UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

**PIROXICAM-ZINCO: CINÉTICA EM SANGUE E LINFA
E EFEITO NA MUCOSA GÁSTRICA**

MARIA INÊS DE TOLEDO

**Tese para obtenção do grau
de DOUTOR**

Orientador:

Prof. Tit. Seizi Oga

São Paulo

2000

Ao meu filho Lucas

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte de toda vida e sabedoria.

Ao Prof. Tit. Seizi Oga pela orientação segura e cuidadosa deste trabalho.

A Profa. Dra. Lia Siguemi Sudo-Hayashi pela amizade, incentivo e orientação e por ceder seu laboratório e recursos para a execução de parte dos experimentos.

Ao Prof. Dr. Michael S. Nothenberg pela preparação do complexo piroxicam-zinco.

Ao Prof. Dr. Wilson Junitiro Yasaka por ceder laboratório e equipamentos para as determinações de piroxicam.

A Profa. Dra. Luciane Cruz Lopes pela amizade, apoio, e pelo auxílio com os experimentos de úlcera.

Aos farmacêuticos e estagiários do CEDETEM-USP pelo auxílio com as determinações de piroxicam, em especial a colega Eunice Mayumi Suenaga, pelo auxílio técnico e inúmeras sugestões apresentadas.

A Prof. Dra. Antonia Tavares do Amaral por ceder laboratório e equipamentos para determinação do coeficiente de partição, assim como pelas sugestões apresentadas e ao estagiário A. Malvezzi pelo auxílio na determinação do coeficiente de partição.

Ao Prof. Dr. Leoberto da Costa Tavares pela amizade e valiosas contribuições para a conclusão deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Renato Najjar e a Profa. Dra. Elizabeth Oliveira do Instituto de Química da USP pelas sugestões apresentadas para a conclusão deste trabalho.

Aos técnicos e pessoal de apoio do ICB, em especial a Inês Pedroso Vieira e Mauro Sucupira pela atenção e auxílio técnico.

As estagiárias da disciplina de Farmacodinâmica (1999) da UNIMEP pelo auxílio com os modelos de úlcera.

Aos Prof. Drs. Lia Lusitana Cardoso de Castro, Maria Rita Marques, Maria de Fátima Cepa Matos, Walmir Garcez, João Máximo de Siqueira e Anézia Higa Avalos pela amizade e apoio junto a Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Ao Prof. Gérson Ferracini, pela amizade, apoio e auxílio com a versão do trabalho para o inglês.

Aos professores e funcionários da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP – São Paulo.

Aos colegas de pós-graduação, especialmente a Alexandra Almeida pelas valiosas contribuições e saudável convivência no laboratório e Paulo Carvalho pela boa vontade e inúmeras informações.

A Adriana Toledo Grassi pelo auxílio com a revisão e apresentação final do texto.

Aos amigos que ajudaram a suportar as angústias e crises do dia-a-dia e a minha família que me auxiliou na infra-estrutura doméstica e cuidados com meu filho.

A Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, especialmente ao departamento de Farmácia-bioquímica e a Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação que permitiram o afastamento para realização deste trabalho.

A CAPES (PICDT) pelo auxílio financeiro.

SUMÁRIO

	Página
Sumário.....	viii
Lista de tabelas.....	x
Lista de anexos	
Resumo.....	xi
Summary.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	5
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	6
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
4.1. Preparação e caracterização de piroxicam-zinco	20
4.2. Solubilidade.....	21
4.3. Coeficiente de partição n-octanol-tampão fosfato.....	21
4.4. Farmacocinética de piroxicam.....	21
4.4.1. Animais.....	21
4.4.2. Tratamentos.....	22
4.4.3. Coleta de sangue.....	22
4.4.4. Coleta de linfa.....	22
4.4.5. Extração.....	23
4.4.6. Determinações de piroxicam através de cromatografia líquida de alta eficiência.....	25
4.4.7. Análise farmacocinética.....	26
4.5. Agravamento de úlcera induzida por ácido acetilsalicílico....	29

4.6. Agravamento de úlcera induzida por etanol.....	29
4.7. Determinação de muco na barreira gastroprotetora.....	30
4.8. Análise Estatística.....	31
5. RESULTADOS.....	32
5.1. Complexo piroxicam-zinco.....	32
5.2. Análise elementar e faixa de fusão	34
5.3. Espectrometria de piroxicam e piroxicam-zinco.....	34
5.3.1. Absorção no ultravioleta (UV).....	34
5.3.2. Espectros no infravermelho (IV).....	34
5.4. Solubilidade.....	35
5.5. Determinação do coeficiente de partição em n-octanol-tampão-fosfato.....	35
5.6. Farmacocinética	36
5.6.1. Condições cromatográficas.....	36
5.6.2. Farmacocinética em plasma.....	39
5.6.3. Farmacocinética em linfa.....	39
5.7. Efeito do piroxicam-zinco na mucosa gástrica.....	44
5.7.1. Agravamento de úlcera induzida por ácido acetilsalicílico..	44
5.7.2. Agravamento de úlcera induzida por etanol.....	44
5.7.3. Determinação de muco na barreira gastroprotetora.....	44
6. DISCUSSÃO.....	49
7. CONCLUSÕES.....	57
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
9. ANEXOS.....	75

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1 - Parâmetros farmacocinéticos	27
Tabela 2 – Análise elementar da amostra de piroxicam-zinco.	34
Tabela 3 – Frequência de absorção de piroxicam e piroxicam-zinco no IV.	35
Tabela 4 - Solubilidade de 1mg/mL de piroxicam e piroxicam-zinco em temperatura de 25°C.	35
Tabela 5 – Valores do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$) de piroxicam e piroxicam-zinco.	36
Tabela 6 – Limites de confiança do método de determinação de piroxicam em sangue e linfa de rato.	38
Tabela 7 - Parâmetros farmacocinéticos de piroxicam em plasma de ratos tratados com doses equivalentes de 10 mg/kg de piroxicam ou piroxicam-zinco por via oral.	41
Tabela 8 - Parâmetros farmacocinéticos de piroxicam em linfa de ratos tratados com doses equivalentes de 10 mg/kg de piroxicam ou piroxicam-zinco por via oral.	43
Tabela 9 – Agravamento de úlcera induzida por ácido acetilsalicílico em ratos tratados com ágar-ágar 1,5% (10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg) piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).	45
Tabela 10 – Agravamento de úlcera induzida por etanol em ratos tratados com ágar-ágar 1,5% (10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg) piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).	45
Tabela 11 – Variação de muco e pH do estômago de camundongos após ligadura do piloro seguida por tratamento com ágar-ágar, carbenoxolona, acetato de zinco, piroxicam ou piroxicam-zinco.	46

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1 - Espectro de absorção infravermelho de piroxicam em dispersão de KBr.	80
Anexo 2 - Espectro de absorção infravermelho de piroxicam-zinco em dispersão de KBr.	81
Anexo 3 - Disposição cinética de piroxicam ($\mu\text{g/mL}$) em plasma de ratos após administração de dose de 10 mg/kg de piroxicam por via oral.	82
Anexo 4 - Disposição cinética de piroxicam ($\mu\text{g/mL}$) em plasma de ratos após administração de piroxicam-zinco em dose equivalente a 10 mg/kg de piroxicam por via oral.	83
Anexo 5 - Parâmetros farmacocinéticos de piroxicam em plasma de ratos tratados com doses equivalentes de piroxicam e piroxicam-zinco por via oral.	84
Anexo 6 - Área sob a curva concentração plasmática de piroxicam x tempo após administração oral de piroxicam em ratos.	85
Anexo 7 - Área sob a curva concentração plasmática de piroxicam x tempo após administração oral piroxicam-zinco em ratos.	86
Anexo 8 - Disposição cinética de piroxicam ($\mu\text{g/mL}$) na linfa de ratos após dose de 10 mg/kg de piroxicam por via oral.	87
Anexo 9 - Disposição cinética de piroxicam na linfa de ratos após administração de piroxicam-zinco em dose equivalente a 10 mg/kg de piroxicam por via oral.	88
Anexo 10 - Parâmetros farmacocinéticos de piroxicam em linfa de ratos tratados com doses equivalentes de piroxicam e piroxicam-zinco por via oral.	89
Anexo 11 - Área sob a curva concentração linfática de piroxicam x tempo após administração oral de piroxicam em ratos.	90
Anexo 12 - Área sob a curva concentração linfática de piroxicam x tempo após administração oral piroxicam-zinco em ratos.	91
Anexo 13 – Incidência de lesão gástrica nível 1 (N1) induzida por AAS em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).	93

Anexo 14 – Incidência de lesão gástrica nível 2 (N2) induzida por AAS em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).	93
Anexo 15 – Incidência de lesão gástrica nível 3 (N3) induzida por AAS em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).	94
Anexo 16 – Índice de lesão ulcerativa (ILU) induzido por AAS em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).	94
Anexo 17 – Incidência de úlceras totais (UT) induzida por AAS em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).	95
Anexo 18 – Incidência de lesão gástrica nível 1 (N1) induzida por etanol em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).	95
Anexo 19 – Incidência de lesão gástrica nível 2 (N2) induzida por etanol em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).	96
Anexo 20 – Incidência de lesão gástrica nível 3 (N3) induzida por etanol em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).	96
Anexo 21 – Índice de lesões ulcerativas (ILU) induzidas por etanol em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).	97
Anexo 22 – Úlceras totais (UT) induzida por etanol em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).	97

RESUMO

Vários mecanismos foram propostos para reduzir a toxicidade gástrica dos fármacos antiinflamatórios. A complexação com zinco foi proposta considerando-se o fato de que o zinco possui ação protetora sobre a mucosa gástrica. O complexo piroxicam-zinco apresenta atividades antiinflamatória e analgésica semelhantes às do fármaco livre. No entanto, a modificação de propriedades físico-químicas acarretou alteração do perfil cinético do fármaco. A fim de investigar as diferenças farmacocinéticas, o complexo piroxicam-zinco foi estudado quanto à farmacocinética em sangue e linfa de ratos. Estudaram-se também os efeitos do complexo na mucosa gástrica em comparação com o piroxicam livre em modelos de úlcera induzida por ácido acetilsalicílico e por etanol. Estudos cinéticos foram conduzidos em ratos Wistar machos que receberam doses equivalentes de 10 mg/kg de piroxicam ou piroxicam-zinco por via oral através de sonda de polipropileno. O sangue e a linfa dos animais foram coletados em pequenos intervalos por período de 22 horas. O piroxicam foi extraído das amostras, utilizando-se mistura de cicloexano/éter e as determinações quantitativas feitas através de cromatografia líquida de alta eficiência. Além desses ensaios, testou-se a solubilidade do complexo e determinou-se o coeficiente de partição em n-octanol-tampão fosfato utilizando o método de "shake-flask". Os resultados mostram que o perfil plasmático do complexo piroxicam-zinco é semelhante ao do fármaco livre tanto em sangue quanto em linfa, mostrando, no entanto, absorção mais lenta da forma complexada. Estes dados podem ser explicados pela menor solubilidade do complexo e pela diferença encontrada no coeficiente de partição de piroxicam e piroxicam-zinco. Nos modelos estudados, verificou-se que o piroxicam-zinco não apresenta vantagem sobre a forma livre, no que se refere ao agravamento de úlcera gástrica.

SUMMARY

Several procedures have been proposed for reducing the gastric toxicity of anti-inflammatory drugs. Among them, complexation with zinc has been recommended on the grounds that zinc exerts a protective action on the gastric mucosa. Indeed, zinc-piroxicam complex shows anti-inflammatory and analgesic activities similar to those provided by the free drug. Complexation, however, not only modifies the physico-chemical properties of the free drug, but also alters its kinetic profile. In order to investigate such differences, the pharmacokinetics of zinc-piroxicam complex was studied in the blood and lymph of rats. In addition, the effects of this drug complex on the gastric mucosa, as compared to those of free piroxicam, were studied in ASA- and ethanol-induced ulcer models, and through the determination of mucus in the gastric barrier. Kinetic studies were performed in male Wistar rats receiving equivalent doses (10 mg/kg) of piroxicam or zinc-piroxicam orally by means of a polypropylene probe. Both blood and lymph samples were collected at intervals during a period of 22 hours. Piroxicam was extracted from the samples employing a mixture of cyclohexane/ether, and determinations were performed through HPLC. Solubility of the drug complex was also assessed, and the partition coefficient was determined in n-octanol-phosphate buffer employing the shake-flask method. Results showed the plasmatic profile of zinc-piroxicam complex to be similar to that of the free drug, both in blood and in lymph, although absorption was slower in the complexed form. These results can be explained by low solubility of the zinc-piroxicam and by the differences found for the partition coefficients of piroxicam and zinc-piroxicam. Overall, in the models employed, the use of zinc-piroxicam was not found to be advantageous over that of free piroxicam regarding the aggravation of gastric ulcers.

1. INTRODUÇÃO

Envelhecer de forma saudável é o grande desafio para a humanidade. Com o envelhecimento, várias doenças crônicas se desenvolvem. Nessa faixa etária, o consumo de medicamentos aumenta e também a incidência de efeitos indesejados e os problemas relacionados com a farmacocinética e a farmacodinâmica (TEIXEIRA, 1998).

Estimativas para a população americana mostram que, em 2004, o custo de assistência à saúde com essa faixa etária poderá atingir 50 % do montante nacional dos gastos com saúde (ABRAMS & BEERS, 1998). Outro estudo mostrou que 36% dos idosos apresentavam três ou mais condições crônicas e respondiam por 57% dos gastos totais com medicamentos (MUELLER *et al.*, 1992).

No Brasil, a população idosa é o grupo etário que, proporcionalmente, mais cresce, desde 1940. A projeção de crescimento entre 1960 e 2025 é de 917% (RAMOS *et al.*, 1987), sendo de 160% entre 1980 e o ano 2020 (RAMOS, 1993).

Alguns estudos da utilização de medicamentos apontam o aumento da frequência de reações adversas associadas à elevação da idade do paciente (SILVA, 1989). Desta forma, a preocupação com a incidência de doenças reumáticas tem aumentado, assim como a necessidade de se

obterem medicamentos eficazes, com baixa incidência de efeitos adversos, e mais adequados para utilização durante longo prazo, principalmente para os idosos que se constituem o grupo etário mais atingido por essas patologias.

Embora tenham surgido vários antiinflamatórios novos com alta potência e poucos efeitos colaterais, pode-se afirmar que a irritação gástrica, principalmente no tratamento prolongado, ainda continua sendo uma limitação desse grupo terapêutico.

A úlcera péptica, que inclui tanto a úlcera gástrica quanto a úlcera duodenal, era doença pouco conhecida até o final do século XVIII e, após esse período, passou a ser patologia que acomete populações do mundo inteiro (DAYAL & DELELLIS, 1991). Atualmente, os distúrbios do trato gastrointestinal são tão comuns nos países em desenvolvimento quanto nos industrializados e são considerados doenças associadas a vida moderna. Cerca de 10 % da população em geral desenvolve essa patologia ao longo da vida, sendo que nos países orientais cerca de 10 % a 15 % dos homens e 4 a 15 % das mulheres foram portadores pelo menos uma vez em suas vidas e destes significativa porcentagem evolui para a doença crônica (LEWIS & HANSON, 1991).

A etiologia da úlcera péptica assim como alguns fatores relacionados, tais como, sexo, idade, migração, nível sócio-econômico, variações geográficas e temporais têm sido exaustivamente investigados, a fim de esclarecer a natureza heterogênea da patologia (SONNENBERG, 1985; KURATA, 1989). O desenvolvimento de úlcera péptica na raça humana está relacionado com a presença, na mucosa gástrica, de *Helicobacter pylori*, o tabagismo, o estresse ambiental, os hábitos alimentares e a utilização de antiinflamatórios não-esteróides (AINEs) (LAM, 1994). O uso prolongado de ácido acetilsalicílico e antiinflamatórios não-esteróides, inibidores da síntese de prostaglandinas, é apontado como fator causal da úlcera péptica em indivíduos predispostos (SCHUBERT & SHAMBUREK, 1990).

A primeira hipótese relativa aos efeitos gastrintestinais provocados pelos AINEs foi postulada por DAVENPORT (1964). Foi proposto que

fármacos como ácido acetilsalicílico e indometacina possam apresentar a capacidade de promover a redifusão do ácido clorídrico para a mucosa, aumentando a concentração de íons sódio e alterando a diferença de potencial. Atualmente, aceita-se que a ulceração gástrica é pluricausal. Embora diversos mediadores químicos tenham participação na produção coordenada e na resposta efetiva da mucosa, a influência das prostaglandinas e do óxido nítrico são críticos nesse processo (WALACE & GRANGER, 1996).

Vários fármacos estão disponíveis para o tratamento da úlcera péptica. No entanto, nenhum é capaz de promover 100 % de remissão dos casos, sendo o índice de recidivas bastante elevado (ALPER, 1993). Desta forma, é essencial que se adotem medidas de prevenção, reduzindo os fatores predisponentes que incluem o controle do estresse, a redução do fumo, dietas adequadas e o controle do uso de fármacos AINEs. Nesse contexto, reduzir a toxicidade gástrica desses fármacos reveste-se de grande importância.

Vários autores propuseram recursos visando reduzir a toxicidade gástrica de antiinflamatórios, como modificações na via de administração (LIGUMSKY *et al.* 1990; BENKO *et al.*, 1992; MUELLER *et al.*, 1992) e na forma farmacêutica (AABAKEN *et al.* 1992), além do uso de pró-fármacos (PALACIUS *et al.* 1987; ESTEVE *et al.* 1986) e formação de complexos (CADEL & BONGRANI, 1990, KIMURA *et al.*, 1997; TAGLIATI *et al.*, 1999). Os esforços no sentido de desenvolver antiinflamatórios anti-reumáticos com reduzida gastrotoxicidade são plenamente justificáveis e torna-se igualmente necessária a criteriosa avaliação desses fármacos com o objetivo de se confirmar um benefício real quando comparado aos fármacos que lhe deram origem.

Os efeitos da complexação de indometacina com glicerofosfato de cálcio foram estudados quanto a biodisponibilidade, ulcerogenicidade e atividade antiinflamatória em ratos por EL-MONEN FODA & SAID (1991). Os autores mostraram que a solubilidade do complexo é 5 vezes maior do que a de indometacina, alcançando-se níveis plasmáticos maiores e menor efeito

ulcerogênico sem prejuízo do efeito antiinflamatório. DAVID *et al.* (1995) estudaram complexos de Fe (III) com ácido acetilsalicílico, piroxicam e indometacina, porém há poucos dados sobre a atividade biológica destes complexos. CINI *et al.* (1990) sintetizaram complexos de piroxicam com diversos metais, entre os quais o zinco. Cerca de 60 complexos diferentes foram sintetizados, embora a maioria ainda não tenha sido testada quanto à eficácia antiinflamatória e prevenção de gastrotoxicidade (WHITEHOUSE & WALKER, 1978; SORENSON, 1984; MILANINO *et al.*, 1985).

