao da Farmacopeia.*

Capítulo 5.º: *Idem.*

P. ex.: *Tabelas clínicas.*

2.ª PARTE: *Fármacos não officinais mas de uso corrente em especialidades nacionais ou estrangeiras.*

3.ª PARTE: *Formulário compreendendo todas as fórmulas de execução possível em Laboratórios, com técnicas aperfeiçoadas e pormenorizadas (tipo Pharmacopœa Danica).*

O livro dos *Produtos Seleccionados* seria editado todos os anos e seria em duas partes:

1.ª PARTE: *Apresentação ordenada segundo uma classificação farmacológica de todos os produtos, preparados e drogas que fossem a base dos medicamentos seleccionados nacionais ou estrangeiros, quer o medicamento base fosse ou não officinal, sob o nome oficial, criado ou adoptado, com as especificações seguintes:*

- a) Nome oficial ou adoptado.
- b) Descrição.
- c) Propriedades.

- d) Emprego, Posologia e Contra-indicações.
- e) Menção ou descrição, consoante fossem ou não oficiais, das normas, padrões e métodos de verificação respectivos.
- f) Marcas comerciais, nacionais ou estrangeiras, seleccionadas, cuja base fosse o medicamento referido, sua forma farmacêutica, peso ou volume, embalagem e composição.

2.ª PARTE: Relação alfabética dos produtos autorizados não seleccionados.

CONDICIONAMENTO DA INDÚSTRIA DE ESPECIALIDADES FARMACÊUTICAS

A. MOZ TEIXEIRA

Lic. em Farmácia

Conforme prometemos no número anterior, vamos ocupar-nos, hoje, do Decreto-Lei n.º 39 633 que, conforme consta do seu preâmbulo, se propõe estabelecer «as exigências, limitações e condições mínimas de fabrico requeridas para a montagem de novos estabelecimentos preparadores de medicamentos, por se ter verificado que a indústria só comporta um reduzido número de empresas em condições óptimas de produção».

Enquanto que neste preâmbulo se faz referência a *medicamentos*, no corpo do Decreto e logo no seu artigo 1.º se esclarece que o condicionamento sujeita «a indústria de preparação de especialidades farmacêuticas e outros medicamentos, soros, vacinas e outros produtos congêneres para uso humano».

Quer dizer que este decreto regulamentar estabelece limites e condições para a montagem de novos estabelecimentos e, ao mesmo tempo, pretende também estabelecer condições quanto aos produtos a fabricar por esses estabelecimentos o que, nesta última parte, está só previsto no Art. 26.º

Quanto a nós, porque uma coisa é a indústria de produtos químicos e biológicos destinados à preparação de medicamentos e outra é a indústria de «especialidades farmacêuticas» — preferiríamos indústria de «medicamentos industrializados» dada a comprovada impossibilidade de definir «especialidades farmacêuticas» — parecer-nos-ia mais consentâneo que as duas, de características bastante diferentes, fossem tratadas em separado ou, pelo menos, que no mesmo diploma se não misturassem de modo a que, como se pode verificar, regras que se adaptam perfeitamente à primeira sejam inadaptáveis à segunda.

Esta confusão, que só pode trazer dificuldades e perdas de tempo e não mostra segurança do legislador, podia, portanto, ter sido evitada se os organismos corporativos competentes tivessem sido, já não diremos consultados mas ouvidos.

Mas vamos por ordem:

Enquanto que o parágrafo 1.º do Art. 1.º diz que «a profissão farmacêutica ou a arte de farmácia continua a reger-se pelas disposições legais em vigor» o parágrafo 2.º do mesmo artigo está redigido de tal modo que parece poder interpretar-se como pretendendo retirar ao farmacêutico o direito sagrado, em toda a parte do mundo respeitado, de preparar na sua farmácia novos medicamentos como se não fossem os farmacêuticos os únicos profissionais legalmente preparados e portanto com direito a fazê-los e os locais não tivessem que ser superiormente aprovados para o efeito.

Este parágrafo bem como o párrafo único do Art. 6.º que determina que as memórias descritivas dos novos laboratórios sejam assinados por farmacêutico ou *técnico idóneo*, levou o Sindicato Nacional dos Farmacêuticos a solicitar superiormente esclarecimentos quanto à interpretação que oficialmente lhe viria a ser dada.

Ainda sobre o parágrafo 2.º do Art. que vimos tratando, queremos manifestar a nossa estranheza por se afirmar que também não é abrangida pelo condicionamento a preparação dos *produtos tóxicos*, já porque não vemos motivos para os diferenciar dos

demais e já porque não sabemos bem a diferença exacta entre produtos tóxicos e não tóxicos.

Mas se a interpretação a dar a este parágrafo fosse a de que aos farmacêuticos seria em definitivo retirada a faculdade de preparar determinada modalidade de medicamentos, pensamos que nenhum farmacêutico digno do seu título deixaria de sentir que alguma coisa de fundamental e sagrado lhe era inexplicavelmente coartado.

Felizmente que tal receio se não fundamenta.

Não podemos saber, é certo, se essa seria a intenção do legislador; o que sabemos é que ela não era o propósito do Governo que oficialmente esclareceu, através do Ministério de Economia que o direito dos farmacêuticos poderem continuar a preparar todo e qualquer medicamento nas suas farmácias será respeitado e ficará esclarecido e assente no regulamento a que se refere o Art. 26.º do mesmo decreto.

Este direito de preparar medicamentos especializados nas farmácias ou mesmo nos laboratórios deve ser, sim, regulado de modo a que todo aquele que não possua condições materiais de instalação ou competência, não possa lançar no mercado aquilo que por aí se pode observar e até verificar.

Além disto a indústria dos medicamentos especializados, ao contrário do que se afirma, não é, em nossa opinião, prejudicada de qualquer modo pelo número de estabelecimentos produtores. Se este número tivesse que ser limitado sê-lo-ia para cima de 1700 que tantas são aproximadamente as farmácias do país necessariamente enquadradas nos mesmos direitos. Não, o condicionamento desta indústria só pode ser feito através de normas rígidas destinadas a serem escrupulosamente respeitadas e que imponham aos fabricantes nacionais e estrangeiros as condições a que devem obedecer o lançamento dos produtos no mercado, de modo a acabar até com que se possam vender num país, medicamentos proibidos nos países de origem. Torna-se absolutamente necessário a bem dos doentes, do bom nome dos farmacêuticos e portanto da Nação que o oportunismo, a falta de respeito pelo esforço alheio, a carência ou insuficiência de métodos de análise e controle e o discutível valor terapêutico de muitas das milhares de «especialidades farmacêuticas» que em catadupas vinham sendo lançadas no mercado, termine/duma vez para sempre. Tudo isto terá de caber nas instruções e regulamentos a que alude o já referido Art. 26.º que ao fim e ao cabo irá por si só fazer o verdadeiro condicionamento da indústria dos «medicamentos industrializados».

São inadapáveis no todo ou em parte a esta indústria os artigos: 3.º, 6.º e 18.º. Os restantes adaptam-se perfeitamente à indústria dos produtos químicos e bioquímicos, destinados à preparação de medicamentos. Assim não pode estar sujeita a qualquer condicionamento a modificação de equipamento industrial a que se refere a alínea b) do Art. 3.º; do mesmo modo como cumprir com as alíneas do Art. 6.º:

- d) ... indicações das respectivas formas farmacêuticas;
 - e) Especificação das máquinas;
 - f) Processo de fabrico a utilizar;
 - h) Capacidade de produção;
 - h) Pessoal permanente,
- se todas elas estão em constante evolução ?

A inutilização dos maquinismos impostos pelo Art. 18.º e seu parágrafo único é para esta indústria, de tal modo inexecutable que nos dispensa de qualquer explicação. Se não fosse portanto, o art. 26.º, que por ser o último parece ter sido acrescentado, poderia afirmar-se que a indústria dos medicamentos especializados tinha ficado fora daquele condicionamento que pelo Sindicato Nacional dos Farmacêuticos havia sido perdido em representações entregues, há meses, a Suas Excelências os Senhores Ministros da Economia e do Interior.

O estabelecimento de regras: limitações, instruções e regulamentos que têm que ser impostas à indústria dos medicamentos especializados no nosso país, não podem demorar mais tempo.

A desordem, o improvisado, o oportunismo comercial, o sem valor terapêutico, as inúteis repetições, as cópias sem respeito pelo esforço alheio, etc., etc., vêm há muito prejudicando o bom nome dos farmacêuticos portugueses e o que é mais grave e a que o Governo da Nação não pode ficar — e não fica — indiferente, é que o publico doente é afinal de contas o mais lesado.

Urge que seja publicado um Regulamento que, além de reprimir a entrada de medicamentos estrangeiros inúteis à economia da Nação, tenha por finalidade a disciplina da indústria e o supremo interesse do doente.

QUE IRÁ PASSAR-SE?

Todo o número 86 do «Boletim do Grémio Nacional das Farmácias» ultimamente publicado, constitui um grito de protesto contra a desorientação que reina entre as actividades intervenientes no comércio dos medicamentos especializados.

Não é de estranhar tal atitude. De estranhar é que ela não tenha sido tomada há mais tempo. Esta atitude, estamos certos, virá a tomar novos aspectos uma vez que as farmácias estão a ser progressivamente vítimas de concorrências e sobre tudo de ilegalidades absolutamente condenadas pelo Corporativismo mas às quais os organismos competentes não podem pôr cobro.

Não exageramos se afirmarmos que muitas farmácias estão a viver em miséria, e a miséria não é boa conselheira.

Fala-se no «Boletim», num «movimento que unicamente visa a que se defenda o que de direito nos pertence, e mais adiante em «boicotar as vendas desses nossos ilegais concorrentes».

Não podemos deixar de estar de acordo com a doutrina expressa pois outro caminho não teremos senão o de resolver o nosso caso pelos próprios recursos. Para isso, no entanto, será necessário preparar a opinião dos farmacêuticos proprietários das farmácias convencendo-os de que o seu problema económico será de facto resolvido por si próprios através da sua unidade. O Boletim do Grémio pode perfeitamente desempenhar este papel para o que bastaria que em todos os seus números se dedicassem algumas das suas páginas, senão todas como neste exemplar que temos presente, ao assunto, permitindo que todos os agremiados nelas relatem desassombradamente os casos que com eles se passem ou de que tenham conhecimento.

Interessante, e como complemento muito útil, seria colher individualmente a opinião de todos os agremiados a fim de avaliar através do seu estado de espirito a oportunidade e o êxito da acção.

Os «movimentos» do Porto e de Coimbra são sintomáticos e parece que estão a dar os seus frutos.

Lisboa, dada a sua vastidão, carece duma maior e melhor preparação.

No entanto o exemplo dado é de seguir e, estamos certos que virá a ser abraçado com entusiasmo por todos quantos estão a ser vítimas indefesas de procedimentos ilegítimos. — M. T.

da Ordem dos Farmacêuticos

II — PERGUNTAS E RESPOSTAS

NOTA — Na resposta à pergunta n.º 122 publicada no n.º 2-Vol. IV desta Revista, onde se lê CERDELAUD leia-se CERBELAUD; na fórmula da embrocção a quantidade de essência de terebintina é um litro e a de água destilada é três litros e meio

124) Pergunta — Peço o favor de me indicar uma fórmula de pomada oxigenada pois não a encontro nos livros que possuo nesta isolada terra da província — M. L. S.

Resposta — A fórmula que transcrevemos pertence à *Farmacopeia Portuguesa de 1876* e vem transcrita no *Formulário Oficial e Magistral*, de Urbano da Veiga:

Ácido azótico	100 gramas
Banha	800 gramas
Óleo de amendoim	200 gramas

Funda a banha a calor brando em cápsula de procelana, ajunte a pouco e pouco o ácido; continue o aquecimento agitando sempre até que termine a reacção e o liquido não avermelhe o papel de tornesol, cõe, ajunte o óleo, agite até arrefecer. — *M. T.*

125) Pergunta — Peça o favor de me indicarem o preço da receita cuja cópia envio e que foi aviada durante as horas extraordinárias de serviço obrigatório. — *A. C. A.*

Resposta — Nas condições que indica, o preço de receita é o seguinte:

— Proclina 1 ampola de 600.000 U — 12\$50

— Iodeto de potássio, 10 gramas

Água destilada, 300 gramas

10\$40, mais 50% sobre 4\$50 = 12\$70

— Estreptomina (10\$00)

Soro fisiológico 1 ampola de 5 cc.

15\$00 mais 50% sobre 3\$00 = 16\$50

41\$70

M. T.

126) Pergunta — Por indicação do próprio médico, escrita na receita e para servir um cliente adquirei a um particular um medicamento especializado que não estava selado, não tinha preço marcado em escudos e os seus rótulos eram escritos em lingua estrangeira.

Rogo o favor de me informar se corro qualquer perigo em proceder como procedi. Esclareço que vendi o medicamento sem lucro. — *A. R. L.*

Resposta — As condições em que o medicamento se apresenta indicam um caso de contrabando e *V. Ex.^a* esteve em perigo de sofrer as sanções previstas em tais casos. A entrada e a venda desse ou qualquer outro medicamento especializado no nosso país estão sujeitas ao Regulamento de importações e venda de medicamentos especializados de origem estrangeira aprovado pelo Decreto n.º 19.331. — *M. T.*

127) Pergunta — Peça-lhes a fineza de me darem a vossa opinião sobre a seguinte fórmula duma receita médica:

Lactato de cálcio — vinte gramas

Água destilada — duzentos gramas

Devo ou não filtrar? Em caso afirmativo qual o processo de filtragem? — *M. C. M.*

Resposta — Veja sobre o assunto a resposta à pergunta n.º 113. Uma vez obtida a solução deve filtrar por papel. — *M. T.*

128) Pergunta — Foi-me pedido há pouco tempo a preparação da seguinte pomada:

Ácido salicílico }
Enxofre precipitado } 1

«Carbowax 1500» }
Vaselina }
Lanolina hidratada } aã 10

Utilizando uma lanolina hidratada de harmonia com as indicações da Farmacopeia Americana (25 a 30% de água) não conseguimos por vários «modus faciendi» ensaiados preparar uma pomada de boa estabilidade. Inicialmente a emulsão é estável, mas logo ao fim de 24 horas há separação do liquido aquoso.

Pode de facto obter-se com esta fórmula um preparado estável? Como devo proceder à sua preparação? — *M. O. S.*

Resposta — De facto, a fórmula citada origina uma pomada de má conservação. Ensaíamos várias modificações em que se pretendeu manter a percentagem de água e se

substituiu parte da vaselina por um agente emulsivo adequado ao tipo de emulsão (água em óleo) ou até outros normalmente usados nas emulsões de óleo em água.

Foram negativos os resultados obtidos com 5% de alcoois da lâ; 2% de colesterol; 30% de «amphocerin P»; 5% de alcoois da lâ + 2% de «Lanette N»; 5% de «Tween 80»; e 10% de «Polawax».

A adição de água e subseqüente baixa de pH por dissolução parcial do ácido salicílico, parecem ser a causa principal da separação das fases, pois mesmo o emprego duma lanolina apenas com 10% de água origina um produto que separa às 24 h.

Recomendamos a substituição da lanolina hidratada, pela lanolina oficial (entre nós anidra) e operar do modo seguinte:

Fundir a vaselina e lanolina, misturar os pós, espatulando; à pomada obtida, adicionar o «carbowax» fundido, a pouco e pouco agitando. — A. M. L.

129) Pergunta — Havendo em Tavira 5 farmácias abertas ao público, devem 4 delas encerrar das 13 às 15 horas obrigatoriamente para almoço, ficando exclusivamente aberta a que se encontra de serviço, ou o encerramento para almoço é facultativo? — Rui Aboim de Faria Pereira.

Resposta — Se o acordo entre as farmácias dessa cidade de que resultaram os turnos de serviço, está oficialmente aprovado pela autoridade administrativa, as aberturas (9 às 13 e 15 às 19) e encerramentos (13 às 15) têm que ser escrupulosamente cumpridos sob pena de aplicação das sanções previstas.

Para mais promotores, se necessários, queira dirigir-se ao Grémio Nacional das Farmácias que lhos fornecerá. — M. T.

130) Pergunta — «...Venho rogar a fineza de me indicarem a fórmula da «Loção de calamina fenicada»... — Maria Olimpia das Naves Marques (Carregal do Sal).

Resposta — Loção de calamina composta («National Formulary»):

Fenol liquefeito	10 cm ³
Loção de calamina	990 cm ³

Loção de calamina (Nat. Form.):

Calamina em pó muito fino	80 g.
Óxido de Zinco em pó muito fino	80 g.
Glicerina	20 cm ³
Água de cal	q. s. p. 1000 cm ³

Misture intimamente os pós com a glicerina e 100 cm³ de Água de Cal. Junte o resto de Água de Cal a pouco e pouco, agitando sempre até ao volume indicado.

«Agite antes de usar». — M. T.

III — DISPOSIÇÕES OFICIAIS

REGULAMENTO DO PRÉMIO ERNESTO ANTUNES GONÇALVES DA ROCHA E CASTRO

Artigo 1.º O Prémio Ernesto Antunes Gonçalves da Rocha e Castro destina-se a desenvolver nos alunos pobres da Escola de Farmácia da Universidade de Lisboa o gosto pelos estudos de Farmácia Galénica.

Art. 2.º O prémio será atribuído ao aluno pobre que no 3.º ano do curso alcançar nota mais elevada na cadeira de Farmácia Galénica e obtiver aprovação nas restantes cadeiras com média não inferior a 14 valores.

§ 1.º Considera-se pobre o aluno que estiver nas condições económicas exigidas para a concessão do benefício da isenção de propinas.

§ 2.º Em hipótese alguma poderá o prémio ser atribuído a quem obtiver classificação inferior a 14 valores na cadeira de Farmácia Galénica, do 3.º ano.

§ 3.º No caso de igualdade de classificação terá preferência o aluno em condições económicas mais desfavoráveis.

Art. 3.º O prémio será constituído pelo rendimento anual da importância destinada à sua instituição e convertida em certificado de renda perpétua assentado à Escola de Farmácia da Universidade de Lisboa.

