

Não se verificou efeito acumulativo, ou seja, progressivo acréscimo dos valores das concentrações sanguíneas. O valor da última colheita de sangue (18 horas do 2.º dia) (Quadro n.º XIII) não se mostrou superior ao obtido à 5.ª hora após a administração de um único supositório (Quadro I).

Procedeu-se a uma prova idêntica, ou seja, segundo o mesmo esquema, com os supositórios em que o excipiente foi Suppocire com 50% de Labrafil (Quadro XIV).

Ainda, neste caso, não se observou efeito acumulativo. (Deve notar-se que o horário das colheitas dos sangues corresponde a 6 horas após a aplicação dos supositórios, ou seja, apanha-se o valor limite mínimo).

APRECIÇÃO ESTATÍSTICA

A avaliação estatística dos vários resultados obtidos procurou responder a várias questões postas:

1) Verificam-se diferenças entre os supositórios E, S e C, que são preparados com simples excipientes diferentes?

Pretendeu-se, assim, saber se são nitidamente consequentes as diferenças entre os vários excipientes simples, estudados.

2) São observáveis diferenças entre os supositórios obtidos com um mesmo excipiente (supositórios S, tomados como padrão) e outros diversos resultantes de incorporação, na mesma massa, de distintos agentes promotores da absorção (Supositórios S-laur., S-deox., S-Labr. e S-hial.)?

Procurou-se, aqui, denunciar se são significativas as divergências obtidas pela inclusão dos diferentes agentes emulsificadores nas concentrações usadas.

3) Desejou-se, ainda, esclarecer se as diversas concentrações experimentadas de um agente emulsificador promotor da absorção, num mesmo excipiente, determinam, em todos os casos, variações significativas (diferenças de resultados de concentrações sanguíneas entre os supositórios S-Labr. 50, S-Labr. 27,5, S-Labr. 20).

4) Pretendeu-se conhecer se a administração de 6 em 6 horas de um supositório de eritromicina num excipiente simples (Massa Estarinum), (após uma tomada, inicial, de duas cápsulas espaçadas de 6 horas) vinha a determinar efeito acumulativo dos níveis circulantes (diferenças de resultados entre a colheita ao cabo de 5 horas após a administração de um único supositório e a colheita das 18 horas do 2.º dia de administração).

5) Determinou-se se a administração de 6 em 6 horas de um supositório de eritromicina num dado excipiente (Suppocire) com 50% de Labrafil M 2130 CS (Supositório S. Labr. 50%) (após uma tomada,

inicial, de duas cápsulas espaçadas de 6 horas) promovia efeito acumulativo das concentrações sanguíneas (diferenças de resultados entre a colheita ao fim de 5 horas após a administração de um único supositório e a colheita das 18 horas do 2.º dia de administração).

6) Desejou-se confirmar que para uma dada formulação escolhida (Suppocire C + 27,5% de Labrafil M 2130 CS), a inclusão de um anestésico local (4% de lidocaína) não determinava variações de absorção (cotejo entre os supositórios S-Labr. 27,5 e S-Labr. 27,5 — lid. 4).

7) Procurou-se reconhecer se, usando duas massas diferentes de supositórios (Suppocire C e Paramount B) e incorporada igual quantidade do agente promotor da absorção escolhido (27,5 de Labrafil M 2130 CS), se verificavam resultados diferentes nas concentrações sanguíneas (confronto dos supositórios S-Labr. 27,5 e P-Labr. 27,5).

8) Pretendeu-se esclarecer se, usando uma mesma massa de supositórios (Suppocire C) mas, num caso, a eritromicina base e, noutra o estolato de eritromicina se verificariam, como seria de esperar, resultados diferentes nos níveis circulantes (comparação dos supositórios S e S-Est.).

9) Avaliou-se se entre os supositórios do mercado americano supositórios Eryt. e os preparados com o excipiente Suppocire C e incluindo 27,5% de Labrafil M 2130 CS se verificam diferenças significativas (cotejo dos supositórios Eryt. e S-Labr. 27,5).

RESULTADOS ESTATÍSTICOS

1) Comparação dos supositórios S com E e C

Os níveis circulantes obtidos pelos supositórios E à 1/2 h e à 1 h são mais elevados do que os verificados com os supositórios S ($P < 0,07$). As 3 h, embora os níveis circulantes correspondentes aos supositórios E sejam muito mais elevados do que os observados com os supositórios S, a diferença não é significativa. Deve-se este facto a 4 valores muito mais elevados do que os restantes do grupo (Nomes A. M.; M. L.; A. J. O. T.; M. G. S. S. do Quadro I) que aumentam consideravelmente a média e, ao mesmo tempo a dispersão dos valores com o consequente aumento no valor do erro padrão (tabela 1). Os níveis circulantes dos supositórios C não se revelaram, significativamente, diferentes dos proporcionados pelos supositórios S, a qualquer hora.

2) Comparação dos supositórios S com S-laur.; S-deox.; S-Labr. 50 e S-hial.

A 1/2 hora, tanto os supositórios S-deox. como os supositórios S-hial. dão níveis circulantes significativamente mais elevados do que

os supositórios S ($0,01 < P < 0,05$) e os S-Labr. 50 dão valores extraordinariamente mais altos e altamente significantes ($P < 0,01$). Os supositórios S-laur. dão um valor praticamente igual ao de S.

À 1 h, não há diferença entre os níveis dados por S-deox. e S, sendo o de S-hial. altamente significante e mais elevado do que o de S e o nível dado por S-laur. altamente significante e menor do que o de S. As 3 horas, não se verificam diferenças entre S e S-hial. e S-deox. Só o nível dado por S-laur. é menor do que o de S com um alto grau de significância. As 5 horas, não se observam diferenças significativas nos níveis circulantes de eritromicina obtidos pela administração dos diversos tipos de supositórios.

2a) *Comparação dos supositórios S-hial. com S-laur. e S-deox.*

Não se observam diferenças significantes entre S-hial. e S-deox. Os valores de S-laur. são, com excepção das 5 h, significativamente inferiores.

3) *Comparação dos supositórios S-Labr. 27,5 com S-Labr. 20*

Só se observam diferenças significantes à 1/2 h, em que os supositórios S-Labr. 27,5 dão valores mais elevados.

4) *Comparação dos supositórios E com os E-efeitos cumulativos*

Não se verifica diferença significante entre os níveis circulantes 5 h. após a administração de uma dose única e às 18 h. do 2.º dia da administração.

5) *Comparação dos supositórios S-Labr. 50 com os S-Labr. 50-efeitos cumulativos*

Não se nota diferença significante entre os níveis circulantes 5 h. após a administração de uma dose única e às 18 h. do 2.º dia da administração.

6) *Comparação dos supositórios S-Labr. 27,5 e S-Labr. 27,5-lid. 4*

Foi curioso verificar diferença significativa entre estes dois tipos de supositórios. Observa-se maior absorção do supositório com o anestésico local, diferença significativa à 1 e às 3 horas.

Tudo se passa como a presença do anestésico retardasse a absorção, pelo que, de início, a absorção dos supositórios sem anestésico é mais acentuada, enquanto, posteriormente, é significativamente mais elevada para o caso dos supositórios com anestésico.

7) *Comparação dos supositórios S-Labr. 27,5 com os P-Labr. 27,5*

Só há uma diferença altamente significativa à 1/2 hora e à 1 hora. Todos os outros valores não diferem significativamente.

8) *Comparação dos supositórios S com os S est.*

Os supositórios S-est. até às 3 h. dão valores mais baixos, significantes à 1/2 h. e às 3 h. Às 5 h. os valores dados por S-est. são mais elevados mas esta elevação é devida a 2 determinações muito superiores às restantes do grupo.

9) *Comparação dos supositórios Eryt. com os restantes*

As concentrações obtidas com a totalidade dos outros supositórios em confronto com os resultados dos supositórios Eryt. são diferentes, consoante os casos, já que, como se tem visto, eles foram variáveis entre si.

Assim, se alguns originam níveis iniciais significativamente mais baixos (*v. g.* Sup. S, Sup. S-Labr. 20, Sup. S-hial), outros determinam níveis iniciais significativamente mais altos (*v. g.* Sup. P-Labr. 27,5 e Sup. S-Labr. 50). Às 5 h., não se verificaram diferenças significativas entre os Sup Eryt. e os restantes supositórios.

Outros, como os Sup S-laur. dão sempre níveis significativamente mais baixos (caso especial do agente incorporado reduzir a absorção, na quantidade experimental), assim como os S-Labr. 50 conferem sempre níveis significativamente mais altos.

Em resumo, poder-se-á referir que, embora as curvas sejam todas do mesmo tipo, alguns excipientes permitem níveis iniciais mais altos do que outros, mas, passada esta altura, as curvas quase que se confundem, não havendo diferenças estatísticas apreciáveis às 3 h. e 5 h., exceptuando naturalmente os casos extremos.

TABELAS E GRÁFICOS

Tabelas — Nas tabelas que se seguem, incluem-se as médias e os respectivos erros padrões. Entre parentesis, referem-se os números de determinações executadas para cada ensaio.

Gráficos — Representaram-se, gráficamente, os resultados que se nos mostraram de maior interesse — valores médios com os respectivos limites fiduciários ($\bar{x} \pm t s \bar{x}$).

TABELA 1

Comparação de supositórios S com supositórios E e supositórios C

Tempo	Sup. S	Sup. E	P	Sup. C	P
1/2 h	0,081 ± 0,011 (11)	0,337 ± 0,027 (19)	P < 0,001	0,110 ± 0,010 (11)	P < 0,05
1 h	0,149 ± 0,017 (11)	0,328 ± 0,023 (19)	P < 0,001	0,123 ± 0,011 (11)	P < 0,2
3 h	0,256 ± 0,041 (10)	0,477 ± 0,112 (19)	P > 0,1	0,152 ± 0,011 (12)	P < 0,05
5 h	0,208 ± 0,051 (9)	0,163 ± 0,024 (20)	P > 0,1	0,144 ± 0,035 (11)	P > 0,2

Comparação de Sup. S com Sup. C



GRAFICO N.º 1

Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

TABELA 2

Comparação de supositórios E com supositórios C

Tempo	Sup. E	Sup. C	P
1/2 h	0,337±0,027(19)	0,110±0,010(11)	P > 0,001
1 h	0,328±0,023(19)	0,123±0,011(11)	P > 0,001
3 h	0,477±0,112(19)	0,152±0,011(12)	P > 0,05
5 h	0,163±0,024(20)	0,144±0,035(11)	P > 0,4

TABELA 3

Comparação entre supositórios S e supositórios S-Labr. 20

Tempo	Sup. S	Sup. S-Labr. 20	P
1/2 h	0,081±0,011(11)	0,108±0,011(12)	P > 0,1
1 h	0,149±0,017(11)	0,182±0,021(23)	P > 0,1
3 h	0,256±0,041(10)	0,256±0,031(23)	P = 0
5 h	0,208±0,051(9)	0,223±0,036(23)	P > 0,1

Comparação de Sup. S com Sup. S-laur.



GRÁFICO N.º 2

Centro de Documentação Farmacêutica da Ordem dos Farmacêuticos

TABELA 4

Comparação de supositórios S com supositórios S-Laur., S-deox., S-Labr. 50 e S-hial.

Tempo	Sup. S	Sup. S-laur.	P	Sup. S-deox.	P	Sup. S-Labr. 50	P	Sup. S-hial.	P
1/2 h	0,081 ± 0,011 (11)	0,085 ± 0,007 (10)	P > 0,7	0,204 ± 0,047 (10)	P < 0,02	0,512 ± 0,060 (23)	P < 0,001	0,128 ± 0,018 (12)	P < 0,05
1 h	0,149 ± 0,017 (11)	0,077 ± 0,007 (10)	P < 0,01	0,211 ± 0,043 (10)	P > 0,1	0,670 ± 0,099 (23)	P < 0,001	0,340 ± 0,063 (13)	P < 0,01
3 h	0,256 ± 0,041 (10)	0,108 ± 0,011 (10)	P < 0,01	0,224 ± 0,045 (10)	P > 0,6	0,970 ± 0,261 (22)	P > 0,05	0,271 ± 0,037 (11)	P > 0,7
5 h	0,208 ± 0,051 (9)	0,102 ± 0,023 (10)	P > 0,05	0,157 ± 0,046 (10)	P > 0,4	0,499 ± 0,186 (21)	P > 0,3	0,149 ± 0,023 (12)	P > 0,2

TABELA 5

Comparação de Supositórios S-hial. com S-laur., S-deox. e S-Labr. 50

Tempo	Sup. S-hial.	Sup. S-Laur.	P	Sup. S-deox.	P	Sup. S-Labr. 50	P
1/2 h	0,128 ± 0,018 (12)	0,085 ± 0,007 (10)	P < 0,05	0,204 ± 0,047 (10)	P > 0,1	0,512 ± 0,060 (23)	P < 0,001
1 h	0,340 ± 0,063 (13)	0,077 ± 0,007 (10)	P < 0,001	0,211 ± 0,043 (10)	P > 0,1	0,670 ± 0,099 (23)	P < 0,05
3 h	0,271 ± 0,037 (11)	0,108 ± 0,011 (10)	P < 0,001	0,224 ± 0,045 (10)	P > 0,4	0,970 ± 0,261 (22)	P > 0,05
5 h	0,149 ± 0,023 (12)	0,102 ± 0,023 (10)	P > 0,1	0,157 ± 0,046 (10)	P > 0,8	0,499 ± 0,186 (21)	P > 0,1

Comparação de Sup. S com Sup. S-deox.



GRÁFICO N.º 3

Centro de Documentação Farmacêutica
 da Ordem dos Farmacêuticos

TABELA 6

Comparação de supositórios S-Labr. 27,5 com P-Labr. 27,5

Tempo	Sup. S-Labr. 27,5	Sup. P-Labr. 27,5	P
1/2 h	0,207±0,035(37)	0,987±0,146(10)	P < 0,001
1 h	0,220±0,029(37)	0,654±0,137(10)	P < 0,001
3 h	0,268±0,027(37)	0,224±0,057(10)	P > 0,4
5 h	0,261±0,034(35)	0,120±0,046(9)	P > 0,5

TABELA 7

Comparação de supositórios S-Labr. 27,5 com S-Labr. 20

Tempo	Sup. S-Labr. 27,5	Sup. S- Labr.20	P
1/2 h	0,207±0,035(37)	0,108±0,011(23)	P < 0,05
1 h	0,220±0,029(37)	0,182±0,021(23)	P > 0,3
3 h	0,268±0,027(37)	0,256±0,031(23)	P > 0,6
5 h	0,261±0,034(35)	0,223±0,036(23)	P > 0,4

Comparação de Sup. S com Sup. S-Labr. 50

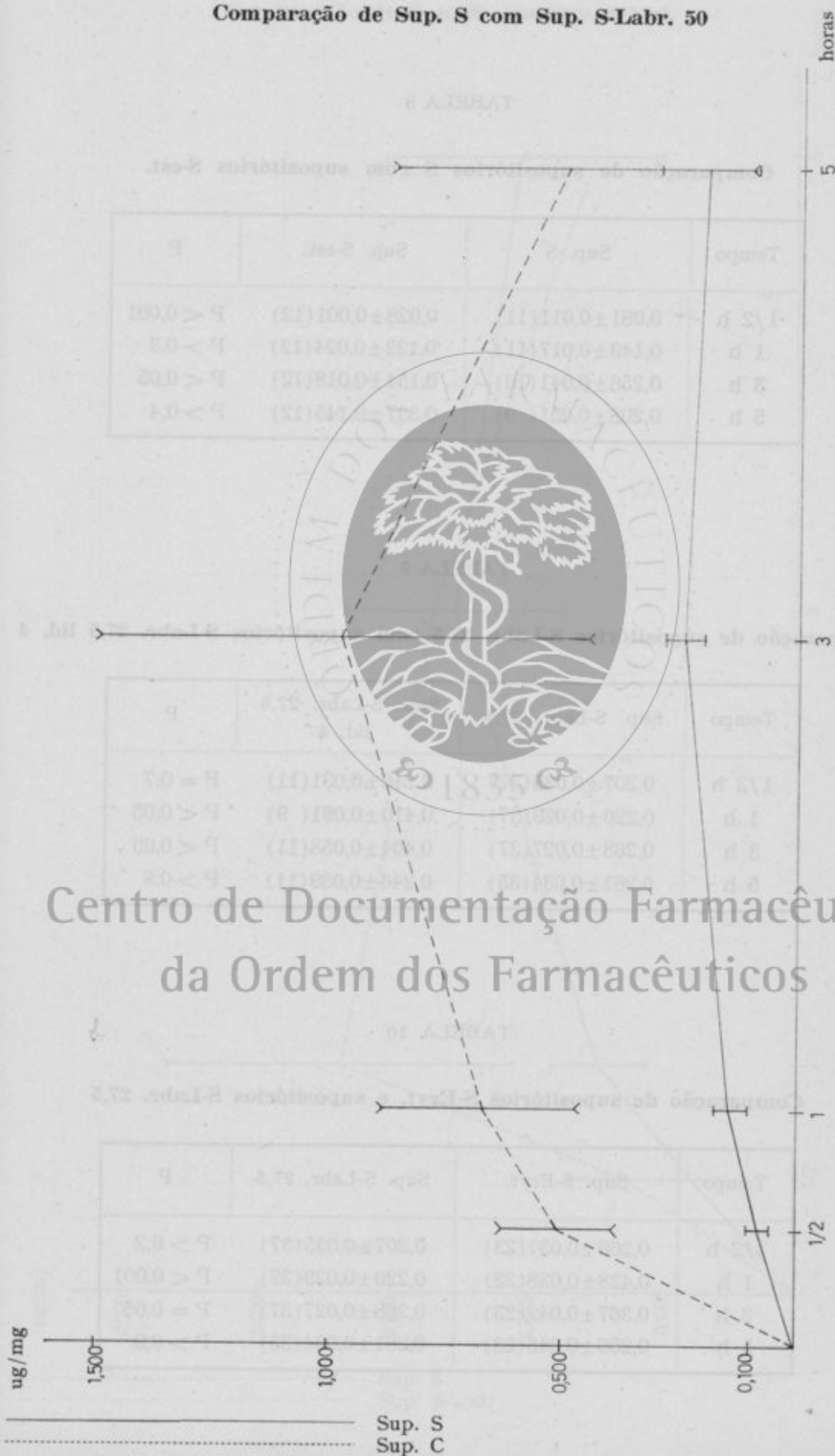


GRÁFICO N.º 4

Centro de Documentação Farmacêutica da Ordem dos Farmacêuticos

TABELA 8

Comparação de supositórios S com supositórios S-est.

Tempo	Sup. S	Sup. S-est.	P
1/2 h	0,081±0,011(11)	0,028±0,001(12)	P < 0,001
1 h	0,149±0,017(11)	0,122±0,024(12)	P > 0,3
3 h	0,256±0,041(10)	0,154±0,018(12)	P < 0,05
5 h	0,208±0,051(9)	0,337±0,145(12)	P > 0,4

TABELA 9

Comparação de supositórios S-Labr. 27,5 com supositórios S-Labr. 27,5 lid. 4

Tempo	Sup. S-Labr. 27,5	Sup. S-Labr. 27,5 lid. 4	P
1/2 h	0,207±0,035(37)	0,246±0,031(11)	P = 0,7
1 h	0,220±0,029(37)	0,410±0,091(9)	P < 0,05
3 h	0,268±0,027(37)	0,404±0,058(11)	P < 0,05
5 h	0,261±0,034(35)	0,246±0,039(11)	P > 0,8

TABELA 10

Comparação de supositórios S-Eryt. e supositórios S-Labr. 27,5

Tempo	Sup. S-Eryt.	Sup. S-Labr. 27,5	P
1/2 h	0,266±0,037(23)	0,207±0,035(37)	P > 0,2
1 h	0,428±0,038(22)	0,220±0,029(37)	P < 0,001
3 h	0,367±0,042(23)	0,268±0,027(37)	P = 0,05
5 h	0,256±0,048(23)	0,261±0,034(35)	P > 0,9

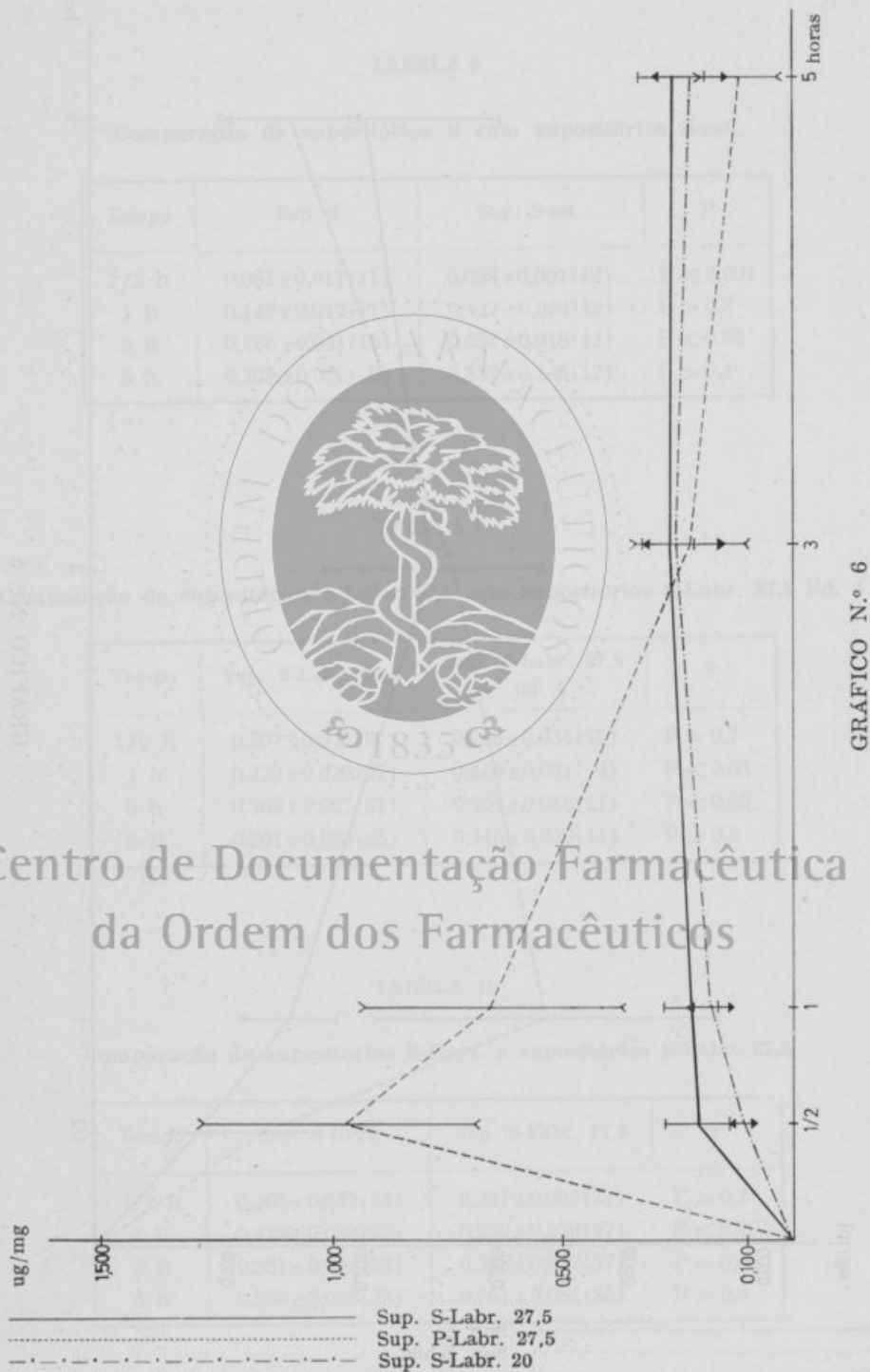
Comparação de Sup. S com Sup. S-hial.



GRÁFICO N.º 5

Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

Comparação de Sup. S-Labr. 27,5 com Sup. S-Labr. 20 e Sup. P-Labr. 27,5

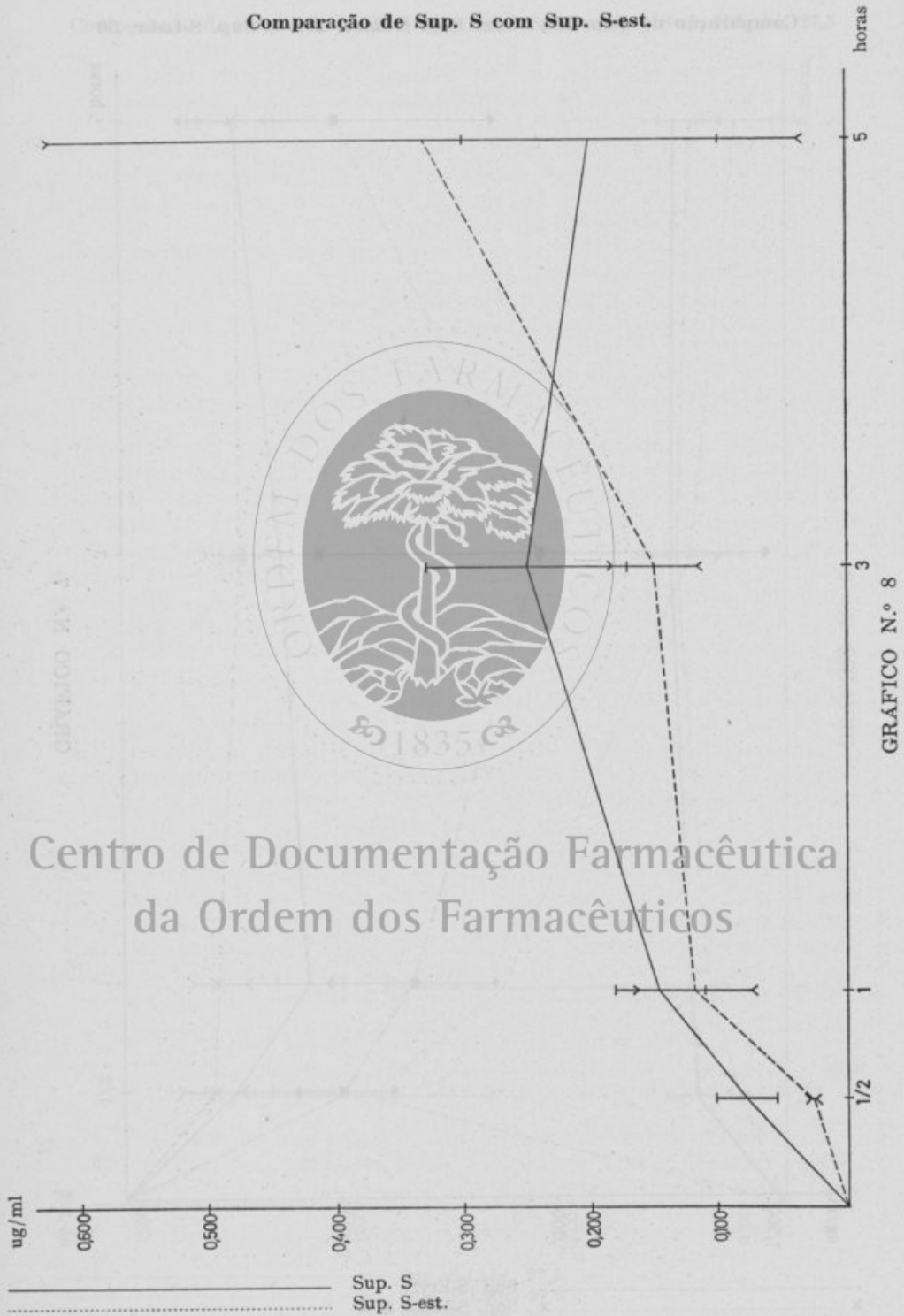


Comparação de Sup. Eryt com Sup. S-Labr. 27,5 e Sup. S-Labr. 50



Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

Comparação de Sup. S com Sup. S-est.



CONCLUSÕES

— A absorção rectal da eritromicina foi verificada para os diferentes tipos de excipientes, simples, experimentados. Algumas variações, no entanto, foram observadas.

Foram obtidas concentrações sanguíneas, significativamente, mais elevadas de início (colheitas ao fim de 1/2 e 1 hora) com os supositórios preparados com Massas Estarinum, do que as atingidas por supositórios preparados com Suppocire.

A concentrações obtidas com os supositórios do excipiente polietilenoglicol não se revelaram diferentemente significantes, em relação às resultantes com os supositórios de Suppocire.

O confronto dos supositórios preparados com a Massa Estarinum e os obtidos com polietilenoglicóis mostraram diferenças significativas às 1/2, 1 e 3 horas (altamente significantes para as duas primeiras colheitas de sangue). Às 5 horas, não se observou diferença significante.

— Incorporando numa mesma massa de supositórios (Suppocire) agentes promotores da absorção, verificou-se acção reforçadora da absorção, significativa para a colheita da 1/2 hora para três dos agentes (deoxicolato de sódio, hialuronidase e Labrafil M 2130 CS); para a colheita da 1 hora, continua a ser significativa a diferença entre os níveis consequentes à aplicação dos supositórios com os dois últimos daqueles agentes reforçadores de absorção.

A diferença dos níveis (em relação à simples massa Suppocire) obtidos com os supositórios incluindo o Labrafil M 2130 CS, na proporção de 50%, é altamente significativa para as colheitas de 1/2 e 1 hora, e ainda significativa para a das 3 horas.

Observou-se acção depressora das concentrações com o emprego de laurilsulfato de sódio (na concentração experimentada), significativa em relação aos valores obtidos com o excipiente simples (Suppocire) para os sangues colhidos à 1 hora.

— Embora a incorporação da hialuronidase na massa Suppocire determinasse significativa elevação das concentrações sanguíneas para as colheitas da 1/2 e 1 hora após a administração (a última altamente significativa), origina valores significativamente superiores a incorporação de 50% de Labrafil M 2130 CS, em confronto com os resultados obtidos pelo emprego da hialuronidase, às 1/2, 1 e 3 horas (nestas 2 primeiras colheitas altamente significantes).

— O confronto dos níveis antibióticos obtidos com os supositórios em que se inclui hialuronidase e aqueles em que se incorporou dexocolato de sódio mostra não serem significativamente diferentes.

— Entre os supositórios de eritromicina em Suppocire C com 50% e com 27,5 de Labrafil M 2130 CS verificam-se diferenças significantes entre os níveis circulantes à 1/2 hora, 1 e 3 horas.

— Entre os supositórios de eritromicina em Suppocire C com 27,5% e com 20% de Labrafil M 2130 CS observam-se diferenças

significantes para mais, nos primeiros supositórios, apenas na colheita à 1/2 hora após a administração.

A inclusão de 4% de lidocaína, em supositórios de eritromicina em Suppocire com 27,5% de Labrafil M 2130 CS, determinou diferenças significativas de níveis circulantes, quando comparados com os obtidos com iguais supositórios sem o anestésico local, às 1 e 3 horas após a administração.

— A comparação de supositórios de eritromicina em Suppocire C e de estolato de eritromicina mostrou que estes últimos levam à obtenção de valores mais baixos até às 3 horas, significantes à 1/2 hora e às 3 horas, após a administração.

Em resumo, as observações básicas podem sumariar-se: ficou reconhecida a absorção rectal da eritromicina, que como em tantos outros casos, pode ser aumentada por inclusão, no excipiente dos supositórios, de conveniente agente reforçador, em adequada concentração. A absorção rectal da eritromicina é acompanhada, em muitos casos, de irritação local (ardência) média cujo grau é proporcional à intensidade da absorção verificada, em todo o caso duradoira apenas durante alguns escassos minutos.

SUMMARY

Blood levels of erythromycin were carried out in healthy women after the rectal administration of one suppository of 250 mg of erythromycin (base). The microbiological method used was the cup-plate described by STANLEY BELL *et al.* using *Sarcina lutea* ATCC 9341 with slight modifications.

The blood levels were determined after 30 minutes, one, two, and five hours after the rectal administration.

Tests were also carried out to evaluate the cumulative effect according to the following schedule: administration of two capsules of erythromycin estolate (equivalent to 250 mg of erythromycin) one at the zero and one at the sixth hour, followed by one suppository every six hours at the 12th, 18th, and 24th hour of the first day and the 6th and 12th hour of the second day. Blood was collected immediately before the introduction of the suppository at the 12th and 18th hours of the first and second day.

In the tests where only one suppository was used several suppository bases were tested for local tolerance (rectal irritation observed in some cases).

The results with massa Estarinum, Suppocire, and polyethyleneglycol were compared.

The levels in the blood were significantly higher at the beginning (samples taken at 30 and 60 minutes) with the suppositories prepared with Massa Estarinum than with those obtained with Suppocire.

The blood levels were significantly higher at 1/2, 1 and 3 hours with the suppositories prepared with polyethyleneglycol than those obtained with Massa Estarinum.

The suppositories made with polyethyleneglycol did not give antibiotic blood levels significantly different from those obtained with Suppocire at all times.

Tests were also carried out including in the Suppocire C base agents known to improve absorption: sodium laurylsulfate (0,5%), sodium deoxycholate (0,02%), hyaluronidase (500 U. per suppository) and «Labrafil M 2130 CS» (20%, 27,5% and 50%).

Three of the substances (deoxycholate, hyaluronidase, and Labrafil) improved the absorption significantly after 30 minutes. The difference is still significant after one hour with the last two substances.

When Labrafil M 2130 CS was used at a concentration of 50% of the total suppository base, the difference of blood levels was highly significant at 30 and 60 minutes and was still significant after 3 hours when compared with suppositories prepared only with Suppocire C.

The improvement of absorption promoted by the use of 50% of Labrafil is significantly higher than the improvement with hyaluronidase and sodium deoxycholate.

The antibiotic levels obtained when hyaluronidase is incorporated in the suppositories is not significantly different from those obtained with sodium deoxycholate.

The use of 27,5% and 20% of Labrafil gives a result proportionally lower than that obtained with 50% of the same product.

There were significant differences of antibiotic levels produced at 30 minutes, 1 and 3 hours using erythromycin suppositories made of Suppocire C with 50% and with 27,5% of Labrafil.

Using the Suppocire base with 27,5% and with 20% of Labrafil, the significant advantage of the former only after 30 minutes.

There is no significant difference between the results obtained with suppositories using only Suppocire C or this base with 20% of Labrafil.

Sodium laurylsulfate, in the concentration used, depressed the levels obtained after one hour.

The use of 250 mg erythromycin suppositories does not produce rectal irritation. However, the absorption promoters, that alone do not cause local intolerance, produce irritation in proportion to the antibiotic levels obtained.

There were close association between the local burning feeling and the antibiotic levels. This burning a feeling, occasionally associated with brief pain, is of short duration (5-10 minutes).

The inclusion of a local anesthetic (lidocaine, benzocaine, amylocaine) reduces, without eliminating completely the complain, even when used in the proportion of 4%, whenever the erythromycin blood levels are higher.

The inclusion of lidocaine (4%) in suppositories of erythromycin made with Suppocire with Labrafil M 2130 CS (27,5%) gave significant differences in the blood levels when compared with suppositories without local anesthetic, on and three hours after administration.

The evaluation of the cumulative effect, according to the schedule referred above, showed that there were no significant differences between the levels obtained 5 hours after the introduction of a single suppository made with massa Estarinum or with Suppocire C+La-brafil base or at the 18th hour of the second day when using a multidose schedule.

The comparison of erythromycin suppositories made with Suppocire C with those of erythromycin estolate showed that the later gave lower results up to three hours after administration. These differences were significant after 30 minutes and 3 hours of the application.

Depois deste trabalho em provas, deparou-se-nos uma referência de um trabalho japonês (37) em que se indica obtenção de eficácia da eritromicina, administrada por via rectal (1.2 g/dia), em 68% de 22 doentes com infecções dos tractos respiratórios e urinário, mastite puerperal e pioderma do recém-nascido, sem efeitos secundários, excepto uma irritação rectal média. Refere-se terem sido atingidas concentrações de 0,3 e 0,45 mcg/ml em pesquisas à 1 hora e às 4 horas, depois da administração rectal de supositórios de 250 mg, a mulheres saudáveis.

(Não se indica, nesta referência, a natureza do excipiente).

Agradecemos, reconhecidamente, ao Senhor Doutor J. M. GIÃO TOSCANO RICO, do Instituto de Farmacologia da Universidade de Lisboa, a gentileza de avaliar, estatisticamente, os nossos resultados.

BIBLIOGRAFIA

- (1) C. C. LEE, R. C. ANDERSON and K. K. CHEN, Site of absorption erythromycin in rats, *Antibiot. Chémother.*, 4, 926 (1954).
- (2) B. KELENTEI and S. STENSZKY, Rectal absorption of antibiotics, *Pharmazie* 15, 158-61 (1960), Apud *C. A.*, 54, 15 690b (1960).
- (3) AN., The choice and uses of the erythromycin drugs, *Med. Lett. Drugs Ther.*, 12 (8), 35 (1970).
- (4) J. ALBAN, Antibiotic suppositories in childhood infections, *Curr. Therap. Res.*, 12, 556 (1970).
- (5) 35 Federal Register 18513; § 148 e. 35. Erythromycin suppositories, *Compilation of regulations for tests and methods of assay and certification of antibiotic drugs*. Food and Drug Administration, Department of Health, Education, and Welfare.
- (6) C. M. KUNIN, H. A. HIRSCH and M. FINLAND, Absorption of erythromycin propionate and triactyloleandomycin, *Antibiot. Ann.*, 1958-1959, p. 382.
- (7) R. S. GRIFFITH, Laboratory and clinical studies with erythromycin propionate, *Antibiot. Ann.*, 1958-1959, p. 364.
- (8) D. M. PERRY, G. A. HALL and W. M. M. KIRBY, Triacetyloleandomycin and erythromycin: A comparison of in vitro activity and of blood levels obtained after oral administration, *Antibiotic Med. Clin. Therapy* 6, 347 (1959).
- (9) D. M. PERRY, G. A. HALL and W. M. M. KIRBY, Clinical and laboratory studies of erythromycin propionate, *Antibiot. Ann.*, 1958-1959, p. 375.
- (10) H. A. HIRSCH and M. FINLAND, Effect of food on the absorption of erythromycin propionate, erythromycin stearate and triacetyloleandomycin, *Amer. J. Med. Sci.*, 237, 639 (1959).
- (11) V. C. STEPHENS, J. W. CONINE and H. W. MURPHY, Esters of erythromycin IV. Alkyl sulfate salts, *J. Amer. Pharm. Assoc. (Sc. Ed.)*, 48, 620 (1959).
- (12) G. A. HALL, C. E. ROBERTS, D. M. PERRY and W. M. M. KIRBY, Erythromycin stearate and erythromycin propionate: A comparison of blood levels obtained after oral administration, *Antibiotic Med. Clin. Therapy* 7, 231 (1960).

- (13) H. A. BLOUGH, W. H. HALL and L. HONG, Serum levels and clinical results with erythromycin propionate, *Amer. J. Med. Sci.*, 239, 539 (1960).
- (14) C. C. LEE, R. C. ANDERSON, F. G. HENDERSON, H. M. WORTH and P. N. HARRIS, Pharmacology and toxicology of erythromycin propionate, *Antibiot. Ann.*, 1958-1959 p. 354.
- (15) L. SILVA CARVALHO, Os agentes tensioactivos na formulação farmacéutica, *Rev. Port. Farm.*, 19, 86 (1969).
- (16) B. CHODKOWSKA-GRANICKA and L. KROWCZYNSKY, Influence of tensides on some properties of tablets II. Tablets containing hydrophilic substances, *Acta Polom. Pharm.* 25, 447 (1968), apud *Int. Pharm. Abst.*, 6 (5), 6 0760 (1969).
- (17) P. EKWALL and L. SJOBLOM, Aqueous solutions of steroid hormones, *Acta Endocrinol.*, 4, 179 (1950).
- (18) W. APPEL, H. SCHIEVELBEIN and E. WERLE, Der einfluß von natriumlauryl auf die durchlässigkeit von membranen und die resorption aus dem verdauungstrakt, *Arzn. Forsch.*, 7, 742 (1957).
- (19) R. H. ENGEL, and S. J. RIGGI, Effect of sulfated and sulfonated surfactants on the intestinal absorption of heparin (33 678), *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 130, 879 (1969).
- (20) W. W. DUEMLING, Wetting agents. New synthetic chemicals of use in finer and more efficient topical dermatologic therapy, *Arch. Dermatol. Syphil.*, 43, 264 (1941).
- (21) K. KAKEMI, H. EZAKI, S. MURANISHI and Y. TSUJIMURA, Absorption and excretion of drugs. XL. Enhancement of the rectal absorption of pharmaceutical amines with lauryl sulfate and saccharinate anions, *Chem. Pharm. Bull.*, 17, 1641 (1969).
- (22) I. V. CAYRE e E. SELLES, Formas farmacéuticas de penicilina, *Galénica Acta*, 3, 189 (1950).
- (23) S. FELDMAN and M. GIBALDI, Effect of bile salts on gastric emptying and intestinal transit in the rat, *Gastroenterology*, 54, 918 (1968).
- (24) S. FELDMAN, R. J. WYNN and M. GIBALDI, Effect of sodium deoxycholate on gastric emptying in the rat, *J. Pharm. Sci.*, 57, 1493 (1968).
- (25) P. EKWALL and L. SJOBLOM, Aqueous solutions of steroid hormones, *Acta Endocrinol.*, 4, 179 (1950).
- (26) P. BERTRAND, L'absorption de la terramycine par la voie rectale. (Étude expérimentale).
- (27) M. S. HOFFMAN, W. E. WELLMAN, W. E. HERRELL, Failure of absorption of aureomycin and terramycin administered as a retention enema, *Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.*, 25, 463 (1950).
- (28) J. ROUX et D. BRUNEL, Diffusion de la terramycin dans l'organisme selon la voie d'introduction. Soc. des Sciences Médicales et Biologiques de Montpellier et du Languedoc Méditerranéen (10 février 1956).
- (29) S. C. BELL, J. W. HAMMAN and W. E. GRUNDY, Micromethod for assaying serum levels of erythromycin, *Appl. Microbiol.*, 17 (1), 88 (1969).
- (30) R. S. GRIFFITH, Laboratory and clinical studies with erythromycin propionate, *Antibiot. Ann.*, 1958-1959, p. 364.
- (31) R. S. GRIFFITH, M. JOINER and H. KOTTELOWSKY, Comparison of antibacterial activity in the sera of subjects ingesting propionyl erythromycin lauryl sulfate and erythromycin ethyl carbonate, *Antib. Med. Clin. Therap.*, 7, 320 (1960).
- (32) W. F. JONES Jr., M. FINLAND, Antibiotic combinations, tetracycline, erythromycin, oleandomycin and spiramycin and combinations of tetracycline with each of the other three agents — comparisons of activity in vitro and antibacterial action of blood after oral administration, *New England J. Med.* 257, 481 (1957).
- (33) F. R. HEILMAN, W. E. HERRELL, W. E. WELLMAN and J. E. GERASI, Some laboratory and clinical observations on a new antibiotic, erythromycin (Ilotycin) *Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic*, 27, 285 (1952).
- (34) H. A. HIRSCH, C. M. KUNIN and M. FINLAND, Antibacterial activity of serum of normal after oral doses of erythromycin propionate and triacetyloleandomycin, *New England J. Med.*, 260, 408 (1959).
- (35) V. C. STEPHENS, J. W. CONINE and H. W. MURPHY, Esters of erythromycin IV. Alkyl sulfate salts, *J. Amer. Pharm. Assoc.*, 48, 620 (1959).
- (36) J. R. MARVEL, D. A. SCHLICHTING, C. DENTON, E. J. LEVY and M. M. CAHN, *J. Invest. Dermatol.*, 42, 197 (1964).
- (37) K. SEIGA, K. YAMAJI, Rectal administration of antibiotics, *Kagaku Ryohogakukai Zasshi*, 1970, 18 (6), 917-21 (Japan), apud *C. A.*, 74, 74 598c (1971).