O piroxicam é um antiinflamatório não esteróide (AINE) de ampla utilização clínica, caracterizado por apresentar ação terapêutica prolongada devida à sua meia-vida biológica de cerca de 45 horas em humanos, alta potência antiinflamatória e boa tolerância gástrica quando comparado a outros AINEs (BRODGEN, 1984; RAINSFORD, 1985).

O complexo piroxicam-zinco foi patenteado por LUO (1994) e estudado por TAGLIATI *et al.* (1999). A utilização deste metal isoladamente tem mostrado efeito protetor sobre a mucosa gástrica (FRASER *et al.*, 1972; FROMMER, 1975; BULBENA *et al.* 1993). TAGLIATI *et al.* (1999) observaram que o piroxicam-zinco mostra atividade antiinflamatória semelhante ao piroxicam porém com menor incidência de lesão gástrica no modelo de úlcera induzida por estresse. Entre os parâmetros farmacocinéticos estudados pelo mesmo autor, apenas o tempo para atingir a concentração máxima ($t_{\text{máx}}$) apresentou diferença entre piroxicam e piroxicam-zinco, mostrando absorção mais lenta deste último.

As propriedades físico-químicas dos fármacos exercem grande influência na sua absorção pelo trato gastrointestinal.. A alteração de tais propriedades pode melhorar a solubilidade frente aos meios e barreiras biológicas e, conseqüentemente, modificar sua biodisponibilidade (SEZEJTLI, 1987; UEKAMA & IRIE, 1990).

Apesar de existir pouca informação a respeito da participação do sistema linfático na absorção e distribuição de fármacos, sabe-se que substâncias com alta lipossolubilidade podem ser absorvidas por esse sistema, sem passar pelas veias intestinais, evitando efeito de primeira

passagem pelo fígado, dirigindo-se posteriormente à circulação sistêmica. SUDO *et al.* (1989) mostraram, em estudo cinético de ácido acetilsalicílico, que o sistema linfático participa no transporte deste fármacos sugerindo que a linfa pode servir como compartimento de reserva temporária.

KIMURA *et al.* (1995) mostraram que o perfil cinético do piroxicam é semelhante no sangue e na linfa. Por outro lado, embora ocorra absorção do piroxicam pelo sangue e pela linfa há, proporcionalmente, maior absorção pelo sistema linfático. Esses mesmos autores observaram que a complexação de piroxicam com β -ciclodextrina faz com que sua absorção seja maior para o sangue do que para a linfa.

A complexação de piroxicam com β -ciclodextrina ou zinco parece não alterar de forma importante suas propriedades antiinflamatórias (KIMURA *et al.*, 1997; TAGLIATI *et al.*, 1999) embora ocorram algumas alterações farmacocinéticas.

Por outro lado, a diminuição dos efeitos gástricos do piroxicam-zinco necessita de maior investigação quanto ao mecanismo da ação protetora do zinco. Faltam também dados a respeito da cinética do complexo em plasma e linfa, assim como não se sabe em que momento se dá a quebra da ligação entre o piroxicam e o metal.

2. OBJETIVOS

2.1. Estudar a cinética de piroxicam-zinco no plasma e na linfa de ratos comparando-a com a do piroxicam livre.

2.2. Comparar os efeitos do piroxicam e do complexo piroxicam-zinco na mucosa gástrica.

3. REVISÃO DA LITERATURA

Piroxicam

O piroxicam (1,1-dióxido de 4-hidróxi-2-metil-N-2-piridil-2H-1,2-benzotiazina-3-carboxamida) foi introduzido como antiinflamatório com propriedades analgésica e antipirética na década de 70. Apresenta-se sob a forma de sólido cristalino branco ou amarelado e possui baixa solubilidade em água, sendo levemente solúvel em álcool e em solução alcalina. Seu pKa é de 6,3 em dioxano-água e faixa de fusão de 197°C a 200°C (WISEMAN *et al.*, 1976).

Embora lentamente, o piroxicam é bem absorvido pelo trato gastrointestinal (TGI) (WISEMAN & CHIANI, 1981). Apresenta concentração máxima ($C_{máx}$) no sangue após 2 a 3 horas após sua administração oral e 5 a 6 horas após administração por via retal em humanos (ISHIZAKI *et al.*, 1979; SCHIANTARELLI *et al.*, 1981; RICHARDSON *et al.*, 1985). Um segundo pico é freqüentemente observado entre 6 a 10 horas, após administração oral, parecendo ser devido à recirculação entero-hepática (De SHEPPER & HEYNEN, 1984). Por isso, a suspensão da posologia por um dia, após administração contínua, não altera a concentração de forma significativa como acontece com a indometacina e o diclofenaco.

A biodisponibilidade do piroxicam quase não sofre influência dos alimentos, embora estes retardem ligeiramente a absorção do fármaco. Segundo ISHIZAKI *et al.* (1979), a $C_{\text{máx.}}$ do piroxicam na presença de alimentos é atingida entre 2,8 e 4,3 horas, após sua administração oral em humanos.

A ligação às proteínas plasmáticas é de 99 % (HOBBS & TWOMEY, 1979). Apesar de apresentar baixo volume aparente de distribuição (0,14 L/kg), o piroxicam é encontrado no líquido sinovial e nos tecidos inflamados. Segundo BRODGEN (1984), em pacientes portadores de artrite reumatóide, osteoartrite e sinovite reativa, a concentração sinovial média é de cerca de 40 % da plasmática.

O piroxicam é metabolizado pelo sistema citocromo P-450 (predominantemente por uma isoenzima da subfamília da CYP2C), sendo a principal via de biotransformação a hidroxilação do anel piridil, dando origem ao 5-hidroxipiroxicam, metabólito inativo, que é a seguir conjugado com o ácido glicurônico. O metabólito e seu conjugado representam cerca de 75 % da dose excretada na urina e fezes, enquanto menos de 5 % são excretados na forma inalterada pela urina (TWOMEY & HOBBS, 1978; WOOLF *et al.*, 1983).

A depuração do piroxicam em humanos varia de 0,13 a 0,15 L/h, sendo que a depuração renal é cerca de 10 % do total. A baixa depuração e a provável recirculação êntero-hepática parecem ser responsáveis por 20 % da concentração efetiva do piroxicam (BENEVISTE *et al.*, 1990), fazendo com que sua meia-vida de eliminação ($t_{1/2\beta}$) seja longa, isto é de 30 a 70 horas (NUOTIO & MAKISARA, 1978; LINGETTI *et al.*, 1980; ROGERS *et al.*, 1981; SHOOG *et al.*, 1981).

O perfil cinético do piroxicam não é influenciado pela dose ou concentração plasmática e parece também não se alterar com a idade ou na presença de insuficiência renal média a moderada do paciente (WOOLF *et al.* 1983).

Complexos com antiinflamatórios

Vários complexos (Quadro 1) têm sido preparados incluindo piroxicam, que apresentam propriedades farmacológicas semelhantes aos fármacos que lhe deram origem mas diferem quanto a farmacocinética e outras propriedades. Boa parte desses complexos, no entanto, ainda não foi avaliada quanto ao real benefício terapêutico.

Quadro 1 – Exemplos de complexos envolvendo antiinflamatórios.

Fármaco	Ligante	Referência
Ácido acetilsalicílico	$\text{Bi}^{3+} \text{Zn}^{2+} \text{UO}_2^{2+}$	BASLAS <i>et al.</i> (1979)
Ácido acetilsalicílico	Zn^{2+}	JIANG <i>et al.</i> (1995)
Piroxicam	$\text{Fe}^{2+} \text{Co}^{2+} \text{Ni}^{2+} \text{Cu}^{2+}$ $\text{Zn}^{2+} \text{Cd}^{2+}$	CINI <i>et al.</i> (1990)
Piroxicam Tenoxicam Isoxicam	$\text{Cu}^{2+} \text{Zn}^{2+} \text{Cd}^{2+}$	MÉNDEZ-ROJAS <i>et al.</i> (1999)
Piroxicam	β -ciclodextrina	ACERBI (1990)
Ácido acetilsalicílico Ácido fenfenâmico Ibuprofeno Cetoprofeno Indometacina	β -ciclodextrina	LIN <i>et al.</i> (1990)

Piroxicam e úlcera gástrica

Os efeitos gástricos, comuns a quase todos os AINEs, limitam a utilização principalmente em pacientes que necessitam de uso continuado. Vários resultados de estudos comparativos têm sido publicados a respeito da toxicidade gástrica desse grupo terapêutico, sem que haja consenso na literatura, devido, principalmente, às diferenças de frequência de uso das populações estudadas. Desta forma, BEGAUD *et al.* (1993) relatam alta incidência de sangramento gástrico em pacientes que usam piroxicam. Outros autores, no entanto, mostram que apenas pequena porcentagem de pacientes que usam piroxicam abandona a terapia devido aos problemas gástricos. Análise de dados referentes a 73.000 pacientes que receberam piroxicam mostrou que 14% relataram distúrbios gastrintestinais, sendo que aproximadamente 3,4% dos pacientes deixaram de usar o medicamento (WISEMAN, 1985). A tolerabilidade local e sistêmica de formulação parenteral de piroxicam (25 mg) intramuscular foi comparada, em estudo duplo cego com diclofenaco (75 mg) em voluntários sadios. Os resultados mostraram que o piroxicam possui melhor tolerabilidade quando comparado com o diclofenaco sódico, que é o mais usado por via parenteral (VACCARINO *et al.*, 1989).

Segundo CARMONA *et al.* (1992), 27% dos pacientes com intolerância a dois ou mais AINEs apresentaram reação ao piroxicam e aqueles que tinham intolerância a apenas um AINE reagiram bem ao piroxicam.

Para melhor compreender os mecanismos de agressão da mucosa gástrica por AINEs, é necessário compreender a fisiologia do trato digestivo e os mecanismos de defesa da mucosa gástrica.

Fisiologia do trato gastrointestinal

O trato gastrointestinal é constituído pelo tubo digestivo e suas glândulas secretoras anexas, sendo responsável pela digestão e absorção dos nutrientes encontrados na dieta, funcionando ao mesmo tempo, como barreira seletiva de proteção entre os meios externo e interno (SANIOTO, 1991).

O estômago pode ser anatômica e funcionalmente dividido em quatro regiões revestidas por mucosa: cárdia, fundo, corpo e antro (KUTCHAI, 1996). A mucosa gástrica, por sua vez, é constituída por uma série de depressões e glândulas (WOLFE & SOLL, 1988). Nas depressões estão as células epiteliais superficiais, enquanto que a porção glandular contém as células mucosas cervicais, células parietais, pépticas ou principais e algumas células endócrinas (DOCKRAY *et al.*, 1996).

As células parietais, secretoras de ácido clorídrico, e as células principais, secretoras de pepsinogênio, estão localizadas primariamente no fundo e no corpo, enquanto que as células secretoras de gastrina estão no antro. O estômago de um ser humano normal contém aproximadamente um bilhão de células parietais ou oxínticas (SACHS *et al.*, 1994; WOLFE & SOLL, 1986).

O suco gástrico normal é uma mistura da secreção parietal, ácido clorídrico e fator intrínseco, e de secreções não parietais como muco, bicarbonato, íons sódio e potássio e pepsinogênio (KUTCHAI, 1996). Os mecanismos moleculares da secreção de ácido clorídrico pela célula parietal iniciam-se através do estímulo de proteínas específicas de membrana por seus respectivos agonistas (acoplamento agonista-receptor), os quais são responsáveis por desencadear uma cascata de alterações bioquímicas intracelulares que irão, subsequente, promover a secreção da célula parietal (SACHS *et al.*, 1994; HIRSCHOWITZ *et al.*, 1995). Algumas substâncias endógenas constituem os agonistas responsáveis por estimular a célula parietal a secretar ácido clorídrico, tais como, acetilcolina, gastrina e histamina.

A acetilcolina que atua sobre receptores muscarínicos, provavelmente M_3 , é liberada por neurônios eferentes vagais e estimula a secreção ácida da célula parietal por elevar os níveis intracelulares de Ca^{2+} . Sua liberação está associada a estímulos provenientes do olfato, visão, paladar ou mastigação e ainda, aqueles provenientes do estímulo de neurônios locais da parede gástrica através da distensão das paredes do estômago com a chegada do alimento (HIRSCHOWITZ *et al.*, 1995; KUTCHAI, 1996).

A gastrina, estimulando receptores CCK-B da célula parietal, induz o aumento da secreção ácida através do aumento dos níveis intracelulares de Ca^{2+} , assim como a acetilcolina. Acredita-se que a gastrina seja secretada quando há presença nos alimentos de proteínas, Ca^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} , além da estimulação vagal e da alcalinização do antro (DOCKRAY *et al.*, 1996; KUTCHAI, 1996).

A histamina é liberada através de um mecanismo parácrino pelas células ECL existentes na lâmina própria do estômago e dispostas em íntimo contato com as células parietais; sua liberação, e atuação em receptores H_2 , promove o aumento da secreção ácida por elevar os níveis intracelulares de AMPc (DOCKRAY *et al.*, 1996; SANDOR *et al.*, 1996).

Os mecanismos celulares envolvidos com a secreção ácida iniciam-se com os estímulos proporcionados pelos agonistas citados acima, que atuam sinergicamente conferindo elevada eficiência a este processo fisiológico. Inicialmente, na célula parietal há efluxo do íon cloreto e, com o intuito de assegurar a neutralidade no lúmen gástrico, o íon potássio o acompanha por difusão. Esta etapa de fornecimento de potássio a superfície extracelular é imprescindível para a secreção ácida pela célula parietal.

Várias H^+/K^+ ATPases localizadas em túbulos ou vesículas citoplasmáticas, após o estímulo, fundem-se com a membrana plasmática na superfície luminal das células parietais. Esta fusão aumenta a área de superfície canicular pela formação de microvilos. As H^+/K^+ ATPases, atuam como bombas de prótons na etapa final da secreção de íons H^+ em troca dos íons K^+ , assim sendo, os íons H^+ e Cl^- formam uma solução ácida

extremamente importante às funções do estômago (LIND et al, 1983; HIRSCHOWITZ *et al.*, 1995).

Mecanismo de proteção da mucosa gástrica

Vários mecanismos são considerados importantes na proteção da mucosa gástrica e duodenal contra a agressão causada por ácido clorídrico, pepsina, bile, enzimas pancreáticas e outros fatores agressivos. Dentre os fatores protetores são considerados como importantes muco, bicarbonato, fluxo sangüíneo, somatostatina e prostanóides.

O muco constitui-se num gel formador de fino revestimento protetor sobre as células superficiais da mucosa com múltiplas funções. É constituído de diversas glicoproteínas que recebem, em conjunto, o nome de mucinas possuindo aspecto viscoso. A atividade do muco se resume em proteger a mucosa contra as forças mecânicas da digestão, retendo água e diminuindo a difusão de íons H^+ da luz para membrana apical das células parietais, além de lubrificar a superfície gástrica (FORTE, 1986).

A proteção da mucosa gástrica não depende somente do controle da secreção ácida gástrica. Necessita também de secreção adequada de muco e de bicarbonato pelas células mucosas cervicais e superficiais do epitélio. Estas secreções são estimuladas por diversos fatores e formam a chamada “barreira mucoprotetora” que protege a mucosa contra injúrias produzidas por ácido e pepsina (WALLACE & GRANGER, 1996; SANIOTO, 1991; KUTCHAI, 1996). O bicarbonato é secretado pelas células superficiais do estômago e pelas glândulas de Brûner do duodeno permanecendo em grande parte, abaixo ou na camada mucosa. Deste modo, a superfície mucosa fica em contato com o líquido que contém pH elevado em relação à luz do estômago que, em condições normais, irá neutralizar os íons H^+ , enquanto difunde-se através da camada de muco estabelecendo-se um gradiente de pH entre a luz e as células epiteliais. O bicarbonato em altas concentrações alcaliniza o muco que neutraliza o ácido luminal (WALLACE & GRANGER, 1996; SANIOTO, 1991; KUTCHAI, 1996).

As mucosas gástrica e intestinal são supridas por capilares ramificados que atravessam a área glandular do estômago e do duodeno. Extenso plexo de artérias e veias, localizado na camada submucosa, regula o suprimento sangüíneo para as células epiteliais superficiais, o que é muito importante para a integridade da mucosa (TABATA *et al.*, 1996; WALLACE & GRANGER, 1996).

A somatostatina constitui outro secretagogo importante nas células D que estão localizadas no pâncreas e na mucosa do fundo e do antro gástrico sendo responsáveis pela inibição da função secretora das células ECL e células G e de gastrina (SACHS *et al.*, 1994). Desta forma, sugere-se que a regulação da secreção ácida pelas células endócrinas gástricas envolve controle de retroalimentação positiva e negativa relacionada a células G, ECL e D (HIRSCHOWITZ *et al.*, 1995; SACHS *et al.*, 1994).

Vários autores demonstraram a presença de prostaglandinas no estômago e a sua importância na regulação fisiológica do estômago. PGE₁, PGE₂, PGA₁, bem como análogos das PGE₂, são responsáveis pela inibição da secreção gástrica, enquanto que principalmente na mucosa gástrica e intestinal são responsáveis pela secreção de muco e bicarbonato e pelo aumento do fluxo sangüíneo da mucosa. Em conjunto, estes prostanóides atuam na prevenção da formação de úlceras gastrointestinais e auxiliam no processo de cicatrização das lesões já existentes (EBERHART & DUBVOIS, 1995; TABATA *et al.*, 1996).

Vários fatores contribuem para a atividade citoprotetora das prostaglandinas, tais como, a estimulação da secreção de muco e bicarbonato (EBERHART & DUBOIS, 1995), a manutenção do fluxo sangüíneo gástrico adequado durante a exposição a algum agente irritante (GUTH *et al.*, 1984; EBERHART & DUBOIS, 1995) e a inibição da liberação de mediadores armazenados nos mastócitos durante a resposta inflamatória (HOGABOAM *et al.*, 1993; EBERHART & DUBOIS, 1995).