Art. 4.º O Conselho da Escola de Farmácia da Universidade de Lisboa reunirá todos os anos, depois de terminados os exames académicos da segunda época, para designar o aluno a quem o prémio deve ser atribuído.

Art. 5.º Se em qualquer ano não houver aluno que satisfaça às condições fixadas no artigo 2.º, o prémio não será adjudicado e a respectiva importância acrescerá à do primeiro prémio que depois disso for atribuído.

Direcção-Geral do Ensino Superior e das Belas-Artes, 29 de Junho de 1954. — O Director-Geral, *João Alexandre de Almeida*.

(Aprovado por Portaria n.º 14 945, in «Diário do Governo» n.º 140, 1.ª série, de 29-6-1954).

PRODUTOS DO LABORATÓRIO CENTRAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA

Foi publicado no «Diário do Governo», 1.ª série, de 23 de Julho do corrente ano, um Despacho do Sr. Subsecretário de Estado da Agricultura, que fixa os preços dos produtos preparados e vendidos pelo Laboratório Central de Patologia Veterinária (soros, vacinas, virus, fermentos, antigénios, etc.).

IV — NOTICIÁRIO

CONGRESSOS INTERNACIONAIS

III CONGRESSO LUSO-ESPAÑHOL DE FARMÁCIA

Conforme se noticiou no N.º 1 desta Revista, referente ao 1.º trimestre deste ano, realizou-se em Santiago de Compostela o III Congresso Luso-Espanhol de Farmácia, tendo sido inaugurado em 22 de Agosto e encerrado a 29. O Sindicato Nacional dos Farmacêuticos faz-se representar pelos Presidente, Sr. Dr. Carlos Silveira e ainda pelo vogal da Comissão de Interesses Profissionais, Sr. Dr. Vitor Branco.

Como representante da «Revista Portuguesa de Farmácia» tomou parte neste Congresso o membro do seu Corpo Redactorial Sr. Dr. Eduardo Paquete que oportunamente apresentará as respectivas «notas de reportagem».

PRIMEIRO CONGRESSO FARMACÊUTICO DO PAQUISTÃO

A Sociedade Farmacêutica do Paquistão informa-nos de que vai realizar-se em Karachi, nos dias 5, 6 e 7 de Novembro de 1954, o Primeiro Congresso Farmacêutico do Paquistão.

Apresentar-se-ão comunicações científicas, trabalhos de divulgação e filmes referentes a farmácia. Haverá exposição de medicamentos, drogas, cosméticos, instrumentos cirúrgicos e farmacêuticos, nacionais e doutros países.

A Direcção do Congresso pede aos farmacêuticos interessados a participação neste Congresso, com qualquer trabalho.

JORNADAS TÉCNICAS DE PARIS

O Terceiro Salão de Química e de Matérias Plásticas que terá lugar de 3 a 12 de Dezembro na Porta de Versailles, será este ano o palco de manifestações internacionais — As Jornadas Técnicas de Paris. Serão levadas a efeito por reuniões de especialistas pertencentes às mais diversas especialidades e prometem ser ricas em toda a espécie de ensinamentos.

Os mais recentes aperfeiçoamentos desde a preparação dos produtos base, até às técnicas de fabrico e de utilização serão motivo de conferências e discussões gerais entre os especialistas de cada ramo. Todos os dias haverá um almoço-reunião.

Estas reuniões terão por fim criar um vivo interesse nos meios técnicos e industriais e terão o seguinte calendário:

6.ª feira, 3 de Dezembro — Novas técnicas do Vácuo.

Sábado, 4 de Dezembro — Perfumaria e Cosméticos.

2.ª feira, 6 de Dezembro — Cromatografia e permuta de iões.

3.ª feira, 7 de Dezembro — Aplicações da Microscopia à Química.

4.ª feira, 8 de Dezembro — Tintas para aplicação sub-aquática.

5.ª feira, 9 de Dezembro — As técnicas electrónicas ao serviço da química.

6.ª feira, 10 de Dezembro — Verificação e controle na indústria do açúcar. — Corrosão.

Sábado, 11 de Dezembro — Aquisições recentes em matérias plásticas — Corrosão.

Quanto ao Salão de Química propriamente dito, que conta já mais expositores de que o último, apresentará, na maior parte dos seus grupos, uma gama de novidades constituindo uma documentação de primeira ordem para todos os responsáveis pela produção.

Os Químicos, os Técnicos, os Engenheiros e os Industriais que desejem tomar parte das Jornadas Técnicas de Paris, poderão receber previamente o programa inscrevendo-se no Secretariado da Comissão Organizadora, 28 rue Saint Dominique, Paris.

EXPOSIÇÕES DO Farmacêutica SINDICATO NACIONAL DOS FARMACÊUTICOS da Ordem dos Farmacêuticos

EXPOSIÇÃO ENVIADA A S. EXCELÊNCIAS O MINISTRO DA ECONOMIA E
SUBSECRETÁRIO DE ESTADO DA ASSISTENCIA SOCIAL

Excelência:

Ponderou o Sindicato Nacional dos Farmacêuticos — como legítimo representante dos farmacêuticos portugueses e ainda como organismo ao qual incumbe também colaborar na salvaguarda da Saúde Pública — a conveniência de levar à superior apreciação de V. Excelência um assunto que reclama a adopção de providências urgentes.

Trata-se, Excelência, da Produção de Especialidades Farmacêuticas:

Até hoje, no nosso País, não houve uma regulamentação de ordem técnica ou científica que coordenasse eficientemente esse importante sector relacionado com a Saúde Pública. Em virtude disso, por vezes, aparecem no mercado, para consumo público, medicamentos especializados de eficácia ainda não inteiramente comprovada e outros de composição conhecida aos quais se atribuem virtudes terapêuticas que de facto não possuem.

Estes produtos, que conseguem impôr-se mercê tantas vezes de uma propaganda destituída de qualquer base científica, constituem um inútil encargo para a economia do doente o qual não tira do seu uso os benefícios que ansiosamente procura.

Assiste-se, como em nenhuma outra parte a uma corrida à «última novidade» procurando despertar antes do mais a atracção do médico, sem cuidar do estudo profundo e consciencioso que no ramo da preparação de medicamentos se torna imprescindível.

Põe-se o medicamento à disposição do doente sem que o preparador nem sempre conheça com o rigor que se impõe, as características, métodos analíticos e comportamento galênico das drogas que o compõem e sem que, por vezes, se tenha procedido ao indispensável ensaio clínico.

Chega-se mesmo, Senhor Ministro, ao ponto de, no nosso País, serem postos à venda produtos cujos componentes básicos, de origem estrangeira, não saíram ainda da fase experimental nos respectivos laboratórios de investigação científica — não se sabendo portanto, de maneira segura, se eles resultarão úteis.

Daqui resulta, também, estarem as farmácias pletóricas de medicamentos especializados similares, a fim de satisfazer as exigências do receituário, sem que desse elevado encargo económico resulte qualquer benefício para o doente.

Em consequência da actual desordenação na produção de medicamentos especializados, podem observar-se neste campo tão delicado por estar como nenhum outro tão intimamente ligado à Saúde Pública: denominações impróprias; produtos iguais com os mais diversos nomes de fantasia e para os quais os muitos preparadores procuram chamar a atenção, induzindo, porventura, em erro; preparações que se lançam no mercado sem que estivessem o devido tempo em observação para avaliar da sua estabilidade e conservação; etc.

Excelência:

Estes produtos que se denominam especialidades farmacêuticas e que em nosso entender enfermam de tão graves defeitos podem constituir, como é óbvio, um perigo para a Saúde Pública, não propriamente por serem perniciosos mas sim por não atingirem a finalidade desejada ou pretendida.

É para este estado de coisas, sucintamente expostas, que vimos rogar a atenção de Vossa Excelência e solicitar, para salvaguarda da Saúde Pública, medidas que regulamentem, adequadamente, a produção e introdução de novos medicamentos.

Lisboa, 7 de Maio de 1953.

A BEM DA NAÇÃO

A Direcção

Centro de Documentação Farmacêutica

II

da Ordem dos Farmacêuticos

EXPOSIÇÃO ENVIADA A S. EXCELENCIA O MINISTRO DA ECONOMIA

Excelência:

Com data de 7 de Maio último teve a Direcção do Sindicato Nacional dos Farmacêuticos a subida honra de levar à apreciação de V. Excelência um assunto que reclama a adopção de providências urgentes.

Referimo-nos ao magno problema da produção de Especialidades Farmacêuticas, sobre o qual — como acentuámos — não houve até hoje uma regulamentação de ordem técnica ou científica que coordenasse eficientemente esse importante sector relacionado com a Saúde Pública, motivo porque aparecem, por vezes, no mercado para consumo público, medicamentos especializados de eficácia ainda não inteiramente comprovada e outros de composição conhecida a que se atribuem virtudes terapêuticas que de facto não possuem.

Daqui se infere, como concluímos:

a) que uma grande parte desses produtos consegue impôr-se mercê de uma propaganda, destituída de qualquer base científica;

b) que tais medicamentos constituem um inútil encargo para a economia do doente, que não tira do seu uso os benefícios que ansiosamente procura;

c) que se assiste, como em nenhuma outra parte, a uma corrida à última novidade, procurando antes do mais a atracção do médico, sem cuidar do estudo profundo sobre a preparação e resultados dos novos medicamentos, cujos componentes básicos, de origem estrangeira, não saíram tantas vezes da fase experimental nos respectivos laboratórios de investigação científica;

d) que, deste modo, põe-se o medicamento à disposição do doente sem que o preparador nem sempre conheça, com o rigor que se impõe, as características, métodos analíticos e comportamento galénico das drogas que o compõem e sem que, por vezes, se tenha procedido aos indispensáveis ensaios clínicos;

e) que, desse sistema, resulta estarem as farmácias plétóricas de medicamentos especializados, similares, a fim de satisfazer as exigências do receituário — sem que, desse elevado encargo económico resulte qualquer benefício para o doente.

Excelência:

No desejo de contribuir para o esclarecimento do problema em ordem à sua conveniente solução, tomamos a liberdade de vir submeter, ainda, à apreciação de V. Excelência outros elementos posteriormente colhidos e referentes a diversos países, nomeadamente ESPANHA, DINAMARCA, ITALIA, SUÉCIA, SUIÇA, HOLANDA, INGLATERRA, FRANÇA e BRASIL, onde é exigida — e provavelmente noutras nações — a autorização prévia para o lançamento no mercado de um novo medicamento especializado.

Assim, as entidades que naqueles países concedem ou negam essas autorizações, são,

ESPANHA — Dirección General de Sanidad, dependente do Ministério de la Gobernación e através da Inspección General de Farmácia.

DINAMARCA — Autoridades sanitárias (Sundhedsstyrelsen) dependentes do Ministério do Interior.

ITALIA — Alto Commissariato per l'Igiene e la Sanità Pubblica dependente do Ministério do Interior.

SUÉCIA — Medicinalstirelsen (Conselho Médico).

SUIÇA — Office Intercantonal du Contrôle des Medicaments (O. I. C. M.).

HOLANDA — Neste país as autorizações não são concedidas por qualquer organismo oficial, mas sim pela Pharmaceutische Handelsconventie, onde estão agrupados 95 % dos fabricantes, Armazenistas e Farmácias da Holanda.

INGLATERRA — Neste país não existe qualquer organismo que dê ou recuse autorização para o lançamento no mercado de uma nova especialidade; no entanto as normas legais sobre os diversos grupos de medicamentos são tão completas que a sua observância constitui, de per si, um processo eficaz de coordenação.

FRANÇA — Comité Technique (composto por médicos e farmacêuticos) dependente do Ministério da Saúde Pública.

BRASIL — Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina, dependente do Ministério da Saúde, recentemente criado.

Segundo os elementos que colhemos, as condições a que deve obedecer o medicamento especializado que um fabricante pretenda lançar no mercado, variam sensivelmente de país para país, mas todas têm a finalidade de não permitir que apareçam à venda — como sucede em Portugal — medicamentos com denominações impróprias; produtos iguais com os mais diversos nomes de fantasia; preparações que se lançam a público sem que estivessem o devido tempo em observação para avaliar da sua estabilidade e conservação, etc.

Citaremos, por isso, em pormenor, as condições exigidas na Itália por as considerarmos mais perfeitas, completas e rigorosas para a consecução do fim em vista:

1) Para fabricar e pôr à venda medicamentos especializados, é necessário obter autorização da autoridade estatal, isto é, do Alto Commissariado de Higiene e Saúde Pública.

2) Ao formular o pedido fornecer-se-ão todos os pormenores possíveis quanto à composição do produto especializado e sua acção terapêutica, justificando ao mesmo tempo o preço de venda ao público. É também necessário documentar o valor prático (acção terapêutica sobre o doente) do produto, com a declaração da direcção científica duma clínica universitária ou dum hospital de categoria.

3) A aprovação do Alto Commissariado pode ser recusada quer por motivo de natureza científica quer devida à existência dum número considerado suficiente de produtos semelhantes no mercado nacional. O produto especializado a lançar deve, portanto, apresentar originalidade e aspectos novos.

4) As regras que vigoram para os produtos italianos são, também, válidas para os medicamentos especializados que se importam do estrangeiro.

Em face do exposto, os farmacêuticos portugueses, representados pelo seu Sindicato Nacional, apresentando a V. Excelência estas considerações, apenas os move o desejo de, para salvaguarda dos superiores interesses da Saúde Pública, verem decretadas medidas tendentes a regulamentar, adequadamente no nosso País, a produção e a introdução de novos medicamentos.

Lisboa, 12 de Novembro de 1953.

A BEM DA NAÇÃO

A Direcção

**EXPOSIÇÃO ENVIADA A S. EXCELÊNCIAS O MINISTRO DA ECONOMIA E
SUBSECRETÁRIO DE ESTADO DA ASSISTENCIA SOCIAL**

Excelência:

Ao Sindicato Nacional dos Farmacêuticos, cumpre, antes de mais, manifestar o seu reconhecimento ao Governo da Nação pela publicação do Decreto n.º 39 633 que condiciona a indústria dos medicamentos especializados, disciplina que se impunha e que já havia sido solicitada há alguns meses por este Organismo, a Suas Excelências os Ministros da Economia e do Interior.

Pela promulgação de tão necessárias medidas este Sindicato pede licença para louvar o Governo na pessoa de Vossa Excelência.

Porém, parece que o parágrafo 2.º do Artigo 1.º do Decreto referido, talvez por não estar redigido dum modo suficientemente claro, poderá conduzir os farmacêuticos portugueses à ideia duma situação não só deprimente como injusta.

Esse parágrafo diz textualmente:

«Não é abrangida pelo condicionamento a preparação dos produtos tóxicos e a dos destinados à venda directa ao público, podendo as farmácias proceder à sua colocação no mercado desde que se trate de produtos que por elas vinham sendo já preparados, sob a reserva de nos rótulos e embalagens se indicar a sua proveniência».

Ora, se se pudesse interpretar que de futuro ficaria vedado ao farmacêutico produzir na sua farmácia novos medicamentos especializados, mesmo que esses novos medicamentos tivessem que obedecer como é lógico e se impõe, às instruções e regulamentos previstos no Artigo 26.º, tal doutrina conduziria à seguinte e para nós incompreensível situação.

Um farmacêutico estrangeiro pode sempre tentar introduzir e vender em Portugal um medicamento especializado, por si preparado na sua farmácia; em contrapartida igual direito ficaria definitivamente vedado aos farmacêuticos portugueses no seu próprio país.

De resto tal determinação contrariaria o espírito e a letra das leis que, desde sempre, têm regido o exercício farmacêutico (nomeadamente o Artigo 1.º do Decreto n.º 17 636 e o Artigo 13.º do Decreto-Lei n.º 29 537) e até estaria em contraste flagrante com o teor do parágrafo 1.º desse mesmo artigo que diz:

«O exercício da profissão farmacêutica ou da Arte de Farmácia continua a reger-se pelas disposições legais em vigor».

Acrescentaremos ainda que seria incompreensível que o farmacêutico, único técnico legalmente habilitado a estudar e preparar os medicamentos, fosse impedido de o fazer só pelo facto de poder dispôr para isso, apenas do laboratório da farmácia.

Por nos parecer que esta não pode ser de nenhum modo a finalidade do legislador, o Sindicato Nacional dos Farmacêuticos vem muito respeitosamente perante Vossa Excelência solicitar o favor de o mandar esclarecer quanto à interpretação que oficialmente será dada ao parágrafo 2.º do Artigo 1.º do Decreto n.º 39 633.

Do mesmo modo solicitamos esclarecimentos ao parágrafo único do Artigo 6.º, porquanto não poderíamos compreender como «técnico idóneo» na indústria farmacêutica, outro que não seja o próprio farmacêutico.

Lisboa, 25 de Maio de 1954.

A Direcção

NOVA DIRECÇÃO DO SINDICATO

Tomaram posse no dia 20 de Julho último os novos Corpos Gerentes do Sindicato Nacional dos Farmacêuticos, eleitos em 16 de Fevereiro do corrente ano e sancionados por despacho de 26 de Junho de S. Ex.ª o Ministro das Corporações.

A nova Direcção ficou assim constituída:

Presidente, Dr. Carlos Fernando Costa da Silveira;

Secretário, Dr. Mário Veiga Fialho;

Tesoureiro, Dr. José Ramos Machado;

Vogais: Dr. João Delgado Guerreiro e Prof. Doutor José Ferreira do Vale Serrano (representante da Secção do Porto).

FALECIMENTOS

Centro de Documentação Farmacêutica

SEBASTIAO DIAS BRAGA

Com a idade de 81 anos faleceu no fim de Julho último o nosso colega Sr. Sebastião Dias Braga, figura de relevo no meio farmacêutico da capital, onde residia há muitos anos.

Natural de Figueiró dos Vinhos, o extinto era diplomado pela antiga Escola de Médico-Cirurgica de Lisboa, na qual fez o seu exame final em 24 de Julho de 1896.