PESQUISA E IDENTIFICAÇÃO DE CANABINÓIS MEDIANTE CCF

J. Ros Ginés S. Carvalho

Licenciada em Farmácia

O estudo, sob os mais variados aspectos, dos produtos derivados da *Cannabis Sativa*, bem como dos compostos químicos que nela se têm identificado, tem assumido, nos últimos anos, um relevo muito particular.

Bastará ter em conta o elevado número de publicações e trabalhos tratando deste assunto.

Por outro lado, assumiu uma particular acuidade e importância, dadas as suas implicações sociológicas e policiais, o problema analítico dos produtos derivados desta tão conhecida planta.

Integrados numa revisão de conjunto que publicamos noutro lugar, figuram, com pormenor, o esquema de diversas reacções coradas de identificação e os métodos analíticos actualmente empregados ⁽¹⁾.

Conicionados pela dificuldade de obtenção de amostras e limitados pelas pequenas quantidades das que se dispôs, pesquisámos e identificámos canabinóis, mediante C. C. F., nas amostras cuja identidade e características se especificam em seguida.

O método cromatográfico escolhido foi o de *Korte-Sieper* ⁽²⁾, dada a nítida separação que com ele se obtém para cada um dos canabinóis, não obstante a morosidade que o método implica (impregnação prévia das placas).

As amostras ensaiadas foram:

Amostra A: Hashish, massa de pó compacta, pardo verdosa. Proveniência desconhecida.

Prova de Duquenois positiva; prova de Faubert Maunder positiva.

Amostra B: Sumidade florida acompanhada de sementes e ramos; origem: Moçambique.

Prova de Duquenois positiva; prova de F. Maunder positiva.

Amostra C: Sumidade florida triturada, liberta de ramos, com algumas sementes presentes. Amostra confiscada

pela Polícia; origem provável: Angola.

Prova de Duquenois positiva; prova de F. Maunder positiva.

Amostra D: Sumidade florida triturada, liberta de ramos, com algumas sementes presentes. Amostra confiscada pela Polícia; origem provável: Angola.

Prova de Duquenois positiva; prova de F. Maunder positiva.

Amostra E: Sumidade florida triturada, liberta de ramos, com algumas sementes presentes. Amostra confiscada pela Polícia; origem provável: Angola.

Prova de Duquenois positiva; prova de F. Maunder positiva.

Pelo seu aspecto aparente, as amostras citadas pareciam de origem recente e, possivelmente, activas pela nítida presença de resina conglomerando folhas, flores, brácteas, etc.

Amostra F: Folhas recentes de *Cannabis Sativa*, cultivada a partir de sementes fornecidas pelo Jardim Botânico da Universidade de Coimbra.

A existência de sementes no comércio e a frequência com que elas acompanham e adulteram os cigarros de Marihuana, levou-nos a pesquisar canabinóis nas mesmas, ainda que, tradicionalmente, se aceite serem inactivas.

A justificar esta pesquisa encontramos a referência de trabalhos de autores japoneses afirmando a presença de 0,5% de THC em sementes.

Os ensaios realizaram-se sobre 4 amostras de sementes:

Amostra a: adquirida no comércio de floricultura de Lisboa.

Prova de Duquenois negativa. Prova de Faubert Maunder negativa.

Amostra b: fornecida pelo jardim botânico da Universidade de Coimbra (data da colheita: 16-X-69).

Prova de Duquenois negativa; Prova de Faubert Maunder negativa.

Amostra c: procedente de Lobito (Angola).

Prova de Duquenois negativa; Prova de Faubert Maunder negativa.

Amostra d: pertencente à colecção do Laboratório da Polícia Científica de Lisboa.

Prova de Duquenois negativa; Prova de Faubert Maunder negativa.

TÉCNICA

Usaram-se placas preparadas (20 × 20 cm) de sílica gele F 254, Merck; com uma espessura de camada 0,25 mm.

Preparação das amostras: 50 mg de cada uma das amostras vegetais (prèviamente seleccionadas, eliminando sementes e fragmentos de troncos) foram extraídas num pequeno tubo de ensaio, com 3 x 1 ml de éter de petróleo de baixo ponto de ebulição (40°—60° C).

Filtrados os extractos e reunidos, evaporou-se até um terço do volume inicial; destes extractos, aplicaram-se nas placas 15 μ l, procurando-se que a gota aplicada em 3 ou mais fracções não ultrapassasse um diâmetro de 3 mm.

Da amostra de Haschisch, presumivelmente mais rica em canabinóis, pesaram-se sòmente 8 mg, seguindo-se um processo extractivo análogo ao citado.

Preparação das placas de acordo com a técnica de Korte:

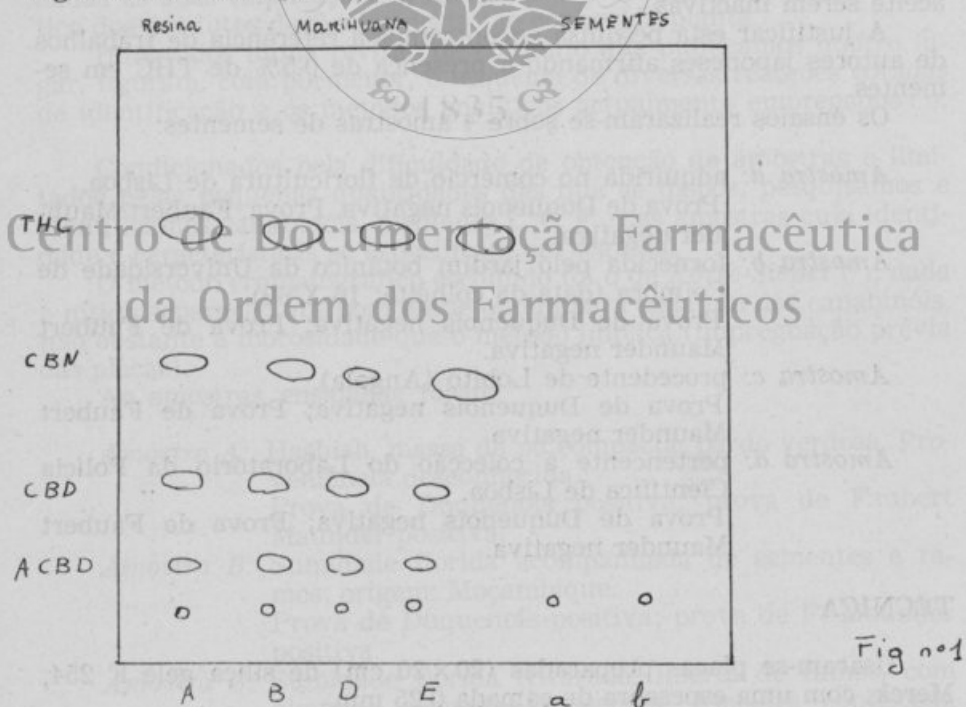
Uma tina cromatográfica de dimensões adequadas foi saturada com a mistura de N, N-dimetilformamida e tetracloreto de carbono na proporção de 60 : 40, em volume; para permitir e assegurar a saturação uniforme da câmara, recobriram-se as paredes laterais com papel de filtro.

A impregnação da placa é lenta. 85 minutos foi a média observada até a frente alcançar 14,5 cm.

Nestas placas, assim impregnadas e posteriormente secas ao ar, aplicaram-se 15 μ l das soluções extractivas.

Desconhecendo, inicialmente, a riqueza das amostras, foram depositados: 10, 15, 20 e 25 μ l em ensaios prévios de orientação.

Das amostras de que se dispunha, uma aplicação de 15 μ l deu lugar a uma boa separação (Fig. 1).



As placas foram colocadas a desenvolver numa tina saturada de cicloexano e, posteriormente, borrifadas com uma solução a 1% de «Echtblau salz B» em água-metanol (1:3), obtendo-se 4 manchas bem diferenciadas, tanto pelo seu Rf como pela sua cor, vermelha, laranja, violeta e vermelho tijolo que, de acordo com Korte, identificámos como sendo, respectivamente: ACBD, CBD, CBN e THC.

As amostras ensaiadas tinham, de acordo com os resultados da cromatografia, composição similar, o que confirma a presumível origem comum (a amostra E apresentou-se como ligeiramente mais madura, antiga, pois a mancha correspondente ao CBN era mais intensa, e mais diluída a correspondente ao ACBD).

Também a origem recente das amostras foi confirmada pela presença de manchas de ACBD nos cromatogramas.

Com os extractos correspondentes às folhas da *Cannabis Sativa* cultivada, não obtivemos mancha alguma. As condições de desenvolvimento destas plantas foram muito precárias, não se observando, mesmo na altura da floração, exsudação de resina.

A cor das manchas obtidas não se altera, conservando o mesmo aspecto passadas algumas semanas.

Na pesquisa de canabinóis nas sementes, o processo extractivo seguido foi o seguinte:

Os frutos foram cuidadosamente escolhidos, de modo a não se apresentarem sujos com restos aderentes de resina, e totalmente desprovidos de restos de brácteas. Com efeito, a presença de tais resíduos poderia induzir em erro de interpretação os resultados obtidos.

3 gramas de frutos foram extraídos com $n \times 20$ ml de éter de petróleo, evaporando cada extracto até peso constante. O resíduo foi retomado com clorofórmio e extraído com 6×2 ml de solução de carbonato de sódio 2N.

Ao fim das extracções, neutralizaram-se as fases aquosas com HCl 2N e extraíram-se com clorofórmio (2×10 ml). Evaporado o extracto a pressão reduzida e pesado o resíduo, repetiu-se a operação até peso constante. Este resíduo, redissolvido em éter de petróleo, foi aplicado nas placas em quantidades crescentes 10, 20, 25 e 30 μ l, cromatografando segundo a técnica descrita. Nenhuma mancha se evidenciou.

Parece, pois, possível afirmar que, nas amostras de frutos de *Cannabis Sativa* ensaiadas, não se encontrava presente nenhum composto de tipo canabinólico ou, pelo menos, não estava presente em quantidades susceptíveis de serem detectadas, nas condições de trabalho descritas.

Simultaneamente em outro ensaio, 3 g de sementes não escolhidas foram lavadas com 10 ml de éter de petróleo, o líquido de lavagem foi filtrado e evaporado a um terço do volume e aplicado numa placa. Cromatografada esta, deu lugar à formação de uma ténue mancha vermelha no ponto de partida, a qual interpretámos como vestígios de canabinóis, consequência dos possíveis restos de resina aderente às sementes não escolhidas.

SUMÁRIO

Várias Amostras de Marihuana, presumivelmente de origem africana, foram analisadas por CCF, seguindo a técnica de *Korte e Sieper*. Identificaram-se THC, CBN, CBD e ACBD.

Também algumas amostras de sementes foram analisadas, sem assinalar-se a presença de qualquer canabinol.

SUMMARY

Some Marihuana samples from presumable African origin were tested by TLC according to *Korte and Sieper's* method. ACBD, CBD, CBN and THC spots were identified.

Also some seed samples were assayed, but no Cannabinoid was present.

BIBLIOGRAFIA

Trabalho realizado nos Laboratórios da Polícia Científica (Lisboa).

(1) J. Ros Ginés S. Carvalho, Cannabis Sativa, História, Farmacologia e Química, *Rev. Port. Farm.*, 21, 147 (1971).

(2) F. Korte; N. Sieper, Zur Chemischen Klassifizierung von planzen XXIV Untersuchung von haschisch — inhaltsstoffen durch dünnshicht chromatographie, *J. Chromatog.* 13, 90-98 (1964).

Centro de Documentação Farmacêutica

Agradece-se ao seu Director Prof. Dr. A. C. Ralha as facilidades concedidas para a realização deste trabalho. Agradecemos também ao Ex.^{mo} Prof. Dr. A. Fernandes, Director do Instituto Botânico de Coimbra, a gentil oferta de sementes de *C. Sativa*.

REVISÃO DE CONJUNTO

CANNABIS SATIVA

J. Ros Ginés S. Carvalho

Licenciada em Farmácia

INTRODUÇÃO E HISTÓRIA

O cânhamo indiano, *Cannabis sativa*, conhecido desde a antiguidade (a droga vem descrita num herbário chinês datado 2700 anos A. C. (1)), tem sido usado sob diferentes formas (fumado, ingerido ou inalado) e designado sob diferentes denominações vernáculas, por diversos povos.

Foi tradicionalmente usado como anestésico, na cirurgia, pela medicina chinesa, sem que se assinale neste país o emprego como estupefaciente.

Na Índia, é consumido sob os nomes de *Bhang* (preparações a partir de folhas e sumidades floridas femininas de plantas silvestres), formando parte de bebidas açucaradas e decoctos, com água ou leite; *Ganja*, massas resinosas e sumidades floridas de plantas cultivadas, geralmente destinadas a ser fumadas ou ingeridas como bebida do tipo *Bhang* (o conteúdo, em princípios activos é superior ao de estoutro); *Charras* ou *Chiras*, resina bruta, obtida ao recolher o exsudado das sumidades, e, logo, amassada e conglomerada em massas que se destinam a ser fumadas ou ingeridas com o nome de *Manja* em preparações muito complexas (doces contendo canela, mel, ópio, manteiga, etc). Preparada com gordura, é a *Monea*, tradicional no Tibet.

A resina, muito activa e quase pura, constitui o *Hachish*, forma em que a droga é fumada no Médio Oriente e no Egipto, frequentemente moldada em finos bastões que se introduzem no interior dos cigarros comuns (2).

Kif é o nome usual no Norte de África. Na África do Sul (3), é conhecida pelo nome de *Dagga*, tendo nas tribus indígenas as mais diversas aplicações: os *Mfengu* usam as folhas como remédio contra a malária, antrax, disenteria. Os *Shoto*, misturam as sementes nas papas para as crianças, no desmame. Os *Hotentotes* usam-na, não só como remédio contra as mordeduras, mas também, como intoxicante.

(*Dagga* é também o nome dado à espécie *Leonotis leonourus*, espécie que os indígenas acreditam poder substituir ou confundir-se

com a *Cannabis sativa* — suposição infundada, já que se as folhas daquela espécie se assemelham com os folíolos isolados da *Cannabis*, nem os caracteres histológicos nem a composição química justificam tal confusão).

Se na África Austral o uso da *C. sativa* se mostra tradicional, na costa oeste africana parece de recente introdução. ASUNI (4), no seu estudo sociológico sobre o abuso do cânhamo na Nigéria, cita, a confirmar esta hipótese, a não existência dum nome vernáculo para designar a droga. Provavelmente, a penetração foi devida ao regresso das tropas da Segunda Guerra Mundial, e o consumo seria dependente de culturas locais muito reduzidas mas amplamente distribuídas, localizando-se nos portos da costa ocidental (Acra, Lagos, etc), os pontos de maior tráfego e dos quais partiria, possivelmente, para Inglaterra.

Em Angola o cânhamo é conhecido com o nome de *Liamba*.

O cânhamo foi introduzido na América do Norte pelos colonizadores, com a finalidade de aproveitamento das fibras textéis (cordas, tecidos, sacos).

Dessas primitivas plantações, deriva o cânhamo espontâneo de Kentucky, Minnesota e Arkansas.

Na América central e Brasil, penetrou provavelmente mediante sementes trazidas durante o comércio de escravos. Hoje a *Cannabis* é extensamente fumada no Brasil (5), sob o nome de *Maconha*; inicialmente, nas classes sociais pobres do norte e nordeste e, actualmente, em todas as regiões do país e noutras camadas sociais. A droga é quase totalmente procedente do estado de Alagoas, concentrando-se no porto de Santos um dos pontos de tráfego ilícito mais importante da América do Sul. (A procedência será provavelmente do estado de Alagoas, já que o clima do estado de São Paulo não favorece a sua cultura). É provável que o consumo da maconha forme parte dos rituais afro-brasileiros da Baía.

No México, desenvolve-se com grande facilidade, em especial nos estados de Sinaloa, Sonora e Durango, donde, através de 2400 km de fronteira, penetra clandestinamente nos Estados Unidos.

A droga fumada nos E. U. A. (23), na sua maior parte de origem mexicana, sob os nomes de «*Marihuana*», «*Pot*», «*Grass*» etc, é em regra, de baixa actividade, pela frequente adulteração, com folhas e caules, não só de plantas femininas, como também de masculinas, cujo conteúdo em tetraidrocannabinol é notavelmente menor. A droga apresenta-se, correntemente, como cigarros de confecção manual: «*Reefers*», «*Joints*», a miúdo com papel castanho («*Brownies*»).

Um novo método de obtenção da resina foi recentemente citado pelo *Bureau of Drug Abuse Control*, assinalando a aparição no mercado clandestino duma nova concocção de *Cannabis* sob o nome de *Smash*. O traficante aquece a marihuana em presença de acetona para a obtenção do óleo de cânhamo; a seguir este óleo é junto ao hachish, para formar uma massa de aspecto parecido com o alcatrão, a qual se divide em pequenas esféculas que são fumadas (6).

A introdução da droga na Europa é relativamente recente (7), provavelmente da altura do regresso do Egipto do corpo de exército expedicionário de Napoleão. (Com efeito, uma ordem do dia 17 Vendi-

miário do ano IX, do Comandante Geral do Exército, proíbia aos soldados o uso do hachish, uso que se propagava rapidamente entre eles).

No fim do século XIX, núcleos de artistas e escritores (Baudelaire, Gautier, Lautrec) mantiveram o culto do haschish, sob a pretença influência criadora artística que a droga lhes proporcionava (Club dos fumadores de Haschish).

Fora isso, raro ou nenhum uso da *Cannabis* como estupefaciente se assinala na Europa até anos recentes.

Do Norte de África, a droga tem-se introduzido, nos últimos tempos, pela costa mediterrânea de Espanha. O tráfico, sob o nome de *Grija*, parece recentemente incrementado, facto ao qual não deve ser estranha a afluência do turismo (Comunidades Hippias na ilha de Formentera, onde no verão de 1969, se desenvolveram rapidamente culturas de cânhamo), bem como a fixação de «pieds noirs» (30 000 só na zona de Alicante) e, em especial, a mão-de obra imigrante norte-africana (*).

O emprego tradicional como narcótico nas medicinas orientais presuppôs a sua utilização como analgésico e calmante, e como tal passou a figurar nas farmacopeias, sob a forma de extractos e tinturas. A F. P. de 1870 descreve a sumidade florida e os frutos

Extracto de cânhamo, alcoólico

Cânhamo indiano em pó grosso	1000 gramas
Alcool a 90°	6000 gramas

«Macere por 2 dias em metade do álcool,coe espremendo, submeta o resíduo a igual maceração com o álcool restante, repita a coadura, misture os dois líquidos, destile até obter dois terços do álcool empregado; evapore o resíduo a banho de água até a consistência de extracto mole.»

A tintura correspondente (alcoólito) é obtida pela solução de 50 g do anterior extracto em 950 g de álcool de 85°, seguida de filtração.

Embora extractos e tinturas tenham sido os preparados galénicos mais correntes, o cânhamo figurou também na formulação de preparados complexos, como poções, gotas, pílulas, etc.. Assim, transcrevemos, a título de curiosidade, do formulário magistral de O. MARTIN (8), as duas seguintes fórmulas:

Pílulas

Extracto de Cannabis Indica	} aa	0 gr. 01 cent.
Pó de belladona		

(*) É interessante assinalar a importância económica que o cultivo e as indústrias de transformação do cânhamo, em competência com o esparto, tiveram num passado recente no Levante Espanhol, (cordoaria e derivados, solas de sapatos, a típica «espartenya»). Lembre-se a importante fábrica «El Cànem del Poble Nou», em Barcelona, etc..

Pó de coca	0 gr. 05 —
Cloridrato de morfina	0 gr. 001 mill.
Pó de alcaçuz	q. s.

Para uma pilula: F. n.º 40

Poção

Extracto fluido de <i>Cannabis indica</i>	1 gr.
Álcool de 90°	} ãa 10 gr.
Glicerina officinal	
Xarope de flor de laranjeira	60 gr.
Água destilada de meliissa q. s. p.	150 cent. cúb.

De 2 a 4 colheres cheias, por dia.

Os preparados de *Cannabis* foram empregados no tratamento de gastralgias, enchaquecas, dores menstruais, como sedativo em pruridos, etc.

A revisão das suas propriedades, frente a constante aparição de novos analgésicos de síntese, a inconstância dos seus efeitos, dada a dificuldade de doseamento dos princípios activos, o temor em criar habituação e toxicomanias, tornou obsoleto o seu uso, e originou a supressão nas distintas farmacopeias.

Não foi nunca inscrito na Farmacopeia Internacional.

A USP X descreveu, pela primeira vez, um extracto padronizado, mediante o método de ataxia no cão (método que ainda hoje é usado para a valoração da actividade fisiológica da droga), mas suprimiu-o, logo, na USP XII (1942).

Só mais tardiamente é excluído das farmacopeias mais tradicionalistas. Assim, ainda inscrito no Codex francês de 1949, é eliminado na VIII edição (1965). Figura no C. U. Italiano de 1952, mas já não na edição actual, permanecendo ainda na FP de 1946 e na IX edição de Farmacopeia Espanhola.

O cânhamo indiano está sujeito, segundo a legislação portuguesa, ao regime dos estupefacientes, ao ser incluído no decreto 12 210 de 24-8-1926 e ratificado pelo Decreto n.º 30 142 de 16-12-1939 que, curiosamente, faz a discriminação de exceptuar as preparações de uso externo. Esta discriminação é assaz curiosa, já que na múltipla bibliografia consultada não encontramos nenhuma referência ao uso externo.

Nova legislação foi publicada, Decreto-Lei n.º 420/70 (no Diário do Governo de 3 de Setembro de 1970), na qual a lista anexa das drogas consideradas estupefacientes inclui:

n.º 18: «*Cannabis* — sumidades floridas ou com fruto, da planta *Cannabis sativa* L. (à excepção das sementes (*)) e das

(*) Dado que o Artigo 2.º, no seu parágrafo 1, proíbe o cultivo das plantas das quais se possam extrair estupefacientes, parece um contra-senso a aceitação da existência das sementes.

folhas não unidas às sumidades), das quais não se tenha extraído a resina, qualquer que seja a designação que se lhe dê.»

n.º 19: «Resina de cannabis — (resina separada, em bruto ou purificada obtida a partir da planta de cannabis)».

Nos E. U. A. (12), desde 1937, uma regulamentação, O Tax Act, permitia o seu uso, dispensação e posse só a médicos e comerciantes registados (sendo a taxa correspondente de \$1 por onça, enquanto para os não registados a taxa era de \$100 a onça).

Pouco depois, apareceu o primeiro estudo sociológico e científico sobre a Marihuana, o «Relatório La Guardia» efectuado pela New York Academic of Sciences, em 1939, a pedido do Mayor de Nova York, o qual se mantem ainda como fonte de consulta.

Esta legislação não restringiu, de modo algum, o progresso do consumo da droga que atinge, hoje em dia, 10% da população americana.

O Tax Act foi contestado como anticonstitucional em 1969 e nova legislação foi proposta (14, 15), enquanto correntes de opinião advogam a liberalização do seu uso.

Opiniões de investigadores, médicos e sociológicos, recolhidas em inquéritos, e expostas em múltiplas publicações, são unânimes em reconhecer que, se a liberalização não é lógica e seria arriscada, as severas penas legais decretadas actualmente tem sido inúteis e contra-productentes (148).

Acompanhando a generalização do consumo, uma volumosa literatura (13, 10) tem aparecido. Literatura científica e pseudocientífica, diversa, confusa e contraditória.

Um intento de revisão é apresentado a seguir, sem abordar a problemática social e legal que o problema *Cannabis* envolve: motivação, proselitismo, escalada para outras toxicomanias, etc.

Certo é que, com honesta e imparcial objectividade, se torna difícil conciliar o coro de vozes escandalizadas pelo seu uso com a normal aceitação do consumo sem controlé do álcool e a sua promoção como riqueza nacional nas nações ocidentais, como é difícil aceitar, nas mesmas páginas da imprensa e nos mesmos écrans de T. V., a propaganda duma marca A ou B de tabaco e a divulgação de um peditório contra o cancro.

Dos efeitos a distância da *C. sativa* nada se conhece, enquanto a cirrose hepática é um válido testemunho dos efeitos do álcool.

A despeito dos numerosos trabalhos publicados e do avanço no conhecimento da composição química, a farmacologia da *Cannabis* e os seus efeitos são ainda muito limitadamente conhecidos.

Um completo programa de investigação foi iniciado pelo NIMH (National Institute of Mental Health) (11), e é lógico esperar no futuro o esclarecimento de muitas questões e incógnitas que a *Cannabis* suscita, bem como o reconhecimento das suas múltiplas potencialidades, como sedante, analgésico, orexigénico (149) etc., e, paralelamente, a queda dos preconceitos, lugares comuns e mitos que a têm acompanhado no decurso da História.

DESCRICÃO BOTÂNICA

Angiosperma dicotiledónea, pertencente à ordem das *Urticales*, incluída por uns autores na família das Moráceas, enquanto para outros forma, junto com o género *Humulus*, uma família independente: a das Canabináceas (16, 17).

Planta herbácea, anual, vigorosa, de porte erecto (o caule tem secção angulosa), alta, que atinge de 1 a 2 metros. Unixexual dióica; polinização anemógama.

Folhas opostas, palmissectas, com 5 ou 7 folíolos, divididos até o pecíolo; peninervadas. As inferiores, com pecíolo de 5 a 6 cm. As folhas superiores alternadas, sésseis, e com menor número de folíolos (três). Folhas com os bordos serrados, recobertas de pêlos, ásperas ao tacto.

Flores verdes. As masculinas, (Fig. 1) dispostas em panículas, com 5 tépalas livres e 5 estames pendentes (Fig. 1-b). As femininas (Fig. 2), agrupadas em espigas de glomérulos, estão dispostas na axila duma bráctea, persistente, que envolve o fruto. Perianto singelo, indiviso, estreitamente aplicado contra o ovário. Dois estigmas. Flor hipogínea (ovário súpero; unilocular e uniovular). Óvulo campilotropo.

Fruto em aquénio (monospermo), medindo 5 mm de comprimento por 2 ou 3 mm de largura. Observa-se um fino reticulado na superfície.

A semente sem albúmen, com o embrião curvo, é muito rica em óleos secantes (linoleico e linolénico), chegando a representar o ácido linolénico 20 ou 30% do conteúdo total dos ácidos gordos (18).

Originária dos planaltos da Ásia Central, encostas do Himalaia, Nepal, a espécie tem-se disseminado através de culturas para a beneficiação das fibras textéis, das sementes e da resina, por todas as latitudes e climas. (Só os climas extremamente frios e os equatoriais ser-lhe-iam adversos). Cresce espontânea, sem exigências de terreno, ainda quando muitas das plantas supostas espontâneas são restos de antigas culturas. É típica a plantação clandestina em pequenas clareiras no meio de outras culturas (por ex. milho, cana do açúcar, etc.) que escondem a visão da plantação da *Cannabis* do exterior.

Tão extensa distribuição geográfica dá lugar a diferentes tipos ecológicos, sem, não obstante, conduzir a uma nítida diferenciação morfológica.

Assim, actualmente, aceita-se a existência duma só espécie monotípica: sativa, sem se considerar as variedades: indica, chinensis, silvatica, americana, ruderalis, erratica, etc. para as quais CANDOLE, em 1869, chegou a dar descrições correspondentes à diferenciação taxonomónica.

Na época da floração, as sumidades floridas dos pés femininos (brácteas) recobrem-se duma resina cuja função, não perfeitamente estabelecida, seria, ao que parece, para defesa da planta contra a secura do ambiente, protegendo os grãos na altura da maturação (7, 2).



Fig. 1-a



Fig. 1-b



Fig. 2



Centro de Documentação Farmacéutica
da Ordem dos Farmacêuticos

A dos quantidades de fibra e a quantidade de resina secretada dependem das condições de clima e solo. Em regiões mais ou menos úmidas, com solos ricos em teor de húmidade elevada, o crescimento das plantas é rápido e a planta produz fibras longas e resina de baixa viscosidade. Em solos secos, a planta produz fibras curtas e resina de alta viscosidade. A fibra é curta, com um teor de resina de 10 a 15%. Para beneficiar as fibras, procede-se ao tratamento das mesmas com ácidos desulfurantes e obtenção de fibras curtas e resina de alta viscosidade. Este tratamento é denominado de "desulfuramento" e "desulfuramento de resina".

As fibras são utilizadas para a fabricação de papéis e para a produção de fibras têxteis. A resina é utilizada para a fabricação de resinas sintéticas e para a produção de resinas naturais. A resina é utilizada para a fabricação de resinas sintéticas e para a produção de resinas naturais. A resina é utilizada para a fabricação de resinas sintéticas e para a produção de resinas naturais.

A boa qualidade da fibra e a quantidade da resina secretada dependem das condições de clima e solo. Em regiões frias ou temperadas, em solos retendo um teor de humidade elevado ou com precipitações regulares, a planta produz fibras longas e a secreção da resina é reduzida. Em solos secos, climas quentes ou com regime de chuva escassa, a fibra é curta, enquanto aumenta a secreção da resina, assim como varia a sua composição (3).

Para beneficiar as fibras, prefere-se as plantas masculinas, mas nas culturas destinadas à obtenção de resina, uma vez polinizadas as plantas femininas, eliminam-se os pés masculinos para permitir um melhor desenvolvimento daquelas (*).

HISTOLOGIA E EXAME MICROSCÓPICO

Estrutura do caule

O cortex está formado por um colênquima e vários estratos de parênquima. Nos caules largos o floema apresenta zonas de fibras mais ou menos lignificadas e o xilema com forte lignificação. Raios medulares com a largura duma célula.

A medula é, com frequência, oca. Observam-se grande número de rosetas de oxalato de cálcio.

Estrutura da folha

O corte histológico das folhas e brácteas da *Cannabis* apresenta um mesófilo assimétrico (3, 7, 19, 21) compostos por um parênquima em palissada (Fig. 3), contendo numerosas rosetas de oxalato de cálcio e um tecido lacunar formado por várias filas de células. Na epiderme superior, observam-se pêlos cystolíticos; na inferior, pêlos tec-toriaes, unicelulares, muito compridos, ambos encurvados na direcção do ápice da folha. Estomas (nas brácteas, os estomas estão em ambas as epidermes) e pêlos glandulosos de pedicelo comprido, multicelular (tipo labiadas) (Fig. 4).

Microscopia do pó

No reconhecimento do pó de *Cannabis* (20), destacam-se como elementos de identificação:

- a) Os cystolitos (Fig. 5).

Tricomas unicelulares muito alargados na base, contendo um depósito bem definido de carbonato de cálcio, na porção basal. (A presença do carbonato de cálcio nos pêlos é confir-

(*) DÂMASO GOMES cita (147) a cultura no Ribatejo de plantas utilizadas pela indústria textil, destinadas a uma fábrica de Torres Novas.

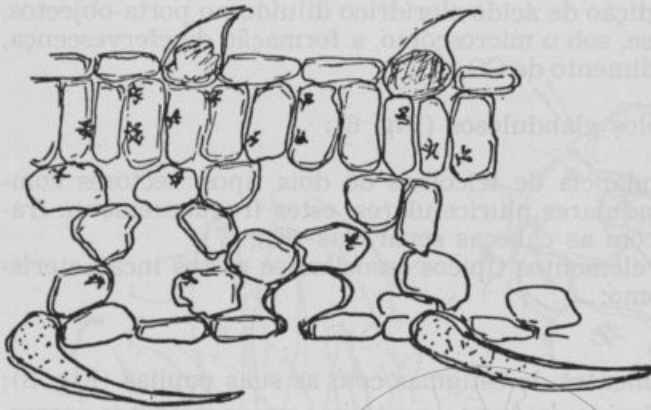


Fig. 3



Fig. 4



Fig. 5



Centro de Documentação Farmacéutica
da Ordem dos Farmacêuticos

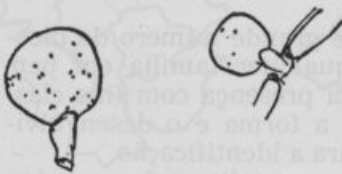


Fig. 6



Fig. 7

mada pela adição de ácido clorídrico diluído no porta-objectos, observando-se, sob o microscópio, a formação de efervescença, por desprendimento de CO_2).

b) Pequenos pêlos glandulosos (Fig. 6);

c) Grande abundância de tricomas de dois tipos: tectores compridos e glandulares pluricelulares, estes frequentemente fragmentados com as cabeças separadas (Fig. 7).

A estes elementos típicos associam-se restos incharacterísticos, tais como:

- Fragmentos de estigmas com as suas papilas (Fig. 8);
- Porções da epiderme superior com os cistolitos correspondentes;
- Porções da epiderme superior duma bráctea com estomas (Fig. 9);
- Secções mostrando restos da palissada e os cristais de oxalato;
- Restos do parênquima do perigónio com células poligonais e células sinuosas (Fig. 10);
- Fragmentos de tecido esclarenquimatoso do pericarpo (Fig. 11), secções de vasos em espiral e do tecido latífero (Fig. 12).

Não obstante a presença dos elementos dados como característicos — cistolitos e tricomas glandulares pluricelulares — a frequência dos primeiros nas Borragináceas e noutras plantas da família das Moráceas (17), não permite dar como positiva uma amostra, sem a conjunta positividade dum ensaio químico. Por outro lado, o exame microscópico só interessa no caso da droga se apresentar sob a forma de restos vegetais (cigarros de Marihuana), dado que na resina (Haschish) só escasos elementos histológicos se poderão encontrar.

Num recente trabalho, NAKAMURA (22) revê mais de 600 espécies, confirmando a presença de cistolitos em 82 espécies distribuídas pelas seguintes famílias: Urticáceas (*Parietaria officinalis*, *Urtica urens*, *U. dioica*) Moráceas (*Ficus elastica*), Cannabináceas (*Humulus Lupulus*) Acantáceas, Ulmáceas, Borragináceas, Cucurbitáceas, Losáceas, Verbenáceas (*Lantana camara*, *Verbena officinalis*), Escrofulariáceas, Campanuláceas, Gesneriáceas.

Os cistolitos encontram-se nas folhas de grande número de dicotiledóneas, sem incidência marcada para qualquer família em particular, não se considerando, portanto, a sua presença com fins classificativos. Não obstante, em alguns casos, a forma e o desenvolvimento dos cistolitos representam critérios para a identificação.

Enquanto na *Cannabis* e no *Humulus* os cistolitos são protuberâncias rugosas com um depósito na porção basal, outros são punti-



Fig. 8

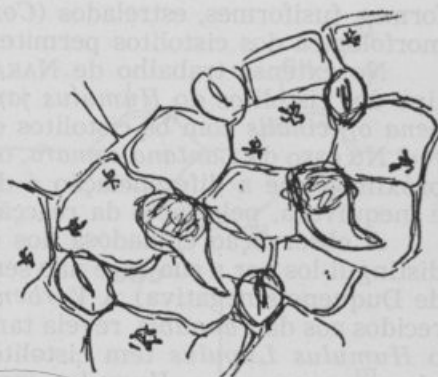
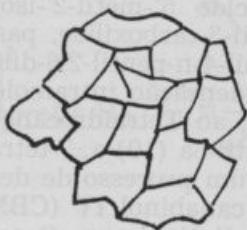


Fig. 9



Fig. 11

Centro de Documentação Farmacéutica da Ordem dos Farmacêuticos



Figs. 10



Fig. 12

formes, fusiformes, estrelados (*Cordia gerascanthus*). A diferenciação morfológica dos cistolitos permite, pois, a identificação da *Cannabis*.

No extenso trabalho de NAKAMURA, destaca-se a semelhança do tipo dos cistolitos do *Humulus japonica* e da *Lantana camara* e *Verbena officinalis* com os cistolitos do cânhamo.

No caso da *Lantana camara*, o tamanho e a forma são de tal modo próximos que a diferenciação é difícil; não obstante, a identificação é inequívoca, pelo facto da reacção de Duquenois ser negativa.

A observação cuidadosa dos cistolitos do género *Urtica* permite distingui-los por a sua base não ser alargada como na *Cannabis* (Prova de Duquenois negativa) A *Verbena officinalis*, de cistolitos muito parecidos aos da *Cannabis*, revela também prova de Duquenois negativa; o *Humulus Lupulus* tem cistolitos algo mais curtos que os do cânhamo, enquanto o *Humulus japonica*, ao contrário, de maior comprimento. As folhas do *H. Lupulus* não dão positiva a prova de Duquenois, mas as flores dão intensa coloração púrpura com o reagente de Duquenois, cor que, não obstante, não passa à fase clorofórmica. Enquanto se observam diferenças morfológicas entre cistolitos do *H. Lupulus* e os do *H. japonica* (este originário do Japão e da China), os cistolitos da *Cannabis* não mostram diferenças estruturais significativas em relação à origem geográfica (espécies colhidas na Europa ou Ásia são comparáveis com as colhidas na América).

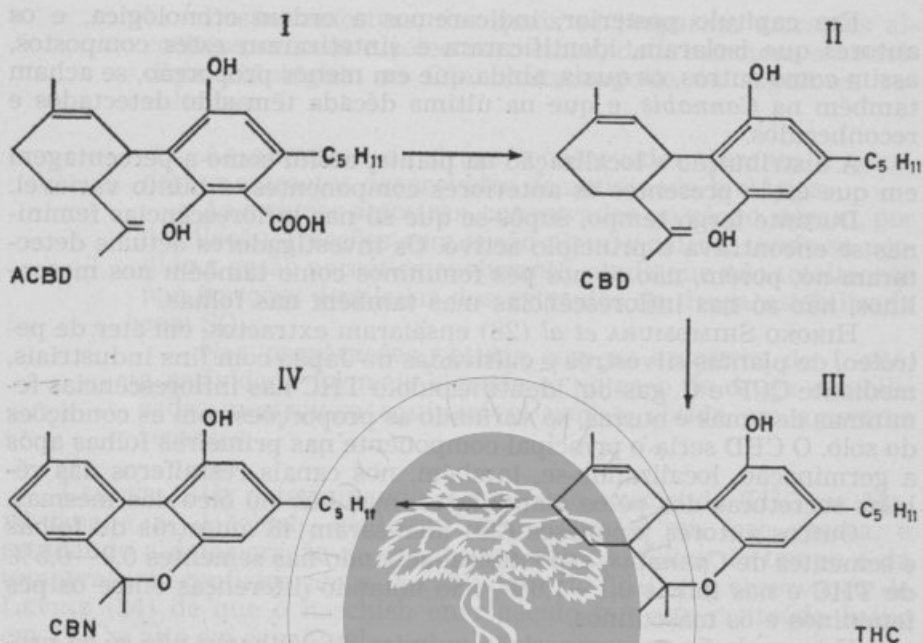
TRANSFORMAÇÕES FITOQUÍMICAS DOS CONSTITUENTES DA RESINA DE CANNABIS

Na resina que, na época da floração, recobre as inflorescências, assinalaram-se, desde a antiguidade, os princípios que, pelas suas propriedades analgésicas e psicotrópicas, constituem a droga activa.

Está já hoje assente que essa resina é constituída por um conjunto de substâncias fenólicas, derivadas do difenilo e do dibenzopirano, as quais, genéricamente, se hão denominado canabinóis.

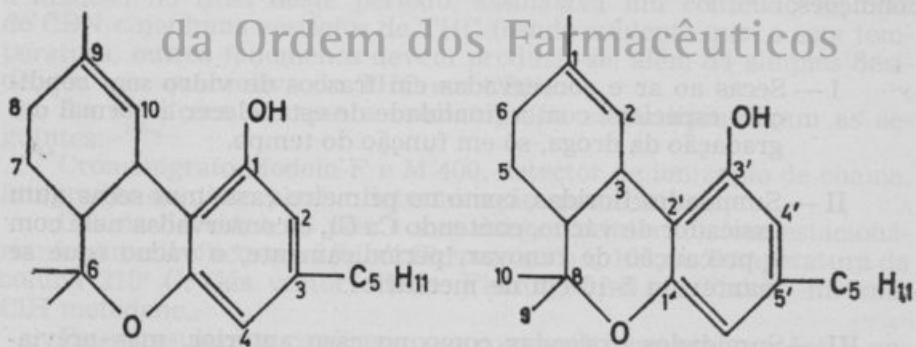
Estas substâncias sofrem um processo de biotransformação fitoquímica, progressivo (24, 25, 26 e 27). O ritmo e a natureza deste processo, gradual, é afectado por vários factores, notòriamente de tipo ecológico e climático.