As funções vasodilatadoras e protetoras da mucosa gástrica das prostaglandinas têm sido extensivamente documentadas e estudadas (GISLASON *et al.*, 1995; WHITLLE & VANE, 1987). Segundo SOLL (1986) e

CURTIS *et al.* (1995), as prostaglandinas, além de exercerem um importante papel na manutenção da integridade da mucosa gástrica, são também capazes de modular a secreção ácida gástrica.

Úlcera Péptica

Acredita-se atualmente que alguns fatores predisponentes atuem coletivamente, reduzindo a defesa da mucosa gástrica que pode ser acometida pela úlcera péptica (HIRSCHOWITZ, 1995). Alguns autores afirmam que estas são resultantes de desequilíbrio entre os fatores defensivos da mucosa que representam forças de resistência ao suco gástrico como as secreções de muco e bicarbonato e aqueles agressivos, como por exemplo, a secreção de ácido, de pepsina e de fator intrínseco, que levam à sua lesão (KATSURA *et al.*, 1991; SZABO *et al.* 1995).

Desde que a secreção ácida foi descrita, tornou-se evidente que, de alguma forma, o excesso de ácido no estômago é nocivo, além de principal responsável pela maioria das disfunções que afetam este órgão e também seus adjacentes, principalmente esôfago e duodeno. Entretanto, sabe-se que a secreção ácida e sua regulação não podem ser considerados como os únicos fatores responsáveis pela úlcera péptica. O processo ulcerativo é complexo e exhibe múltiplas facetas, as quais devem ser analisadas (WOLFE & SOLL, 1988; SACHS *et al.*, 1994).

Outros mecanismos envolvidos na etiologia da úlcera péptica incluem o refluxo do conteúdo duodenal que pode ulcerar a mucosa uma vez que as células epiteliais da mucosa gástrica apesar de resistir a um pH de 2 não são resistentes aos ácidos biliares que rapidamente rompem a barreira gástrica mucoprotetora (SANIOTO, 1991; WALLACE & GRANGER, 1996; KUTCHAI, 1996).

O esvaziamento gástrico acelerado pode levar a úlceras duodenais porque, apesar de bastante resistente aos ácidos biliares, a mucosa duodenal não apresenta resistência ao ácido gástrico, o qual não teve tempo de ser adequadamente neutralizado (DAYAL & DELELLIS, 1991; SANIOTO, 1991; KUTCHAI, 1996).

Se a secreção de muco e bicarbonato for suprimida, a barreira citoprotetora da mucosa gástrica fica comprometida e os efeitos do ácido clorídrico e da pepsina sobre a superfície do estômago podem produzir úlceras (BARON *et al.*, 1986; CURTIS *et al.*, 1995; TARNAWSKI *et al.* 1995; KUTCHAI, 1996; WALLACE & GRANGER, 1996).

Agonistas alfa-adrenérgicos como a noradrenalina, além de produzirem vasoconstrição impedindo a retirada do ácido coletado, contraem os esfíncteres (o que retém o ácido no estômago) e diminuem a secreção de bicarbonato. Essa redução de bicarbonato pode levar a diminuição da citoproteção e, portanto, aumento da incidência de úlceras (SANIOTO, 1991; KUTCHAI, 1996).

Tratamento da úlcera péptica

Até 1970, a única solução terapêutica para a úlcera péptica era a cirurgia. Dentre os primeiros fármacos utilizados estão os antiácidos que neutralizam o ácido clorídrico. O hidróxido de alumínio e de magnésio são os agentes mais empregados. O hidróxido de alumínio tem a vantagem adicional de estimular a secreção de muco (CASPARY, 1982), ambos com o inconveniente de alcalinizarem o pH gástrico e, portanto, deixarem o estômago suscetível a infecções, como aquelas causadas por *Helicobacter pylori*.

BLACK *et al.*, em 1972, relataram os resultados obtidos utilizando fármacos que antagonizam seletivamente os receptores H₂ da histamina. Estes fármacos inibem tanto a secreção ácida gástrica estimulada pela histamina como aquela induzida pela gastrina e, em menor grau, pelos agonistas muscarínicos (POWELL & DONN, 1984). Os principais representantes deste grupo de fármacos são a cimetidina e a ranitidina (BROGDEN *et al.*, 1982).

Mais tarde foram desenvolvidos fármacos análogos de prostanóides com atividade citoprotetora como o misoprostol, que além de inibir a secreção ácida, estimula a secreção de muco e bicarbonato (MONK & CLISSOLD, 1987).

Ainda na década de 80 surgiram os inibidores da bomba protônica H^+/K^+ ATPase. A substância padrão deste grupo de fármacos, o omeprazol, é capaz de inibir a secreção ácida por inativação da bomba através de ligações de dissulfeto das moléculas reagentes do omeprazol com a enzima (SACHS *et al.*, 1994; HIRSCOWITZ *et al.*, 1995).

Concomitantemente ao desenvolvimento do omeprazol surgiu a pirenzepina, um antagonista seletivo do receptor muscarínico M_1 , que também contribuiu para o tratamento da úlcera péptica, com efeitos colaterais pouco pronunciados. Contudo, a redução da secreção basal de ácido clorídrico utilizando-se estes fármacos pode chegar a valores entre a 40 a 50% da secreção normal (TEXTER & REYLLY, 1982; BALDI *et al.*, 1983). No entanto, o receptor muscarínico que parece estar diretamente relacionado à secreção gástrica e ao desenvolvimento de lesões, é o receptor do tipo M_3 (EHLERT *et al.*, 1999).

Outros agentes utilizados no tratamento da úlcera péptica incluem os colóides utilizados nos distúrbios gastrintestinais (compostos bismúticos), os quais causam o deslocamento do *Helicobacter pylori* do epitélio gástrico, com conseqüente lise da bactéria (BIANCHI PORRO *et al.*, 1986; ELDER, 1986). Outro fármaco utilizado é a carbenoxolona que altera a composição do muco e aumenta sua secreção, reforçando a proteção da mucosa contra a difusão ácida. Este fármaco é obtido a partir do extrato de *Glycyrrhiza glabra* ou alcaçuz e aumenta síntese de glicoproteínas, além de inibir as enzimas que inativam as prostaglandinas e suprimir a ativação de pepsinogênio (BARROWMAN & PFEIFFER, 1982). No entanto, a atividade mineralocorticoide é uma limitação para seu uso, tendo maior aplicação em modelos experimentais.

Atualmente, para o tratamento das lesões ulcerativas causadas pelo *H. pylori*, e visando também sua erradicação, são associados aos antissecretores e citoprotetores, fármacos como amoxicilina e metronidazol (MAKINO *et al.*, 1998).

Por outro lado, o efeito de compostos de zinco no tratamento de úlcera gástrica foi mostrada por vários autores (FRASER *et al.*, 1972; FROMMER, 1975).

BULBENA *et al.* (1993) comprovaram a eficácia do pré-tratamento com acexamato de zinco no desenvolvimento de úlcera gástrica induzida por piroxicam, indometacina ou diclofenaco. Resultados semelhantes foram obtidos com aspirina. O mecanismo de ação do zinco como protetor gástrico parece estar relacionado com o aumento de síntese de PGE₂, aumentando desta forma, a produção de muco e mantendo a integridade da barreira gástrica (BRAVO *et al.*, 1990).

Sistema linfático e sua importância fisiológica e fisiopatológica

O sistema linfático desempenha importante função na remoção e transporte de excesso de líquido e proteínas plasmáticas extravasadas, remove também células mortas, bactérias e macromoléculas do sítio de lesão, além de participar ativamente na resolução da reação inflamatória. Existem evidências de que substâncias lesivas podem ser transportadas para a circulação sangüínea, via ducto torácico, durante instalação de reação inflamatória.

Foi relatado por DUMONT & WITTE (1969) que toxinas de alto peso molecular são transportadas para o sangue via sistema linfático. Experimentos realizados em ratos mostram que toxinas obtidas de serpentes, injetadas no tecido subcutâneo, atravessam o ducto torácico antes de atingir o leito sangüíneo (BARNES & TRUETA, 1941). Estes autores também verificaram que venenos de cobra, com peso molecular acima de 20.000 daltons, não eram absorvidos do local de injeção, quando os vasos linfáticos eram obstruídos. MAY & WHALER (1958) administraram a ratos dose letal de toxinas de *Clostridium botulinum*, por via oral, e verificaram que elas eram transportadas para a circulação sangüínea exclusivamente através dos vasos linfáticos e ducto torácico; além disso,

observaram também que era possível prevenir a morte desses animais pela canulação do ducto torácico. Esses resultados, portanto, sugerem que a canulação ou a obstrução do ducto torácico de pacientes expostos a estes e outros agentes similares pode ser um meio de limitar seus efeitos tóxicos (DUMONT & WITTE, 1969).

Muitas evidências sugerem que células tumorais freqüentemente disseminam-se através dos canais linfáticos. CARR *et al.* (1980) demonstraram que células de carcinoma de Walker disseminam-se através da linfa, acumulando-se nos linfonodos.

Os derivados do ácido araquidônico parecem possuir efeito sobre a regulação linfática (JOHNSTON *et al.*, 1981). Utilizando o sistema do mesentério bovino isolado, foi demonstrado que PGE₂ e PGI₂ são capazes de inibir a atividade linfática (HANLEY *et al.*, 1989), sugerindo que este efeito inibitório sobre a drenagem linfática poderia contribuir para a formação de edema na inflamação. Da mesma forma, PGH₂ e TXA₂ têm efeito estimulatório sobre a atividade linfática (ELIAS & JOHNSTON, 1988), sugerindo que a formação local dessa substância, na inflamação e outras lesões, pode atuar para melhorar a drenagem linfática e interferir na formação de edema. Além disso, a sugestão de que ocorre metabolização do ácido araquidônico nos vasos linfáticos (ITO *et al.*, 1989) reforça a hipótese de que esses metabólitos desempenham papel importante na modulação da atividade linfática.

Foi também mostrado que a resistência dos vasos linfáticos prenodais (linfáticos iniciais) da pata do cão é estimulada por PGE₁, PGE₂, PGF_{2α} e ácido araquidônico. Especula-se que o efeito constritor, nesta região, poderia contribuir para as propriedades edematogênicas das prostaglandinas liberadas localmente (DABNEY *et al.*, 1991).

A transferência de antiinflamatórios não-esteróides (AINEs) para a linfa foi demonstrada por SUDO *et al.* (1989) em estudo cinético do ácido acetilsalicílico. Estes autores mostraram que o ácido acetilsalicílico tende a se depositar na linfa que funciona como um reservatório do fármaco. A

presença desses fármacos na linfa reveste-se de importância por sua influência sobre os efeitos antiinflamatórios e a modulação da contratilidade dos vasos linfáticos (OELKERS, 1996). Além disso, os vasos linfáticos que drenam os tecidos inflamados podem funcionar como sítio de ação do fármaco.

Sabe-se que fármacos lipofílicos são parcialmente absorvidos pelo sistema linfático intestinal após administração oral (SHARGEL & YU, 1993). OELKERS *et al.* (1996) estudaram a transferência de diferentes AINEs para o sistema linfático de ratos e relacionaram a absorção linfática com a lipossolubilidade e a capacidade de inibição da cicloxigenase.

KIMURA *et al.* (1997) observaram que o piroxicam é absorvido pelo sistema linfático mais rapidamente do que pelo sangue e suas concentrações na linfa são maiores do que no plasma.

O significado clínico desses trabalhos ainda necessita de outras investigações, assim como é necessário estudar a relação entre propriedades físico-químicas do fármaco e transferência para o sistema linfático visto que a absorção linfática após administração oral evita o efeito de primeira passagem e pode acrescentar informações mais completas a respeito da farmacocinética .

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Preparação e caracterização de piroxicam-zinco

O complexo piroxicam-zinco foi preparado no laboratório do Prof. Dr. Michael S. Nothenberg (Departamento de Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP – FCF-USP), baseado na metodologia descrita por CINI *et al.* (1990).

Dissolveram-se 1325,4 mg (4 mM) de piroxicam em cerca de 150 mL de etanol, a quente, com auxílio de agitador magnético, em balão de fundo redondo com 500 mL de capacidade. Obtida a dissolução, caracterizada pela formação de solução límpida, de cor amarela, adicionaram-se à solução 439 mg de acetato de zinco diidratado (2 mM) previamente dissolvidos em cerca de 50 mL de etanol. Produziu-se quase imediata turvação da solução causada pela formação de precipitado de cor amarelo clara. Deixou-se a mistura sob refluxo durante cerca de 60 minutos. Em seguida, procedeu-se a filtração da mistura e lavagem do resíduo amarelo com ao menos quatro porções de 15 mL de álcool previamente aquecido. O resíduo foi seco em estufa a cerca de 105 °C durante três horas e pesado, permitindo o estabelecimento do rendimento.

A análise elementar foi realizada na Central Analítica do Instituto de Química da USP-SP. Foram obtidos espectros de absorção no ultravioleta

(UV) (aparelho Celm), utilizando solução em metanol, e no infravermelho (IV) (aparelho Bomem série MB), utilizando dispersão em KBr. Os dados obtidos foram comparados com os dados de referência da literatura (MÉNDEZ-ROJAS et al., 1999).

A faixa de fusão de piroxicam-zinco foi obtida usando-se equipamento da Microquímica, Modelo MQAPF-301.

4.2. Solubilidade

Determinou-se a solubilidade do piroxicam-zinco em comparação com a do piroxicam, em concentração de 1 mg/mL e temperatura de 25 °C, utilizando-se os seguintes solventes: água, metanol, clorofórmio, éter, dimetilsulfóxido (DMSO), solução de metanol acidificada com ácido ortofosfórico (pH 3,0) e metanol/DMSO.

4.3. Coeficiente de partição n-octanol-tampão fosfato

Os valores dos coeficientes de partição foram determinados, em sistema n-octanol-tampão fosfato, através do método de "shake-flask", conforme descrito por AMARAL *et al.* (1997), em valores de pH 5,0 e 7,4. Após a partição, as concentrações foram determinadas em UV no comprimento de onda de 360 nm. As determinações foram realizadas sob a supervisão da Prof. Dra. Antonia Tavares do Amaral no Instituto de Química da Universidade de São Paulo.

4.4. Farmacocinética de piroxicam

4.4.1. Animais. Utilizaram-se ratos Wistar, machos, adultos, pesando em média 280 g, procedentes do Biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, mantidos com água e ração *ad libitum* e ciclo claro-escuro de 12 h.

4.4.2. Tratamentos. Os animais foram tratados por via oral através de cânula de polipropileno, com 10 mg/kg de piroxicam ou piroxicam-zinco, em dose equivalente de piroxicam, usando-se como veículo solução aquosa de carboximetilcelulose a 10%, após jejum de 17 horas.

4.4.3. Coleta de sangue. As amostras de sangue foram obtidas da veia jugular após canulação de acordo com a técnica de UPTON (1975). Sob anestesia com éter, foram feitas tricotomia e anti-sepsia com solução alcoólica de iodo a 2% em cerca de 1 cm² da região cervical ântero-lateral direita do animal, seguida por incisão longitudinal, separação dos tecidos e isolamento da veia jugular com auxílio de fios de sutura de algodão. Após uma pequena incisão na veia, foi introduzido um catéter (100 mm de comprimento - Silastic - Dow Corning) até uma profundidade de 2 cm em direção ao coração e fixado à parede interna do vaso, tomando-se o cuidado para não obstruir o fluxo sangüíneo. A outra extremidade do catéter foi fechada com um pino de aço inox e conduzida subcutaneamente até a região dorsal do pescoço, sendo exteriorizada através de uma pequena incisão na pele. Após a cirurgia os animais foram mantidos em caixas individuais com água e ração *ad libitum*.

As amostras de sangue foram colhidas em volume constante de 0,35 mL, com auxílio de seringa hipodérmica heparinizada, nos tempos 1, 2, 4, 6, 10 e 22 horas após a administração dos fármacos. Após cada coleta, o mesmo volume de solução salina estéril foi injetado para reposição de volume. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos e o plasma armazenado a -20 °C até a extração.

4.4.4. Coleta de linfa. As amostras de linfa foram obtidas através de canulação do ducto torácico de acordo com técnica de BOLLMAN (1948). Para visualização do ducto linfático foi administrado 0,5 mL de óleo vegetal, por via oral, 30 minutos antes da cirurgia. Foi feita tricotomia e anti-sepsia de toda a região abdominal, abaixo do rebordo costal esquerdo. O abdômen foi aberto, após anestesia com éter etílico, através de uma incisão transversal

de aproximadamente 5 cm de altura do rebordo costal esquerdo, expondo todas as estruturas internas que foram cuidadosamente afastadas até a visualização da região do sistema linfático (ducto torácico) posterior a artéria aorta. O ducto foi dissecado e isolado com auxílio de fio de sutura de algodão. Através de uma pequena incisão foi introduzido um catéter (Silastic®Dow Corning) preenchido com solução salina heparinizada (50 UI/mL). O catéter foi fixado no ponto de inserção e sobre a massa muscular da parede abdominal posterior, sendo exteriorizado através do ponto lateral da incisão inicial. Os tecidos foram suturados e, após recuperação da anestesia, os animais foram mantidos em caixas especiais de contenção construídas segundo BOLLMAN (1948), permitindo-lhes acesso a alimento e água *ad libitum*.

Imediatamente após o término da cirurgia, os animais receberam solução de Krebs-Ringer (2,0 mL , p.o.) e heparina (100 UI s.c.). A extremidade livre do catéter permaneceu aberta, permitindo livre fluxo de linfa para os frascos coletores contendo 0,5 mL de tampão fosfato e 50 UI de heparina. As amostras foram coletadas em períodos contínuos de 1, 2, 4, 6, 12 e 22 horas, após administração p.o. dos fármacos, sendo armazenadas em congelador a -20° C, até o momento da extração.

4.4.5. Extração

O piroxicam do plasma e da linfa foi extraído usando-se 100 µL de amostra, 100 µL de ácido ortofosfórico 6 N, 2,5 mL de éter e 2,5 mL de ciclohexano. Os tubos foram agitados em Vórtex por 1 minuto, procedendo-se, em seguida, a separação das fases. Recuperaram-se 4,5 mL da fase orgânica que foi evaporada sob fluxo de nitrogênio (Esquema 1).

Esquema 1 - Extração de piroxicam das amostras de plasma e linfa.