Fez parte de diversas comissões e dos corpos gerentes da Sociedade Farmacêutica Lusitana e desempenhou as altas funções de presidente da assembleia geral do nosso Sindicato desde 1936 a 1939.

Foi sócio da Farmácia Azevedo, Irmão & Veiga, e à data do seu falecimento exercia a direcção técnica da Farmácia Mendes & Braga, Lda, de que era sócio desde a sua fundação em 15 de Setembro de 1915.

Registou-se também, ultimamente, o falecimento dos seguintes sócios do nosso Sindicato:

António da Costa Torres — Lisboa.

António Joaquim Rosado e Silva — Elvas.

José Jorge Calado — Torres Novas.

José de Matos Torres — Tomar.

As famílias enlutadas endereçamos sentidos pesames.

REVISTA PORTUGUESA DE FARMÁCIA

Director: CARLOS SILVEIRA
PRESIDENTE DA DIRECÇÃO

EDIÇÃO E PROPRIEDADE DE
SINDICATO NACIONAL DOS FARMACÉUTICOS — SOCIEDADE FARMACÉUTICA LUSITANA
(MEMBRO EFECTIVO DA «FÉDÉRATION INTERNATIONALE PHARMACEUTIQUE»)

SEDE: RUA DA SOCIEDADE FARMACÉUTICA, 18 — TEL. 4 1433 — LISBOA

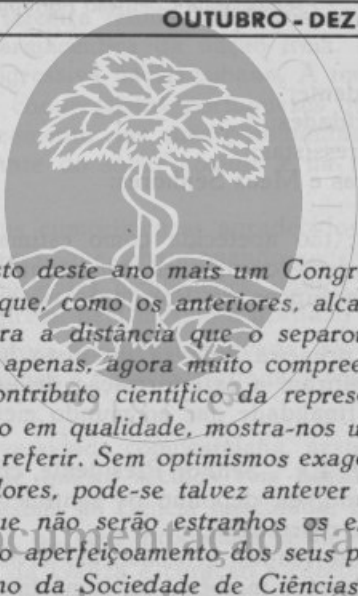
CORPO REDACTORIAL:

J. A. ALMEIDA RIBEIRO; J. ALVES DA SILVA; J. A. BALTAZAR; J. CARDOSO DO VALE;
M. CRISTIANO; A. FERNANDES COSTA; J. D. GUERREIRO; A. LUPI NOGUEIRA;
A. MARQUES LEAL; A. MARTINS; M. G. MATOS JÚNIOR; A. MOZ TEIXEIRA;
L. NOGUEIRA PRISTA; J. OLIVEIRA; E. PAQUETE; A. PEREIRA; A. PERQUILHAS TEIXEIRA;
A. J. C. RALHA; J. RAMOS MACHADO; L. D. RODRIGUES; L. SILVA CARVALHO; C. SILVEIRA;
L. SOUSA DIAS; J. F. VALE SERRANO

VOL. IV ★ 1954

OUTUBRO-DEZEMBRO ★ N.º 4

EDITORIAL



Realizou-se em Agosto deste ano mais um Congresso Luso-Espanhol de Farmácia — o 3.º — que, como os anteriores, alcançou um êxito bastante significativo. Embora a distância que o separou do 2.º Congresso fosse curta — dois anos apenas, agora muito compreensivelmente alargados para quatro —, o contributo científico da representação portuguesa, tanto em quantidade como em qualidade, mostra-nos uma continuidade de trabalho que é agradável referir. Sem optimismos exagerados, mas também sem pessimismos destruidores, pode-se talvez antever uma época de bom progresso científico, a que não serão estranhos os esforços construtivos das Escolas no sentido do aperfeiçoamento dos seus programas, a criação num futuro muito próximo da Sociedade de Ciências Farmacêuticas e a orientação da indústria no sentido criador que até certo ponto lhe faltava. Este progresso científico será logicamente acompanhado pela resolução de certos problemas económicos que no momento asfixiam os farmacêuticos da pequena oficina, cuja actividade será sempre uma das bases da nossa profissão, porque, sem dúvida, a afirmação de conhecimentos e de valor constituirá o melhor caminho para encontrar uma compreensão sincera da parte dos outros, uma melhor consciência das nossas próprias dificuldades e da maneira de as resolver. Os atropelos que ora se verificam da parte daqueles para quem a Farmácia é apenas um negócio, deselegâncias entre profissionais que antes de tudo devem lembrar-se que possuem um curso universitário, terminarão, mas não com a discussão no plano baixo dos interesses mesquinhos.

Será pela valorização profissional que o farmacêutico alcançará a posição a que aspira e a que tem direito. É por estas razões que os Con-

gressos são sempre bemvindos como o serão também todas as manifestações de vitalidade que dêem ao Farmacêutico o estímulo para o trabalho e a esperança em realizações de que já descrê. A Revista Portuguesa de Farmácia arquiva nas suas páginas, em síntese, o que foi o III Congresso Luso-Espanhol, inserindo em primeiro lugar a formosa oração pronunciada na sessão de abertura pelo Prof. Aníbal de Albuquerque, Presidente da delegação portuguesa e Vice-Presidente do Congresso.

C. S.

ALOCUÇÃO

pelo Prof. Dr. ANÍBAL DE ALBUQUERQUE

Presidente da Comissão Portuguesa

Ex.^{mo} Sr. Presidente;
Distintas Autoridades;
Senhores Congressistas;
Minhas Senhoras e Meus Senhores:

Fortuna minha, tão apetecida como estimada, a de poder elevar a minha voz do alto deste curul e em tão singular momento, para saudar, em nome dos farmacêuticos de Portugal, os ilustres colegas da amiga e nobre Espanha.

Seja a minha primeira palavra de justo louvor aos Governos e às Entidades que permitiram a exteriorização de um ramo do saber humano que tem por única finalidade dar ao mundo menos lágrimas e ao homem mais esperanças.

Nas mãos de V. Ex.^a, Senhor Presidente, como representante do mais alto poder do Estado, eu deponho os sentimentos de gratidão daqueles que tenho a honra de representar.

As ilustres Autoridades eclesiásticas, civis, militares e académicas aqui presentes, endereço, também, os cumprimentos de reconhecido respeito dos congressistas portugueses.

Nenhum cenário poderia, melhor do que este, envolver uma assembleia de farmacêuticos. Na verdade, aqui nasceu, nesta risonha Galiza, e aqui iniciou a sua gloriosa carreira, o mais operoso farmacêutico ibérico de todos os tempos, D. José Carracido. Sábio de fama mundial, conferencista emérito, orador de rara e estranha fluência, amigo dedicado e frequentador assíduo da terra portuguesa, especialmente do ridente Minho, que tanto apreciava.

Galiza e Minho, uma e outro ajoelhados sobre o rio manso e fundo, como que a rezarem com o poeta:

«A Galiza e mail'o Minho,
São como dois namorados
Que o rio trás separados
Quase desde o nascimento».

Nesta mesma Galiza nasceu e iniciou a sua vida universitária o gigante da ciência espanhola, D. José Casares, que temos a ventura de ter junto de nós e que eu tenho a honra de saudar com o mais profundo vigor da minha alma e com o carinhoso respeito da minha admiração sem limites. Insigne Mestre, de quem a classe legitimamente se ufana e a ciência justamente se orgulha e que soube escrever páginas vivas na história da farmácia na Península.

Está ainda bem patente na memória de todos o êxito alcançado pelo 1.º Congresso, reunido, em Madrid, em 1948. A franca e generosa hospitalidade, que, então, nos foi oferecida, procurámos nós, os portugueses, corresponder com os mesmos sentimentos, durante os dias, igualmente memoráveis, do 2.º Congresso, realizado no Porto há apenas dois anos, e que teve a ventura de registar a presença de alguns delegados dos mais destacados sodalícios científicos da florescente nação brasileira.

Aos trabalhos desta terceira reunião dos farmacêuticos ibéricos novamente acorre a ciência farmacêutica da nação irmã, agora acompanhada por representantes da progressiva nação cubana. A todos entrego os cumprimentos afectuosos dos congressistas portugueses que com eles aqui se encontram para o balanceamento das suas possibilidades científicas, olhos postos na marcha inebriante do saber comum e na iluminada trajectória das suas pátrias.

Dirijo, ainda, os meus cumprimentos agradecidos a todos os confrades, espanhóis e portugueses, que, abandonando seus lazeres, aqui vieram trazer o fruto das suas pacientes lucubrações, unidos pelo mesmo amor à profissão e sem nada exigirem, nem mesmo a gratidão dos homens.

Empolgante e magestosa ambiência, eivada de extasiadas recordações, aquela em que vai ecoar a palavra fecunda e honrada dos farmacêuticos ibéricos.

É nesta famosa Universidade compostelana, neste fecundo templo de sabedoria, que há mais de quatro séculos vem destilando com paciência e afinco a essência suavíssima da ciência imaculada, que os farmacêuticos da Península vão discutir os seus problemas mais instantes.

Compostela, coração da Galiza e coração e cérebro da Espanha toda! Santiago, «cidade estranha, formosa e feia ao mesmo tempo...», cidade típica em que as casas parece quererem beijar-se, em que cada pedra é uma peça imorredoura no interminável museu da história.

A magestosa catedral, que mais de 10 séculos comovidamente admiram, é um poema de maravilha icástica, escrito em pedras policromadas por artistas iluminados. Ao contemplarmos esse portento granítico, nossa alma extasiada recorda aquelas multidões de crentes medievos que, apinhados na grande nave, misturavam com o aroma doce do incenso o cheiro acre dos seus corpos castigados e sujos.

Pelo nosso pensamento deambulam as formas imprecisas de milhões de peregrinos descalços, olhos postos nas miríades de estrelas da via láctea e que, em marchas pacientes, transformavam em orações as pedras ásperas das veredas tortuosas.

Já não desgastam as pedras dos caminhos os pés nus dos peregrinos, mas, no firmamento, as mesmas luzes palpitantes continuam e continuarão,

por todos os séculos dos séculos, a ensinar aos homens aonde se encontra o túmulo de Tiago Maior.

É, pois, nesta velha urbe, tão cheia de encantos como de recordações, que nos congregamos, sob a vigilância do Apóstolo e protegidos por Maria, a Excelsa Senhora, una e universal, sem dúvida, mas sempre nossa, seja vestida do Pilar ou de Fátima.

Aqui nos encontramos, os da velha Ibéria e os das jovens terras do Novo Mundo, em anseios de pureza e dominados pela mesma paixão do bem comum, para discutir os intrincados mistérios da ciência.

Aqui nos encontramos, em conexão de afectos, para engrandecimento da nossa cultura profissional e para reforço da unidade espiritual que envolve os nossos povos.

Acima do tratado de Tordesilhas, mais alto do que a marcha gloriosa dos bandeirantes, dos descobridores e dos missionários, fala, no presente, a comunhão de sentimentos que, em época tão conturbada da história do mundo, anima e enobrece os povos ibéricos e neo-ibéricos.

Quem quer que um dia se debruce sobre a história da farmácia na Península, há-de, certamente, lobrigar os profissionais de hoje, que, à margem de teorias insensatas, procuram efectuar obra honesta, construindo, em bases de amor e de justiça, os alicerces de um porvir fecundo.

Minhas Senhoras;

Meus Senhores:

Escoam-se os anos, como entre os dedos o rosário de Maria; somem-se os homens, como folhas mortas varridas pelo vento ... Porém, a ciência verdadeira persiste e avança, na ânsia indomada da conquista dos mais recônditos mistérios da natureza.

Depois de uma conquista outra conquista, após um mistério outro mistério... como entre os dedos as contas de Maria...

Nós, que tivemos a desdita de viver no século mais agitado da história do mundo; nós, que acompanhamos a evolução das mais estranhas aquisições da ciência triunfante; nós que assistimos ao desenrolar das mais espantosas tragédias, compreendemos quanto pode a inteligência humana posta ao serviço do amor ao próximo ou usada em apuros de destruição e de desgraça.

Há quase dois mil anos que o Filho adoptivo de José veio ensinar ao mundo a sublimidade das causas justas, mas os homens, desgraçadamente, em lugar do repúdio ao ódio, à intriga e à vaidade, fizeram nascer mais ódios, alimentaram vaidades, criaram apetites vorazes e insaciáveis.

Neste Ano Santo Compostelano, com o auxílio de Maria e sob a vigilância protectora do Apóstolo, os farmacêuticos ibéricos, dominados pela mesma paixão do bem comum, vão discutir os mistérios da ciência eviterna, em fulgurante trajectória de amor ao próximo, ao bem e à justiça.

Depois de uma conquista outra conquista, após um mistério outro mistério, como entre mãos inocentes o rosário de Maria...

TRABALHOS ORIGINAIS

ESTREPTOMICINÉMIA POR ABSORÇÃO RECTAL, NO HOMEM, USANDO SUPOSITÓRIOS PREPARADOS COM POLIETILENOGLICOIS

L. SILVA CARVALHO e MARIA LUÍSA PAIS DA SILVA

JUSTIFICAÇÃO DO TRABALHO

Por estranho que pareça, tratando-se de uma via de administração sem dúvida cada vez mais reconhecida como muito valiosa, não se dispõe, decorridos tantos anos sobre a introdução da estreptomicina na terapêutica, de um estudo cabalmente elucidativo sobre o comportamento deste antibiótico quando administrado pela via rectal.

Pode-se, praticamente, afirmar que nenhum trabalho existe capazmente esclarecedor sobre o assunto. É tal droga absorvida pelo recto? É destruída nesta região e em que escala? Nenhum estudo no-lo demonstra com segurança.

As únicas referências publicadas sobre a matéria dizem respeito ao relato de uma exposição feita na Sociedade de Farmacologia e Terapêutica Experimentais, de Baltimore, E. U. A., de MANDEL e THAYER (apresentada por F. Steigmann) ⁽²⁾, do *U. S. Marine Hospital, Staten Island, N. Y.*, sobre a administração rectal da penicilina, em que, acidentalmente, apenas se escreve sobre este mais novo antibiótico: «a absorção da estreptomicina de supositórios, determinada por ensaio na urina em 4 casos, é praticamente nula».

É evidente que a apreciação rectal praticada através de avaliação da eliminação urinária, em 4 casos... não pode ser tomada como prova conclusiva de não absorção pelo recto.

Outra referência sobre o assunto encontra-se numa publicação sobre a farmacologia da estreptomicina por MOLITOR (do *Merck Institute for Therapeutic Research, Rahway, N. J.*), trabalho que foi apresentado na sessão de 5 de Dezembro de 1946 da Academia de Medicina de Nova Iorque ⁽⁴⁾.

Este estudo também nada de positivo esclarece. Tudo o que nele se refere sobre o assunto fica aqui reproduzido: «a administração rectal, tanto sob a forma de microclisteres como de supositórios, produz resultados insatisfatórios. Contudo, os factores influenciando a velocidade de absorção com este modo de administração não são ainda suficientemente conhecidos; os resultados são bastante irregulares, ocasionalmente dando concentrações elevadas da droga e mantendo-se bem, enquanto outras vezes produzindo-se vestígios no sangue do mesmo animal, sem razão aparente. O facto, contudo, de, sob certas ainda não controláveis condições, ocorrer

completamente adequada absorção do recto, indica que ulterior investigação dos factores que regulam a absorção do tracto intestinal poderá tornar, eventualmente, seguro este modo de administração».

Ora este trabalho, além dos termos duvidosos em que o próprio autor se exprime ao tirar as suas conclusões, está longe de fornecer toda a gama de elementos informativos absolutamente necessários para se poder ajuizar do valor dos seus próprios resultados.

Num estudo da absorção rectal, é fundamental indicar-se — sem o que perdem grande significado os resultados — qual o intermédio usado na preparação dos supositórios.

São flagrantes as diferenças de concentração sanguínea de dada droga obtidas quando se usa um intermédio hidrossolúvel ou hidromiscível ou quando se emprega um gorduroso. Trabalhos por nós realizados (⁷, ⁸), um deles precisamente sobre a absorção da estreptomycin, patentearam bem a nítida diferença de comportamento consoante os intermédios usados, na preparação dos supositórios.

Por outro lado, determinada droga não se altera ou é alterável em grau menor quando é incorporada, por fusão, em dado intermédio, ao prepararem-se os respectivos supositórios, mas é o completa ou mais acentuadamente quando se emprega outro intermédio. Nós tivemos ocasião de o verificar com algumas drogas, que se alteravam em grande escala em óleo de cacau e desprezivelmente em polietilenaglicolis.

Ora MOLITOR nada refere no seu trabalho sobre a natureza do intermédio usado nos supositórios que empregou. Nada esclarece sobre a sua conservação ou, até, método de preparação, visto que o grau de alteração sofrido por dada droga pode ser muito diferente se os supositórios forem preparados pelo método de fusão ou de compressão. Não aponta mesmo qual o título estreptomycinico (e qual a pureza da estreptomycin usada e sob que forma esta se encontrava) dos supositórios ensaiados. (Como indica que usou nos seus diferentes ensaios amostras com grau de pureza muito variável, desde tão baixo como 10 por cento até 97 por cento, as impurezas podem ter jogado um papel importante na alteração ou conservação do antibiótico nos supositórios — pormenor de que inteiramente se esqueceu). Tão pouco cita as horas a que foi praticada a colheita de soro após a aplicação do supositório (ou até, se não usou outro processo, menos directo, para avaliar a absorção). Não refere igualmente qual o animal de experiência usado.

Enfim e em resumo, este trabalho nada arruma, respeitante ao conhecimento da absorção rectal da estreptomycin.

Sucede, pois, que até iniciarmos os nossos estudos sobre este problema se continuava a desconhecer o que seguramente se passa sobre a absorção da estreptomycin através do recto.

Não obstante, entre nós, já há algum tempo que existem no mercado supositórios contendo estreptomycin.

Se ponderarmos que, normalmente, os tratamentos estreptomycinicos são prolongados, tornando penosa a aplicação de frequentes e continuadas injecções, fácil é reconhecer quão cómodo e confortável se tornaria proceder a tal terapêutica substituindo a via intramuscular pela administração rectal.