A primeira fase desse processo seria a descarboxilação do Ácido canabidiólico I (ACBD), ácido 5'-metil-2'-isopropenil-4-n-pentil-2,6-diidroxi-1', 3'-tetraidrodifenil-3-carboxílico, passando a Canabidiol II (CBD), 5'-metil-2'-isopropenil-4-n-pentil-2,6-diidroxi-1' 3' tetraidrodifenilo, o qual, por uma condensação intramolecular, daria lugar, fechando-se o anel do pirano, ao Tetraidrocannabinol III (THC), 1 hidroxi-3n-pentil-6, 6, 9, trimetil-6a (10) a, 7-tetraidro-6H dibenzo [bd]-pirano. Este composto, por um processo de desidrogenação, dá lugar ao termo final da série ou cannabinol IV (CBN), 1-hidroxi-3-n-pentil 6, 6, 9 trimetil-6H dibenzo [bd] pirano. O esquema desta transformação fitoquímica é indicado a seguir:

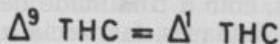


Dois sistemas de numeração se têm seguido até agora na nomenclatura dos canabinóis (11, 12, 24). Um deles segue as regras da nomenclatura dos compostos de tipo «pirano». Não obstante, naqueles canabinóis que não são piranos não é possível manter esta numeração, o que obriga que, nestas séries, átomos de carbono tenham n.º diferente. Uma segunda numeração, baseia-se na origem biogenética, considerando os canabinóis como monoterpênos substituídos; neste caso, a numeração adoptada é comum para todos os tipos de canabinóis, mantendo os átomos de carbono sempre o mesmo número.

A correspondência entre ambas as numerações é a seguir indicada:



Numeração
tipo «pirano»



Numeração
tipo «monoterpene»

Em capítulo posterior, indicaremos a ordem cronológica, e os autores que isolaram, identificaram e sintetizaram estes compostos, assim como outros, os quais, ainda que em menor proporção, se acham também na *Cannabis*, e que na última década têm sido detectados e reconhecidos.

A distribuição e localização na planta, assim como a percentagem em que estão presentes os anteriores componentes, é muito variável.

Durante largo tempo, supôs-se que só nas inflorescências femininas se encontrava o princípio activo. Os investigadores actuais detectaram-no, porém, não só nos pés femininos como também nos masculinos, não só nas inflorescências mas também nas folhas.

HIROKO SHIMOMURA *et al* (28) ensaiaram extractos, em éter de petróleo, de plantas silvestres e cultivadas no Japão com fins industriais, mediante CCF e C. gas-liq, identificando o THC nas inflorescências femininas de umas e outras, só variando as proporções com as condições do solo. O CBD seria o principal componente nas primeiras folhas após a germinação, localizando-se, também, nos canais resiníferos das células secretoras dos pêlos glandulares, mas não no óleo das mesmas.

Outros autores japoneses (29) analisaram 46 amostras de folhas e sementes de *Cannabis*, espontânea, achando nas sementes 0,0—0,5% de THC e nas folhas 0,1—1,6%, não notando diferenças entre os pés femininos e os masculinos.

Esta variação na composição química do cânhamo não só se processa no transcurso da vida vegetativa da planta, mas também, uma vez já colhidas, como consequência dum processo de envelhecimento, durante o período de conservação e armazenagem. Por isto, insere-se a indicação de reposição anual nas farmacopeias e é de citar que o consumidor habitual na Índia, em Marrocos, etc., rejeita a droga que tem mais de um ano.

COVELLO, em 1948 (30), estudou a degradação da actividade farmacológica da *Cannabis*, em relação ao envelhecimento das amostras e ao tipo de conservação.

De plantas cultivadas no Jardim Botânico da Universidade de Nápoles, conservaram-se amostras durante 1 e 2 anos, nas seguintes condições:

da Ordem dos Farmacêuticos

- I — Secas ao ar e conservadas em frascos de vidro sem condições especiais; com a finalidade de estabelecer a normal degradação da droga, só em função do tempo.
- II — Sumidades floridas, como no primeiro caso, mas secas num exsiccador de vácuo, contendo Ca Cl_2 e conservadas nele com a precaução de renovar, periodicamente, o vácuo (que se manteve a 5-10 cm de mercúrio).
- III — Sumidades exsicadas como no caso anterior, mas previamente submetidas a um ambiente com 1—1,5% de SO_2 , durante 48 horas, com a finalidade de apreciar, se a inactivação prévia das oxidases, favorecia uma melhor conservação.

Destas amostras, das quais se preparam extractos alcoólicos, etéreos e «óleo vermelho», determinou-se a actividade fisiológica no Cão, destacando-se os seguintes resultados:

As amostras de droga, conservadas durante 2 anos, deram extractos desprovidos de actividade biológica.

As mesmas amostras, conservadas no vácuo, deram, por destilação, fracções com acção neurosedativa, tendo-se perdido a acção narcótica enebriante, ainda que não totalmente nas fracções destiladas dos extractos de droga estabilizada com SO_2 .

Nas preparações obtidas com as amostras de 1 ano, a actividade foi mais elevada e, no caso de droga estabilizada, mostrou-se equiparável com a obtida em amostras recentes.

LERNER (31), determinando o conteúdo exacto de THC na Marihuana e no Hachish, mediante cromatografia em fase gasosa, e estudando a deterioração da marihuana sob os efeitos do tempo e da temperatura, confirmaram a instabilidade do THC e a observação de LEVINE (34) de que o haschish envelhecido tem um conteúdo baixo em THC e alto em canabinol.

Assim, conservaram-se 3 amostras de marihuana à temperatura ambiente (24°C), durante um mês e analisando, quantitativamente, o THC no início e no fim desse tempo, acharam-se os seguintes valores:

	Início	1 mês	Diferença
Amostra A	2,41	2,29	-0,12
Amostra B	2,07	1,99	-0,08
Amostra C	2,20	2,14	-0,06

Uma amostra com um teor em THC de 2,32% e de CBN de 0,1% foi conservada a uma temperatura de 100°C , durante um mês, a análise, no final deste período, assinalava um conteúdo de 0,40 de CBN e nenhuns vestígios de THC (sendo evidente que, a esta temperatura, outros fenómenos devem produzir-se, além da simples desidrogenação quantitativa do THC em CBN).

As condições em que a cromatografia se realizou foram as seguintes:

Cromatógrafo Modelo F e M 400, detector de ionização de chama, integrador de disco para a determinação quantitativa.

Coluna de vidro, (6 pés, 4 mm diâmetro interno) fase estacionária: fenilmetil silica a 2% em Chromo sorb Q 100 m. Temperatura da coluna 210°C . Gás vector: Hélio. Fluxo: 80 ml/m. Padrão interno: CIH metadone.

Estes resultados confirmam-se com múltiplas observações e ensaios de diversos autores. Assim, OKAMOTO (32) observou a formação espontânea do CBN em extractos de *Cannabis* guardados, aproximadamente, durante três meses à temperatura do laboratório.

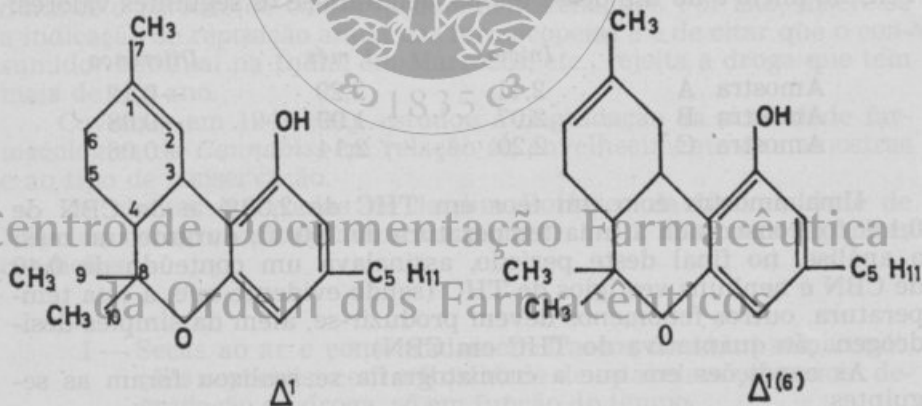
Também BETTS (33), analisando amostras várias por cromatografia gasosa, não encontra vestígios de THC, em amostras dum museu de farmácia e noutra, também exemplar de museu, datada de 1907).

Em realidade, só o THC seria responsável pela actividade psicotrópica da droga. A concentração destes canabinóis varia, consideravelmente, nas diversas amostras examinadas; de acordo com GAONI, citado por FARNSWORTH (23), uma amostra de marihuana com bons efeitos psicomiméticos contém de 1,0 a 1,5% de THC.

Uma análise de uma amostra típica de Haschish daria os resultados seguintes, para os principais canabinóis:

ácido canabidiólico	3,25%
canabidiol	4%
ácido canabigerólico	0,5%
tetraidrocanabinol	0,4%
canabigerol	0,3%
ácido canabinólico	0,25%
canabíciclol	0,1%

Enquanto o CBD e o CBN foram isolados sob forma cristalina, já inicialmente, o THC obtinha-se na forma dum óleo viscoso, ópticamente activo, supondo-se ser uma mistura duma série de isómeros. Com efeito, na observação da estrutura do THC:



nota-se, em primeiro lugar, a existência duma isomeria de posição, devida a localização da dupla ligação.

A existência duma isomeria «cis-trans» no anel ciclohexano e, dada a presença de carbonos assimétricos, a possibilidade de numerosos estereoisómeros. Isómeros com distinta acção farmacológica e diferente grau de actividade.

No momento actual, graças aos trabalhos de KORTE, na Universidade de Bonn, e de GAONI no Instituto Weizman de Israel, muito se tem esclarecido sobre a estrutura química do THC.

KORTE et al (26) lograram uma separação, mediante o método de Graig.

GAONI e MECHOULAM (35), pela cromatografia em florissil e re-cromatografando em coluna de alumina, conseguiram isolar o trans THC, fixando a estrutura com NMR e a posterior síntese parcial.

O Δ^1 THC é o componente mais activo do Hachish ou marihuana. O Δ^6 THC, aparentemente, acha-se em menor quantidade.

Uma interessante separação, mediante cromatografia em fase gasosa, foi publicada por LERNER e ZEFFERT (36, 37), nas condições já indicadas anteriormente (31). Os picos do Δ^1 e do Δ^6 são separados num intervalo de $2\frac{1}{2}$ mm com um agudo e marcado regresso à linha de base entre ambos os picos.

Nas amostras ensaiadas (confiscadas pelos serviços da Alfândega de Nova Orleans e presumivelmente de origem mexicana), o isómero Δ^6 representava 0,4% do total de THC (1,2%), variando nalgumas amostras até 9%.

A variação nas percentagens do isómero Δ^6 , nos diferentes lotes, parece corresponder ao esquema: a percentagem de isómeros Δ^6 tende a aumentar com a idade do produto, ou, pelo menos, com a sua idade aparente. O «óleo vermelho» antigo contém uma percentagem mais elevada de Δ^6 do que o recente. Numa massa de Haschish, a superfície externa tinha um teor de isómero Δ^6 mais elevado que a massa interna.

As amostras de marihuana fresca foram as de mais baixa percentagem de isómero Δ^6 .

Esta verificação coincide com as observações e ensaios de HIVELEY (44), segundo os quais o Δ^6 THC se isomeriza, à temperatura ambiente, passando a Δ^1 THC. TAYLOR (55) afirma que, se tal isomerização é devida ao calor (280° C, numa coluna de CG), seria possível que a acção fisiológica provocada pela marihuana fumada fora, na realidade, atribuível a isómero Δ^6 e não ao Δ^1 , como hoje é atribuída. Para GAONI (38), ao contrário, esta isomerização, que é catalisada pelos ácidos, só teria lugar acima dos 300° C, sendo de duvidar que na combustão da droga, ao ser fumada, tenha lugar a isomerização de Δ^1 a Δ^6 .

Alguns trabalhos se publicaram já (39, 40) sobre a constituição, transformação e actividade farmacológica do fumo, e dos produtos de pirólise da *Cannabis*, trabalhos não concludentes ainda e que prosseguem. Uma das equipas do programa do NIMH tem este objectivo por finalidade (11).

Um facto é de destacar: a transformação, pelo calor, do ácido canabinólico (descarboxilação) nos seus respectivos compostos neutros; assim, os ácidos THC, inactivos, ao descarboxilarem-se, durante a combustão do cigarro, passariam a THC, activo, o que explica a maior actividade da droga quando fumada do que quando ingerida.

VARIAÇÕES DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA SEGUNDO A ORIGEM GEOGRÁFICA

Variações na quantidade de resina produzida e na actividade fisiológica da droga foram observadas já muito antes de se iniciarem os estudos experimentais sobre o cânhamo. Assim, era bem conhecido que a *Cannabis* originária de países tropicais era mais rica e de maior potência fisiológica que a das regiões temperadas. Considerou-se sempre que as variedades crescidas na Ásia eram as melhores produtoras de resina. A *Cannabis* desenvolvida no Brasil é considerada mais activa que a crescida nos U. S. A. (A marihuana mais apreciada nos Estados Unidos seria a de origem mexicana, conhecida sob o nome *Gold of Acapulco*).

A partir dos trabalhos de ADAMS e TODD (41), nos quais foi elucidada a estrutura química de alguns componentes do cânhamo, evidenciou-se que a composição química da droga variava de acordo com a procedência geográfica da mesma.

Assim, ADAMS encontra 45-50% de CBD em fracções de resina purificada extraída da Marihuana americana, enquanto TODD no *Charas* indiano assinala a presença de CBD e no *Hashish* egípcio encontra quantidades aproximadas de CBN e CBD. SCHUTZ e HAFNER encontram valores inferiores de ácido canabidiólico no cânhamo indiano em relação ao cânhamo cultivado na Europa.

A estas diferenças de composição química, correspondem diferenças na actividade. LOWE, pelo método da ataxia no Cão, encontra, contra um padrão de THC sintético (racémico), uma potência $p=1,0$ para um cânhamo tunisino e só $P=0,003$ para uma Marihuana americana.

Estas diferenças na composição química dos diversos tipos de *Cannabis* poder-se-ão explicar por um estado, mais ou menos, avançado do processo de transformação fitoquímica, anteriormente citado (ao qual GRLIC (27) chama «maturação»): transformação progressiva do ACBD em CBD, THC e, finalmente, em CBN.

A resina de cânhamo com grande predomínio de ACBD é considerada de tipo «verde», sendo a droga com teor elevado de THC considerada «madura», a com elevada proporção de CBD de «tipo intermédio» e as de alta proporção de CBN «maduras» em excesso.

Este processo de «maturação», influenciado por diversos factores, é, não obstante, marcadamente, condicionado pelo clima. Dum modo geral, poder-se-á dizer que as plantas provenientes de zonas temperadas são de tipo «maduro» e as de regiões mais frias de tipo «verde». A confirmar esta suposição, os trabalhos de DAVIES e FARMILLO (42) referem uma correlação do conteúdo em THC com o número de horas de insolação e inversamente com as de nebulosidade.

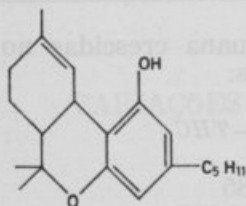
Dos estudos do programa de investigação do NIMH, outros autores afirmam (11, 12) que a diferença de composição não seria devida ao solo em que a planta cresce, mas à sua estirpe originária.

Conteúdo em Δ^1 THC de plantas de marihuana crescidas no Mississipi, a partir de sementes de diversas origens:

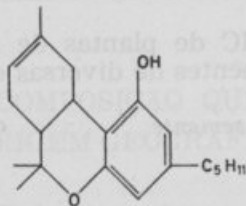
<i>Origem da semente</i>	<i>% Δ^1-THC</i>
França	0,085
Itália	0,041—0,068
México:	
plantas femininas	1,31
plantas masculinas	1,47
Suécia	0,021
Turquia	0,05—0,40



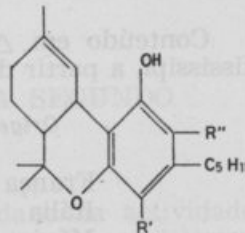
Centro de Documentação Farmacêutica da Ordem dos Farmacêuticos



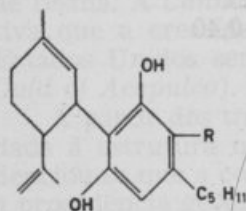
Δ^9 THC



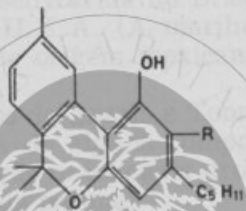
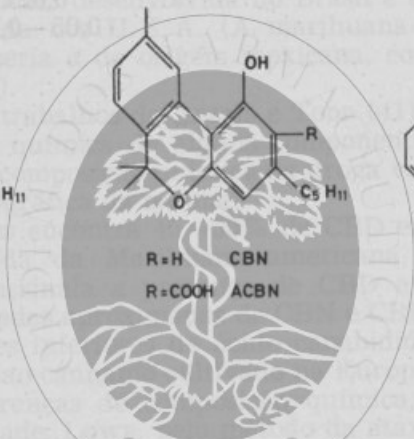
Δ^8 THC



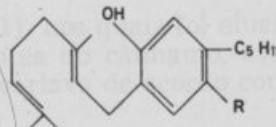
$R' = H$ $R'' = COOH$ Δ^9 ATHCA
 $R' = COOH$ $R'' = H$ Δ^9 ATHCB



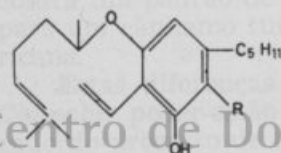
$R = H$ CBD
 $R = COOH$ ACBD



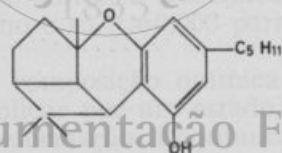
$R = H$ CBN
 $R = COOH$ ACBN



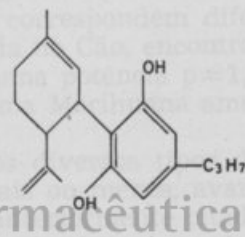
$R = H$ CANABIGEROL
 $R = COOH$ AC.CANABIGERÓLICO



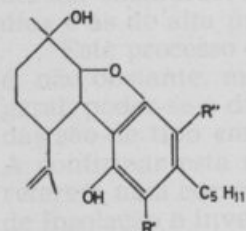
$R = H$ CANABICROMENE



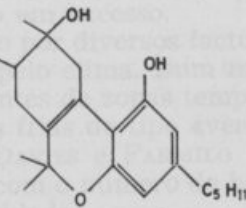
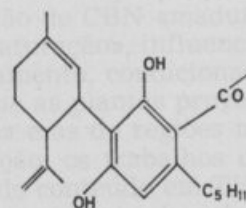
CANABICICOL



CANABIDIVARINA



$R' = COOH$ $R'' = H$ AC. CANABIELSÓICO A
 $R' = COOH$ $R'' = H$ AC. CANABIELSÓICO B



CANABITRIOL
 ESTER DO AC.CANABIDIÓLICO

Centro de Documentação Farmacêutica da Ordem dos Farmacêuticos

COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Com o termo Canabinóis, conhecem-se os compostos de C_{21} típicos e presentes na *Cannabis sativa* (na resina, folhas, flores, etc), os seus ácidos carboxílicos e os produtos análogos e de transformação reunidos no quadro anexo.

A separação e isolamento dos canabinóis naturais é operação lenta e delicada.

Quase todos eles são solúveis em éter de petróleo. Mediante repetidas extracções com este solvente, os princípios activos da resina podem ser extraídos. O resíduo inactivo contém, principalmente, polímeros fenólicos, pequenas quantidades de ácidos canabielsóicos, que podem ser extraídos com benzeno, bem como outros compostos não identificados. O extracto de éter de petróleo pode ser separado em fracções neutras e ácidas, das quais, mediante cromatografia em coluna, se obtém variados canabinóis e alguns sesquiterpenos não identificados.

Este extracto de éter de petróleo pode, também, ser separado mediante repetidas extracções contra-corrente. Um inconveniente desta técnica é representado pelo facto de que a dietilformamida, usada no sistema de solventes, é dificilmente eliminada, dado o seu elevado ponto de ebulição, e pode contaminar alguns dos constituintes oleosos (24).

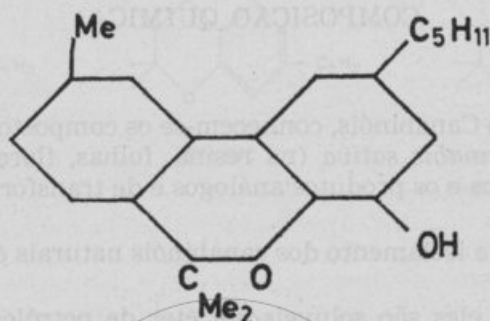
Os estudos sobre a composição química da *Cannabis* desenvolveram-se, esporadicamente e com discontínuidade, durante um século, permanecendo a complexa química dos seus princípios activos totalmente desconhecida até recentemente. Os autores ingleses trabalharam sobre o Haschish e os americanos a partir do «óleo vermelho» do cânhamo silvestre ou da marihuana.

É em 1857, que os irmãos SMITH (2) descobrem que o princípio activo do cânhamo se acha na fracção de resina, com o ponto de ebulição elevado e insolúvel nos álcalis e que esta fracção não contém azoto.

O facto surpreendeu, já que, na época, supunha-se que o princípio activo do cânhamo era um alcalóide, como no caso do ópio e do tabaco.

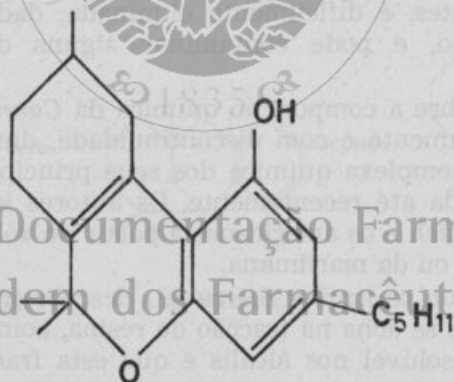
Mais tarde, entre 1895 e 1899, WOOD, SPIVEY e EASTERFIELD (2, 27) isolam da fracção activa da resina, mediante destilação no vácuo, um óleo viscoso, do qual se obtém um acetato cristalino que denominam Canabinol e que, erróneamente, durante muitos anos, foi considerado o princípio activo do cânhamo. Só em 1930, os estudos são retomados com CAHM (41) que determina o esqueleto carbonado da molécula

do canabinol e a natureza dos grupos substituintes, propondo a estrutura:



na qual só a posição dos grupos hidroxilo e amilo fica por fixar. Posições que seriam, posteriormente, estabelecidas por TOBB (41) e ADAMS a quem se deve, também, a primeira síntese dum composto canabinólico, o CBN.

A ADAMS e colaboradores deve-se, também, o primeiro intento de síntese do THC (por condensação da pulegona e do olivetol) (47), intento que conduziu à obtenção do isómero Δ^3 THC, com actividade fisiológica, e que serviu, durante anos, como padrão para a aferição da actividade fisiológica de amostras de Marihuana.



Δ^3 THC

A síntese de Δ^3 THC motivou o estudo de uma série de homólogos de síntese, variando o número de átomos de carbono da cadeia lateral, correspondendo a maior actividade ao *n*-hexyl.

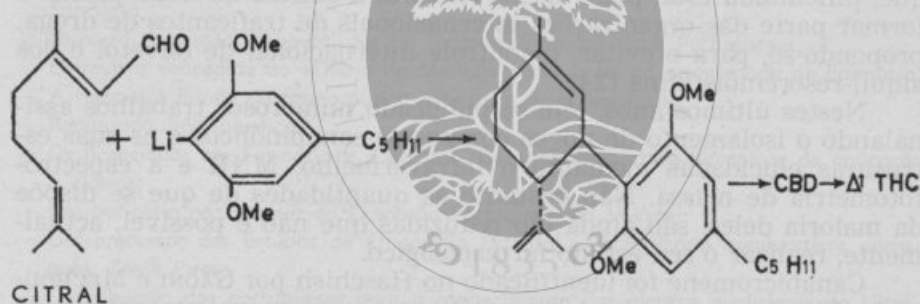
O estudo dos isómeros e análogos e da actividade correspondente às modificações da estrutura tem progredido até hoje (48, 49). Assim, a substituição dum hidrogénio aromático por um grupo metílico no

THC não altera a actividade, enquanto desaparece com um grupo carboximético ou hidroxilo na mesma posição (24); a acetilação do hidroxilo livre reduz, aparentemente, a actividade.

Poucas modificações no anel terpénico têm sido estudadas e experimentadas.

O THC, que já fora isolado em forma impura por WOLLNER e col. (43), sob a forma de acetato, como um óleo viscoso, activo fisiologicamente (método da ataxia no Cão) e ópticamente activo, foi definitivamente elucidado na sua estrutura quando, em 1964 (35), um derivado cristalino (Δ^1 3,4 trans-THC) foi obtido no *Weizman Institute of Science* de Israel, por GAONI e MECHOULAM, cromatografando, em florissil, um extracto em hexano de Haschisch e recromatografando em alumina. O espectro infravermelho e o MNR permitiram definir a fórmula e a fixação definitiva da dupla ligação. O seu isómero Δ^6 , que em menor quantidade o acompanha, foi posteriormente isolado por HIVELEY, em 1966 (44).

Estabelecida a estrutura do THC, várias sínteses foram tentadas. A primeira delas, devida a GAONI (24), datada de 1965,



revelou-se síntese de pouco interesse prático, pelo seu baixo rendimento e dando lugar, por não ser estereoespecífica, a uma mistura racémica.

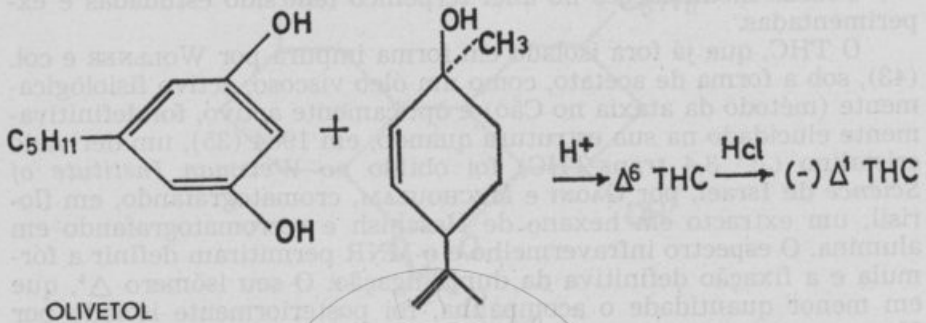
Diferentes grupos de investigadores (45) intentaram novas sínteses, sendo a conseguida por PETRIZILKA (46) o método de eleição, tanto pelo seu rendimento, simplicidade de processo, como pela pureza com que são obtidos os produtos da série «levo».

Com efeito, este autor parte do olivetol e do trans-p-mentadien-(2,8)-ol-(1), sintetizando o CBD pela acção catalítica da N,N-dimetilformamida, dineopentilacetil ou dos ácidos fracos, tais como o oxálico, o pícrico ou o málico.

Dado conhecer a configuração espacial do (+)-trans-p-mentadien-(2,8)-ol-(1), a síntese constitui uma prova da configuração absoluta do CBD e dos isómeros THC.

Se, como mediador da reacção, se usam ácidos fortes, obtém-se, como produto principal, o Δ^6 THC, termodinamicamente mais estável; a transformação no seu isómero Δ^1 THC, menos estável, é conse-

guida, quase quantitativamente, pela adição de HCl e a sua posterior eliminação com t-amilato potássico.

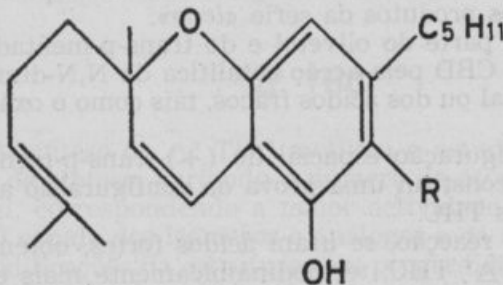


Até agora, o THC sintético não tem sido usado com fins ilegais, dada a facilidade de obtenção da droga vegetal, mas deve prever-se que, dificultada esta, poderia, porventura, a síntese do THC passar a formar parte das organizações internacionais de traficantes de droga, propondo-se, para o evitar, o controle internacional de olivetol e dos alquil-resorcinóis afins (24).

Nestes últimos anos, têm-se publicado numerosos trabalhos assinalando o isolamento de novos compostos canabinólicos e as suas estruturas elucidadas mediante o infravermelho, MNR e a espectrofotometria de massa. Não obstante as quantidades de que se dispõe da maioria deles, são ainda tão reduzidas que não é possível, actualmente, realizar o seu estudo farmacológico.

Canabicromene foi identificado no Haschish por GAONI e MECHOU-LAM (50) Cromatografando um extracto em hexano em coluna de florissil, obtiveram, em ordem crescente de polaridade, os seguintes compostos: CBD, THC, CBN e canabicromene, (este representando 0,5% do extracto total) e canbigerol. Recromatografaram e destilaram a fracção que continha o novo composto até este ser totalmente puro (dar mancha única em CCF).

Este composto produz sedação e ataxia no Cão, mas não tem acção psicotrópica.



FACTOS E PROBLEMAS DA FARMÁCIA PORTUGUESA

Pelo Prof. A. C. CORREIA DA SILVA

EDIÇÃO DE CONJUNTO NUM ÚNICO VOLUME,
COM PREFÁCIO DO

Prof. GUILHERME BRAGA DA CRUZ,

DOS SEGUINTES TRABALHOS:

- A missão actual do Farmacêutico;
- Farmácias e Farmacêuticos;
- Considerações sobre alguns aspectos de uma política do medicamento;
- Análise e comentário a um parecer da Câmara Corporativa sobre propriedade de Farmácia;
- Discurso da sessão inaugural das IV Jornadas Farmacêuticas Portuguesas;
- Entrevista concedida ao «Diário da Manhã» sobre a lei da propriedade de Farmácia;
- A responsabilidade do farmacêutico perante a nova legislação;
- Reparando uma injustiça;
- Os licenciados em Farmácia e a prática das análises químico-biológicas de aplicação à clínica;
- Um boticário na História da Expansão Portuguesa no Mundo;
- Um precursor dos Estudos de Etnografia Oriental — o boticário quinhentista português, Tomé Pires;
- Contribuição dos portugueses para o conhecimento das plantas medicinais do Ultramar. Balanço das actividades actuais dos Farmacêuticos neste domínio;
- Grandeza e miséria do medicamento.

Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

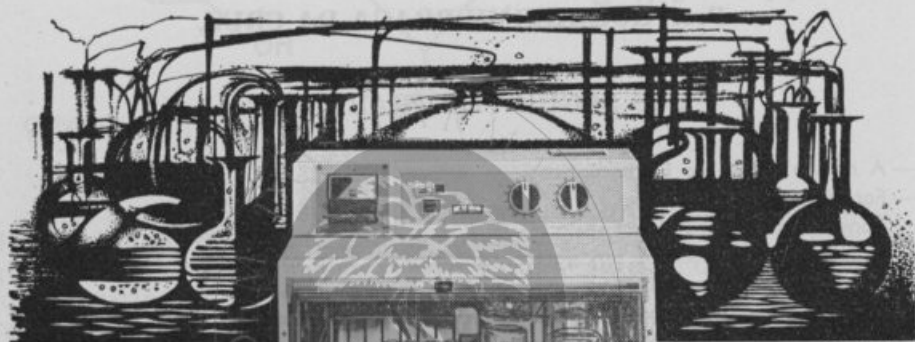
UMA OBRA QUE SE DEVE LER PARA CONHECER
OS PROBLEMAS DA FARMÁCIA EM PORTUGAL

PREÇO: UM VOLUME DE 270 PÁGINAS 60\$00

(Para os sócios do Sindicato que o requisitem à Secretaria, é de 45\$00,
incluindo o porte)

Miele®

máquinas especialmente concebidas para
laboratórios · hospitais



MARCA 70

Centro de Doenças Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

G 19 LABOR Máquina automática para lavagem de vidraria de laboratório. Absoluta eficácia para quaisquer utensílios.

G 19 Máquina automática para lavagem de biberões. Lava, enxagua, neutraliza e seca 87 biberões de cada vez.

G 18 TD Máquina automática para lavagem e desinfecção de louças em clínicas e hospitais.

G 18 OP Máquina automática para lavagem de instrumentos cirúrgicos.

Distribuidor
Exclusivo

**CON
CESSUS**

CONCESSUS, S.A.R.L.

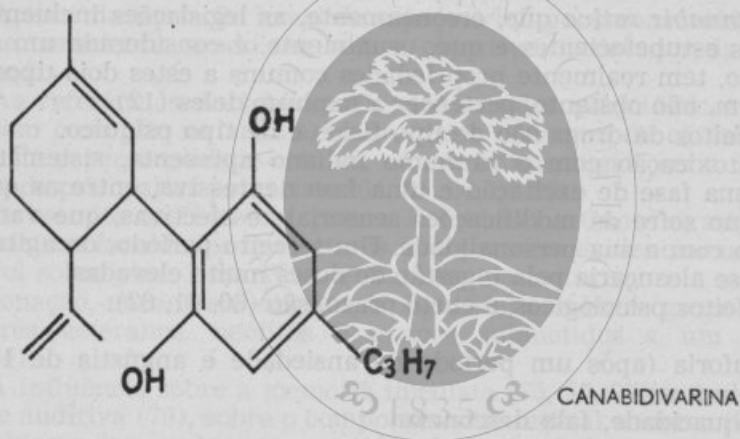
Rua D. Francisco Manuel de Melo, 9, 9-A
Tel. 65 24 06/7 — LISBOA 1

Posteriormente, KANE e RAZDMAN (51) publicam a síntese total do canabiciclol e do canabicromene, quando o citral e o olivetol reagem em presença de piridina como catalisador.

A possível transformação, fotoquímica, natural, do canabicromene a canabiciclol foi assinalada por CROMBIE e LESBIE (52). Com efeito, estes autores, irradiando, durante 4 horas e meia, 750 mg de canabicrome, obtiveram 340 mg de canabiciclol.

Com o isolamento e a elucidação da respectiva estrutura do éster do tetraidrocanabitriol e do ácido canabidiol carboxílico, por parte da equipa da Universidade de Bona, KORTE e colaboradores (53) põem em evidência a presença de um novo tipo de compostos fenólicos constituintes do haschish, desconhecido até à altura.

Um novo ácido tetraidrocanabinólico foi identificado por ME-CHOUAM e col. (54).



A KORTE e aos seus colaboradores se deve, também, a comunicação (56) do isolamento, num extracto de Haschish, do primeiro composto contendo um monoterpene bicyclico (o canabipinol).

Igualmente, foi a escola de Bona que identificou a Canabidivarina, (57), primeiro composto contendo um resto propílico em lugar da cadeia de 5 átomos de carbono do carbono 5' (Divarin 5-propilresorcinol). O composto foi, também, sintetizado a partir da divarina e do p-menta-2,8-dien-1-ol, obtendo-se um produto idêntico ao diol isolado natural.

Os autores supõem que este composto deve ser um elemento de uma série de canabifenóis com um resto divarinílico.

Obtido por SANTAVY e SCHUTZ (27), respectivamente em 1956 e 1958, o ACBD é o canabinol mais abundante na natureza, sendo o principal componente do cânhamo cultivado para aproveitamento das fibras têxteis (58). Os ácidos canabinólicos são fisiologicamente inactivos, e são rapidamente convertidos nos seus compostos neutros pela acção da temperatura — processo que tem também lugar, lentamente, quando armazenados.

Um grupo de investigadores japoneses (59), estudando a variação de percentagem de componentes na *Cannabis* armazenada, estudaram a possibilidade da conversão do THCA a CBNA, irradiando a primeira substância com uma lâmpada UV.

É ainda motivo de controvérsia se os canabinóis neutros são produtos naturais ou derivam da descarboxilação dos respectivos ácidos.

De facto, se se estabeleceram já algumas hipóteses e interpretações (24) da biogénese dos canabinóis, é este um capítulo da química da *Cannabis* ainda nos seus começos. As experiências com corpos marcados, realizada em vários laboratórios, foram decepcionantes, dada a baixa incorporação de radioactividade nos canabinóis isolados (24).

ACÇÃO FARMACOLÓGICA

A *Cannabis sativa* que, erròneamente, as legislações incluem no grupo dos estupefacientes e que, usualmente, é considerada um alucinogénico, tem realmente propriedades comuns a estes dois tipos de drogas sem, não obstante, pertencer a nenhum deles (12).

Os efeitos da droga são de tipo físico e de tipo psíquico.

A intoxicação com o cânhamo indiano apresenta, sistematicamente, uma fase de excitação e uma fase depressiva, entre as quais o indivíduo sofre de modificações sensoriais e afectivas, que variam de acordo com a sua personalidade. Um terceiro período, de agitação geral, só se alcançaria pela ingestão de doses muito elevadas.

Os efeitos psicológicos, a curto prazo, são (60, 61, 62):

- euforia (após um período de ansiedade e angústia de 15-20 minutos),
- loquacidade, fala desconexa,
- riso incontrolado,
- diminuição de atenção, dificuldade na concentração mental,
- aumento de acuidade auditiva,
- alterações da percepção e da consciência do tempo,
- perda do sentido do espaço (a sala em que se encontra o indivíduo parece enorme e o seu relevo alterado),
- perda do sentido de posição,
- sensação de ligeireza,
- imaginação estimulada,
- visão de cores, luzes e reflexos (um intento de reprodução destas alucinações visuais acham-se nas iluminações e pinturas psicodélicas).

Esta fase é seguida por uma apatia e lassitude, que pode chegar ao sono profundo, de acordo com a dose e a potência da droga empregada, sono do qual se acorda com marcada sensação de sede.

O fumador ou consumidor habitual adquire apatia e letargia; tenha-se, porém, em conta que muitos dos efeitos imputados à droga são, na realidade, causados por outras drogas (ópio, afrodisíacos) que, normalmente, formam parte das preparações complexas sob as quais

se consome a resina no Oriente e Norte de África, bem como às condições físicas do próprio consumidor (desnutrição, subdesenvolvimento), ou a drogas alucinogénicas diversas (mescalina, LDS) que adulteram, às vezes, os cigarros consumidos nas zonas urbanas dos USA e Europa Ocidental.

Os efeitos a longo prazo, não são bem conhecidos (61-63).

A agressividade e violência é menos frequente que nos alcoólicos (raros casos de agressividade referem-se a fumadores neófitos atarrados com as sensações experimentadas) (68, 69, 70-72).

Reacções adversas (toxicidade aguda) são raras e se, actualmente, aparecem mais frequentemente na literatura médica, é devido ao incremento espectacular do consumo. A estas reacções adversas não é alheio, como causa desencadeante, o meio ambiente; assim, a percentagem observada entre os soldados americanos no Vietnam (71) (onde de 35% a 60% do exército fuma) seria superior.

Apesar da sensação irreal de espaço e tempo, o consumidor mantém-se consciente, sendo um bom e objectivo observador da sua intoxicação.

As referências da bibliografia dos estudos psiquiátricos actuais parecem coincidir na afirmação de que o consumo de cânhamo não afectaria a personalidade estável; só em último lugar, seria desencadeante de psicopatias potenciais (64, 65, 66, 67-80).

Os estudos de HALPERN, para o Relatório La Guardia, sobre a influência nas faculdades intelectuais, não parecem evidenciar um efeito notável sobre elas. Nem WEIL e NELSEN, em testes sobre a atenção e coordenação, encontram diferenças significativas entre grupos de fumadores veteranos, neófitos e grupos submetidos a um placebo (73, 74).

A influência sobre a memória imediata (75, 76, 77), sobre a capacidade auditiva (79), sobre o comportamento mental e motor (78), tem sido objecto de estudos comparativos, baseados na execução de testes por fumadores sob o efeito da droga ou dum placebo. Os resultados não são concludentes.

Por outro lado, ao contrário do que sucede com o consumo do álcool, não aumentaram os acidentes de viação imputáveis ao uso da droga (74).

Se o fumador de *Cannabis* pode adquirir o hábito psicológico, não há, porém, dados evidentes de que o seu consumo crie dependência física; com efeito, não existem sintomas de privação nem tendência a aumentar a dose (1, 67, 80), ainda que alguns autores (81) descrevam uma entidade sintomática típica do fumador habitual.

O efeito procurado pelos consumidores é a acção euforizante e não a narcótica: o fumador equilibra a dose para obter as sensações de bem estar (e raramente esta dose é ultrapassada); as primeiras experiências são, em regra, decepcionantes e, se o neófito não é encorajado a continuar, facilmente renuncia a tal prática.

Assim se explica que o fumador de *Cannabis* raramente é um indivíduo isolado, como no caso do morfinómano, se não que procura no seio duma comunidade a participação e comunicação de sensações e experiências.

Os efeitos da droga fumada ou inalada são mais rápidos que por ingestão, facto que as experiências de ISBELL com THC puro confirmaram (82).

Fumada, os efeitos manifestam-se dentro de poucos minutos e a duração dos mesmos é relativamente curta; pelo contrário, na ingestão de resina purificada, o início dos sintomas pode demorar de meia a uma hora, e a sua influência persistir 3 ou 4 horas. Os efeitos fisiológicos são ligeiros, há um aumento do ritmo das pulsações, uma ligeira subida da tensão e congestão vascular na conjuntiva, ligeira dilatação pupilar (mas reagindo à luz), a glicémia algo mais elevada (e, segundo alguns autores (83), ingerida em grande quantidade poderia ser causa de coma diabético), e a frequência da emissão urinária aumentada (sem, não obstante, diurese marcada), segura na boca, acentuado apetite para doces e, ocasionalmente, náuseas, vômitos, diarreia e dores articulares.

