

RAFAEL MESSIAS LUIZ

**AVALIAÇÃO FARMACOCINÉTICA DO PROPOFOL EM
NANOEMULSÃO EM CÃES**

LAGES – SC

2012

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

RAFAEL MESSIAS LUIZ

AVALIAÇÃO FARMACOCINÉTICA DO PROPOFOL EM
NANOEMULSÃO EM CÃES

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências Agroveterinárias – UDESC, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Nilson Oleskovicz

LAGES – SC

2012

Luiz, Rafael Messias
Avaliação farmacocinética do propofol em nanoemulsão em cães /
Rafael Messias Luiz ; orientador: Nilson Oleskovicz . – Lages, 2012.
70p.

Inclui referências.

Dissertação (mestrado) – Centro de Ciências Agroveterinárias /
UDESC.

1. Propofol . 2. Farmacocinética . 3. Cães . 4. Nanoemulsão.
I. Título.

CDD – 636.08951

RAFAEL MESSIAS LUIZ

**AVALIAÇÃO FARMACOCINÉTICA DO PROPOFOL EM
NANOEMULSÃO EM CÃES**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no
Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal

Banca Examinadora:

Orientador:

Prof. Dr. Nilson Oleskovicz
Departamento de Medicina Veterinária – CAV/UDESC/Lages - SC

Membro:

Prof. Dr. Aury Nunes de Moraes
Departamento de Medicina Veterinária – CAV/UDESC/Lages - SC

Membro:

Prof. Dr. Adriano Bonfim Carregaro
Departamento de Zootecnia – USP/Pirassununga - SP

Membro:

Prof. Dr. Anicleto Poli
Departamento de Farmacologia– UFSC/Florianópolis - SC

Lages, SC, 13/02/2012

A minha família, por todo o apoio e confiança
para que meus objetivos fossem alcançados,
dedico este trabalho a vocês.

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Ana e meus avós Jayme e Thereza pelo apoio e incentivo para superar as inúmeras dificuldades enfrentadas até aqui, não medindo esforços para sempre tentar ajudar mesmo estando a quilômetros de distância, sempre preocupados com a minha formação, sou grato pelas conquistas que consegui e pelas que virão.

A minha noiva Paula pelo amor, companheirismo, amizade, apoio e por sempre acreditar que tudo daria certo mesmo nos momentos em que nem mesmo eu achava que daria.

Ao prof. Dr. Nilson Oleskovicz, orientador e amigo, por ter aceitado me orientar nesses dois longos anos de mestrado, um exemplo de profissional com quem pude aprender que planejamento e trabalho em grupo são de fundamental importância para se atingir os objetivos.

Aos professores Dr. Aury Nunes de Moraes e Dra. Suzane Lilian Beier pela ajuda, experiência e conhecimentos, sempre dispostos a tirar minhas inúmeras dúvidas sobre anestesiologia.

Ao Martiello, amigo de mestrado e república, obrigado pela ajuda durante o ano em que estive em Palotina.

Aos amigos Daniela, Kleber, Luísa, Felipe, Ademir, Renato, Marcos, Gabriela e Tiago pelos inúmeros momentos de descontração que tornaram agradável minha temporada em Lages.

Aos bolsistas de iniciação científica que ajudaram na realização deste estudo.

Aos Professores e Funcionários do Hospital Veterinário CAV/UDESC

A CAPES pela bolsa de mestrado concedida e a empresa Ourofino Saúde Animal pelo auxílio financeiro, sem o qual não seria possível a realização deste estudo.

“Os desafios não são difíceis porque tentamos; é por não tentarmos que são difíceis” *Sêneca*

RESUMO

LUIZ, Rafael Messias. **Avaliação farmacocinética do propofol em nanoemulsão em cães**, 2012, 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal – Área: Anestesiologia Veterinária) – Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Lages, 2012.

Os recentes avanços no campo da farmacotécnica criaram novas formulações para fármacos consagrados na rotina clínica como o propofol. Essas formulações são constituídas por sistemas nanoemulsionados, caracterizados pela ausência do veículo lipídico. A alteração no veículo pode acarretar alterações farmacocinéticas e farmacodinâmicas, resultando em alterações na distribuição e excreção do propofol. O objetivo deste estudo foi avaliar a farmacocinética de uma nova formulação de propofol em nanoemulsão do tipo óleo em água, que apresenta como surfactantes Solutol HS 15 e glicerol, comparando com a formulação tradicional em emulsão lipídica. Foram utilizadas seis cadelas sem raça definida, castradas ($10,7 \pm 1,5$ kg) que receberam as duas formulações de propofol (EMU – emulsão lipídica ou NANO - nanoemulsão) sendo administrado uma dose bolus de 8 mg/kg seguida de infusão contínua por 60 minutos na dose de 0,4 mg/kg/min, com intervalo mínimo de 30 dias entre as fases do experimento. Amostras de sangue arterial para a detecção da concentração plasmática de propofol por cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massa foram coletadas momentos antes da indução (0), 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a dose bolus, após o término da infusão foram realizadas coletas nos tempos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos e 2, 3, 4, 6, 10 e 24 horas após o término da infusão. Os resultados dos parâmetros farmacocinéticos de volume de distribuição, depuração, constante de eliminação, meia-vida e constantes de distribuição foram avaliados através de “Teste T pareado” com 5% de significância e o teste de bioequivalência entre as formulações foi realizado por meio da razão dos valores de C_{max} e ASC_{0-24} que devem estar no intervalo de bioequivalência de 80 a 125%. Não foram encontradas diferenças significativas nos parâmetros farmacocinéticos entre os grupos avaliados e as formulações não apresentaram bioequivalência. Os resultados obtidos demonstram que esta formulação de propofol em nanoemulsão não apresenta alteração farmacocinética em relação a formulação padrão, podendo ser empregada com segurança em cães no regime de infusão contínua por apresentar as mesmas características farmacocinéticas do propofol em emulsão lipídica.

Palavras-chave: Propofol. Farmacocinética. Cães. Nanoemulsão.

ABSTRACT

LUIZ, Rafael Messias. **Pharmacokinetics analyses of a propofol nanoemulsion in dogs**, 2012, 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal – Área: Anestesiologia Veterinária) – Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Lages, 2012.

Recent advances in pharmaceutical technology have created new formulations for established drugs such as propofol, these new formulations are compound by nanoemulsion systems and characterized by the absence of lipid vehicle. Changes in drug`s vehicle may alter the pharmacokinetics and pharmacodynamics, resulting in differences in propofol`s distribution and elimination. The goals of this study is evaluate the pharmacokinetics of a new oil in water propofol formulation, which presents as surfactants SOLUTOL HS 15 and glycerol and compare with the traditional lipid emulsion. Were used six neutral female mongrel dogs (10.7 ± 1.5 kg) who received both propofol`s formulations (EMU - lipid emulsion or NANO - nanoemulsion) administered as a bolus dose of 8 mg/kg followed by continuous rate infusion for 60 minutes at 0.4 mg/kg/min, with a minimum interval of 30 days between experimental phases. Arterial blood samples were obtained for propofol plasma concentration detection by liquid chromatography with detection by mass spectrometry were collected just before induction (0), 2, 5, 10, 15, 30 and 60 minutes after the bolus dose, after end of infusion were collected at 5, 10, 15, 30, 60 and 90 minutes and 2, 3, 4, 6, 10 and 24 hours after the end of infusion. The pharmacokinetics parameters of volume of distribution, clearance, elimination constant, half life and distribution constants were evaluated using "paired t-test" with 5% significance level and bioequivalence test was made by reason of Cmax and AUC₀₋₂₄ that should be in the range of 80 to 125% bioequivalence. There were no significant differences in pharmacokinetics parameters between groups and the formulations didn't show bioequivalence. The results shows that this propofol nanoemulsion has the same pharmacokinetics characteristics of lipid emulsion and can be used safely in dogs by continuous infusion system.

Key-words: Propofol. Pharmacokinetics. Dogs. Nanoemulsion.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Representação esquemática do período experimental e dos tempos de coleta das amostras de sangue arterial para detecção de propofol por cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massas em cadelas submetidas à indução e manutenção anestésica por infusão contínua com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6). 26
- Figura 2 - Concentrações plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$) durante o período de infusão contínua de propofol em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6). 31
- Figura 3 - Concentrações plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$) após a infusão contínua de propofol em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6). 32

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Sumário do método bioanalítico utilizado para determinação das concentrações plasmáticas de propofol por cromatografia líquida (LC) com detecção por Espectrofotometria de Massas em cadelas submetidas à indução anestésica e manutenção anestésica por infusão contínua com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6) 27
- Tabela 2 - Condições cromatográficas e de extração de amostras plasmáticas de cadelas submetidas à indução e manutenção anestésica por infusão contínua com propofol em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6) por cromatografia líquida (LC) com detecção por Espectrofotometria de Massas. 28
- Tabela 3 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros farmacocinéticos de Concentração plasmática máxima (C_{max}), área sob a curva em 24 horas (ASC_{0-24}) e ao infinito (ASC_{0-inf}) em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6). 33
- Tabela 4 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros farmacocinéticos de volume de distribuição do compartimento central (V_1), segundo compartimento (V_2), terceiro compartimento (V_3) e no estado de equilíbrio (V_{dss}) em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6). 33
- Tabela 5 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros farmacocinéticos de clearance total (Cl), metabólico (Cl_1), segundo compartimento (Cl_2) e do terceiro compartimento (Cl_3) em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6). 34
- Tabela 6 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros farmacocinéticos de meia-vida de distribuição rápida ($T_{1/2\alpha}$), distribuição lenta ($T_{1/2\beta}$) e eliminação ($T_{1/2\gamma}$) em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6). 34
- Tabela 7 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros farmacocinéticos das constantes de eliminação (k_{10}) e distribuição intercompartimental (k_{12} , k_{13} , k_{21} , k_{31}) em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6). 34

Tabela 8 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros farmacocinéticos de constante de eliminação rápida (α), lenta (β) e terminal (γ) e tempo de residência médio (MRT) em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6)	35
Tabela 9 - Valores médios e desvio padrão para tempo de recuperação (T_{rec}) e Concentração plasmática para recuperação ($C_{p_{rec}}$) em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6).	35
Tabela 10 - Intervalo de Confiança de 90% para a razão das médias de C_{max} e ASC_{0-24} em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6).	36

LISTA DE ABREVIATURAS

ASC	área sob a curva
ASC _[0-24]	área sob a curva do tempo zero a 24 horas
ASC _[0-∞]	área sob a curva do tempo zero ao infinito
C _p	concentração plasmática
C _{prec}	concentração plasmática para recuperação
C _{max}	concentração plasmática máxima
Cl	clearance total
Cl ₁	clearance metabólico
Cl ₂	clearance do segundo compartimento
Cl ₃	clearance do terceiro compartimento
EMU	emulsão lipídica
K ₁₀	constante de eliminação
K ₁₂	constante de distribuição do compartimento central para o segundo compartimento
K ₁₃	constante de distribuição do compartimento central para o terceiro compartimento
K ₂₁	constante de redistribuição do segundo compartimento para o central
K ₃₁	constante de redistribuição do terceiro compartimento para o central
IC 90%	intervalo de confiança de 90%
LC	cromatografia líquida
MPA	Medicação pré-anestésica
MRT	tempo de residência médio
MS/MS	espectrometria de massa
NANO	nanoemulsão

pH	potencial de hidrogênio
SRD	sem raça definida
$T_{1/2\alpha}$	meia-vida de distribuição rápida
$T_{1/2\beta}$	meia-vida de distribuição lenta ou de eliminação
$T_{1/2\gamma}$	meia-vida de eliminação terminal
IAC	infusão alvo controlada
ATI	anestesia total intravenosa
t_{\max}	tempo para concentração máxima
V%	volume por cento
V_d	volume de distribuição
V_1	volume de distribuição do compartimento central
V_2	volume de distribuição do segundo compartimento
V_3	volume de distribuição do terceiro compartimento
V_{dss}	volume de distribuição no estado de equilíbrio

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	15
1 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
1.1 PROPOFOL	17
1.2 NANOEMULSÃO.....	19
1.3 FARMACOCINÉTICA.....	21
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
2.1 ANIMAIS.....	23
2.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	23
2.3 COLETA DAS AMOSTRAS.....	25
2.4 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA.....	26
2.4.1 Validação do método bioanalítico	26
2.4.2 Extração das amostras	28
2.4.3 Cálculo de concentração plasmática	29
2.5 ANÁLISE FARMACOCINÉTICA	29
2.6 – ANÁLISE DE BIOEQUIVALÊNCIA	29
2.7 – ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	30
3 – RESULTADOS.....	31
3.1 – CONCENTRAÇÃO PLAMÁTICA DURANTE A INFUSÃO.....	31
3.2 - CONCENTRAÇÃO PLAMÁTICA APÓS A INFUSÃO	31
3.3 PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS.....	32
3.3.1 Concentração plasmática máxima, área sob a curva em 24 horas e ao infinito e tempo para concentração máxima	32
3.3.2 Volume de distribuição	33
3.3.3 Clearance.....	33
3.3.4 Meia-vida.....	34
3.3.5 Constantes de eliminação e distribuição intercompartimental.....	34
3.3.6 Constante de eliminação compartimental e tempo de residência médio	35
3.3.7 Recuperação.....	35
3.3.8 Análise de bioequivalência.....	35
4 DISCUSSÃO	37

5 CONCLUSÃO	48
6 REFERÊNCIAS.....	49
7 ANEXOS.....	60

INTRODUÇÃO

O propofol é um fármaco anestésico geral amplamente empregado na Medicina Humana e Veterinária, sendo introduzido na rotina clínica no final da década de 1980 (WHITE, 2005). Em cães, tem a característica de possuir rápido início de ação, curta duração, fácil titulação, rápida depuração, ausência de efeito cumulativo, recuperação rápida e suave (TSAI et al., 2007), características estas, desejáveis em um anestésico injetável (WHITE, 2005).

Usualmente, o propofol é utilizado como agente de indução anestésica em uma única dose bolus, tendo doses variando de 2 a 8 mg/kg por via intravenosa (MASSONE e CORTOPASSI, 2009). Além da indução anestésica, o propofol pode ser empregado na manutenção da anestesia. Esta pode ser realizada por duas técnicas, o bolus intermitente e a infusão contínua, sendo a dose empregada na manutenção dependente dos fármacos empregados no procedimento anestésico e do estímulo cirúrgico (PIRES et al., 2000; GASPARINI et al., 2009). As doses empregadas na manutenção anestésica por infusão contínua variam de 0,1 a 0,6 mg/kg/min (DERYCK et al., 1996; FERRO et al., 2005; TSAI et al., 2007).

A apresentação em emulsão lipídica do propofol é amplamente difundida em anestesiologia veterinária, entretanto apresenta algumas características indesejáveis como um tempo de estocagem muito curto, manutenção sob temperatura controlada (entre 2 e 25°C) e ao abrigo da luz, possuindo potencial risco de contaminação caso não seja manipulado asséptica e adequadamente (DERYCK et al., 1996; CHEN et al., 2005; MASSONE e CORTOPASSI, 2009).

A emulsão lipídica é composta por óleo de soja, fosfolipídeos de ovo purificado e glicerol, conferindo à solução um aspecto leitoso com pH em torno de 7 a 8,5. Devido ao veículo ser um meio favorável ao crescimento bacteriano, após a abertura do frasco, mesmo em condições assépticas, o remanescente deve ser descartado (CORTOPASSI et al., 2000; THOMPSON e GOODALE, 2000).

Como alternativa a emulsão lipídica, estão sendo desenvolvidas formulações em nanoemulsões. Nestas, o propofol apresenta-se como uma emulsão transparente e termodinamicamente estável, excluindo o óleo de soja e o fosfolípido de ovo (MOREY et al., 2006^b; STRUYS et al., 2007).