O facto prendeu-nos a atenção e iniciámos o estudo do problema começando por verificar, naturalmente, o que ocorria na experimentação animal.

Usando um animal corrente para este género de avaliações, tivemos ocasião de reconhecer que, no coelho, ocorria uma absorção rectal deste antibiótico nítida e rápida, particularmente quando se empregava como intermédio dos supositórios uma mistura de polietilenoglicóis de preferência ao óleo de cacau.

Os resultados obtidos nesse trabalho inicial, que apresentámos no III Congresso Luso-Espanhol de Farmácia e que já se encontra publicado⁽⁸⁾, levaram-nos a passar à fase seguinte de investigação, à pesquisa da absorção rectal da estreptomina no homem.

Esclarecer, por uma forma que exclua dúvidas, tão importante problema, constituiu o escopo do presente trabalho.

Já depois da parte experimental do nosso estudo concluído, tivemos ocasião de ler um trabalho publicado recentemente, precisamente sobre a absorção rectal da estreptomina no homem.

Trata-se do estudo de NASSI e DETTORI⁽⁹⁾, do Instituto de Clínica Pediátrica da Universidade de Florença. É incidente sobre 15 casos de crianças (2 lactantes e 13 de idade variável entre 3 e 10 anos). Para a dosagem do antibiótico usaram o método das placas, empregando como organismo de ensaio o *Staphylococcus florentinus*. A dose de estreptomina ensaiada foi de 0,25 g e 0,50 g, experimentando supositórios de óleo de cacau e de «carbowax». (Não indicam se o intermédio de polietilenoglicóis é simples ou misto, se contém ou não água).

Por dosagens de antibiótico, no sangue e na urina, os autores reconheceram a absorção rectal da estreptomina.

DISPOSIÇÕES EXPERIMENTAIS

Supositórios — Os supositórios utilizados foram de 2 títulos em antibiótico. Uns titulavam a 0,30 g e outros a 0,50 g de estreptomina, base (sob a forma de sulfato).

Tanto num caso como noutro, o intermédio usado era constituído por uma mistura de 15 partes de polietilenoglicol 1500 e 75 partes de polietilenoglicol 6000.

A técnica preparatória dos supositórios consistiu na fusão prévia do intermédio misto, a b. m., e subsquente incorporação homogénea do antibiótico.

Solução injectável — A solução injectável era simples solução aquosa, aplicando-se intramuscularmente, na região glútea, 3 ml contendo 0,50 g de base estreptomínica (sob a forma de sulfato).

Pacientes — Utilizaram-se pacientes voluntários, saudáveis, de ambos os sexos, principalmente do sexo feminino, de idades compreendidas entre 16 a 48 anos e de pesos entre 45 e 76 Kg, que não haviam sido submetidos a tratamento de antibióticos há, pelo menos, alguns dias.

Soros — As colheitas do sangue, para dosagem da estreptomina, foram realizadas segundo o seguinte horário: 15 minutos, 1, 4 e 7 horas após tanto a aplicação do supositório como da injeção.

Dosagem — Seguiu-se como técnica de dosagem a estabelecida pela F. D. A. (Washington) para avaliação da concentração da estreptomina no sangue.

É uma dosagem microbiológica, pelo método das placas, usando como organismo o *Bacillus subtilis* (estirpe ATCC 6633). Como diluente do

padrão estreptomycinico, bem como dos soros a diluir (exigência obrigatória para soros sanguíneos contendo valores de estreptomycina acima de 4 mcg de estreptomycina por ml), emprega-se uma solução estéril de fracção V de plasma de boi, a 7 %, em tampão de fosfato potássico, levada a um pH final de 7,4.

Os meios empregues resultaram de hidratação dos produtos *Streptomycin Assay Agar* e *Penassay Seed Agar* de Difco Laboratories, Detroit, Michigan, correspondentes às fórmula n.ºs B-277 e B-263 do respectivo catálogo.

RESULTADOS

As concentrações estreptomycinicas, expressas em mcg/ml, doseadas nos soros sanguíneos colhidos após determinados lapsos de tempo (15 minutos, 1 e 4 horas), sequentes à administração de um único supositório, titulando a 300 mg de estreptomycina (sob a forma de sulfato) são referidas no Quadro I; as concentrações resultantes após 15 minutos, 1, 4 e 7 horas da aplicação de um supositório incluindo 500 mg da mesma base encontram-se anotadas no Quadro II; finalmente, os teores estreptomycinicos obtidos no soro sanguíneo, decorridos iguais lapsos de tempo após a administração intramuscular de 500 mg da base antibiótica, estão referenciados no Quadro III.

QUADRO I

CONCENTRAÇÕES ESTREPTOMICINICAS NO SORO APÓS A ADMINISTRAÇÃO DE UM SUPOSITÓRIO CONTENDO 300 mg DE ESTREPTOMICINA

(Intermédio: polietilenoglicol 1500, 15 p.; polietilenoglicol 6000, 75 p.)

Concentrações estreptomycinicas no soro (mcg/ml)	Tempo após a administração do supositório		
	15 minutos	1 hora	4 horas
3,0 — 3,5		1	
2,5 — 2,99		1	
2,0 — 2,49		3	
1,5 — 1,99		5	1
1,0 — 1,49	1	3	2
0,5 — 0,99	5	2	8
< 0,5	8	2	8
Valores médios (*)	0,51 (14)	1,6 (17)	0,67 (19)

(*) Entre parêntesis, o número de soros usados para a determinação de cada valor.

QUADRO II

CONCENTRAÇÕES ESTREPTOMICÍNICAS NO SORO APÓS A
ADMINISTRAÇÃO DE UM SUPOSITÓRIO CONTENDO
500 mg DE ESTREPTOMICINA

(Intermédio: polietilenoglicol 1500, 15 p.: polietilenoglicol 6000, 75 p.)

Concentrações estreptomicínicas no soro (mcg/ml)	Tempo após a administração do supositório			
	15 minutos	1 hora	4 horas	7 horas
3,5 — 4,0		3		
3,0 — 3,49		2		
2,5 — 2,99		2		
2,0 — 2,49		4	1	
1,5 — 1,99		1	3	
1,0 — 1,49	1	3	5	1
0,5 — 0,99	2	10	9	11
< 0,5	20	—	6	6
Valores médios (*)	0,25 (23)	1,91 (25)	0,97 (24)	0,65 (18)

(*) Entre parêntesis, o número de soros usados para a determinação de cada valor.

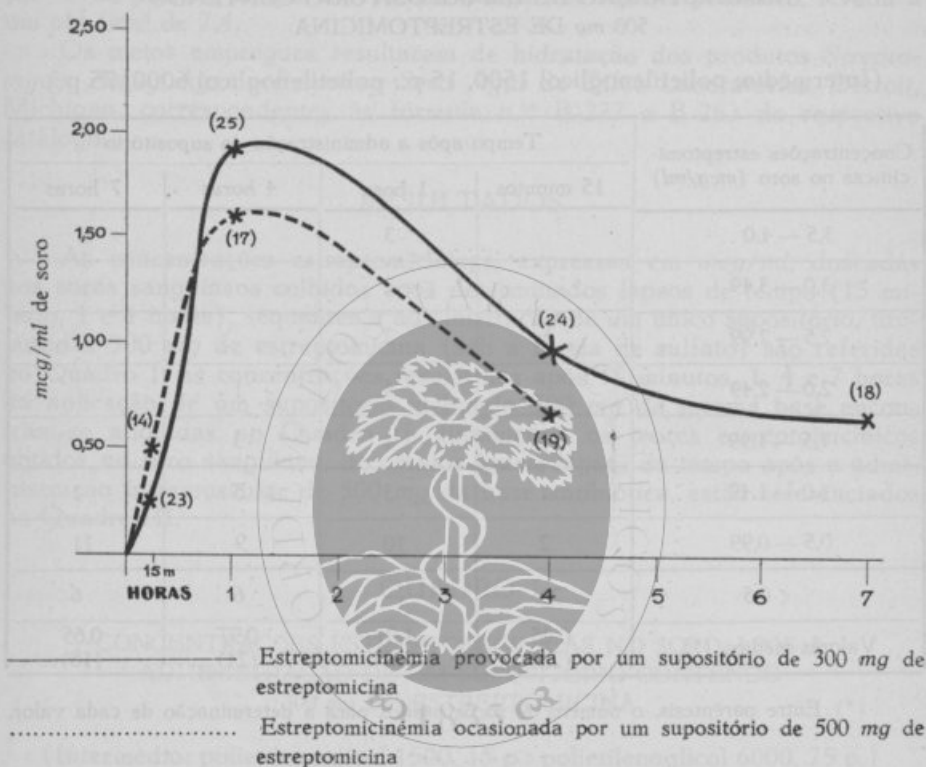
QUADRO III

CONCENTRAÇÕES ESTREPTOMICÍNICAS NO SORO APÓS A
ADMINISTRAÇÃO INTRAMUSCULAR DE 3 ml DE SOLUÇÃO
AQUOSA CONTENDO 500 mg DE ESTREPTOMICINA

Concentrações estreptomicínicas do soro (mcg/ml)	Tempo após a aplicação da injeção			
	15 minutos	1 hora	4 horas	7 horas
9 — 11		6		
7 — 8,99	4	14	7	1
5 — 6,99	7	1	10	4
3 — 4,99	10	—	4	15
Valores médios (*)	5,35 (21)	8,64 (21)	6,22 (21)	4,36 (20)

(*) Entre parêntesis, o número de soros usados para a determinação de cada valor.

CURVAS DAS CONCENTRAÇÕES DE ESTREPTOMICINA NO SORO,
DO HOMEM, APÓS A ADMINISTRAÇÃO DE 1 SUPOSITÓRIO
TITULANDO a 300 mg E a 500 mg DE ANTIBIÓTICO (BASE)



() Número de avaliações usadas para a determinação de cada ponto.

Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos
DISCUSSÃO

Depois de ter sido descrito pela primeira vez este antibiótico há uma dezena de anos (6), mantinha-se desconhecido se a estreptomicina era ou não absorvida pela via rectal.

Nenhum trabalho se publicou suficientemente esclarecedor e, em boa verdade, reinava uma certa dúvida a tal respeito.

Como indicámos, numa comunicação de MANDEL e THAYER (2), afirmou-se, apoiando-se em dados inconsistentes, que a absorção pelo recto da estreptomicina não se verificava. Pela mesma data, MOLITOR (4), como também referimos, não desfez a dúvida, mas antes destacou que o problema mereceria ulterior estudo esclarecedor.

Entretanto, jámais foi retomado. Por certo, a circunstância de se ter reconhecido, perfeitamente, que a absorção da estreptomicina através da

mucosa intestinal (administração *per os*) era nula, deve ter contribuído para se aceitar que também não transporeria a barreira da mucosa rectal. Já em 1946, MARSH ⁽³⁾ escrevia que a estreptomina não era bem absorvida pela superfície de qualquer membrana mucosa. Entretanto, o alargamento constante do uso crescente da via rectal como forma de administração, incluso de alguns antibióticos (penicilina, cloranfenicol), e o próprio aparecimento de intermédios de supositórios com novas características, que podem fazer mudar a intensidade de absorção pelo recto, fariam forçosamente reconsiderar o problema. Acrescente-se que no caso da estreptomina, em que se praticam tratamentos prolongados por este antibiótico, a comodidade da administração rectal sobre a parenteral seria manifesta.

Não existem, pois, dúvidas acerca do apreciável interesse em se esclarecer, em termos seguros e precisos, o grau de estreptomina (se esta se verificasse) observável após a administração de supositórios de estreptomina.

Para se apreciar a eficiência da estreptomina rectal impunha-se proceder a um estudo de confronto das concentrações estreptomínicas obtidas pela administração pelo recto com as atingidas pela via parenteral.

Na realidade, para se preconizar a utilização do recto como via de administração na terapêutica estreptomínica, homologando-a em eficiência à via parenteral, não chegaria observar a ocorrência da absorção do antibiótico pela mucosa rectal. Interessaria considerar a diferença de valores das concentrações estreptomínicas atingidas no sangue e o tempo de manutenção das mesmas, em cada uma das duas formas de administração.

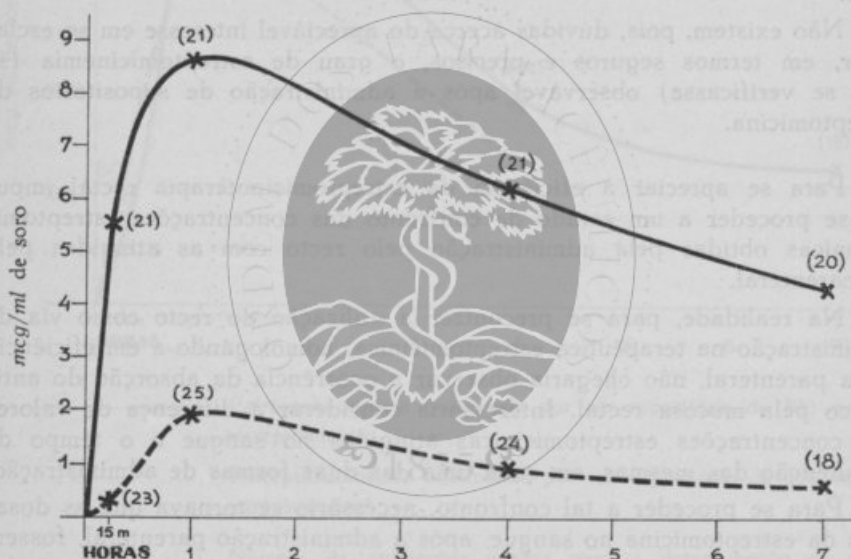
Para se proceder a tal confronto, necessário se tornava que as dosagens da estreptomina no sangue, após a administração parenteral, fossem praticadas em condições precisamente idênticas às que presidissem às titulações das estreptomínicas obtidas por via rectal. Esta condição imperiosa num estudo sério (as próprias técnicas de dosagem da estreptomina no sangue modificaram-se), impunha a realização de avaliações de teores sanguíneos consequentes à administração parenteral do antibiótico, impossibilitando de se utilizar qualquer trabalho anteriormente descrito a tal respeito.

Tendo em devida conta a circunstância, procedemos, simultaneamente, à dosagem da estreptomina no sangue decorridos iguais lapsos de tempo após a aplicação intramuscular de igual peso de estreptomina (sulfato).

O trabalho, italiano, a que já aludimos ⁽⁵⁾, que quase simultaneamente apareceu com o nosso e de que só tivemos conhecimento após a elaboração da parte experimental deste estudo, leva à conclusão da existência da absorção rectal da estreptomina (os autores usaram a diidroestreptomina), mas não permite precisar, em termos suficientemente claros, se esta via de administração pode, sem desvantagem, substituir a via intramuscular.

Nesse estudo, que incide apenas sobre 15 casos, todos de crianças, parece que apenas em 5 deles se determinaram as concentrações sanguíneas do antibiótico, enquanto nos restantes se havia praticado a dosagem na urina. Se se anotar que, em tão reduzido número de determinações estreptomycinémicas, ainda a uns pacientes se havia aplicado supositórios preparados com polietilenoglicóis e a outros com óleo de cacau, havemos de con-

CURVAS DAS CONCENTRAÇÕES DE ESTREPTOMICINA NO SORO,
DO HOMEM, APÓS A ADMINISTRAÇÃO RECTAL E INTRAMUS-
CULAR DE 500 mg DE ANTIBIÓTICO (BASE)



Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

..... Estreptomycinémia determinada pela administração intramuscular de 500 mg de estreptomicina (3 ml de solução).
..... Estreptomycinémia originada pela aplicação rectal de 500 mg. de estreptomicina

() Número de avaliações usadas para a determinação de cada ponto.

cordar que, em rigor, o trabalho nada mais deveria permitir do que a evidência da passagem da estreptomicina (diidro) através do recto.

Os autores, permitiram-se no entanto, escrever que «os teores encontrados na eliminação (dosagens do antibiótico na urina) autorizam-nos a considerar perfeitamente idónea a via rectal para o emprego de supositórios contendo estreptomicina, na prática terapêutica corrente» (salvaguardando, adiante os casos «em que se necessita de uma segurança abso-

luta de dose elevada, como no caso de meningite tuberculosa e na forma grave de tuberculose pulmonar»).

Quanto a nós, o trabalho em referência dá uma contribuição para esclarecer a ocorrência da absorção rectal da estreptomomicina, mas não permite precisar o valor real da administração deste antibiótico por uma tal via.

Com um número tão escasso de casos, impossível se torna observar se as taxas estreptomomicinicas sanguíneas aparecem ou não com irregularidade. Aliás o artigo, que não refere qualquer valor numérico a tal respeito, indica que «a passagem no sangue (da diidroestreptomomicina após a aplicação do supositório) é fugaz».

Creemos bem que, em rigor, só o confronto entre os teores de antibiótico no sangue, resultantes das administrações rectal e parenteral (e isto usando precisamente as mesmas condições analíticas; estes autores empregaram na dosagem o *Staphylococcus florentinus* e não o *Bacillus subtilis*, como se preconiza), poderá dar conta da possibilidade de emprego da via rectal como forma de administração correntemente alternativa da aplicação intramuscular deste antibiótico.

Considerando os resultados obtidos no nosso trabalho, parece-nos de concluir que, embora seja real a passagem da estreptomomicina através da mucosa rectal, o uso corrente da administração pelo recto não pode substituir-se à administração parenteral, que permite obter concentrações de estreptomomicina, na corrente sanguínea, muito mais elevadas.

Pensámos experimentar melhorar as condições de estreptomomicinemia, obtidas pela aplicação do antibiótico rectalmente, por administração simultânea de probenecide, o qual, embora não viesse a permitir obter concentrações sanguíneas de antibiótico mais elevadas (salvo se se procedesse a administração de mais de 1 supositório, podendo verificar-se efeito acumulativo medicamentoso), poderia contribuir para o prolongamento da presença do antibiótico na corrente sanguínea. Abandonámos, no entanto, a ideia de tal experimentação, uma vez que foi descrito (1) o probenecide, e ao contrário do que sucede em presença da penicilina, não produzir efeito retardador da eliminação da estreptomomicina, o que, aliás, também sucede, com outros antibióticos (clorotetraciclina, oxitetraciclina e cloranfenicol).