Recentes comunicações indicam casos de injeção intravenosa (84-85). Em todos eles, os pacientes foram hospitalizados com a constância deste quadro sintomático: intensos tremores corporais, taquicardia, náusea, vômitos, diarreia, dores difusas, hipotensão, trombocitopenia seguida de leucopenia. Todos estes sintomas foram reversíveis, sem que a terapêutica fosse um factor significativo desta reversibilidade.

Os efeitos do cânhamo indiano, até há pouco só conhecidos por observações clínicas ocasionais e autoexperiências, dispõem já, na literatura médica, de relatórios de experiências adequadamente conduzidas. As já anteriormente citadas, acrescentem-se as de HOLLISTER e col. (86) que compararam, num grupo de voluntários, os efeitos do THC e o Synhexyl, e em animais de laboratório, SCHECKEL (87) o comportamento de macacos *rhesus* sob efeito dos THC racémicos Δ^1 e Δ^1 (6) e ABEL e WALTERS (88) os efeitos do homólogo Pyrahexyl.

O diagnóstico clínico da intoxicação por Cânhamo é difícil. Um dado, constante e característico, é as conjuntivas vermelhas e a exalação dum cheiro característico. Actualmente, alguns autores iniciaram a identificação dos canabinóis em líquidos orgânicos, nem sempre com resultados satisfatórios.

Destacam-se, neste campo, os trabalhos de BONZANI DA SILVA (89) da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de S. Paulo, na pesquisa no sangue, urina e saliva de fumadores habituais e de indivíduos não fumadores, mas expostos, acidentalmente, ao fumo da *Cannabis*.

O método analítico empregado foi a cromatografia em camada fina (lâminas microscópicas 7,5 cm por 2,5 cm, recobertas de sílica-gel G 200 m μ , activadas a 105° C 30 minutos; percurso da fase móvel: 5 cm; volume de Extracto colocado: 10 microlitos; fase móvel: clorofórmio-éter de petróleo [adicionado de metanol (4:1)]; revelador: benzidina tetraazotada.

Obtiveram-se resultados positivos, após 20 minutos de inalação.

No sangue, assinalou-se a presença nítida, até 3 horas após haver-se fumado e vestígios até 4 horas. Na urina, detectou-se francamente positiva até 6 horas e vestígios até 7 horas. Na urina de indivíduos

expostos a ambiente contaminado, detectou-se também a presença de canabinol.

Cromatogramas de provas em branco com sangue, urina e saliva normal de fumadores de *Nicotina tabacum* não demonstraram a presença de interferências.

No interesse forense de identificar os fumadores, a detecção dos constituintes da *Cannabis* na boca e nos dedos dos fumadores tem sido publicada no *Forensic Sci. Soc. J.* (90): os dedos são lavados com CHCl_3 , esta solução clorofórmica é evaporada à secura e o resíduo dissolvido numa mistura de benzeno e éter de petróleo, purificado em coluna de alumina.

O eluído (com CHCl_3 — éter de petróleo (1:1) foi cromatografado em placas de sílica-gel, e por cromatografia gasosa (detectando-se canabinóis 3 horas após fumar). Recomenda-se lavagem da boca com álcool etílico para a identificação de compostos canabinólicos nos fumadores.

Têm sido estabelecidas as doses letais para alguns animais (74). Por via oral, para o gato seria: 3 gramas de *Charras*, 8 de *Ganja*, 10 de *Bhang* por kg de peso corporal. Altas doses têm sido administradas a cães sem causar a morte, e parece não estar relatado caso algum de morte motivada pela droga no homem (91). Incluso, casos de voluntários que, por engano, ingeriram 8 g, recuperaram-se, passados alguns dias, depois de perturbações fisiológicas e dum período de alterações psicológicas.

Os efeitos fisiológicos parecem confinados ao SNC (1, 92) e o sistema autónomo periférico não parece estar envolvido. Nos animais, aos quais são administradas altas doses, produzem-se sintomas tais como vômitos, diarreia, tremores fibrilares característicos e ataxia, devida à falta de coordenação motora. A pressão arterial e a respiração, em regra, deprimem-se, e o ritmo cardíaco é, pelo contrário, algo aumentado.

Os efeitos nas funções cerebrais têm sido estudados por RODIN e col. (93), registando os EEG antes e depois de fumar. A diferença entre ambos é mínima, observando-se apenas uma muito ligeira redução das funções corticais superiores, coincidindo com a fase de euforia subjectiva («high»).

DARGIRMAMJIAN e BOYD (94) observaram que compostos análogos de síntese DMHP e MOP aumentam, no rato, a actividade provocada pela amfetamina, prolongam o sono barbitúrico, relaxam o intestino e deprimem certos reflexos polissinápticos, marcadamente o reflexo da rótula e o linguomandibular.

O sinergismo do Δ^1 THC sintético com os barbitúricos foi, recentemente, comprovado por KUBENA (95).

O ponto de acção dos efeitos da queda de tensão e dos reflexos parece subscrito na área entre o mesencéfalo e a nível da primeira vértebra cervical, possivelmente na formação reticular da medula.

O estudo sobre o mecanismo da acção e localização da mesma foi prosseguido por BOYD e MERITT (96) e por LAPA e col. (97). Estes últimos, estudaram o efeito da acção bloqueadora do THC sobre a transmissão no sistema trigémeo do Gato. 9 gatos, adultos, pesando 2,5 a

3,5 kg, anestesiados com anestesia superficial com pentobarbital sódico, intraperitonealmente, foram estimulados nas vias aferentes do trigêmeo, mediante eléctrodos implantados na conjuntiva da pálpebra inferior, e por via intravenosa injectados, muito lentamente, com uma suspensão da solução etanólica de THC (10 mg/ml) em polissorbato 80, em doses de 0,4, 0,8 e 1,0 mg/kg; como controle, foi injectado apenas o veículo.

Os potenciais foram registados e dos resultados obtidos os autores afirmam que a diminuição sensorial dos núcleos do trigêmeo, após administração de THC, deve atribuir-se, se não exclusivamente, em grande parte, à acção bloqueadora, por parte da droga, da condução do impulso através das fibras pressinápticas. Pode-se pensar que ambos, o nervo conductor e a transmissão sináptica, estão bloqueados, e, de acordo com BOYD e MERITT, afirmar que o sistema nervoso é influenciado a vários níveis pela droga. Este ponto de vista explicaria outros efeitos neurológicos do THC, tais como o analgésico e a depressão respiratória.

Ainda que o Haschisch tenha sido usado como lenitivo da dor por povos antigos (chineses, sírios e babilónios), ainda hoje não tem sido elucidado a qual dos seus componentes corresponde a acção analgésica. BICHER e MECHOULAM (98) experimentaram, no rato e no coelho, a actividade analgésica do Δ^6 THC e Δ^1 THC, nos quais determinaram, também, a DL 50 (DL 50 rato Δ^6 THC=1500 mg/kg p. o.; e 1200 mg/kg i. p.).

Ambos os compostos mostraram, tanto no coelho como no rato, uma forte actividade analgésica, em doses não tóxicas, e os seus efeitos persistentes durante 2 horas.

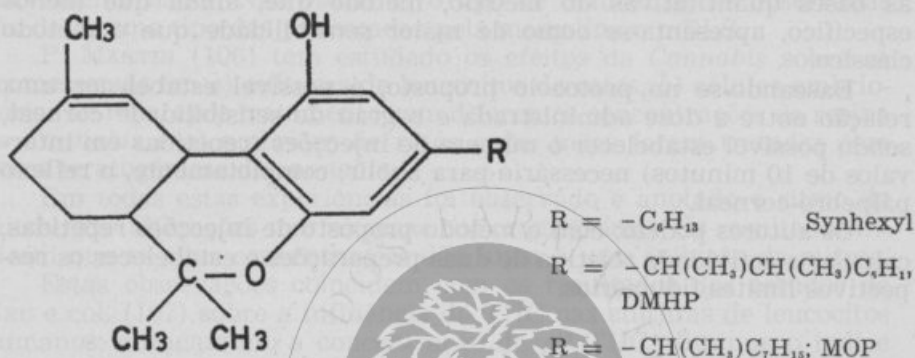
Esta actividade é comparável à do sulfato de morfina, mas o seu mecanismo de acção no cérebro parece ser diferente do das outras drogas narcóticas, tais como a morfina. Estes autores assinalam a potencialidade do THC como analgésico sem habituação.

APERIÇÕES BIOLÓGICAS E PADRÃO DE REFERENCIA DA ONU

Se na última década muito se tem esclarecido sobre a química dos princípios activos da *Cannabis sativa*, notavelmente no que diz respeito aos isómeros de posição, ainda hoje não é possível atribuir uma actividade farmacológica definida a cada um dos constituintes, nem valorar a actividade da droga a partir da sua composição química.

Ensaio e estudos publicados por diversos autores conduziram, por vezes, a uma disparidade de resultados que dificultam ou não permitem a comparação dos mesmos. O facto é motivado pela carência da possibilidade de medir a acção psicotrópica ou alucinogénica do cânhamo indiano, não se dispondo dum método que meça a modificação duma situação fisiológica que represente ou traduza, quantitativamente, a acção psicomimética. Aceitam-se os métodos de avaliação biológica adoptados (ataxia no cão, inibição do reflexo corneal), como indicadores duma actividade farmacológica, mas realmente não correspondem à medida da mesma.

Outro condicionalismo da disparidade de resultados é o distinto teor e composição das amostras ensaiadas. Para obviar a esta situação, muitos autores tem recorrido aos compostos análogos de síntese: Synhexyl, Abbott) ao DMHP (dimetileptil pirano) e ao MOP (metiloctilpirano).



Por outro lado, o laboratório das Nações Unidas, por sugestão do Prof. JOACHIMOGLU, prepara e fornece um padrão de referência (99).

Este padrão é uma preparação estável (acondicionada em atmosfera de azoto e conservada no frigorífico (31), obtida a partir duma mistura homogénea de diversas amostras de *Cannabis*, cuja DL 50 é fixada em 23,3 mg por g de peso corpóreo (calculada pela injeção i. p. duma solução em azeite dum extracto de éter de petróleo, em ratos (250 g).

O extracto etéreo representa 12% do peso do padrão de referência e a concentração no azeite é de 250 mg/ml. Os ratos são mantidos numa sala climatizada a 25° C, dispondo de água *ad libitum*, mas privados de alimentos e a leitura dos resultados é efectuada 24 horas após a administração da dose.

O teor em THC do padrão de referência é de 0,21% (determinado por cromatografia em camada fina quantitativa, segundo o método de Korte e Sieper).

O espectro no ultravioleta do padrão de referência dá para as relações de extinção: E_{260}/E_{280} e E_{300}/E_{310} os valores de 0,85 e 1,6, respectivamente.

O espectro infravermelho dá para T 890-T 1130 o valor de +28, o que, de acordo com os estudos de GRIC (27, 100), classifica o padrão de referência como droga de tipo «maduro».

Os métodos de aferição biológica são, como já atrás foi referido:

- 1 — O método proposto pela USP X, no qual, se compara a actividade (provocação de ataxia muscular no cão) dum extracto frente a outro de actividade conhecida.
- 2 — A prova de Gayer, fundamentada na inibição do reflexo pálpbro-corneal, nos coelhos submetidos ao estímulo, e que,

prêviamente, foram injectados com extracto de resina de cânhamo.

Esta prova, proposta há uns 40 anos, por HERMAN GAYER (Arch. exp. Path. u. Pharmkol., 129, 312-318, 1928) tem sido estudada recentemente por VALLE, SOUZA e HYPPÓLITO (101), os quais estabeleceram as bases quantitativas do método, método que, ainda que menos específico, apresenta-se como de maior sensibilidade que o método clássico.

Baseando-se no protocolo proposto, é possível estabelecer uma relação entre a dose administrada e o grau de sensibilidade corneal, sendo possível estabelecer o número de injecções (repetidas em intervalos de 10 minutos) necessário para abolir, completamente, o reflexo pálpebro-corneal.

Os autores podem, com o método proposto de injecções repetidas, calcular a actividade relativa de duas preparações e estabelecer os respectivos limites fiduciários.

ACÇÃO TERATOGENICA DA RESINA DE CANNABIS

As referências na literatura médica (102-103) de possíveis acções teratogénicas no homem imputáveis ao consumo de *Cannabis* e a norma usual, actual, de realizar estudos de despistagem de drogas teratogénicas, levou a MARTIM, PERSAUD e GERBER a estudar a *Cannabis* sob este aspecto.

PERSAUD (104) achou que a incidência de deformações fetais, de reabsorção de fetos e de atraso no desenvolvimento, nos animais tratados, era significativamente mais alta que nos grupos controle.

A incidência de anormalidades congénitas foi de:

Fetos subdesenvolvidos (100%), sindactilia (72%), encefalocele (57%), focomélia (15%) e esventração das vísceras abdominais (30%).

Estes resultados indicam que a resina de *Cannabis* é teratogénica para o rato. Comparado com resultados de experiências prévias, assinala-se que a resposta teratológica é diferente segundo a espécie animal. A extrapolação destes resultados para a espécie humana é difícil, mas a possibilidade de acção teratogénica no homem deve ser considerada.

Os ensaios foram efectuados com 13 fêmeas do rato albino, pesando 170 a 180 g, injectados, intraperitonealmente, com uma emulsão de resina de *Cannabis* em solução salina isotónica, contendo 1% de polissorbato 80 (cada animal recebeu 4,2 mg de resina por kg, diariamente, durante os dias 1 a 6 da gestação). O grupo controle foi formado por 7 animais, aos quais se administrou, também intraperitonealmente, 0,2 ml de idêntica solução salina.

No vigésimo dia da gestação, os animais foram sacrificados e os fetos examinados.

GERBER e SCHRAMM (105) efectuaram experiências com extractos de marihuana (crescida em New Jersey e México). Os extractos dissolvidos em azeite foram injectados, subcutâneamente (1 ml), nos dias

6, 7 e 8 de gestação, a fêmeas de hamster e de coelhos (recebendo 25-300 mg/kg as primeiras, a 130-500 mg/kg as segundas) e sendo sacrificadas; para exame dos fetos, no 17.º dia de gestação, o grupo controle foi injectado de solução salina ou azeite USP.

Os dados obtidos indicam que a acção teratogénica da resina de marihuana, em comparação com outros agentes psicomiméticos, é relativamente baixa. Não obstante, o tipo de malformações observadas são do mesmo tipo das provocadas pela mescalina e o DLS.

P. MARTIN (106) tem estudado os efeitos da *Cannabis* sobre os cromossomas em a) culturas de leucocitos de ratos, b) células embrionárias de rato, após tratamento com diferentes concentrações de resina de *Cannabis* e c) embriões de ratos cujas mães foram tratadas com doses teratogénicas de *cannabis*.

Em todas estas experiências foi observado e anotado o ritmo da mitose e as alterações morfológicas nos cromossomas. Os resultados indicam que as altas concentrações dão lugar a uma inibição da mitose.

Estas observações coincidem com os resultados dos estudos de NEU e col. (107) sobre a influência do THC nas culturas de leucocitos humanos: aumentando a concentração de Δ^9 THC, diminui o índice da mitose.

METABOLISMO

É muito recente o início de estudos encaminhados no sentido de se conhecer o metabolismo dos componentes da *Cannabis* no organismo e o mecanismo de excreção.

JOACHIMOGLU e col. (108) prepararam, biossinteticamente, THC a partir de plantas cultivadas em atmosfera de CO_2 com C_{14} e injectaram intraperitonealmente (em solução de propilenoglicol) a ratos; aos 30 minutos era detectado na urina e encontrou-se radioactividade durante 5 dias, em quantidades decrescentes nos seguintes órgãos: fígado, rins, timo, pulmões, coração, sangue e cérebro. Os produtos radioactivos excretados na urina e nas fezes foram, respectivamente, 12 e 68%, não se detectando THC livre. Tais produtos de biotransformação eram compostos polares não identificados.

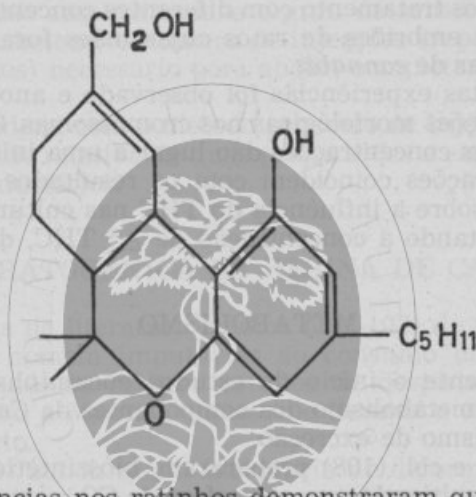
Também a distribuição nos tecidos do organismo do rato, após inalação de Δ^1 THC marcado, foi determinada por BEMG HO e col. (109), coincidindo na observação da lenta eliminação.

As concentrações no cérebro, fígado e rins mantêm-se constantes durante um período de 8 a 72 horas; no 7.º dia, ainda podem achar-se concentrações do mesmo nível no cérebro, pulmões e fígado.

O aumento da concentração no fígado e no cólon nos últimos dias parece confirmar que as fezes sejam a principal via de eliminação.

Estes dados são coincidentes com as experiências de AGURELL e NILSSON (110-111), injectando, intraperitonealmente, coelhos com THC com H marcado, que levaram à conclusão de que a eliminação é muito lenta: ao fim duma semana, ainda se retém no organismo metade da dose administrada. Perto de 70% a 80% da droga é excretada, metabolizada nas fezes, o resto, de 10 a 20%, metabolizado na urina; menos de 0,003% do administrado é excretado livre.

Estes autores afirmam que o Δ^1 THC parece ser, totalmente, metabolizado, e que, pelo menos, 3 dos seus principais metabolitos são excretados pela urina. Mediante uma técnica *in vitro* (114) (metabolizando o THC marcado com o líquido que sobrenada do fígado homogeneizado), lograram o isolamento e a identificação (por MNR) do principal dos seus metabolitos, o 7-hidroxi- Δ^1 -tetraidrocanabinol, sugerindo as bases futuras da identificação dos fumadores pela pesquisa na urina deste metabolito.



As experiências nos ratinhos demonstraram que o metabolito é, farmacologicamente, activo, o que faz sugerir a MECHOULAM (24) que o princípio activo seria o metabolito e não, propriamente, o Δ^1 THC. Assim se explicaria o facto da Marihuana não produzir efeito quando fumada pela primeira vez.

HOLTZMAN e col. (112) estudaram a influência na alteração da concentração das aminas cerebrais, no rato, encontrando ligeiro, mas significativo, aumento na concentração de 5-hidroxitriptamina, no cérebro total, e diminuição na concentração de norepinefrina, após administração de doses baixas de THC, mas aumentando a concentração com doses altas de THC. Os autores confirmaram uma correlação entre as variações nas aminas cerebrais e os efeitos observados (diminuição da actividade espontânea, moderada hipotermia, hipersensibilidade a estímulos tácteis e auditivos, etc) e assinalam que as mudanças nas concentrações nas aminas cerebrais não correspondem, exactamente, àquelas observadas com outras drogas psicotrópicas. Repetidas vezes, é assinalada a semelhança de efeitos da *Cannabis* com DLS e o sulfato de mescalina, mas a esta semelhança de efeitos não corresponde um mecanismo de acção idêntico (113). ÁGUAS DE SILVA, CARLINI E KORTE intentaram confirmar este facto, comprovando a falta de resistência cruzada entre drogas psicotrópicas: ratos tolerantes a Δ^1 THC e extractos de Cânhamo são ainda sensíveis ao LSD e ao sulfato de mescalina e vice-versa.

REACÇÕES CORADAS, DE IDENTIFICAÇÃO

É grande a diversidade de formas sob as quais esta droga se apresenta no mercado ilícito. As suas propriedades organolépticas, a sua composição química e a sua actividade farmacológica variam em consequência de uma boa parte da *Cannabis* ser produzida por cultivadores locais que recolhem, cada um, o seu pequeno lote. O modo de preparar a droga varia de acordo com os usos e tradições locais e as circunstâncias. Pode incluso acontecer que ocorram adulterações e modificações químicas no decorrer do armazenamento, contribuindo assim para a heterogeneidade do produto.

Tão extensas possibilidades de variação conferem uma real importância, dentro da luta de repressão do tráfico ilícito, à investigação de métodos de identificação inequívoca da droga e que permitam a diferenciação dos diversos tipos confiscados e a sua procedência.

A constância da função fenólica nos constituintes da *Cannabis* deu lugar a uma série de reacções coradas, tendo como base a utilização dos reagentes típicos dos fenóis.

Estas reacções, em geral, não satisfazem, na medida em que a cor final é dependente da composição (que já sabemos ser tão variável) da *Cannabis* e da inespecificidade das reacções, típicas, dos fenóis. São frequentes as falsas reacções positivas, dada a presença de compostos fenólicos nos vegetais. Assim as labiadas *Thymus*, *Rosmarinus* e algumas herbáceas de uso culinário dão tais reacções positivas.

Uma revisão dessas reacções é feita a seguir.

Prova de Beam

Descrita originalmente em 1911, consiste na aparição de cor violeta na resina de *Cannabis* tratada com solução etanólica de KOH a 5%. Os compostos responsáveis pela reacção seriam o CBD e o ACBD, ambos difenóis (o ácido canabidiólico reage mais lentamente). Portanto, amostras de tipo «verde» dão intensa positividade, que é débil na droga já «madura», com pouco conteúdo em CBD.

O ensaio pode conduzir-se assim: 2 ml dum extracto em éter de petróleo evapora-se à secura em cápsula de porcelana; ao resíduo, adicionar III ou IV gotas da solução de KOH a 5% em etanol; decorridos poucos minutos, desenvolve-se cor violeta.

O fundamento da reacção é segundo MECHOULAM (24), a oxidação do ACBD e o CBD às hidroxiquinonas, cujos aniões são de cor violeta escuro.

Segundo DAVIES e FARMILLO (42), a prova é 10 vezes mais sensível que a reacção com os diazo-reagentes e tem, aproximadamente, a mesma sensibilidade que a reacção de Duquenois.

Prova do cloreto férrico (descrita por Fulton)

Técnica: a 10 ml duma solução de resina a 0,05% em metanol, junta-se 0,1 ml de solução de FeCl₃ a 1% em metanol, recentemente preparada. Cor obtida: violeta-azul.

GRLIC (27), estudando o comportamento de diversas amostras de *Cannabis* e ensaiando, paralelamente, com constituintes canabinólicos puros, atribuiu a responsabilidade da formação da cor ao ácido canabidiólico, concluindo que a reacção fortemente positiva é indicativa do conteúdo em ácido canabidiólico, portanto, de droga fresca e de tipo verde, diminuindo a intensidade da reacção com a armazenagem da droga.

Prova de Grlie

Baseada na reacção do peróxido de hidrogénio, em meio fortemente ácido (H_2SO_4), proposta por DUQUENOIS e NEGM, já em 1938, como muito sensível, mas não suficientemente específica.

GRLIC (115) procede da seguinte forma: Extracção da droga, por maceração em éter de petróleo, durante 24 horas; 0,2 ml do extracto evaporam-se, numa cápsula de porcelana. Adicionar ao resíduo II gotas de H_2O_2 a 20% e 0,5 ml de ácido sulfúrico concentrado; agitar durante 1 minuto.

Observar a cor do líquido aos 5 minutos. (As cores resultantes, ainda que características, não são estáveis, alteram-se, ao cabo de poucos minutos). A cor obtida varia do vermelho até ao pardo ou pardo verdoso, conforme a composição da amostra (maior predomínio de CBD no primeiro caso e de THC no segundo). O ensaio efectuado, comparativamente, com padrões puros, dá para o CBD uma cor vermelha intensa, cor de sangue; o THC sintético confere uma cor violeta; o extracto da droga total leva à obtenção de cor parda, pela sobreposição de cores devidas aos outros canabinóis presentes.

Esta prova, mais que propriamente de identificação, tem interesse para conhecer o grau de «madureza», ou seja, o estado do processo fitoquímico e a actividade fisiológica da amostra, de modo simples e elementar.

Centro de Documentação Farmacêutica da Ordem dos Farmacêuticos

Prova do Indofenol

A reacção foi descrita por GIBBS para os fenóis com a posição «para» livre, os quais dão compostos corados com a quinona cloroimida, neste caso a 2,6-dicloroquinocloroimida.

Técnica (segundo GRLIC) (27): a 2 ml duma solução etanólica de resina, a 0,05%, adicionar 0,5 ml de solução, recentemente preparada, de 2,6 dicloroquinocloroimida a 0,003% em etanol. Transferir a mistura para 5 ml de Na OH N/10 contendo 0,6% de $Na_2 SO_3$ cristalino e agitar. A cor obtida varia do vermelho (CBD) ao violeta (THC) e azul esverdeado, de acordo com a composição da amostra. A leitura da extinção do produto corado obtido poderá ler-se a 420, 525 e 630 $m\mu$, usando o etanol como branco. Os compostos CBN, THC e CBD, poderão responder à reacção, quando por outro lado, o mesmo não acontece com o ácido canabidiólico, por não ter livre a posição «para».

Prova de Ghamravv

(Técnica segundo PAMPLONA e A. RAMOS (119)).

Tomar 2 ml do extracto alcoólico da droga e evaporar à secura, em cápsula de porcelana, a B. M. Adicionar sobre o resíduo 1 ml do reagente:

P-dimetilamino benzaldeído	65 mg
Ácido sulfúrico concentrado (D=1,84)	5 ml
Água destilada	1 ml

Levar a B. M. até que a cor varie mais, deixar arrefecer e observar a cor vermelha escura. No caso de amostras de *Cannabis*, a cor não varia ao arrefecer.

Diazorreacção

(Técnica segundo PAMPLONA e A. RAMOS (119)).

2 ml do extracto alcoólico da droga, evaporar à secura em cápsula de porcelana em B. M., adicionar ao resíduo 0,5 ml de ácido sulfanílico a 0,5%, V gotas de solução de nitrito de sódio a 1% e 2 ml de ácido clorídrico a 5%; alcalinizar o líquido com Na_2CO_3 . Resultado positivo: formação de cor vermelha.

Prova de Duquenois Moustapha

Em 1938, no *J. Egip. Medical Ass.*, estes autores preconizaram este método que tem gozado da maior aceitação e difusão.

Baseado na reacção da vanilina (metametoxiidrobenzaldeído) e acetaldeído, em meio ácido, sendo positiva a aparição de coloração púrpura-violeta. Para despistar falsas reacções positivas, o método foi modificado por LEVINE, procedendo-se à extracção da cor, mediante clorofórmio, aceitando-se só como positiva o aparecimento da cor na camada clorofórmica. A técnica preconizada pela *Ass. Off. Agriculture Chemist.* (120) é a seguinte:

Preparação do reagente: a 1 g de vanilina em 50 ml de álcool, juntar XII gotas de acetaldeído.

Extrair uns 100 mg de amostra com 25 ml de éter de petróleo, filtrar sobre um prato de porcelana, evaporar à secura, adicionar 2 ml do reagente de Duquenois e agitar até dissolver o resíduo.

Juntar 2 ml de ClH concentrado, agitar e, após 10 minutos, observar a cor desenvolvida; transferir a solução para um tubo de ensaio, adicionar clorofórmio (2 ml), agitar e deixar separar as duas camadas, observar a cor da camada clorofórmica.

O mecanismo da reacção é, provavelmente, uma condensação do tipo experimentado entre aldeídos e fenois (121).

ADAMS supunha que a reacção só teria lugar com o THC, e, portanto, seria específica para este composto. Não é assim. De acordo com

DAVIES e FARMILLO (42), a reacção tem lugar com todos os canabinóis. Estes autores realizaram ensaios segundo a técnica do disco, no qual se dispõe simultaneamente gotas de vários 1-3-diidroxifenóis.

O resorcinol, o orcinol e o 4-clororesorcinol deram intensa cor púrpura; o ácido 1,3-diidroxí-4-benzóico desenvolve, lentamente, uma cor vermelha e com o ácido 1,3-diidroxí-5-benzóico resulta uma cor verde pálida.

Estes resultados sugerem, pois, que para que a reacção tenha lugar necessário se torna que, pelo menos, a posição C_6 do composto fenólico esteja livre.

Se ambas as posições 4 e 6 estão livres e não são inactivadas por uma posição «meta» do carbono (caso do orcinol), o composto dará forte reacção positiva.

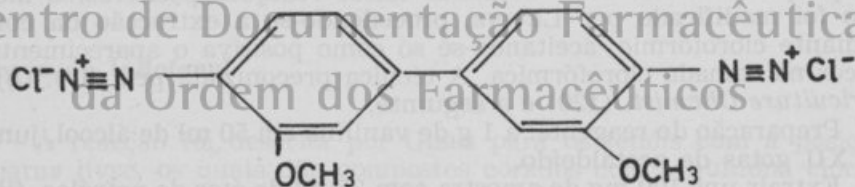
Reacções de copulação com os corantes azóicos

É conhecida a formação de produtos corados pela copulação de compostos com grupos fenólicos com os sais de diazónio.

Vários corantes azóicos «sólidos» têm sido ensaiados. FAUBERT MAUNDER (116) publica uma lista deles e as respectivas colorações obtidas.

O azul sólido B apresenta-se como o mais satisfatório.

A primeira referência, em ordem cronológica, ao uso do azul sólido encontramos-a em KOLSEK (117), como reagente para a revelação de cromatogramas em papel. O método de cromatografia em camada fina proposto por KORTE e SIEPER consagrou-o como o reagente de eleição para compostos canabinólicos. Com efeito, pela sensibilidade, 0,01 μg , segundo KORTE (118), e a nítida diferenciação de cor com cada um dos compostos da *Cannabis sativa*, permite a identificação de cada um deles, ainda quando não se disponha de padrões de referência.



Genéricamente conhecida como di-o-anisidina tetraazotada, CI N.º 37 235 (416), é o cloreto do 3,3'-dimetoxi-difenil-4,4'-di-diazónio solúvel em água e metanol, usa-se, normalmente, em solução aquosa a 1%.

Encontra-se no comércio sob os nomes de

Echtblau Salz B, da casa Merck
Fast blue Salt B

As colorações obtidas com este reagente são:

THC: vermelho de tijolo;

CBN: violeta;

CBD: laranja;

ACBD: vermelho rosa;

Extracto em éter de petróleo da droga total: vermelho tijolo.

Não obstante as suas limitações e contingências, estas reacções coradas continuam a ter o seu interesse prático para o reconhecimento da *Cannabis* por parte de pessoal não especializado (agentes alfandegários, policiais, etc.), em ensaios rápidos, frequentemente, «in loco». Com esta finalidade, tem-se procurado simplificá-los e adaptá-los a estas condições de trabalho (124).

FAUBERT MAUDER (116) esquematizou dois métodos: um representando uma simplificação da prova clássica de Duquenois, outro em que se utiliza o corante azóico Azul sólido B.

Modificação da prova de Duquenois

A substituição do acetaldeído pelo metaldeído, permite conservar, indefinidamente, o reagente sob forma sólida, sendo ao mesmo tempo aumentadas a sensibilidade e a rapidez da reacção. Esta modificação passou a ser conhecida como test «meta» de Duquenois.

Material:

1 tubo de ensaio;

1 fonte de calor (pode servir um isqueiro).

Reagentes:

Etanol (pode substituir-se por álcool desnaturado);

Ácido clorídrico concentrado; $d=1,18$;

Clorofórmio;

Reagente sólido: misturar intimamente o metaldeído em pó (1%) com a vanilina;

Reagente líquido: 2% do reagente sólido em etanol.

Técnica:

Colocar no tubo de ensaio 1 mg de resina ou 2 mg da planta e 100 mg do reagente sólido. Adicionar 1 ml de etanol e aquecer para facilitar a dissolução (é desnecessário continuar a aquecer, uma vez iniciada a dissolução), em regra, após uns 10 segundos.

Sem deixar arrefecer, juntar de 1 a 3 ml de ácido clorídrico; se as amostras são positivas, aparece cor violeta. Seguidamente, adicionar o clorofórmio, agitar e observar se a cor passa à camada clorofórmica; em caso afirmativo, o ensaio dá-se como positivo.

Prova «sobre o terreno»

Material:

Papel mata-borrão ou papel de filtro;
2 conta gotas;
uma micro-espátula.

Reagentes:

Éter de petróleo (ponto ebulição 40—60° C);
Água destilada;
Reagente sólido [Azul sólido B, diluído (1:100) com sulfato de sódio anidro].

Técnica:

Colocar 1 mg da substância a identificar sobre o papel de filtro; adicionar 1 gota de éter de petróleo, deixar embeber e secar o papel naturalmente. Retirar a substância (pode reservar-se para, em caso de dúvida, efectuar a prova de Duquenois). Juntar à volta de 0,1 mg do reagente sólido sobre o papel de filtro no lugar em que se tinha colocado, previamente, a amostra e adicionar 1 gota de água destilada. Aparece uma coloração vermelho-tijolo intensa, na zona ocupada anteriormente pela mancha de éter de petróleo. Para substâncias pegajosas, o autor recomenda empregar o papel de filtro dobrado e suficiente éter de petróleo para embeber ambas as duas folhas; o reagente e a gota de água adicionam-se, só na segunda folha, no papel inferior, evitando-se assim (pela filtração da solução de éter de petróleo), possíveis dificuldades de interpretação da cor obtida.

O não aparecimento da cor vermelha é segura indicação de que não se trata de uma amostra de *Cannabis sativa*.

A especificidade das três reacções mais frequentemente empregadas para a identificação da droga tem sido estudada no programa de investigações sobre o cânhamo das Nações Unidas (116, 123).

O estudo foi realizado sobre 11 amostras diferentes de *Cannabis* e 120 espécies de plantas pertencentes a 23 famílias botânicas. Da comparação dos resultados, assinala-se que todas as amostras de *Cannabis* dão uma reacção fortemente positiva, para a reacção de Duquenois, enquanto, para as provas de Beam e Ghamrawy, os resultados variam de um lote para outro.

No confronto com outras espécies vegetais, várias tem tendência a dar os testes da *Cannabis*, em especial com a prova de Ghamrawy, tratando-se geralmente de plantas com conteúdo de óleos essenciais.

Do documento destacam-se as conclusões seguintes: a prova de Beam revela-se como a mais específica, e a prova de Duquenois a mais sensível. A prova de Ghamrawy tem um valor limitado para a identificação e só em associação com as outras duas. Das 120 espécies analisadas, só uma, a *Salvia officinalis*, deu resultado positivo para as três provas (Beam, Diazorreacção e Ghamrawy).

Também a validez de algumas das reacções químicas da *Cannabis sativa* foram estudadas por PAMPLONA e RAMOS (119) frente a outras plantas que, frequentemente, adulteram a maconha no mercado brasileiro: Tabaco (*Nicotina tabacum*) Liamba (*Vitex Agnus-castus*) e a Vassourinha de Botão (*Borrelia verticilata*), concluindo que a prova de Beam, em meio alcalino, é a única que se apresenta específica para o cânhamo.

A maioria das reacções anteriormente descritas tem sido utilizada para a revelação das manchas nos métodos cromatográficos (122, 125 e 127).

MÉTODOS ANALÍTICOS

O reconhecimento da planta, que não oferece qualquer dificuldade macroscopicamente (porte, folhas características, cheiro típico, etc.), pode também ser facilmente identificada, quando triturada, pelo exame microscópico. Não obstante, tratando-se de resina (sem elementos histológicos) ou de misturas com outras drogas, ou dos restos de combustão incompleta de cigarros, ou na pesquisa (só agora iniciada) em líquidos orgânicos, pode ser preciso recorrer a outras técnicas analíticas.

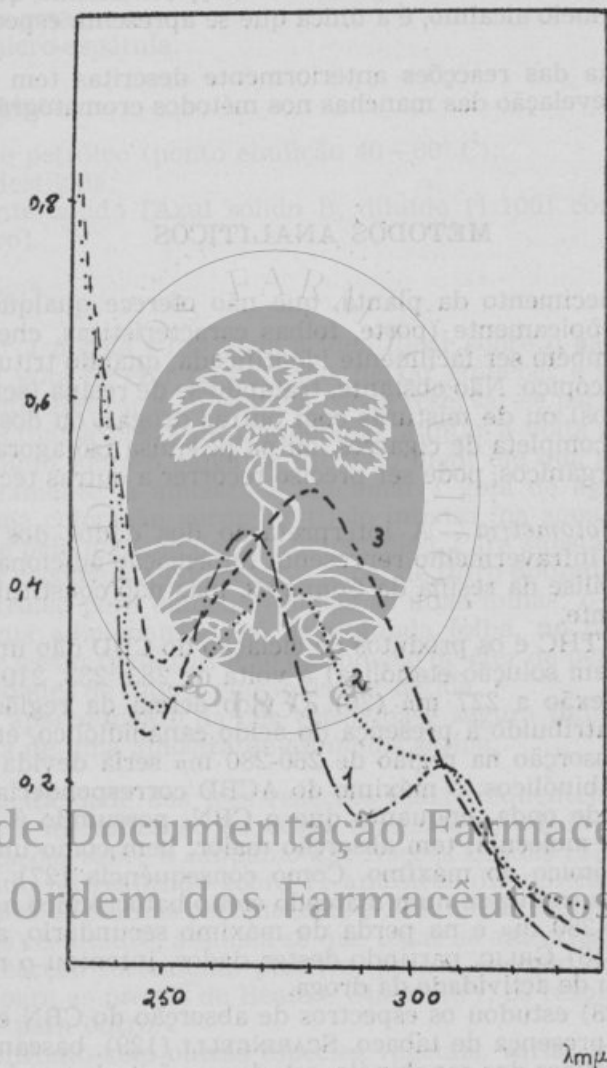
Espectrofotometria — A interpretação dos dados dos espectros ultravioleta e infravermelho representa informação adicional na identificação e análise da resina da *Cannabis*, mas não constitui um elemento suficiente.

Todos os THC e os produtos de ciclação do CBD dão um máximo de absorção (em solução etanólica) à volta de 283, 233, 210 $m\mu$ e um ponto de inflexão a 227 $m\mu$ (26). O pico acima da região dos 300 $m\mu$ tem sido atribuído à presença do ácido canabidiólico, enquanto o máximo de absorção na região de 260-280 $m\mu$ seria devida aos componentes canabinólicos: o máximo do ACBD corresponderia a menor comprimento de onda, enquanto que o CBN, possuindo 6 duplas ligações na sua molécula, tem absorção maior, bem como um deslocamento batocrómico do máximo. Como consequência (27), a «maturação» da resina traduz-se num marcado efeito batocrómico no máximo da região 260-280 $m\mu$ e na perda do máximo secundário, acima dos 300 $m\mu$ (Fig. 13) GRILIC, partindo destes dados, intentou o reconhecimento do grau de actividade da droga.

BIGGS (128) estudou os espectros de absorção do CBN e CBD em vísceras e na presença de tabaco. SCARINGELLI (129), baseando-se nos caracteres fenólicos dos canabinóis, estudou o efeito batocrómico, examinando o espectro de absorção de amostras de *Cannabis*, em meio ácido e em meio alcalino. O autor afirma que as curvas são suficientemente características para permitir a identificação frente a outros extractos vegetais (tabaco, eucalipto). Não obstante, os métodos espectrofométricos (UV) não constituem uma forma de ensaio de rotina.

Os espectros infravermelhos dos tetraidrocanabinóis, tanto naturais como sintéticos, são muito parecidos entre si, não se prestando a

Ex.



Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

Absorção UV de extractos em etanol (De GR LIC, Bull. estupefiants 1962)

- 1 — resina «verde»
- 2 — resina tipo internédio
- 3 — resina «madura»

uma interpretação segura (26), ainda que alguns autores (130, 131) os preconizem como método rápido de identificação.

O espectro infravermelho do extracto total em éter de petróleo do padrão de referência das Nações Unidas foi publicado por JOACHIMOGLU, no *Bulletin des Stupéfiants* (99).

GRLIC, através dos dados do espectro infravermelho, estabelece (100) um método de diferenciação dos tipos de *Cannabis sativa*, calculando, para as distintas amostras, os seguintes parâmetros: $T_{890} - T_{1130}$ e $T_{815} - T_{890}$.

Parâmetro $T_{890} - T_{1130}$

A banda de absorção a 890 cm^{-1} é atribuída ao grupo $\text{H}_2\text{C}=\text{C}$ presente no ACBD e a banda 1130 cm^{-1} é a frequência característica do grupo $>\text{C} < \begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$ presente no THC e no CBN, supondo-se (100) que este grupo é formado pela redução do primeiro, no decurso do processo de «amadurecimento». A diferença entre os valores da transmissão a estas duas frequências, pode ser utilizada como uma indicação, aproximada, da relação entre os componentes, ou seja, da relação $\frac{\text{THC} + \text{CBN}}{\text{ACBD} + \text{CBD}}$.

ACBD + CBD

Os valores negativos deste parâmetro (-25 a 0) são característicos da *Cannabis* de países da Europa central, cultivada pela sua fibra, e de outras amostras de tipo «verde»; para a *Cannabis* de tipo «intermédio», os valores deste parâmetro oscilam entre 0 e 25 , enquanto para a *Cannabis* «madura» o valor é superior a 25 .

A banda a 815 cm^{-1} é característica do anel benzénico trissubstituído nos carbonos 1, 2 e 4, caso do CBN.

Assim a diferença $T_{815} - T_{890}$ estará em correlação com a relação: $\frac{\text{ACBD} + \text{CBD}}{\text{CBN}}$.

Ainda que os THC responsáveis pela actividade fisiológica da droga não influam, de um modo directo, neste resultado, este parâmetro estará também em relação com o estado de «madureza» da droga.

Valores de 10 a 30 correspondem a droga «verde» e valores negativos (-16) correspondem a amostras de *cannabis* «madura».

(Este parâmetro é inversamente proporcional à diferença $T_{890} - T_{1130}$).

Métodos cromatográficos

As primeiras cromatografias sobre papel (117, 127, 132) foram substituídas pelas técnicas em camada fina; dos métodos propostos, a técnica de KORTE e SIEPER (26, 118) tem sido a mais divulgada e aplicada constituindo, já hoje, um método clássico para a identificação e

análise dos componentes da *Cannabis sativa*, sendo objecto, por alguns autores, de modificações visando reduzir o tempo do ensaio (133).