Algumas das vantagens da utilização da formulação em nanoemulsão incluem menor dor à aplicação, maior vida de prateleira e reduzida propensão ao crescimento bacteriano devido à ausência de compostos lipídicos (MOREY et al., 2006^b). Além de todas estas vantagens, algumas formulações diferenciadas de propofol buscam ainda, reduzir a distribuição lipídica deste fármaco (FECHNER et al., 2004).

Diversos estudos utilizando novas formulações de propofol vêm sendo realizados (RAVENELLE et al., 2008; CLEALE et al., 2009; LEE et al., 2009; CORRÊA, 2010; TAMANHO, 2010;). Fechner et al. (2004), em estudo utilizando uma nova formulação de propofol citam que os efeitos cardiovasculares do fármaco podem ser influenciados pelo solvente lipídico utilizado e ainda comprovam que a formulação utilizada apresentou parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos diferentes da emulsão convencional, assim como ocorreu com as emulsões avaliadas por Calvo et al. (2004) e a nanoemulsão utilizada por Kim et al. (2007) e Morey et al. (2006^a). Estes relatos comprovam a necessidade de estudos clínicos e farmacocinéticos quando do surgimento de novas formulações de um mesmo fármaco.

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 PROPOFOL

O propofol (2,6-diisopropilfenol) é um fármaco anestésico intravenoso de curta duração (REID e NOLAN, 1996; TRAPANI et al., 2004) pertencente ao grupo alquilfenol, sendo introduzido na rotina clínica como agente indutor anestésico alternativo aos agentes barbitúricos empregados como o tiopental e metoexital (WHITE, 2008).

A indução anestésica com propofol é caracterizada por rápida hipnose, curta duração, livre de efeitos cumulativos e rápido metabolismo, havendo mínima excitação e recuperação anestésica suave. Efeitos adversos como bradicardia, redução da pressão arterial e depressão respiratória são frequentemente observados (TRAPANI et al., 2004; TSAI et al., 2008).

Os efeitos anestésicos são decorrentes da ativação e potencialização do neurotransmissor γ -amino-butírico-A (GABA-A) e da inibição ou redução da liberação de glutamato, com conseqüente inibição dos canais de sódio dependentes do glutamato (JUNGHEINRICH et al., 2002; KOTANI et al., 2008).

Devido ao propofol ser um sal pouco solúvel em água, suas primeiras formulações na década de 1970 continham óleo de cremofol, este foi empregado com o intuito de melhorar a lipossolubilidade da solução, porém causava reações de hipersensibilidade e anafilaxia, fazendo com que o propofol não ganhasse popularidade e fosse reformulado anos mais tarde (KAY e ROLLY, 1977; FRYER, 2004; TRAPANI et al., 2004).

O propofol possui como características ser um composto altamente lipossolúvel, com 98% de ligação as proteínas plasmáticas (FRYER, 2004). A atual formulação de propofol, desenvolvida na década de 1980, é uma emulsão óleo em água (TRAPANI et al., 1996; ALTOMARE et al., 2003), sendo encontrada nas apresentações a 1 e 2%. Os constituintes da emulsão lipídica são óleo de soja (10%), glicerol (2,25%), fosfato de ovo purificado (1,2%) e EDTA (0,005%) (ALTOMARE et al., 2003; KOTANI et al., 2008).

Devido aos componentes de sua fórmula, o propofol apresenta alguns inconvenientes como dor à aplicação, necessidade de armazenamento sob refrigeração, apresenta-se como um meio rico para crescimento microbiológico,

possibilidade de formação de êmbolos e baixa estabilidade física (TRAPANI et al., 1998; TRAPANI et al., 2004). As características farmacotécnicas da formulação lipídica proporcionam à solução um pH neutro e pKa de 11,0 fazendo com que a solução se encontre 99,9% em sua forma não ionizada e apresente alta lipossolubilidade (FRYER, 2004).

O propofol apresenta biotransformação preferencialmente hepática, sendo conjugado por glicuronidação e sulfatação nas reações hepáticas de fase II (CHEN et al., 2000; JUNGHEINRICH et al., 2002) o que leva a formação de glicuronídeos, quinol (FRYER, 2004; ALLEGAERT et al., 2008) e metabolitos inativos (COURT et al., 1999) que são excretados pela urina (LUNDSTRÖM et al., 2010). Apenas 0,3% da dose administrada não é biotransformada, sofrendo excreção renal em sua forma ativa (JUNGHEINRICH et al., 2002).

Considerando as características farmacocinéticas como rápido início de ação, curta duração, rápido metabolismo extra-hepático e rápida depuração, o propofol é indicado para a indução e manutenção anestésica (TRAPANI et al., 2004) em diversas espécies (CORREIA et al., 1996; BOSCAN et al., 2010), seja em bolus ou por técnicas de infusão contínua, promovendo indução suave e hipnose com mínima excitação (ALTOMARE et al., 2003).

A indução anestésica com propofol para posterior manutenção com anestesia inalatória é empregado de forma corriqueira em medicina veterinária com doses de propofol variando de 2 a 8 mg/kg (MASSONE e CORTOPASSI, 2009) sendo observado principalmente depressão do sistema respiratório, com apneia, diminuição do volume minuto, hipercapnia e redução da frequência respiratória (MUIR e GADAWSKI, 1998). No sistema cardiovascular são relatados diminuição do débito cardíaco e hipotensão (FERRO et al., 2005; MUIR et al., 2008).

Diversas técnicas de manutenção anestésica vêm sendo desenvolvidas como alternativa a anestesia inalatória, seja esta realizada por bolus intermitente, infusão contínua (IC) ou infusão alvo-controlada (IAC) (ANDREONI e HUGHES, 2009; BETHS et al., 2001). O bolus intermitente é o menos recomendado, havendo grande flutuação da concentração plasmática e do plano anestésico com maior gasto de anestésico para a manutenção (SHORT e BUFALARI, 1999; TSAI et al., 2008). As técnicas de anestesia total intravenosa (ATI), seja por taxa fixa ou por IAC são consideradas tão efetivas quanto a manutenção anestésica por agentes inalatórios,

sendo relatado menor alteração hemodinâmica em pacientes anestesiados por ATI de propofol (DERYCK et al., 1996; TSAI et al., 2008).

Dentre as técnicas de manutenção, a IAC é a técnica mais moderna e propicia uma anestesia segura, com fácil controle do plano anestésico (BETHS et al., 2001) e concentrações plasmáticas estáveis ao longo do procedimento anestésico (KIM et al., 2010), havendo menor gasto do agente anestésico e recuperação mais rápida e suave (HATSCHBACH et al., 2008).

1.2 NANOEMULSÃO

As nanoemulsões são soluções que possuem partículas medindo entre 1 e 100 nanômetros (GAUR e BHATIA, 2008). Estas estão se tornando a principal tecnologia no desenvolvimento de medicamentos (GUTIÉRREZ et al., 2008), sendo uma alternativa farmacotécnica para princípios ativos lipofílicos e pouco solúveis como o propofol (WANG et al., 2007; DATE e NAGARSENKER, 2008) pois melhoram a solubilização do princípio ativo em meio aquoso, tornando o composto mais biodisponível (FORMARIZ et al., 2005).

A tecnologia das nanoemulsões é baseada nas membranas celulares onde o componente lipofílico é protegido por compostos hidrofílicos, que atuam como veículo do princípio ativo, favorecendo sua distribuição e excreção (FORMARIZ et al., 2005; WANG et al., 2007; GUTIÉRREZ et al., 2008).

Em sua maioria, os veículos nanoemulsionados são compostos por polímeros biodegradáveis sendo o polietilenoglicol-660-hidroxiestearato (Solutol HS 15) frequentemente empregado nas formulações em nanoemulsão de propofol. Suas moléculas medem entre 1 e 50 nanômetros, sendo esta característica favorável a distribuição do fármaco em seu local de ação pois o tamanho molecular reduzido facilita o transporte ao sítio alvo sem que ocorram grandes perdas plasmáticas (BENNEWITZ e SALTZMAN, 2009).

As apresentações farmacológicas em nanoemulsão são compostas por algumas fases. As formulações mais frequentes são do tipo óleo em água, as quais são compostas por uma fase oleosa, um surfactante, um cosurfactante e uma fase aquosa (DATE e NAGARSENKET, 2008), sendo que o componente lipofílico é disperso na forma de gotículas coloidais no veículo que constitui a fase aquosa da formulação (FORMARIZ et al., 2005).

Os fármacos em nanoemulsão apresentam características como transparência, estabilidade física e térmica, ausência de conservantes, tamanho reduzido das moléculas e baixa viscosidade da solução (MOREY et al., 2006^b; DATE e NAGARSENKET, 2008; TAMILVANAN, 2009). Os veículos empregados nas nanoemulsões são estéreis, apirogênicos, biocompatíveis, não irritantes e não hemolíticos (DATE e NAGARSENKET, 2008; JENSEN et al., 2008), características estas que permitem o emprego das nanoemulsões por via parenteral no regime de bolus ou de infusão contínua (JENSEN et al., 2008).

Algumas vantagens do emprego de formulações nanoemulsionadas são as apresentações liofilizadas, a obtenção de maior concentração plasmática em decorrência do menor tamanho das partículas e a menor dor à aplicação em virtude da menor concentração de propofol livre da nanopartícula quando comparada com as formulações em emulsão lipídica (WANG et al., 2007; DATE e NAGARSENKET, 2008).

As nanoemulsões óleo em água de propofol são uma alternativa à formulação em emulsão lipídica (JENSEN et al., 2008). Em nanoemulsão, o propofol é combinado com surfactantes gerando uma solução transparente, incolor e termodinamicamente estável (MOREY et al., 2006^b) com partículas medindo em torno de 20nm (GUTIÉRREZ et al., 2008) enquanto que na emulsão lipídica as partículas medem de 100 a 200 nm (BOSCAN et al., 2010).

A principal vantagem da formulação de propofol em nanoemulsão é a maior estabilidade física da formulação quando comparada a emulsão lipídica, característica esta que proporciona uma maior vida de prateleira ao produto, podendo este ser armazenado em temperatura ambiente sem o risco de contaminação microbiana (MOREY et al., 2006^b).

O uso clínico da nanoemulsão de propofol evita complicações frequentes do uso prolongado da formulação em emulsão lipídica como o embolismo, hipertrigliceridemia e pancreatite, hiperlipidemia, hepatomegalia e acidose metabólica (WANG et al., 2007; LEE et al., 2009).

As nanoemulsões de propofol, são caracterizadas por apresentarem alta solubilidade em meio aquoso, com distribuição extracelular e mínima distribuição tecidual (GRINDEL et al., 2002), fator que resulta em alteração farmacocinética entre as diferentes apresentações, sendo fundamental a realização de estudos específicos para cada nova formulação.

O Aquafol[®] é uma nanoemulsão, composta por propofol (1%), etilenoglicol (8%) e glicuírol (5%). Esta formulação não apresentou diferenças farmacocinéticas e farmacodinâmicas em relação ao propofol em emulsão lipídica (KIM et al., 2007). Outra formulação em nanoemulsão encontrada comercialmente é o Aquavan[®], a qual difere das demais por ser uma pró-droga que libera o propofol após hidrólise hepática, sendo encontradas diferenças farmacocinéticas como menor meia-vida, maior depuração e volume de distribuição quando comparado com a formulação em emulsão lipídica (FECHNER et al., 2004). Em geral, as formulações em nanoemulsão apresentam concentrações plasmáticas menores que a formulação convencional (RAVENELLE et al., 2008).

1.3 FARMACOCINÉTICA

A farmacocinética é uma área de grande importância dentro da anestesiologia, em especial quando tratamos de ATI e IAC (ABSALOM et al., 2009), sendo que o conhecimento da farmacocinética dos agentes anestésicos é de fundamental importância para a programação do sistema de infusão e para se prever qual a concentração plasmática do medicamento em uso (LEE et al., 2009).

Um estudo farmacocinético é por definição o estudo das velocidades com que ocorrem a absorção, distribuição, metabolização e eliminação de um fármaco (REUTEMANN e FORMENTINI, 2003; GLEN, 2005). Por meio do perfil farmacocinético, é possível explicar os fenômenos decorrentes da administração de um determinado fármaco, que são expressos por equações matemáticas (REUTEMANN e FORMENTINI, 2003)

Partindo deste ponto, foram desenvolvidos diversos estudos farmacocinéticos da formulação do propofol em emulsão lipídica, sendo que alguns descrevem os diferentes parâmetros farmacocinéticos para a formulação. A correlação entre a dose administrada e seus efeitos, pode ser explicada através dos parâmetros farmacocinéticos de volume de distribuição, meia-vida de eliminação e depuração (ABSALOM et al., 2009).

Os fármacos anestésicos em sua grande maioria apresentam modelo farmacocinético tricompartmental, onde, consideram o plasma como compartimento central e os tecidos como compartimentos de equilíbrio. Neste modelo observa-se

duas fases de distribuição antes da fase de eliminação (DOENICKE et al., 1997; GLEN, 2005).

O modelo farmacocinético que melhor explica o comportamento do propofol é o modelo dos três compartimentos (BRÁS et al., 2008; LEE et al., 2009). Neste caso, assume-se que o fármaco é administrado diretamente no compartimento central (MASSUI et al., 2009), sendo transferido por gradiente de concentração para seu sítio efetor até atingir o estado de equilíbrio nos tecidos (MUSK et al., 2005).

As diferenças farmacodinâmicas observadas entre as diferentes formulações de propofol são explicadas pela farmacocinética, em que, geralmente observa-se um alto volume de distribuição devido à afinidade da molécula por lipídeos, sendo liberado aos poucos para a eliminação (MORGAN et al., 1990).

Após uma dose em bolus de propofol, atingimos a concentração plasmática máxima (C_{max}) e este é o ponto onde temos os maiores efeitos clínicos (ABSALOM et al., 2009). Após atingir o pico plasmático, o fármaco é distribuído entre os compartimentos para atingir o estado de equilíbrio, sendo este estado dependente dos parâmetros farmacocinéticos de volume de distribuição, constante de eliminação e clearance (ABSALOM et al., 2009). No caso do propofol, tem-se um alto volume de distribuição e clearance, com conjugação hepática e excreção renal de metabolitos inativos (SANTOS et al., 2003; RAVENELLE et al., 2008).

Em relação à farmacocinética do propofol em nanoemulsão, este apresenta rápida distribuição e metabolização (JENSEN et al., 2008), com elevado volume de distribuição, após administração em dose única (KANTO e GEPTS, 1989; VUYK, 1997).

Para estudos de bioequivalência, a comparação da área sob a curva (ASC) é o parâmetro farmacocinético mais importante sendo utilizada para comparação da dose total absorvida ou presente no plasma (CAMPOS e GOMES, 2011).

Diante do exposto, objetiva-se com o presente estudo, estabelecer os parâmetros farmacocinéticos para a espécie canina do propofol em nanoemulsão e verificar as possíveis diferenças entre os parâmetros farmacocinéticos da formulação em nanoemulsão e da emulsão lipídica, bem como avaliar a bioequivalência entre as duas formulações.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Bem Estar Animal (CETEA) da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), sob o protocolo 1.32/10.

2.1 ANIMAIS

Foram utilizadas seis cadelas, sem raça definida (SRD), castradas, com idade entre 2 e 4 anos, em bom estado corpóreo com peso médio de $10,7 \pm 1,5$ kg, provenientes do Centro de controle de Zoonoses (CCZ) do município de Lages – SC. Todos os animais foram classificados, segundo os critérios da Sociedade Americana de Anestesiologia (ASA), como ASA I, através de exame clínico e complementares que incluíram: hemograma, função renal (uréia e creatinina), função hepática (alanina aminotransferase, fosfatase alcalina e gama glutamil transferase), sendo estes realizados uma semana antes de cada fase experimental.