Os nossos resultados revelaram um pormenor curioso. À primeira vista, parece surpreendente que os teores estreptomomicinicos de sangues colhidos 15 minutos após a aplicação de um supositório incluindo 0,300 g de estreptomomicina sejam mais elevados do que os encontrados em sangues obtidos, após igual tempo de aplicação de um supositório titulando 0,500 g do mesmo antibiótico.

Aceitando o facto, embora houvéssemos utilizado um número de determinações para estabelecer as concentrações médias tão afastadas como 14 e 23, parece-nos interpretável a circunstância, aparentemente estranha, se considerarmos que, tratando-se de supositórios apenas pesando 2,4 g na totalidade, a quantidade de intermédio hidrossolúvel é proporcionalmente menor nos supositórios titulando a 500 mg de estreptomomicina (à volta de

650 mg de sulfato) do que nos contendo 300 mg (à volta de 390 mg de sulfato), ocupando, como sucede, bem mais volume o sulfato de estreptomicina do que igual peso da mistura de polietilenoglicóis usada.

A cedência do antibiótico sobre a mucosa rectal, por parte do intermédio hidrossolúvel, far-se-á um tanto diferentemente no que diz respeito a rapidez, consoante as proporções de droga medicamentosa para intermédio. A presença de proporcionalmente maior quantidade de pó diferente do intermédio hidrossolúvel poderá retardar a rapidez de absorção nos primeiros minutos após a aplicação do supositório, afectando os teores de antibiótico na corrente circulatória. Decorrido mais tempo, terá de passar a sentir-se a influência da presença de maior quantidade de antibiótico no recto no caso da aplicação de supositórios com mais elevado título estreptomycinico, resultando taxas estreptomycinêmicas mais elevadas. Foi o que, realmente, se verificou para os sangues colhidos mais tardiamente.

Julgamos ser admissível interpretar como apontámos o pormenor assinalado e à primeira vista incompreensível. Como reforço desta interpretação, parece-nos que se pode associar a circunstância de, no estudo da absorção rectal no animal, anteriormente por nós realizado, termos verificado uma rápida absorção, atingindo já valores elevados de estreptomycinemia ao cabo de 15 minutos após a aplicação de supositórios de igual intermédio. Embora as diferenças fisiológicas da região rectal do coelho e do homem possam, só por si, explicar divergência na rapidez de absorção, é possível que, em parte, ao facto não seja estranha a circunstância dos supositórios utilizados na experimentação animal, tendo o mesmo volume dos usados no estudo no homem, serem constituídos por muito mais intermédio hidrossolúvel, por só conterem dez vezes menos peso de sulfato de estreptomicina.

CONCLUSÕES

1— A estreptomicina (sob a forma de sulfato e incorporada em supositórios preparados com o intermédio hidrossolúvel 15 p. de polietilenoglicol 1500 e 75 p. de polietilenoglicol 6000) transpõe, nítida e seguramente, a barreira da mucosa rectal humana.

2— Decorridos 15 minutos após a aplicação rectal, no homem, de um supositório, daquele intermédio, contendo 500 mg de estreptomicina (sob a forma de sulfato), é já denunciável a circulação do antibiótico na corrente sanguínea. Depois de 1 hora da aplicação do supositório, a concentração estreptomycinica no soro atingiu um valor máximo cerca de 2 mcg de estreptomicina por ml de soro sanguíneo (valor médio, em 25 determinações). Ao cabo de 4 horas sobre a administração do supositório, os teores estreptomycinicos no soro são já mais reduzidos, representando um valor à volta de metade do revelado 1 hora após a aplicação. Após 7 horas a administração de 1 supositório de 500 mg de base antibiótica, a estreptomicina continua revelável no soro sanguíneo, embora em menor quantidade que no caso da dosagem praticada ao fim de 4 horas.

3—Embora nitida a absorção rectal da estreptomycina, as concentrações atingidas no sangue por esta forma de administração são bastante inferiores às obtidas pela aplicação intramuscular de igual quantidade de antibiótico (500 mg. em 3 ml de água redestilada), avaliadas em determinações praticadas precisamente nas mesmas condições de técnica de ensaio.

S U M M A R Y

Having recognised in a previous paper (8) that in the rabbit streptomycin is absorbed took rectally, in the present paper the authors studied the same problem in humans. This subject was still very poorly understood ten years after the discovery of streptomycin.

The suppositories were prepared with a water-soluble base (polyethylene glycols) which the authors had previously found to allow an easier rectal absorption than cocoa butter.

In order to find out whether the rectal absorption was equivalent to parenteral administration, determinations were carried out of streptomycin in the serum under comparable conditions after injection of the same quantity of antibiotic.

The following conclusions can be drawn from the results:

1—Streptomycin (as sulfate incorporated in suppositories made with 15 parts of polyethylene glycol 1500 and 75 parts of polyethylene glycol 6000) undoubtedly passes the mucous barrier of the human rectum.

2—Fifteen minutes after the application of one suppository of the above-mentioned base containing 500 mg. of streptomycin (as sulfate) the antibiotic can be detected in the blood stream.

After one hour the concentration reaches its maximum, the average of 25 determinations being about 2 micrograms per ml. of serum. After 4 hours the streptomycin level in the blood is already less, namely about half what it was after one hour.

Seven hours after the administration of the suppository streptomycin can still be detected in the blood but less than after four hours.

3—Although the rectal absorption of streptomycin clearly occurs, the blood levels are considerably below those obtained after intramuscular administration of the same quantity of the antibiotic in 3 ml. of water for injection.

ZUSAMMENFASSUNG

Nachdem in einem vorher erfolgten Versuch die rektale Streptomycinabsorption beim Kaninchen festgestellt werden konnte, wurde dieses Mal dieselbe Antibioticumabsorption beim Menschen untersucht mit der Absicht, ein noch ungenuegend geklaertes Problem zu loesne, nachdem zehn Jahre seit der Entdeckung des Streptomycins verlaufen sind.

Bei der Herstellung der Zaepfchen wurde ein wasserloesliches Vehikel (Poliateylenglykole) angewandt, von dessen vorher ermittelter Wirkung festgestellt werden konnte, dass es eine leichtere Rektalabsorption als die der Kakaobutter erlaubt.

Damit genau beurteilt werden konnte, ob die rektale Streptomycinabsorption mit der durch parenterale Anwendung erzielten uebereinstimmend war, wurde das Streptomycin nach Verabreichung einer dieselbe Dosis Antibioticum enthaltenden intramuskulaeren Injektion nach Verlauf der gleichen Zeit auch im Blutserum bestimmt (und zwar genau anhand derselben Dosierungstechnik, ohne welche die Werte nicht vergleichbar waeren).

Aus den Versuchsergebnissen laesst sich Folgendes schliessen:

1. — Das Streptomycin (als Sulfat Suppositorien einverleibt, die mit dem Vehikel 15 Teile Poliaethylenglycol 6000 praepariert wurden) ueberquert deutlich und sicher die Schranke der Rektalschleimhaut des Menschen.

2. — Bereits fuenfzehn Minuten nach rektaler Verabreichung beim Menschen eines dieses Vehikel und 500 mg Streptomycin (als Sulfat) enthaltenden Zaepfchens konnte die Zirkulation des Antibioticums im Blutkreislauf schon nachgewiesen werden. Innerhalb einer Stunde nach Anwendung des Suppositoriums erreichte die Streptomycinkonzentration im Blutserum einen Hoechstwert von ungefaehr 2 mcg Streptomycin auf jeden ml Blutserum (Durchschnittswert von 25 Dosierungen). Vier Stunden nach Verabreichung desselben isto die Konzentration schon geringer und zeigt einen etwa um die Haelfte niedrigeren Wert als der, wlecher eine Stunde nach Anwendung des zaepfchens erzielt worden war. Nach Verlauf von sieben Stunden bleibt das Streptomycin im Blut nachweisbar, wenn auch in kleinerem Quantum als bei der Dosierung, die vier Stunden nach Applikation des Suppositoriums angestellt worden war.

3. — Obwohl sich die rektale Absorption des Streptomycins deutlich geltend macht, sind ihre Konzentrationen im Blute geringer bei dieser Verabreichungsart als die, welche nach intramuskulaerer Applikation derselben Dosis Antibioticum erzielt werden (500 mg in 3 ml aqua bidestilata); die Dosierungen wurden unter genau denselben Versuchstenchniksbedingungen angestellt.

Agradecimento. — Desejamos deixar aqui referidos os nossos expressivos agradecimentos aos médicos Drs. Vasco V. P. Bruto da Costa e Manuel Santiago Nogueira que, amavelmente, procederam à totalidade das colheitas de sangue executadas na realização deste trabalho.

BIBLIOGRAFIA

- (1) BOGER, W. P., MATTEUCCI, W. V. e BEATTY, J. O., *Proc. Soc. exper. biol. med.*, **76**, 222 (1951).
- (2) MANDEL, E. E. e THAYER, J. D., *Fred. Proc.*, **6**, 353 (1947).
- (3) MARSH, *West Virginia Med. J.*, **42**, 89 (1946).
- (4) MOLITOR, H., *Bull. N. Y. Acad. Med.*, **23**, 196 (1947).
- (5) NASSI L. e DETTORI, M., *Boll. Soc. Ital. biol. sper.*, **30**, 327 (1954).
- (6) SCHATZ, A., BUGIE, E. e WAKSMAN, S. A., *Proc. Soc. exper. biol. med.*, **55**, 66 (1944).
- (7) SILVA CARVALHO, L. e ALVES SANTOS, M. L., *Rev. Port. Farm.*, **4**, (1954).
- (8) SILVA CARVALHO, L. e PAIS DA SILVA, M. L., *Rev. Port. Farm.*, **4**, 121 (1954).

ESTUDO DA ABSORÇÃO RECTAL NO COELHO DO DIPENICILINATO G DE N, N'-DIBENZILETILENO- DIAMINA VEICULADO POR UM INTERMÉDIO HIDROSSOLÚVEL (POLIETILENOGLICOIS) E POR ÓLEO DE CACAU(*)

por L. SILVA CARVALHO e MARIA DE LURDES P. ALVES SANTOS

Quando se pretende lançar uma nova substância medicamentosa sob a forma de supositórios, um dos problemas que se põe à indústria farmacêutica (de um do geral, à terapêutica e à farmacologia) é o estudo da absorção pelo recto dessa mesma droga veiculada por determinado intermédio, visto ser de aceitar a variabilidade da absorção rectal consoante este.

Ao lado do clássico intermédio para supositórios, óleo de cacau, dispõem-se hoje de produtos para este efeito hidrossolúveis ou aquomiscíveis que podem apresentar manifestas vantagens sobre aqueloutro intermédio.

Por ensaios por nós praticados, tivemos ocasião de verificar que tanto a penicilina G potássica como a procainica se alteravam rápida e acen- tuadamente em qualquer daqueles tipos de intermédios.

Como se sabe, a penicilina benzatínica, dipenicilina G da N, N'-diben- ziletilenodiamina (8), é uma penicilina entre cujas principais características (elevada insolubilidade na água, ausência de sabor, etc.) se conta a sua notável estabilidade.

O facto levou-nos a apreciar a sua conservação em diferentes inter- médios, reconfirmando-se a sua elevada estabilidade.

Tratando-se de uma molécula penicilínica particularmente estável, não deixava de se revestir de interesse o estudo da sua absorção rectal, pois poderia apresentar-se como uma penicilina altamente útil para a preparação de supositórios.

Está reconhecido que a penicilina benzatínica é absorvida per os, isto é, do tracto gastrointestinal, em condições de perfeita eficiência terapêutica (9, 7, 5, 3). Não existe, porém, um estudo sobre a absorção rectal desta droga. É precisamente este problema, a avaliação dos teores sanguíneos resultantes após a sua aplicação no recto, no animal, que o presente tra- balho trata.

Existem estudos que nos revelam a viabilidade de administração rectal, mas de outras penicilinas, digamos das penicilinas clássicas: penicilinas G sódica, potássica, cálcica, procainica.

No início da penicilinoterapia, aceitou-se a possibilidade de uma rá- pida inactivação levada a efeito por parte de organismos do grupo coló- nico, produtores de penicilinase, quando a penicilina fosse introduzida na região rectal. Esta suposição, alicerçada sobre princípios teóricos, não se verificou, porém, experimentalmente. A velocidade de absorção, por ex-

(*) Trabalho apresentado no 3.º Congresso Luso-Espanhol de Farmácia, Santiago de Compostela, Agosto de 1954.

ceder em muito a de destruição, torna possível obter concentrações penicilínicas terapêuticas no sangue pelo uso de supositórios (*).

Assim, LOWE *et al.* (13) observaram que a aplicação de um único supositório, preparado com intermédio de óleo de cacau, de 300.000, 500.000 e 1.000.000 de unidades de penicilina sódica, permitia obter teores penicilínicos, no soro, por vezes durante algumas horas.

MANDEL (15) observou, igualmente, que supositórios, obtidos também com óleo de cacau, contendo meio a um milhão de unidades, proporcionavam a obtenção de concentrações penicilínicas sanguíneas terapêuticamente úteis. Com THAYER (16), observou uma rápida absorção, e em concentrações elevadas, com supositórios de 1 milhão de unidades de penicilina sódica amorfa no mesmo intermédio.

GAIDA e NEUMEYER (16) revelaram que foram tratados mais de 450 casos (particularmente crianças, pessoas de idade e sensíveis) com supositórios de penicilina (de 125.000 U para crianças e 250.000 U e 500.000 U para adultos, em óleo de cacau) com bons resultados. Aliás, embora inicialmente o seu emprego fosse empírico, mais tarde fizeram determinações do antibiótico no sangue que revelaram a existência de taxas terapêuticas por algumas horas após a administração do supositório penicilínico.

RUDELIUS (18), que determinou, também, os teores penicilínicos no sangue resultantes da aplicação de supositórios de penicilina, utilizou 2 preparações: uma de penicilina G sódica (500.000 U de cada, 0,01 g de nembutal incorporado em 1 g de intermédio, glicéridos de ácidos gordos) e outra de penicilinas G sódica e procainica (450.000 U de cada, 0,015 g de mebumalum e 0,02 g de cloreto de benzalcônio, no mesmo intermédio). Pôde concluir mostrar-se a absorção da penicilina satisfatória, uma vez que encontrou antibiótico no soro até 4-5 horas após a administração.

AGOLINI, CAVIECHIM e FELISATI (1), que estudaram a absorção rectal das penicilinas G potássica e procainica em voluntários, com supositórios de 300.000 U e de 600.000 U (não se indica o intermédio utilizado), obtiveram, igualmente, boas taxas penicilínicas.

GUNDERSEN (11) confirmou que a penicilinoterapia pela via rectal é perfeitamente viável, utilizando supositórios preparados num caso, exclusivamente, com óleo de cacau, e noutro com este intermédio associado a laurilsulfato de sódio, substância que mostrou favorecer a absorção do antibiótico.

Como se referiu, nenhuma citação existe sobre a viabilidade de absorção rectal da penicilina benzatínica, bastante hidrossolúvel — apreciação que constitui o escopo do presente trabalho.

DISPOSIÇÕES EXPERIMENTAIS

Penicilina benzatínica — A penicilina G N,N'-dibenziletlenodiamínica utilizada foi preparada nos nossos laboratórios, e correspondia à «forma oral», ou seja com cristais de mais reduzidas dimensões.

Supositórios — Os supositórios de intermédio hidrossolúvel foram preparados segundo a fórmula: polietilenglicol 1500 — 15 p., polietile-

(*) Deve assinalar-se que os ensaios de SEEBERG e colab. (19) teriam mostrado que aproximadamente 80 por cento da penicilina em solução mantida no cólon do gato, se destruiu antes de ser absorvida.

noglicol 6000 — 75 p., água destilada 10 p. e inseriam 150.000 U de penicilina benzatínica (fusão da mistura dos polietilenoglicóis a b. m., incorporação homogénea da penicilina, junção da água e uniformização); os preparados com óleo de cacau continham exclusivamente este intermédio e apresentavam igual título penicilínico.

Os polietilenoglicóis usados foram dos produtores Lamex Chemical Corporation, Nova Iorque.

Animais — Utilizou-se como animal de experiência o coelho de ambos os sexos, de peso médio à volta de 2,8 kg.

Antes da aplicação do supositório, não se procedeu a qualquer limpeza fecal do intestino, tendo-se apenas privado da alimentação (a água manteve-se *ad libitum*) durante as 14 horas que antecederam a administração do supositório; esta restrição alimentar manteve-se durante todo o período em que durou a colheita das diferentes amostras de sangue.

Soros — Para a dosagem da benzatinapenicilinémia, procedeu-se, a-sépticamente, a colheitas de sangue (à volta de 7 cm³), na orelha marginal, segundo um horário, previamente reconhecido como conveniente: 10 ou 15 m., 1, 3, 5, 7, etc., horas após a aplicação do supositório. As primeiras colheitas proporcionaram-nos apreciar a rapidez com que decorre a absorção através do recto e as últimas permitiram-nos avaliar o período de manutenção da penicilinémia. O sangue foi centrifugado e os soros utilizados dentro de lapsos reduzidos de tempo, mantidos no frigorífico, entretanto.

Dosagem — Utilizámos como técnica de dosagem o método estabelecido pela F. D. A. (Washington) para determinação das concentrações penicilínicas no soro. Trata-se de um método de placas com cilindros em que se utiliza como organismo de ensaio a *Sarcina lutea*. (Usou-se a estirpe PCI 1001).

Os meios empregues foram obtidos hidratando os produtos *Bacto Penassay Seed Agar*, *Bacto Yeast Beef Agar* e *Bacto Penassay Broth* de Difco Laboratories, Detroit, Mich. (correspondentemente, fórmulas n.ºs B263, B244, B243 do respectivo catálogo).