Existe, já hoje, uma extensa bibliografia utilizando a CCF com fins analíticos (135, 136, 137), dado permitir a identificação da presença de *Cannabis* em restos de combustão incompleta (138), incluso em presença de tabaco, a determinação da droga adicionada a urina (122), a análise toxicológica *post-mortem* (139), etc..

A técnica descrita por KORTE e SIEPER emprega placas de sílica gele impregnadas de N,N-dimetilformamida e a fase móbil é constituída por cicloexano. As manchas, que inicialmente foram visualizadas pelos reagentes clássicos de Beam, Gibbs, Ghamrawy, são facilmente reveladas com o cloreto de di-*o*-anisidine tetrazólio (Echtblausalz B Merck), o qual se copula com os canabinóis para dar lugar a compostos corados: laranja, vermelho e azul. As cores obtidas diferem muito marcadamente entre si, possibilitando a identificação dos compostos fenólicos sem ter de recorrer a padrões de referência, com a possibilidade de detectar quantidades da ordem de 10^{-2} μ g.

Os citados autores efectuaram, também, a determinação quantitativa mediante a CCF.

As manchas dos cromatogramas, transformadas por meio de Echtblausalz B em compostos azóicos, foram seguidamente eluídas com ácido acético glacial-álcool metílico (1:1) e medidas por espectrofotometria.

Posteriormente, outro método foi proposto por CADDY e FISCH (140), baseado na resolução de compostos não saturados (lipídios, esteróides), mediante placas de sílica gele impregnadas de nitrato de prata. A separação é devida à facilidade dos iões prata formarem complexos π nesta ordem decrescente: duas duplas ligações isoladas < uma dupla ligação < sistema aromático. Foi assim possível, não só, a separação de monoenes e dienes, bem como de isómeros *cis* e *trans*.

Mais recentemente, GRIC (134) propõe a separação mediante placas de sílica gele (Eastman Chromagram 6060), previamente tratadas com aminas (dietilamina ou dipropilamina) e o sistema de desenvolvimento formado por tolueno ou xileno (sistema de desenvolvimento que já tinha sido experimentado por MAUNDER (133)).

A cromatografia Gás-Líquido é o método de eleição para análise da *Cannabis*. Inicialmente aplicada por KINGSTON e KIRK (121) e FARMINO (42), são já hoje muito numerosos os trabalhos publicados (141 a 145).

As colunas usadas até agora têm sido elastómeros de silicone SE 30, empregados por FARMILLO (42), BETTS (33); XE 60 (polímero de cianoetilsilicone), usado por CADDY e FISH (144); OV 17 por LERNER e ZEFFERT; outros autores como HEAYMAN (142), propuseram o uso de coluna de fase estacionária mais polar, o que permitiria uma melhor resolução e trabalhar a temperaturas inferiores, recomendando o uso de colunas de Carbowax 20 M, a 1%, em cromosorb. Uma boa separação obtém-se com cada uma das citadas colunas para o Δ^1 THC, CBD, canabicromene e canabigerol, sendo a ordem de aparecimento no cromatograma: CBD, THC, CBN, este mais lentamente.

A dificuldade está na separação dos isómeros de posição Δ^1 THC e Δ^6 THC, dado terem, ambos, os tempos de retenção muito próximos; separação muito bem lograda por LERNER em colunas de OV 17 (36).

A alta temperatura (200° C—250° C) das colunas, provoca, naturalmente, a descarboxilação dos compostos ácidos, facto que é vantajoso num exame de rotina, já que traduzirá, directamente, o conteúdo de THC ao dispor do fumador, pela analogia do processo com a combustão num cigarro (24).

Na análise quantitativa de tipo experimental, esta descarboxilação deve então ser evitada, mediante esterificação.

BIBLIOGRAFIA

- (1) L. S. GOODMAN, A. GILMAN, *The Pharmacological basis of therapeutics*. MacMillan Company, N. Y. 2nd ed., p. 170-174 (1958) e 3th ed., p. 299-301 (1965).
- (2) A. TODD, Les drogues du chamvre, *Endeavour*, 2, 69 (1943).
- (3) BREYER-BRANDWIJK, *Medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa*, 2th ed. Livingstone Ltd. (1962).
- (4) T. ASUNI, Les problèmes socio-psychiatriques du Cannabis au Nigeria, *Bull. Stupéfiants*, 16, 17-28 (1964).
- (5) D. PARREIRAS, La reunion du groupe consultatif interamericain pour la lutte contre l'abus des stupefiants, *Bull. Stupéfiants*, 15, 49-54 (1963).
- (6) An., Une Concoction de cannabis, *Bull. Stupéfiants*, 20 (2), 57 (1958).
- (7) L. PLANCHON, *Précis de matière médicale*, Maloine, Paris. p. 435 (1946).
- (8) O. MARTIN, *Nouveau Formulaire Magistral de Thérapeutique clinique et de pharmacologie*. 8e. ed. p. 217-219 (1931).
- (9) *Farmacopea Portuguesa*, 1870, p. 92, 187, 417.
- (10) J. RIBADEAU DUMAS, La marijuana est-elle aussi dangereuse qu'on voudrait le faire croire? *Presse Méd.*, 78, 17 (1970).
- (11) Marijuana program advances at NIMH, *Chem. & Eng. News*, 48 (n.º 28), 30-33 (1970).
- (12) R. C. PILLARD, Marihuana, *New England J. Med. Assoc.*, 283, 294-303 (1970).
- (13) Droga um mito che la scienza chiarisce a fatica, *Tempo Médico* (n.º 85), 42-46 (1970).
- (14) F. GARFIELD, Federal plan for Narcotics and Dangerous Drugs, *Bull. Parenteral Drug Assoc.*, 24, 11-13 (1970).
- (15) M. SONNENREICHS, The controlled Dangerous Substances Act of 1969, *Bull. Parenteral Drug Assoc.*, 24, 14-22 (1970).
- (16) A. PEREIRA COUTINHO, *Flora de Portugal*, 2.ª edição, p. 206 (1939).
- (17) M. LOSA, S. RIVAS e J. M. M. MEDINA, *Botânica descritiva Aplicada* p. 263 (1949).
- (18) T. P. HILDITCH, Les corps gras des fruits ou des graines, *Endeavour*, 11, 173-182 (1952).
- (19) A. OSOL, G. E. FARRAR, *The Dispensatory of the United States of America* 25th Edition, p. 1613.
- (20) B. JAKSON and D. SNOWDON, *Powdered vegetable drugs* — Churchill Ltd. p. 62-65 (1968).
- (21) *Farmacopea Española IX*, p. 302 (1954).
- (22) NAKAMURA, Forensic aspects of Cystolith Hairs of Cannabis and other plants, *Journal of the A. O. A. C.*, 52 (n.º 1), 5 (1969).
- (23) N. FARNSWORTH, Pharmacognosy and chemistry of Cannabis sativa, *J. Am. Pharm. Assoc.*, 20, 410 (1969).
- (24) R. MECHOULAM, Marihuana Chemistry, *Science*, 168, 1159-66 (1970).

- (25) A. NOIRFALISE, Les hallucinogenes et leur detection toxicologique, *J. Pharm. Belg.*, 50, 387-399 (1968).
- (26) S. F. KORTE, H. SIEPER, S. TIRA, Nouveaux résultats des recherches concernant les constituants spécifiques de l'effect hachichique, *Bull. Stupéfiants*, 17 (1), 35-44 (1965).
- (27) L. GRILIC, A comparative study on some chemical and biological characteristics of various samples of cannabis resin, *Bull. Stupéfiants*, 14 (3), 37-46 (1962).
- (28) M. FUJITA, H. SHIMOMURA, E. KURIYAMA, M. SHIGEHIRO, and M. AKASU, Cannabis. II. Examination of narcotics and its related components in hemp, crude drugs, and plant organs by gas-liquid chromatography and thin-layer chromatography, *Shoyakugaku Zasshi*, 21, 57-64 (1967) Apud *C. A.*, 69, 61 567 m (1968).
- (29) T. KITSUTAKA, S. HONMA, H. KANESHIMA, M. MORI, Y. KOGA, S. NISHIOKA and K. SUDA, Cannabis in Hokkaido. I. Distribution and narcotic constituents of cannabis in Hokkaido, *Hokkaidoritsu Eisei Kenkyushoho*, n.º 19, 140-3 (1969) Apud *C. A.*, 71, 94 799 h (1969).
- (30) M. COVELLO, Ricerche chimiche e farmacologiche sulla «*Cannabis indica*» coltivata in Italia, *Il Farmaco, ed. Sci.*, 3, 7-12 (1948).
- (31) P. LERNER, Détermination exacte du tétrahydrocannabinol dans la marihuana et le hachisch, *Bull. Stupéfiants*, 21 (3), 41-44 (1969).
- (32) K. OKAMOTO, Components of Japanese cannabis, *Kagaku Keisatu Kenkyusho Kokoku*, 20, 109-116 (1967), Apud *C. A.*, 67, 76 645 d (1967).
- (33) T. J. BETTS, and P. J. HOLLOWAY, Chromatographic identification of cannabis, *J. Pharm. Pharmacol.*, 19, Suppl. 97, S-102 S (1967).
- (34) J. LEVINE, Origin of Cannabinol, *J. Amer. Chem. Soc.*, 86, 1868-1870 (1944).
- (35) Y. GAONI, and R. MECHOULAM, Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of Hashish, *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 1646 (1964).
- (36) M. LERNER et J. ZEFFERT, Détermination des isomères du tétrahydrocannabinol dans la marihuana et le haschich, *Bull. Stupéfiants*, 20 (n.º 2), 55-57 (1968).
- (37) AN., GC nails marijuana isomers, *Chem. & Eng. News*, 44 (n.º 53) 14 (1966).
- (38) Y. GAONI, and R. MECHOULAM, Concerning the isomerization of Δ^1 -to Δ^1 (Δ^1)-tetrahydrocannabinol, *J. Amer. Chem. Soc.*, 88, 5673 (1966).
- (39) G. JOACHIMOGLU et C. MIRAS, Quelques remarques sur la pharmacologie du cannabis, *Bull. Stupéfiants*, 15 (n.º 3-4), 7-8 (1963).
- (40) C. MIRAS, S. SIMOS and J. KIBURIS, Comparative assay of the constituents from the sublimate of smoked cannabis with that from ordinary cannabis, *Bull. on Narcotics*, 16 (n.º 1), 13-15 (1964).
- (41) A. JACOB and A. R. TODD, Cannabis indica. Part II. Isolation of cannabidiol from Egyptian Hashish. Observations on the Structure of cannabinol, *J. Chem. Soc.*, 649-653 (1940).
- (42) M. N. DAVIES and C. G. FARMILO, Identification and origin determinations of Cannabis by Gas and Paper Chromatography, *Anal. Chem.*, 35, 751-755 (1963).
- (43) H. J. WOLNER, J. R. MATCHETT, J. LEVINE and S. LOEWE, Isolation of a physiologically active tetrahydrocannabinol from cannabis sativa resin, *J. Am. Chem. Soc.*, 64, 26-29 (1942).
- (44) R. HIVELEY, Isolation of trans Δ^1 -Tetrahydrocannabinol from Marijuana, *J. Am. Chem. Soc.*, 88, 1832-1833 (1966).
- (45) K. E. FARENHOLTZ, M. LURIE and W. KIERSTEAD, The total synthesis of dl- Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and four its isomers, *J. Am. Chem. Soc.*, 89, 5934-5941 (1967).
- (46) T. PETRZILKA, W. HAEFLIGER, C. SIKEMEIER, G. OHLOFF and A. ESCHENMOSER, Synthese und chiralitat des (-)-Cannabidiols, *Helv. Chim. Acta*, 50, 719-723 (1967) e T. PETRZILKA, W. HAEFLIGER, and C. SIKEMEIER, Synthese von Haschisch-Inhaltsstoffen, *Helv. Chim. Acta*, 52, 1102-1134 (1969).
- (47) R. ADAMS, S. LOEWE, C. M. SMITH and W. D. MCPHEE, Tetrahydrocannabinol homologs and analogs with marihuana activity. XIII, *J. Amer. Chem. Soc.*, 64, 694-697 (1942).
- (48) E. TAYLOR, The synthesis of some model compounds related to tetrahydrocannabinol, *Am. Chem. Soc.*, 82, 5198-5202 (1960).
- (49) H. RAZDAM, The steroidal analog of a tetrahydrocannabinol, *J. Med. Chemistry*, 11, 377-378 (1968).
- (50) Y. GAONI and R. MECHOULAM, Cannabichromene, a new active principle in hashish, *Chem. Commun.* (1), 20-1 (1966), Apud *C. A.*, 64, 8124-h (1966).

- (51) V. V. KANE, R. K. RAZDMAN, Constituents of Hashish. A Novel reaction of olivetol with citral in the presence of pyridine. Total synthesis of dl-cannabicyclol and dl-cannabichromene, *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 6551-6553 (1968).
- (52) L. CROMBIE, R. PONSFORD, A. SHANI, B. YAGNITINSKY, R. MECHOULAM, Hashish components. Photochemical production of cannabicyclol from cannabichromene, *Tetrahedron Lett.* (55), 5771-2 (1968), *Apud C. A.*, **70**, 28 761 t (1969).
- (53) F. SPULAK, U. CLAUSSEN, W. H. FEHLHABER and F. KORTE, Tetrahydrocannabinol cannabidiolcarboxylic acid ester, a new constituent of hashish, *Tetrahedron* **24**, 5379-83 (1968), *Apud C. A.*, **69**, 59 035 t (1968).
- (54) R. MECHOULAM, Z. BEN-ZVI, B. YAGNITINSKY, A. SHANI, New tetrahydrocannabinolic acid, *Tetrahedron Lett.* (28), 2339-41 (1969), *Apud C. A.*, **71**, 70 749 r (1969).
- (55) E. C. TAYLOR, K. LENARD, Y. SHVO, Active constituents of hashish. Synthesis of dl- Δ^8 -3,4-trans-tetrahydrocannabinol, *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 367-369 (1966).
- (56) U. CLAUSSEN, F. SPULAK and F. KORTE, Hashish. XIV. Components of hashish, *Tetrahedron* **24** (2), 1021-3 (1967), *Apud C. A.*, **68**, 39 822 y (1968).
- (57) L. VOLLNER, D. BIENIK and F. KORTE, Hashish. XX. Cannabidivarin, a new hashish component, *Tetrahedron Lett.* (3), 145-7 (1969), *C. A.*, **70**, 78 162 u (1969).
- (58) F. TOFFOLI, U. AVICO et E. SIGNORETTI CIRANNI, Identification du chanvre biologique actif et du chanvre cultivé pour sa fibre, *Bull. Stupéfiants*, **20** (n.º 1), 55 (1968).
- (59) Y. SHOYAMA, T. YAMAUCHI and I. NISHIOKA, Cannabis. V. Cannabigerolic acid monomethyl ether and cannabinolic acid, *Chem. Pharm. Bull.*, **18** (7), 1327-1332 (1970).
- (60) DAUMÉZON, FOUQUET, MALE, PEQUIGNOT, PÉRIÉ et VAILLE, Table ronde, *Semaine Hop. Informations*, 20 Février 1970, p. 3-48.
- (61) AN., Marijuana, *The Medical Letter*, **12** (n.º 8), 33-35 (1970).
- (62) M. M. KEELER, C. B. REIFLER and M. B. LIPTZIN, Spontaneous Recurrence of Marihuana Effect, *Amer. J. Psychiat.*, **125**, 381-386 (1968).
- (63) W. H. MGGLOTHLIN and L. J. WEST, The Marihuana Problem: an Overview, *Amer. J. Psychiat.*, **125**, 370-378 (1968).
- (64) M. H. KEELER, Motivation for marihuana use: A correlate of Adverse Reaction, *Amer. J. Psychiat.*, **125**, 386-390 (1968).
- (65) W. BROMBERG, Marihuana — Thirty-five years Later, *Amer. J. Psychiat.*, **125**, 391-393 (1968).
- (66) L. J. HEKIMIAN and S. GERSHON, Characteristics of drug abusers admitted to a psychiatric hospital, *J. Amer. Med. Assoc.*, **205**, 125-130 (1968).
- (67) MURPHY, Le cannabis. Revue de la littérature psychiatrique récente, *Bull. Stupéfiants*, **15**, 1 (1963).
- (68) W. GROSSAMAN, Adverse reactions associated with cannabis products in India, *Ann. Inter. Med.*, **7**, 529-533 (1969).
- (69) A. A. BAXER and E. G. LUCAS, Some Hospital Admissions Associated with Cannabis, *Lancet*, **1**, 148 (1969).
- (70) A. T. WEIL, Adverse reactions to marihuana. Classification and suggested treatment, *New Engl. J. Med.*, **282**, 997-1000 (1970).
- (71) J. A. TALBOTT, Marihuana psychosis. Acute, toxic psychosis associated with the use of Cannabis derivatives, *J. Amer. Med. Assoc.*, **210**, 299-302 (1969).
- (72) I. PERSYKO, Marihuana Psychosis, *J. Amer. Med. Assoc.*, **212**, 1527 (1970).
- (73) AN., Cannabis, *Lancet*, **1**, 139-140 (1969).
- (74) L. GRINSPOON, Marihuana, *Sci. Amer.*, **221**, 17-25 (1969).
- (75) L. D. CLARK and E. N. NAKASHIMA, Experimental studies of marihuana, *Amer. J. Psychiat.*, **125**, 379-384 (1968).
- (76) J. R. TINKLENBERG, F. T. MELGES, L. E. HOLLISTER and H. K. GELLESPIE, Marihuana and immediate memory, *Nature* (London) **226**, 1171-1172 (1970).
- (77) F. T. MELGES, J. R. TINKLENBERG, L. E. HOLLISTER and K. K. GILLESPIE, Marihuana and temporal disintegration, *Science* **168**, 1118-1120 (1970).
- (78) J. E. MANNO, G. F. KIPLINGER, S. E. HAINE, I. F. BENNETT and R. B. FORNEY, Comparative effects of smoking marihuana or placebo on human motor and mental performance, *Clin. Pharm. and Ther.*, **11**, 808-815 (1970).

- (79) D. F. CALDWELL, S. A. MYERS, E. F. DOMINO, Effects of marihuana smoking on sensory thresholds in man, *Psychotomimetic Drugs, Proc. Workshop*, 299-321 (1969), *Apud C. A.*, 72 (21): 109-749 p (1970).
- (80) V. ROSSI, Pharmacologic effects of drugs which are abused. Marihuana, *Amer. J. Pharm.*, 142, 165-169 (1970).
- (81) J. SCHER, The marihuana habit, *J. Amer. Med. Assoc.*, 214 1120 (1970).
- (82) H. ISBELL, C. W. GORODETZSKY, U. CLAUSSEN, F. V. SPULAK and F. KORTE, Effects of (-) 9-Trans-Tetrahydrocannabinol in Man, *Psychopharmacologia*, 11, 184-188 (1967).
- (83) J. E. HUGHES, Marihuana and the Diabetic Coma, *J. Amer. Med. Assoc.*, 214, 1113-1114 (1970).
- (84) A. B. KING and D. V. COWEN, Effect of intravenous injection of marihuana, *J. Amer. Med. Assoc.*, 210, 724-725 (1969).
- (85) N. E. GARY and V. KEYLON, Intravenous administration of marihuana, *J. Amer. Med. Assoc.*, 211, 501 (1970).
- (86) L. O. HOLLISTER, K. RICHARD and H. K. GILLESPIE, Comparison of tetrahydrocannabinol and synhexyl in man, *Clin. Pharm. Therap.*, 9, 783-791 (1968).
- (87) C. L. SCHECKEL, E. BOFF, P. DAHLEN and T. SMART, Behavioral effects in monkeys of racemates of two biological active marijuana constituents, *Science*, 160, 1467-1469 (1968).
- (88) G. C. WALTERS and E. L. ABEL, Effects of marihuana homologue (Pyrahexyl) on avoidance learning in the gerbil, *J. Pharm. Pharmacol.*, 22 310-312 (1970).
- (89) J. B. SILVA, Identificação de canabinol através da análise cromatográfica no sangue, na urina e saliva de toxicómanos de Cannabis sativa, *Rev. Fac. Farm. e Bioquím. S. Paulo*, 5, 205-214 (1967).
- (90) H. M. STONE and H. M. STEVENS, Detection of Cannabis constituents in the mouth and on the fingers of smokers, *Forensic Sci. Soc. J.*, 9 (1-2), 31-4 (1969), *Apud C. A.*, 72, 20 136 p (1970).
- (91) AN., Pop «Pot», *The Lancet*, II, 989-990 (1963).
- (92) STARLING, LOVATT EVANS, *Principios de fisiologia humana*. Aguilar. Madrid, 1952.
- (93) E. A. RODIN, E. F. DOMINO, and J. P. PORZAK, The marihuana-induced «social high». Neurological and electroencephalographic concomitants, *J. Amer. Med. Assoc.*, 213, 1300-1302 (1970).
- (94) R. DARGIRMAMJIAN and E. S. BODY, Some Pharmacological effects of two tetrahydrocannabinols, *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 135, 26-33 (1962).
- (95) R. K. KUBENA and H. BARRY, Interactions of Δ^1 -tetrahydrocannabinol with barbiturates and methamphetamine, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 173, 94-100 (1970).
- (96) E. S. BODY and D. A. MERITT, Effect of a tetrahydrocannabinol derivate on some motor systems in the cat, *Arch. Int. Pharmacodyn*, 153, 1-12 (1965).
- (97) A. J. LAPA, C. A. M. SAMPAIO, C. TIMO-FARIA and J. R. VALLE, Blocking action of tetrahydrocannabinol upon transmission in the trigeminal system of the cat, *J. Pharm. Pharmacol.*, 20, 373-376 (1968).
- (98) H. I. BICHER and R. MECOULAM, Pharmacological effects of two active constituents of the Marihuana, *Arch. Int. Pharmacodyn*, 172, 24-31 (1968).
- (99) G. JOACHIMOGLU, J. KIBURIS et C. MIRAS, Etudes sur le cannabis au moyen de l'enchantillon de référence établi par l'ONU, *Bull. Stupéfiants*, 19 (1), 21-22 (1967).
- (100) L. GRILIC, Différentiation combinée au spectrophotomètre de Cannabis de types chimiques divers, *Bull. Stupéfiants*, 20 (n.º 3), 27 (1968).
- (101) J. R. VALLE, J. A. SOUZA e N. HYPOLITO, Bioassay of Cannabis preparations based on abolition of the rabbit blink reflex, *Farmacol. Ed. Sc.*, 22, 27-36 (1967).
- (102) F. HECHT, R. K. BEALS, M. H. LEES, H. JOLLY and P. ROBERTS, Lysergic- acid-diethylamide and cannabis as possible teratogens in man, *Lancet*, II, 1087 (1968).
- (103) G. CARAKUSHANSKY, R. L. NEU and L. I. GARDNER, Lysergide and cannabis as possible teratogens in man, *Lancet*, I, 150-151 (1969).
- (104) T. V. N. PERSAUD and A. C. ELLINGTON, Teratogenic activity of Cannabis resin, *Lancet*, II, 406-407 (1968).
- (105) W. F. GEBER and L. C. SCHRAMM, Effect of Marihuana extract on fetal hamsters and rabbits, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 14, 276-282 (1969).

- (106) P. A. MARTIN, Cannabis and chromosomas, *Lancet*, *I*, 370 (1969).
- (107) R. L. NEU, H. O. POWERS, S. KING and L. I. GARDNER, Δ^8 - and Δ^9 -Tetrahydrocannabinol: Effects on cultured human leucocytes, *J. Clin. Pharmacol.*, *10*, 228-230 (1970).
- (108) G. JOACHIMOGLU, J. KIBURIS and C. MIRAS, Distribution and excretion of tetrahydrocannabinol-14 C in rats, *Prakt. Akad Athenon* *42*, 161-7 (1967), *Apud C. A.*, *70*, 36 345 (1969).
- (109) B. T. HO, G. E. FRITCHIE, P. M. KRALIK, L. F. ENGLERT, W. M. Mc. ISAAC and J. I. HEIKKILA, Distribution of tritiated 1- Δ^9 Tetrahydrocannabinol in rat tissues after inhalation, *J. Pharm. Pharmacol.*, *22*, 538-539 (1970).
- (110) S. AGURELL, I. M. NILSSON, A. OHLSSON and F. SANDBERG, On the metabolism of tritium-labeled Δ^1 -tetrahydrocannabinol in the rabbit, *Biochem. Pharmacol.*, *19*, 1333-1339 (1970).
- (111) S. AGURELL, I. M. NILSSON, A. OHLSSON, F. SANDBERG, Elimination of tritium-labeled cannabinoids in the rat with special reference to the development of tests for the identification of Cannabis users, *Biochem. Pharmacol.*, *18* (5), 1195-201 (1969), *Apud C. A.*, *71*, 20 719 k (1969).
- (112) D. HOLTZMAN, R. A. LOVELL, J. H. JAFFE, D. X. FREEDMAN, 1- Δ^8 -Tetrahydrocannabinol; neurochemical and behavioral effects in the mouse, *Science*, *163*, (3874), 1464-7 (1969), *Apud C. A.*, *70*, 105 025 k (1969).
- (113) M. T. AGUAS DA SILVA, E. A. CARLINI, U. CLAUSSEN and F. KORTE, Lack of cross-tolerance in rats among (-)- Δ^9 -trans-tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC), cannabis extract, mescaline, and lysergic acid diethylamide (LSD-25), *Psychopharmacologia* *13* (4), 32-40 (1968), *Apud C. A.*, *70*, 18 799 x (1969).
- (114) I. M. NILSSON, S. AGURELL, J. L. G. NILSSON and A. OHLSSON, Δ^1 -Tetrahydrocannabinol structure of a major metabolite, *Science* *168*, 1228-1229 (1970).
- (115) L. GRILIC, Peroxide-Sulphuric Acid Test as an indication of the ripeness and physiological activity of cannabis resin, *J. Pharm. Pharmacol.*, *13*, 637-638 (1961).
- (116) M. J. MAUNDER, Deux réactions colorées simples utilisées pour identifier le cannabis, *Bull. Stupéfiants*, *21* (4), 39-46 (1969).
- (117) J. KOLSEK, M. MATIČIĆ, R. REPIC, Zur papierchromatographie der inhaltsstoffe des hanfes (Cannabis sativa), *Arch. Pharm.*, *295*, 151-157 (1962).
- (118) F. KORTE, H. SIEPER, Zur chemischen klassifizierung von pflanzen. XXIV Untersuchung von haschisch-inhaltsstoffen durch dünn schichtchromatographie, *J. Chromatog.* *13*, 90-98 (1964).
- (119) M. PAMPLONA e C. ADHELMAR, Sobre a especificidade de algumas reações químicas de Maconha, *An. Fac. Farm.-Univ. Fed. Pe.*, Recife, *8/9*, 65-76 (1965/1955).
- (120) W. BUTLER, Duquenois — Levine test for Marihuana, *J. Ass. Off. Agricult. Chemists*, *45*, 597-599 (1962).
- (121) C. R. KINGSTON, P. L. KIRK, Separation of components of Marijuana by gas liquid chromatography, *Anal. Chem.*, *33*, 1794-1795 (1961).
- (122) K. D. PARKER, J. A. WRIGHT, A. F. HALPERN, C. H. HINE, Rapport préliminaire sur la séparation et la détermination quantitative par la chromatographie en phase gazeuse des constituants cannabiques présents dans la plante ou ajoutés à l'urine, *Bull. Stupéfiants* *20* (4), 7-12 (1968).
- (123) L. GRILIC, Progrès récents des recherches chimiques sur le cannabis, *Bull. Stupéfiants* *16* (4), 29-38 (1964).
- (124) K. WATANABE, Field test of Cannabis, *Eisei Kagaku* *16* (2), 101-4 (1970), *Apud C. A.*, *73*, 69 759 d (1970).
- (125) M. VANHAELLEN, Identification par chromatographie sur couches minces de gel de silice de drogues végétales et de quelques-uns de leurs dérivés galéniques, *J. Pharm. Belg.*, *25*, 175-213 (1970).
- (126) P. CHAMBOM et R. CHAMBON-MOUGENOT, Contribution à l'identification des résines toxiques du Chanvre, *Ann. Pharm. Fr.*, *27*, 739-742 (1969).
- (127) F. KORTE und H. SIEPER, Papierchromatographische charakterisierung von haschisch-inhaltsstoffen, *Tetrahedron*, *10*, 153-159 (1960).
- (128) A. I. BIGGS, The spectrophotometric detection of cannabis sativa resin, *J. Pharm. Pharmacol.*, *5*, 18-25 (1953).
- (129) F. SCARINGELLI, Spectrophotometric identification of marihuana, *J. Ass. Off. Agricult. Chemists*, *44*, 296-303 (1961).

- (130) R. C. BACKER, W. N. BENSON, A. G. BECKS, R. J. BARNETT, Simple method for the infrared identification of cannabinoids of marijuana resolved by gas chromatography, *J. Forensic Sci.*, **15** (2), 287-91 (1970); *Apud C. A.*, **73**, 75 111 c (1970).
- (131) T. OKAMOTO and K. WATANABE, Rapid identification of Cannabis by means of infrared spectroscopy, *Yakugaku Zasshi* **90** (1), 15-19 (1970), *Apud C. A.*, **72**, 136 454 v (1970).
- (132) R. S. ROPP, Chromatographic separation of the phenolic compounds of Cannabis sativa, *J. Amer. Pharm. Assoc.*, **49**, 756-758 (1960).
- (133) M. J. F. MAUNDER, Simple chromatography of cannabis constituents, *J. Pharm. Pharmacol.*, **21**, 334-335 (1969).
- (134) L. GRILIC, A simple thin-layer chromatography of cannabinoids by means of silica gel sheets treated with amines, *J. Chromatog.*, **48**, 562-564 (1970).
- (135) J. P. GANATRA, S. SATAKOPAN, M. A. PATEL and M. R. SHASTRI, Identification of cannabis in seizure samples, *Indian J. Pharm.*, **31** (4), 101-3 (1969), *Apud C. A.*, **72**, 64 866 (1970).
- (136) R. F. TURK, R. B. FORNEY, L. J. KING and S. RAMACHANDRAN, A method for extraction and chromatographic isolation, purification and identification of tetrahydrocannabinol and other compounds from marijuana, *J. Forensic Sci.*, **14**, 385-388 (1969).
- (137) R. F. TURKS, H. I. DHARIR and R. B. FORNEY, A simple chemical method to identify marijuana, *J. Forensic Sci.*, **14**, 389-392 (1969).
- (138) F. CASINI, V. SBARIGIA, C. SCHAVONE, Riconoscimento della «cannabis indica» nei residui di combustione incompleta della droga, *Boll. Chim. Farm.*, **108**, 330-336 (1969).
- (139) A. HEYNDRICKX, Ch. SCHEIRIS and P. SCHEPENS, Toxicological study of a fatal intoxication by man due to cannabis smoking, *J. Pharm. Belg.*, **24**, 371-378 (1969).
- (140) B. CADDY, F. FISH, A screening technique for indian hemp (Cannabis sativa L.), *J. Chromatog.*, **31**, 584-587 (1967).
- (141) D. A. PATTERSON and H. M. STEVENS, Identification of cannabis, *J. Pharm. Pharmacol.*, **22**, 391-392 (1970).
- (142) L. T. HEAYSMAN, E. A. WALKER and D. T. LEWIS, The application of gas chromatography to the examination of the constituents of cannabis sativa L., *Analyst*, **92**, 450-455 (1967).
- (143) U. CLAUSSEN, W. BORGER und F. KORTE, Gaschromatographische der inhaltsstoffe des hanfes, *Liebigs Ann. Chem.*, **693** 158-164 (1966).
- (144) B. CADDY, F. FISH and W. D. C. WILSON, Gas chromatography of Indian hemp (Cannabis sativa L.), *J. Pharm. Pharmacol.*, **19**, 851-852 (1967).
- (145) C. G. FARMILLO, T. W. McCONNEL DAVIS, Paper and gas chromatographic analysis of cannabis, *J. Pharm. Pharmacol.*, **13**, 767-768 (1961).
- (146) *Colour Index*, 3^a ed., 1956, vol. 2, pag. 2608.
- (147) D. SILVA GOMES, Toxicomanias, Um caso de Higiene Moral, *Rev. Port. Farm.*, **20**, 47-81 (1970).
- (148) N. Q. BRILL, E. CRUMPTON, I. M. FRANK, J. S. HOCHMAN, P. LOMAX, W. H. MCGLOTHLIN and L. J. WEST, The marijuana problem, *Ann Internal Med.*, **73**, 449-465 (1970).
- (149) L. E. HOLLISTER, Hunger and appetite after single doses of marijuana, alcohol, and dextroamphetamine, *Clin. Pharm. Therap.*, **12**, 44 (1971).

ECOS E FACTOS

Relembrando ...

No passado dia 23 de Abril, e ao mesmo tempo que se realizava um seminário sobre «Aspectos de segurança relacionados com a embalagem e rotulagem de produtos farmacêuticos», entendeu o Secretário-geral da EFTA realizar uma conferência de imprensa para informação de órgãos especializados sobre as finalidades da associação no campo farmacêutico, para a qual foram convidados representantes de diversos jornais e revistas científicas ou profissionais dos países membros, ligados a estes problemas.

Estiveram presentes representantes do Pharmaceutical Journal, do Chemist and Druggist e do ABPI News, de Londres, do Farmaceutisk Tidende, de Copenhague, do Droit et Pharmacie e Produits et Problèmes Pharmaceutiques, de Paris, do Finska Apotekareforeningstidskrift, de Helsinquia, do Farmaceutisk Revy e da Svensk Farmaceutisk Tidskrift, de Estocolmo, do Meddelselser fra Norsk Farmaceutisk Selskap, de Oslo, da Cronache Farmaceutiche, de Milão, da Pharmaceutisch Weekblad, de Haia, da Neue Zurcher Zeitung, de Zurique, da Die Pharmazeutische Industrie e Chemische Rundschau, da Austria e da Revista Portuguesa de Farmácia. O delegado português foi o nosso colega Doutor Carlos Silveira.

Presentes também, como anfitriões ou participantes nos debates, Mr. Alfred Wacker, Secretário-Geral da EFTA, Mr. George Young, Chefe do Departamento de Imprensa e Informação, com Mr. M. Judge e Mr. V. Schaup-Weinberg do mesmo departamento, Mr. A. Gaeta, Chefe do Departamento Jurídico, com Mr. R. Martin, do mesmo departamento e ainda Mr. K. Adank, chefe da secção de registos da Ciba-Geigy, Mr. J. Buur, Director dos laboratórios do serviço nacional de saúde da Dinamarca e Mr. R. Lönngren, chefe do grupo de trabalho sobre Inspeções Farmacêuticas, da EFTA.

Ouviu-se em primeiro lugar e à maneira de introdução, uma curiosa oração do Secretário-Geral, Mr. Wacker, que se preocupou em esclarecer cabalmente todas as intenções e finalidades da Associação. Assim, venceu bem que a EFTA nunca teve as ambições do mercado comum, com a sua livre circulação de pessoas, mão de obra ou capitais, limitando-se antes a pretender fomentar e favorecer o comércio entre os países membros, comércio tão livre quanto possível, sem alguma vez tocar na absoluta soberania de cada país. Daí a sua designação de

EFTA (European Free Trade Association) ou AELE (Association Européenne de libre-échange).

Essencialmente, tornar os artigos industriais de livre entrada, sem tarifas alfandegárias nem quotas de importação, com condições especiais, estipuladas à parte, para produtos agrícolas e produtos provenientes da pesca.

São oito os países membros — Austria, Dinamarca, Inglaterra, Islândia, Noruega, Portugal, Grécia e Suíça — e 1 membro associado — Finlândia.

Estes países assinaram uma convenção, em 8 de Outubro de 1970 (*), para o reconhecimento mútuo de inspeções respeitantes à fabricação de produtos farmacêuticos, que tem como finalidade que cada país reconheça como equivalentes às suas próprias inspeções, as realizadas pelo organismo competente dos outros países, desde que haja, genericamente, uniformidade de pontos de vista quanto às inspeções a efectuar e ampla troca de informações.

Isto tem o objectivo de evitar que para um produto exportado e que tenha sido já sujeito a exigências legais, como fiscalização de produção, controlo da qualidade da produção, etc., venham a ser pedidas no país que o importou as mesmas verificações.

É evidente que há uma preocupação de padronização que venha a simplificar o comércio que se deseja expandir. A dificuldade está portanto em encontrar padrões de apreciação que se ajustem à legislação dos países membros e que não colidam com a de terceiros com os quais o comércio desses países é intenso. Assim, o país que fabrica o produto afere-o por métodos que sejam comuns e que tenham as mesmas exigências em toda a EFTA e depois pode vendê-lo tranquilamente.

Para conseguir esta finalidade a EFTA tem agido sábiamente. Começou por recomendar os padrões da OMS, sabido como é que hoje quase todos os países os adoptam. Depois, em vez de procurar que se publicasse legislação uniforme em todos os países membros, o que levaria imenso tempo e implicaria inúmeras dificuldades, procurou antes que os pontos de vista dos inspectores nacionais fosse tão semelhante que a apreciação em Zurique ou em Viena, como em Copenhague ou em Lisboa, quanto às inspeções feitas a fábricas de produtos farmacêuticos, tenha uma óptica tão semelhante quanto possível.

Ouviu-se depois Mr. R. Lönngrén dissertar sobre a filosofia da EFTA sobre este assunto; esta será portanto a de levar cada país a usar a informação fornecida por outro país, não obrigando cada um a modificar a sua legislação; a informação é sobre a qualidade dos laboratórios fabricantes, normas gerais da publicação e do controlo dum produto dado, com exclusão absoluta de elementos financeiros ou comerciais. O país importador é soberano para pedir informações e para decidir depois se essas informações são ou não suficientes para aprovar ou não o produto. Da decisão não há qualquer recurso.

A uniformidade de pontos de vista dos inspectores pretende a EFTA conseguir através de visitas em comum a várias fábricas em

(*) Vide rubrica ECOS e FACTOS do número anterior.

diversos países para se tender para uma mentalidade comum nas visitas de inspecção. São, evidentemente, os inspectores do país visitado que fazem a inspecção, actuando os outros como assistentes.

A convenção assinada entrará em vigor no dia 27 de Maio próximo, uma vez que já foi ratificada por um dos membros e o artigo 9 estipulava essa entrada em vigor para 90 dias após a entrada do 5.º instrumento de ratificação, o que já se deu.

Parece que estamos em presença de um primeiro passo — a uniformização de pontos de vista e de critério de apreciação —, para que um produto, uma vez aprovado para venda num dos países membros, o seja automaticamente em todos os outros.

Terminada a informação sobre a convenção sobre inspecção, ouviram os assistentes à reunião as palavras de Mr. Buur sobre o seminário em curso, sendo curiosas as suas informações no capítulo de se conseguirem métodos universais para os materiais de embalagem, o que considerou utópico, em vista da diversidade dos continentes e ainda sobre as farmacopeias que considerou pouco eficientes pela rápida desactualização e informação pouco adequada.

Mr. Adank fez algumas observações em que se evidenciaram os pontos de vista da indústria produtora, em face destes e doutros acordos que venham a celebrar-se.

Reunião proveitosa, com muita matéria para meditação. O reconhecimento mútuo de registos é, evidentemente desejado pelos países exportadores — Inglaterra 50% da produção, Suécia 70%, Suíça 90%. Isso evitaria perdas de tempo e até está no espírito da Associação. Diga-se, porém, que nem os países nórdicos ainda chegaram tão longe, apesar do contínuo estreitar das suas relações comerciais. Aliás, a base da convenção agora assinada é diferente. Relaciona-se sobretudo com o método usado pelos Estados Unidos da América que faziam depender, por exemplo, as exportações de medicamentos para o Vietnã, declaração de idoneidade do laboratório interessado por inspectores do seu departamento governamental (FDA) e procura, essencialmente, que tal exigência não se repita, até porque se pode pôr em causa a legalidade destas inspecções. Além disso, como muito bem acentuou o Dr. Adank a simples análise do produto acabado não é hoje considerada definitiva para ajuizar da boa qualidade terapêutica deste, sendo essencial o conhecimento dos cuidados e métodos utilizados durante a fabricação. Portanto e cingindo-se apenas a este aspecto, deixado de lado a complexa questão dos registos, não há dúvida que há um trabalho positivo do grupo de Mr. Lönngren. Porém, uma vez que o registo é hoje a peça fundamental que orienta todo o mecanismo da introdução do medicamento e que todos os países têm os seus próprios sistemas de registo, naturalmente cada vez mais apertados, não se vê ainda uma abertura para o sector tão claro como aquela que se evidencia noutros menos complicados.

Os participantes foram absequiados, no intervalo das sessões, com um almoço que serviu para mais estreita troca de impressões e melhor conhecimento mútuo. Aliás o acolhimento feito pelos representantes da EFTA dos diferentes delegados foi digno do maior apreço.

Organização provisória à espera da integração europeia, como também foi definida, a EFTA procura marca a sua posição no campo farmacêutico. Esperamos que a conferência de imprensa e este relato ajudem a esclarecer intensões e situação actual, para o melhor aproveitamento de oportunidades.

● Mercê das condições materiais facilitadas pelo Ministério da Educação Nacional é possível aos alunos completarem a sua preparação universitária com visitas de estudo a serviços relacionados com as matérias apreendidas. Assim, os finalistas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, acompanhados do seu Director e vários membros do Corpo Docente, visitaram a *Central Pasteurizadora de Leite da Câmara Municipal de Lisboa*, onde seguiram todo o ciclo do leite desde a recepção, pasteurização, análise, até ao acondicionamento e distribuição.

Visitaram também todas as instalações do *Laboratório da Polícia Científica*, assistindo a valiosas preleções sobre os aspectos analíticos de alguns dos mais delicados casos que foi necessário investigar. Realmente, só com as magníficas instalações existentes e o seu distinto corpo de técnicos é possível um trabalho em nível tão elevado, e que prestigia o país. Neste prestigioso Laboratório científico trabalham várias licenciadas em farmácia, incluindo o seu ilustre director que foi um antigo professor da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa.