Os animais foram submetidos a um período de adaptação de seis meses, sendo alocados aos pares em baias de 4m², recebendo água *ad libitum* e ração comercial¹ duas vezes ao dia. Todos os animais foram vacinados² antes de iniciar o período de adaptação e vermifugados³ a cada três meses.

O experimento foi delineado em cross over, sendo que as unidades experimentais eram submetidas aos dois tratamentos avaliados com um intervalo mínimo de 30 dias entre as fases de experimentação. Os animais foram identificados por números e o sorteio dos tratamentos foi realizado de forma aleatória.

2.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Após o período de adaptação, os cães foram submetidos a jejum alimentar de 12 horas e hídrico de duas horas antes do período de experimentação. Foi realizada a tricotomia das regiões da artéria metatarsiana dorsal e das veias cefálicas para a instrumentação do animal.

¹ Ração Foster Premium – Nutriara Alimentos – MT, Brasil

² Defensor e Vanguard (HTPL 5/CV-L) - Laboratórios Pfizer Ltda.

³ Top Dog - Ouro Fino Saúde Animal Ltda., Cravinhos, SP, Brasil

Os animais foram posicionados sobre colchão térmico ativo para a indução anestésica com isofluorano⁴ a 5 V% diluído em oxigênio a 100% no fluxo de 2 L/min por meio de mascaró facial. Após a perda dos reflexos protetores, os animais foram intubados com sonda endotraqueal de tamanho apropriado. A manutenção anestésica foi realizada em sistema com reinalação parcial de gases com 1 a 1,5 V% de isofluorano diluído em oxigênio a 100% na taxa de 50 ml/kg/min. Os animais foram mantidos em regime de ventilação espontânea com capnografia entre 35 e 45 mmHg e oximetria acima de 95%.

Logo em seguida à indução, o paciente foi posicionado em decúbito lateral direito onde foi realizado bloqueio anestésico local da região da artéria metatarsiana dorsal direita com lidocaína⁵ a 2% sem vasoconstritor no volume total de 0,3 ml. Após o bloqueio, a artéria foi cateterizada com cateter 22G⁶, para a colheita de sangue arterial para as análises cromatográficas. Foi acoplado um adaptador do tipo PRN⁷ ao cateter para a coleta das amostras, sendo o mesmo coberto com atadura do tipo vetrap⁸. O cateter foi heparinizado com 0,3 mL de solução heparinizada a 5,0 UI/mL, sendo este volume aplicado no cateter após cada coleta de sangue.

Foi realizada a cateterização das veias cefálicas direita e esquerda com cateter 22G, um acesso para a administração de solução salina a 0,9% na taxa de 5 ml/kg/h em bomba de infusão peristáltica⁹ e o outro para administrar propofol através de bomba de infusão de seringa¹⁰.

Terminada a instrumentação do animal, aguardou-se um período mínimo de uma hora após a recuperação anestésica para o início do período de experimentação. Após a recuperação do período de instrumentação, o animal foi posicionado sobre colchão térmico ativo em decúbito lateral direito, sendo instituído a fluidoterapia de manutenção com solução de cloreto de sódio a 0,9% na taxa de 5 ml/kg/h na veia cefálica direita e a administração de propofol na veia cefálica esquerda.

⁴ Isoforine®, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda, Itapira, SP, Brasil.

⁵ Xylestesin® 2%, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda, Itapira, SP, Brasil.

⁶ BD Angiocath – Becton Dickinson, ind. Cirúrgica LTDA –MG, Brasil.

⁷ Adaptador PRN – BD Interlink – Becton Dickinson ind. Cirúrgica LTDA – MG, Brasil.

⁸ Bandagem Petflex – Petflex – SP, Brasil

⁹ Bomba DIGIPUMP LP-5100, Digicare, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

¹⁰ Bomba de infusão de seringa LIGNEA SEP-10S Plus, Biosensor, São Paulo, SP, Brasil.

O propofol a 1% em emulsão lipídica¹¹ e em nanoemulsão¹² foram administrados aos animais após sorteio, sendo a indução e a manutenção realizada com a mesma formulação de propofol. Em ambos os tratamentos foi utilizado o seguinte protocolo: indução anestésica na dose de 8 mg/kg em dose *bolus* administrado no período de um minuto seguido por infusão contínua na taxa de 0,4 mg/kg/min durante uma hora.

Após o término da infusão de propofol, foram retirados os catéteres das veias cefálicas e o animal permaneceu sobre o colchão térmico até a recuperação total da anestesia. Após a recuperação total, o animal permaneceu em uma baia de 0,75 m² por todo o período experimental, recebendo água *ad libitum* após 2 horas e alimentação controlada após cada colheita a partir de 4 horas do término da infusão contínua de propofol.

2.3 COLHEITA DAS AMOSTRAS

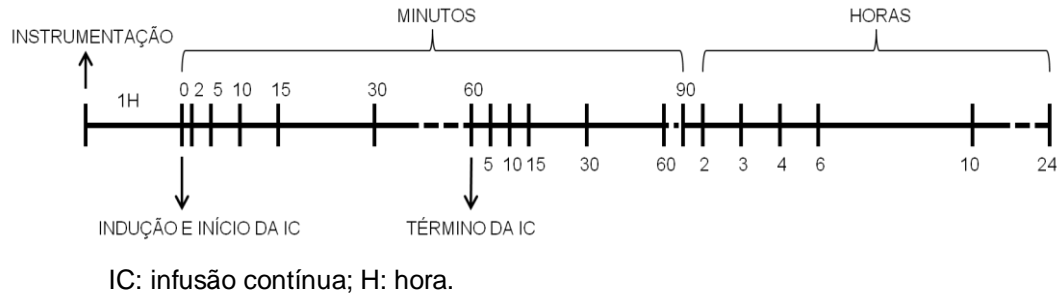
Para a avaliação cinética do propofol, foram colhidas 3,0 ml de sangue arterial proveniente da artéria metatarsiana dorsal em tubos com EDTA. A colheita das amostras foi dividida em duas etapas, durante a infusão contínua de propofol e após o término da infusão contínua, totalizando 19 coletas por animal em cada fase do experimento.

Os tempos de colheita das amostras durante a infusão foram realizadas nos seguintes tempos: momento antes da indução (0), 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos após a dose bolus. Após o término da infusão contínua foram realizadas coletas nos tempos 5, 10, 15, 30, 60 e 90 minutos e 2, 3, 4, 6, 10 e 24 horas após o término da infusão (FIGURA 1).

¹¹ Propovan® (10mg/mL), Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda., Itapira, SP, Brasil

¹² Propovet® (10mg/mL), lote piloto: 001/09, fab: maio/2009, Ouro Fino Saúde Animal Ltda., Cravinhos, SP, Brasil

Figura 1 - Representação esquemática do período experimental e dos tempos de coleta das amostras de sangue arterial para detecção de propofol por cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massas em cadelas submetidas à indução e manutenção anestésica por infusão contínua com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6).



As amostras foram centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos, sendo o plasma separado e dividido em três alíquotas de aproximadamente 0,5 ml em tubos do tipo eppendorf. O armazenamento das amostras foi realizado em freezer a -80°C até o momento de envio ao laboratório para a realização de análise cromatográfica.

2.4 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

As concentrações plasmáticas de propofol foram determinadas por cromatografia líquida (LC) com detecção por Espectrometria de Massas (MS/MS), utilizando como fonte de ionização electrospray de modo positivo segundo técnica desenvolvida e validada pelo laboratório BIOTEC Biotecnologia, Campinas-SP.

2.4.1 Validação do método bioanalítico

As análises cromatográficas foram processadas seguindo o método bioanalítico disposto na Tabela 1, sendo as condições cromatográficas e de extração presentes na Tabela 2.

Tabela 1 - Sumário do método bioanalítico utilizado para determinação das concentrações plasmáticas de propofol por cromatografia líquida (LC) com detecção por Espectrometria de Massas em cadelas submetidas à indução anestésica e manutenção anestésica por infusão contínua com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6)

Técnica analítica	LC-MS/MS
Analito	Propofol
Padrão interno	Timol
Matriz biológica	Plasma canino
Linearidade	20,04 – 19.780,2 ng/mL
Equação da curva	$Y = a + bx (1/x^2)$
Limite inferior de quantificação	20,04 ng/mL
Controle de qualidade baixo	60,11 ng/mL
Controle de qualidade médio	7.623,0 ng/mL
Controle de qualidade alto	15.246,0 ng/mL
Parâmetro de quantificação	Resposta (área analito/ área PI)
Parâmetro de detecção	Sinal-ruído maior do que 5
Tipo de ionização	Eletronspray (positivo)
Tempo de estabilidade de pós-processamento	23 horas
Ciclos de congelamento/descongelamento	3 ciclos
Tempo de estabilidade de curta duração	14 horas
Tempo de estabilidade de longa duração	Parcial (95 dias)

Fonte: BIOTEC Biotecnologia, Campinas-SP

Tabela 2 - Condições cromatográficas e de extração de amostras plasmáticas de cadelas submetidas à indução e manutenção anestésica por infusão contínua com propofol em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6) por cromatografia líquida (LC) com detecção por Espectrometria de Massas.

Fase móvel	Fase A: água + 0,5% de Ác. Fórmico Fase B: Acetonitrila + 0,5% de Ác. Fórmico
Coluna analítica	Phenomenex Luna C-18 15 cm
Pré coluna	Phenomenex C-18 4x3.0 mm
Pressão	42 bar
Temperatura da coluna	Ambiente
Volume de injeção	20 µL
Tempo total de corrida	7 min
Fluxo	1 mL/min
Split	01:01
Temperatura de auto injetor	14 ^o C
Gradiente de fase móvel	Não

Fonte: BIOTEC Biotecnologia, Campinas-SP

2.4.2 Extração das amostras

Todas as amostras foram preparadas segundo o protocolo abaixo:

- 1 – 50 µL da amostra de plasma foi pipetado em um tubo eppendorf adicionando 250 µL de acetona contendo o padrão interno timol (250 ng/ml) e agitou-se por 1 minuto em “vortex”. Para a amostra controle adicionou-se 250 µL de acetona em 50 µL de plasma.
- 2 – As amostras foram centrifugadas a 14000 rpm por 15 minutos a temperatura ambiente.
- 3 – Uma alíquota de 250 µL do sobrenadante foi transferida para um “vial” de vidro e adicionou-se 100 µL de cloreto de dansila e 20 µL de hidróxido de sódio.
- 4 – As amostras foram agitadas em “vortex” por 20 minutos e mantidas a 70^oC durante 10 minutos em banho seco.
- 5 – Uma alíquota de 200 µL de cada amostra foi transferida para um “vial” dos quais 20 µL foram injetados no sistema LC/MS-MS.

2.4.3 Cálculo de concentração plasmática

Os cálculos referentes as concentrações plasmáticas das amostras foram realizadas por meio do programa “Analyst versão 1.4.1”. As funções de calibração foram calculadas através da razão entre as áreas dos picos de propofol e do padrão interno timol. As concentrações de propofol foram calculadas por regressão linear ponderada ($1/X^2$) para todas as matrizes a partir da curva de calibração (concentração plasmática em função das razões das áreas).

2.5 ANÁLISE FARMACOCINÉTICA

As curvas de concentração plasmática (C_p) de propofol em função do tempo, foram obtidas para cada grupo/animal, em cada fase do estudo, lançando-se na ordenada as concentrações de propofol encontradas e na abscissa os tempos em que as amostras foram colhidas, sendo confeccionados gráficos C_p versus tempo para os períodos da infusão contínua de propofol e após a infusão por meio do programa “Graphpad Prism 5”.

A concentração plasmática máxima e o tempo necessário para atingi-lá (t_{max}) foram obtidos a partir de cada curva no período de infusão contínua em ambos os grupos.

A área sob cada curva individual de concentração do fármaco *versus* tempo de 0 a 24 h (ASC_{0-24}) foi calculada usando-se o método trapezoidal. A extrapolação da ASC_{0-24} ao infinito ($ASC_{0-\infty}$) foi obtida pela adição do valor C_{24}/k_e à ASC_{0-24} calculada (onde C_{24} corresponde à concentração plasmática 24 horas após a administração do propofol).

As variáveis farmacocinéticas de constante de eliminação, meia-vida e macroconstantes foram calculadas por meio do programa “Pharmkit” para Windows e os valores de clearance, volume de distribuição e microconstantes foram calculados por meio da “Planilha Convert” para Excel.

2.6 – ANÁLISE DE BIOEQUIVALÊNCIA

A análise de bioequivalência foi realizada comparando o intervalo de confiança de 90% para a razão das médias de C_{max} e ASC_{0-24} em escala logarítmica,

verificando se estes parâmetros se encontram no intervalo de bioequivalência (80 a 125%).

2.7 – ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada por meio do programa “SigmaStat 3.0” sendo aplicado ANOVA de uma via com repetições múltiplas seguida de teste de Bonferroni para comparação das concentrações plasmáticas do mesmo grupo nas fases de infusão e após a infusão contínua.

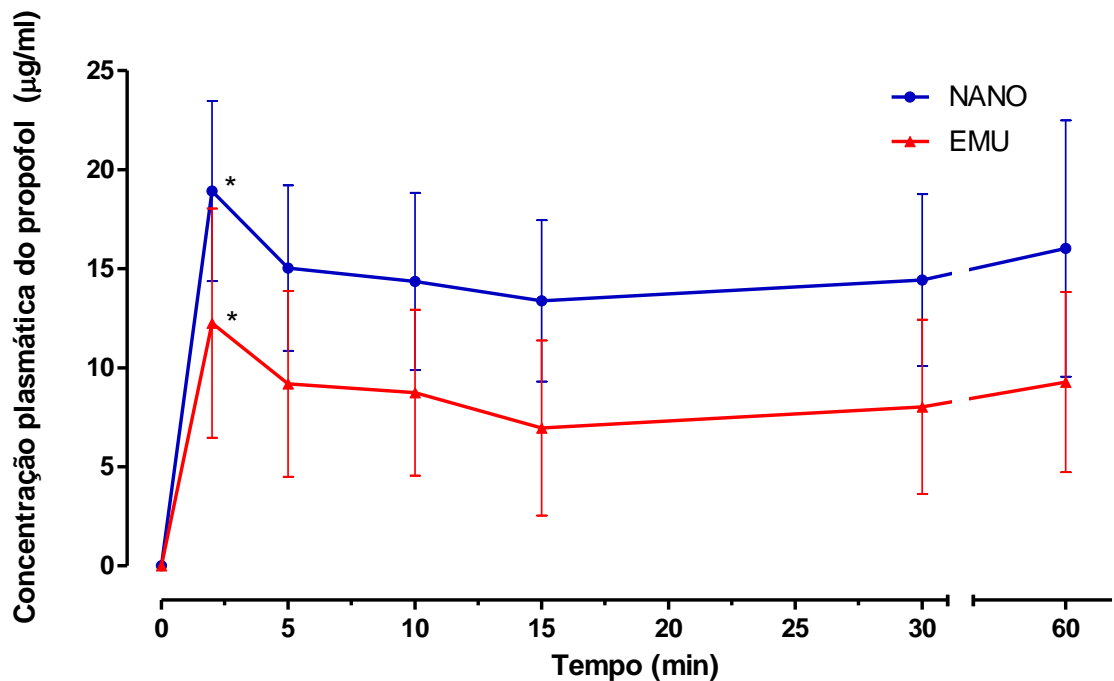
Para avaliação das concentrações plasmáticas e dos parâmetros farmacocinéticos entre os grupos EMU e NANO foi empregado teste T pareado com nível de significância de 5%.

3 – RESULTADOS

3.1 – CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE PROPOFOL DURANTE A INFUSÃO

Dentre os tempos avaliados durante a infusão, apenas a Cp aos 2 minutos foi significativamente maior que a Cp aos 15 minutos para ambos os grupos (FIGURA 2).

Figura 2 - Concentrações plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$) durante o período de infusão contínua de propofol em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, $n = 6$) e em nanoemulsão (NANO, $n = 6$).