4.4.6. Determinações de piroxicam através de cromatografia líquida de alta eficiência

As determinações de piroxicam foram feitas de acordo com o método descrito por TSAI & HUANG (1989) utilizando-se cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu LC-10, coluna Phenomenex (Lichrosphere 5RP18 250 X 4,60 mm) e detector UV. As leituras foram feitas em 360 nm, com fluxo de 1mL/min. A aquisição de dados e a integração dos picos foram feitas pelo Sistema Class-LC10 Shimadzu.

Como fase móvel, foi utilizada uma mistura de acetonitrila:água miliQ, 60:40, com pH 3,6 ajustado com ácido ortofosfórico. As soluções-mãe de tenoxicam (padrão interno) e piroxicam foram preparadas em metanol na concentração de 1 mg/mL.

Especificidade. Para determinar a especificidade do método, ou seja, a capacidade de separação e identificação de piroxicam em relação aos possíveis interferentes do material biológico foram realizados os seguintes ensaios:

- Análise individual de padrões de piroxicam.
- Branco de solvente em duplicata para se verificar a interferência do solvente usado para ressuspender as amostras.
- Análise de plasma ou linfa brancos adicionados de padrões de piroxicam e tenoxicam.

Linearidade. Para avaliar a linearidade oferecida pelo método, construíram-se curvas de calibração com concentração de 0,1 a 10 µg/mL de piroxicam e 5 µg/mL de tenoxicam. As curvas foram obtidas em análises, em duplicata, colocando-se no eixo das abcissas as concentrações dos padrões e no eixo das ordenadas a relação de áreas obtidas dos picos cromatográficos de piroxicam (padrão) e tenoxicam (padrão interno).

Reprodutibilidade. Para determinação do coeficiente de variação intra-dia, foram feitas 10 injeções de uma mesma solução contendo piroxicam e tenoxicam durante um dia de trabalho, em pelo menos 3 dias diferentes. Para determinação do coeficiente de variação inter-dia foram comparadas 3 injeções da mesma solução durante 7 dias.

Porcentagem de extração. Para determinação da porcentagem de extração foram comparadas curvas de calibração com e sem extração.

4.4.7. Análise farmacocinética

Os parâmetros farmacocinéticos foram calculados de acordo com RITSCHHELL (1989) e GIBALDI (1991), a partir da curva de decaimento exponencial da concentração em função do tempo, considerando-se modelo monocompartimental aberto (Figura 1) conforme as expressões apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Parâmetros farmacocinéticos.

Parâmetro		Descrição	Equação
C	$\mu\text{g.mL}^{-1}$	Concentração	Dado obtido
$C_{\text{máx}}$	$\mu\text{g.mL}^{-1}$	Concentração máxima	Dado obtido
$t_{\text{máx}}$	h	Tempo para atingir a concentração máxima	Dado obtido
k_{ab}	h^{-1}	Constante de absorção	$\frac{\ln C^1 - \ln C^2}{t^1 - t^2}$
k_{el}	h^{-1}	Constante de eliminação	$\frac{\ln C^3 - \ln C^4}{t^3 - t^4}$
$t_{(1/2)\text{ab}}$	h	Meia-vida de absorção	$0,693 \div K_{\text{ab}}$
$t_{(1/2)\text{el}}$	h	Meia-vida de eliminação	$0,693 \div K_{\text{el}}$
$\text{ASC}_{0-\infty}$	$\mu\text{g.mL}^{-1}.\text{h}^{-1}$	Área sob a curva	Método trapezóide
Cl_{total}	$\text{L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$	Depuração total	$\text{Dose} \div \text{ASC}$
Vd	L.kg^{-1}	Volume de distribuição	$\text{Cl} \div K_{\text{el}}$

F = fração da dose absorvida C = concentração plasmática
 $C.E.$ = compartimento externo V_d = volume de distribuição
 K_{ab} = constante de absorção k_{el} = constante de eliminação
 $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ = área sob a curva

Figura 1 – Modelo cinético monocompartimental.

4.5. Agravamento de úlcera produzida por ácido acetilsalicílico

Este ensaio foi realizado baseado no método descrito por HEMATTI *et al.* em 1973. Utilizaram-se ratos Wistar machos, com peso médio de aproximadamente 300 g, submetidos a jejum de 24 horas e mantidos em gaiola especial, sem maravalha.

Os animais receberam, por via oral, piroxicam ou piroxicam-zinco em dose equivalente de 10 mg/kg de piroxicam através de cânula de polipropileno. Os grupos controles foram tratados com ágar-ágar 1,5% (10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg) ou acetato de zinco (2,74 mg/kg). O ácido acetilsalicílico, foi administrado na dose de 400 mg/kg, por via oral após 2 horas.

Após 4 horas, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e os estômagos retirados e abertos no sentido da maior curvatura. As lesões ulcerativas foram contadas e classificadas, recebendo pontuação de acordo com a extensão da área lesada (+ pequena, até 1 mm; ++ média, de 1 a 3 mm e +++ grande, > 3 mm).

O índice médio de lesões (IML) foi calculado de acordo com SZELENYI E THIEMER (1978) utilizando-se a seguinte expressão (1).

$$IML = \frac{(3.N3) + (2.N2) + (1.N1)}{\text{Número de animais}} \quad (1)$$

Número de animais

N3 = n° de úlceras +++

N2 = n° de úlceras ++

N1 = n° de úlceras +

4.6. Agravamento de úlcera induzida por etanol

As lesões ulcerativas foram induzidas por etanol 99,5% em ratos Wistar machos, com peso médio de aproximadamente 300 g, submetidos a

jejum de 48 horas, mantidos em gaiola especial sem maravalha, conforme descrito por MORIMOTO *et al.* (1991).

Os animais foram tratados por meio de cânula de polipropileno com piroxicam ou piroxicam-zinco em doses equivalentes a 10 mg/kg de piroxicam. Os grupos controles foram tratados com ágar-ágar 1,5% (veículo), cimetidina (100 mg/kg) ou acetato de zinco (2,74 mg/kg). Os tratamentos foram realizados 2 horas antes da administração de 1mL de etanol absoluto, também administrado por via oral. Após 1 hora da administração do etanol os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e os estômagos retirados e abertos no sentido da maior curvatura. As lesões ulcerativas foram contadas e classificadas, recebendo pontuação conforme descrito no item 4.5. Da mesma forma, os resultados foram expressos como índice médio de lesões (IML) de acordo com SZELENYI E THIEMER (1978).

4.7. Determinação de muco na barreira gastroprotetora

Este ensaio foi realizado de acordo com o método de CORNE *et al.* (1974) com modificações. Utilizaram-se camundongos (*Mus musculus*) Swiss machos, com peso médio de aproximadamente 30 g submetidos a jejum de 18 horas antes da ligadura do piloro, sendo mantidos em gaiola especial sem maravalha.

Os animais foram submetidos à anestesia com éter etílico, sendo realizada uma tricotomia da região cirúrgica e incisão logo abaixo do apófise xifóide do esterno, em sentido longitudinal ao corpo do animal. Após localização do estômago, identificou-se o piloro e procedeu-se sua ligadura, suturando-se em seguida a incisão. Os tratamentos foram feitos por via intraduodenal, durante a cirurgia, com piroxicam ou piroxicam-zinco em doses equivalentes de 10 mg/kg de piroxicam, ágar-ágar a 1,5% (10 mL/kg), carbenoxolona (200 mg/kg) ou acetato de zinco (2,74 mg/kg).

Quatro horas após, os animais foram sacrificados com éter etílico, abrindo-se novamente o mesmo local da cirurgia anterior. O estômago foi retirado e imerso em solução salina para lavagem externa. Em placa de

Petri, abriu-se o estômago ao longo da curvatura maior e determinou-se o pH da secreção gástrica.

Os segmentos glandulares do estômago foram transferidos para solução de *Alcian blue* 0,1% e corados por duas horas. O excesso de corante foi removido lavando-se por duas vezes sucessivas durante 15 minutos e 45 minutos com 7 mL de sacarose 0,25 mol/L. O corante complexado com a parede do estômago foi extraído com 5 mL de cloreto de magnésio (0,5 mol/L) agitando-se intermitentemente por 1 min. a cada 30 min. durante 2 horas. A solução sobrenadante azul obtida foi misturada com 4 mL de éter etílico com vigorosa agitação e submetida a centrifugação à 3600 rpm por 10 min. para separação das fases. Na fase aquosa, determinou-se a concentração de *Alcian blue* através de leituras no UV (espectrofotômetro Celm), a 598 nm. Os resultados foram obtidos a partir de curva-padrão de *Alcian blue*, usando-se concentrações de 100, 50, 25, 12,5 e 6,25 µg/mL.

4.8. Análise Estatística

Para avaliação da linearidade das curvas de calibração foi usado o método de regressão linear. Os parâmetros farmacocinéticos foram comparados através do teste *t de Student*. Os resultados dos ensaios de agravamento de úlcera e determinação de muco na barreira gastroprotetora foram comparados através da análise de variância (ANOVA) de uma via, seguidos do teste de Tukey-Kramer quando apropriado ou teste de análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis. Os testes foram aplicados com auxílio do software Instat®. Considerou-se, em todos os casos, o nível de significância de 5%.

5. RESULTADOS

5.1. Complexo piroxicam-zinco

A complexação do piroxicam com zinco ocorre através do oxigênio carboxamídico e nitrogênio piridílico, envolvendo duas moléculas de piroxicam e um átomo de zinco (Figura 1).

Piroxicam
 $C_{15}H_{13}N_3O_4S$
P.M. 331,62

Piroxicam-zinco
 $C_{30}H_{26}N_6O_8S_2Zn.2H_2O$
P.M. 764,12

Figura 1 – Estrutura química proposta para o complexo piroxicam-zinco.

5.2. Análise elementar e faixa de fusão

A Tabela 2 mostra os resultados obtidos na análise elementar e os valores calculados para os principais elementos químicos. A faixa de fusão do piroxicam-zinco é de 257 a 262°C, sendo que os valores de referência na literatura são 257 a 258°C (MÉNDEZ-ROJAS *et al.*, 1999).

Tabela 2 – Análise elementar da amostra de piroxicam-zinco.

	Calculado (%)	Obtido (%)
Carbono	47,16	46,23
Hidrogênio	3,96	3,83
Nitrogênio	11,00	10,72
Enxofre	8,38	8,51

5.3. Espectrometria de piroxicam e piroxicam-zinco

5.3.1. Absorção no ultravioleta (UV)

Os picos de absorvância de piroxicam-zinco (253 e 263 nm) em solução de metanol diferem dos valores de piroxicam (217, 250, 296, 355 e 381 nm).

5.3.2. Espectros no infravermelho (IV)

A análise do espectro de infravermelho mostra diferenças estruturais entre as amostras de piroxicam e piroxicam-zinco conforme pode-se observar na Tabela 3. Os espectros encontram-se apresentados nos Anexos 1 e 2.

Tabela 3 – Frequência de absorção de piroxicam e piroxicam-zinco no IV.

ligação	piroxicam	piroxicam (ref. ^a)	piroxicam- zinco	piroxicam- zinco (ref. ^b)
	ν (cm ⁻¹)	ν (cm ⁻¹)	ν (cm ⁻¹)	ν (cm ⁻¹)
-SO ₂ -N-	1151 e 1180	1050 e 1070	1400 e 1320	1398,1 e 1320
Anel piridínico	1560		1582	1581,6
OH	3490	3385	3490	3521
C=O	1637	1635	1626	1627,5

Obs.: Espectros obtidos em dispersão em KBr, utilizando espectrofotômetro Bomem série MB. ^aMIHALIC *et al.* (1986), ^bMÉNDEZ-ROJAS *et al.* (1999).

5.4.Solubilidade

Piroxicam-zinco, na concentração de 1 mg/mL, mostrou-se solúvel apenas em dimetilsulfóxido, conforme mostra a Tabela 4.

Tabela 4 - Solubilidade de 1 mg/mL de piroxicam e piroxicam-zinco em temperatura de 25 °C.

Solvente	Piroxicam	Piroxicam-Zn
Água	Insolúvel	Insolúvel
Metanol	Solúvel	Insolúvel
Metanol + DMSO (1%)	Solúvel	Insolúvel
Metanol + H ₃ PO ₄ (pH 3,0)	Solúvel	Insolúvel
Clorofórmio	Solúvel	Insolúvel
Éter	Solúvel	Insolúvel
Acetona	Solúvel	Insolúvel
DMSO	Solúvel	Solúvel

5.5. Determinação do coeficiente de partição em n-octanol-tampão fosfato

As determinações do coeficiente de partição aparente mostraram que o piroxicam-zinco é menos lipofílico do que o piroxicam livre. Observou-se também que com o aumento do pH ocorreu diminuição nos valores do

coeficiente de partição (Tabela 5) demonstrando, portanto, aumento da hidrossolubilidade nessas condições.

Tabela 5 – Valores do coeficiente de partição aparente ($\log P_{app}$) de piroxicam e piroxicam-zinco.

pH	Piroxicam	Piroxicam-zinco
5,0	1,37	0,99
7,4	0,18	0,03

Força iônica: 0,3; temperatura 22°C; $\lambda=360$ nm. . Solubilização em n-octanol-tampão fosfato determinado pelo método “shake-flask”.

5.6. Farmacocinética

5.6.1. Condições cromatográficas

O perfil cromatográfico característico de piroxicam (padrão) e tenoxicam (padrão interno) está ilustrado na Figura 2. Não houve interferência de proteínas em amostras de plasma e de linfa. As curvas de calibração apresentaram linearidade ($r^2 = 0,99$) entre 0,25 e 10 $\mu\text{g/mL}$.

O desempenho do método usado foi considerado satisfatório, tendo em vista os parâmetros de precisão, linearidade e reprodutibilidade obtidos (Tabela 6). A porcentagem de recuperação do método de extração esteve sempre acima de 80% em amostras de linfa e de plasma.

Figura 2 – Cromatograma de plasma contendo piroxicam e tenoxicam após extração. Cromatógrafo Shimadzu, detector UV (360 nm), fluxo de 1mL/min. e coluna Phenomenex Lichrosphere 5RP18 250X4,60mm.

Tabela 6 – Parâmetros de validação do método de determinação de piroxicam em sangue e linfa de rato.

Parâmetro	plasma	linfa
Porcentagem de extração	81,5%	85,4%
Tempo de retenção do tenoxicam	6,22 ± 0,7 min.	7,0 ± 1,0 min.
Tempo de retenção piroxicam	3,7 ± 0,6 min.	4,2 ± 0,8 min.
Variação inter-dia	5,7%	3,9%
Variação intra-dia	2,8%	1,7%
Limite de detecção	0,1 µg/mL	0,1 µg/mL

5.6.2. Farmacocinética em plasma

Após administração de piroxicam e piroxicam-zinco, em doses equivalentes, por via oral, foram obtidas concentrações plasmáticas de piroxicam menores no grupo tratado com piroxicam-zinco (Figura 4).

Quanto aos parâmetros farmacocinéticos (Tabela 7), observou-se que a constante de absorção (k_{ab}) foi menor e a meia-vida de absorção ($t_{(1/2) ab}$) maior no grupo tratado com o piroxicam-zinco do que no tratado com o piroxicam livre. Os valores do volume aparente de distribuição, assim como da depuração total foram semelhantes nos dois grupos. Não obstante, as diferenças observadas na absorção, a área sob a curva de concentração plasmática *versus* tempo foi semelhante para ambos os fármacos.

5.6.3. Farmacocinética em linfa

Os dados obtidos na cinética, na linfa, mostraram-se semelhantes aos obtidos no plasma. Porém os grupos piroxicam e piroxicam-zinco apresentaram diferenças menores, conforme pode ser observado na Figura 8. Quanto aos parâmetros farmacocinéticos foram encontrados diferenças entre os grupos em $C_{máx}$ e $t_{máx}$, enquanto que os parâmetros relacionados à eliminação assim como a área sob a curva não apresentaram diferenças significativas (Tabela 8).

Figura 4 - Perfil plasmático de piroxicam em grupos de animais tratados com piroxicam e piroxicam-zinco. Os fármacos foram administrados, p.o., em doses equivalentes (10mg/kg de piroxicam). Cada valor representa a média $\pm$ erro padrão da média de 6 animais.

Tabela 7 - Parâmetros farmacocinéticos obtidos em plasma de ratos tratados com doses equivalentes (10 mg/kg) de piroxicam e piroxicam-zinco por via oral.

Parâmetro	Unidade	Piroxicam	Piroxicam-zinco
C_{max}	$\mu\text{g.mL}^{-1}$	$16,09 \pm 0,84$	$7,10 \pm 0,36^*$
t_{max}	h	$4,75 \pm 0,37$	$8,25 \pm 0,88^*$
k_{ab}	h^{-1}	$0,186 \pm 0,019$	$0,077 \pm 0,021^*$
$t_{(1/2)ab}$	h	$4,05 \pm 1,43$	$14,00 \pm 3,47^*$
k_{el}	h^{-1}	$0,091 \pm 0,030$	$0,033 \pm 0,005^*$
$t_{(1/2)el}$	h	$14,98 \pm 2,25$	$24,12 \pm 3,15^*$
Cl_{total}	$\text{L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$	$17,67 \pm 1,83$	$25,27 \pm 4,46$
V_d	L.kg^{-1}	$0,95 \pm 0,20$	$0,97 \pm 0,37$
ASC	$\mu\text{g.mL}^{-1}.\text{h}^{-1}$	$610,19 \pm 64,33$	$452,98 \pm 49,50$

*Significativo em relação ao grupo piroxicam ($p < 0,05$). Os valores correspondem à média $\pm$ erro padrão da média (E.P.M.) de 6 animais.

Figura 5 - Perfil linfático de piroxicam em grupos de animais tratados com piroxicam e piroxicam-zinco. Os fármacos foram administrados, p.o., em doses equivalentes (10mg/kg de piroxicam). Cada valor representa a média $\pm$ erro padrão da média de 6 animais.

Tabela 8 - Parâmetros farmacocinéticos de piroxicam em linfa de ratos tratados com doses equivalentes de 10 mg/kg de piroxicam ou piroxicam-zinco por via oral.