● A *Société d'Hygiène Dermatologique de Vichy*, organização dermo-cosmética internacional que consolidou a sua marca através de um exclusivo de venda à FARMÁCIA, inaugurou, no passado dia 14 de Maio, o primeiro de uma série de Institutos de Beleza que se propõe abrir em Portugal.

A finalidade dos Institutos Vichy é a de apoiar em condições técnicas ideais o trabalho de elucidação e promoção a executar fundamentalmente na FARMÁCIA, através da presença das suas «esthéticiennes». É pois óbvio que os Institutos Vichy se distinguem dos clássicos estabelecimentos de Beleza que além da parte técnica incluem, e muitas vezes no maior grau, o interesse comercial. Pelo contrário, o Instituto VICHY recebe gratuitamente a cliente que a FARMÁCIA lhe envia, faz-lhe um diagnóstico do tipo de pele, executa uma sessão de limpeza, tratamento e maquilhagem, finalizando a sua colaboração graciosa pela passagem de uma ficha técnica, onde se especificam não só os produtos VICHY mais aconselhados, como as suas correctas utilizações.

Para assinalar a referida inauguração e também o lançamento comercial de uma nova linha de maquilhagem VICHY já utilizada, em ante-estreia, na Eleição de Miss Portugal 1971 realizou-se na «Boîte Carrousel» do Hotel Ritz, um Cocktail honrado com a presença dos

Ex.^{mos} Presidentes do Grémio das Farmácias e do Sindicato Nacional dos Farmacêuticos. Em nome da Organização Concessionária Para Portugal da S. H. D. V. discursou o Sr. Gaudêncio Costa, Presidente do respectivo Conselho de Administração. Entre cerca de 150 convidados temos de destacar, além dos Representantes Oficiais da Classe Farmacêutica já citados, o Presidente do Sindicato dos Ajudantes de Farmácia, assim como o Presidente Director Geral da Vichy mundial, Sr. Henri Touze, o Director Geral da Vichy Francesa, Sr. Robert Arnold e o Director de Exportação para a Europa, Sr. Gilles Boquien. Pela Vichy Portuguesa estiveram presentes além do Sr. Gaudêncio Costa, o Sr. Dillon-Corneck, Director Geral, o Sr. Silva Pais, Director de Marketing, o Sr. Arménio Fernandes responsável pelos sectores de Publicidade e Relações Públicas, e o nosso colega Silva Santos que desempenha a função de «Pharmacien-Conseil».

● A Direcção-Geral dos Hospitais, através do seu Centro de Formação de Pessoal, promoveu de 17 a 21 de Maio corrente, um Curso sobre «Orientações Terapêuticas perante o Novo Formulário Hospitalar de Medicamentos».

O programa que esteve a cargo de competentes técnicos da especialidade, subordinou-se aos seguintes temas:

- Aparecimento, evolução, intenção e orientações do Novo Formulário Hospitalar.
- Escolha de medicamentos nos principais grupos farmacêuticos.
- Aspectos práticos da utilização do Formulário Hospitalar nos Hospitais Centrais, Regionais e Subregionais, e tendência actual da investigação química em função da terapêutica moderna.

No dia 20, os participantes do Curso, todos farmacêuticos hospitalares de várias regiões do país visitaram o Novo Hospital Joaquim Fernandes, em Beja.

O curso encerrou no dia 21, tendo decorrido com grande interesse e aplausos da numerosa assistência.

Anunciando ...

● As necessidades da indústria moderna em materiais novos é um facto concreto que tende a aumentar. Tal fenómeno levou a «*Association Nationale de la Recherche Technique*» a organizar um Congresso Internacional subordinado a «*Les Matériaux Composites d'Aujourd'hui et de Demain*» que terá lugar em Lyon entre 22-24 de Setembro próximo. Simultaneamente haverá uma «*Exposição Internacional*» baseada na aplicação desses materiais.

Informações mais detalhadas podem ser pedidas a A. N. R. T., 44, Rue Copernic — Paris XVI°.

● Realiza-se de 9 a 12 de Novembro próximo nos pavilhões da «Royal Horticultural Society» em Londres uma exposição sobre o que há de mais moderno em matéria de acondicionamento e manutenção de produtos farmacêuticos, cosméticos e indústrias afins, tais como a dos sabões e detergentes.

Esta exposição, conhecida como INTERPHEX, atrai muitos visitantes não só pela exposição como pelas manifestações inerentes das quais se destacam conferências organizadas sob o auspício da Associação da Indústria Farmacêutica Britânica, visitas a Centros de Pesquisa e a modernas Unidades Industriais.

Esta manifestação é organizada tendo em vista responder ao interesse de químicos industriais, farmacêuticos, engenheiros de produção, especialistas de acondicionamento, assim como aos Dirigentes de Empresas e especialistas de Marketing.

Informações mais detalhadas poderão ser obtidas através de: BPS Exhibitions Ltd. — 6 London Street — London W2.

● A «Revista Portuguesa de Farmácia tem o grato prazer de transcrever o Projecto de estágios para obtenção do grau de especialista em análise químico-biológicas a realizar na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

A — Estágio de Rotina

1) — O candidato comunica à Faculdade e Sindicato Nacional dos Farmacêuticos o início do estágio em Laboratório idóneo. O Director do estágio confirmará o início, oficiando nesse sentido.

2) — Será elaborado um *caderno-sumário-diário* indicando o número de horas de trabalho quotidiano, rubricado, diariamente, pelo Director do Laboratório, e contendo o registo de todas as análises efectuadas em cada sessão de trabalho.

Nota — Deve inscrever, também, as análises no livro de registo diário, preencher os talões de arquivo, com os dados do Laboratório, os Boletins, a facultar com os resultados finais, nome dos reagentes preparados, etc.

— Efectuar-se-á um estágio de 1 000 horas, para treino em serviço de rotina, num laboratório idóneo.

3) — Organizar-se-á um *caderno com as técnicas usadas*, descritas uma vez, destacando-se o nome do método, seu funcionamento,

material e equipamento usado, preparação de reagentes, modo operativo, valores normais para a técnica utilizada e significado das variações patológicas — para o que compulsará bibliografia adequada e que mencionará. Este caderno será rubricado pelo Director do Laboratório.

4) — Se o candidato entender, pode fazer uma descrição pormenorizada do laboratório onde trabalhou: planta, seu apetrechamento e pessoal em serviço. Será como que um *primeiro* passo para se integrar na organização de um laboratório.

5) — O director do estágio de laboratório dará uma informação confidencial que, enviará directamente para o Director da Faculdade, sendo possível obedecendo a classificação ao critério seguinte: *mau, mediocre, suficiente, bom e muito bom.*

B — Admissão ao curso de aperfeiçoamento em análises químico-biológicas, para pós-graduados com estágio de rotina, a decorrer na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

1) — Requerimento em 1 de Outubro para frequentar o curso de aperfeiçoamento em análises químico-biológicas.

2) — *Exame de admissão: em 10 de Outubro, prático e oral, versando 4 questões dos trabalhos de rotina efectuados em um laboratório de análises químico biológicas:*

— Preparação de um reagente titulado.

— Execução de uma análise química e significado do resultado.

— Idem, uma análise bacteriológica e significado do resultado.

— Uma análise hematológica ou imunológica e significado do resultado.

Aulas teóricas e práticas, na Faculdade de Farmácia: 400 horas, de 18 de Outubro de 1971 a 15 ou 25 de Janeiro de 1972.

— O pós-graduado assinará, diariamente, o Livro de presenças.

— Apresentará o sumário das lições a que assistiu e elaborará um caderno, com os trabalhos executados no curso complementar da Faculdade, devidamente rubricados pelos orientadores.

— Assistirá a colóquios ou mesa redonda sobre assuntos previamente distribuídos.

— Poderá efectuar um trabalho especial visando a escolha do método mais indicado para a determinação, em produtos biológicos, de Hormonas, Enzimas, Vitaminas, etc. Será *Facultativo*, influinte na valorização.

— Exame final em Janeiro, na segunda quinzena.

O curso vai ter início em 18 de Outubro próximo e decorrerá, certamente, até 16 ou 25 de Janeiro de 1972:

Além dos pós-graduados, candidatos à especialização atrás mencionada, os lugares de trabalhos disponíveis poderão ser ocupados por licenciados em farmácia já com o diploma de análises químico-biológicas, passado pelo Sindicato Nacional dos Farmacêuticos. A frequência, por parte destes licenciados, pode ser efectuada durante todo o tempo de duração do curso ou somente nos trabalhos de interesse individual. Se houver grande número de inscrições destes licenciados, sem possibilidade de deferimento, o curso poderá ser repetido, em sessões semanais, para determinado grupo de trabalhos, afins, escolhidos pelos candidatos.

O programa será divulgado oportunamente e, decerto, abrangerá: trabalhos especiais de hematologia, medulograma, imuno-hematologia, imunofluorescência, fotometria de chama, cromatografia em fase gasosa aplicada a esteróides; espectrofotómetro de Beckman: especificidade e sensibilidade dos métodos e emprego de padrões e cálculo do afastamento médio; iodo proteico, ácido vanilmandélico e ácido hidroxi-indolacético; ensaios enzimáticos, dosagem de vitaminas no sangue e urina, toxicologia clínica, electroforese (proteinograma, glucidograma e lipidograma), micrométodos, ácidos aminados na urina e sangue por cromatografia, diversos ensaios para verificar o «doping», sorologia da sífilis (Kolmer, VDRL, Reiter, imunofluorescência), título anti-estreptolisínico e Proteína C, Reacção de Waaler-Rose, numeração globular pelo celoscópio, conservação de produtos patológicos de harmonia com as determinações a efectuar, organização de um Laboratório, abreviaturas em análises químico-biológicas, etc. Demonstrações com «Serometer» (Homoglobina, Bilirrubina, Proteína total, Glicose, Ácido úrico, Desidrogenase láctica, Globulina, Amilase, Fosfatase alcalina, Salicilatos, Colasterol) e Titrator Oxford (cloretos, cálcio, bicarbonatos magnésio, acidez), fotometria de absorção atómica (chumbo no sangue; cálcio e magnésio no soro e urina; sódio, potássio e ferro no sangue).

da Ordem dos Farmacêuticos

Colaboradores do curso: Professores Doutores José Ramos Bandeira, José B. Cardoso do Vale, André Campos Neves, Maria Serpa dos Santos, António Pinho de Brójo, António Proença da Cunha, Assistentes Maria Luíza Sá e Melo, Orlando Pinto, Odete Roque Proença da Cunha, Clarisse Ramos Bandeira, Maria Tereza Pinho Campos Neves, Maria da Graça Ralha, Adriano de Sousa, Helena Augusta Costa Ramos, Maria de Fátima Garção, Maria Isabel Mamede Santos, Olga Cravo Rodrigues, Francisco de Sousa Inês, Elisette Carvalhas, e ainda as Licenciadas analistas Ermelinda Gaspar e Maria Luísa da Cunha Pinto.

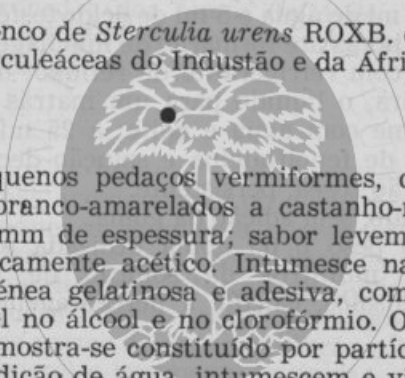
ADENDA DA FARMACOPEIA

GOMA CARAIA

Gummi sterculiæ

GOMA ESTERCÚLIA. TRAGACANTA INDIANA

Exsudação do tronco de *Sterculia urens* ROXB. e de outras espécies congêneres, Esterculeáceas do Indústão e da África tropical.



Lágrimas ou pequenos pedaços vermiformes, de superfície estriada, translúcidos, branco-amarelados a castanho-rosados ou acinzentados, de 0,5 a 2 mm de espessura; sabor levemente acre e mucilaginoso; cheiro fracamente acético. Intumescce na água fria, formando massa homogénea gelatinosa e adesiva, com reacção nítidamente ácida; insolúvel no álcool e no clorofórmio. O pó visto ao microscópio, em álcool, mostra-se constituído por partículas irregulares, angulosas que, pela adição de água, intumescem e vão gradualmente perdendo as arestas até formar massa amorfa; as partículas coram ligeiramente pela solução de vermelho de ruténio; examinado em solução de iodo, não revela a presença de amido.

Centro de Documentação Farmacêutica

Trate 1 g da goma, em pó, com 3 mil de álcool e, agitando, ajunte água até completar o volume de 50 ml; deixe em contacto durante 2 horas, agitando frequentes vezes; forma-se mucilagem homogénea, translúcida e muito viscosa. Ajunte 50 ml de água, agite e faça os ensaios:

- a 3 g ajunte algumas gotas de solução de azoto mercúrico; formam-se flocos brancos;
- a 4 g ajunte 0,5 ml de ácido clorídrico e ferva durante 5 minutos; obtém-se coloração rósea, avermelhada; ajunte 3 ml de solução de hidróxido de sódio, 3 ml de solução cupro-alcalina e aqueça até ebulição; forma-se pp. vermelho, cor de tijolo.

Seca na estufa a 105°, até peso constante, não perde mais de 20 por cento de peso.

Resíduo total, por incineração, 7 por cento.

Resíduo por incineração, insolúvel em ácido, 2 por cento.

Trate 5 g da goma, em pó, com 10 ml de álcool e, agitando, ajunte 50 ml de ácido clorídrico e 50 ml de água; aqueça, mantendo em ebulição até perda da consistência viscosa. Filtre; lave com água o recipiente e o filtro até que o filtrado não percipite com a solução de azotado de prata; seque o filtro a 100° até peso constante. O resíduo não deverá exceder 0,15 g (*substâncias estranhas insolúveis*).

Deve libertar, no mínimo, 14 por cento de *ácido acético*, doseado do seguinte modo:

Introduza em balão de destilação de cerca de 700 ml cerca de 1 g de goma, ajunte 100 ml de água e 5 ml de ácido fosfórico; deixe em repouso durante algumas horas até formação de mucilagem e ferva suavemente durante 2 horas com refrigerante de refluxo; destile até obter cerca de 80 ml, transfira, o líquido para um matrás graduado de 100 ml, complete o volume com água e agite; a 25 ml da solução ajunte V gotas de solução de fenolftaleína e solução decinormal hidróxido de sódio, até coloração rósea, persistente.

Repita o ensaio, sem adição da goma.

Conhecido o peso p da goma utilizada e a diferença n entre os números de mililitros da solução de hidróxido de sódio gasta nos dois ensaios, calcule a percentagem multiplicando n por

$\frac{2,402}{p}$.

P

Pode substituir-se-lhe a que provém de *Cochlospermum gossypii* (L) O. KUNTZ, Bixácea tropical.

Centro de Documentação Farmacêutica da Ordem dos Farmacêuticos

PÓ — *Pulvis gummi sterculiæ* — Obtem-se secando a goma em temperatura que não exceda 45°, pulverizando-a por método apropriado e passando pelo tamis n.º 7.

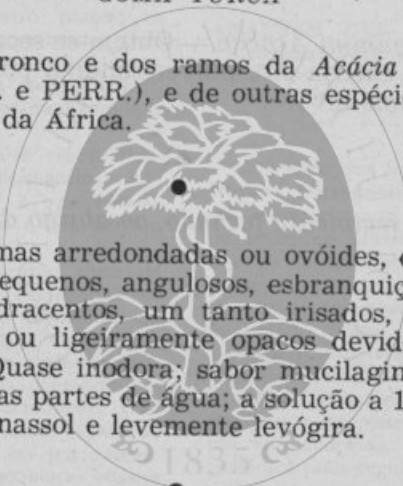
Conserve em recipiente fechado, ao abrigo da humidade.

GOMA ARÁBICA

Gummi Acaciæ vel Gummi arabicum (N. I.)

GOMA TURCA

Exsudação do tronco e dos ramos da *Acácia senegal* WILLD. (*Acacia verek* GUIL. e PERR.), e de outras espécies congêneres, leguminosas arbóreas, da África.



Massas ou lágrimas arredondadas ou ovóides, de tamanho até 3 cm, ou fragmentos pequenos, angulosos, esbranquiçados ou amarelados, quebradiços, vidracentos, um tanto irisados, de fractura conchóide; translúcidos ou ligeiramente opacos devido a numerosas e diminutas fissuras. Quase inodora; sabor mucilaginoso; insolúvel no álcool, solúvel em duas partes de água; a solução a 10 por cento é fracamente ácida ao tornassol e levemente levógira.

Misture 5 ml de solução a 20 por cento da goma com 2 ml de solução de peróxido de hidrogénio e 1 ml de tintura de gualaco recentemente preparada; produz-se cor azul.

Misture 10 ml de solução a 20 por cento da goma com V gotas de solução de cloreto férrico, diluída; forma-se pp. castanho, gelatinoso.

Agite 5 ml de solução a 2 por cento da goma com 2 ml de solução de subacetato de chumbo; forma-se pp. branco, flocoso.

Seca na estufa a 105°, por 5 horas, não perde mais de 15 por cento de peso.

Resíduo por incineração, 4 por cento, no máximo.

Resíduo por incineração, insolúvel em ácido, 0,5 por cento, no máximo.

Agite 5 ml de solução a 5 por cento da goma com V gotas de solução decinormal de iodo; o líquido não adquire cor vermelha, nem verde-azeitona, nem azul (*dextrina, gelosa, goma adraganta, amido*).

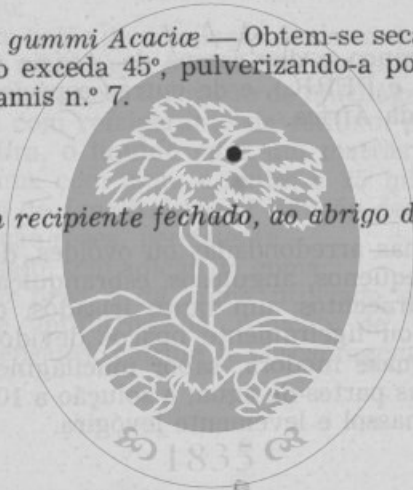
Misture 10 ml de solução a 2 por cento da goma com 0,2 ml de solução de acetato de chumbo; não precipita (*gelosa, goma adraganta*).

Misture 5 ml da solução a 5 por cento da goma com 1 ml de solução de cloreto férrico, diluída; não escurece nem dá pp. negro (*tanino*).

Ferva por 15 minutos 100 ml de solução a 5 por cento da goma com 10 ml de ácido clorídrico diluído; filtre; lave com água o recipiente e o filtro até que o filtrado não precipite com a solução de azotato de prata; seque o filtro a 100° até peso constante. O resíduo não deverá exceder 0,025 g (*substâncias estranhas insolúveis*).

PÓ — *Pulvis gummi Acaciae* — Obtem-se secando a goma em temperatura que não exceda 45°, pulverizando-a por método apropriado e passando por tamis n.º 7.

Conserve em recipiente fechado, ao abrigo da humidade.



Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

BIBLIOGRAFIA

TRAVAUX DE LABORATOIRES DE
MATIÈRE MÉDICALE ET DE PHAR-
MACIE GALÉNIQUE DE LA FA-
CULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS
Tomo LIII — Ano 1968 — Ed. por Vi-
got FRÈRES — Paris 1 Vol. Broch. de
300 págs.

Este volume inclui uma série de tra-
balhos divididos em quatro partes; os
três primeiros são teses apresentadas para
a obtenção do título de doutor da Univer-
sidade de Paris e a última parte é consti-
tuída por estudos realizados na Faculdade
de Farmácia de Paris.

A primeira tese intitula-se: «*Contribuição para o estudo de tensioactivos não iónicos com ligação éster e que entram na composição de pomadas*» e tem por autor Jaime Manuel Cerdas.

O A. começa por apresentar, além da classificação química dos excipientes de pomadas, actualmente mais utilizados, um método geral de análise, que embora estudado para o caso de ceras, pode ser aplicado a numerosas pomadas contendo um ou mais excipientes. Essencialmente consiste esse método geral numa separação por meio de dissolventes, ou por cromatografia em coluna e subsequente análise das diversas fracções por cromatografia em camada delgada ou em fase gasosa.

A segunda tese: «*Estudo de algumas plantas medicinais do Gabão*» é apresentada por Jean Noël Gassita. Trabalho profusamente ilustrado e que inclui além dos estudos botânico e toxicológico de várias plantas, a análise química recorrendo às técnicas mais modernas para separação e identificação de alcalóides.

Michel Leboeuf apresenta a tese «*Contribuição para o estudo químico das folhas de *Holarrhena floribunda* Dur e Schinz Síntese de amino-esteróides*». No decurso do trabalho o A. isolou quatro novos alcalóides das folhas da planta.

A obra termina com a apresentação de 14 trabalhos, alguns deles já publicados em Ann. pharm. franç. dos quais pela sua importância convém destacar:

- Vegetais com propriedades citostáticas e sua aplicação contra o cancro — por: R. Paris;

- Pesquisa de corantes naturais e artificiais nos alimentos por meio de cromatografia em camada delgada — por: R. Paris.

M. M. F. B.

ANALYSE DES MÉDICAMENTS, por
CARL STAINIER — 1 vol. enc., 720 págs.
Ed. por Les Presses Universitaires de
Liège 1970.

Este livro que foi oferecido pelo autor à Revista Portuguesa de Farmácia, destina-se sobretudo aos estudantes, como guia de trabalhos práticos na cadeira de análises de medicamentos na Universidade de Liège e eventualmente aos farmacêuticos de oficina como elementos de consulta na análise de drogas químicas.

Neste volume vêm sobretudo descritos os produtos incluídos nas Farmacopeias: Francesa, Belga e Internacional, e daí o seu pouco interesse para quem possua estas Farmacopeias, e outras de renovação periódica mais regular.

O livro apresenta-se dividido em diferentes capítulos: introdução-noções gerais com comentários às indicações das diferentes Farmacopeias citadas, métodos físicos e químicos usados em análise de medicamentos; reacções de identificação para os cátions e aniões, ensaios limites e métodos gerais de doseamento.

A maior parte do volume (cerca de 600 pág.) são monografias dos diferentes fármacos orgânicos e inorgânicos arrumados por ordem alfabética, do tipo das que se encontram nas referidas Farmacopeias; nalguns casos elas estão complementadas com interpretação de reacções e métodos de doseamento.

O livro do professor Stainier tal como ele próprio afirma no prefácio, tem mais interesse didáctico do que para os farmacêuticos especializados em análise de medicamentos que trabalham na Indústria Farmacêutica.

M. M. Leite Inácio

ENCERADO CONTRA OS CALOS

DA
FARMÁCIA SOBREIRO
TOMAR

O calicida de fácil aplicação e
excelentes resultados.

Distribuidores:

ESTABELECIMENTOS

BARRAL, LDA.

Pr. José Fontana, 4—Lisboa

EDIÇÕES À VENDA NO SINDICATO

Lei do Exercício da Pro-
fissão Farmacêutica —
(Dec. Lei n.º 48 547) ... 10\$00

Estatística Aplicada a Me-
dicamentos (Série de 8
lições, stencil) 60\$00

Propriedade de Farmácia
(Estudo crítico, pelo
Prof. Doutor Braga da
Cruz) 30\$00

Noções de Educação Sani-
tária (Trad. da Dr.ª M.
Serpa dos Santos) 80\$00

A Cobrança acrescem as despesas

REVISTA PORTUGUESA DE FARMÁCIA

ASSINATURAS:

Série de 4 Tomos (1 ano)

PORTUGAL	40\$00
Brasil e Espanha	50\$00
Demais países	60\$00
Preço avulso	10\$00

ANÚNCIOS:

1 Pág.	600\$00
1/2 >	350\$00
1/4 >	200\$00
1/8 >	100\$00

Na capa: Exterior 900\$00; Interior 600\$00

Há descontos para séries anuais e os preços líquidos são acrescidos 10%
para o imposto do selo.

*Distribuição gratuita aos Farmacêuticos do Continente, Ilhas e Ultramar
(sócios). Laboratórios, Anunciantes, Casas de Saúde, Hospitais Cívicos e Militares,
Faculdades e Escolas Superiores, Sociedades Científicas, principais Bibliotecas
e Universidades de todo o Mundo.*

As 2 vantagens decisivas

Potência
(da clorpropamida)

Boa tolerância
(da tolbutamida)

agora
em 1 só
comprimido

Euglucon



mannheim
boehringer

5 mg

O novo antidiabético oral

5 mg de glibenclamida

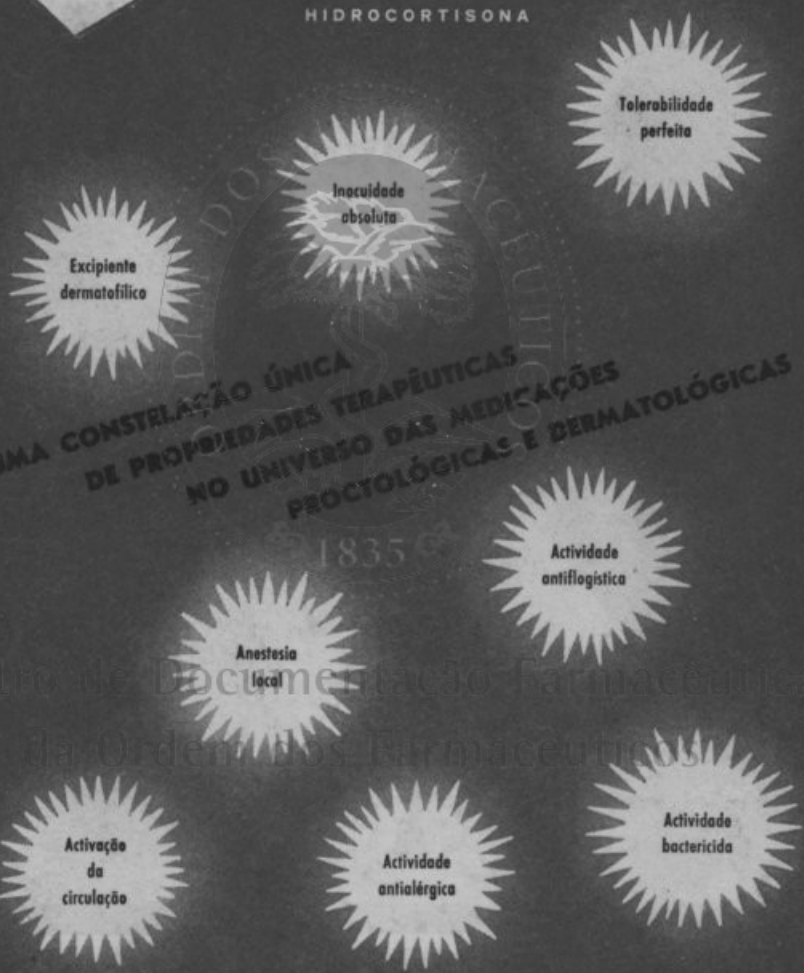
30 e 100 comprimidos

Preparado em Portugal (Lab. Iberfar)

TROPODERM

SUPOSITÓRIOS
CREME

NEOMICINA
DIFENILPIRALINA
NILIDRINA
HIDROCORTISONA



TROPODERM



é um produto apresentado em Portugal
sob licença exclusiva de Troponwerke-Alemanha

REVISTA PORTUGUESA DE FARMÁCIA

VOL. XXI • 1971 • OUTUBRO-DEZEMBRO • N.º 4



SUMÁRIO

EDITORIAL 333/337

TRABALHOS ORIGINAIS

- ✦ *Studies on fluorescence*, por Dâmaso José da Silva Gomes 338/362
- ✦ *Estudos sobre fluorescência*, por Dâmaso José da Silva Gomes 363/387
- ✦ *Dosagem Nefelométrica de Hidrolatos*, por L. Nogueira Prista, M. Branquinho, M. T. Sena e R. Ramos Morgado 388/403
- ✦ *Preparação de supositórios estratificados. Técnica de coloração e estudo da estabilidade*, por E. Azedo e L. Nogueira Prista ... 404/412

REVISÕES DE CONJUNTO

- ✦ *Aspectos tecnológicos da fabricação de comprimidos por compressão directa*, por António C. C. Cavaco 413/455

ECOS E FACTOS

- ✦ *Alertando* 456/457
- ✦ *Respondendo* 457
- ✦ *Relembrando* 457/459
- ✦ *Noticiando* 459/465
- ✦ *Festejando* 465

ADENDA DA FARMACOPEIA

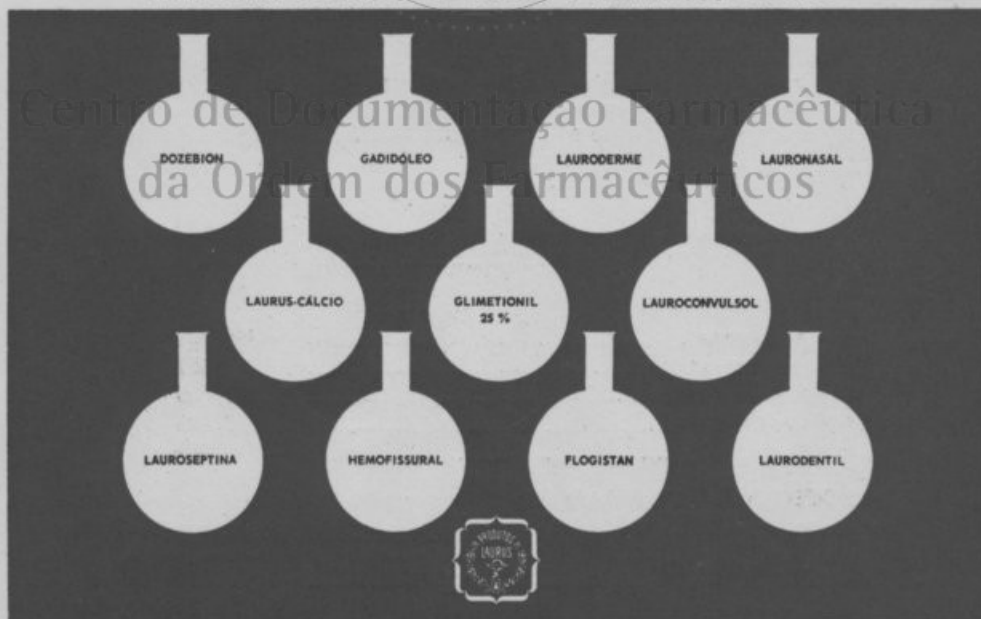
- ✦ *Corrigenda e anotações* 466/470

BIBLIOGRAFIA 471

FARMOQUÍMICA BALDACCI, S.A.R.L.
(FARBASA)



RUA DUARTE GALVÃO, 44 LISBOA 4 · TELEF. 783031 780719



**PRODUTO
NOVO!**



somatyli[®]

SOMATO - REGULADOR HEPATO - DIGESTIVO

INDICAÇÕES TERAPÊUTICAS:

- Dispepsias funcionais ou devidas a lesões orgânicas (dos cirróticos, dos ictericos, dos desnutridos, dos gastrectomizados, dos tabágicos, dos etilicos, dospletóricos, dos sub-alimentados, etc.)
- Protecção da célula hepática.
- Regulação da colesterolemia.

COMPOSIÇÃO:

Aspartato de betaína . . . 2 g
Excipiente aromatizado q. b. 10 ml

APRESENTAÇÃO:

Caixas de 18x10 ml para uso oral

Amostras, literaturas e documentação científica à disposição dos Ex.^{mos} Clínicos



LABORATÓRIOS AZEVEDOS
Medicamentos desde 1775

Licença



Rolland



Boehringer Ingelheim

Especialidades farmacêuticas

Adumbran

Estabilizador psicovegetativo

Aleudrin

Broncodilatador e
Ritmizante cardíaco

Alupent

Broncodilatador com efeito duradouro e
Ritmizante cardíaco

Bisolvon

Antidiscrínico brônquico

Buscopan

Espasmolítico selectivo

Buscopan compositum

Espasmo-analgésico potente e selectivo

Cholipin

Colepolético e espasmolítico

Cohortan

Dermotópico anti-inflamatório e
antibacteriano

Dulcolax

Laxante por contacto

Effortil

Analéptico cardiovascular de acção
intensa

Finalgon

Hiperemiante cutâneo

Persantin

Persantin 75

Metabolizante do miocárdio e
Activador da rede colateral coronária

Preludin

Moderador do apetite

Rhinospray

Descongestionante nasal

Silomat

Anlítússico específico

Sympatol

Analéptico periférico normotensor

Vasculat

Angiolítico cerebral e periférico geral

Vilescon

Psico-estimulante

Visadron

Colírio descongestionante

Representantes em Portugal:

Unifarma

União Internacional de
Laboratórios Farmacêuticos, Lda.

Departamento fabril:
Zona Industrial dos Olivais — Lisboa

Administração:
Av. António Augusto de Aguiar, 104, 1.º — Lisboa

Delegação no Norte:
Rua João das Regras, 120 — Porto

REVISTA PORTUGUESA DE FARMÁCIA

Publicação trimestral

Director. A. A. PALLA CARREIRO — Presidente da Direcção

Director-Adjunto: A. SILVA SANTOS

Edição e Propriedade de

Sindicato Nacional dos Farmacêuticos — Sociedade Farmacêutica Lusitana

(Membro efectivo da «Fédération Internationale Pharmaceutique»)

Redacção e Administração: Rua Sociedade Farmacêutica, 18 - Tel. 4 14 33 - Lisboa, 1

Composto e impresso nos Serviços Gráficos da LIGA DOS COMBATENTES — Lisboa

Corpo Redactorial

J. Almeida Baltazar; A. Correia Ralha; M. H. Dias Agudo; M. M. Ferreira Braga; M. A. Figueiredo; A. Marques Leal; A. Moz Teixeira; L. Nogueira Prista; A. Pereira; A. Perquilhas Teixeira; O. Pinto; M. B. Ramos Lopes; H. Santos Silva; L. Silva Carvalho; Dâmaso Gomes; A. Silva Santos; C. Silveira; L. Sousa Dias; J. F. Vale Serrano; Roque da Silva; Proença da Cunha; L. Silveira Godinho; M. Vieira da Silva; L. Matias Torres; J. António Polónia; E. Simões Lopes; Dinis Rosa; Lobato da Fonseca

VOL. XXI • 1971

OUTUBRO-DEZEMBRO • N.º 4



EDITORIAL

Estamos no ano de 1972 que definirá uma data na história da Farmácia Portuguesa. Na primeira semana de Setembro receberemos a visita de alguns milhares de farmacêuticos que, atraídos por este Portugal desconhecido, procurarão confraternizar e actualizar conhecimentos através da sua presença na 24.ª Assembleia Geral da Federação Internacional Farmacêutica que, em simultaneidade com o 32.º Congresso Internacional das Ciências Farmacêuticas, terá lugar na capital portuguesa.

Por ora limitamo-nos a transcrever, tal como foi solicitado a todas as Revistas Mundiais da especialidade, o primeiro comunicado de imprensa, referente a tão magnas reuniões, elaborado pelo Secretariado Geral da F. I. P.

CONGRÈS DE LISBONNE 1972

La 24ème Assemblée Générale et le 32ème Congrès Internationale des Sciences Pharmaceutiques tiendront simultanément leurs assises du 4 au 9 septembre 1972 à Lisbonne (Portugal).

Toutes les réunions se dérouleront à l'Université de Lisbonne.

PROGRAMME DE TRAVAIL

Séance inaugurale

La séance solennelle d'ouverture se déroulera le lundi 4 septembre dans l'Auditorium du Rectorat de l'Université de Lisbonne.

Lors de cette cérémonie il sera procédé à la remise de la Médaille Host-Madsen, destinée à récompenser un pharmacien qui s'est particulièrement distingué par ses travaux dans le domaine de la pharmacie.

Au cours de la même séance, le discours inaugural sera prononcé par une personne éminente dont le nom vous sera communiqué en temps utile.

32ème Congrès International des Sciences Pharmaceutiques

Le Congrès Scientifique se présentera sous la forme d'un Symposium de deux demi-journées (le lundi après-midi 4 septembre et le mardi matin 5 septembre) et sera consacré à l'étude des «VIRUS».

En plus de l'introduction générale, il y aura quatre autres communications importantes:

- «Les Vaccins»
- «Médicaments anti-viraux»
- «La génétique des virus» et
- «La formulation»

Travaux des Sections et des Commissions de la F. I. P.

Dans le cadre de cette semaine, le mardi après-midi 5 septembre et toute la journée du mercredi 6 septembre, les Sections et Commissions de la F. I. P. aborderont une gamme étendue de sujets touchant aux diverses disciplines de la pharmacie.

La Section des Pharmaciens des Hôpitaux présentera des rapports sur:

- «Le contrôle administratif des médicaments par les méthodes électriques»;
- «Le service pharmaceutique au sein des hôpitaux»;
- «La pharmacie hospitalière en Corée».

La Section organise également un symposium sur: «Le rôle du pharmacien dans le contrôle de l'infection dans l'hôpital».

La Section des Pharmaciens Militaires examinera notamment:

- «L'influence des facteurs physiques sur la stabilité des médicaments utilisés dans les Armées» et
- «Quelques problèmes concernant le matériel de pansement dans les Armées».

Il y aura également des visites des établissements et des installations militaires du Service de Santé des Forces Armées Portugaises.

La Section pour l'étude des plantes médicinales a prévu deux manifestations au programme: un symposium et une excursion botanique. Le thème du symposium sera:

- «Les méthodes modernes d'analyse et de standardisation des huiles essentielles», au cours duquel les communications suivantes seront présentées:

- «Méthodes d'analyse — introduction générale».
- «Chromatographie sur couche mince des huiles essentielles dans les drogues végétales».
- «Empreintes digitales (Fingerprinting) des huiles essentielles au moyen de la chromatographie en phase gazeuse», et
- «L'importance de l'I. R., de l'N. M. R. et de l'M. S. dans l'analyse des huiles essentielles.»

L'excursion botanique qui durera toute la journée du mercredi 6 septembre mènera aux environs de Monserrate — flore naturelle et visite de la station expérimentale pour le café à Oetras.

La Section Presse et Documentation présentera des études sur:

- «La valeur intrinsèque d'un périodique pour une association pharmaceutique — Comment contribuer à la qualité des articles publiés — Style, présentation et illustration des articles — Analyse de quelques journaux primaires et revues d'abstracts — Problèmes financiers d'un journal.»

La Section des Pharmaciens de l'Industrie organisera un colloque d'une journée à la mémoire de Lucien Charial. Le thème doit encore être fixé et il vous sera communiqué en temps utile.

La Section des Pharmaciens d'Officine. Le programme de cette nouvelle Section de la F. I. P. est chargé puisqu'on prévoit un symposium sur:

- «L'installation et l'agencement d'une officine» au cours duquel on se propose d'entamer une discussion avec l'auditoire.

Dans le cadre d'une deuxième séance, un universitaire connu fera un exposé sur:

- «Le rôle du pharmacien dans le cadre de l'évolution des sciences pharmaceutiques», après lequel il y aura une discussion, suivie d'une deuxième présentation sur:

- «Les causes et effets de la dispensation des médicaments en dehors des pharmacies (la dispensation par les médecins) — solution possible du problème.»

Cet exposé sera conclu par un échange de vues avec l'auditoire.

Le matin du **JEUDI 7 SEPTEMBRE** tous les congressistes sont invités par la Section à participer à une grande réunion publique sur: «LA PHARMACIE IBÉRIQUE».

La Section des Pharmaciens Biologistes organisera un programme très complet au cours duquel il y aura des exposés sur:

- «La culture des virus».
- «Les problèmes de cytologie fondamentale, leur incidence diagnostique en virologie; enzymologie des maladies virales».
- «Les maladies virales et incidences hématologiques», puis
- «Le diagnostic sérologique des maladies virales» et
- «Standardisation et contrôle en laboratoire de biologie clinique.»

Le Comité des Laboratoires et Services Officiels de Contrôle des Médicaments tiendra des séances privées sur différents aspects du contrôle des médicaments.

Une réunion privée du Comité des Pharmacopées est également prévue.

Réunions administratives de la F. I. P.

Au cours de la semaine du Congrès il y aura des réunions du Bureau, du Conseil et de l'Assemblée Générale de la F. I. P.

PROGRAMME RÉCRÉATIF

Le programme du Congrès de Lisbonne sera agrémenté par de nombreuses réceptions et excursions. — Ainsi il y aura:

Une réception d'accueil le dimanche 3 septembre offerte par le Ministère des Affaires Étrangères au Palais National de Queluz;

Une excursion à Sintra, pour les personnes accompagnantes, promenade dans la montagne et visite au château de Pena, Palais Ducal, itinéraire par Cascais, Estoril et la côte;

Une réception de tous les participants avec variétés à la «Estufa Fria» (Parc Edouard VII) organisée par la municipalité de Lisbonne;

Une excursion à Fatimá, pour les personnes accompagnantes, (lieu de pèlerinage catholique) en passant par Caldas da Rainha (poteries régionales), Alcobaça (monastère des Cisterciens, XIIème siècle), Batalha monastère gothique, XVème siècle) Leiria (château, XIème siècle) et Nazaré (plage et port de pêche);

Pour les personnes accompagnantes, une dégustation de vins à Bombaral, avec un arrêt à Obidos (ville de Moyen Age);

Deux excursions, le mercredi et le vendredi, conduiront les personnes accompagnantes à une région où se trouvent des châteaux datant du Moyen Age, Palmela (avec une vue imprenable sur la rivière Sado et l'Alentejo), Sesimbra, (village de pêcheurs et Setúbal (port de mer);

Un bal et buffet au Pavillon de la Foire Internationale de Lisbonne près de la Tour de Belem (architecture style Emmanuelien, XVIème siècle), Lisbonne «ex libris»;

Une soirée culturelle dans les jardins de la Fondation Calouste Gulbenkian, avec la participation de l'orchestre symphonique et la Compagnie des Ballets.