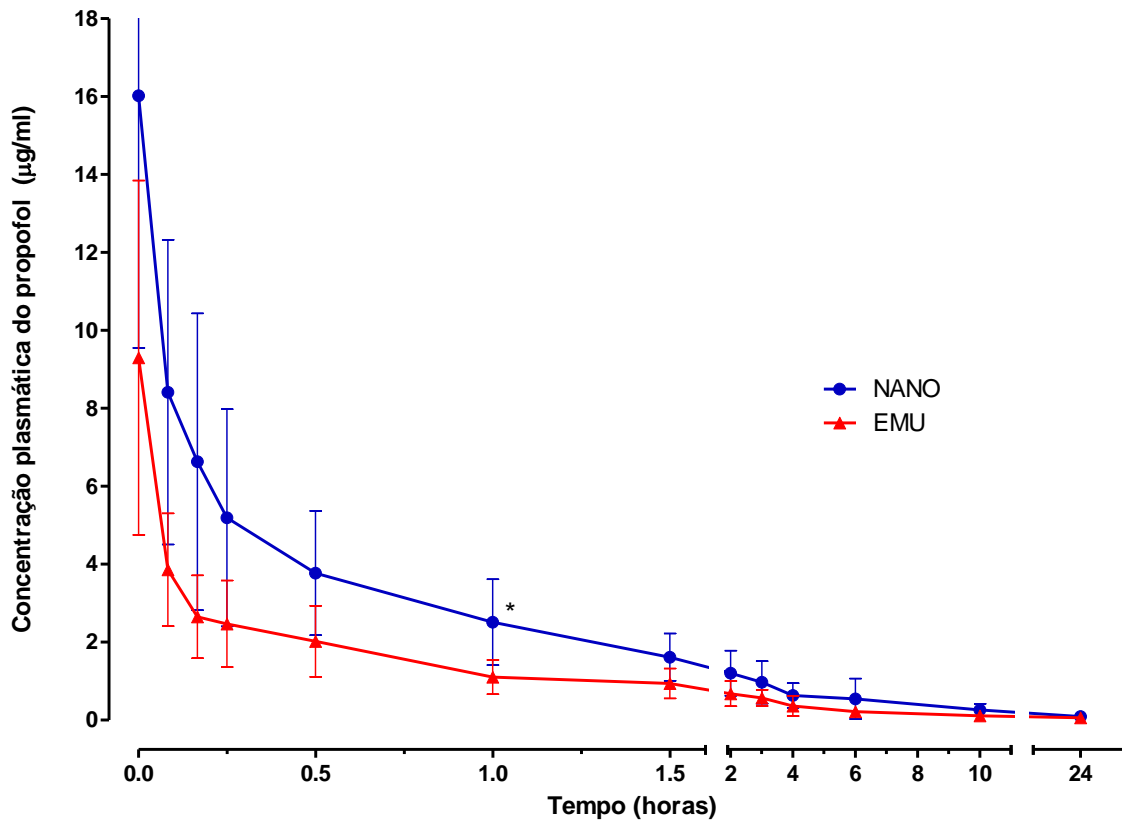


* Significativamente diferente de T15, Teste T pareado ($P \leq 0,05$).

3.2 - CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE PROPOFOL APÓS A INFUSÃO

Nos tempos após a infusão de propofol, foi observada diferença significativa de concentração plasmática entre os grupos apenas no tempo de 1 hora após o término da infusão de propofol, não havendo diferença de concentração plasmática dentro do mesmo grupo ao longo do período de avaliação (FIGURA 3).

Figura 3 - Concentrações plasmáticas ($\mu\text{g/ml}$) após a infusão contínua de propofol em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, $n = 6$) e em nanoemulsão (NANO, $n = 6$).



* Diferença significativa entre grupos, Teste T pareado ($P \leq 0,05$).

3.3 PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS

A avaliação dos parâmetros farmacocinéticos foi dividida entre os diversos parâmetros calculados para ambas as formulações.

3.3.1 Concentração plasmática máxima, tempo para concentração plasmática máxima, área sob a curva em 24 horas e ao infinito e tempo para concentração máxima

Não foi encontrada diferença significativa nos parâmetros C_{max} , T_{max} , ASC_{0-24} e $ASC_{0-\infty}$ entre os grupos (Tabela 3).

Tabela 3 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros farmacocinéticos de Concentração plasmática máxima (C_{max}), tempo para concentração plasmática máxima (T_{max}), área sob a curva em 24 horas (ASC_{0-24}) e ao infinito (ASC_{0-inf}) em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol em emulsão lipídica (EMU, $n = 6$) e em nanoemulsão (NANO, $n = 6$).

	$C_{max}(\mu\text{g/ml})$	$T_{max}(\text{h})$	$ASC_{0-24}(\text{ng}\cdot\text{min/ml})$	$ASC_{0-\infty}(\text{ng}\cdot\text{min/ml})$
EMU	13,03±5,79	0,03±0,0	971,96±337,50	972,90±337,48
NANO	20,01±4,71	0,38±0,49	1703,66±613,36	1704,88±613,98

3.3.2 Volume de distribuição

Não foram observadas diferenças significativas entre os volumes de distribuição do compartimento central (V_1), segundo compartimento (V_2) e terceiro compartimento (V_3) e do estado de equilíbrio (V_{dss}) entre EMU e NANO (Tabela 4).

Tabela 4 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros farmacocinéticos de volume de distribuição do compartimento central (V_1), segundo compartimento (V_2), terceiro compartimento (V_3) e no estado de equilíbrio (V_{dss}) em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol a1% em emulsão lipídica (EMU, $n = 6$) e em nanoemulsão (NANO, $n = 6$).

	$V_1 (\text{L/kg})$	$V_2 (\text{L/kg})$	$V_3 (\text{L/kg})$	$V_{dss} (\text{L/kg})$
EMU	3,75±2,11	9,07±6,52	20,61±10,12	44,66±25,96
NANO	2,38±1,16	4,02±3,42	15,00±9,15	21,40±12,99

3.3.3 Clearance

Os valores de clearance total (Cl), metabólico (Cl_1), do segundo compartimento (Cl_2) e do terceiro compartimento (Cl_3) para o EMU e NANO não apresentaram diferença estatística entre os grupos (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros farmacocinéticos de clearance total (Cl), metabólico (Cl₁), segundo compartimento (Cl₂) e do terceiro compartimento (Cl₃) em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6).

	Cl(ml/kg/min)	Cl ₁ (ml/kg/min)	Cl ₂ (ml/kg/min)	Cl ₃ (ml/kg/min)
EMU	791,23±231,67	81,95±26,98	572,45±169,95	73,04±37,00
NANO	512,04±357,02	48,86±29,50	338,15±382,01	38,81±23,23

3.3.4 Meia-vida

Não foi encontrada diferença significativa entre os tempos de meia-vida de distribuição rápida (T_{1/2α}), distribuição lenta (T_{1/2β}) e eliminação (T_{1/2γ}) de EMU e NANO (Tabela 6).

Tabela 6 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros farmacocinéticos de meia-vida de distribuição (T_{1/2α}), eliminação plasmática (T_{1/2β}) e eliminação terminal (T_{1/2γ}) em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6).

	T _{1/2α} (min)	T _{1/2β} (min)	T _{1/2γ} (min)
EMU	2,06±1,34	58,14±31,07	660,94±304,67
NANO	4,03±2,27	52,35±17,68	551,79±113,13

3.3.5 Constantes de eliminação e distribuição intercompartimental

Não foi encontrada diferença significativa entre os tempos de constante de eliminação (k₁₀) e das constantes de distribuição intercompartimental (k₁₂, k₁₃, k₂₁ e k₃₁) para o EMU e NANO (tabela 7).

Tabela 7 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros farmacocinéticos das constantes de eliminação (k₁₀) e distribuição intercompartimental (k₁₂, k₁₃, k₂₁, k₃₁) em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6).

	k ₁₀ (min)	k ₁₂ (min)	k ₁₃ (min)	k ₂₁ (min)	k ₃₁ (min)
EMU	0,0253±0,0103	0,2811±0,1576	0,0221±0,0127	0,1234±0,0610	0,0033±0,0035
NANO	0,0207±0,0082	0,1241±0,0836	0,0452±0,0692	0,0772±0,0342	0,0028±0,0011

3.3.6 Constante de eliminação compartimental e tempo de residência médio

Os valores de constante de eliminação rápida (α), lenta (β) e terminal (γ) e o tempo de residência médio (MRT) não apresentaram diferença estatística entre EMU e NANO (tabela 8).

Tabela 8 - Valores médios e desvio padrão dos parâmetros farmacocinéticos de constante de eliminação rápida (α), lenta (β) e terminal (γ) e tempo de residência médio (MRT) em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6)

	α (h^{-1})	β (h^{-1})	γ (h^{-1})	MRT (h)
EMU	26,32±12,98	0,91±0,50	0,08±0,06	9,09±2,94
NANO	13,52±7,17	0,87±0,26	0,08±0,01	6,93±1,51

3.3.7 Recuperação

Não foram observadas diferenças estatísticas entre os tempos de recuperação (T_{rec}) dos animais e nas concentrações plasmáticas para a recuperação (Cp_{rec}) entre os grupos EMU e NANO (Tabela 9).

Tabela 9 - Valores médios e desvio padrão para tempo de recuperação (T_{rec}) e Concentração plasmática para recuperação (Cp_{rec}) em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6).

	T_{rec} (min)	Cp_{rec} ($\mu g/ml$)
EMU	18,3±7,5	2,493±1,29
NANO	23±15,3	3,233±1,17

3.3.8 Análise de bioequivalência

As formulações avaliadas não são bioequivalentes, estando o intervalo de Confiança de 90% para a razão das médias de C_{max} e ASC_{0-24} fora dos limites de bioequivalência de 80 a 125% (tabela 10).

Tabela 10 - Intervalo de Confiança de 90% para a razão das médias de C_{max} e ASC_{0-24} em cadelas submetidas a indução e manutenção anestésica com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6).

Parâmetro	Razão	IC 90%	CV%
C_{max}	166,81	(88,34; 314,97)	55,27
ASC_{0-24}	187,95	(91,57; 385,76)	63,76

4 DISCUSSÃO

Os cães empregados no estudo passaram por um período de aclimatização de seis meses, tempo necessário para adaptação dos animais ao manejo e a equipe de trabalho. A escolha de cadelas castradas com idade entre 2 e 4 anos e peso médio de 10,7 kg foi realizado com o intuito de padronizar as unidades experimentais quanto a conformação corporal e comportamento, minimizando assim a variação individual sobre os parâmetros avaliados, esta conduta é recomendada nos estudos farmacocinéticos e de bioequivalência (JUNGHEINRICH et al. 2002). Segundo Calvo et al. (2004), o peso é uma variável que influencia diretamente o clearance. A escolha de fêmeas foi realizada, pois segundo Vuyk et al. (2001), Kodaka et al. (2006) e Jung et al. (2010) o sexo causa alteração nos parâmetros farmacocinéticos de Cl e V_d do propofol que são dependentes do débito cardíaco.

A escolha de animais sem raça definida (SRD) pode ter sido a fonte do grande desvio padrão observado. Segundo Zoran et al. (1993), a raça altera a farmacocinética. Beths et al. (2001) observaram que cães da raça Galgo inglês necessitam de doses menores quando comparados a cães SRD em protocolo de anestesia por infusão alvo-controlada. Kukanich et al. (2007) descreveram que cães da raça Galgo inglês devem ter as doses ajustadas de fármacos com grande volume de distribuição, ligação protêica ou que sofram metabolização hepática.

Estas características inerentes a não padronização racial pode ter influenciado os parâmetros farmacocinéticos do presente estudo, pois observou-se variações em alguns resultados descritos para cães de raça como os de Hughes e Nolan (1999) e Lee et al. (2009). Essas diferenças eram esperadas, uma vez que os animais não possuem conformação corporal padronizada, sendo que características como a gordura corporal alteram o V_d e influencia os demais parâmetros farmacocinéticos (SHOT et al., 1996; CORTÍNEZ et al., 2010).

Para o estudo farmacocinético, foram utilizadas duas formulações de propofol na dose bolus de 8 mg/kg, proposta por Corrêa (2010) a qual foi infundida em 60 segundos, sendo este tempo sugerido por Jungheinrich et al. (2002) e Morey et al. (2006^a), a taxa de infusão utilizada de 8 mg/kg/min foi menor que a empregada por Morrey et al. (2006^a) de 10 mg/kg/min entretanto, as concentrações plasmáticas observadas após a administração da dose bolus foram semelhantes. Segundo SCHNIDER et al. (1998), a idade influencia a dose a ser administrada, considerando

que os cães de Morey et al. (2006^a) tinham 8 meses de idade e os do presente estudo apresentavam de 2 a 4 anos a diferença na dose não resultou em diferentes concentrações plasmáticas.

A taxa de infusão de 0,4 mg/kg/min foi utilizada com base nos estudos de Corrêa (2010) e proporcionou plano anestésico superficial e responsivo a estímulos, assim como descrito por Hall e Chambers (1987) e Aguiar et al. (2001).

A formulação testada no presente estudo foi empregada em estudo farmacodinâmico por Sudo et al. (2010) em ratos, Tamanho (2010) em gatos e por Corrêa (2010) em cães. Na espécie canina podemos confrontar as informações farmacodinâmicas com os parâmetros farmacocinéticos obtidos e inferir que mesmo não sendo bioequivalentes, as formulações possuem parâmetros farmacocinéticos semelhantes. Esta informação foi condiz com os estudos de Corrêa (2010) em cães, que não observou diferenças farmacodinâmicas empregando as mesmas formulações deste trabalho.

O comportamento cinético observado no presente estudo não foi influenciado pela formulação. Sendo as C_p observadas dependentes apenas dos parâmetros farmacocinéticos do propofol. Esses parâmetros não apresentaram diferença estatística entre os grupos, resultado semelhante aos observados por Lee et al. (2009).

Baseado nos tempos de avaliação, as concentrações plasmáticas médias de propofol encontradas no EMU e NANO apresentaram o mesmo perfil farmacocinético, sendo o mesmo observado por Lee et al. (2009) avaliando uma formulação de propofol em microemulsão em três diferentes taxas de infusão.

O período experimental foi dividido em duas etapas. A primeira consistiu na fase da administração da dose bolus de propofol seguido pela infusão contínua do mesmo e a segunda etapa correspondeu às 24 horas após o término da infusão do anestésico.

A curva farmacocinética durante a infusão de propofol foi caracterizada por uma C_{max} seguida por um declínio da concentração plasmática 15 minutos após a dose bolus e posterior aumento de C_p até o término da IC, havendo rápido declínio de concentração plasmática logo após o final da infusão de propofol, da mesma forma como descrito por Lee et al. (2009).

A pequena variação de concentração plasmática durante a etapa de infusão é justificada pela obtenção do estado de equilíbrio que segundo Morgan et al. (1990)

pode ser obtido com infusões em menos de 30 minutos. Outro fator responsável pela manutenção dos níveis plasmáticos de propofol foi o uso da IC em uma taxa maior que a de eliminação (WILKINSON, 2005). Segundo Morgan et al. (1990), o estado de equilíbrio é atingido após 3 a 4 valores de meia-vida de eliminação, considerando os valores de $t_{1/2\beta}$, seriam necessárias infusões com a emulsão lipídica de 174 a 232 minutos e com a nanoemulsão de 156 a 208 minutos para chegar ao estado de equilíbrio.

Morgan et al. (1990) relatam que após 30 minutos de infusão contínua encontram-se concentrações plasmáticas constantes. No presente estudo, o estado de equilíbrio foi atingido antes do tempo estimado de 3 a 4 intervalos de meia-vida de eliminação para as duas formulações devido a utilização da dose bolus para se atingir um pico plasmático, seguida de infusão contínua para manutenção da concentração (GRAY et al., 1999).