Parâmetro	Unidade	Piroxicam	Piroxicam-zinco
$C_{\text{máx}}$	$\mu\text{g.mL}^{-1}$	$16,25 \pm 4,57$	$9,39 \pm 0,97^*$
$t_{\text{máx}}$	h	$2,83 \pm 0,75$	$5,71 \pm 1,26^*$
k_{ab}	h^{-1}	$0,738 \pm 0,396$	$0,217 \pm 0,027$
k_{el}	h^{-1}	$0,110 \pm 0,054$	$0,130 \pm 0,053$
$t_{1/2 \text{ ab}}$	h	$2,67 \pm 1,03$	$4,14 \pm 0,64$
$t_{1/2 \text{ el}}$	h	$10,65 \pm 2,14$	$9,13 \pm 2,21$
$\text{AUC}_{0-\infty}$	$\mu\text{g.mL}^{-1} . \text{h}^{-1}$	$275,42 \pm 63,42$	$206,06 \pm 32,61$

* Significativo em relação ao grupo piroxicam ($p < 0,05$). Os valores correspondem à média $\pm$ E.P.M. de 6 animais.

5.7. Efeito do piroxicam-zinco na mucosa gástrica

5.7.1. Agravamento de úlcera induzida por ácido acetilsalicílico

Neste ensaio, observou-se que a cimetidina protegeu os animais do efeito ulcerogênico do AAS em todos os parâmetros observados (úlceras N1, N2 e N3, ILU, UT). O acetato de zinco, no entanto, protegeu contra úlceras induzidas por ácido acetilsalicílico quando observadas as úlceras de menor tamanho (N1). O piroxicam e o piroxicam-zinco não agravaram as ulcerações, mas os valores obtidos para piroxicam-zinco são menores do que os valores relativos a piroxicam (Tabela 9, Figura 6).

5.7.2. Agravamento de úlcera induzida por etanol

A cimetidina e o acetato de zinco protegeram os animais contra o efeito ulcerogênico do etanol apenas em úlceras N1. No entanto, estes grupos foram diferentes dos grupos tratados com piroxicam e piroxicam-zinco conforme mostram a Tabela 10 e Figura 7.

5.7.3. Determinação de muco da barreira gastroprotetora

Os resultados do ensaio de determinação de muco da barreira gastroprotetora mostraram que apesar de o tratamento com acetato de zinco aumentar a quantidade de muco, de modo semelhante ao tratamento com carbenoxolona, o grupo tratado com piroxicam-zinco foi semelhante ao grupo piroxicam livre. Por outro lado, observou-se diminuição do pH apenas no grupo que recebeu piroxicam-zinco (Tabela 11).

Tabela 9 – Agravamento de úlcera induzida por ácido acetilsalicílico em ratos tratados com ágar-ágar (10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).

	N1	N2	N3	ILU	UT
Ágar-ágar a 1,5%	18,71±0,44	6,29±0,36	4,14±0,23	43,71±0,75	29,14±0,59
Cimetidina	3,17±1,44*	0,67±0,70*	0,17±0,31*	5,00±3,13*	4,00±2,08*
Acetato de zinco	9,57±1,31*	3,00±0,47	2,57±1,00	23,29±4,04	15,14±2,09*
Piroxicam	18,71±1,85	7,71±0,97	4,14±1,06	46,57±3,12	30,57±1,93
Piroxicam-zinco	11,38±1,68*	4,75±1,30	2,63±0,95	28,75±6,18	18,75±3,41

Lesão gástrica nível 1+ (N1), 2+ (N2), 3+ (N3), índice de lesões ulcerativas (ILU) e úlceras totais (UT). Os valores correspondem à média ± E.P.M. de 7 animais. (*) Significativo ($p<0,05$) em relação ao grupo controle.

Tabela 10 – Agravamento de úlcera induzida por etanol em ratos tratados com ágar-ágar (10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).

	N1	N2	N3	UT	ILU
Ágar-ágar	12,5 ± 3,38	4,4 ± 0,63	8,5 ± 1,31	25,4 ± 4,42	45,5 ± 6,67
Cimetidina	8,3 ± 1,38*	6,0 ± 0,99	3,8 ± 0,69	18,0 ± 1,98	31,5 ± 3,64
Acetato de zinco	8,0 ± 1,74*	5,4 ± 1,40	5,8 ± 1,96	19,1 ± 4,82	36,0 ± 9,89
Piroxicam	11,0 ± 2,49	10,0 ± 1,18*	11,6 ± 1,03	32,6 ± 3,34	65,9 ± 4,64
Piroxicam-zinco	20,5 ± 3,97*	10,0 ± 0,78*	11,0 ± 0,98	41,5 ± 3,65	73,5 ± 3,89

Lesão gástrica nível 1+ (N1), 2+ (N2), 3+ (N3), índice de lesões ulcerativas (ILU) e úlceras totais (UT). Os valores correspondem à média ± E.P.M. de 7 animais. (*) Significativo ($p<0,05$) em relação ao grupo controle.

Tabela 11 – Variação de muco e pH do estômago de camundongos após ligadura do piloro seguida por tratamento intra-duodenal com ágar-ágar a 1,5% (10 mL/kg), carbenoxolona (200 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).

Grupos	pH	Muco (µg/mL)
Ágar-ágar a 1,5%	4,3 ± 0,17	6,77 ± 0,70
Carbenoxolona	4,6 ± 0,24	25,65 ± 2,80*
Acetato de zinco	4,4 ± 0,40	23,69 ± 5,90*
Piroxicam	3,4 ± 0,24	10,57 ± 1,23
Piroxicam-zinco	2,8 ± 0,37*	4,04 ± 1,10

Os valores correspondem à média ± E.P.M. de 7 animais.

(*) Significativo ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle

Figura 6 - Incidência de lesões gástricas nível 1+ (N1), 2+ (N2), 3+ (N3), índice de lesões ulcerativas (ILU) e úlceras totais (UT) induzidas por ácido acetilsalicílico, após administração de ágar-ágar a 1,5% (10mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg) piroxicam e piroxicam-zinco (10 mg/kg). Os valores correspondem à média $\pm$ E.P.M. de 7 animais.

* Significativo ($p < 0,05$) em relação ao respectivo grupo controle.

Figura 7 - Incidência de lesões gástricas nível 1+ (N1), 2+ (N2), 3+ (N3), índice de lesões ulcerativas (ILU) e úlceras totais (UT) induzidas por etanol (1 mL), após administração de água-açúcar a 1,5% (10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg) piroxicam e piroxicam-zinco (10 mg/kg). Os valores e correspondem à média $\pm$ E.P.M. de 7 animais.

* Significativo ($p < 0,05$) em relação ao respectivo grupo controle.

6. DISCUSSÃO

A descoberta de um fármaco de estrutura completamente nova é muito onerosa e extremamente difícil. O tempo entre aparecimento de uma nova molécula e sua comercialização nos Estados Unidos é de 10 a 12 anos de pesquisa e custa mais de 300 milhões de dólares. A coleta de dados referentes a eficácia e a segurança do fármaco consome boa parte desse custo e tempo. Devido a restrições éticas, relevantes estudos farmacológicos e toxicológicos têm sido feitos em animais antes da administração a humanos. A validade de testes em animais para predizer a eficácia e a segurança em humanos tem sido questionada. No entanto, acredita-se que os dados de estudos em animais podem ser razoavelmente extrapolados para humanos com a aplicação de princípios farmacocinéticos apropriados (LIN, 1995). Estratégias que resultem em otimização de fármacos em uso são consideradas alternativas aos investimentos aplicados na busca de fármacos totalmente novos para as mesmas indicações terapêuticas.

A complexação com metais e outros grupamentos tem sido utilizada a fim de melhorar o desempenho de fármacos, seja por melhorar a farmacocinética através de alteração de propriedades físico-químicas ou para minimizar efeitos adversos, tais como, irritação gástrica.

Vários complexos foram preparados, envolvendo AINEs e metais. DENDRINOU-SAMARA *et al.* (1998) relatam a complexação de tolmetina, ibuprofeno, naproxeno e indometacina com íons Zn(II), Cd(II) e Pt(II).

Por outro lado, o íon zinco têm sido usado em complexos com vários fármacos tais como, ácido acetilsalicílico (BASLAS *et al.*, 1979), cimetidina (ITO *et al.*, 1995) e ranitidina (CONCHILLO *et al.*, 1995), sempre com finalidade de proteger a mucosa gástrica.

O complexo piroxicam-zinco foi sintetizado por CINI *et al.* (1990) que utilizaram além do zinco, outros metais, tais como cobre, ferro, níquel e ouro. O interesse despertado pelo complexo com zinco é justificado pelos trabalhos de BULBENA *et al.* (1993) que mostraram a ação protetora do zinco sobre a mucosa gástrica. De fato, além de aumentar a produção de muco, a presença de zinco eleva os níveis de prostanóides protetores da mucosa (BULBENA *et al.* 1993).

Para se avaliar a utilidade do fármaco complexado, é necessário que se comprove a preservação de suas propriedades farmacodinâmicas. Piroxicam-zinco foi estudado por TAGLIATI *et al.* (1999) quanto aos efeitos antiinflamatório e analgésico e mostrou-se equivalente ao piroxicam livre.

Para estudos cinéticos são necessários métodos eficientes de determinação da concentração do fármaco em fluídos biológicos. O método ideal deve ser de fácil execução, boa sensibilidade, além de não sofrer interferência de proteínas e outras substâncias endógenas.

Os métodos analíticos utilizados para determinar as concentrações de piroxicam no plasma, soro ou urina incluem métodos espectrofotométricos (LOMBARDINO *et al.*, 1973), fluorimétrico (HOBBS & TWOMEY, 1979), espectrodensitometria por cromatografia de camada delgada de alta eficiência (RIEDEL & LAUFEN, 1983 E QUAGLIA, 1989) e cromatografia líquida de alta eficiência (TWOMEY *et al.* 1980; GILILAN *et al.*, 1989; MACEK & VACHA, 1987; RICHARDS *et al.* 1987; BOUDINOT & IBRAHIM, 1988).

A técnica por CLAE tem sido recomendada para a análise de piroxicam graças a boa reprodutibilidade e sensibilidade. Além disso, utiliza pequeno volume de amostra (0,1 mL) e não necessita de modificação química do fármaco. É uma técnica simples e rápida, permitindo que a extração seja feita numa única fase, com a devida incorporação de padrão interno.

HIRAI *et al.* (1997) propuseram método para análise simultânea de vários AINEs em urina humana, utilizando CLAE com extração normal de fase sólida. GILILAN *et al.* (1989) descreveram método de análise rápida de piroxicam em plasma humano, de cão e de ratos, uma vez que os métodos anteriormente descritos são apropriados apenas para a espécie humana, principalmente por utilizar grandes volumes de plasma ou pela interferência de proteínas plasmáticas. Esse método foi ligeiramente modificado por KIMURA *et al.* (1996) e utilizado para estudos de piroxicam β -ciclodextrina utilizando amostras de plasma e linfa de rato.

Neste trabalho, utilizou-se a técnica de CLAE fundamentada no método preconizado por TSAI & HUANG (1989). O mesmo método foi utilizado por CANONICE (1997) para estudos de biodisponibilidade de piroxicam em humanos. O método mostrou-se apropriado para determinações de piroxicam em amostras de plasma humano e de ratos assim como de linfa de rato.

A coluna utilizada (Phenomenex - Lichrospher 5RP18) apresentou boa resolução, permitindo separação eficiente de piroxicam (padrão) e tenoxicam (padrão interno). Da mesma forma, a linearidade da curva de calibração, o limite de detecção e a porcentagem de extração foram satisfatórios.

De acordo com os resultados obtidos, a absorção de piroxicam é menor quando este encontra-se complexado com zinco. Isso pode ser claramente observado pela diminuição de k_{ab} e aumento de $t_{(1/2)ab}$. Como consequência, observou-se também diminuição de k_{el} e aumento de $t_{(1/2)el}$. No entanto, apesar da absorção se tornar mais lenta, os valores de ASC

mostram que a biodisponibilidade não foi alterada pela complexação com o zinco.

Do mesmo modo, a depuração e o volume de distribuição são semelhantes em ambos os grupos. De fato, esses parâmetros estão mais relacionados com o organismo do que com o fármaco. A semelhança dos valores de V_d do piroxicam e do seu complexo é compreensível, pois a capacidade de ligação do fármaco às proteínas plasmáticas, um dos fatores determinantes da distribuição, não deve ser alterada.

Os resultados aqui obtidos estão de acordo com os relatos de TAGLIATI *et al.* (1999) no que se refere a biodisponibilidade, V_d e Cl . Porém, esses mesmos autores não encontraram diferença entre os dois grupos, com exceção de $t_{máx}$.

Na cinética de piroxicam na linfa, o $t_{máx}$ no grupo tratado com piroxicam-zinco foi maior do que no tratado com o piroxicam livre, mostrando que o complexo tem absorção mais lenta. Não houve diferença nos demais parâmetros, embora haja tendência de menores valores em $C_{máx}$, k_{ab} e ASC . Os parâmetros relacionados à eliminação não apresentaram diferença estatística e sua análise neste modelo é prejudicada pelo fato da linfa coletada não apresentar retorno a circulação.

Os resultados para o grupo piroxicam são semelhantes aos encontrados por KIMURA *et al.* (1997), uma vez que a velocidade de absorção pela linfa foi maior que pelo plasma. No entanto, não se observou maior absorção de piroxicam livre pelo sistema linfático.

MORRISON *et al.* (1997) relataram sobre a absorção intestinal de captopril e dois análogos, entre eles um complexo com zinco, em ratos e cães. De acordo com esses autores, o complexo com zinco tem baixa solubilidade e não é adequadamente absorvido.

Quanto aos parâmetros de solubilidade, o presente estudo indica que o complexo piroxicam-zinco se mostra menos solúvel do que piroxicam em diversos solventes. Para melhor investigar esse aspecto, foi determinado o coeficiente de partição aparente *n*-octanol/tampão fosfato em dois pH diferentes. De fato, o coeficiente de partição tem sido usado por vários

autores para relacionar a atividade farmacológica com propriedades físico-químicas do fármaco. Sabe-se que, além de ser solúvel no sítio de absorção, é necessário que o fármaco possua equilíbrio hidro-lipofílico para ser absorvido. A complexação de fármacos com o zinco diminui a lipossolubilidade e a hidrossolubilidade, o que se reflete em dificuldade de absorção, explicando os resultados de farmacocinética que mostram absorção mais lenta do piroxicam-zinco. No caso específico do piroxicam, essa alteração produzida pela complexação com o zinco não representa desvantagem clínica, uma vez que sua meia-vida é bastante longa e sua absorção é lenta. No entanto, deve-se considerar que a complexação com zinco retarda o início do efeito farmacológico.

A farmacocinética bem como a capacidade de ligação dos fármacos aos sítios receptores são fortemente dependentes da interação com membranas biológicas. Por outro lado, a hidrofobicidade é considerada uma das principais propriedades físico-químicas responsáveis pela difusão do fármaco através das membranas biológicas. O coeficiente de partição em *n*-octanol-tampão é considerado referência para estimar a hidrofobicidade.

BARBATO *et al.* (1997) estudaram vários AINEs e encontraram correlação entre log *P* e outros parâmetros de hidrofobicidade e os valores do coeficiente de inibição 50% da cicloxigenase-2 (COX-2). A mesma correlação não foi encontrada para cicloxigenase-1 (COX-1), o que suporta a hipótese de que as duas isoformas têm localização subcelular diferentes. Estes resultados sugerem que a afinidade pela membrana pode representar um importante pré-requisito para a ligação específica AINEs/COX-2. Desta forma, alterações na estrutura do AINEs que resultem em alteração do coeficiente de partição podem gerar novos fármacos que, além de apresentarem melhor desempenho farmacocinético, poderão produzir efeito mais seletivo sobre a COX-2.

O principal mecanismo de ação dos AINEs, tanto para o efeito antiinflamatório quanto para o ulcerogênico, é a inibição da síntese de prostanóides, através da inibição da COX (VANE, 1971). Enquanto os salicilatos induzem a inibição irreversível da COX, outros AINEs, tais como o piroxicam, induzem a inibição da COX de forma reversível e a duração do efeito depende da farmacocinética do fármaco.

A descoberta de duas isoformas da COX, COX-1 e COX-2, que são capazes de catalisar a conversão do ácido araquidônico em prostanóides, possibilitou explicar, em parte, a origem dos efeitos adversos dos AINEs no trato gastrointestinal. Os prostanóides citoprotetores do estômago seriam sintetizados a partir do ácido araquidônico pela COX-1, enquanto que os prostanóides presentes no processo inflamatório seriam sintetizados pela COX-2. A inibição não seletiva das duas isoformas é determinante para o aparecimento de efeitos adversos dos AINEs. Infelizmente, alguns inibidores mais seletivos que teoricamente deveriam possuir atividade antiinflamatória sem apresentar efeitos gástricos não têm apresentado efeito esperado, mostrando que ainda existem aspectos desconhecidos desse processo (CROFFORD, 1997).

Os modelos agudos de indução de úlceras permitem avaliar a atividade do novo fármaco, não só no que se refere ao número e ao tamanho das ulcerações, como também a sua ação sobre a secreção gástrica. Neste caso, as lesões podem ser obtidas por substâncias químicas ou por estresse (BACCHI, 1988). Vários métodos têm sido descritos na literatura o que permite estudar aspectos diferentes da ulceração gástrica (CHO *et al.*, 1985; GUPTA *et al.*, 1974; COSEN & COSEN, 1971; FIEGLER *et al.*, 1986; HIROSE *et al.*, 1985; NAKAMURA *et al.*, 1983; SZELLENYI & THIEMER, 1978).

Piroxicam-zinco foi testado quanto ao efeito sobre a mucosa gástrica em modelo de úlcera induzida por estresse através de contenção por TAGLIATI *et al.* (1999) mostrando-se menos irritante do que piroxicam em todos os níveis testados. No entanto, os mecanismos envolvidos na indução de úlcera aguda por contenção e imersão são controversos (BACCHI, 1988).

Assim procurou-se, neste trabalho, usar outros modelos de indução de úlcera a fim de tentar elucidar os possíveis efeitos sobre a mucosa gástrica e confirmar ou não os resultados encontrados no modelo de contenção.

A indução de úlcera por ácido acetilsalicílico tem como principal mecanismo a inibição da síntese de prostanóides, além do efeito irritante tópico (LEWIS & HANSON, 1991). As úlceras causadas por agente irritante como o etanol aparecem devido a ação necrosante sobre a mucosa, com menor participação da secreção gástrica (LEWIS & HANSON, 1991; EVANS, 1996).

No modelo de úlcera induzida por estresse, as alterações circulatórias na mucosa gástrica desencadeadas pela atividade de neurotransmissores adrenérgicos e o estímulo à secreção ácida pela ação do sistema nervoso autônomo parassimpático têm sido apontados como os principais fatores responsáveis pelo aparecimento das lesões (YANO *et al.*, 1978; RAFFATULLAH *et al.*, 1990; EVANS, 1996).