Esta técnica para dosagem da penicilinémia, que manda preparar as diluições da penicilina padrão com soro de boi (solução estéril de fracção V de plasma bovino, em tampão de fosfato de potássio a pH 7,4), permite, assim, corrigir a influência da fixação da penicilina pela proteína do soro em exame.

RESULTADOS

As concentrações de penicilínicas encontradas nos diferentes soros tomados decorridos lapsos de tempo, determinados, após a aplicação rectal de um único supositório titulando a 150.000 U de penicilina benzatínica, em intermédio hidrossolúvel de polietilenoglicóis, com a fórmula anteriormente citada, são referidas no Quadro I.

No Quadro II apontam-se os correspondentes valores encontrados quando se utilizou supositórios de igual título penicilínico, mas em que o intermédio foi o óleo de cacau.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos mostram apreciável regularidade de absorção rectal da penicilina benzatínica. Esta absorção é bastante rápida. No caso

DISTRIBUIÇÃO DOS TEORES PENICILÍNICOS NO SORO SEQUENTES A ADMINISTRAÇÃO DE UM SUPOSITÓRIO CONTENDO 150.000 U DE PENICILINA BENZATÍNICA

(Intermédio: óleo de cacau)

Concentrações penicilínicas no soro (unidades/ml)	Tempo após a aplicação do supositório												
	15m	30m	1h	3h	5h	7h	9h	12h	15h	18h	21h	24h	
< 0,50													
0,40-0,50													
0,30-0,399													
0,20-0,299		1em7	1em16	3em16	3em14	3em16	1em16						
0,10-0,199	1em15	9em17	6em16	6em16	7em14	7em16	3em11	2em13	1em11			2em12	
0,02-0,099	13em15	6em17	8em16	7em16	4em14	5em16	8em11	11em13	9em11	15em15	9em12	8em12	
< 0,02 (teores não detectáveis)	1em16	1em17	1em16	0em16	0em16	0em16	0em11	0em13	1em11	0em15	3em12	2em12	
Valores médios (*)	0,070 (15)	0,111 (17)	0,110 (16)	0,133 (16)	0,129 (14)	0,142 (16)	0,0785 (11)	0,062 (13)	0,082 em 11	0,068 (15)	0,063 em 12	0,079 em 12	

(*) Entre parêntesis, o número de soros usados para a determinação de cada valor.

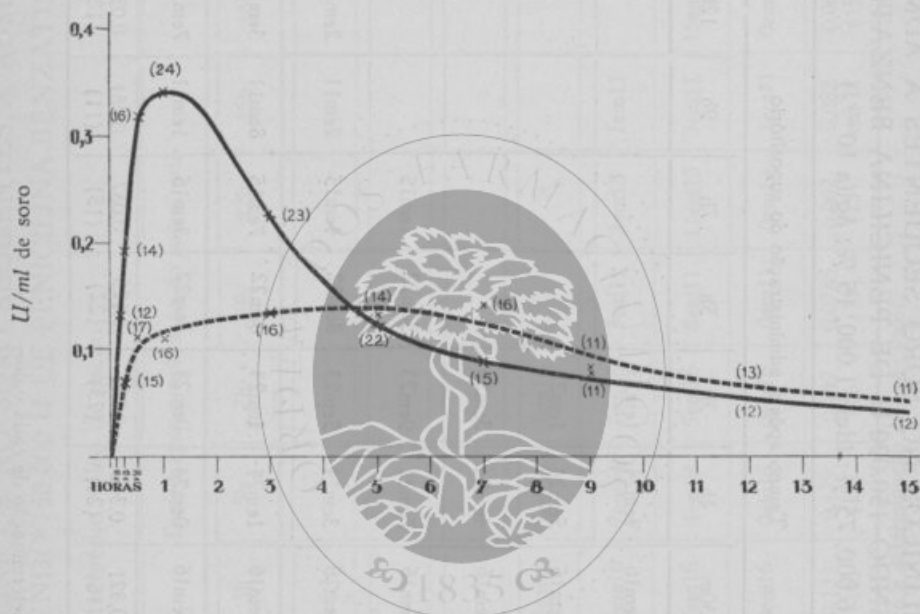
DISTRIBUIÇÃO DOS TEORES PENICILINICOS NO SORO SEQUENTES A ADMINISTRAÇÃO DE UM SUPOSITÓRIO CONTENDO 150.000 U DE PENICILINA BENZATINICA
(Intermédio: carbowax 6.000, 75 %; idem 1.000, 15 %; água 10 %/o)

Concentrações penicilínicas no soro (unidades/ml)	Tempo após a administração do supositório											
	10m	15m	30m	1h	3h	5h	7h	9h	12h	15h	18h	
0,50			2em16	4em24	1em23							
0,40-0,50		2em14	3em16	5em24	1em23							
0,30-0,399		0em14	4em16	4em24	3em23							
0,20-0,299	2em12	3em14	4em16	7em24	9em23	5em22	1em15					
0,10-0,199	7em12	6em14	2em16	3em24	5em23	8em22	4em15	2em11	2em12	1em13 (*)		
0,02-0,099	2em12	2em14	1em16	1em24	4em23	6em22	7em15	8em11	3em12	7em13	4em10	
< 0,02 (teores não detectáveis)	1em12	1em14	0em16	0em24	0em23	3em22	3em15	1em11	7em12	5em13	6em10	
Valores médios (**)	0,133 (12)	0,192 (14)	0,321 (16)	0,342 (24)	0,225 (23)	0,125 (22)	0,087 (15)	0,081 (11)	0,038 (12)	0,043 (13)	0,033 (10)	

(*) Precisamente 0,10

(**) Entre parêntesis o número de soros usados para a determinação de cada valor.

CURVAS DAS CONCENTRAÇÕES SANGUÍNEAS NO COELHO APÓS
ADMINISTRAÇÃO DE 1 SUPOSITÓRIO DE 150.000 U. DE
PENICILINA BENZATÍNICA



— Supositório preparado com intermédio hidrossolúvel (polietilenoglicóis).

- - - Supositório preparado com óleo de cacau.

Centro de Documentação Farmacêutica

da Ordem dos Farmacêuticos

(*) Número de avaliações utilizadas para a determinação de cada ponto.

de se usar o intermédio hidrossolúvel polietilenoglicol, a absorção é já notória ao fim de escassos 10-15 m. após a aplicação do supositório.

Verifica-se, por uma forma muito marcada, a diferença de comportamento (que teoricamente seria de aceitar) no que se reporta à velocidade e intensidade de absorção, consoante se utiliza um intermédio oleoso ou hidrossolúvel.

No caso de supositórios preparados com polietilenoglicóis, o sal penicilínico é não só mais rapidamente absorvido, como os teores penicilínemicos atingidos são bastante mais elevados.

Neste caso, observa-se um cume penicilínico, destacado, que se estende entre a meia hora e três horas após a aplicação. Quando a penicilina benzatinica é veiculada pelo óleo de cacau, os teores penicilínemicos no soro demoram um tanto mais a apresentar os valores mais elevados (ao fim de 15 minutos, a absorção ainda é fraca e o maior número de casos de concentração mais elevada encontrou-se entre as 3-7 horas; *vide* descrição in Quadro II). Por outro lado, tais teores já mais atingiram as culminâncias, mas ficam muito aquém, dos resultantes com supositórios preparados com polietilenoglicóis.

A partir dos 30 minutos e até 7 horas após a aplicação, a concentração da penicilina benzatinica mantém-se regularmente numa zona planáltica mas bastante mais baixa que o nível observado com os supositórios de intermédio hidrossolúvel.

CONCLUSÕES

A aplicação de um único supositório na região rectal do coelho de 150.000 U de penicilina benzatinica num intermédio hidrossolúvel (Carbowax) determina muito rapidamente teores penicilínemicos denunciáveis. Ao cabo de 10 minutos após a aplicação, a concentração penicilínica no sangue é já muito sensível.

As mais elevadas concentrações sanguíneas de antibiótico encontram-se desde os 20 minutos até 3 horas após administração.

No caso dos supositórios serem preparados com óleo de cacau, a absorção rectal da penicilina benzatinica também é pronta, embora ligeiramente menos rápida do que com os supositórios de carbowax. As mais altas concentrações de penicilémia — que se estendem de 30 minutos a 7 horas após a aplicação do supositório — somente atingem valores acentuadamente mais baixos do que os que resultam pela utilização de supositórios preparados com polietilenoglicóis. Enquanto neste caso, o gráfico representando a evolução dos níveis penicilínemicos oferece um elevado cume, no do óleo de cacau apresenta uma extensa zona planáltica bastante inferior.

SUMMARY

The authors studied the conditions affecting the rectal absorption of N,N'-dibenzylethylenediamine dipenicillin G in experimental animals (rabbit) using as suppository bases two quite different products, namely cocoa butter and a mixture of polyethyleneglycols (polyethylene glycol 6000 75 %, polyethyleneglycol 1500 15 %, and distilled water 10 %). The suppositories had 150.000 U and were prepared with the dipenicillin having the small crystal size suitable for oral use. The sera were obtained

from the marginal vein of the rabbit ear 10, 15, and 30 minutes, 1, 3, 5, and 7 hours after the application of a single suppository.

The authors used the F. D. A. method for the determination of penicillin in serum (the cylinder plate assay using *Sarcina lutea*, strain PCI 1001).

The application of a single suppository of 150.000 U of benzathine penicillin made with the water soluble base causes very quick appearance of high penicillin levels. Ten minutes after administration the concentration of benzathine penicillin in the blood is already quite noticeable. With this base the highest antibiotic concentration appears from 20 minutes to 3 hours after the administration.

When the suppositories were prepared with cocoa butter the rectal absorption of benzathine penicillin is also quick although not as much so as with the suppositories of carbowax. The highest concentrations appear from 30 minutes to 7 hours after to administration of the suppository but reach levels markedly lower than those obtained with the suppositories prepared with carbowax. With the latter the curve of the penicillinemia shows a high maximum but in the curve for cocoa butter the level is a long plateau of considerably lower concentration.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Verfasser haben die rectale Asorption des N,N'-Di-Benzyläthylendiamid Di-Penicillin G, am Tier (Kaninchen) studiert, indem sie als Excipienzsubstanz der Suppositorien zwei verschiedene Produkte anwandten: die Kakaobutter und eine Mischung aus Polyäthylenglykolen (Polyäthylenglykol 6000 75%; Polyäthylenglykol 1500 15% und Wasser 10%).

Die Suppositorien wurden bei 150.000 U Di-Penicillin titriert, das in Form kleiner Kristalle angewandt wurde und zur peroralen Verabreichung geeignet ist.

Die Anwendung eines einzigen Suppositoriums von 150.000 U N,N'-Benzyläthylendiamid Di-Penicillin G, das mit der wasserlöslichen Excipienzsubstanz hergestellt wird, bewirkte erhöhte Di-Penicillinspiegel. Zehn Minuten nach Verabreichung ist die Benzatinpenicillinkonzentration im Blute schon beachtenswert. Mit dieser Excipienzsubstanz stellten sich die höchsten Antibiotikumkonzentrationen im Serum zwischen 20 Minuten und 3 Stunden nach Verabreichung ein.

Wenn es sich um Suppositorien handelte, die mit Kakaobutter hergestellt wurden, erwies sich auch die rektale Absorption des Benzatinpenicillins, doch nicht in dem Masse wie bei Gebrauch von Suppositorien mit Carbowax. Bei Kakaobutterzaepfchen wurden die höchsten Penicillinkonzentrationen zwischen 30 Minuten und 7 Stunden nach Verabreichung der Suppositorien erreicht, aber die erhaltenen Spiegel sind betont niedriger als diejenigen, die sich bei Anwendung von Suppositorien mit Polyäthylenglykolen als Excipienzsubstanz ergeben. Während die Penicillinämiekurve in letzterem Falle einen hohen Gipfel zeigt, erscheint diejenige, welche den erhaltenen Penicillinkonzentrationen im Blute bei Anwendung von Kakaobutterzaepfchen entspricht, wie eine beachtenswert niedrigere ausgedehnte Hochebene.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) AGOLINI, G., CAVICCHINI, G. e FELISATI, D., *Boll. soc. ital. biol. Sper.*, **29**, 139 (1953).
- (²) BALBONI, V. G., SHAPIRO, I. M. e KYDD, D. M., *Am. J. Med. Sci.*, **210**, 588 (1945).
- (³) BAYNE, G. M., GYLFE, J., GARFAGNO, S. e BORGER, W. P., *Am. J. Med. Sci.*, **225**, 190 (1953).
- (⁴) BECKMAN H., *Pharmacology in Clinical Practice*, **95**, (1953).
- (⁵) BOGER, W. P., BAYNE, G. M., CARFANGO, S. C. e GYLFE, J., Dept. of Research Therapeutics, Norristown State Hospital, Norristown, Pa., Copyright 1953.
- (⁶) CASANO A., MIANO G. e GIORDANO G., *Riforma Med.*, **68**, 536 (1954).
- (⁷) CATHIE, I. A. B. e MacFARLANE, J. C. W., *Brit. Med. J.*, **1**, 805 (1953).
- (⁸) CORIELE, L. L., McALLISTER, R. M., PRESTON, E. e HUNT, A. A., *Antibiotics and Chemotherapy*, **3**, 357 (1953).
- (⁹) ELIAS, W., PRICE, A. H. e MERRION, H. J., *Antibiotics and Chemotherapy*, **1**, 491 (1951).
- (¹⁰) FINDER, L., LEVENTER, I. e TRAMER, A., *Antibiotics and Chemotherapy*, **3**, 353 (1953).
- (¹¹) GAIDA, M. e NEUMEYER, G., *Med. Klin.*, **46**, 1110 (1951).
- (¹²) GUNDERSEN, «Tesis Doctorals», Zürich, 1948.
- (¹³) LEPPER, M. H., RODRIGUEZ, J., BLATT, N. e SPIES, H. W., *Antibiotics and Chemotherapy*, **2**, 175 (1952).
- (¹⁴) LOEWE L., ALTURE-WERBER, E. e ROSENBLATT, P., *J. Am. Med. Assoc.*, **128**, 18 (1945).
- (¹⁵) LOVELADY, S. B., RANDALL, L. M. e HOSFELD, S. M., *Proc. Staff Meeting, Mayo Clinic*, **21**, 401 (1946).
- (¹⁶) MANDEL, E. E., *J. Lab. Clin. Med.*, **32**, 1533 (1947).
- (¹⁷) MANDEL, E. E. e THAYER, J. D., *J. Lab. Clin. Med.*, **33**, 135 (1948).
- (¹⁸) McDERMOTT, W., BUNN, P. A., BENOIT, M., DUBOIS, R. e REYNOLDS, M. E., *J. Clin. Invest.*, **25**, 190 (1946).
- (¹⁹) RUDELINS, B., *Svensk Farm. Tidskr.*, **57**, 401 (1953).
- (²⁰) SEEBERG, V. P., ILLG, P. L., BROWN, D. J. e NICKERT, M. L., *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, **35**, 280 (1946).
- (²¹) WELCH, H., RANDALL, W. A. e HENDRICKS, F. P., *Antibiotics and Chemotherapy*, **3**, 1053 (1953).

Com o nosso trabalho já em provas tipográficas, chegou-nos às mãos um estudo sobre a absorção rectal de diversos sais de penicilina, entre eles o de benzatina, em supositórios de óleo de cacau (5'). A aplicação de um único supositório titulado a 20.000 U e a 300.000 U de dipenicilinato G de dibenziletlenodiamina não teria determinado teores sanguíneos terapêuticamente eficazes (não indicam o horário de colheita dos soros); a administração de um supositório de 500.000 U teria ocasionado concentrações hemáticas inconstantes, à volta do valor de 0,03 U por cm³, não se referindo o horário de colheitas dos soros. Estes autores concluem afirmando a difícil passagem desta penicilina através da mucosa rectal.

da Ordem dos Farmacêuticos

(Departamento de Investigação e Verificação, Secção de Bacteriologia, dos Laboratórios Atral, de Lisboa).

ESTUDO SOBRE O VALOR ALIMENTAR DE ALGUMAS PREPARAÇÕES COM BASE DE EXTRACTOS DE CEREAIS (*)

CARLOS SILVEIRA
Licenciado em Farmácia
1.º Tenente Farmacêutico Naval

ANTÓNIO PERQUILHAS TEIXEIRA
Licenciado em Farmácia
1.º Tenente Farmacêutico Naval

SILVIA FRAZÃO
Farmacêutica
Assistente Voluntária

As preparações com base de extractos de cereais com ou sem adição de sais — geralmente glicerosfosfatos ou hipofosfitos—, de extracto de malte, suco de cenouras, mel, vitaminas, etc., tornaram-se em dado momento medicamentos de largo uso, justificando o aparecimento no nosso mercado de numerosas especialidades farmacêuticas muito semelhantes entre si e, dum modo geral, com os componentes que acima indicamos. Ao pretendermos preparar, para estudo, um produto deste género verificámos, com surpresa, a absoluta falta de tradição de preparações semelhantes nos outros países — apenas existem nos mercados português e espanhol —, o que aliás justificou o facto de não termos encontrado qualquer referência bibliográfica sobre o assunto. Deparamos ainda com uma certa falta de precisão nas doses das substâncias empregadas na preparação, ou melhor, com um certo empirismo com que os fabricantes apresentavam os seus produtos e então decidimos estudar o valor alimentar destas especialidades, que figura entre as suas principais indicações. Escolhemos para analisar 4 produtos, que designámos por amostras A, B, C, e D, sendo três nacionais e um estrangeiro. Começaremos por apresentar a parte analítica com as diversas determinações feitas, técnicas empregadas e valores encontrados. Com os resultados e utilizando os coeficientes de Atwater determinaremos o valor energético dos diversos produtos e finalmente interpretaremos os resultados obtidos.

I — PARTE ANALÍTICA

Foram as seguintes as determinações feitas em cada um dos 4 produtos — caracteres organolépticos, densidade, cinzas, extracto seco, açúcares reductores, substâncias directamente sacarificáveis, substâncias proteicas, substâncias extraídas pelo éter e vitaminas.