Após o término da infusão contínua, observou-se um rápido decaimento das concentrações plasmáticas, assim como descrito por Vuyk et al. (2001) em humanos, empregando uma dose bolus seguida de infusão contínua. Os estudos de Schywalsky et al. (2003) em ratos, Struys et al. (2007) no homem e de Morey et al. (2006^a) e Brás et al. (2008) em cães que empregaram apenas uma única dose bolus resultaram em curvas farmacocinéticas compatíveis com os presentes após o término da IC (ANEXOS).

Morey et al. (2006^a) comparou duas formulações de propofol empregando apenas uma dose bolus, e observaram um pico de concentração entre 15 e 20 minutos após a indução, momento em que a C_p estava em declínio e os cães em recuperação. Este fenômeno é atribuído a redistribuição do propofol entre os compartimentos corporais, de maneira similar Zoran et al. (1993) também observaram este comportamento cinético durante a fase de recuperação avaliando a emulsão lipídica de propofol em cães SRD e no Galgo inglês.

O pico plasmático observado por Zoran et al. (1993) e Morey et al. (2006^a), foi atribuído a alterações do débito cardíaco com redistribuição do propofol. Considerando a média dos grupos NANO e EMU, não foram observados picos plasmáticos durante a recuperação. A ausência de pico plasmático durante a recuperação é atribuído ao clearance metabólico e pela constante de eliminação que levaram a uma rápida eliminação do propofol do compartimento central (Morgan et al., 1990

Logo após o término da infusão, a queda nos níveis plasmáticos de propofol foi acentuada, resultado este derivado dos parâmetros farmacocinéticos do propofol e compatíveis com as curvas e parâmetros farmacocinéticos descritos por Cockshott et al. (1992) em cães, Correia et al. (1996) em ovinos, Flaherty et al. (1997) em pôneis, Kim et al. (2007) em humanos, Lee et al. (2008) em ratos e Lee et al. (2009) em cães.

Foi observado diferença significativa entre as concentrações plasmáticas de propofol com uma hora após o término da IC. As concentrações plasmáticas foram maiores no NANO, onde encontra-se C_p média em $\mu\text{g/ml}$ de $2,5 \pm 1,1$ contra $1,1 \pm 0,4$ no EMU. Estas concentrações são compatíveis com os resultados de Jungheinrich et al. (2002) que observaram 10% da C_p com uma hora após o término da IC, sendo nossas concentrações ao final da IC de $16,0 \pm 6,4 \mu\text{g/ml}$ para a nanoemulsão e $9,2 \pm 4,5 \mu\text{g/ml}$ para a emulsão lipídica, devido a rápida eliminação do agente do plasma.

As concentrações plasmáticas encontradas uma hora após o término da infusão contínua do propofol resultam do Cl e V_d que embora sem diferença estatística foram maiores na formulação em emulsão lipídica, justificando os valores encontrados, pois com a maior depuração da emulsão, tem-se uma maior eliminação do propofol e menor C_p , isto aliado ao maior V_d acarreta menor C_p , fato este observado no presente estudo e relatado por Lee et al. (2009), Jung et al. (2010).

Outro fator que pode levar as concentrações observadas são possíveis alterações de débito cardíaco e fluxo sanguíneo hepático, fatores determinantes no metabolismo do propofol (LEE et al., 2008). Considerando que as C_p observadas no EMU foram menores que no NANO, é possível que os cães que receberam a IC com a emulsão lipídica tivessem menor depressão hemodinâmica assim como descrito por Corrêa (2010) levando a maior metabolização do propofol e resultando nas concentrações observadas.

As C_p necessárias para indução e manutenção apresentam pequenas variações entre os diferentes estudos, sendo observadas C_p média de $4,8 \mu\text{g/ml}$ por Hughes e Nolan (1999) durante IC com doses de manutenção de 0,2 a 0,4 mg/kg/min. Nolan e Reid (1993) empregando IC na dose de 0,4 mg/kg/min encontraram C_p na faixa de $5 \mu\text{g/ml}$ durante uma hora de infusão em cães com medicação pré anestésica. As C_p médias encontradas durante a infusão foram

maiores que as descritas anteriormente para a emulsão lipídica, sendo explicada pela utilização da dose bolus de 8 mg/kg a qual levou a maiores Cp quando comparada aos estudos de Nolan e Reid (1993), que administraram bolus de propofol de 4mg/kg.

A diferença de Cp média durante o período de infusão é justificável pelas características farmacotécnicas das formulações onde a nanoemulsão com um tamanho reduzido de suas partículas (KIM et al., 2007) e menor afinidade lipídica (JUNG et al., 2010) tem como característica menor volume de distribuição e clearance, levando a formulação a apresentar maiores concentrações quando comparada a emulsão lipídica nos mesmos regimes de administração. O fato da formulação nanoemulsionada apresentar maior Cp resulta nos valores observados de ASC, que são diretamente proporcionais a Cp do fármaco (STORPIRTIS et al., 2011), podendo sugerir que a nanoemulsão avaliada apresenta maior potência anestésica assim como relatado por Fechner et al. (2004), Wang et al. (2007) e Gehrcke (2011).

A recuperação anestésica em pacientes anestesiados sob regime de infusão contínua ocorre quando a concentração plasmática do agente anestésico atinge valores abaixo da janela terapêutica (GRAY et al., 1999; SHELLEY e SUTCLIFFE, 2010). As concentrações observadas para o retorno anestésico de $2,4 \pm 1,3 \mu\text{g/ml}$ para EMU e $3,2 \pm 1,2 \mu\text{g/ml}$ para NANO são semelhantes as Cp de $2,15 \mu\text{g/ml}$ descritas para a emulsão lipídica por Beths et al. (2001) em cães SRD e menores que os $4 \mu\text{g/ml}$ relatados por Cockshott et al. (1992) em cães da raça Beagle. As diferenças observadas entre os estudos e na rotina clínica podem estar associadas à diferença entre raças (Zoran et al., 1993), protocolos anestésicos com utilização ou não de MPA, fármacos adjuntos (VUYK, 1997; HUGHES e NOLAN, 1999; BEIER, 2007) além da formulação (CALVO et al., 2004).

Como parâmetro de tempo de recuperação, foi considerado o tempo para decúbito esternal, sendo os tempos de $18,3 \pm 7,5$ minutos para EMU e $23 \pm 15,3$ minutos para NANO menor que os observados por Corrêa (2010), de 38,8 minutos para a emulsão lipídica e 42,5 minutos para a nanoemulsão, com as mesmas doses e formulações, porém com um tempo de infusão de 90 minutos. Beier (2007) empregando a formulação lipídica encontrou um tempo para decúbito esternal de 17,8 minutos.

A diferença nos tempos de recuperação observados por Corrêa (2010) é consequência do tempo de infusão prolongado que resultou em maior dose total e maior tempo para eliminação (HUGHES et al., 1992). Outro fator que pode ter contribuído para a diferença no tempo de recuperação pode ter sido a depressão hemodinâmica (LEE et al., 2008; SILVA et al., 2011) entretanto como não realizamos este tipo de avaliação não é possível afirmar que esta tenha interferência no tempo de recuperação dos animais.

A ausência de diferença dos parâmetros farmacocinéticos é relatada em diferentes formulações nanoemulsionadas de propofol como a formulação micelar testada por Ravenelle et al. (2008) e a microemulsão de Morey et al. (2006^b), a formulação em pró-droga avaliada por Cleale et al. (2009) e a microemulsão de Lee et al. (2009).

Os resultados obtidos demonstram que a farmacocinética não sofreu alteração em detrimento da substituição do veículo lipídico pelo SOLUTOL HS 15. Date e Nagarsenker (2008) relatam que o surfactante não altera a farmacodinâmica em ratos, permanecendo o propofol nanoemulsionado com características cinéticas semelhantes à emulsão lipídica.

As formulações contendo o veículo Solutol HS 15 tem como característica, elevada biodisponibilidade com maior T_{max} , quando comparada a outros veículos (KU e VELAGALETI, 2010), fato que não pode ser comprovado no presente estudo, pois empregou-se o regime de dose bolus associado à IC, sendo que em alguns animais o T_{max} foi observado somente ao término da infusão.

A maior C_{max} no NANO esta relacionado com o maior T_{max} descrito na literatura para formulações com Solutol (Ku e Velagaleti, 2010). O fato da primeira colheita ter sido aos dois minutos após a administração do propofol resultou em C_{max} diferentes, pois a nanoemulsão necessita de maior tempo para liberação do propofol no plasma (SCHYWALSKY et al., 2003; TAMILVANAN, 2009), resultando em uma maior C_p no mesmo momento de avaliação, pois enquanto o propofol em emulsão lipídica esta passando pelo processo de distribuição, o propofol em nanoemulsão ainda esta no plasma (WELLIVER e RUGARI, 2009), sendo a distribuição influenciada pelo coeficiente de partição tecido/sangue que é diferenciado para as nanoemulsões (LEE et al., 2008).

O fato do Solutol HS 15 apresentar maior tempo para a liberação do propofol (DATE e NAGARSENKER, 2008; BENNEWITZ e SALTZMAN 2009), não acarreta

alteração nos parâmetros farmacocinéticos, pois nesta formulação ocorre menor distribuição lipídica e maior eliminação, levando esta apresentação a ter um menor tempo de residência médio (MRT) e $t_{1/2\beta}$ (HALL et al., 1997).

Os valores de C_{max} observadas no NANO decorrem da menor solubilidade do veículo pelos tecidos lipídicos, resultado confirmado pelo menor V_{dss} da nanoemulsão. Esta formulação apresenta maior fração livre, e menor distribuição tecidual (GLEN, 2005; JUNG et al., 2010), resultado este diferente do observado por Morey et al. (2006^a) e Lee et al. (2009) que encontraram maior concentração plasmática na formulação em emulsão lipídica. Este resultado foi atribuído por Lee et al. (2009) ao maior volume de distribuição de sua microemulsão.

Em estudo anterior, avaliando uma microemulsão com o mesmo veículo do presente estudo, Lee et al. (2008) encontraram resultados semelhantes em ratos, onde a emulsão lipídica apresentou menor concentração plasmática e maior volume de distribuição que a formulação com Solutol.

A partir da análise da ASC, pode-se verificar qual a exposição do paciente a um determinado fármaco (STORPIRTIS et al., 2011). Não foi observada diferença entre as ASC no EMU e NANO, assim como relatado por Cho et al. (2010). Entretanto, os valores observados no NANO foram maiores, refletindo as concentrações plasmáticas observadas, que são decorrentes da menor distribuição lipídica da nanoemulsão (JUNG et al., 2010). Torchilin (2007) descreve o maior valor de ASC como resultado do veículo que favorece a maior circulação do princípio ativo no plasma e distribuição tecidual específica. Kim et al. (2007) relatam que o veículo nanoemulsionado altera o coeficiente de partição plasma/tecidos do fármaco, levando a maior C_p , fato este observado neste estudo.

Os valores de ASC resultam da distribuição do propofol, sendo o menor valor da formulação lipídica resultado da maior afinidade lipídica e maior deposição nos compartimentos periféricos (LEE et al., 2008).

O volume de distribuição central representa a capacidade do fármaco em se distribuir no plasma, sendo os valores de 3,75 L/kg para EMU e de 2,38 L/kg para NANO maiores que os 1,4 L/kg encontrados por Zoran et al. (1993) e 1,0 L/K de Cockshott et al. (1992) para a formulação em emulsão lipídica, sendo que Lee et al. (2009) encontraram valores de V_1 de 4,4 L para uma microemulsão e de 3,6 L para emulsão lipídica, que resultam em menores volumes que os do presente estudo. Segundo Beths et al. (2001), as diferenças em relação ao volume de distribuição

central estão relacionadas com as metodologias de cada estudo, tendo influência nos demais parâmetros farmacocinéticos.

Os volumes de distribuição do segundo e terceiro compartimento são menores que os encontrados por Lee et al. (2009), sendo este resultado creditado a característica do veículo da formulação em nanoemulsão.

Os valores calculados para o volume de distribuição no estado de equilíbrio (V_{dss}) de 44,66 e 21,4 L/kg respectivamente para EMU e NANO refletem diretamente o caráter lipofílico do veículo lipídico do propofol convencional, que apresenta maior difusão entre os tecidos quando comparado a nanoemulsão, sendo comprovado pelos maiores valores de V_2 e V_3 para a formulação em emulsão lipídica. Segundo Kim et al. (2007) o veículo nanoemulsionado acarreta em menor distribuição tecidual e maiores concentrações plasmáticas.

O fato da nanoemulsão apresentar menor V_{dss} representa que esta é menos difundida entre os tecidos (STORPIRTIS et al., 2011) desta forma encontrada em maiores concentrações no plasma e mais disponível para realizar ligações e exercer maiores efeitos clínicos (WILKINSON, 2005), fato este observado por Corrêa (2010), que encontrou valores menores de débito cardíaco, índice cardíaco, volume sistólico, índice sistólico, índice do trabalho ventricular esquerdo, e maiores para o índice de pressão da artéria pulmonar ocluída em cães anestesiadas com a mesma nanoemulsão empregada neste estudo.

A depuração é uma medida farmacocinética que está intimamente relacionada com a eliminação de um fármaco do organismo (YOUNGS e SHAFER, 2001; STORPIRTIS et al., 2011), sendo que os valores de clearance metabólico de 81 ml/kg/min para EMU e de 48 ml/kg/min para NANO, semelhantes aos descritos por NOLAN et al. (1993), NOLAN e REID (1993) e LEE et al. (2009). Os resultados do presente estudo foram maiores que os de REID e NOLAN (1996) em cães geriátricos, sendo justificados pela menor função hepática e menor fluxo hepático. Kim et al. (2007) relatam que a redução do clearance ocorre com ambas as formulações devido a idade.

Segundo Allegaert (2008), a depuração do propofol pode ser alterada pela formulação como consequência de alterações de metabolismo. A semelhança entre os resultados obtidos e os da literatura demonstram que a formulação não leva a alterações da depuração, sugerindo que não existam diferenças importantes no metabolismo das formulações, sendo o menor valor de CI no NANO consequência

do menor V_d , pois o clearance é derivado da taxa de eliminação e do volume de distribuição (ARMIJO, 2003; STORPIRTIS et al., 2011).

Os menores valores das constantes de distribuição e redistribuição, resultam em menor velocidades de distribuição e redistribuição da nanoemulsão entre os compartimentos, sendo este resultado atribuído ao menor volume de distribuição e menor ligação tecidual (TAMILVANAN, 2009) que faz com que o propofol esteja em maior concentração no plasma (GEPTS, 1998; JUNG et al., 2010).

A constante k_{10} é a responsável pela eliminação do propofol do compartimento central. Seu valor é influenciado pelo volume de distribuição, clearance e eliminação γ (ARMIJO, 2003; HAN et al. 2010), tendo influência direta sobre a meia-vida. Os valores de k_{10} foram 0,0253 min para EMU e 0,0207 min para NANO, resultados estes menores que os encontrados por LEE et al. (2009) de 0,135 min e por Cockshott et al. (1992) de 0,034 min. A diferença entre os resultados pode ser explicada devido aos valores de eliminação γ , que no presente estudo foram de 0,08/h enquanto Lee et al. (2009) encontraram um valor de eliminação de 0,36/h. Segundo Armijo (2003), quanto maior for a eliminação, maior será a sua constante, e menor será a meia-vida, sendo este resultado comprovado pela diferença entre os valores de eliminação γ e os tempos de meia-vida.