Os resultados obtidos com o modelo de úlcera induzida por ácido acetilsalicílico mostram que no grupo de animais tratados com piroxicam-zinco houve aparecimento de menor número de úlceras nível 1. Por outro lado, o grupo tratado com cimetidina apresentou redução em todos os parâmetros observados mostrando que o modelo está adequado. Observa-se também que o acetato de zinco, em doses equivalentes de zinco encontradas no complexo com piroxicam, apresentou discreta proteção dos animais (úlceras nível 1 e número total de úlceras).

BULBENA *et al.* (1993), utilizando dose de zinco cerca de dez vezes maior, mostraram efetiva proteção do zinco. FROMMER (1975) descreve que o cloreto de zinco na dose de 220 mg/kg (3 vezes ao dia) acelera a cura de úlcera em humanos. Por outro lado, ITO *et al.* (1995) relatam que o tratamento com 49 mg/kg de cloreto de zinco não protege os animais no modelo de úlcera induzida por ácido acético.

No modelo de úlcera induzida por etanol, utilizado neste trabalho, o piroxicam e o piroxicam-zinco mostraram efeito semelhante, agravando a

ulceração. Neste caso, a cimetidina e o acetato de zinco apresentaram discreta proteção em ulcerações nível 1.

Outro aspecto interessante em relação a complexação com zinco e ação sobre a mucosa gástrica pode ser encontrado no trabalho de ITO *et al.* (1995) que estudaram o complexo cimetidina-zinco. Estes autores, usando o modelo de úlcera induzida por ácido acético (TAKAGI *et al.*, 1969), mostraram que o complexo reduz a ulceração, enquanto a associação de cimetidina e cloreto de zinco age de forma semelhante a cimetidina isolada. A cimetidina-zinco é um novo complexo que possui propriedades diferentes da cimetidina e do zinco e exibe efeito mais potente sobre a úlcera gástrica (ITO *et al.*, 1995). Resultados semelhantes foram encontrados para a ranitidina-zinco (CONCHILLO *et al.*, 1995) que foi mais eficaz que a ranitidina em proteger os animais contra a ulceração produzida por etanol e indometacina.

Quanto ao modelo de determinação de muco da barreira gastroprotetora após ligadura do piloro, observou-se que o acetato de zinco, à semelhança do grupo tratado com carbenoxolona, promoveu aumento da quantidade de muco. O grupo tratado com piroxicam-zinco apresentou resultados semelhantes aos do piroxicam, o que sugere que a complexação com zinco não alterou o efeito do piroxicam.

7. CONCLUSÕES

7.1. Os parâmetros farmacocinéticos do piroxicam-zinco na linfa são semelhantes aos do piroxicam, variando apenas os valores de $C_{\text{máx}}$ e $t_{\text{máx}}$, com as mesmas tendências ocorridas no sangue, isto é absorção mais lenta do complexo em relação à do fármaco livre.

7.2. O coeficiente de partição n-octanol-tampão fosfato do complexo é menor do que o do piroxicam, e seus valores variam com o pH do meio.

7.3. Em úlceras induzidas por ácido acetilsalicílico e etanol, tanto o piroxicam-zinco quanto o piroxicam causam discreto agravamento das lesões, não evidenciando diferenças significativas entre o complexo e o fármaco livre. A complexação com zinco também não provocou diferenças em relação ao piroxicam no ensaio de determinação de muco da barreira gastroprotetora.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

AABAKEN, L., OLAUSSEN, B., MOWINCKEL, P., OSNES, M. Gastroduodenal lesions associated with two different piroxicam formulations, endoscopic comparison. *Scand. J. Gastroenterol.*, Oslo, v.27, n.12, p.1049-54, 1992.

ABRAMS, B.W., BEERS, M.H. Clinical pharmacology in an aging population. *Clin. Pharmacol. Ther.*, St. Louis, v.3, n.63, p.281-284, 1998.

ACERBI, D. Pharmacokinetic profile of piroxicam- β -cyclodextrin. *Drug Invest.*, Auckland, v.2, suppl.4, p.42-49, 1990.

ALPER, J. Ulcer as an infectious disease. *Science*, Washington, v.260, n.9, p.73-160, 1993.

AMARAL, A.T., OLIVEIRA, A.C., NEIDKIR, R., GALLUCCI, M., CAPRARA, L., HIYAZAK, Y. Physicochemical parameters involved in the lethal toxicity of N,N-[(dimethylamino)ethyl]-4-substituted benzoate hydrochlorides: a QSAR study. *Eur. J. Med. Chem.*, Paris, v.32, p.433-443, 1997.

-
- De acordo com a NBR 6023/89 preconizada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). As abreviaturas dos periódicos seguem o Chemical Abstracts service Source Index (CASSI), 1990.

- BACCHI, E.M. Estudo Farmacológico da ação anti-úlceras dos extratos de *Styrax camporum* POHL e *Caesalpinia ferrea* Martius. São Paulo, 1988. 252p. (Tese de Doutorado - Instituto de Ciências Biomédicas - USP).
- BALDI, F.; FERRARINI, F., CASSAN, M Effect of pirenzepine on colonic motility in man. *Curr. Ther. Res.*, Tenaflly, v.33, p.802-806, 1983.
- BARBATO, F., LaROTONDA, M.I., QUAGLIA, F.G.J. Interactions of nonsteroidal antiinflammatory drugs with phospholipids: comparison between octanol/buffer partition coefficients and chromatographic indexes on immobilized artificial membranes. *Pharm. Sci.*, Austin, v.86, n.2, p.225-229, 1997.
- BARNES, J.M., TRUETA, J. Absorption of bacteria toxins and snake venoms from tissues. *Lancet*, London, v.1, p.623-626, 1941.
- BARROWMAN, J.H., PFEIFFER, C.J., eds. Carbenoxolone: a critical analysis of its clinical value in peptic ulcer. In: *Drugs and peptic ulcer*. Boca Raton: CRC Press, 1982. p 123-132.
- BASILE, A.C., SERTIÉ, J.A.A., PANIZZA, S., OSHIRO, T.T., AZZOLINI, C.A. Pharmacological assay of *Caesaria sylvestris*. I. Preventive anti-ulcer activity and toxicity of the leaf crude extract. *J. Ethnopharmacol.*, Lausanne, v.30, p.185-197, 1990.
- BASLAS, R.K., ZAMANI, R., NOMANI, A.A. Studies on the metal-complex of acetyl salicylic acid (aspirin). *Experientia*, Basel, v.4, n.35, p.455-456, 1979.

- BENEVISTE, C., STRIBERNI, R., DAYER, P. Indirect assessment of entero-hepatic recirculation of piroxicam and tenoxicam. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, Berlin, v.38, p.547-549, 1990.
- BEGAUD, B., CHASLERIE, A., CARNE, X., BANWARTH, B., LAPORTE, J.R., SORBETTE, F., MOSTASTRUC, P. Upper gastrointestinal bleeding associated with analgesics and NSAID use: a case-control study. *J Rheumatol.*, Toronto, v.8, n.20, p.1443-1444, 1993.
- BENKO, S., GREZAL, G., NAGY, E., KLENOVICH, I. Comparative bioavailability of two different rectal preparations of piroxicam in man. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, Berlin, v.43, n.3, p.315-317, 1992.
- BIANCHI PORRO, G., PARENTE, F., LAZZARONI, M., PACE, F. Colloidal bismuth subcitrate and two different dosages of cimetidine in the treatment of resistant duodenal ulcer. *Scand. J. Gastroenterol.*, Oslo, v.21, n.122, p.39-41, 1986.
- BLACK, J.W., DUNCAN, W.A.M., DURANT, C.J., GANELLIN, C.R., PARSON, E.M. Definition and antagonism of histamine H₂ receptors. *Nature*, London, v.236, p.385-390, 1972.
- BOLLMAN, J.L., CAIN, J.C., GRINDLAY, J.H. Techniques for the collection of lymph from the liver, small intestine or thoracic duct of the rat. *J. Lab. Clin. Med.*, St. Louis, v.33, p.1349-1352, 1948.
- BOLTON, J.P., PALMER, D., COHEN, M. Stimulation of mucus and non parietal cell secretion by E₂ prostaglandins. *Dig. Dis. Sci.*, New York., v.23, p.359-364, 1978.
- BRAVO, L., ESCOLAR, G., NAVARRO, C., FONTARNAU, R., BULBENA, O. Effect of zinc acexamate on gastric lesions induced by aspirin: a

- morphological study. *Eur. J. Pharmacol.*, Amsterdam, v.190, p.59-65, 1990.
- BRODGEN, R.N., HELL, R.C., SPEIGHT, T.M., AVERY, G.S. Piroxicam: a reappraisal of its pharmacology and therapeutic efficacy. *Drugs*, Auckland, v.28, p.292-323, 1984.
- BULBENA, O., ESCOLAR, G., NAVARRO, C., BRAVO, L., PFEIFFER, C.J. Gastroprotective effect of zinc acexamate against damage induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a morphological study. *Dig. Dis. Sci.*, New York, v.38, n.4, p.730-739, 1993.
- CADEL, S., BONGRANI, S. Toxicology profile of piroxicam-beta-cyclodextrin. *Drug Invest.*, Auckland, v.2, sup.4, p.37-41, 1990.
- CANONICE, N.A.S. Biodiponibilidade de piroxicam β -ciclodextrina. São Paulo, 1997. 135p. (Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP).
- CARMONA, M.J., BLANCA, M., GARCIA, A., FERNANDEZ, S., BURGOS, F., MIRANDA, A., VEJA, J.M., GARCIA, J. Intolerance to piroxicam in patients with adverse reactions to nonsteroidal antiinflammatory drugs. *J. Allergy Clin. Immunol.*, St. Louis, v.90, p.873-879, 1992.
- CARR, J., CARR, I., DREHER, B., BETTS, K. Lymphatic metastasis: invasion of lymphatic vessels and efflux to tumors cells in the afferent popliteal lymph as seen in the Walker rat carcinoma. *J. Pathol.*, Edinburgh, v.132, p.287-305, 1980.
- CASPARY, W.F. Measurement of intragastric potential difference. In: HALTER, F., ed. *Antacids in the eighties*. Munich: Urban and Schwarzenberg, 1982. p.64-69.

- CHO, C.H., OGLE, C.W., DAÍ, S. Acute gastric ulcer formation in response to electrical vagal simulation in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, Amsterdam, v.35, p.215-219, 1976.
- CINI, R., GIORGI, G., CINQUANTINI, A., ROSSI, C., SABAT, M. Metal complexes of the anti-inflammatory drug piroxicam. *Inorg. Chem.*, Washington, v.29, n.5, p.197-200, 1990.
- CONCHILO A., MOLA, C., NAVARRO, C., BRAVO, L., BULBENA, O. Cytoprotective and antisecretory activity of a ranitidine-zinc complex. *Prostaglandins Leukotriene Essent. Fatty Acids*, Edinburgh, v.6, n.52, p.393-397, 1995.
- CORNE, S.J., MOVIZEY, S.M., WOOD, R.J. A method for the quantitative estimation of gastric barrier mucus. *J. Physiol.*, London, v.242, p.116-117, 1974.
- COSEN, J.N., COSEN, R.H. Gastric ulcers produced by an association of ulcerogenic drugs and restraint. *Biol. Gastro-Enterol.*, Paris, v. 57, n.4, p.345-350, 1971.
- CROFFORD, L.J. Expressão de COX-1 e COX-2 nos tecidos: implicações e prognósticos. *J. Rheumatol.*, Toronto, v.24, suppl.49, p.25-29, 1997. [Separata]
- CURTIS, G.H., MACNAUGHTON, W.K., GALL, D.G., WALLACE, J.L. Intraluminal pH modulates gastric prostaglandin synthesis. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, Ottawa, v.73, p.130-134, 1995.

- DABNEY, J.E., BUEHN, M.J., DOBBINS, D.E. Perfused prenodal lymphatics are constituted by prostaglandins. *Am. J. Physiol.*, Bethesda, v.260, p.H1-H5, 1991.
- DAVENPORT, H.W. Gastric mucosal injury by fatty acid acetylsalicylic acids. *Gastroenterology*, New York, v.46, p.245-253, 1964.
- DAVID, L., COZAR, O., BRATU, I., CHIS, V., BORA, G.H. IR, EPR and Moessbauer investigations of some Fe (III) complexes with antiinflammatory drugs. *Physics*, New York, v.1, n.40, p.25-30, 1995.
- DAYAL, Y., DELELLIS, R.A. Trato gastrointestinal : úlceras pépticas. In: Cotran, R.S., Kumar, V., Robbins, S.L. *Patologia estrutural e funcional*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p.698-701.
- DENDRINO-SAMARA, C., TSOTSOU, G., EKATERINIADOU, L.V., KORTASARIS, A.H., RAPTOPOULOU, C.P., TERZIS, A., KYRIAKIDIS, D.A., KESSISSOGLU, D.P. Anti-inflammatory drugs interacting with Zn(II), Cd(II) and Pt(II) metal ions. *J. Inorg. Biochem.*, New York, v.3/4,n.71, p.171-179, 1998.
- De SCHEPPER, P.J., HEYNEN, G. Pharmacokinetics of piroxicam in man. *Drugs*, Auckland, v. 28, p.292-323, 1984.
- DOCKRAY, G.J., VARRO, A., DIMALINE, R. Gastric endocrine cells: gene expression, processing and targeting of active products. *Physiol. Rev.*, Bethesda, v.76, n.3, p.767-798, 1995.
- DUMONT, A.E., WITTE, M.H. Clinical usefulness of thoracic duct cannulation. *Adv. Intern. Med.*, Chicago, v.15, p.51-71, 1969.

- EBERHART, C.E., DUBOIS, R.N. Eicosanoids and the gastrointestinal tract. *Gastroenterology*, New York, v.109, p.285-301, 1995.
- EHLERT, F.J., GRIFFIN, M.T., SAWYER, G.W., BAILON, R. A simple method for estimation of agonist activity at receptor subtypes: comparison of native and cloned M3 muscarinic receptors in guinea pig ileum and transfected cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, Baltimore, v.289, n.2, p.981-992, 1999
- ELDER, J.B.B. Recent experimental and clinical studies on the pharmacology of colloidal bismuth subcitrate. *Scand. J. Gastroenterol.*, Oslo, v.21, n.122, p.14-16, 1986.
- ELIAS, R., JONHSTON, M.G. Modulation of fluid pumping in isolated bovine mesenteric lymphatic by a thromboxane/endoperoxide analogue. *Prostaglandins*, Los Altos, v.36, p.97-106, 1988.
- EL-MONEM FODA, A., SAID, S. Effect of complexation of indometacin and calcium glycerophosphate on its bioavailability, ulcerogenicity and anti-inflammatory activity in rats. *Pharm. Ind., Aulendorf*, v.53, n.1, p.94-97, 1991.
- ESTEVE, J., FARRE, A.J., ROSER, R. Pharmacological profile of droxicam. *Gen. Pharmacol.*, Oxford, v.8, p.423-429, 1986.
- EVANS, F. The gastro-intestinal tract. In: Williamson, E.M., Okpako, D.T., Evans, F.J., eds. *Selection, preparation and pharmacological evaluation of plant material*. Chichester: John Wiley, 1996. p.25-45.
- FIEGLER, M., JAVOR, T., NAGY, L., PATTY, I., TARNOK, F., MOZSIK, G. Biochemical background of the development of gastric mucosal

- damage in pylorus – ligated plus aspirin – treated rats. *Int. J. Tissue React.*, Geneva, v.8, p.15-22, 1986.
- FORTE, J.G. Gastrointestinal physiology. *Ann. Rev. Physiol.*, Palo Alto, v.48, p.73, 1986.
- FRASER, R.M., DOLL, M., LANGMAN, M.J.S., MISIEWICZ, J.J., SHAWDOW, H.H. Clinical trial of a new carbenoxolone analogue (BX24) zinc sulphate and vitamin A in the treatment of gastric ulcer. *Gut*, London, v.13, p.459-461, 1972.
- FRESTON, J.W. Overview of medical therapy of peptic ulcer disease. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, v.19, n.1, p.121-140, 1990. Local?
- FROMMER, D.J. The healing of gastric ulcer by zinc sulphate. *Med. J. Aust.*, Glebe, v.2, p.793-795, 1975.
- GARCIA-RODRIGUES, L.A. Nonsteroidal antiinflammatory drugs, ulcers and risk: a collaborative meta-analysis study. *Semin. Arthritis Rheum.*, Orlando, v.26, n.6, suppl.1, p.16-20, 1997.
- GIBALDI, M. Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetic. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. 406p.
- GILLILAN, R.B., MASON, W.D., FU, C.H.J. Rapid analysis of piroxicam in dog, rat and human plasma by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, Amsterdam, v.487, p.232-235, 1989.
- GISLASON, H., SORBYE, H., ABDI-DEZFULI, F., WALDUM, H.L., SVANES, K. Role of prostaglandins and histamine in hiperemic response to superficial and deep gastric mucosal injury and H⁺ back-diffusion in cats. *Dig. Dis. Sci.*, New York, v.40, n.8, p.1669-1678, 1995.

- GUPTA, M.B., TANGRI, K.K., BHARGAVA, K.V. Mechanism of ulcerogenic activity of reserpine in albino rats. *Eur. J. Pharmacol.*, Amsterdam, v.27, p.269-271, 1974.
- GUTH, P.H., PAULSEN, G., NAGATA, H. Histologic and microcirculatory changes in alcohol-induced gastric lesions in the rat: effect of prostaglandin cytoprotection. *Gastroenterology*, New York, v. 87, p.1083-1090, 1984.
- HANLEY, C.A., ELIAS, R.M., MOVAT, H.Z., JONHSTON, M.G. Suppression of fluid pumping in isolated bovine mesenteric lymphatics by interleukin. I. Interaction with prostaglandin E2. *Microvasc. Res.*, Orlando, v.37, p.218-229, 1989.
- HAYDEN, L.J., THOMAS, G., WEST, G.B. Inhibitors of gastric lesions in the rat. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v. 30, p.244-246, 1978.
- HEMATTI, H., REZVANI, A., DJAHANGUIRI, B. Prevention of aspirin induced ulceration in rats with alpramethildopa and dissulfiram. *Pharmacology*, Basel, v.9, p.374, 1973.
- HIRAI T., MATSUMOTO, S., KISHI, I. Simultaneous analysis of several non-steroidal anti-inflammatory drugs in human urine by high-performance liquid chromatography with normal solid-phase extraction. *J. Chromatogr. B: Biomed. Appl.*, Amsterdam, v.692, p.375-388, 1997.
- HIROSE, F., MIZIU, T., SHIMONO, N., DOTEUCHI, M. Gastric antral ulcers inducers induced by a combination of acid, indomethacin and ischemia in rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, Kyoto, v.38, p.223-236, 1985.