- a) **Caracteres organolépticos** — produtos de cor vermelha-escura, de sabor agradável, lípidos.
- b) **Densidade** — (determinada a 15°).

Amostra A	1,257
Amostra B	1,289
Amostra C	1,193
Amostra D	1,287

Usámos para as determinações a balança de Mohr-Westfal.

c) **Cinzas**

Técnica usada: numa cápsula de platina evaporam-se 5-10 gramas do produto; o residuo, humedecido com algumas gotas de ácido sulfúrico

(*) Trabalho apresentado ao III Congresso Luso-Espanhol de Farmácia.

concentrado, aquece-se com precaução a fogo directo até calcinação da massa e depois na mufla até à incineração total, procurando não levar o aquecimento até à fusão das cinzas. Arrefece-se em seguida a cápsula no exsicador e pesa-se.

Resultado (peso de cinzas referido a 100 gramas do produto).

Amostra A	0,45 g.
Amostra B	0,46 g.
Amostra C	0,58 g.
Amostra D	0,20 g.

d) Extracto seco

Técnica usada: tomam-se cerca de 3-5 gramas do produto e introduzem-se numa cápsula de porcelana com areia lavada e calcinada (cerca de 50 gramas) e uma vareta, tudo previamente tarado e deixa-se a cápsula durante 1/4 de hora numa estufa a 100° para que o produto fluidifique e penetre na areia. Retira-se a cápsula da estufa e com a vareta mistura-se cuidadosamente até obter uma massa homogênea. Seca-se na estufa, primeiro a 70° e depois a 105°-110°, até peso contante — cerca de 10 horas —.

Resultados (peso de extracto seco referido a 100 gramas do produto):

Amostra A	54,00 g.
Amostra B	60,07 g.
Amostra C	44,20 g.
Amostra D	64,10 g.

e) Açúcar redutores

Técnica usada: empregamos nesta determinação o método de Bertrand que descrevemos: 0,5 — 1 grama do produto dilui-se com água destilada até 20 c.c. Num erlenmeyer de 100 c.c. colocam-se os 20 c.c. desta solução açucarada e juntam-se 20 c.c. do soluto I de Bertrand (*) e 20 c.c. do soluto II (**); aquece-se a mistura até à ebulição que se mantém durante 3 minutos. Deixa-se arrefecer e depositar o óxido cuproso. O líquido que sobrenada deve ter sulfato de cobre em excesso e portanto deve estar corado de azul. Filtra-se por sucção o precipitado de óxido cuproso num cadinho de Gooch; convem que passe a menor quantidade possível de precipitado para o cadinho. Junta-se mais água, deixa-se depositar, decanta-se, repetindo a operação até que o líquido filtrado não tenha reacção alcalina. Rejeita-se o filtrado e lava-se o kitasato com água destilada, juntam-se ao erlenmeyer em que está o precipitado de óxido cuproso 20 c.c. do soluto

(*) Soluto I de Bertrand

Sulfato cúprico	40 gramas
Água destilada	1.000 c.c.

Soluto II de Bertrand

Sal de Seignete	250 gramas
Hidróxido de sódio	150 gramas
Água destilada q. b. p.	1.000 c.c.

III de Bertrand ^(a) e o líquido obtido, que dissolveu o óxido cuproso, passa-se pela cadinho filtrando por sucção lenta para dissolver todo o óxido cuproso nele contido. Se a quantidade do soluto III for insuficiente para a dissolução pode juntar-se mais. Lavam-se cuidadosamente o erlenmeyer e o cadinho com água destilada e nos líquidos filtrados determina-se rapidamente o sal ferroso com soluto IV de Bertrand ^(a). Cada c.c. de Mn O₄ K N/10 corresponde a 6,36 mg. de cobre metálico. Com o valor obtido entra-se nas tabelas de Bertrand, por não haver proporcionalidade entre a quantidade de cobre e a de açúcares redutores. O número obtido nas tabelas corresponde aos açúcares redutores existentes no peso do produto, fazendo-se depois a respectiva proporção para obter a percentagem.

Resultados: (expressos em glicose por 100 gramas do produto).

Amostra A	4,44 g.
Amostra B	9,42 g.
Amostra C	4,68 g.
Amostra D	3,30 g.

f) Substâncias directamente sacrificáveis

Técnica usada: pesa-se 0,5-1 grama do produto e trata-se com 5 c.c. de ácido clorídrico concentrado e 150 c.c. de água destilada. Aquece-se a banho-Maria cerca de 3 horas ^(b) deixa-se arrefecer e neutraliza-se com soluto de hidróxido de sódio a 30%. Filtra-se para um balão aferido de 500 c.c. completando este volume com as águas de lavagem do balão e filtro. Medem-se 20 c.c. desta solução e doseiam-se os açúcares presentes pelo método de Bertrand, já descrito.

Resultados: (expressos em glicose e sacarose por 100 gramas do produto).

	em glicose	em sacarose
Amostra A	40,95 g.	38,53 g.
Amostra B	37,98 g.	36,08 g.
Amostra C	30,92 g.	29,37 g.
Amostra D	40,56 g.	38,90 g.

g) Substâncias azotadas

Técnica usada: empregamos o método de Kjeldahl: 1-2 gramas do produto, aquecem-se num balão de Kjeldahl com 20 c.c. de ácido sulfúrico concentrado e cerca de 1 grama de mercúrio até à descoloração total do líquido. Verte-se o produto depois de frio num balão de 1.000 c.c.. Lava-se o primeiro balão com cerca de 700 c.c. de água destilada, reunem-se as águas de lavagem, adicionam-se 5 gramas de hipofosfito de sódio e X gotas de fenoltaleína. Junta-se soluto de hidróxido de sódio a 30% até

^(a) Soluto III de Bertrand

Sulfato férrico (isento de sal ferroso)	50 gramas
Ácido sulfúrico concentrado	200 c.c.
Água destilada q. b. p.	1.000 c.c.

Soluto IV de Bertrand

Soluto de permanganato de potássio	N/10
------------------------------------	------

^(b) Fizemos várias determinações empregando 1, 2, 3, 4 e 5 horas, verificando que a partir das 3 horas os resultados eram estáveis.

alcalinizar fortemente o soluto. Destila-se o liquido para um balão de 500 c.c. com 25 c.c. de ácido sulfúrico N/10 e X gotas de soluto de vermelho de metilo F.P. Destila-se até não passar mais amoniaco o que se verifica com o reagente de Nessler. Titula-se o excesso de ácido sulfúrico com hidróxido de sódio N/10.

Sendo n o número de c.c. de soluto de hidróxido gasto e p o peso da amostra.

$$(25 - n) \times \frac{14}{10.000} \times \frac{100}{p} \text{ dá-nos o azoto existente em 100}$$

gramas do produto. Multiplicando por 6,25 obtem-se o valor de substâncias albuminoides.

Resultados:

	Expressos em azoto	Expressos em substâncias albuminoides
Amostra A	0,064 g	0,40 g
Amostra B	0,098 g	0,61 g
Amostra C	0,054 g	0,34 g
Amostra D	0,056 g	0,35 g

h) Substâncias extraídas pelo eter

Técnica usada: aproveitou-se o residuo do extracto seco (substância seca na estufa a 105°-110° por 10 horas com areia lavada e calcinada), que se introduziu num cartucho de papel de filtro, e este no extractor de Soxlet. Extrai-se com eter durante 6-8 horas, destila-se o eter, seca-se o balão na estufa até peso constante e pesa-se. A diferença entre este peso e do balão dá-nos o valor do residuo.

Resultados: (peso de substância-extraída pelo eter em 100 gramas do produto)

Amostra A	1,20 g
Amostra B	4,68 g
Amostra C	2,23 g
Amostra D	1,44 g

i) Vitaminas

As determinações incidiram sobre 4 vitaminas:

B₁, B₂, C e PP (*)

Resultados: (γ de vitaminas por 100 gramas do produto)

	Vitamina B ₁	Vitamina B ₂	Vitamina C	Vitamina PP
Amostra A	66	89	2.863	1.988
Amostra B	130	451,5	5.120	3.878
Amostra C	117,3	131,6	4.023	2.096
Amostra D	65,2	87	2.952	854

(*) Estas determinações foram feitas no Instituto Superior de Higiene Dr. Ricardo Jorge, sob a superior orientação do Dr. Gonçalves Ferreira a quem consignamos os nossos agradecimentos.

II — DETERMINAÇÃO DO VALOR ENERGÉTICO

Empregamos para os cálculos os coeficientes de Atwater arredondados — 4 calorias por grama para os glúcidos e protidos e 9 para os lípidos.

Resumimos como de costume os resultados encontrados para as 4 amostras em estudo no quadro seguinte, que nos dá o número de calorias fornecidas por 100 gramas de cada um dos produtos:

Amostra A	192
Amostra B	234
Amostra C	163
Amostra D	191

III — INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS

Passemos a examinar cada determinação de per si, comparando simultaneamente os resultados obtidos pelos 4 diferentes produtos.

Nos caracteres organolépticos temos a acentuar o sabor agradável de todos os produtos, distinguindo-se na amostra B o sabor mais acentuado a frutos, nomeadamente figo.

As densidades, exceptuando a da amostra C, um pouco menor, são bastante elevadas, aproximando-se bastante da densidade dos xaropes. A razão desta densidade elevada está evidentemente na natureza dos produtos incluindo o próprio excipiente de natureza xaroposa.

Nas cinzas temos três produtos com resultados idênticos e um com resultado inferior. É de notar que os fabricantes referem a junção de sais minerais, o que melhor justifica as diferenças.

O extracto seco que, como podemos ver no respectivo quadro, anda à volta de 50 % em dois produtos e de 60 % nos outros dois, tem o seu maior componente, como já fizemos referência, nas substâncias directamente sacarificáveis, seguindo-se muito aquém em valor as restantes substâncias, sendo a diferença com probabilidade coberta por glicerina, junta como conservante.

Nos açúcares redutores observam-se três resultados aproximados e outro que equivale a mais do dobro do maior dos restantes. Atribuimos isto ao facto da amostra B ser mais rica em extractos de frutos do que qualquer das outras.

As substâncias directamente sacarificáveis mostram-nos três valores muito aproximados e outro — o da amostra C — inferior.

Isto não nos surpreende visto que a amostra C é a que dá menor densidade e consequentemente menor extracto seco e menos substâncias directamente sacarificáveis.

As substâncias azotadas que vêm a seguir constituíram para nós a maior decepção, tão baixos foram os resultados encontrados. Todavia também aqui há uma superioridade da amostra B com um valor mais elevado do que o das outras três amostras.

As substâncias extraídas pelo éter dão igualmente valores muito baixos, o que de resto não nos surpreendeu, devido à natureza aquosa do excipiente. Também aqui há superioridade da amostra B, apresentando a amostra C um valor a seguir também superior ao dos outros dois.

As vitaminas apresentam igualmente valores muito baixos como se pode observar. A amostra B continua a ser superior às outras, seguindo-se a amostra C e, em valor equivalente as outras duas.

Quanto ao valor energético dos produtos a amostra B apresenta um valor mais elevado, seguido das amostras A e D com valores equivalentes e por fim a amostra C com um resultado inferior, como aliás as determinações anteriores deixavam prever. Considerando o valor de 2.500 calorias diárias, para homens de cerca de 70 kg., sedentários, como indicam as tabelas da «Food and Nutrition Board», teríamos necessidade de mais do que 1 quilo de produto por dia para atingir esse valor. Mesmo com esta quantidade não se atingiriam os limites mínimos de algumas vitaminas indicadas por aquelas tabelas. Isto quanto à parte quantitativa, visto que qualitativamente há uma desproporção, que já atrás acentuámos, entre os diversos princípios imediatos, que como é evidente se vai reflectir nas calorias provenientes de cada um deles. Segundo Mc Collum um regime equilibrado deve ter as suas calorias fornecidas pelos três princípios imediatos com a seguinte distribuição:

Protidos	—	10 a 20%
Lípidos	—	20 a 35%
Glúcidos	—	mais de 50%

Assim, as calorias fornecidas pelos protidos e lípidos estão bastante abaixo das percentagens indicadas por aquele Autor..

A que atribuir então estes valores que não estão em conformidade com aquilo que seria licito esperar da composição indicada? Quanto a nós, apesar dos preparadores indicarem que as diversas extracções se fazem no vácuo, procurando assim preservar os princípios alteráveis pelo calor, a questão deve estar na parte inicial do tratamento dos cereais. Na verdade, a extracção por decocção ou mesmo por um aquecimento um pouco menor, dá lugar à formação do cozimento de amido visto que o amido é uma substância em que os cereais são bastante ricos. Assim, para evitar a formação deste cozimento de amido que torna depois os produtos de difícil filtração e facilmente fermentescíveis, além dos inconvenientes do calor sobre as substâncias termoláveis (albuminas que coagulam, vitaminas que se destroem, etc.), recorre-se a outros processos de preparação como seja a lexiviação com soluto hidro-alcoólico ou hidro-alcoólico-glicerinado. Este processo, se por um lado evita os inconvenientes atrás apontados, por outro não fará talvez uma extracção tão perfeita quanto se deseje. Este problema quanto a nós merece um estudo cuidado.

CONCLUSÕES

Do que atrás ficou exposto podemos concluir que:

a) Os produtos analisados, pelas suas características de sabor agradável e fácil digestibilidade poderão servir como adjuvantes alimentares em pessoas sujeitas a regimes deficientes;

- b) Como alimentos exclusivos não têm características que satisfaçam;
- c) Em valor relativo encontramos no nosso trabalho, como acentuámos, uma diferença sensível entre a amostra B, de origem nacional, e as outras, o que atribuímos a uma composição mais equilibrada e também a uma mais apropriada técnica de preparação;
- d) Para o caso hospitalar, o que mais directamente nos interessa, deve-se procurar preparar um produto de composição mais equilibrada, baseado nos mesmos princípios — neste caso estudando uma técnica de extracção mais perfeita ou uma forma farmacêutica mais apropriada —, ou partindo de substâncias de composição conhecida (hidrolizados proteicos, sumos de frutos, etc.);
- e) O produto final deve ser enriquecido com vitaminas caso as naturais não sejam em quantidade suficiente.

SUMMARY

The AA, established the proportion of proteids, lipids, glucids and mineral salts, of four commercial products of the base of cereal extracts. The proportion of vitamins is indicated, (B₁, B₂, C and PP). All of them showed richness of glucids and an extrem deficiency of proteids and lipids.

With the results obtained, they calculated the energetic value of the different products.

The AA concluded that the analysed products may serve as alimentary supplements, but not as exclusive aliments.

ZUSAMMENFASSUNG

Die AA, haben den Gehalt von vier handelsüblichen Produkten der Basis von Getreideextrakten, an Proteiden, Lipiden, Kohlehydraten und Mineralsalzen, festgestellt. Der Gehalt an Vitaminen wird angeführt (B₁, B₂, C und PP). Alle vier erwiesen sich reich an Kohlehydraten und ausserordentlich arm an Proteiden und Lipiden.

Mit den erhaltenen Ergebnissen haben sie den energetischen Wert der verschiedenen Produkte berechnet.

Die AA sind auf diese Weise zu dem Schluss gekommen dass die analysierten Produkte wohl als Lebensmittelzusatz, jedoch nicht als ausschliessliche Nahrung, dienen können.

Julho de 1954.

Trabalho realizado no Laboratório Químico-Farmacêutico do Hospital da Marinha

BIBLIOGRAFIA

- CASARES GIL, J.: *Tratado de Análisis Químico*, Madrid, 1935.
- Farmacopeia Portuguesa* — IV (1946).
- ROCHA FARIA, O *Problema alimentar Português (Subsidios para a sua resolução)*, Lisboa (1950).
- VILLAVECCHIA V., *Tratado de Química Analítica*, Barcelona (1944).

ESTROGÊNEOS SINTÉTICOS

AMÂNDIO MARTINS

Lic. em farmácia

A) GENERALIDADES

Com estrutura diferente da dos estrogêneos naturais, obteve-se uma série de compostos de síntese que têm a vantagem sobre aqueles do seu custo ser muito inferior e de possuírem actividade por via oral (¹, ², ³, ⁴).

Da série dos naturais, só o etinil-estradiol apresenta esta última vantagem. Para os outros, seria necessário usar doses 5 e 6 vezes superiores às parenterais, para se conseguirem resultados análogos. Este facto seria devido a trocas metabólicas realizadas no fígado, a perdas por excreção na bilis e a destruição no conduto digestivo (¹).

Como desvantagem a assinalar dos estrogêneos sintéticos, diremos que eles provocam frequentemente efeitos secundários (náuseas, etc.), ao passo que os naturais, raras vezes provocam tais transtornos.

Dentro do grupo dos estrogêneos obtidos por síntese, PALASI (²) estabeleceu uma divisão, tendo em linha de conta a sua constituição química.

Assim, teremos os estrogêneos *sintetizados* e os propriamente *sintéticos*. Aqueles, seriam produtos que embora obtidos por síntese total ou parcial, manteriam a analogia com as hormonas naturais, ao passo que os sintéticos têm constituição química totalmente diferente, embora os resultados fisiológicos sejam semelhantes.

Após ter-se isolado o numeroso grupo de hormonas foliculares, chegou-se à conclusão de que o efeito estrogêneo não é privativo de uma determinada estrutura química, nem mesmo de determinado esqueleto constitucional.

O estudo das modificações químicas da molécula das hormonas foliculares, forneceu dados primaciais para a investigação dos estrogêneos de síntese.

Pretendia-se fixar a estrutura química responsável pela acção estrogénica, afim de encontrar compostos de fórmula simples e de síntese facilmente realizável.

Após aturados trabalhos que levaram à síntese dos estrogêneos naturais, simultâneamente realizados na América por DOISY e colaboradores (⁵) e na Alemanha por BUTENANDT (⁶), rapidamente se concluiu, não ser necessário o grupo fenantrênico para se obter acção estrogénica.

Em estudos posteriores levados a cabo pela Escola Bioquímica de Londres, DODDS e colaboradores (⁷), demonstraram que tal acção, devia ser atribuída sobretudo ao grupo fenólico, chegando mesmo a precisar que alguns núcleos aromáticos muito mais simples que o fanantreno, possuíam propriedades estrogénicas.