A $t_{1/2\alpha}$ corresponde a meia-vida de distribuição, sendo observada evidenciada na queda abrupta de C_p ao término da IC. O valor da $t_{1/2\alpha}$ é resultado da rápida eliminação e das altas constantes de distribuição do fármaco (ARMIJO, 2003). O resultado encontrado para a $t_{1/2\alpha}$ em EMU de 2 min e para NANO de 4 min foram semelhantes aos valores relatados por Lee et al. (2009) de 3,05 min para uma microemulsão e 3,16 min para a emulsão lipídica, Chockshott et al. (1992) encontraram valores de $t_{1/2\alpha}$ variando de 4 a 7 minutos e Nolan et al. (1993) tempos de $t_{1/2\alpha}$ de 1 a 2 minutos para a emulsão lipídica.

A meia-vida de eliminação plasmática corresponde ao tempo necessário para que ocorra a eliminação de 50% da concentração plasmática de propofol dos tecidos e do plasma (SCHOENWALD, 2002). Os valores de $t_{1/2\beta}$ de 58 e 52 minutos respectivamente para EMU e NANO foram maiores que os 32 minutos descritos Lee et al. (2009) para uma microemulsão e menores que os descritos por Hall et al. (1997) de 131 minutos 199 minutos por Beier (2007), ambos para a formulação em emulsão lipídica.

Quando comparamos os resultados obtidos no presente estudo com os demais citados, é possível observar que os protocolos de administração do propofol sofreram variações, gerando doses diferentes que pode ter influenciado a constante de eliminação e a $t_{1/2\beta}$ (ARMIJO, 2003), pois se considera a dose total após o término da IC para os cálculos, portanto quanto maior a dose utilizada, maior será o tempo para que se atinja o valor de meia-vida de eliminação (STORPIRTIS et al., 2011).

A $t_{1/2\gamma}$ ou meia-vida de eliminação terminal foi maior que a calculada por Lee et al. (2009), sendo esta influenciada pela dose total e pelo clearance. Os valores de $t_{1/2\gamma}$ são diretamente proporcionais ao volume de distribuição, portanto, um grande volume de distribuição acarretara um grande valor de $t_{1/2\gamma}$ (STORPIRTIS et al. 2011), resultado observado em nosso estudo onde os valores da meia-vida de eliminação terminal foram de 11 horas para EMU e de 9,16 horas para NANO.

Segundo Hall et al. (1997), as diferenças nos valores de $t_{1/2\beta}$ e $t_{1/2\gamma}$ são corriqueiras pois se trata de um fármaco altamente lipossolúvel e com elevado clearance que apresenta metabolismo hepático, portanto alterações de fluxo sanguíneo hepático que são decorrentes de alterações do débito cardíaco, influenciaram os tempos de meia-vida β e γ (LEE et al., 2008).

Segundo Beths et al. (2001) é esperado encontrar variações nos parâmetros farmacocinéticos em estudos do propofol em cães. Lee et al. (2008) atribui as diferenças as variações na metabolização, sendo as alterações de fluxo hepático a principal fonte de variação dos parâmetros, principalmente do clearance. As variações na depuração acarretam em maior tempo de eliminação e resulta em maior meia-vida de eliminação e menor volume de distribuição (ARMIJO, 2003).

Conforme os relatos de Lee et al. (2009) e Corrêa (2010) as duas formulações de propofol avaliadas causam alteração de débito cardíaco, podendo levar a alterações de depuração hepática, justificando as pequenas variações entre os estudos (PAVLIN et al., 1996).

Os estudos de bioequivalência têm como objetivo avaliar uma nova formulação quanto à biodisponibilidade, comparando-o com uma formulação já consagrada. Para isto, são comparados os parâmetros farmacocinéticos de ASC_{0-24} , $ASC_{0-\infty}$, C_{max} e T_{max} (CAMPOS e GOMES, 2011) sendo o ultimo não contemplado em nossa análise pois contemplou apenas concentrações plasmáticas após o término da infusão.

Para que duas formulações sejam consideradas bioequivalentes, estas devem apresentar resultados de intervalo de confiança dentro dos limites de bioequivalência que vai de 80 a 125% (KIM et al., 2007; CAMPOS e GOMES, 2011), resultado este não observado no presente estudo, sendo decorrente do elevado desvio padrão e pequeno número de animais para este tipo de análise. Segundo a resolução nº 391 de 09/08/99 da ANVISA (BRASIL, 1999), o protocolo experimental deveria ser composto no mínimo por 24 animais, sendo 12 fêmeas e 12 machos.

A ausência de bioequivalência entre as formulações avaliadas é semelhante ao resultado de Lee et al. (2009) e contraria os estudos semelhantes que avaliaram sistemas nanoemulsionados de propofol, como os estudos de Paul et al. (2003), Kim et al. (2007) e Ravenelle et al. (2008). Apesar da ausência de bioequivalência como relatado por Lee et al. (2009), o propofol em nanoemulsão apresenta as mesmas características clínicas, sendo recomendado para uso clínico em cães por Corrêa (2010).

Com os resultados do presente estudo é possível empregar o propofol em nanoemulsão com o veículo SOLUTO HS 15 em anestésias por infusão contínua. Os parâmetros farmacocinéticos de volume de distribuição e clearance observados foram semelhantes entre as formulações, mantendo as características do propofol descritas por White (2005) e Shelley e Sutcliffe (2010), de ser um anestésico recomendado para indução e manutenção anestésica por infusão contínua com rápida indução, metabolização e eliminação, fácil titulação, recuperação rápida e calma e com mínimo efeito cumulativo.

5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos e na metodologia proposta é possível concluir:

- 1 O propofol em nanoemulsão não apresenta diferenças farmacocinéticas em comparação à formulação convencional em emulsão lipídica.
- 2 As formulações não são bioequivalentes
- 3 A administração das duas formulações de propofol no regime de infusão contínua propicia concentrações plasmáticas compatíveis com plano anestésico superficial em cães.
- 4 O veículo SOLUTOL HS 15 não altera os parâmetros farmacocinéticos do propofol em cães.

6 REFERÊNCIAS

ABSALOM, A R. et al. Pharmacokinetic models for propofol--defining and illuminating the devil in the detail. **British journal of anaesthesia**, v. 103, n. 1, p. 26-37, jul 2009.

AGUIAR, A. J. A., et al. Continuous infusion of propofol in dogs premedicated with methotrimeprazine. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 28, p. 220-224, 2001.

ALLEGAERT, K. et al. Urinary propofol metabolites in early life after single intravenous bolus. **British journal of anaesthesia**, v. 101, n. 6, p. 827-831, 2008.

ALTOMARE, C. et al. Highly water-soluble derivatives of the anesthetic agent propofol: in vitro and in vivo evaluation of cyclic amino acid esters. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 20, n. 1, p. 17-26, 2003.

ANDREONI, V., HUGHES, L. Propofol and fentanyl infusions in dogs of various breeds undergoing surgery. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 36, p. 523–531, 2009.

ARMIJO, J. A. Absorción, distribución y eliminación de los fármacos. In: FLÓREZ, J.; ARMIJO, J. A.; MEDIAVILLA, A. **Farmacología humana**. 4. ed. Barcelona: MASSON, 2003. p. 47-72.

BEIER, S. L. **Infusão alvo-controlada com propofol e remifentanil: estudo experimental em cães**. 2007. 143 p. Tese (Doutorado em Anestesiologia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade do Estado de São Paulo, Botucatu, 2007.

BENNEWITZ, M. F. e SALTZMAN, W. M. Nanotechnology for delivery of drugs to the brain for epilepsy. **Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics**, v. 6, n. 2, p. 323-36, abr 2009.

BETHS T, et al. Evaluation and optimization of target- controlled infusion system for administering propofol to dogs as part of a total intravenous anaesthesia technique during dental surgery. **Veterinary Record**. n. 148, p. 198-203, 2001.

BOSCAN, P. et al. Pharmacokinetic profile in relation to anaesthesia characteristics after a 5% micellar microemulsion of propofol in the horse. **British journal of anaesthesia**, v. 104, n. 3, p. 330-337, 2010.

BRÁS, S. et al. A step towards effect-site target-controlled infusion with propofol in dogs: a k_{e0} for propofol. **Journal Veterinary Pharmacology Therapy**, v. 32, p. 182-188, 2008.

BRASIL. Resolução nº 391, de 9 de agosto de 1999. REGULAMENTO TÉCNICO PARA MEDICAMENTOS GENÉRICOS. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 9 ago. 1999. 30p.

CALVO, R. et al. Influence of formulation on propofol pharmacokinetics and pharmacodynamics in anesthetized patients. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**, v. 48, p. 1038-1048, 2004.

CAMPOS, D. R.; GOMES, K. S. Farmacocinética aplicada aos ensaios clínicos. In: STORPIRTIS, S. et al. **Farmacocinética básica e aplicada**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011, p. 94-100.

CARARETO, R. **Avaliação da associação de propofol e de citrato de sufentanil na manutenção anestésica por infusão contínua em cães pré- medicados com acepromazina**. 2004, 146p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

CHEN, T. L. *et al.* Effects of propofol on functional activities of hepatic and extrahepatic conjugation enzyme systems. **British journal of anaesthesia**, v. 84, n. 6, p. 771-6, 2000.

CHEN, H. *et al.* A Novel, Lipid-Free Nanodispersion Formulation of Propofol and Its Characterization. **Pharmaceutical Research**, v. 22, n. 3, p. 356-361, 24 fev 2005.

CHO, J., et al. Formulation and Evaluation of an Alternative Triglyceride-free Propofol Microemulsion. **Archives of Pharmacal Research**, v. 33, n. 9, p. 1375-1387, 2010.

CLEALE, R. M., *et al.* Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of propofol administered to cats in a novel , aqueous , nano-droplet formulation or as an oil-in-water macroemulsion. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.32, p. 436-445, 2009.

COCKSHOTT, I. D., et al. The pharmacokinetics of propofol in laboratory animals. **Xenobiotica**, v. 22, n. 3, p. 269-275, 1992.

CORRÊA, A. L. **Avaliação Hemodinâmica e Metabólica de uma Nanoemulsão de Propofol em Cães**. 2010. 150p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages – SC.

CORREIA, D.; NOLAN, A M.; REID, J. Pharmacokinetics of propofol infusions, either alone or with ketamine, in sheep premedicated with acepromazine and papaveretum. **Research in veterinary science**, v. 60, n. 3, p. 213-217, 1996.

CORTOPASSI, S.R.G.; HOLZCHUH, M.P.; FANTONI, D.T. Anestesia geral com propofol em cães pré-tratados com acepromazina e alfentanil. **Ciência Rural**, v.30, n.4, p. 635-644, 2000.

COURT, M. H. et al. PROPOFOL HYDROXYLATION BY DOG LIVER MICROSOMES : ASSAY DEVELOPMENT AND DOG BREED DIFFERENCES ABSTRACT : **Pharmacology**, v. 27, n. 11, p. 1293-1299, 1999.

COTÍNEZ, L. I. et al. Influence of obesity on propofol pharmacokinetics : derivation of a pharmacokinetic model. **British Journal of Anaesthesia**, v. 105, n. 4, p. 448-456, 2010.

DATE, A. A; NAGARSENKER, M. S. Parenteral microemulsions: an overview. **International journal of pharmaceutics**, v. 355, n. 1-2, p. 19-30, 2008.

DERYCK, Y. L. J. M. et al. Systemic vascular effects of isoflurane versus propofol anesthesia in dogs. **Anesthesia and Analgesia**, v. 83, p. 958-964, 1996.

DOENICKE, A. W., et al. Pharmacokinetics a New Solvent and Pharmacodynamics of Propofol. **Anesthesia and Analgesia**, v. 85, p. 1399-1403, 1997.

FAVETTA, P., et al. Propofol metabolites in man following propofol induction and maintenance. **British journal of anaesthesia**, v. 88, n. 5, p. 653-658, 2002.

FECHNER, J. et al. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of the new propofol prodrug GPI 15715 and propofol emulsion. **Anesthesiology**, v. 101, n. 3, p. 626-639, 2004.

FERRO, P. C. et al. Variáveis fisiológicas em cães submetidos à infusão contínua de diferentes doses de propofol. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1103-1108, 2005.

FLAHERTY, D.; et al. A pharmacodynamic study of propofol or propofol and ketamine infusions in ponies undergoing surgery. **Research in veterinary science**, v. 62, n. 2, p. 179-84, 1997.

FORMARIZ, T. P. et al. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 3, p.301-313, 2005.

FRYER, M. Intravenous induction agents. **ANAESTHESIA AND INTENSIVE CARE MEDICINE**, v. 5, n. 9, p. 317-321, 2004.

GASPARINI, S. S. et al. Anestesia intravenosa total utilizando propofol ou propofol/cetamina em cadelas submetidas à ovariossalpingohisterectomia. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p. 1438-1444, 2009.

GAUR, A.; BHATIA, A. L. Nanopharmaceuticals : An Overview. **Asian J. Exp. Sciv**, v. 22, n. 2, p. 51-62, 2008.

GEPTS, E., et al. Disposition of propofol administered as a constant rate intravenous infusions in humans. **Anesthesia & Analgesia.**, v. 66, p. 1256-1263, 1987.

GEPTS, E. Pharmacokinetic concepts for TCI anaesthesia. **Anaesthesia**, v. 53, n. 1, p. 4-12, 1998.

GEHRCKE, M.I. Determinação das Doses letal 50 e 100 do propofol em nanoemulsão ou em emulsão lipídica pela via intraperitoneal em camundongos In: ENCONTRO DE ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA, 10, 2011, Campos do Jordão. **Anais**. Campos do Jordão: Ourotour, 2011, p.14.

GIBIANSKY E. et al. AQUAVAN® Injection, a Water-soluble Prodrug of Propofol, as a Bolus Injection: A Phase I Dose-escalation Comparison with DIPRIVAN® (Part 1). **Anesthesiology**, v. 103, n. 4, p. 718–729, 2005.

GIMENES, A. M., et al . Effect of intravenous propofol and remifentanil on heart rate, blood pressure and nociceptive response in acepromazine premedicated dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 2, p. 54-62, 2011.

GLEN, I. Pharmacokinetic analysis. **Anaesthesia & intensive care medicine**, v. 6, n. 8, p. 280-282, 2005.

GRAY, C. et al. Target controlled infusion of ketamine as analgesia for TIVA with propofol. **Canadian Journal of Anesthesia**, v. 46, n. 10, p. 957-961, 1999.

GRINDEL, J. M. et al. Distribution , Metabolism , and Excretion of a Novel Surface-Active Agent , Purified Poloxamer 188 , in Rats , Dogs , and Humans. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 90, n. 9, p. 1936-1947, 2002.

GUTIÉRREZ, J. M. et al. Nano-emulsions: New applications and optimization of their preparation. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 13, n. 4, p. 245-251, 2008.

HALL, L. W. E CHAMBERS, J. P. A clinical trial of propofol infusion anaesthesia in dogs. **Journal of small Animal Practice**, v. 28, p. 623-637, 1987.

HALL, L. W. et al. Disposition of propofol after medetomidine premedication in beagle dogs. *Journal of Veterinary Anaesthesia*, v. 24, n. 1, p. 23-29, 1997.

HALL, L. W.; CLARKE, K. W.; TRIM, C. M., General pharmacology of the injectable agents used in anaesthesia. In: _____. **Veterinary anaesthesia**. 10. ed. England: W.B. SAUNDERS, 2001, cap. 5.

HAN, T. H.; GREENBLATT, D. J.; MARTYN, J. A J. Propofol clearance and volume of distribution are increased in patients with major burns. **Journal of clinical pharmacology**, v. 49, n. 7, p. 768-772, 2009.

HATSCHBACH, E. et al. Comparative study between target-controlled-infusion and continuous-infusion anesthesia in dogs treated with methotrimeprazine and treated with propofol and remifentanil. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 65-72, 2008.

HUGHES M. A.; GLASS P. S.; JACOBS J. R. Context-sensitive half-time in multicompartiment pharmacokinetic models for intravenous anesthetic drugs. **Anesthesiology**, v. 76, p. 334–341, 1992.