- HIRSCHOWITZ, B.I., KEELING, D., LEWIN, M., OKABE, S., PARSONS, M., SEWING, K., WALLMARK, B., SACHS, G. Pharmacological aspects of acid secretion. *Dig. Dis. Sci.*, New York, v.40, suppl.2, p.3S-5S, 1995.
- HOBBS, D.C., TWOMEY, T.M. Piroxicam pharmacokinetics in man: aspirin and antacid interaction studies. *J. Clin. Pharmacol.*, Stamford, v.21, p.270-281, 1979.
- HOGABOAM, C.M., BISSONNETTE, E.Y., CHIN, B., BEFUS, A.D., WALLACE, J.L. Prostaglandins inhibit inflammatory mediator release from mast cells. *Gastroenterology*, New York, v.104, p.122-129, 1993.
- ISHIZAKI, T., NOMURA, T., ABE, T. Pharmacokinetics of piroxicam, a new nonsteroidal anti-inflammatory agent, under fasting and postprandial states in man. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, New York, v.7, n.4, p.369-381, 1979.
- ITO, M., INAGUMA, K., SUZUKI, Y., SEGAMI, T., SUZUKI, Y. Healing-promoting action on the zinc-cimetidine complex on acetic acid-induced gastric ulcers in rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, Kyoto, v. 68, p.287-295, 1995.
- JENSEN, D.M. Health and aspects of peptic ulcer disease. *Am. J. Med.*, New York, v.77, suppl.5B, p.8-14, 1984.
- JOHNSTON, M.G., GORDON, J.L. Regulation of lymphatic contractility by arachidonate metabolites. *Nature*, London, v.239, p.294-297, 1981
- KATSURA, Y., NISHINO, S., TAKASUGI, H. Studies on antiulcer drugs. I. Synthesis and antiulcer of imidazo [1,2-*a*]pyridinyl-2-oxobenzoxazolidines-3-oxo-2H-1,4-benzoxazines and related compounds. *Chem. Pharm. Bull.*, Tokyo, v.39, n.11, p.2937-2943, 1991.

- KIMURA, E., BERSANI-AMADO, C.A., SUDO, L.S., SANTOS, S.R.J., OGA, S. Pharmacokinetic profile of piroxicam and β -cyclodextrin, in rat plasma and lymph. *Gen. Pharmacol.*, Oxford, v.28, n.5, p.695-698, 1997.
- KIMURA, E. Piroxicam β -ciclodextrina: perfil cinético, no plasma e na linfa e atividade antiinflamatória. São Paulo, 1995. 91p. (Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP)
- KURATA, J.H. Ulcer epidemiology: an overview and proposed research framework. *Gastroenterology*, New York, v. 47, p.569-580, 1989.
- KUTCHAI, H.C. Gastrointestinal secretions. In: BERNE, R.M., LEVY, M.N., eds. *Principles of physiology*. 2.ed. St. Louis: Mosby Year Book, 1996. p.516-589.
- LAM, S.K. A etiological factors of peptic ulcer: perspectives of epidemiological observations this century. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, Melbourne, v. 9, suppl.1, p.S93-S98, 1994.
- LEWIS, D.A., HANSON, P.J. Anti-ulcer drugs of plant origin. In: ELLIS, G.P., WEST, G.B., eds. *Progress Medicinal Chemistry*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1991. v.28, p.201-231.
- LIGUMSKY, M., SESTIERI, M., KARMEI, F., ZIMMERMAN, J., OKON, E., RACHMILEWITZ, D. Rectal administration of nosteroidal antiinflammatory drugs. *Gastroenterology*, New York, v.98, p.1245-1249, 1990.
- LIN, S.Z., WOUESSIDJEW, D., DARROUZET, H., BENITA, S., DUCHÊNE, D. In vitro release examination of indomethacin from indomethacin- β -cyclodextrin complexes. In: INTERNATIONAL

- SYMPOSIUM ON CYCLODEXTRINS, 5, Paris, 1990. *Minutes*. Editions de Santé, 1990, p.341-345.
- LIN, J.H. Species similarities and differences in pharmacokinetics. *Drug Metab. Dispos.*, Baltimore, v.23, n.10, p.1008-1020, 1995.
- LIND, T., CEDERBERG, C., EKENVED, G., HAGLAND, U., OLBE, L. Effect of omeprazole (a gastric proton pump inhibitor) on pentagastrin stimulated acid secretion in man. *Gut.*, London, v.24, p.270-276, 1983.
- LINGETTI, M., BIANCHI, A., CIARIMBOLI, M., POLICICHIO, D. Blood levels and onset of analgesic activity after short term administration of piroxicam and ibuprofen, and effect of piroxicam on gastric secretion. In: Dessain (Ed.) *Rheumatology in the eighties: an advance in therapy – piroxicam*. *Clin. Pharmacokinet.*; Auckland, v. 26, n.2, p. 107-120, 1994. p.35-40, . Apud: Excerpta Medica. Amsterdam, 1980
- LOMBARDINO, J.G., WISEMAN, E.A., CHIANI, J. Potent antiinflammatory n-heterocyclic 3-carboxamides of 4-hidroxy 2-methyl-2H-1,2-benzothiazine1, 1-dioxide. *J. Med. Chem.*, Washington, v.16, n.5, p.493-495, 1973.
- LUO, B. Preparation of anti-inflammatory piroxicam salts with reduced stomach irritability. *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu*, Beijing, v.31, p.13, 1994.
- MAY, A.J., WHALER, B.C. The absorption of *Clostridium botulinum* type a toxin from the alimentary canal. *Br. J. Exp. Pathol.*, London, v.39, p.307-316, 1958.
- MÉNDEZ-ROJAS, M.A., CORODOVA-LOZANO, F., GOJON-ZORRILLA, G., GONZÁLEZ-VERGARA, E., QUIROZ, M.A. Direct electrosynthesis of

- Cu, Cd, Zn complexes of piroxicam (4-hydroxy-2-methyl-N-(2-pyridyl)-2H-1,2-benzothiazine-3-carboxamide-1,1-dioxide) and isoxicam (4-hidroxy-2-methyl-N-(5-methyl-3-isoxazolyl)-2H-1,2-benzothiazine-3-carboxamide-1,1-dioxide) in nonaqueous media by in-situ generation of supporting eletrolyte. *Polyhedron*, Amsterdam, v.18, p.2651-2658, 1999.
- MAKINO, M., KOGA, T., ITO, K., KAWADA, H., TABATA, K. Delayed healing of chronic gastric ulcer after *Helicobacter pylori* infection in mice. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v.50, p.943-948, 1998.
- MCINTOSH, J.H., BYTH, K., PIPER, D.W. Causes of death among a population of gastric ulcer patients in New South Wales, Australia. *Scand. J. Gastroenterol.*, Oslo, v.26, p. 806-811, 1991.
- MIHALIC, M., HOFMAN, H., KUFTINEC, J., KRILE, B., CAPLAR, V., KAJFEZ, F., BLAZEVIC, N. Piroxicam. *Anal. Profiles Drug Subst.*, New York, v.15, p.509-531, 1986.
- MILANINO, R., CONFORTI, A., FRANCO, L., MARRELLA, M., VELO, G. Review: copper and inflammation - a possible rationale for the pharmacological manipulation of inflammatory disorders. *Agents Actions*, Basel, v.16, n.6, p.504-513, 1985.
- MONK, J.P., CLISSOLD, S.P. Misoprostol: a preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in the treatment of peptic ulcer disease. *Drugs*, Auckland, v.33, p.1-30, 1987.
- MORIMOTO, Y., SHIMOHARA, K., OSHIMA, S., SUKAMOTO, T. Effects of the new anti-ulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of

- teprenone and cimetidine. *Jpn. J. Pharmacol.*, Kyoto, v.57, p.495-505, 1991.
- MUELLER, B.A., REX, D.K., FIGUEROA, N., GREENE, P., BRATER, D.C.A. A pharmacokinetic and endoscopic comparison of an oral and experimental buccal piroxicam formulation. *Pharmacotherapy*, Carlisle, v.12, p.93-97, 1992.
- NUOTIO, P., MAKISARA, P. Pharmacokinetics and clinical study of piroxicam. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.26, n.2, p.107-120, 1994.
- OELKERS, R., IONAC, M., ERB, K., BRUNE, K., GEISSLINGER, G. Transfer of different nonsteroidal anti-inflammatory drugs via the lymphatic system in the rat. *Drug Metab. Dispos.*, Baltimore, v.24, n.10, p.1107-1110, 1996.
- PALACIUS, G., COLOMBO, M., ROSER, R., ESTEVE, J. Comparative light and electric microscopic observations of lesive effects of two non-steroid anti-inflammatory drugs plus stress on rat gastric mucosa. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, Barcelona, v.9, p.353-370, 1987.
- POWELL, J.R., DONN, K.H. Histamine H₂-antagonist drug interactions in perspective: mechanistic concepts and clinical implications. *Am. J. Med.*, New York, v.7, n.5B, p.57-84, 1984.
- RAFFATULLAH, S., TARIQ, M., AL-YAHYA, M.A., AGEEL, A.M. Evaluation of turmeric (*Curcuma longa*) for gastric and duodenal antiulcer activity in rats. *J. Ethnopharmacol*, Lausanne, n. 29, p.25-34, 1990.
- RAINSFORD, K.D., ed. *Anti-inflammatory and anti-rheumatic drugs*. Boca Raton: CRC Press, 1985. 3v.

RAMOS, L.R., VERAS, R.P., KALACHE, A. Envelhecimento populacional: uma realidade brasileira. *Rev. Saúde Pública*, São Paulo, v.21, n.3, p.211-224, 1987.

RAMOS, R.L. A explosão demográfica da terceira idade no Brasil: uma questão de saúde pública. *Gerontologia*, Basel, v.1, p.3-8, 1993.

RICHARDSON, C.J., BLOCKA, K.L.N., ROSS, S.G., VERBEECK, R.K. Effects of age and Sex on piroxicam disposition. *Clin. Pharmacol. Ther.*, St. Louis, v.37, p.13-18, 1985.

RITCHELL, W.A. *Handbook of basic pharmacokinetics*. 3.ed. Hamilton: Drug Intelligence, 1989.

ROBERT, A., NEZAMIS, J.E., LANCASTER, C., HANCHAR, A.J. Cytoprotection by prostaglandins in rats. *Gastroenterology*, New York, n.77, v.433-443, 1979.

ROGERS, H.J., SPECTO, R.G., MORRISON, P.J., BRADBROOK, I.D. Comparative steady-state pharmacokinetic study of piroxicam and flurbiprofen in normal subjects. *Eur. J. Rheumatol. Inflamm.*, Castletown, v.4, p.303-304, 1981.

SACHS, G., PRINZ, C., LOO, D., BAMBERG, K., BESANCON, M., SHIN, J.M. Gastric acid secretion: activation and inhibition. *Yale J. Biol. Med.*, New Haven n.67, p.81-95, 1994.

SANDOR, A., KIDD, M., LAWTON, G.P., MIL, K., TANG, L.H., MODLIN, I.M. Neurohormonal modulation of rat enterochromaffin-like cell histamine secretion. *Gastroenterology*, New York, v.110, p.1084-1092, 1996.

- SANIOTO, D.L.K. Sistema digestivo: secreção e digestão. In: Aires, M.M., ed. *Fisiologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p.237.
- SCHIANTARELLI, P., CADEL, S. Piroxicam: pharmacological activity and gastrointestinal damage by oral and retal route. *Arzneim.-Forsch.*, Aulendorf, v.31, p.87-91, 1981.
- SHARGEL, L., YU, A.B.C., eds. *Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics*. 3.ed. Norwalk: Appleton & Lange, 1993. p.127.
- SCHUBERT, M.L., SHAMBUREK, R.D Control of acid secretion. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, v.19, n.1, p.1-25,1990.
- SHOOG, M., LAUFEN, H., DESSAIN, P. A comparison of the pharmacokinetics of piroxicam with those of plain and slow release indomethacin: a crossover study. *Eur. J. Pharmacol. Inflamm.*, London, v.4, p.298-302, 1981.
- SIDDHARTHA, P., SIDDHARTHA, B., NAG CHAUDHURI, A.K The effects of *Mikania cordata* (Burm) B.L. Robins. Root extract on gastro-duodenal ulcer models in rats and guinea pigs. *Phytother. Res.*, Sussex, v.2, n.4, p.180-182,1988.
- SILVA, I.S. Hipertensão: conhecimentos e práticas do paciente. São Paulo, 1989. 153p.(Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública – USP)
- SOLDATO, P., FOSHI, D., VARIN, L., DANIOTTI, S Comparison of the gastric cytoprotective properties of atropine, ranitidine and PGE2 in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, Amsterdam, v.106, p.53-60,1984.

SOLL, A.H. Mechanisms of action of antisecretory drugs: studies on isolated canine fundic mucosal cells. *Scand. J. Gastroenterol.*, v.110 (suppl.), p.11-24, 1985.

SONNENBERG, A. Geographic and temporal variations in the occurrence of peptic ulcer disease. *Scand. J. Gastroenterol.*, Oslo, v.110, suppl., p. 11-24, 1985.

SORENSEN, J.R.J. Copper complexes: a physiological approach to the treatment of inflammatory diseases. *Inorg. Chim. Acta*, Amsterdam, v.91, n.4, p.283-284, 1984.

SZABO, S., KUSSTASCHER, S., SAKOULAS, G., SANDOR, Z., VINCZE, A., JADUS, M. Growth factors: new endogenous drugs for ulcer healing. *Scand. J. Gastroenterol.*, Oslo, v.30, suppl.210, p.15-18, 1985.

SZEJTLI, J. Industrial potentials of cyclodextrins. *Chim. Oggi*, Milano, v.5, p.49-54, 1987.

SUDO, L.S., ALMEIDA, M.G., YASAKA, W., GARCIA-LEME, J. Lymphatic transport of salicylates in dogs. *Gen. Pharmacol.*, Oxford, v.20, n.6, p.779-783, 1989.

SZELENYI, I., THIEMER, K. Distension ulcer as a model for testing of drugs for ulcerogenic side effects. *Arch. Toxicol.*, Berlin, v.41, p.99-105, 1978.

TABATA, M., TOMOMASA, T., ITOH, K., MORIKAWA, A. Effect of 10% ethanol and sofalcone on prostaglandin E2 contend, mucus gel thickness, and experimental ulcers in the stomach of developing rats. *Digestion*, Basel, v.57, p.47-53, 1996.

- TAGLIATI, C.A., KIMURA, E., NOTHENBERG, M.S., SANTOS, S.R.J.C., OGA, S. Pharmacokinetic profile and adverse gastric effect of zinc-piroxicam in rats. *Gen. Pharmacol.*, Oxford, v.33, p.67-71, 1999.
- TAKAGI, K., OKABE, S. Studies of the mechanisms involved in the production of stress and stress-atropine ulcers in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, Amsterdam, v.10, p.378-384, 1970.
- TAKAGI, K., KASUYA, W., WATANABE, K. Studies on drugs for peptic ulcer: a reliable method for producing stress ulcer in rats. *Chem. Pharmacol. Bull.*, Tokyo, v.12, p.465-472, 1964.
- TAKAGI, K., OKABE, S., SAZIKI, R. A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and the effect of several drugs on its healing. *Jpn. J. Pharmacol.*, Kyoto, v.19, p.418-426, 1969.
- TARNAWSKI, A., SANTOS, T.A.M., SARFEH, I.J. Cellular and molecular mechanisms of gastric ulcer healing. Is the quality of mucosal car affected by treatment *Scand. J. Gastroenterol.*, Oslo, v.30, p.9-14, 1982.
- TEIXEIRA, J.J.V. A prescrição medicamentosa sob a ótica do paciente idoso: relação com os profissionais de saúde. São Paulo, 1998. 170p. (Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública – USP).
- TEXTER, E.C., REYLLY, P.A. The efficacy and selectivity of pirenzepine: review and commentary. *Scand. J. Gastroenterol.*, Oslo, v.72, n.17, p.237-246, 1982.

- TSAI, Y.M., HUANG, Y.B. Ion-pair high-profile liquid chromatographic determination of piroxicam in ointments and plasma. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, New York, v. 15, p. 1441-53, 1989.
- TWOMEY, T.M., HOBBS, D.C. Biotransformation of piroxicam by man. *Fed. Proc.*, Washington, v.37, p.271, 1978.
- UEKAMA, K., IRIE, T. New perspective in cyclodextrin pharmaceutical applications: Cyclodextrin derivatives as new drug carriers. *Drug Invest.*, Auckland, v.2, sup.4, p.22-28, 1990.
- UPTON, R.A. Simple and reliable method for serial sampling of blood from rats. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v.64, n.1, p.112-114, 1975.
- VACCARINO, V., SIRTORI, C.R., BUFALINO, L. Local and systemic tolerability of piroxicam after intramuscular administration in healthy volunteers. *Curr. Ther. Res.*, Tenaflly, v.45, p.1-13, 1989.
- VAN ARMAN, C.G., BEGANY, A.J., MILLER, L.M., PLESS, H.H. Some details of the inflammations caused by yeast and carrageenin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, Baltimore, v.150, p. 328-333, 1965.
- VANE, J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action of aspirin-like drugs. *Nature New Biol.*, London, v.231, p.232-239, 1971.
- WALLACE, J.L., GRANGER, N. The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. *FASEB J.*, Bethesda, v.10, p.731-740, 1996.
- WHITEHOUSE, M.W., WALKER, W.R. Copper and inflammation. *Agents Actions*, Basel, v.8, n.1/2, p.85-90, 1978.

- WHITTLE, B.J.R., VANE, J.R. Prostanoids as regulators of gastrointestinal function. In: Johnson, L.R., ed. *Physiology of the gastrointestinal tract*. New York: Raven Press, 1987. p.143-180.
- WISEMAN, E.H., CHANG, Y.H., LOMBARDINO, J.G. Piroxicam: a novel anti-inflammatory agent. *Arzneim.-Forsch. Drug. Res.*, Aulendorf, v.26, n.7, p.1300-1303, 1976.
- WISEMAN, E.H., CHIANI, J. Piroxicam (Feldene). *Clin. Rheum. Dis.*, Brussels, v.6, p.585-613, 1981.
- WOLFE, M.M., SOLL, A.H. The physiology of gastric acid secretion. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v.26, n.319, p.1707-1715, 1988.
- WOOLF, A.D., ROGERS, H.J., BRADBROOK, I.D., ORLESS, D. Pharmacokinetics observation on piroxicam in young adult, middle-aged and elderly patients. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, London, v.16, p.433-437, 1983.
- YANO, S., AKAHANE, M., HARADA, M. Role of gastric motility in development of stress-induced gastric lesions of rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, Kyoto, v.28, p.607-615, 1978.