DODDS e LAWSON (⁸) investigaram a actividade de um grande número de compostos, até chegarem só aos dos aneis hexagonais, pondo em evidência que a substância responsável pela acção estrogénica era um dímero

do anol, e, mais precisamente ainda, do dianol, que o primeiro daqueles obteve por desmetilação do anetol, mediante um álcali em solução alcoólica e a elevada pressão.

Separada e cristalizada, verificaram possuir já grande actividade em ratos ovariectomizadas (2).

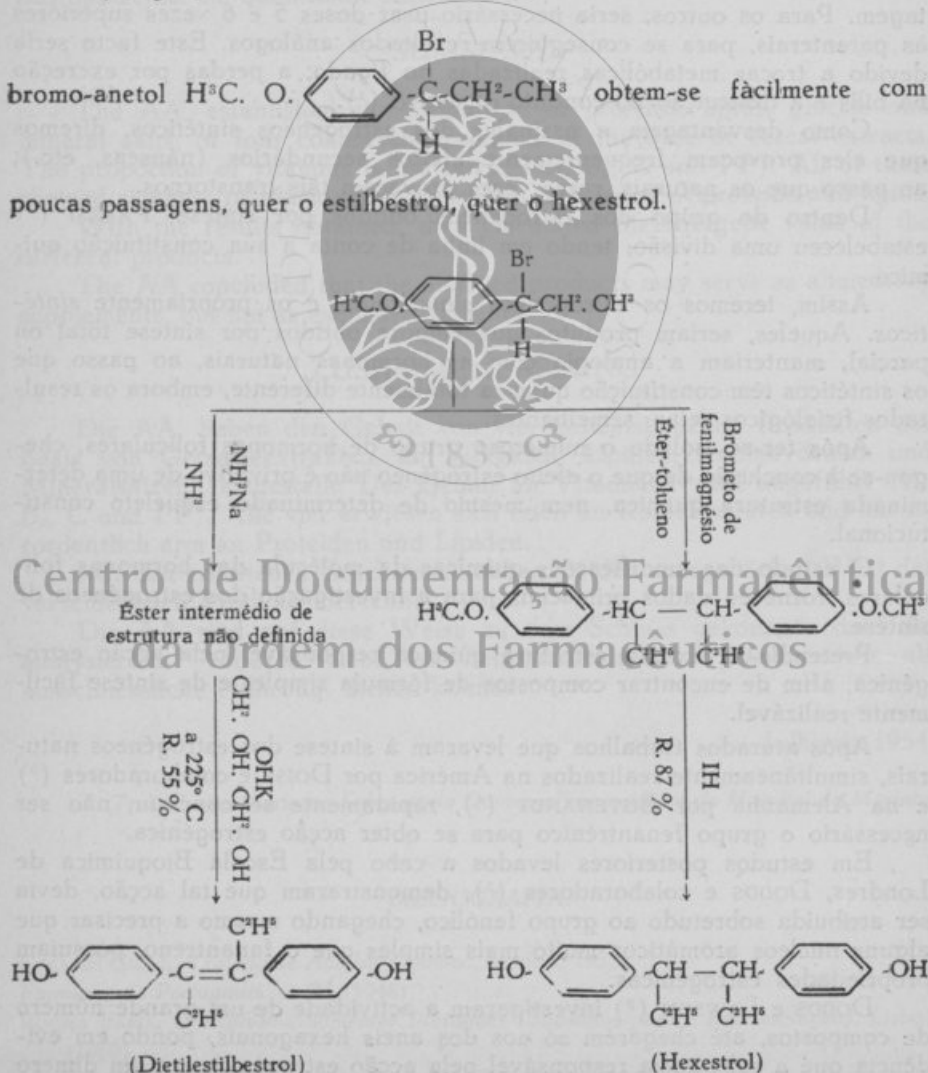
Prosseguindo nos seus estudos e após terem sintetizado uma grande série de compostos, alguns deles revelando marcada acção estrogénica (4,4'- dioxidifenilo; 4,4'- dioxidifeniletano; 4-4'- dioxiestilbeno, etc.) DODDS e col. (9) conseguiram sintetizar em 1938, o Dietilestilbestrol, com acção duas vezes e meia superior à da estrona.

A primeira síntese partindo do aldeido anísico, era muito longa e laboriosa (3).

Hoje, graças à síntese de KHARASCH e KLEIMAN (10) partindo do

bromo-anetol $\text{H}^3\text{C} \cdot \text{O} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 - \text{C}(\text{Br})(\text{H}) - \text{CH}_2 - \text{CH}^3$ obtém-se facilmente com

poucas passagens, quer o estilbestrol, quer o hexestrol.



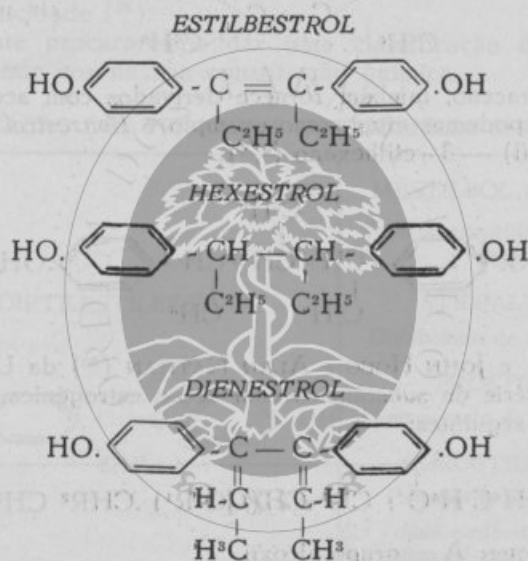
Centro de Documentação Farmacéutica
da Ordem dos Farmacêuticos

DODDS e CAMPBELL,, (11), observaram mais tarde que nem todas as amostras de anol, devem a sua acção unicamente ao estilbestrol.

Na realidade, das águas mães de cristalização de uma amostra de anol, separaram um derivado do estilbestrol, com a dupla ligação entre os carbonos α e β , hidrogenada.

Chamaram-lhe *Hexestrol* e pode obter-se por hidrogenação catalítica daquele.

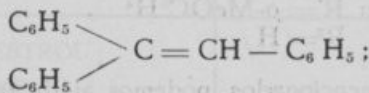
Por um caminho diferente, obteve-se outra substância de actividade superior à da estrona e de fórmula muito semelhante à do estilbestrol, a que se deu o nome de *Dienestrol* e que tem a particularidade de possuir as duas duplas ligações nas cadeias laterais



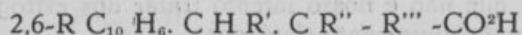
Observando as fórmulas acima, deduz-se não ser absolutamente necessária a existência de duplas ligações para se obter efeito estrogénico, porquanto o hexestrol carece delas.

O estudo dos estrogénios sintéticos tem continuado, e hoje o arsenal terapêutico conta com um já elevado número de substâncias derivadas de vários grupos químicos.

Assim, além dos derivados do estilbeno, conhecem-se derivados do trifeniletileno (12, 13).

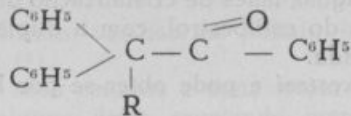


do ácido β -naftilpropiónico, que teriam a fórmula genérica seguinte; (14, 15, 16)

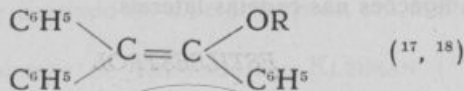


sendo R = OH ou a um grupo éter e R', R'' e R''' = H ou grupos alquilos.

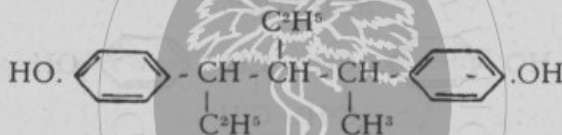
Uma outra série de derivados é fornecida pela α, α' -difenilacetofenona, quer pelos ceto-derivados de fórmula geral:



em que R = grupo alquilo, quer pelos éteres de forma enólica da própria α, α' -difenilacetofenona, cuja fórmula genérica se poderá expressar assim:



O Benzantraceno, também fornece derivados com acção estrogénica, e, dentre estes, podemos citar como exemplo o *Benzestrol* que é o 2,4 — di (*p*-hidroxifenil) — 3 — etilhexano (3, 4).



JOHN HOGG (19) e JOHN HOGG e ALAN NATHAN (20) da Upjohn Co., sintetizaram uma série de substâncias com acção estrogénica, cujas fórmulas genéricas são as seguintes:

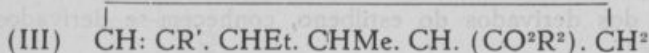


em que: A = grupo alcoxi;

R¹ = residuo alc.;

R² = H ou grupo alquilo;

R³ = hidrocarboneto radical.



em que: R' = *p*-MeOC⁶H⁴

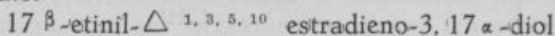
R² = H

Além dos já mencionados, podemos ainda fazer referência a substâncias estrogénicas que embora obtidas por síntese, estão relacionadas, pela sua estrutura química, com as hormonas naturais. Fazêmo-lo a título de curiosidade, pois que não é nosso intento tratar dos estrogéneos *sintetizados*, mas somente dos puramente *sintéticos*.

Ácido oxifenantrenocarboxílico (21).

7-metoxi-1-etil-2-metil-2-carbometoxi-1, 2, 3, 4-tetrahidrofenantreno, do-
tado de elevada acção estrogénica.

Etinil-estradiol



também dotado de elevada acção estrogénica, mesmo por via oral.

Recentemente, GALIMBERTI e GEROSA (22) sintetizaram um derivado da estrona — o ácido $1,3,5,10$ estratrieno-17-ona-3-oxi- α -isobutírico que se caracteriza pela substituição do oxidrilo fenólico, na posição 3, pelo agrupamento isobutírico.

É solúvel em água, mormente o seu sal sódico, e praticamente seria destituído de toxicidade (23).

Seguidamente procuraremos dar uma classificação dos estrogéneos sintéticos, baseando-nos na sua constituição química.

CLASSIFICAÇÃO DOS PRINCIPAIS ESTROGÉNEOS SINTÉTICOS

Derivados do Estilbeno	<p>DIETILESTILBESTROL</p>	<p>MESTILBOL (Monomestrol) Ester monometílico de dietilestilbestrol</p> <p>STILPALMITATO Dipalmitato de dietilestilbestrol</p> <p>PROSTILBENO Dipropionato de dietilestilbestrol</p> <p>FUROSTILBENO (24) Furoato de dietilestilbestrol</p> <p>3,3' - dialil-estilbestrol 3,3' - dipropil-estilbestrol 3,3' - di (1-propenil) estilbestrol</p>
	<p>HEXESTROL</p>	<p>DIPROPIONATO DE HEXESTROL</p> <p>PROMETESTROL (Meprano) (Dimetil-hexestrol)</p> <p>DIPROPIONATO DE MEPRANO</p> <p>MESO-HEXESTROL (26)</p>
	<p>DIENESTROL (Hexadieno)</p>	

<p>Derivado do <i>Benzantraceno</i></p>	<p>BENZESTROL (Octofolina)</p> $\text{HO} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{CH}(\text{C}_6\text{H}_5) - \text{CH}(\text{C}_6\text{H}_5) - \text{CH}(\text{C}_6\text{H}_4 - \text{OH})$
<p>Derivado do <i>trifenil etileno</i></p>	<p>CLOROTRIANIZENE (TACE) (27, 28, 29)</p>
<p>Derivado dos <i>alcoílnaftilcarbinóis</i></p>	<p>VALLESTRIL (Metaclenestril)</p>
<p>Derivados da α, α'-difenilacetofenona</p>	<p>Éteres de forma enólica da própria difenilacetofenona: (27, 28)</p> $\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5 \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array} > \text{C} = \text{C} \begin{array}{c} \text{O.R} \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$ <p>e</p> <p>ceto-derivados por alquilação daquela:</p> $\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5 \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array} > \text{C} - \overset{\text{O}}{\underset{\text{R}}{\text{C}}} - \text{C}_6\text{H}_5$ <p>em que R = grupo alquilo.</p>

Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

ESTRUTURA QUÍMICA E SUA RELAÇÃO COM A ACTIVIDADE ESTROGÉNICA

Como já referimos mais acima, a constituição dos estrogéneos de síntese, demonstra não ser necessário o grupo fenantrénico para se obter acção estrogénica.

Aquela actividade seria devida a produtos de transformação no organismo, das hormonas sexuais, e, não às próprias hormonas.

Para corroborar tal doutrina, cita-se a grande actividade por via oral, de compostos como por exemplo o etinil-estradiol.

Pela urina, seriam pois eliminadas hormonas não aproveitadas ou não transformadas, mas que teriam utilidade sobre o funcionamento renal e aparelho urinário (4).

Após aturados estudos levados a cabo por vários investigadores, parece deduzir-se ser fundamental a existência de 2 oxidrilos fenólicos, para se obter actividade estrogénica.

A presença de tais grupos aliará ainda a vantagem de permitir a sua fácil esterificação. As ligações etilénicas na ponte interfenólica, ainda que tenham algum interesse terapêutico, parece não serem absolutamente necessárias, pois que, como já deixámos dito mais acima, os hexestróis carecem delas, e apesar desse facto, possuem acção bem marcada.

Os dois fenóis reforçam a acção, pois no caso do *p*-anol, apesar de conter uma ligação etilénica mas só com um grupo fenólico, a sua acção é muito menos acentuada.

Por outro lado, demonstrou-se que a actividade estrogénica era aumentada, saturando as cadeias alifáticas e metilando as cadeias laterais (31). NIEDERL e SILVERSTEIN (32) dizem que a introdução de grupos *ciclohexil* no dienestrol e no hexestrol, acarreta uma considerável diminuição de actividade estrogénica daquelas substâncias.

Esterificando os grupos OH dos radicais fenólicos do estilbestrol, por ácidos acético ou propiónico, não só se não altera a sua actividade, como ainda se favorece, visto a sua acção se tornar mais prolongada, evitando-se ainda casos de intolerância (33).

No que diz respeito ao Benzestrol, é de notar que o esqueleto (Benzantraceno) é dotado de propriedades cancerígenas (34).

da Ordem dos Farmacêuticos
FARMACOLOGIA

O estudo qualitativo dos estrogéneos de síntese, nomeadamente do dietilestilbestrol, em animais de laboratório, é fisiologicamente análogo ao da estrona.

Quantitativamente é de efeito várias vezes superior e a sua maior vantagem, como já referimos no início do nosso trabalho, reside no facto de poder ser administrado oralmente, sem que haja necessidade de elevar a dose habitual que se administra por via parenteral (2).

A dose tóxica limite de uma solução alcalina de estilbestrol, por via parenteral, é, no gato, de 30 miligramas por quilo de peso, e no cobaio, de 100 a 200 mg. por quilo.

Nos seres humanos, a zona maneável entre as doses tóxica e clínica, é muito ampla.

Assim, a dose clínica máxima seria de 2,5 mg. em uma só injeção, ao passo que a dose tóxica se encontra nos adultos, à volta de 2 gr. ⁽³⁵⁾. Por outro lado, os seus efeitos sobre o útero e a vagina de ratas infantis ovariectomizadas, a plumagem dos capões e as glândulas mamárias das cobaias, são do mesmo tipo específico que os da estrona.

Analogamente se correspondem estilbestrol e estrona, no influxo inibidor sobre a progesterona, assim como nos efeitos sobre os vasos do sistema circulatório, corrigindo as desordens circulatórias periféricas, com independência do sexo do animal de ensaio.

A acção sobre a hipótese, é, também idêntica.

Em certos casos de administração, podem observar-se efeitos secundários e náuseas. Estes verificam-se com maior frequência no estilbestrol e mais raramente no dienestrol, e, podem atenuar-se usando-se os ésteres correspondentes, ou combinações de estrogéneos (Dimetoxidietil-estilbestrol com estilbestrol, etc.) ⁽³⁸⁾.

Contudo, não são de molde a impedir o seu uso racional.

As náuseas são de origem central, e têm a mesma natureza que o vômito e náuseas da gravidez.

Foi demonstrado que a administração de estrogéneos em doses elevadas, inibe o lóbulo anterior da hipófise, produzindo um efeito análogo ao da castração, visto neutralizar a acção dos androgéneos, com vantagem indiscutível sobre a orquiectomia.

O facto de os estrogéneos sintéticos actuarem melhor, neste caso, do que os naturais, provem, segundo ZONDEK, de que inactivando-se todos eles no fígado, é, dentre todos, o estilbestrol o que permanece por mais tempo, sem sofrer inactivação.

APLICAÇÕES TERAPEÚTICAS

Como aplicação geral, diremos que são todas as das hormonas foliculares, sobretudo atendendo ao seu menor custo e à sua marcada actividade por via oral.

Entre as mais importantes citaremos: — Desordens da menopausa; tanto os estados de depressão e psicose subsequentes, como os sintomas vasomotores, podem abolir-se, com pequenas doses de estrogéneos sintéticos, por via oral.

Dores agudas e ansiedade quando da inibição da secreção láctea, e de um modo geral em todos os casos em que está indicado o uso de estrogéneos, tais como; amenorreias primárias ou secundárias, dismenorreias, esterilidade de origem hormonal, inércia uterina primária, etc. ⁽³⁷⁾.

Como aplicações de importância mais secundária, mencionaremos: dermatoses, enxaquecas, úlcera gastroduodenal, hipertiroidismo, diabetes senil das mulheres, etc.

Uma importante aplicação dos estrogéneos sintéticos, deve-se a investigações recentes, que permitiram controlar e aliviar uma das formas mais dolorosas do cancro — o da próstata ^(2, 4) e o mamário ⁽³⁶⁾.

Para alguns estilbenos, nomeadamente para o estilbestrol e o hexestrol, observaram-se propriedades ligeiramente bacteriostáticas frente a germes gram-positivos, mas não sobre os gram-negativos.