HUGHES, J. M. L. e NOLAN, A. M. Total Intravenous Anesthesia in Greyhounds : Pharmacokinetics of propofol and fentanyl – A preliminary study. **Veterinary Surgery**, v. 28, p. 513-524, 1999.

JENSEN, G. M. et al. A liposomal dispersion formulation of propofol: formulation, pharmacokinetics, stability, and identification of an oxidative degradant. **Theoretical Chemistry Accounts**, v. 119, n. 1-3, p. 291-296, 2007.

JUNG, J. A. et al. Effectiveness, safety, and pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of microemulsion propofol in patients undergoing elective surgery under total intravenous anaesthesia. **British Journal of Anaesthesia**, v. 104, n. 5, p. 563-576, 2010.

JUNGHEINRICH, C., et al. Pharmacokinetics of the Generic Formulation Propofol 1 % Fresenius Formulation (Disoprivan ® 1 %). **Clinical Drug Investigation**, v. 22, n. 7, p. 417-427, 2002.

KAY B. e ROLLY G. ICI 35868, a new intravenous induction agent. **Acta Anaesthesiologica Belgica**, vol. 28, p. 303–316, 1977.

KANTO, J. e GEPTS, E. Pharmacokinetic implications for the clinical use of propofol. **Clinical Pharmacology**, n. 17, p. 308-326, 1989.

KIM, K. M. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of propofol microemulsion and lipid emulsion after an intravenous bolus and variable rate infusion. **Anesthesiology**, v. 106, p. 924-934, 2007.

KIM, J. Y. et al. Titration of the plasma effect site equilibrium rate constant of propofol; a link method of "Concentration-Probability-Time". **Korean journal of anesthesiology**, v. 58, n. 3, p. 231-238, 2010.

KODAKA, M. et al. Gender differences between predicted and measured propofol C(P50) for loss of consciousness. **Journal of clinical anesthesia**, v. 18, n. 7, p. 486-489, 2006.

KOTANI, Y. et al. The experimental and clinical pharmacology of propofol, an anesthetic agent with neuroprotective properties. **CNS neuroscience & therapeutics**, v. 14, n. 2, p. 95-106, 2008.

KU, S.; VELAGALETI, R. Solutol HS15 as a Novel Excipient. **Pharmaceutical Technology**, p. 108-110, 2010.

KUKANICH, B., et al. Comparative disposition of pharmacologic markers for cytochrome P-450 mediated metabolism, glomerular filtration rate, and extracellular and total body fluid volume of Greyhound and Beagle dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 30, p. 314-319, 2007.

LEE, E. H., et al. Physicochemical properties, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of a Reformulated Microemulsion Propofol in Rats. **Anesthesiology**, v. 109, n. 3, p. 436-447, 2008.

LEE, S.-H., et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of a new reformulated microemulsion and the long-chain triglyceride emulsion of propofol in beagle dogs. **British journal of pharmacology**, v. 158, n. 8, p. 1982-1995, 2009.

LUNDSTRÖM, S. et al. Propofol. **Journal of pain and symptom management**, v. 40, n. 3, p. 466-470, 2010.

Mannarino R. **Determinação da taxa de infusão mínima de propofol e propofol associado a lidocaína em cães (Cannis familiaris)**. [Dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista; 2002.

MASSONE, F.; CORTOPASSI, S. R. G. Anestesia intravenosa. In: CORTOPASSI, S. R. G.; FANTONI, D. T. **Anestesia em Cães e Gatos**. 2 ed. São Paulo:Roca, 2009, Cap. 14, p. 228-236.

^aMOREY, T. E., et al., Anesthetic properties of a propofol microemulsion in dogs. **Anesthesia and analgesia**, v. 103, n. 4, p. 882-887, 2006.

^bMOREY, T. E., et al., Preparation and anesthetic properties of propofol microemulsions in rats. **Anesthesiology**, v. 104, n. 6, p. 1184-1190, 2006.

MORGAN, D. J. CAMPBELL, G. A; CRANKSHAW, D. P. Pharmacokinetics of propofol when given by intravenous infusion. **British journal of clinical pharmacology**, v. 30, n. 1, p. 144-148, 1990.

MUIR, W. W. et al. Fármacos anestésicos intravenosos específicos. In: _____. **Manual de anestesia veterinária**. 4. ed. Madri-Espanha: Elsevier, 2008. cap. 8.

MUIR, W. W. e GADAWSKI, J. E. Respiratory depression and apnea induced by propofol in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 59, p. 157-161, 1998.

MUIR, W. W.; GADAWSKI, J. E. Cardiovascular effects of a high dose of romifidine in propofol-anesthetized cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 63, n. 9, p. 1241-1246, 2002.

MUSK, G. C. et al. Target-controlled infusion of propofol in dogs: evaluation of four targets for induction of anaesthesia. **Veterinary Record**, v. 157, p. 766-770, 2005.

NOLAN, A. & REID, J. Pharmacokinetics of propofol administered by infusion in dogs undergoing surgery. **British Journal of Anaesthesia**, v. 70, p. 546-551, 1993.

NOLAN, A. M., et al. A preliminary study on target controlled infusion anaesthesia with propofol in dogs. **Journal of Veterinary Anaesthesia**, v. 25, n. 1, p. 61-62, 1998.

PAUL, M., et al. Pharmacological characteristics and side effects of a new galenic formulation of propofol without soyabean oil. **Anaesthesia**, v.58, p. 1056-1062, 2003.

Pavlin D.J., et al. Effects of combining propofol and alfentanil on ventilation, analgesia, sedation and emesis in human volunteers. **Anesthesiology**, v. 84, p. 23-37, 1996.

PIRES, J. da S. et al. Anestesia por infusão contínua de propofol em cães pré-medicados com acepromazina e fentanil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 5, p. 829-834, 2000.

RAVENELLE, F., *et al.* Anaesthetic effects of propofol polymeric micelle: a novel water soluble propofol formulation. **British journal of anaesthesia**, v. 101, n. 2, p. 186-193, 2008.

REID, J.; NOLAN, A M. Pharmacokinetics of propofol as an induction agent in geriatric dogs. **Research in veterinary science**, v. 61, n. 2, p. 169-171, 1996.

REVES, J.G.; CLASS, P.S.A., LUBARSKY, D.A. Nonbarbiturate intravenous anesthetics. In: MILLER, R.D. Anesthesia. 5.ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000. v.1, cap.9, p.228-272.

REUTEMANN, S. H. e FORMENTINI, E. A. Análisis farmacocinético y administración extravascular; errores comunes en el cálculo y la interpretación de los parámetros farmacocinéticos. **Revista FAVE - Ciencias Veterinarias**, v.2, n. 2, p. 147-160, 2003.

SANTOS, F.A. et al. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of a Single Bolus of Propofol 2% in Healthy Volunteers. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 43, n. 4, p. 397-405, 2003.

SCHNIDER, T.W.; MINTO, C.F.; GAMBUS, P.L., et al. The influence of method of administration and covariates on the pharmacokinetics of propofol in adult volunteers. **Anesthesiology**, v. 88, p. 1170-1182, 1998.

SCHYWALSKY, M. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the new propofol prodrug GPI 15715 in rats. **European journal of anaesthesiology**, v. 20, n. 3, p. 182-190, 2003.

SCHOENWALD, R. D. **Pharmacokinetics in drug discovery and development**. Florida: CRC Press, 2002.

SEAR, J. W.; DIEDERICKS, J.; FOEX, P. Continuous infusion of propofol administered to dogs: effects on ICG and propofol disposition. **British journal of anaesthesia**, v. 72, p. 451-455, 1994.

SHELLEY, B.; SUTCLIFFE, N. Total intravenous anaesthesia. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**, v. 11, n. 4, p. 144-146, 2010.

SHORT, C.E.; BUFALARI, A. Propofol anesthesia. **The Veterinary Clinics of North American – Small Animal Practice**, v. 29, n. 3, p. 747-778, 1999.

SHORT, T. G.; LIM, T. A.; TAM, Y. H. Prospective evaluation of pharmacokinetic model-controlled infusion of propofol in adult patients. **British Journal of Anaesthesia**, v. 76, p. 313-315, 1996.

SILVA, A., et al. Dogs mean arterial pressure and heart rate responses during high propofol plasma concentrations estimated by a pharmacokinetic model. **Research in Veterinary Science**, v.91, n. 2, p. 278-280, 2011.

STOPIRTIS et al. Modelos Farmacocinéticos. In: _____. **Farmacocinética básica e aplicada**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011, p. 17-25.

STRUYS, M. R. F., et al. Influence of administration rate on propofol plasma-effect site equilibration. **Anesthesiology**, v. 107, n. 3, p. 386-96, set 2007.

SUDO, R. T., et al. Caracterização Anestésica da Nanoemulsão não Lipídica de Propofol. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 60, n. 5, p. 479-483, 2010.

TAMANHO, R. B. **Efeitos cardiorespiratórios e metabólicos do propofol nas formulações em emulsão lipídica e nanoemulsão em felinos**. 2010. 120p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages – SC.

TAMILVANAN, S. Formulation of multifunctional oil-in-water nanosized emulsions for active and passive targeting of drugs to otherwise inaccessible internal organs of the human body. **International journal of pharmaceutics**, v. 381, n. 1, p. 62-76, 2009.

THOMPSON, K. A. e GOODALE, D. B. The recent development of propofol (Diprivan[®]). **Intensive Care Medicine**, n. 26, p. 400-404, 2000.

TORCHILIN, V.P., Nanocarriers. **Pharmaceutical Research**, v. 24, p. 2333–2334, 2007.

TRAPANI, G. et al. Effect of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin on the aqueous solubility of the anaesthetic agent propofol. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 139, p. 215-218, 1996.

TRAPANI G. et al. Water-soluble salts of amino acid esters of the anesthetic agent propofol. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 175, p. 195–204, 1998.

TRAPANI, A., et al. Evaluation of new propofol aqueous solutions for intravenous anesthesia. **International journal of pharmaceutics**, v. 278, n. 1, p. 91-8, 2004.
TSAI, Y. C.; WANG, L. Y.; YEH, L. S. Clinical comparison of recovery from total intravenous anesthesia with propofol and inhalation anesthesia with isoflurane in dogs. **Journal of Veterinary Medicine Science**, v. 69, n. 11, p. 1179-1182, 2007.

VUYK, J. Pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions between opioids and propofol. **Journal of clinical anaesthesia**, v. 9, n. 6 Suppl, p. 23S-26S, 1997.

VUYK, J. et al. Gender differences in the pharmacokinetics of propofol in elderly patients during and after continuous infusion. **British journal of anaesthesia**, v. 86, n. 2, p. 183-188, 2001.

WANG, H. CORK, R.; RAO, A. Development of a new generation of propofol. **Current opinion in anaesthesiology**, v. 20, n. 4, p. 311-315, 2007.

WELLIVER, M.; RUGARI, S. M. New Drug , Fospropofol Disodium : A Propofol pro drug. **The American Association of Nurse Anesthetist**, v. 77, n. 4, p. 301-309, 2010.

WILKINSON, G. R. Farmacocinética: Dinâmica da absorção, da distribuição e da eliminação dos fármacos. In: GOODMAN, L. S. & GILMAN, A. **As bases farmacológicas da terapêutica**. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2005, p. 3-24.

WHITE, P. F. Intravenous (non-opioid) anesthesia. **Seminars in Anesthesia, Perioperative Medicine and Pain**, v. 24, n. 2, p. 101-107, 2005.

WHITE, P. F. Propofol: Its role in changing the practice of anesthesia. **Anesthesiology**, v. 109, n. 6, p. 1132-1136, 2008.

YOUNGS, E. J. & SHAFER, S. L. Principios farmacocineticos e farmacodinamicos básicos. In: WHITE, P. F. **Tratado de anestesia venosa**. Porto Alegre: Artmed, 2001, p. 27-41.

ZORAN, D. L., RIEDSEL, D. H. e DYER, D. C. (1993) Pharmacokinetics of propofol in mixed breed dogs and Greyhounds. **American Journal of Veterinary Research**, v. 54, n. 5, p. 755-760, 1993.

7 ANEXOS

A seguir estão dispostas os resultados das análises cromatográficas, curvas farmacocinéticas e parâmetros farmacocinéticos individuais de cada animal submetido a indução e manutenção anestésica com propofol a 1% em emulsão lipídica (EMU, n = 6) e em nanoemulsão (NANO, n = 6).

Análise cromatográfica

Concentrações plasmáticas individuais e média com desvio padrão em $\mu\text{g/ml}$ nos tempos de coleta durante a infusão contínua nos animais do NANO

TEMPO	C1-NANO	C2-NANO	C3-NANO	C4-NANO	C5-NANO	C6-NANO	MEDIA NANO	Desv pad
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2m	16,264	13,212	17,441	26,357	18,825	21,439	18,923	4,549
5m	12,650	8,490	15,095	20,660	17,500	15,802	15,033	4,167
10m	11,095	6,924	19,088	16,164	16,423	16,475	14,361	4,478
15m	14,740	6,254	15,331	16,484	16,620	10,862	13,382	4,072
30m	12,289	6,806	15,420	16,688	19,076	16,311	14,432	4,334
60m	16,707	7,320	17,376	22,032	23,245	9,461	16,024	6,471

Concentrações plasmáticas individuais e média com desvio padrão em $\mu\text{g/ml}$ nos tempos de coleta durante a infusão contínua nos animais do EMU

TEMPO	C1-EMU	C2-EMU	C3-EMU	C4-EMU	C5-EMU	C6-EMU	MEDIA EMU	Desv pad
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2m	16,924	18,809	10,869	18,138	4,654	8,793	12,253	5,787
5m	16,281	12,929	9,815	13,315	4,390	5,477	9,185	4,694
10m	13,750	12,705	10,842	11,475	3,902	4,791	8,743	4,183
15m	12,589	12,548	4,082	10,372	3,063	4,745	6,962	4,419
30m	14,524	11,352	7,847	12,546	3,589	4,807	8,028	4,399
60m	15,529	12,631	9,347	14,120	4,141	6,156	9,279	4,547

Concentrações plasmáticas individuais e média com desvio padrão em $\mu\text{g/ml}$ nos tempos após o término da infusão contínua nos animais do NANO

TEMPO	C1-NANO	C2-NANO	C3-NANO	C4-NANO	C5-NANO	C6-NANO	Média	Desv pad
0	16,707	7,320	17,376	22,032	23,245	9,461	16,024	6,471
5m	6,860	2,561	8,676	13,264	12,154	6,961	8,413	3,908
10m	5,218	1,662	5,083	10,862	11,535	5,423	6,631	3,808
15m	3,222	1,444	5,718	8,643	7,954	4,177	5,193	2,785
30m	3,272	1,586	3,908	5,097	5,990	2,781	3,772	1,594
1h	2,111	0,868	3,033	4,185	2,679	2,213	2,515	1,100
1,5h	0,949	0,848	2,041	1,781	2,392	1,677	1,615	0,608