9. ANEXOS

ANEXO 1 - Espectro de absorção infravermelho de piroxicam em dispersão de KBr.

ANEXO 2- Espectro de absorção infravermelho de piroxicam-zinco em dispersão de KBr.

Anexo 3 - Disposição cinética de piroxicam ($\mu\text{g/mL}$) em plasma de ratos após administração de dose de 10 mg/kg de piroxicam por via oral.

Horas	1	2	3	4	5	6	7	8	média	E.P.M.
1	9,75	11,67	7,13	10,41	11,87	10,69	11,86	10,95	10,54	0,555
2	11,70	9,03	8,4	9,03	10,35	9,05	10,35	10,42	9,79	0,385
4	13,13	13,00	12,74	11,92	17,36	11,49	17,36	13,97	13,87	0,806
6	10,59	18,51	11,42	17,68	12,73	17,99	12,73	9,35	13,88	1,287
10	11,54	13,27	10,97	12,87	12,91	14,76	12,92	8,72	12,25	0,644
22	4,98	11,70	6,20	13,23	9,45	6,32	9,45	4,20	8,19	1,154

Anexo 4 . Disposição cinética de piroxicam ($\mu\text{g/mL}$) em plasma de ratos após administração de piroxicam-zinco em dose equivalente a 10 mg/kg de piroxicam por via oral.

Horas	1	2	3	4	5	6	7	8	média	E.P.M.
1	4,52	6,4	7,72	5,45	5,57	5,52	5,00	8,76	6,12	0,509
2	4,74	4,51	5,64	4,00	4,74	5,9	5,22	8,44	5,40	0,486
4	5,34	4,72	4,7	4,8	6,77	7,87	5,41	12,86	6,56	0,984
6	6,04	6,26	7,75	4,95	7,01	7,91	5,64	10,02	6,95	0,567
10	6,09	7,41	6,44	8,64	7,45	8,12	6,03	6,88	7,13	0,335
22	4,62	-	4,42	6,33	5,94	5,26	4,77	6,44	5,40	0,297

Anexo 5 - Parâmetros farmacocinéticos de piroxicam em plasma de ratos tratados com doses equivalentes de piroxicam e piroxicam-zinco por via oral.

Parâmetro	Unidade	Grupo	1	2	3	4	5	6	7	8	Média	E.P.M.
C_{max}	$\mu\text{g/mL}$	P	13,13	18,51	12,74	17,68	17,36	17,99	17,36	13,97	16,09	0,842
		P-Zn	6,09	6,26	7,75	8,64	7,45	8,12	6,03	6,43	7,10*	0,360
t_{max}	h	P	4	6	4	6	4	6	4	4	4,75	0,366
		P-Zn	10	6	6	10	10	10	10	4	8,25*	0,881
k_{ab}	h^{-1}	P	0,099	0,179	0,208	0,168	0,259	0,172	0,259	0,147	0,186	0,019
		P-Zn	0,031	0,082	0,079	0,096	0,057	0,043	0,021	0,211	0,077*	0,021
$t_{(1/2)ab}$	h	P	6,99	3,86	3,33	4,13	2,68	4,03	2,68	4,73	4,05	1,433
		P-Zn	22,58	8,45	8,72	7,20	12,26	16,16	33,30	3,29	14,00*	3,467
k_{el}	h^{-1}	P	0,054	0,029	0,040	0,079	0,034	0,065	0,034	0,067	0,091	0,030
		P-Zn	0,026	0,064	0,035	0,026	0,019	0,036	0,020	0,038	0,033*	0,005
$t_{(1/2)el}$	h	P	24,17	17,32	8,73	20,51	10,60	20,51	10,38	7,59	14,98	2,257
		P-Zn	26,28	10,86	19,75	26,73	36,71	19,15	35,48	18,04	24,12*	3,150
Cl_{total}	$\text{L}^{-1}.\text{kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$	P	21,02	10,56	18,03	20,00	13,22	16,76	14,65	27,14	17,67	1,83
		P-Zn	28,54	54,83	24,74	17,49	46,06	21,58	20,03	18,88	25,27	4,46
Vd	L	P	1,13	0,30	0,72	1,59	0,45	1,10	0,49	1,81	0,95	0,20
		P-Zn	0,75	3,50	0,87	0,45	0,30	0,78	0,39	0,73	0,97	0,37

*Significante ($p < 0,05$) em relação ao grupo piroxicam.

Anexo 6 - Área sob a curva concentração plasmática de piroxicam x tempo após administração oral de piroxicam em ratos.

Tempo	1	2	3	4	5	6	7	8	Média	E.P.M.
0-1h	4,88	5,84	3,57	5,21	5,94	5,35	5,93	5,48	5,27	0,277
1h-2h	10,73	10,35	7,77	9,72	11,11	9,87	11,11	10,69	10,17	0,388
2h-4h	24,83	22,03	21,14	20,95	27,71	20,54	27,71	24,39	23,66	1,042
4h-6h	23,72	31,51	24,16	29,60	30,09	29,48	30,09	23,32	27,75	1,197
6h-10h	44,26	63,56	44,78	61,10	51,28	65,50	51,30	36,14	52,24	3,691
10h-22h	99,12	149,82	103,02	156,60	134,16	126,48	134,22	77,52	122,62	9,588
22h-∞	268,26	663,51	350,27	216,87	496,32	339,33	422,40	190,96	368,49	55,424
ASC	475,79	946,61	554,70	500,04	756,61	596,55	682,76	368,49	610,19	64,332

Anexo 7 - Área sob a curva concentração plasmática de piroxicam x tempo após administração oral piroxicam-zinco em ratos.

Tempo	1	2	3	4	5	6	7	8	Média	E.P.M.
0-1h	2,26	3,20	3,86	2,724	2,785	2,76	2,50	4,38	3,06	0,255
1h-2h	4,63	24,66	42,75	36,47	28,08	31,80	28,21	43,00		
2h-4h	10,08	9,23	10,34	8,80	11,51	13,77	10,63	21,3	11,96	1,440
4h-6h	11,38	10,98	12,45	9,75	13,78	15,78	11,05	22,88	13,51	1,496
6h-10h	24,26	21,96	24,9	19,5	27,56	31,56	22,10	45,76	27,20	2,959
10h-22h	64,26	44,46	65,16	89,82	80,34	80,28	64,80	79,92	71,13	5,052
22h-∞	233,50	71,08	248,55	407,52	461,36	290,28	362,46	316,91	298,96	5,052
ASC	350,37	182,37	404,15	571,86	622,63	463,48	499,24	529,77	452,98	49,499

Anexo 8 - Disposição cinética de piroxicam ($\mu\text{g/mL}$) na linfa de ratos após dose de 10 mg/kg de piroxicam por via oral.

Tempo(h)	1	2	3	4	5	6	médias	E.P.M.
1	7,45	6,16	5,60	14,11	14,04	8,32	8,10	1,566
2	10,08	7,67	8,03	13,67	25,89	19,25	12,37	2,944
4	7,67	7,65	7,70	4,48	37,44	18,28	12,46	5,093
6	4,83	7,21	8,95	7,82	30,53	10,23	10,80	3,859
10	3,58	5,06	6,04	9,40	16,81	13,23	9,16	2,103
22	3,00	3,00	13,19	12,70	16,12	7,14	11,02	2,170

Anexo 9 - Disposição cinética de piroxicam na linfa de ratos após administração de piroxicam-zinco em dose equivalente a 10 mg/kg de piroxicam por via oral.

tempo	1	2	3	4	5	6	7	médias	E.P.M.
1	3,82	4,19	6,16	4,10	5,01	3,34	4,42	6,03	1,620
2	4,59	5,96	7,20	6,47	4,19	2,19	14,05	6,38	1,333
4	3,58	7,02	8,26	8,60	5,92	3,87	19,53	9,00	1,982
6	3,71	3,48	7,25	8,91	3,57	4,61	14,76	7,78	1,790
10	3,08	6,49	3,52	7,15	11,82	5,62	13,90	8,19	1,564
22	-	18,39	4,07	8,06	-	-	15,82	10,80	2,699

Anexo 10 - Parâmetros farmacocinéticos de piroxicam em linfa de ratos tratados com doses equivalentes de piroxicam e piroxicam-zinco por via oral.

	Unidade	Grupo	1	2	3	4	5	6	7	média	E.P.M.
$C_{m\acute{a}x}$	$\mu\text{g.mL}^{-1}$	P	10,08	7,67	8,95	14,11	37,44	19,25		16,25	4,57
		P-Zn	4,59	7,02	8,26	8,91	11,82	5,62	19,53	9,39	0,97
$t_{m\acute{a}x}$	h	P	2	2	6	1	4	2		2,83	0,75
		P-Zn	2	4	4	6	10	10	4	5,71*	1,27
k_{ab}	h^{-1}	P	0,303	0,219	0,094	2,647	0,327	0,839		0,738	0,396
		P-Zn	0,183	0,172	0,097	0,155	0,300	0,118	0,495	0,217	0,027
k_{el}	h	P	0,06	0,05	0,10	0,38	0,05	0,05		0,11	0,054
		P-Zn	0,05	0,35	0,14	0,05			0,06	0,13	0,053
$t_{1/2\text{ ab}}$	h^{-1}	P	2,29	3,17	7,39	0,26	2,12	0,83		2,67	1,035
		P-Zn	3,79	4,02	7,11	4,46	2,31	5,87	1,40	4,14	0,64
$t_{1/2el}$	h	P	11,44	14,79	7,05	1,81	14,80	13,98		10,65	2,14
		P-Zn	13,96	1,98	4,88	12,61			12,21	9,13	2,21
$AUC\ 0-\infty$	$\mu\text{g.mL}^{-1}.\text{h}^{-1}$	P	117,08	131,09	266,48	294,63	547,24	295,98		275,42	63,42
		P-Zn	72,15	310,27	132,28	211,68	199,29	106,88	409,86	206,06	32,61

Anexo 11 - Área sob a curva concentração linfática de piroxicam x tempo após administração oral de piroxicam em ratos.

Tempo	1	2	3	4	5	6	Média	E.P.M.
AUC 0-1	3,73	3,08	2,80	7,05	7,02	4,16	4,64	0,783
AUC 1-2h	8,77	6,91	6,82	13,89	19,97	13,78	11,69	2,104
AUC 2-4	17,75	15,32	15,73	18,15	63,33	37,53	27,97	7,857
AUC 4-6	12,50	14,86	16,65	12,30	67,97	28,51	25,47	8,846
AUC 6-10	16,82	24,53	29,98	34,44	94,68	46,93	41,23	11,455
AUC 10-22	39,50	48,36	115,37	132,59	197,56	122,23	109,27	23,891
AUC 22- ∞	18,02	18,02	79,13	76,19	96,72	42,85	55,15	13,728
AUC 0- ∞	117,08	131,09	266,48	294,63	547,24	295,98	275,42	63,420

Anexo 12 - Área sob a curva concentração linfática de piroxicam x tempo após administração oral piroxicam-zinco em ratos.

Tempo	1	2	3	4	5	6	7	Média	E.P.M.
AUC 0-1	4,20	5,07	6,68	5,29	4,60	2,76	9,24	5,41	0,779
AUC 1-2	1,91	2,09	3,08	2,05	2,50	1,67	2,21	2,22	0,174
AUC 2-4	8,16	12,98	15,45	15,08	10,11	6,05	33,58	14,49	3,445
AUC 4-6	7,28	10,50	15,51	17,51	9,48	8,48	34,29	14,72	3,556
AUC 6-10	13,58	19,95	21,54	32,12	30,77	20,46	57,32	27,96	5,467
AUC 10-22	18,51	149,31	45,57	91,27	70,91	33,73	178,30	83,94	22,718
AUC 22- ∞	18,51	110,36	24,45	48,37	70,91	33,73	94,92	57,32	13,484
AUC 0- ∞	72,15	310,27	132,28	211,68	199,29	106,88	409,86	206,06	45,167

Anexo 13 – Incidência de lesão gástrica nível 1 (N1) induzida por AAS em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).

Tratamento/ Animal	Ágar-ágar 1,5%	Cimetidina	Acetato de zinco	Piroxicam	Piroxicam- zinco
1	21	0	15	29	18
2	11	0	8	20	8
3	30	7	6	16	10
4	25	7	10	18	5
5	17	5	11	15	17
6	14	0	6	15	13
7	13	-	11	18	5
8	-	-	-	-	15
Média	18,71	3,56	9,57	18,71	11,38
E.P.M.	0.44	1,59	1,21	1,85	1,62

Anexo 14 – Incidência de lesão gástrica nível 2 (N2) induzida por AAS em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).

Tratamento/ Animal	Ágar-ágar 1,5%	Cimetidina	Acetato de zinco	Piroxicam	Piroxicam- zinco
1	4	0	4	3	9
2	3	1	4	6	8
3	9	2	2	10	0
4	16	1	4	10	2
5	5	0	3	9	9
6	3	-	1	7	4
7	4	-	3	9	0
8	-	-	-	-	6
Média	6,29	0,80	3,00	7,71	4,75
E.P.M.	1,80	0,37	0,44	0,97	1,35

Anexo 15 – Incidência de lesão gástrica nível 3 (N3) induzida por AAS em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).

Tratamento/ Animal	Ágar-ágar 1,5%	Cimetidina	Acetato de zinco	Piroxicam	Piroxicam- zinco
1	4	0	0	8	3
2	2	0	4	8	4
3	8	1	0	4	0
4	5	0	6	1	0
5	3	0	2	2	3
6	3	-	1	3	7
7	4	-	5	3	0
8	-	-	-	-	4
Média	4,14	0,17	2,57	4,14	2,63
E.P.M.	0,73	0,21	0,92	1,06	0,89

Anexo 16 – Índice de lesão ulcerativa (ILU) induzido por AAS em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).

Tratamento/ Animal	Ágar-ágar 1,5%	Cimetidina	Acetato de zinco	Piroxicam	Piroxicam- zinco
1	41	0	23	59	45
2	23	2	28	56	36
3	72	14	10	48	10
4	72	9	36	41	9
5	36	5	23	39	44
6	29	-	11	38	42
7	33	-	32	45	5
8	-	-	-	-	39
Média	43,71	6,00	23,29	46,57	28,75
E.P.M.	7,60	2,51	3,74	3,12	6,18

Anexo 17 – Incidência de úlceras totais (UT) induzida por AAS em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).

Tratamento/ Animal	Ágar-ágar 1,5%	Cimetidina	Acetato de zinco	Piroxicam	Piroxicam- zinco
1	29	0	19	40	30
2	16	1	16	34	20
3	47	10	8	30	10
4	46	8	20	29	7
5	25	5	16	26	29
6	20	-	8	25	24
7	21	-	19	30	5
8	-	-	-	-	25
Média	29,14	4,00	15,14	30,57	18,75
E.P.M.	0,59	2,08	2,09	1,93	3,41

Anexo 18 – Incidência de lesão gástrica nível 1 (N1) induzida por etanol em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).

Tratamento/ Animal	Ágar-ágar 1,5%	Cimetidina	Acetato de zinco	Piroxicam	Piroxicam- zinco
1	10	6	12	12	43
2	8	7	2	18	8
3	13	10	8	3	29
4	6	1	13	12	19
5	5	11	12	4	12
6	35	9	3	10	21
7	13	13	2	8	20
8	10	9	-	24	12
Média	13,57	8,25	7,42	11,11	20,50
E.P.M.	3,70	1,29	1,90	2,20	3,96

Anexo 19 – Incidência de lesão gástrica nível 2 (N2) induzida por etanol em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).

Tratamento/ Animal	Ágar-ágar 1,5%	Cimetidina	Acetato de zinco	Piroxicam	Piroxicam- zinco
1	4	5	8	6	8
2	4	8	1	10	11
3	6	9	6	8	11
4	2	4	10	11	14
5	2	10	10	4	9
6	5	3	0	10	9
7	7	4	2	11	11
8	5	5		16	7
Média	4,38	6,00	5,30	9,55	10,00
E.P.M.	0,62	0,93	1,61	1,13	0,78

Anexo 20 – Incidência de lesão gástrica nível 3 (N3) induzida por etanol em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).

Tratamento/An imal	Ágar-ágar 1,5%	Cimetidina	Acetato de zinco	Piroxicam	Piroxicam- zinco
1	6	4	9	7	11
2	5	4	0	9	12
3	10	5	10	9	8
4	14	5	5	9	12
5	3	5	15	17	12
6	12	2	0	13	6
7	10	0	0	14	12
8	8	5		12	15
Média	8,50	3,75	5,80	11,11	11,00
E.P.M.	1,30	0,65	1,96	1,05	0,98

Anexo 21 – Índice de lesões ulcerativas (ILU) induzidas por etanol em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).

Tratamento/ Animal	Ágar-ágar 1,5%	Cimetidina	Acetato de zinco	Piroxicam	Piroxicam- zinco
1	36	28	55	45	92
2	31	35	4	65	66
3	45	43	50	46	75
4	52	24	48	61	83
5	18	46	77	63	66
6	81	21	3	69	57
7	57	21	6	72	78
8	44	34		92	71
Média	45,50	31,50	36,00	65,88	73,50
E.P.M.	7,71	3,93	9,89	5,36	4,49

Anexo 22 – Úlceras totais (UT) induzida por etanol em ratos tratados com ágar-ágar(10 mL/kg), cimetidina (100 mg/kg), acetato de zinco (2,74 mg/kg), piroxicam ou piroxicam-zinco (10 mg/kg).

Tratamento/ Animal	Ágar-ágar 1,5%	Cimetidina	Acetato de zinco	Piroxicam	Piroxicam- zinco
1	20	15	29	25	62
2	16	19	3	37	31
3	17	24	24	20	48
4	29	10	28	32	45
5	22	26	37	25	33
6	10	14	3	33	36
7	52	17	4	33	43
8	23	19		52	34
Média	25,38	18,00	19,10	32,63	41,50
E.P.M.	5,11	2,14	4,82	3,86	4,21