Enfin il y aura une excursion d'une journée le samedi 9 septembre au Ribatejo: danses folkloriques, course de taureaux, exercices équestres, etc. et déjeuner avec des plats régionaux.

D'autre part, tout au long de la semaine, de nombreuses visites guidées fort intéressantes en ville sont prévues.

Exposition

Une exposition de caractère historique sera organisée.

RENSEIGNEMENTS GÉNÉRAUX

Droits d'inscription Les droits d'inscription s'élèvent à \$ 100 pour les participants et les personnes qui les accompagnent.

Les membres associés de la F. I. P. ainsi que les personnes qui les accompagnent bénéficient d'une réduction de \$15 sur le montant de l'inscription.

COMMENT DEVENIR MEMBRE ASSOCIÉ DE LA F. I. P.?

Les pharmaciens qui souhaiteraient s'affilier en tant que membre associé de la F. I. P. ou recevoir des renseignements sont priés d'écrire au Secrétariat — adresse:

Secrétariat F. I. P.,
Alexanderstraat 11,
La Haye (Pays-Bas).

Cotisation annuelle — Hfl. 25. —, soit \$ 7.

En plus de la réduction sur leurs droits d'inscription, ils recevront automatiquement les publications de la Fédération, tout en faisant oeuvre utile par le soutien qu'ils apportent à la pharmacie internationale en se joignant aux 50 associations pharmaceutiques nationales et aux 3.300 pharmaciens dans plus de 60 pays qui sont déjà affiliés.

LANGUES DU CONGRÈS

Les langues de travail du Congrès sont le français, l'anglais, l'allemand, l'espagnol et le portugais.

EXCURSIONS POST-CONGRÈS

Les 5 excursions post-congrès suivantes sont prévues:

La région de l'Algarve,
Porto et le nord du Portugal,
Madère et les îles Porto Santo,
Les Açores,
L'Angola et le Mozambique.

SECRETARIAT DU CONGRÈS

Secrétariat Congrès F. I. P 1972,
18, rua da Sociedade Farmacêutica,
Lisboa 1 (Portugal).

Tél. 41433 et 41424.

Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

La Haye, décembre 1971.

TRABALHOS ORIGINAIS

STUDIES ON FLUORESCENCE

IV. VARIATION OF THE FLUORESCENCE INTENSITY OF 1-NAPHTHOL, AS A FUNCTION OF THE CONCENTRATION, AND AS A FUNCTION OF THE pH OF THE MEDIUM

DAMASO JOSÉ DA SILVA GOMES (*)

*Licentiate in Chemistry and Doctor of Pharmacy
Professor of Chemistry at the Navy School (Lisbon)*

1. There is a number of substances capable of emitting visible light when previously subjected to electromagnetic radiations in the range of the visible light or the near ultraviolet light not originating in thermic phenomena, in the Rayleigh-effect, the Cerenkov-effect, or the Raman-effect [1].

This phenomenon, commonly called luminescence [2] may originate at the atomic level or at the molecular level, but is invariably the consequence of the return to the *ground state* of an electron raised to a higher level of energy, by previous absorption of a *quantum* of energy.

According to whether the return of the electron to its *ground state* proceeds immediately after radiation ceases (that is within an interval of the order of 10^{-8} s), or is delayed for a period varying between one of fractions of a second and minutes, or even days, the phenomenon is called *fluorescence* or *phosphorescence*.

In the latter case it may be that, on returning to the *ground state*, the electron in a state of excitation assumes first an intermediate metastable state from which it only recovers after absorbing the energy necessary to liberate it from its temporary situation.

This energy may be furnished through a variation in the temperature of the environment, through the absorption of radiation, through an increase in molecular excitation, or in some other manner.

(*) *Present Address:* Instituto Nacional de Investigação Industrial, Rua Garcia de Orta, 68-1.º, LISBOA-2, PORTUGAL.

In this case the electron in a state of excitation behaves as if it were in unstable equilibrium, in a situation which it abandons only as the result of action from some external source, such abandonment being more or less delayed, a fact which has led some writers to refer to this type of luminescence as *delayed fluorescence*.

The electron in question is usually called *luminous electron* and its excitation may be the result of exposure to radiations of different types, other luminous and ultraviolet radiations, such as electronic fluxes, X- and gamma rays, etc.

It should especially be noted that certain inorganic molecules such as *calcium sulphide* or *uranium salts*, when excited by electronic fluxes become brightly luminescent, making them suitable for use as internal coatings for fluorescent-light tubes and for television screens.

This fact accounts for the great interest in the study of luminescent solid substances.

Many organic molecules emit luminous radiations of fluorescence after excitation by the near ultraviolet, as for example Wood's Light (365 nm); such fluorescence has many uses in the fields of chemical analysis and research.

2. According to legend, luminescent phenomena were known in

Early Chinese times and it is thought that a certain emperor who knew the secret used it to terrorise or to amaze his subjects.

However, in modern times the phenomenon was rediscovered by VINCENZO CASCIAROLLO [3] a Bologna shoemaker and alchemist who on slowly heating a piece of *barite* (sulphate of barium) whose density led him to suppose the presence of *gold*, observed that the mineral had acquired the property of transmuting into light the energy received.

The discovery amazed the shoemaker's contemporaries and attracted the attention of well-known personalities such as GOETHE [3], BREWSTER [4], HERSCHEL [5] and STOKES [6, 7], who all applied themselves to the study of the phenomenon.

STOKES's observations, in particular, led to formulation of **Stokes's Law**: *the wavelength of a fluorescent radiation is greater than that of the exciting radiation*, later confirmed by VAVILOV [8] in the light of Planck's *Theory of Quanta* [9] and Einstein's *Photonic Theory* and the theories of atomic structure put forward and developed by various researchers starting with BOHR [10] and ending with SCHRÖDINGER [11].

JEAN PERRIN [12] and LÉPINE [13] directed their attention to the study of fluorescent phenomena, and in 1929 FRANCIS PERRIN [14] submitted his doctoral thesis on the subject to the University of Paris, leading to his *Quantum Theory of Fluorescence* and formulating as a follow-up of work previously done in 1924 [15], the well-known **Perrin's Law** that *the fluorescent power of a solution varies exponentially with its degree of concentration*:

$$\phi = \phi_0 \exp(-kc)$$

In the last 20 years fluorescence has been the object of numerous studies both from the theoretical and the laboratorial or industrial point of view.

An idea of the importance it has attained may be gained by observing that PASSWATER [16, 17] mentions the publication of about 10 000 articles on fluorescence between 1950 and mid 1960 and such fundamental publications as those of BOWEN [18], HERCULES [19], GUIMBAULT [20], PARKER [21], WAYNE [22] and BECKER [23], are now increasingly in evidence.

Such frequent studies of the phenomena of luminescence need cause no surprise having regard to their importance and numerous applications in the laboratory and in industry.

3. DÉRIBÉRE [24], RADLEY and GRANT [25] and KONS-TANTINOVA-SHLEZINGER [26], present us with a broad perspective of the potentialities of fluorimetric techniques.

While it is not intended to give an exhaustive list, the following are considered worth mentioning:

a) — use in quantitative chemical analysis, specifically in the determination of traces of metallic elements previously transformed into fluorescent chelates [27];

b) — determination of naturally fluorescent substances [28];

c) — determination of fluorescent substances by quenching fluorescence, using suitable quenchers in accordance with the technique known as *quenchofluorimetric analysis* [29];

d) — determination of the structures of organic compounds — functional organic analysis — in certain cases [30];

e) — the study of the kinetics of chemical reactions, and particularly of enzymatic reactions [31];

f) — detection of spurious pharmaceuticals [32];

g) — examination of documents for possible forgery by mechanical or chemical erasures [33];

h) — the reading of ancient manuscripts (palimpsests), or detection of forgeries, retouching or repainting of oil paintings [34];

i) — examination of old blood or other stains, and the photographing of fingerprints difficult to observe in visible light;

j) — differentiation of genuine precious stones such as diamonds and rubies from the synthetic or imitation [35];

k) — detection of internal fractures in metal or porcelain articles [36];

l) — use as fluorescent indicators in the volumetric analysis of foodstuffs, or industrial products, whether clouded, opaque or coloured [37].

As can be seen, the application of fluorimetric methods covers a vast field and especially in the field of Chemical Analysis fluorimetric

techniques have become commonplace, having been adopted by various Pharmacopoeias and mentioned in the most modern treatises.

4. The use of fluorogens as indicators of acidity is result of the fact that many of these substances have the property of either becoming fluorescent, losing fluorescence, or of modifying the colour of the original radiation when the pH of the medium is altered.

A number of writers such as TOMICEK [38], DÉRIBÉRÉ [39, 40, 41], JACK DE MENT [42], RADLEY and GRANT [43] and KONSTANTINOVA-SHLEZINGER [44], have prepared tables expressing modifications in the appearance of the fluorigen exposed to Wood's Light as a function of the pH of the medium, but none of the cited autors give any indication of how their data was obtained.

KONSTANTINOVA-SHLEZINGER [45], who shows a table of possible fluorescence indicators together with an indication of the limits of the pH range within which the change in fluorescence is effected, says on this point: *The information in the table should be regarded as approximate; it summarizes the observations made by different workers who used them for certain practical purposes and cannot pretend to accuracy, as will be clear from the discussion which follows. This explains the wide color change intervals given for some of the indicators.*

RADLEY and GRANT [46], who give the most complete list of fluorescent indicators we have noticed, although less categorical, nevertheless show some doubt as to the confidence that may be placed in their own data.

Again, comparison of the bibliographic sources quoted in support of the tables prepared by the various authors led us to the conviction that, in the majority of cases, the same sources were used.

The doubts we have reported above, the frequent discrepancies in the data and lack of information as to their source, led us to undertake systematic research into the properties of various fluorogens in order to shed some light on their behaviour.

5. This investigation was carried out to evaluate the possibilities of using these substances as indicators of fluorescence in the analysis of foodstuffs or of industrial products (coloured, clouded or opaque).

We started from the hypothesis that the analysis would be performed with the stimulus of Wood's Light [50] and direct visual observation of the appearance, disappearance or changes of colour in the radiations of fluorescence.

The stimulus used was the U. V. light of 365 nm, and the radiations of fluorescence were filtered through an opaque U. V. filter, both when we were working with a photofluorimeter and when making a direct observation.

The photofluorimeter used was a filter-type Coleman apparatus. We used as *primary filter* [51] the 12-225 (B-1-S), Corning glass filter number 5874, permeable by radiations of 365 nm with the accuracy that corresponds to this type of monochromator [52], and

as *secondary filter* the 14-218 (PC-8), *Corning* glass filter number 3060, permeable by radiations of wave-lengths between 405 and 750 nm, in accordance with the manufacturer's instructions [53].

This investigation was conducted along four parallel and complementary lines:

a) — to observe the behaviour of the solutions in relation to Perrin's Law [54];

b) — to determine which concentration of each fluorigen gives a maximum intensity of fluorescence;

c) — to determine the degree of stability of fluorigen solutions over an extended period;

d) — to study how the fluorescence intensity of the fluorigen solutions varies with the pH of the medium [56].

Sorensen buffers [55] were used as mediums when possible, the solutions corresponding to entire units being prepared with *Merck titrisol-buffer* ampoules, and those corresponding to half-units of pH with *Merck* products in accordance with the instructions of the manufacturer.

6. To study variations in the fluorescence intensity of the solutions of the substance under test as a function of the concentration:

a) — we took for 12 photofluorimeter tubes, 8 ml from each of the buffers with whole number values of pH, between pH = 2,0 and pH = 13,0;

b) — we added to each tube the same volume of the fluorigen solution which was under examination;

c) — we lighted the tubes with an U. V. light of 365 nm, and we determined visually the area where the solution with the strongest fluorescence intensity was located;

d) — we took for each of the 12 tubes of photofluorimeter 8 ml of the pH buffer which we judged visually as showing the strongest intensity of fluorescence;

e) — we prepared a solution of the fluorigen we had under observation and added to the 12 tubes, in ascending order, I to XII drops of that solution;

f) — we measured the intensities of fluorescence in the solutions thus obtained, taking as a pattern of comparison the first tube (with one drop of the solution), to which we attributed, arbitrarily and for the sake of convenience, a certain value in the photofluorimeter scale;

g) — according to the results obtained, we made solutions with different concentrations and repeated all these operations until the

maximum fluorescence intensity of the buffer solution corresponded to between II and VI drops of the fluorigen solution under examination;

h) — we represented graphically all the values obtained.

7. The examination of the fluorescence intensity of the substance, in accordance with the concentration, enabled us to determine the number of drops of the fluorigen solution needed to produce in the buffer solution the maximum intensity of fluorescence.

We calculated the concentration in the buffer solution, which corresponded to the maximum fluorescence intensity, and represented the result in *grammes per litre* and in *moles per litre*.

8. To effect the determinations of stability we prepared a solution of the substance being tested in the concentration of maximum fluorescence, and kept it in an amber glass bottle with a polished glass stopper throughout the experiments.

We prepared solutions of quinine sulphate in decinormal sulphuric acid with various concentrations, to serve as the standard in the measurements required [57, 58, 59].

From the solutions prepared we chose as a standard the one which appeared to have the most appropriate degree of fluorescence for our purpose, and all readings were made with reference to this standard solution.

We prepared periodically new sulphuric solutions of quinine sulphate and compared their intensities of fluorescence to that of the initial solution.

Throughout the experiments we found no decrease in the intensity of fluorescence in the former solutions.

Over a period of 15 weeks, and at intervals of one week, we compared the intensity of fluorescence of each fluorigen solution with that of the chosen standard solution of quinine sulphate.

9. We took for each of 23 photofluorimeter tubes 8 ml of buffered medium with values of pH ranging between pH = 2,0 and pH = 13,0 graduated in half units.

To each tube we added the number of drops of the fluorigen solution verified in the second stage of our work as corresponding to the maximum fluorescence, or some other number deemed convenient, when the former was not possible, for example in cases where the solubility of the substance did not allow maximum fluorescence to be reached.

We illuminated the set of tubes with a portable Wood's Light lantern to verify visually the tube with the strongest intensity of fluorescence.

Taking this tube as our standard (unchanged in all experiments performed in accordance with this program) we adjusted the illumi-

nation of the photofluorimeter so that its fluorescence intensity corresponded to the point 90,0 on the scale of the apparatus.

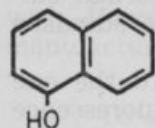
With reference to this value we determined the relative intensities of fluorescence in the other tubes, and, after 5 repetitions of the readings, we calculated the average of the values obtained.

For each fluorigen we performed 8 times, at irregular intervals, all the operations described, using on each occasion fresh solutions of the substance being tested, as well as new buffer solutions, in order to minimize possibilities of accidental errors.

The results obtained and their respective graphical representations are to be found in the Appendix.

We calculated the averages of the results obtained in the 8 series of experiments and represented them graphically.

10. Our experiments were directed to 1-naphthol, alphanaphthol, or alpha-hydroxynaphthalene, a substance which usually occurs in prismatic crystals with a phenolic smell and unpleasant taste which must be stored away from light.



Alphanaphthol has the formula $C_{10}H_8O$ and is slightly soluble in water, is freely soluble in alcohol, benzene, chloroform, ether and solutions of alkaline hydroxides [60].

In our experiments we used 1-naphthol *Merck p. anal.* (cat. ref. 6234), and ethyl alcohol *p. anal.* as a solvent in view of its free solubility in the solvent used.

In the final experiments we used a solution of 1-naphthol in ethyl alcohol of 3 % w/v, which seemed the most suitable after preliminary tests.

In order to study the variation in the fluorescent power as a function of the concentration, and to determine the concentration of maximum efficiency, we used as a buffered medium of pH = 10,0, prepared by diluting the contents of ampoules of *buffer-titrisol* with recently boiled distilled water.

We have already described the conditions under which the experiments were performed; five series of readings were taken, from which we calculated averages and represented the data graphically.

The results will be found in Table 1 and Fig. 1: a study of the graph shows that the phenomenon behaves in accordance with *Perrin's Law* that the maximum intensity of fluorescence is obtained when 3,5 drops of a 3 % w/v solution of 1-naphthol in ethyl alcohol are added to 8 ml of the buffered medium of pH = 10,0.

Our calculations lead us to the conclusion that solutions of 1-naphthol in the buffered medium of pH = 10,0 show their maximum fluorescent power in a concentration proximate to 0,328 grammes per litre.

As the molecular weight of 1-naphthol is 144,17 this concentration is equivalent to $2,3 \times 10^{-3}$ moles per litre, ignoring the increase in volume resulting from the added fluorigen solution.

Rectofenicol

S U P O S I T Ó R I O S

ADULTOS

INFANTIL

NA PREVENÇÃO E TRATAMENTO
DAS COMPLICAÇÕES DOS ESTADOS GRIPAIS



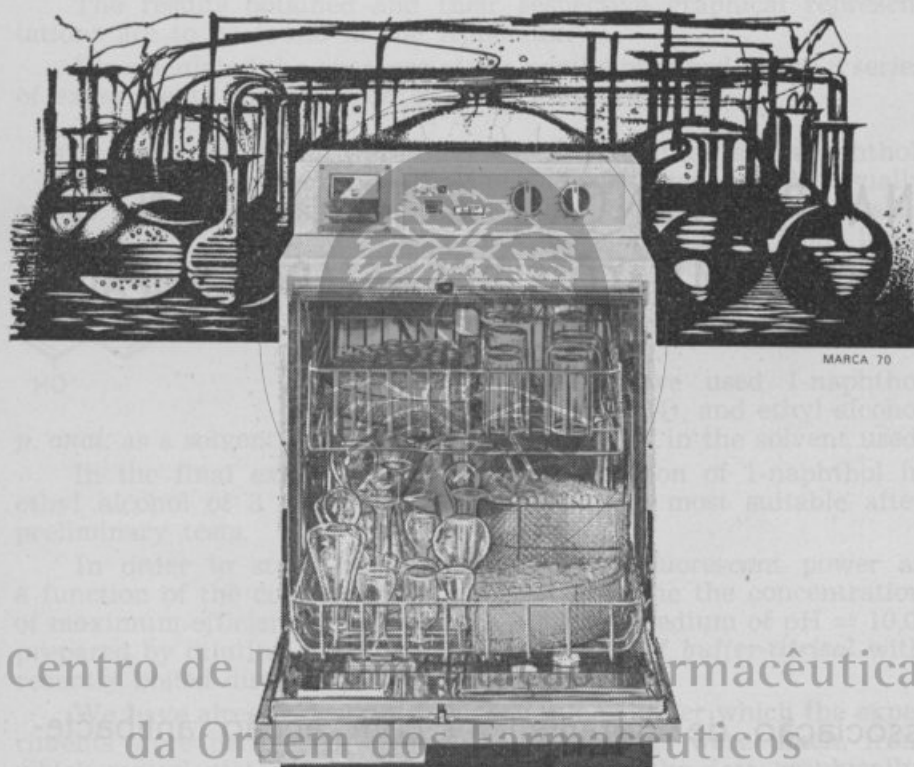
Centro de Documentação Farmacêutica
Associação de cloranfenicol com acção antibacte-
riana polivalente, sulfadiazina e canfocarbonato de
bismuto

LABORATÓRIO ÚNITAS, LDA.

C. Correio Velho, 8 — LISBOA

Miele®

máquinas especialmente concebidas para
laboratórios · hospitais



MARCA 70

Centro de Distribuição Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

G 19 LABOR Máquina automática para lavagem de vidraria de laboratório. Absoluta eficácia para quaisquer utensílios.

G 19 Máquina automática para lavagem de biberões. Lava, enxagua, neutraliza e seca 87 biberões de cada vez.

G 18 TD Máquina automática para lavagem e desinfecção de louças em clínicas e hospitais.

G 18 OP Máquina automática para lavagem de instrumentos cirúrgicos.

Distribuidor
Exclusivo

**CON
CESSUS**

CONCESSUS, S.A.R.L.

Rua D. Francisco Manuel de Melo, 9, 9-A
Tel. 66 24 06/7 — LISBOA 1

1-NAPHTHOL

Solvent: ethyl alcohol

Concentration: 3 % w/v

pH of the buffer: 10,0

Number of drops of solution per ml: 40

Volume of the buffer solution in each tube of the photofluorimeter:
8 ml

Number of drops in the maximum efficiency concentration: 3,5

Fluorigen concentration in the buffer solution:

a) — in grammes per litre: $0,328 \text{ g.l}^{-1}$ approximatelyb) — in moles per litre: $2,3 \times 10^{-3} \text{ M.l}^{-1}$

Drops	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1st set	20,0	24,5	27,0	27,0	25,3	23,5	21,5	20,3	18,5	17,5	16,5	16,0
2nd set	20,0	24,7	26,8	27,2	25,4	23,7	21,4	19,8	18,4	17,3	16,6	15,9
3th set	20,0	24,5	27,2	27,0	25,0	23,5	21,5	20,0	18,5	17,6	16,5	16,0
4th set	20,0	24,6	27,2	27,3	25,2	23,6	21,7	20,4	18,7	17,7	16,7	15,9
5th set	20,0	24,5	27,0	27,1	25,3	23,5	21,5	20,2	18,6	17,6	16,5	15,8
Average	20,0	24,5	27,0	27,1	25,2	23,5	21,5	20,1	18,5	17,5	16,5	15,9

Table 1

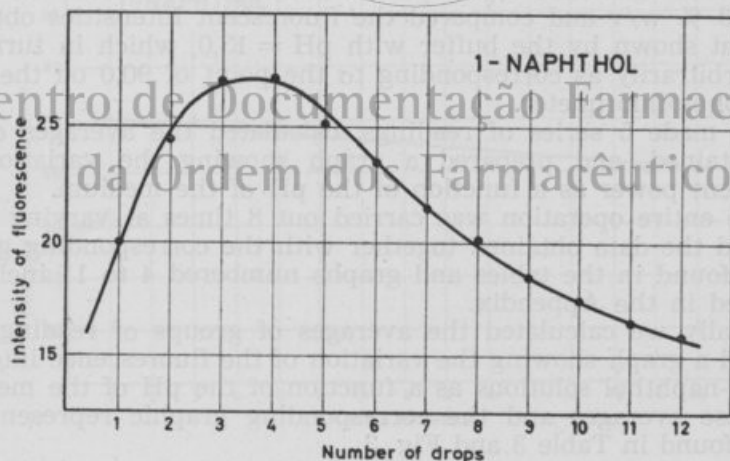


Fig. 1

Fluorescence intensity of 1-naphthol solutions as a function of the concentration

11. In order to have an idea of the stability of the solutions of 1-naphthol over a period of time, we prepared an alcoholic solution of a concentration of 3 % w/v and kept it in an amber-coloured glass with a ground-glass stopper.

At regular weekly intervals we compared the intensity of fluorescence of this solution with that of a solution of quinine sulphate of 10 mg per litre in decinormal sulphuric acid, which we had taken as a standard.

On each occasion we took 5 readings and calculated the averages.

The results and corresponding graph will be found in Table 2 and Fig. 2, which demonstrate that the fluorescence power of the alcoholic solution of 1-naphthol of 3 % w/v fell by 15 % from the original figure over the 15-week period covered by the experiments, that is from a reading of 70 to 60 on the arbitrary scale adopted for the experiments.

Periodic comparison of the fluorescence of the standard solution of quinine sulphate with freshly and specially prepared solutions of the same concentration showed that these solutions do not deteriorate with age.

12. In order to study the variation of the fluorescent power of the 1-naphthol solutions as a function of the pH of the medium we used a series of buffers with pH values in multiples of half a unit.

The buffers with pH values in whole units were prepared by diluting ampoules of *titrisol-buffer* in recently boiled distilled water, and the remaining buffers were prepared in the manner recommended in the appropriate literature [61].

Proceeding in accordance with the technique already described, we added to each tube III drops of the alcoholic solution of 1-naphthol of 3 % w/v and compared the fluorescent intensities obtained with that shown by the buffer with pH = 13,0, which in turn was taken arbitrarily as corresponding to the point of 90,0 on the scale of the photofluorimeter.

We made 5 series of readings, calculated the averages of the data obtained, and prepared a graph showing the variations in fluorescent power as a function of the pH of the medium.

The entire operation was carried out 8 times at varying intervals, and the data obtained together with the corresponding graphs will be found in the tables and graphs numbered 4 to 11 inclusive, presented in the Appendix.

Finally we calculated the averages of groups of readings and prepared a graph showing the variation of the fluorescence intensity of the 1-naphthol solutions as a function of the pH of the medium.

These averages and the corresponding graphic representation will be found in Table 3 and Fig. 3.

Examination of the results obtained lead to the conclusion that the bluish fluorescence of 1-naphthol in the buffered medium is maintained up to a value of pH = 7,5 then increases sharply to a bright blue until the value of pH = 9,5 is reached, from which point the intensity is stationary up to the value of pH = 13,0.

1-NAPHTHOL

Solvent: ethyl alcohol

Concentration: 3 % w/v

pH of the buffer: 10,0

Volume of buffer solution in each tube of the photofluorimeter: 8 ml

Number of drops of the solution added to each tube: III

Standard: Quinine sulfate solution at 10 mg/l in H₂SO₄ N/10

The point of 90,0 on the photofluorimeter scale was adjusted to the pH 13,0

Measurements made weekly over a period of 15 weeks

Week	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1st det.	70,0	70,0	70,0	68,2	68,9	66,8	68,0	65,4	68,1	61,1	60,1	60,5	55,8	60,0	60,0
2nd det.	70,0	70,1	70,0	67,8	68,9	66,3	68,0	65,5	68,0	61,3	60,0	60,2	55,5	60,0	59,8
3th det.	70,5	70,1	70,0	67,8	69,0	67,0	67,8	65,5	68,2	61,8	60,4	60,3	56,5	59,8	59,9
4th det.	70,4	70,0	70,0	67,9	68,8	67,9	68,3	65,2	68,2	61,8	60,2	60,5	55,5	59,6	59,9
5th det.	70,1	70,1	70,0	67,9	69,0	67,0	67,7	65,4	68,0	61,5	60,3	60,5	55,8	60,2	59,9
Average	70,2	70,0	70,0	67,9	68,9	66,8	67,9	65,4	68,1	61,5	60,2	60,4	55,8	59,9	59,9

Table 2

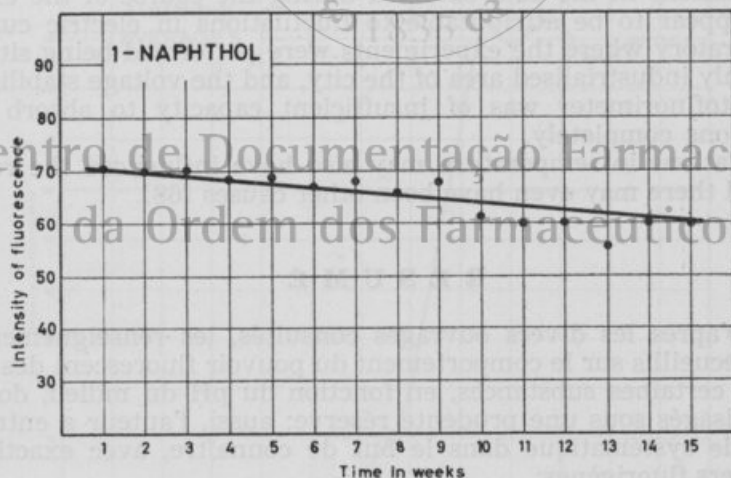


Fig. 2

Stability of the 1-naphthol solutions as a function of the time

It seems to us therefore that *1-naphthol* is suitable for use in acid-base volumetric analysis, and we would describe its behaviour in such use as very good.

Solutions should preferably be freshly prepared, as their fluorescent power decays slowly with time, and it is considered advisable to use from III to V drops of alcoholic solution in a 3 % w/v for samples of 8 to 10 ml.

13. Of those writers consulted only EASTMAN KODAK [62], UDENFRIEND [63] and LANGE [64] mention *1-naphthol* as a possible fluorescent indicator and all report that its solutions vary from *non-fluorescent* to *greenish-blue* between values of pH=7,0 and pH=9,0, but we have the impression that the two last-named writers have only repeated the results obtained by the first-named.

A study of the works of ERDEY and his co-workers [65] leads us to conclude that the transition interval although short, varies with the degree of concentration of the fluorigen.

Moreover, visual appreciation of colour is inevitably subjective [66].

Taking these matters into consideration, we think our results should be accepted as confirming those of *Eastman Kodak's* researchers wherever they cover common ground.

We consider, however, that before using *1-naphthol* as a fluorescent indicator, a prior study should be made to ensure that there is no possibility of any chemical interaction occurring between the indicator and substances present or formed during the reaction.

Variations in the data obtained during the course of the experiments appear to be attributable to fluctuations in electric current, the laboratory where the experiments were performed being situated in a highly industrialised area of the city, and the voltage stabiliser of the photofluorimeter was of insufficient capacity to absorb such fluctuations completely.

Variations in temperature may also have influenced the results [67], and there may even have been other causes [68].

R É S U M É

1. D'après les divers ouvrages consultés, les renseignements y recueillis sur le comportement du pouvoir fluorescent des solutions de certaines substances, en fonction du pH du milieu, doivent être envisagés sous une prudente réserve; aussi, l'auteur a entrepris une étude systématique dans le but de connaître, avec exactitude, pour divers fluorigènes:

a) — leur comportement par rapport aux prévisions de la Loi de Perrin;

b) — la concentration à laquelle correspond, pour chacun d'eux, le pouvoir fluorescent maximum;

1-NAPHTHOL

Sinopsys of the experimental results presented in Appendix

pH	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0
1st det	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,6	0,6	1,0	1,4	3,0	10,9	20,2
2nd det	0,5	0,5	0,6	0,7	0,8	0,8	0,9	1,0	1,2	2,0	3,8	10,4	23,6
3th det	0,4	0,5	0,6	0,8	0,9	0,9	0,9	0,9	1,0	1,9	3,8	9,3	24,0
4th det	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,6	1,0	1,3	3,2	9,4	16,8
5th det	0,3	0,5	0,6	0,7	0,7	0,8	0,9	0,9	1,1	1,3	3,1	8,9	22,0
6th det	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,7	0,7	0,7	0,9	1,1	3,0	9,1	19,5
7th det	0,2	0,3	0,3	0,4	0,4	0,7	0,6	0,7	1,0	1,2	3,2	9,4	20,4
8th det	0,5	0,5	0,6	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7	0,9	1,2	2,6	8,0	18,3
Average	0,3	0,3	0,4	0,5	0,5	0,6	0,7	0,7	1,0	1,4	3,2	9,4	20,6

pH	8,5	9,0	9,5	10,0	10,5	11,0	11,5	12,0	12,5	13,0
1st	40,4	62,5	88,3	87,9	88,0	86,4	75,7	78,9	87,7	90,0
2nd	60,7	66,0	94,4	94,2	91,7	90,5	80,7	86,5	88,0	90,0
3th	60,2	85,3	97,0	93,7	91,4	95,5	83,9	85,8	90,9	90,0
4th	37,4	45,1	92,2	74,2	93,6	93,6	92,1	90,8	96,5	90,0
5th	49,5	78,5	96,6	94,9	94,2	97,9	88,2	91,5	91,0	90,0
6th	44,5	68,7	94,0	89,3	92,8	93,4	91,1	90,0	84,3	90,0
7th	47,6	74,0	96,7	86,4	94,0	93,0	88,3	85,8	88,6	90,0
8th	44,0	70,4	90,8	90,4	90,3	95,6	90,2	85,3	93,1	90,0
Av.	48,0	68,8	93,7	88,8	92,2	93,2	86,2	86,8	90,0	90,0

Table 3

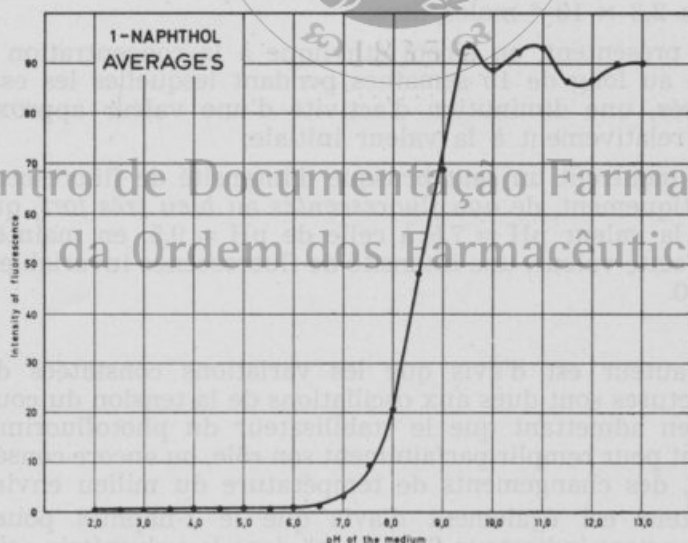


Fig. 3

Fluorescence intensity of 1-naphthol solutions as a function of the pH of the medium

- c) — la stabilité de leurs solutions en fonction du temps;
- d) — la variation de l'intensité de fluorescence de chaque fluorigène avec le pH du milieu.

2. L'intention de l'auteur c'est d'étudier, postérieurement, les possibilités d'application de chaque fluorigène comme indicateur fluorescent dans le titrage, par volumétrie, de substances alimentaires ou industrielles troubles, opaques ou colorées, en employant comme excitateur la Lumière de Wood.

3. Les déterminations, en milieu tamponné de pH connu, ont été réalisées au moyen d'un photofluorimètre *Coleman* à filtres, en utilisant comme filtre primaire le verre *Corning* n.º 5874 perméable à 365 nm avec transmittance supérieure à 50 %, et comme filtre secondaire le verre *Corning* n.º 3060 perméable pour longueurs d'onde comprises entre 405 et 750 nm, avec transmittance, supérieure à 40 %, selon les indications du fabricant.

4. Le fluorigène essayé cette fois-ci a été de *1-naphthol* et, d'après les essais réalisés, on a conclu que ses solutions:

a) — se comportent conformément à la Loi de Perrin;

b) — ont, en milieu tamponné de pH = 10,0, leur pouvoir fluorescent maximum dans des concentrations très proches de 0,328 g/litre ou $2,3 \times 10^{-3}$ moles/litre;

c) — présentent, en alcool éthylique à la concentration de 3 % p/v, tout au long de 15 semaines pendant lesquelles les essais ont été réalisés, une diminution d'activité d'une valeur approximative de 15 % relativement à la valeur initiale;

d) — montrent un saut brusque d'intensité de fluorescence passant, pratiquement, de *non fluorescentes* au *bleu très fort*, quand on passe de la valeur pH = 7,5 à celle de pH = 9,5, en maintenant, à partir de cette valeur, une intensité de fluorescence invariable jusqu'à pH = 13,0.

5. L'auteur est d'avis que les variations constatées dans les lectures sont dues aux oscillations de la tension du courant du secteur, en admettant que le stabilisateur du photofluorimètre est insuffisant pour remplir parfaitement son rôle, ou encore conséquence, peut-être, des changements de température du milieu environnant.

L'auteur est également d'avis que le 1-naphtol pourra être employé comme indicateur fluorescent dans la volumétrie acide-base, en prenant comme indication du terme de la réaction, la transition de l'intensité de fluorescence vérifiée dans l'intervalle pH = 7,5 à pH = 9,5 et, étant donné que l'activité de fluorescence des solutions

de *1-naphtol* diminue avec le temps, l'emploi de solutions récentes est à conseiller.

A conseiller aussi l'usage de III à V gouttes d'une solution alcoolique à 3 % p/v, solution considérée convenable pour une prise d'essai de 8 à 10 ml, lorsque le *1-naphtol* est employé comme indicateur fluorescent.

Quelle que soit l'hypothèse, l'auteur suggère que, pour chaque cas, des expériences appropriées soient effectuées afin de vérifier si, entre le *1-naphtol* et les composants du système — composants présents initialement ou formés tout au long de l'opération — il se produit des interactions qui affectent la conduite du phénomène.



Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

APPENDIX

1-NAPHTHOL

Solvent: ethyl alcohol

Concentration: 3% w/v

Number of drops of the solution added to each tube: III

Volume of buffer solution in each tube of the photofluorimeter: 8 ml

The point of 90,0 on the photofluorimeter scale was adjusted to the pH 13,0

1st determination

pH	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5
1st set	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,3	0,6	0,6	1,0	1,2	3,0	10,6
2nd set	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,6	0,6	1,0	1,5	3,0	11,0
3th set	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,6	0,7	1,0	1,5	3,0	11,0
4th set	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,6	1,0	1,5	3,0	11,0
5th set	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,6	0,7	1,0	1,5	3,0	11,0
Average	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,6	0,6	1,0	1,4	3,0	10,9

pH	8,0	8,5	9,0	9,5	10,0	10,5	11,0	11,5	12,0	12,5	13,0
1st	19,5	40,0	62,3	88,0	88,0	88,0	86,5	76,0	79,2	88,0	90,0
2nd	20,3	40,5	63,2	88,0	88,0	88,0	86,5	76,0	79,0	87,8	90,0
3th	20,3	40,5	62,7	88,0	88,0	88,0	86,5	75,5	78,8	87,8	90,0
4th	20,5	40,5	62,5	89,0	88,0	88,0	86,5	75,5	78,5	87,6	90,0
5th	20,5	40,5	62,0	88,5	87,5	88,0	86,0	75,5	79,0	87,5	90,0
Av.	20,2	40,4	62,5	88,3	87,9	88,0	86,4	75,7	78,9	87,7	90,0

Table 4

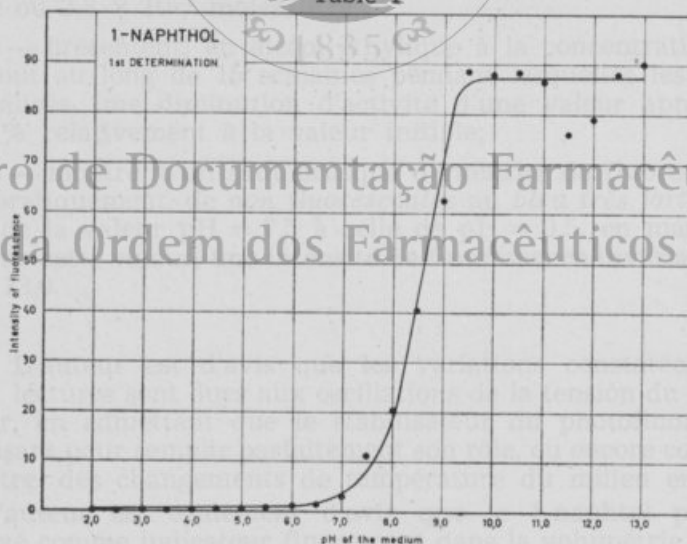


Fig. 4

Fluorescence intensity of 1-naphthol solutions as a function of the pH of the medium (1st determination)

2nd determination

pH	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5
1st set	1,0	0,2	0,5	0,5	0,7	0,6	0,8	0,8	1,1	2,0	3,7	9,9
2nd set	0,5	0,5	0,4	0,6	0,8	1,0	1,0	1,2	1,5	2,2	4,6	10,7
3th set	0,5	0,7	0,8	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,2	2,0	3,1	10,1
4th set	0,2	0,7	0,7	0,8	0,7	0,7	0,7	1,0	1,1	2,0	3,8	10,8
5th set	0,5	0,6	0,8	0,8	0,8	0,9	1,0	1,0	1,1	2,0	4,0	10,5
Average	0,5	0,5	0,6	0,7	0,8	0,8	0,9	1,0	1,2	2,0	3,8	10,4

pH	8,0	8,5	9,0	9,5	10,0	10,5	11,0	11,5	12,0	12,5	13,0
1st	23,1	60,0	66,0	94,0	93,5	91,0	90,0	80,0	85,5	87,2	90,0
2nd	23,6	60,0	66,0	94,3	94,0	91,0	90,0	78,5	86,0	88,2	90,0
3th	24,0	61,0	67,0	95,0	95,5	93,0	91,0	82,7	88,0	88,0	90,0
4th	23,5	61,0	66,0	94,1	94,1	92,0	91,3	81,0	86,5	87,6	90,0
5th	23,8	61,6	65,1	94,8	94,5	91,8	90,5	81,5	86,5	89,0	90,0
Av.	23,6	60,7	66,0	94,4	94,2	91,7	90,5	80,7	86,5	88,0	90,0

Table 5

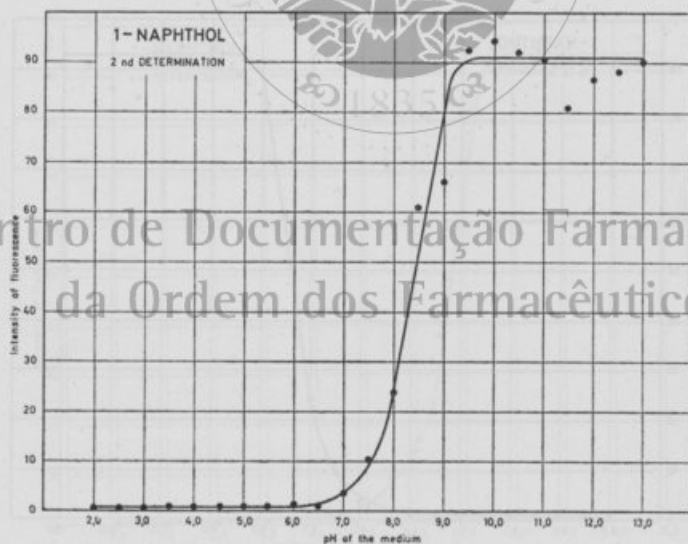


Fig. 5

Fluorescence intensity of 1-naphthol solutions as a function of the pH of the medium (2nd determination)

3th determination

pH	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5
1st set	0,2	0,2	0,4	0,6	0,7	0,9	0,8	0,8	1,0	1,8	3,2	8,7
2nd set	0,3	0,5	0,6	0,8	0,9	0,8	1,0	1,0	1,0	2,0	4,0	9,6
3th set	0,4	0,7	0,7	0,9	1,0	1,0	0,9	1,0	1,1	2,0	3,9	9,3
4th set	0,7	0,7	0,8	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,2	2,1	4,2	9,6
5th set	0,5	0,5	0,7	0,7	0,9	1,0	0,9	1,0	1,0	2,0	4,0	9,6
Average	0,4	0,5	0,6	0,8	0,9	0,9	0,9	0,9	1,0	1,9	3,8	9,3

pH	8,0	8,5	9,0	9,5	10,0	10,5	11,0	11,5	12,0	12,5	13,0
1st	23,5	59,5	84,5	97,0	93,7	91,5	96,0	84,2	85,6	90,2	90,0
2nd	24,0	59,7	85,0	97,0	94,0	91,3	95,6	84,2	86,0	91,0	90,0
3th	24,0	60,0	85,0	96,5	94,0	92,0	95,3	84,5	85,4	90,8	90,0
4th	24,5	60,5	85,2	96,5	93,0	92,0	95,2	83,2	86,2	91,8	90,0
5th	24,3	61,5	85,8	98,9	94,0	90,5	95,5	83,4	85,8	90,8	90,0
Av.	24,0	60,2	85,3	97,0	93,7	91,4	95,5	83,9	85,8	90,9	90,0

Table 6

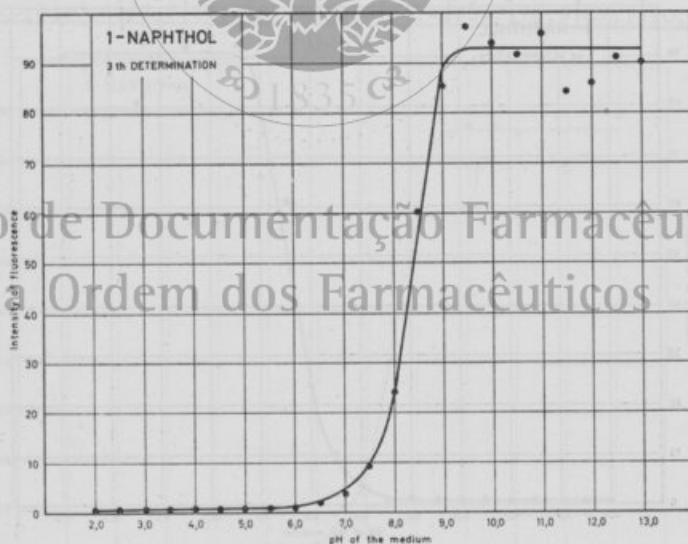


Fig. 6

Fluorescence intensity of 1-naphthol solutions as a function of the pH of the medium (3th determination)

4th determination

pH	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5
1st set	0,2	0,5	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	1,0	1,0	1,0	3,0	8,8
2nd set	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,5	1,2	1,8	3,5	9,5
3th set	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1	0,2	0,3	0,5	1,0	1,2	3,0	9,0
4th set	0,2	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,5	1,0	1,2	3,4	10,0
5th set	0,2	0,5	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,5	1,0	1,5	3,3	9,9
Average	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,6	1,0	1,3	3,2	9,4

pH	8,0	8,5	9,0	9,5	10,0	10,5	11,0	11,5	12,0	12,5	13,0
1st	16,5	37,7	45,0	92,0	74,2	93,0	93,0	91,9	90,0	96,5	90,0
2nd	17,0	37,0	44,4	92,0	73,8	93,5	92,5	90,1	89,5	96,0	90,0
3th	16,8	37,2	44,5	92,2	74,3	94,0	94,0	93,0	92,0	97,0	90,0
4th	16,8	38,0	44,5	93,0	74,2	94,5	94,0	93,5	91,0	97,0	90,0
5th	17,0	37,4	45,2	92,0	74,8	93,0	94,5	92,0	91,0	96,0	90,0
Av.	16,8	37,4	45,1	92,2	74,2	93,6	93,6	92,1	90,8	96,5	90,0

Table 7

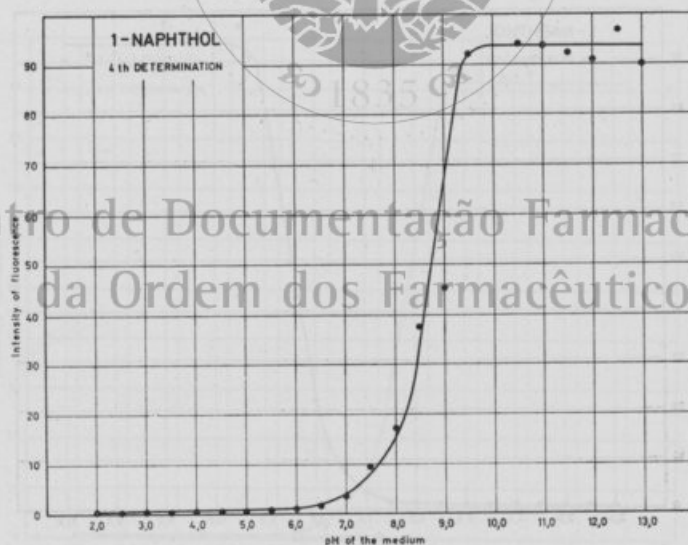


Fig. 7

Fluorescence intensity of 1-naphthol solutions as a function of the pH of the medium (4th determination)

5th determination

pH	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5
1st set	0,3	0,5	0,5	0,5	0,6	0,8	0,9	0,9	1,0	1,2	3,0	8,5
2nd set	0,3	0,4	0,7	0,7	0,8	0,8	0,9	1,0	1,1	1,3	3,2	9,0
3th set	0,3	0,5	0,7	0,8	0,6	0,7	0,9	1,0	1,3	1,5	3,2	9,0
4th set	0,5	0,7	0,8	0,9	0,9	0,9	0,8	0,9	1,1	1,2	3,2	9,0
5th set	0,4	0,4	0,5	0,7	0,8	0,8	0,9	0,9	1,1	1,3	3,2	9,0
Average	0,3	0,5	0,6	0,7	0,7	0,8	0,9	0,9	1,1	1,3	3,1	8,9

pH	8,0	8,5	9,0	9,5	10,0	10,5	11,0	11,5	12,0	12,5	13,0
1st	21,2	48,5	78,6	95,6	95,0	94,5	97,7	88,8	91,3	90,8	90,0
2nd	22,2	49,3	78,6	96,0	94,8	94,0	98,0	88,0	91,3	90,8	90,0
3th	22,3	49,9	79,0	97,0	95,0	94,2	98,0	88,2	91,8	90,7	90,0
4th	22,0	50,0	78,4	97,3	95,0	94,3	98,3	88,0	92,0	91,8	90,0
5th	22,3	50,0	78,0	97,2	94,8	94,2	97,8	88,0	91,2	91,0	90,0
Av.	22,0	49,5	78,5	96,6	94,9	94,2	97,9	88,2	91,5	91,0	90,0

Table 8



Fig. 8

Fluorescence intensity of 1-naphthol solutions as a function of the pH of the medium (5th determination)

6th determination

pH	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5
1st set	0,3	0,4	0,4	0,5	0,6	0,8	0,8	0,8	1,0	1,2	3,1	9,0
2nd set	0,3	0,3	0,4	0,5	0,4	0,7	0,7	0,8	0,9	1,0	3,0	9,0
3th set	0,2	0,2	0,3	0,3	0,2	0,4	0,5	0,5	0,8	1,0	3,0	9,0
4th set	0,5	0,4	0,5	0,5	0,5	0,7	0,8	0,8	1,0	1,2	3,1	9,2
5th set	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,7	0,8	0,8	1,0	1,2	3,0	9,3
Average	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,7	0,7	0,7	0,9	1,1	3,0	9,1

pH	8,0	8,5	9,0	9,5	10,0	10,5	11,0	11,5	12,0	12,5	13,0
1st	18,7	44,0	68,3	93,8	90,7	92,8	93,2	90,5	90,2	84,0	90,0
2nd	19,2	44,2	69,8	93,8	89,6	93,2	93,0	91,1	89,8	84,5	90,0
3th	19,8	44,8	68,7	93,7	89,0	92,0	92,5	90,2	89,3	83,0	90,0
4th	20,0	44,8	67,8	94,2	88,3	93,2	94,8	92,7	90,6	85,8	90,0
5th	19,9	44,9	69,2	94,8	89,0	93,1	93,8	91,2	90,2	84,3	90,0
Av.	18,5	44,5	68,7	94,0	89,3	93,8	93,4	91,1	90,0	84,3	90,0

Table 9

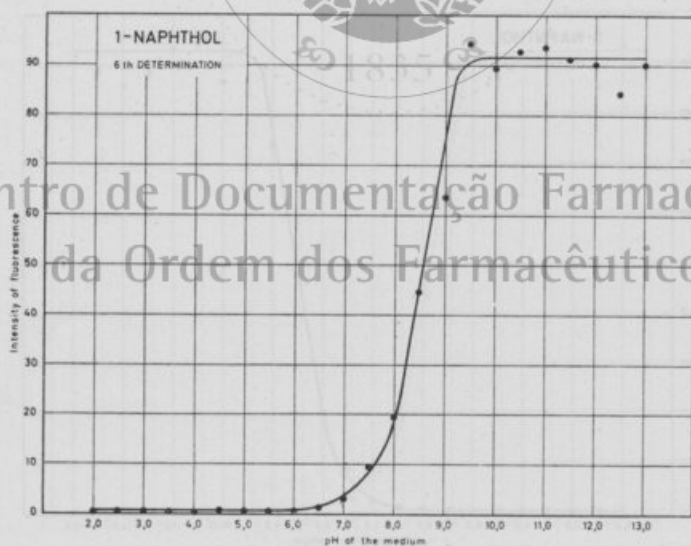


Fig. 9

Fluorescence intensity of 1-naphthol solutions as a function of the pH of the medium (6th determination)

7th determination

pH	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5
1st set	0,2	0,3	0,3	0,4	0,4	0,8	0,7	0,8	1,0	1,5	3,3	9,4
2nd set	0,2	0,3	0,3	0,5	0,5	0,7	0,5	0,7	0,9	1,1	3,2	9,2
3th set	0,2	0,2	0,2	0,4	0,5	0,6	0,7	0,6	1,1	1,2	3,2	9,3
4th set	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,7	0,5	0,8	1,0	1,2	3,2	9,5
5th set	0,2	0,5	0,4	0,5	0,3	0,7	0,7	0,8	1,0	1,2	3,2	9,7
Average	0,2	0,3	0,3	0,4	0,4	0,7	0,6	0,7	1,0	1,2	3,2	9,4

pH	8,0	8,5	9,0	9,5	10,0	10,5	11,0	11,5	12,0	12,5	13,0
1st	20,8	48,0	75,2	95,8	87,0	94,0	92,8	88,2	85,2	87,3	90,0
2nd	20,3	47,4	74,7	96,6	87,4	93,5	93,0	88,2	86,0	88,8	90,0
3th	20,5	48,0	74,2	96,8	87,0	94,2	93,8	88,8	85,8	90,2	90,0
4th	20,2	47,3	73,2	97,2	85,8	93,8	93,1	87,8	86,0	89,0	90,0
5th	20,2	47,4	73,0	97,4	85,1	94,8	92,3	88,8	86,0	88,7	90,0
Av.	20,4	47,6	74,0	96,7	86,4	94,0	93,0	88,3	85,8	88,6	90,0

Table 10

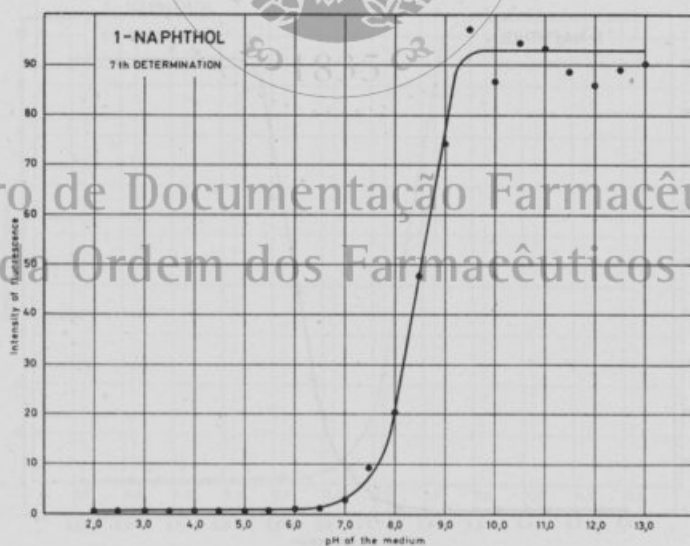


Fig. 10

Fluorescence intensity of 1-naphthol solutions as a function of the pH of the medium (7th determination)

8th determination

pH	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5
1st set	0,7	0,6	0,7	0,8	0,8	0,8	0,7	0,8	1,0	1,2	2,3	7,8
2nd set	0,4	0,4	0,5	0,5	0,4	0,8	0,9	0,9	1,0	1,3	2,8	8,2
3th set	0,4	0,4	0,5	0,4	0,5	0,7	0,8	0,8	1,0	1,2	2,6	8,0
4th set	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	1,0	1,2	2,8	8,2
5th set	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,8	1,1	2,6	8,0
Average	0,5	0,5	0,6	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7	0,9	1,2	2,6	8,0

pH	8,0	8,5	9,0	9,5	10,0	10,5	11,0	11,5	12,0	12,5	13,0
1st	17,5	44,0	69,6	90,0	90,0	91,3	94,6	89,4	87,2	92,8	90,0
2nd	18,8	43,4	71,5	89,4	90,6	91,8	95,0	89,3	85,3	92,8	90,0
3th	18,5	43,8	70,3	91,2	90,8	92,2	95,6	91,3	85,0	92,6	90,0
4th	19,0	44,8	71,0	92,0	90,8	93,8	96,5	90,8	84,8	93,8	90,0
5th	17,8	44,3	69,8	91,4	89,8	92,6	96,5	90,3	85,2	93,8	90,0
Av.	18,3	44,0	70,4	90,8	90,4	92,3	95,6	90,2	85,3	93,1	90,0

Table 11

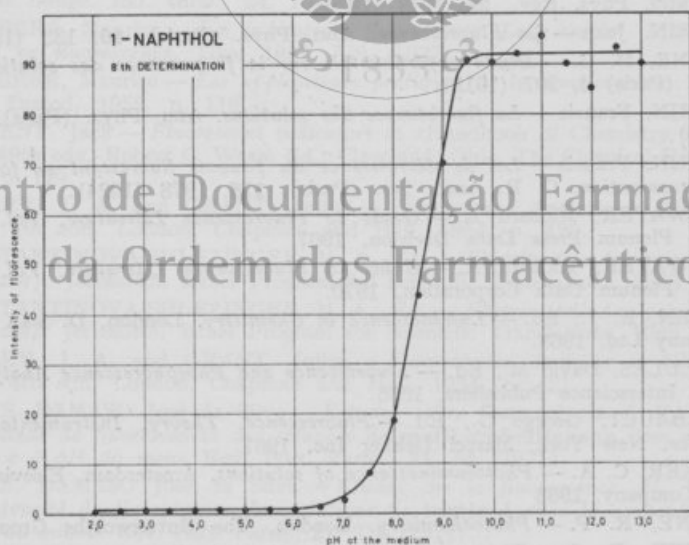


Fig. 11

Fluorescence intensity of 1-naphthol solutions as a function of the pH of the medium (8th determination)

REFERENCES

- [1] PARKER, C. A. — *Raman spectra in spectrofluorimetry*. Analyst, **84**, 446 (1959).
- [2] BOWEN, E. J. and GARLICK, G. F. J. — *Luminescence*. Internac. Sci. Technol., **56**, 18 (1966).
- [3] ANDANT, A. — *Spectres de fluorescence*, in «*Traité de Chimie Organique*» (V. Grignard, Ed.) Paris, Masson, & Cie, **2**, 295 (1948).
- [4] BREWSTER, Sir David — *On the colours of natural bodies*. Trans. roy. Soc. (Edinburgh), **12**, 542 (1833).
- [5] HERSCHELL, Sir J. F. W. — *On the epipolic dispersion of light*. Phil. Trans. roy. Soc. (London), **135**, 147 (1845).
- [6] STOKES, George C. — *On the Refrangibility of Light*. Phil. Trans. roy. Soc. (London), **142**, 463 (1852).
- [7] STOKES, George C. — *On the Change of Refrangibility of Light*. Phil. Trans. roy. Soc. (London), **143**, 385 (1853).
- [8] STEPANOV, B. J. — *Vavilov's rule (luminescence yield)*. Usp. Fiz. Nauk, **58**, 3 (1956).
- [9] DE BROGLIE, Louis — *A tentative theory of light quanta*. Phil. Mag., **47**, 444 (1924).
- [10] BOHR, N. — *On the constitution of atoms and molecules*. Phil. Mag., **26**, 1 (1913).
- [11] SCHRODINGER, E. — *An undulatory theory of the mechanisms of atoms and molecules*. Phys. Rev., **28**, 1049 (1926).
- [12] PERRIN, Jean — *La Fluorescence*. Ann. Phys. (Paris), **10**, 133 (1918).
- [13] LÉPINE, M. G. — *Étude expérimentale sur la fluorescence des solutions*. Ann. Phys. (Paris) **4**, 207 (1915).
- [14] PERRIN, Francis — *La fluorescence des solutions*. Ann. Phys. (Paris), **12**, 169 (1929).
- [15] PERRIN, Francis — *Loi de décroissance du pouvoir fluorescent en fonction de la concentration*. G. R. Acad. Sci. (Paris), **178**, 1978 (1924).
- [16] PASSWATER, Richard A. — *Guide to Fluorescence Literature, Vol. 1*. New York, Plenum Press Data Division, 1967.
- [17] PASSWATER, Richard A. — *Guide to Fluorescence Literature, Vol. 2*. New York, Plenum Data Corporation, 1970.
- [18] BOWEN, E. J., Ed. — *Luminescence in Chemistry*. London, D. Van Nostrand Company Ltd, 1968.
- [19] HERCULES, David M., Ed. — *Fluorescence and Phosphorescence Analysis*. New York, Interscience Publishers, 1966.
- [20] GUILBAULT, George G., Ed. — *Fluorescence. Theory, Instrumentation and Practice*. New York, Marcel Dekker Inc, 1967.
- [21] PARKER, C. A. — *Photoluminescence of solutions*. Amsterdam, Elsevier Publishing Company, 1968.
- [22] WAYNE, R. P. — *Photochemistry*. London, The Butterworths Group, 1970.
- [23] BECKER, R. S. — *Theory and interpretation of Fluorescence and Phosphorescence*. London, Wiley Interscience, 1970.
- [24] DÉRIBÈRE, Maurice — *Les applications pratiques de la luminescence*, 3ème ed., Paris, Dunod, 1955.
- [25] RADLEY, J. A. and GRANT, Julius — *Fluorescence Analysis in Ultra-violet Light*, 4th edn. London, Chapman and Hall, 1954.

- [26] KONSTANTINOVA-SHLEZINGER, M. A., Ed. — *Fluorimetric Analysis* (Transl. N. Kaner). Jerusalem, Israel Program for Scientific Translations, 1965.
- [27] NISHIKAWA, N. — *Fluorometric Analysis. X. Fluorescence of metal quinolinolates and their adaptability in fluorometric analysis. XI. Fluorescence of metal salts of 8-quinolinol derivatives*. Nippon Kagaku Zasshi, **79**, 1003 (1958).
- [28] PESEZ, Maurice — *Dosage fluorométrique de l'acide cholique*. Ann. pharm. Franç., **11**, 670 (1953).
- [29] GALANIN, M. D. and FRANK, J. M. — *Quenching of fluorescence by a light-absorption medium*. Zh. Eksperim. i Teor. Fiz., **21**, 114 (1951).
- [30] YOSHIDA, Z., SHIMADA, Y. and ODA, R. — *The relation between fluorescence and chemical constitution of organic compounds*. Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ., **28**, 76 (1952).
- [31] SVESHNIKOV, B. Y. et alii — *Kinetics of fluorescence quenching of solutions with foreign substances*. Izv. Akad. Nauk SSSR, sec. Fiz., **22**, 1047 (1958).
- [32] ANDANT, A. — *Quelques relations entre la constitution chimique, l'absorption et la fluorescence des alcaloïdes*. C. R. Acad. Sci. (Paris), **189**, 98 (1929).
- [33] GRANT, J. — *Deciphering charred documents: Some recent work and a new method*. Analyst, **67**, 42 (1942).
- [34] GRANT, Julius — *Ultra-violet light as a means of detecting artificial watermarks*. Analyst, **59**, 749 (1934).
- [35] ROSSIGNOL, J. — *Recherches sur la phosphorescence cathodique du rubis*. C. R. Acad. Sci. (Paris), **176**, 1459 (1923).
- [36] CASSEN, B. and CLARK, D. S. — *Examination of metal objects*. Metal Ind., **69**, 25 (1946).
- [37] NEELAKANTAM, K. and VISVANATH, G. — *Fluorescent indicators for acid-base titrations*. Curr. Sci (India), **19**, 15 (1950).
- [38] TOMICEK, O. — *Chemical Indicators* (Transl. A. R. Weier). London, Butterworths Scientific Publications, 1951.
- [39] DÉRIBÈRE, Maurice — *Tableau des principaux indicateurs fluorescents et leur zone de virage*. Ind. chim., **24**, 163 (1937).
- [40] DÉRIBÈRE, Maurice — *Les indicateurs fluorescents. Leur emploi. L'importance du rH en fluorescence*. Tiba, **1937**, 349 (1937).
- [41] DÉRIBÈRE, Maurice — *Les applications pratiques de la luminescence*, 3ème ed. Paris, Dunod, 1955, p. 119.
- [42] DE MENT, Jack — *Fluorescent indicators* in «Handbook of Chemistry and Physics», 49th edn, Robert C. Weast Ed., Cleveland, Ohio, The Chemical Rubber Co, 1968, p. 119.
- [43] RADLEY, J. A. and GRANT, Julius — *Fluorescence Analysis in Ultra-violet Light*, 4th edn. London, Chapman and Hall, 1954, p. 420.
- [44] KONSTANTINOVA-SHLEZINGER, M. A., Ed. — *Fluorimetric Analysis*. (Transl. N. Kaner). Jerusalem, Israel Program for Scientific Translations, 1965, p. 109.
- [45] KONSTANTINOVA-SHLEZINGER, M. A., Ed. — *Fluorimetric Analysis*. (Transl. N. Kanel). Jerusalem, Israel Program for Scientific Translations, 1965, p. 108.
- [46] RADLEY, J. A. and GRANT, Julius — *Fluorescence Analysis in Ultra-violet Light*, 4th edn. London, Chapman and Hall, 1954, p. 421.
- [47] GOMES, DAMASO José da Silva — *Estudos sobre fluorescência. I. Variação da intensidade de fluorescência das soluções de metil-umbeliferona com a concentração e o pH do meio*. Rev. Port. Farm., **21**, 54 (1971).
- [48] GOMES, DAMASO José da Silva — *Études sur la fluorescence. II. Variation de l'intensité de fluorescence des solutions de luminol avec la concentration et le pH du milieu*. Rev. Port. Farm., **21**, 219 (1971).
- [49] GOMES, DAMASO José da Silva — *Estudos sobre fluorescência. III. Variação da intensidade de fluorescência das soluções de metil-esculetina com a concentração e o pH do meio*. Rev. Port. Farm., **21**, 245 (1971).
- [50] MELLET, R. et BISCHOFF, M. A. — *Réactions chimiques et titrages volumétriques en Lumière de Wood*. C. R. Acad. Sci. (Paris), **182**, 1616 (1926).

- [51] NICHOLAS, J. W. and POLLAK, F. F. — *The isolation of the lines of the mercury arc by filters*. Analyst, **75**, 662 (1950).
- [52] PARKER, C. A. and BARNES, W. J. — *Some experiments with spectrofluorimeters and filter fluorimeters*. Analyst, **82**, 606 (1957).
- [53] CORNING GLASS WORKS — *Glass Color Filters*. New York, Corning, 1965.
- [54] VAVILOV, S. I. — *The Theory of the Influence of Concentration on the Fluorescence of Solutions*. J. Phys. USSR, **7**, 141 (1943).
- [55] CHASE, Merrill W. — *Buffers*. Immun. Immunochem., William Chase, Ed., New York, Academic Press, 1968, p. 365.
- [56] VOLMAR, Y. — *Variation de la fluorescence en fonction du pH*. Bull. Soc. chim. France, **41**, 302 (1927).
- [57] CANALS, M. E., PERROTTET, Mlle S. et PEYROT, P. — *Sur la fluorescence des sels de quinine*. Bull. Soc. chim. France, **2**, 21 (1935).
- [58] CHEN, Raymond F. — *Some characteristics of the fluorescence of quinine*. Anal. Biochem., **19**, 374 (1967).
- [59] DROBNIK, Jaroslav and YEARGERS, Edward — *On the use of Quinine Sulfate as a fluorescent standard*. J. molec. Spectrosc., **19**, 454 (1966).
- [60] STECHER, P. G., Ed. — *The Merck Index of Chemicals and Drugs*, 8th edn. Rahway, New Jersey, U. S. A., Merck & Co, 1968.
- [61] DIEM, Konrad — *Documenta Geigy, Tables Scientifiques*, 6ème ed. Bâle, J. R. Geigy S. A., 1963.
- [62] EASTMAN KODAK COMPANY — *Fluorescent indicators*. Org. chem. Bull., **29**, (4), 1957.
- [63] UDENFRIEND, Sidney — *Fluorescence Assay in Biology and Medicine*, 3th Print. New York, Academic Press, 1964, p. 472.
- [64] LANGE, Norbert Adolph — *Handbook of Chemistry*, 10th edn. rev. New York, McGraw-Hill Book Co., 1967, p. 980.
- [65] ERDEY, L. et alii — *Luminol as a fluorescent acid-base indicator*. Talanta, **13**, 463 (1966).
- [66] GEORGE, Henri et BAYLE, Edmond — *Définition spectrophotométrique des couleurs de fluorescence*. C. R. Acad. Sci. (Paris), **178**, 1895 (1924).
- [67] KOWALSKI, J. de — *Influence de la température sur la Loi de Stokes*. Radium, **7**, 56 (1910).
- [68] BOWEN, E. J. — *Viscosity and temperature effects in fluorescence*. Disc. Faraday Soc., **27**, 40 (1959).

Centro de Documentação Farmacêutica da Ordem dos Farmacêuticos

This research was supported exclusively by the Instituto Nacional de Investigação Industrial, and conducted at its Laboratories.

ESTUDOS SOBRE FLUORESCÊNCIA

V. VARIAÇÃO DA INTENSIDADE DE FLUORESCÊNCIA DAS SOLUÇÕES DE FLOXINA COM A CONCENTRAÇÃO E O pH DO MEIO

DÂMASO JOSÉ DA SILVA GOMES (*)

*Licenciado em Ciências Físico-Químicas e Doutor em Farmácia
Prof. do 3.º Grupo de Cadeiras da Escola Naval
Equiparado a Investigador do INNI*

1. Certas substâncias apresentam a propriedade de, quando excitadas previamente por radiações de comprimento de onda adequado, nomeadamente de comprimentos de onda inferiores ao da luz azul devolverem a luz recebida, mesmo quando colocadas na obscuridade [1 a 17].

Este fenómeno que se denomina luminescência, pode ser imediato à excitação ou retardado em relação a ela: no primeiro caso denomina-se *fluorescência* e no segundo *fosforescência*, mas, em qualquer dos casos, salvo excepções cuja explicação é devidamente conhecida [18 a 25], verifica-se que o comprimento de onda da radiação emitida é maior que o comprimento de onda da radiação de excitação.

Este enunciado que se deve a STOKES [26, 27], e é conhecido por *Lei de Stokes*, encontrou interpretação na Teoria Quântica da radiação [28], como se conclui dos trabalhos de VAVILOV e continuadores [29, 30, 31], e dele decorre que, em regra, as radiações de fluorescência se situem no domínio do visível, sobretudo se a excitação se processa com radiações da zona do ultra-violeta próximo, como sejam por exemplo as da Luz de Wood (365 nm).

Sendo um facto que os indicadores de acidez corados, de uso corrente na titulimetria ácido-base, perdem a sua utilidade quando o meio é opaco, turvo ou corado, ocorreu a diversos investigadores que as substâncias fluorescentes, ou *fluorigénios*, pudessem ser utilizadas como indicadores de acidez, nos casos referidos, a verificar-se que as radiações de fluorescência aparecessem, desaparecessem ou mudassem de cor com a variação do pH do meio [33 a 42].

Como a emissão das radiações de fluorescência se processa mesmo na obscuridade, a cor ou turbidez do meio não seriam obstáculo ao

(*) *Endereço actual*: Instituto Nacional de Investigação Industrial, Rua Garcia de Orta, 68-1.º, LISBOA-2, PORTUGAL.

seu emprego, como o são os indicadores corados, desde que, condição fundamental e indispensável, a modificação indiciadora da mudança do pH do meio se processasse dentro de um intervalo da ordem de 2 unidades de pH, como se requiere dos indicadores corados [43].

Foram muitos os investigadores que se dedicaram ao estudo deste fenómeno com o objectivo de avançar um juízo sobre a sua aproveitabilidade para o fim referido, e diversos autores apresentam tabelas de possíveis indicadores fluorescentes, com a indicação dos limites dentro dos quais se processa a modificação denunciadora da passagem pelo ponto de equivalência.

Curioso é notar que os valores indicados nas diversas fontes, nem sempre são coincidentes.

Por vezes a disparidade é sobremodo flagrante, e KONSTANTINOVA-SHLEZINGER [44] ao apresentar uma dessas tabelas adverte prudentemente o leitor sobre o crédito que é de atribuir ao rigor dos valores fornecidos, dizendo: *The information in the table should be regarded as approximate; it summarizes the observations made by different workers who used them for certain practical purposes and cannot pretend to accuracy, as will be clear from the discussion which follows. This explains the wide color change intervals given for some of the indicators.*

RADLEY and GRANT [45], tratando do mesmo assunto, deixam também que se instale no espírito do leitor uma certa dúvida a esse respeito, embora não sejam tão categóricos, pelo que fomos levados a empreender uma investigação sistemática com o fim de procurar conhecer com rigor o comportamento de diversos fluorogénios relativamente à variação do pH do meio.

Partimos da hipótese de que o estudo a que iríamos proceder, se destinava a determinar, para cada substância submetida a ensaio, as possibilidades de a usarmos como indicador fluorescente na titulimetria de substâncias cuja cor, turbidez ou opacidade, não permitisse em boas condições o uso dos indicadores corados, e supusemos ainda que a excitação se viria a processar com luz ultravioleta com o comprimento de onda de 365 nm, isto é, com luz de Wood [46, 47, 48].

Aceitando uma sugestão de RADLEY and GRANT [49] usámos no nosso estudo, como meios, também convenientes, preparados quer a partir de ampolas para diluir com água destilada, quer com produtos *p. anal.* ou equivalentes, de acordo com as formulações encontradas nos trabalhos da especialidade [50, 51, 52, 53].

2. Em trabalhos anteriores [54, 55, 56, 57, 58] descrevemos em pormenor as técnicas utilizadas, e, nas mesmas condições, e em qualquer dos casos, desenvolvemos a linha da investigação no sentido de conhecer para cada fluorogénio estudado:

a) — o comportamento do poder fluorescente das suas soluções em relação às predicções da *Lei de Perrin: a intensidade de fluorescência das soluções de um dado fluorogénio varia exponencialmente com a concentração* [59, 60, 61, 62];

b) — a concentração do fluorigénio para a qual a intensidade da fluorescência emitida é máxima;

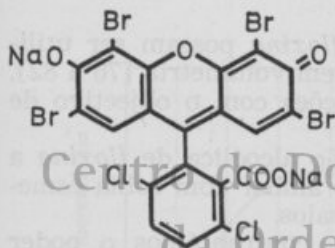
c) — a estabilidade das soluções do fluorigénio, de uso provável como indicador, ao longo do tempo;

d) — o modo de variação da intensidade da fluorescência emitida em relação com pH do meio.

Tal como nos casos anteriores utilizámos como instrumento de trabalho um fotofluorímetro *Coleman* de filtros munido de um estabilizador de corrente. Utilizámos como *filtro primário* o filtro 12-125 (B-1-S) de vidro *Corning* n.º 5874 que o fabricante afirma ser permeável apenas para radiações com o comprimento de onda de 365 nm, com o grau de precisão correspondente a este tipo de monocromadores, e como *filtro secundário*, o filtro 14-218 (PC-8) de vidro *Corning* n.º 3060, permeável segundo o fabricante, para radiações de comprimento de onda compreendido entre 405 e 750 nm [63, 64, 65, 66, 67].

Pretendeu-se desta forma que, quer as condições de excitação, quer as de observação, fossem idênticas às que nos propomos usar na prática das análises.

3. Os ensaios realizados incidiram desta vez sobre a *floxina*; dicloro-tetrabromo-fluoresceína dissódica: eritrosina BB ou 3',6'-dicloro-2,4,5,7-tetrabromo-fluoresceína dissódica, que tem por fórmula $C_{20}H_4Br_4Cl_2Na_2O_5$ e se apresenta sob a forma de um pó vermelho-escuro que produz soluções alcoólicas de cor vermelho cereja [68, 69].



Trata-se de uma substância aparentada com a fluoresceína, de que difere pela substituição de 6 átomos de hidrogénio ligados aos núcleos benzénicos, por 2 de cloro e 4 de bromo, e ainda pelo facto de os hidrogénios dos grupos ácido e fenólico se encontrarem substituídos por átomos de sódio.

O aparecimento na estrutura molecular, de átomos de cloro e de bromo faz diminuir acentuadamente o poder fluorescente das moléculas orgânicas fluorescentes, como tem sido comprovado por diversos investigadores, e a *floxina* não foge à regra, apresentando poder fluorescente muito inferior ao da fluoresceína de que deriva [70 a 76].

Utilizámos nos ensaios *floxina* Merck (referência de catálogo 1371), e como solvente usámos o álcool etílico.

Num ensaio preliminar, expusemos à acção de uma lâmpada portátil de Luz de Wood soluções de *floxina* em meios tamponados convenientes de valores de pH crescentes, verificando que a fluorescência de maior intensidade se observava para valores de pH superiores a 5,0.

Adicionámos a cada um de 12 tubos contendo 8 ml de tampão, e por ordem, I a XII gotas da solução alcoólica de *floxina*, e tomámos o primeiro para referência, atribuindo arbitrariamente à sua intensidade de fluorescência, o valor 20,0 da escala do fotofluorímetro.

Realizámos as experiências da primeira fase — variação da intensidade de fluorescência com a concentração — em meio tamponado de Sorensen de pH = 6,0, e, ensaios de tenteio, levaram-nos a que efectuássemos as determinações finais, cujos resultados aproveitámos, com a solução de *floxina* em álcool etílico a 2% p/v.

Realizámos todas as determinações 5 vezes, calculámos a média dos valores obtidos e representámos grãficamente os resultados, que traduzem a variação da intensidade das soluções de *floxina* em meio tamponado de Sorensen de pH = 6,0, com a concentração.

Os resultados obtidos e a respectiva representação gráfica constituem o Quadro e a Fig. 1, e o seu exame mostra que, em meio tamponado de Sorensen de pH = 6,0, se atinge a fluorescência máxima quando se adicionam IV gotas da solução alcoólica de *floxina* a 2% p/v, a 8 ml de tampão.

O comportamento geral do fenómeno enquadra-se nas predições da Lei de Perrin, como se vê pelo aspecto do gráfico.

Sabido que o peso molecular da *floxina* é 760,77, a concentração óptima, isto é, a concentração que corresponde à máxima intensidade de fluorescência é de aproximadamente 0,212 gramas por litro, ou seja $2,7 \times 10^{-4}$ moles por litro, desprezando o acréscimo de volume resultante da adição das IV gotas da solução de *floxina* aos 8 ml de tampão.

4. Na hipótese de que as soluções de *floxina* possam ser utilizadas como indicadores fluorescentes em volumetria [76 a 82], pareceu-nos conveniente realizar determinações com o objectivo de avaliar da sua estabilidade.

Para este efeito preparámos uma solução alcoólica de *floxina* a 2% p/v e guardámo-la num frasco de vidro ambar com rolha esmerilada, durante o tempo que duraram os ensaios.

Semanalmente, e durante 15 semanas, confrontámos o poder fluorescente de uma solução de sulfato de quinino em ácido sulfúrico decinormal [90 a 95] a 1 mg por litro — considerada a mais conveniente após várias tentativas adequadas — com a que se obtem por adição de IV gotas da solução de *floxina* em ensaio, a 8 ml de tampão de Sorensen de pH = 6,0.

Realizámos de cada vez 5 leituras, calculámos as respectivas médias e representámos grãficamente os valores obtidos, que constituem, uns e outro, o Quadro e Fig. 2.

O exame dos resultados não mostrou que houvesse declínio da actividade fluorigénica das soluções de *floxina* durante as 15 semanas que duraram os ensaios.

Para efeito de confronto atribuiu-se arbitrariamente à fluorescência da solução sulfúrica de sulfato de quinino o valor 90,0 da escala de fotofluorímetro.

FLOXINA

Solvente: álcool etílico

Concentração: 2% p/v

Tampão de: Sorensen

pH do tampão: 6,0

Volume de tampão em cada tubo do fotofluorímetro: 8 ml

Número de gotas da solução por ml: 47

Número de gotas da solução do fluorigénio na concentração de eficiência máxima: IV

Concentração do fluorigénio no tampão (valores aproximados):

a) — em gramas por litro: 0,212 g.l⁻¹

b) — em moles por litro: $2,7 \times 10^{-4}$ M.l⁻¹

Gotas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1ª série	20,0	28,0	30,0	30,5	30,2	28,0	26,0	25,0	23,0	21,5	20,4	19,8
2ª série	20,0	28,2	29,8	30,4	30,3	28,5	26,0	24,9	23,2	21,7	20,7	19,6
3ª série	20,0	28,0	30,0	30,5	30,1	28,5	26,2	25,0	23,5	21,5	20,8	19,6
4ª série	20,0	27,9	30,3	30,7	30,2	28,3	26,2	25,1	23,4	21,6	20,5	19,7
5ª série	20,0	28,0	30,0	30,5	30,0	28,4	26,2	25,2	23,5	21,5	20,6	19,5
médias	20,0	28,0	30,0	30,5	30,1	28,3	26,1	25,0	23,3	21,5	20,6	19,6

Quadro 1

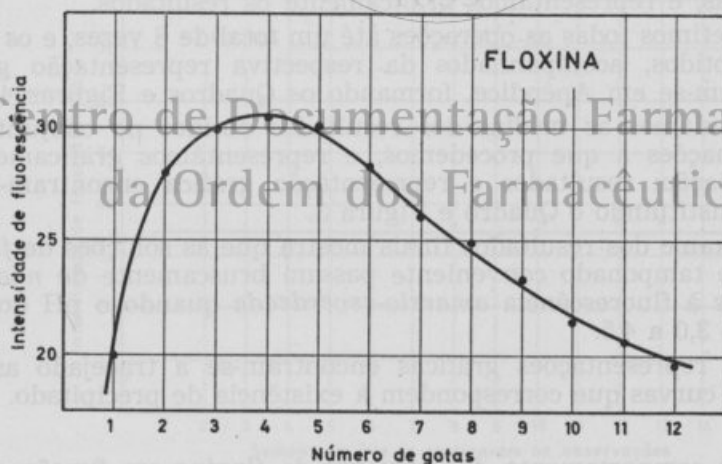


Fig. 1

Variação da intensidade de fluorescência das soluções de floxina com a concentração

Periódicamente preparámos soluções novas de sulfato de quinino em ácido sulfúrico decinormal, e confrontámos o seu poder fluorescente com o da solução idêntica que nos servia de padrão, verificando que as soluções de sulfato de quinino mantêm ao longo do tempo perfeita estabilidade, informação que aliás já havíamos colhido na literatura e tínhamos comprovado.

5. Para verificar o comportamento das soluções de *floxina* com o pH do meio [96 a 104] trabalhámos com soluções alcoólicas a 1% p/v — metade da concentração usada nas experiências anteriores — por termos verificado que, para valores baixos de pH, se produzia um precipitado muito abundante com a solução a 2% primeiramente ensaiada.

Mesmo com a solução a 1%, de que adicionámos IV gotas cada um de 23 tubos de fotofluorímetro contendo tampões convenientes escalonados de meia em meia unidade desde pH = 2,0 até pH = 13,0, as soluções de cor róseo-alaranjado só se mostraram perfeitamente límpidas a partir de pH = 4,5 inclusivé, apresentando um precipitado abundante até pH = 3,5, e turvação muito fraca para pH = 4,0.

Ensaio realizado com soluções de *floxina* de menor concentração, não trouxe qualquer benefício ao decurso das operações, pelo que desistimos delas.

A partir de pH = 3,5 inclusivé, verificou-se em todos os tubos a existência de fluorescência *amarelo-esverdeada*.

Tomámos para padrão a fluorescência em meio tamponado de pH = 12,5, a que atribuímos arbitrariamente o valor 90,0 da escala do fotofluorímetro. Realizámos todas as leituras 5 vezes, calculámos as médias, e representámos gráficamente os resultados.

Repetimos todas as operações até um total de 8 vezes, e os resultados obtidos, acompanhados da respectiva representação gráfica encontram-se em Apêndice, formando os Quadros e Figuras 4 a 11.

Calculámos as médias dos resultados obtidos no conjunto das determinações a que procedemos, e representámos gráficamente a sua variação; resultados e representação gráfica encontram-se no texto constituindo o Quadro e Figura 3.

O exame dos resultados finais mostra que as soluções de *floxina* em meio tamponado conveniente passam bruscamente de *não fluorescentes* à fluorescência *amarelo-esverdeada* quando o pH do meio passa de 3,0 a 4,5.

Nas representações gráficas encontram-se a tracejado as porções das curvas que correspondem à existência de precipitado.

6. O comportamento das soluções de *floxina* em função do pH do meio vem referido em todos os autores que consultámos, e apenas com leves variantes.

Para KONSTANTINOVA-SHLEZINGER [105] a fluorescência muda de *não fluorescente* para *amarelo-vivo* entre pH=3,4 e pH=5,0;