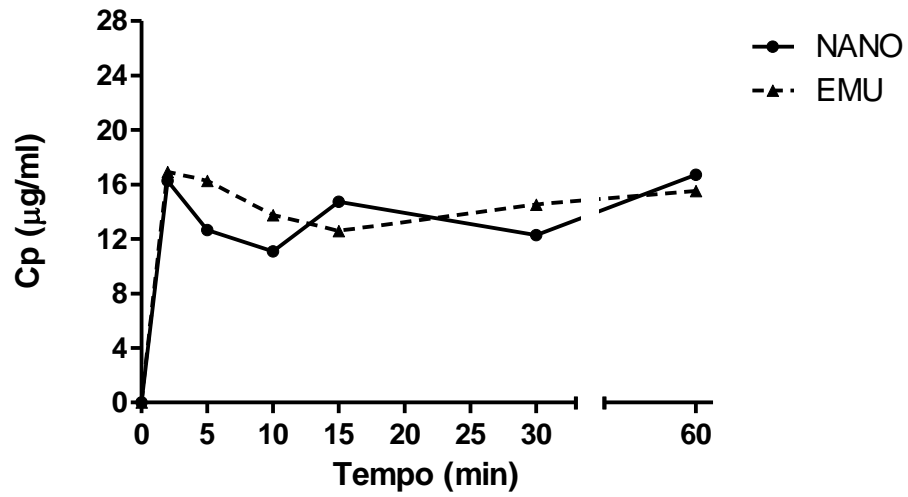
2h	0,639	0,528	1,491	1,950	1,664	0,960	1,205	0,581
3h	0,375	0,312	1,073	1,000	1,683	1,384	0,971	0,544
4h	0,309	0,297	0,680	0,788	1,134	0,595	0,634	0,315
6h	0,124	0,162	1,530	0,611	0,518	0,337	0,547	0,518
10h	0,070	0,110	0,460	0,371	0,205	0,365	0,263	0,158
24h	0,040	0,035	0,167	0,185	0,062	0,074	0,094	0,066

Concentrações plasmáticas individuais e média com desvio padrão em $\mu\text{g/ml}$ nos tempos após o término da infusão contínua nos animais do EMU

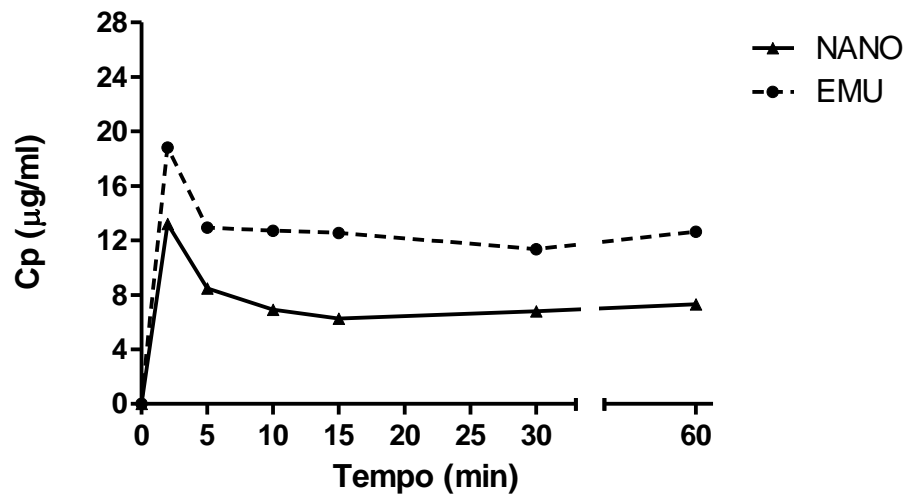
TEMPO	C1- MEU	C2- EMU	C3- EMU	C4- EMU	C5- EMU	C6- EMU	MÉDIA EMU	desv pad
0	15,529	12,631	9,347	14,120	4,141	6,156	9,297	4,547
5m	4,952	3,490	4,232	4,668	1,100	4,709	3,858	1,446
10m	3,797	2,848	2,756	3,634	1,003	1,861	2,650	1,065
15m	3,208	3,749	2,455	3,065	0,811	1,538	2,471	1,110
30m	1,972	2,129	2,544	3,408	0,996	1,083	2,022	0,910
1h	1,220	1,509	1,655	0,899	0,490	0,843	1,103	0,440
1,5h	1,057	0,827	1,627	0,722	0,887	0,511	0,938	0,383
2h	0,736	0,804	1,241	0,408	0,436	0,439	0,677	0,324
3h	0,551	0,613	0,852	0,321	0,346	0,721	0,568	0,208
4h	0,258	0,524	0,823	0,178	0,169	0,221	0,362	0,261
6h	0,156	0,431	0,321	0,104	0,100	0,195	0,218	0,132
10h	0,143	0,121	0,145	0,025	0,094	0,138	0,111	0,046
24h	0,075	0,068	0,064	0,036	0,049	0,066	0,060	0,014

GRÁFICOS DE CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DURANTE A INFUSÃO

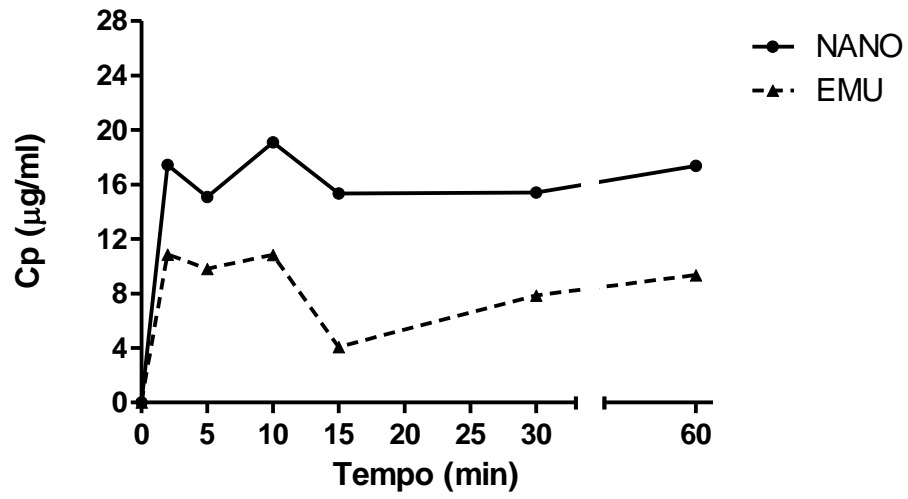
Cão 01



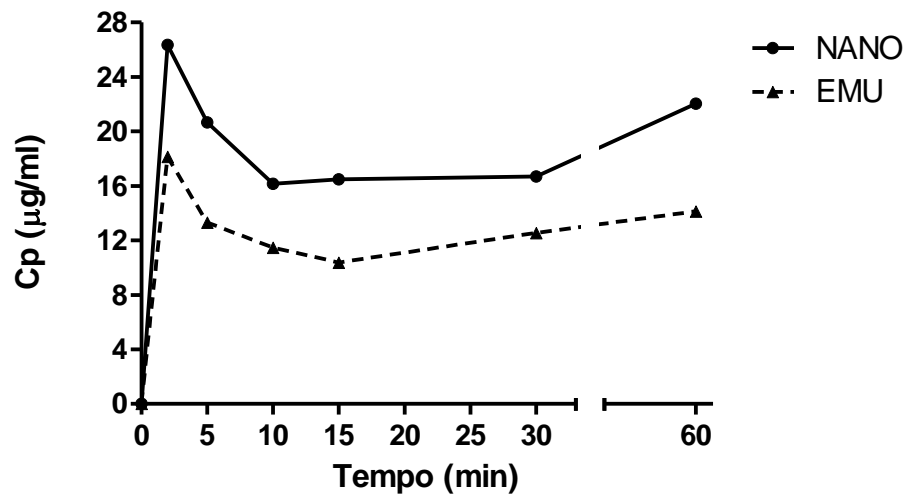
Cão 02



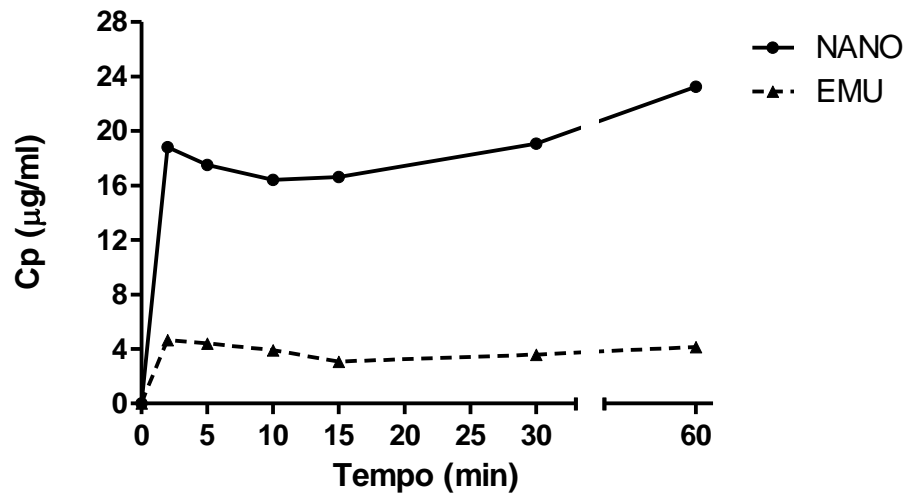
Cão 03



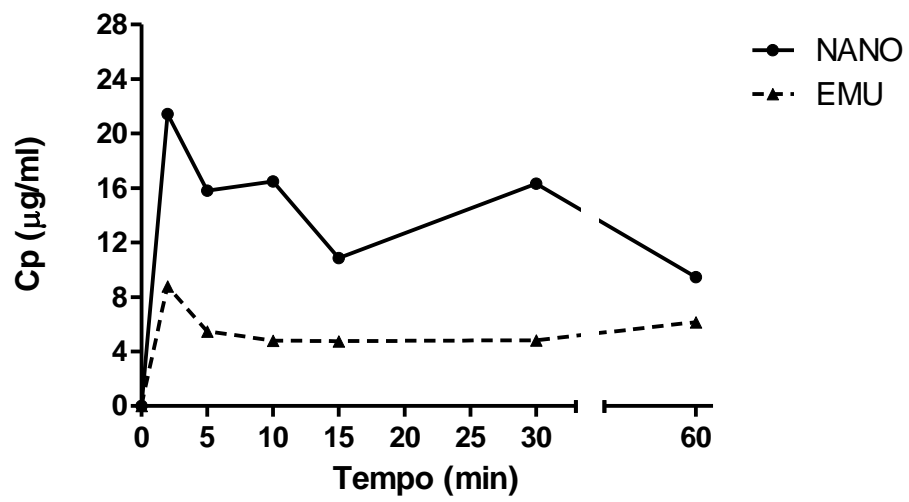
Cão 04



Cão 05

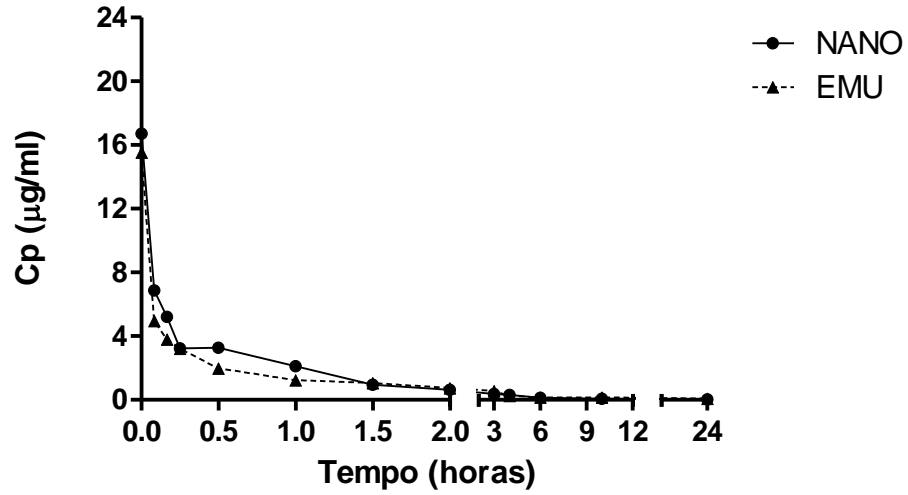


Cão 06

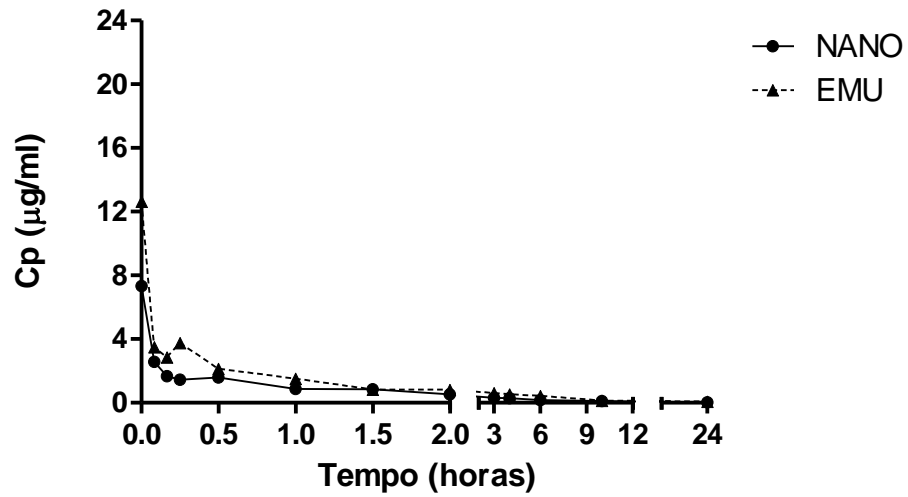


CURVA FARMACOCINÉTICA APÓS O TÉRMINO DA INFUSÃO CONTÍNUA

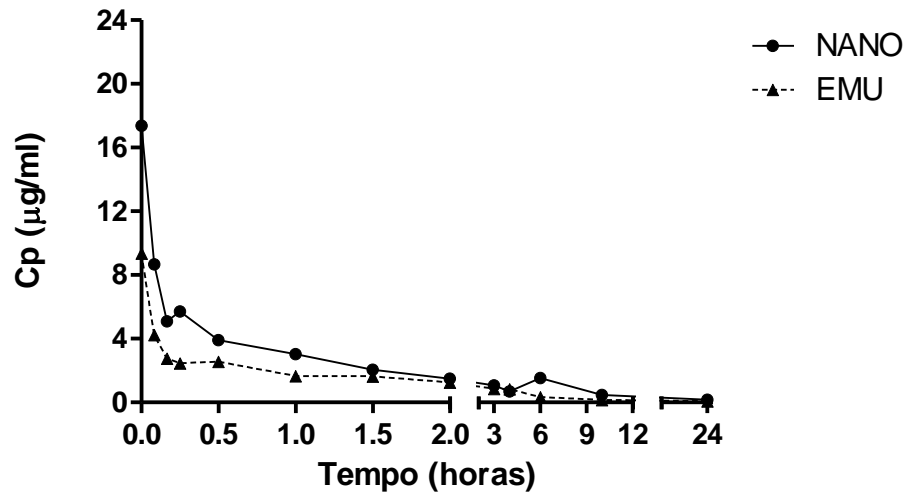
Cão 01



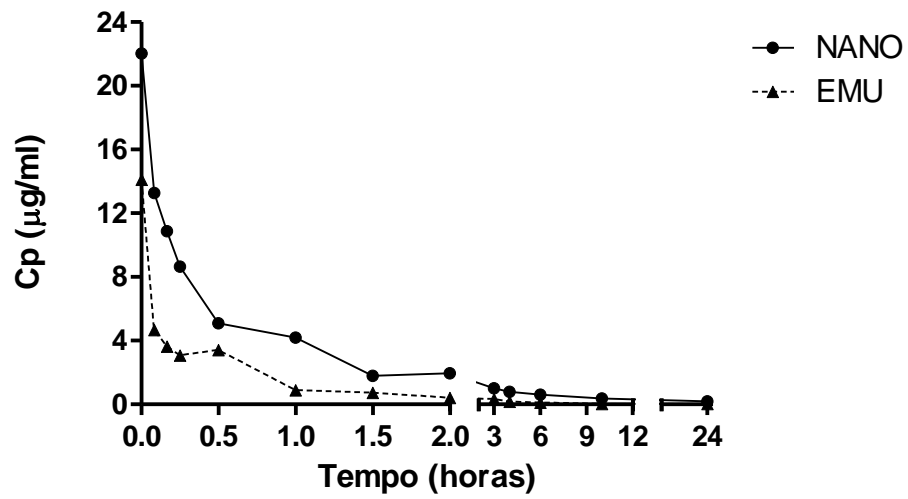
Cão 02



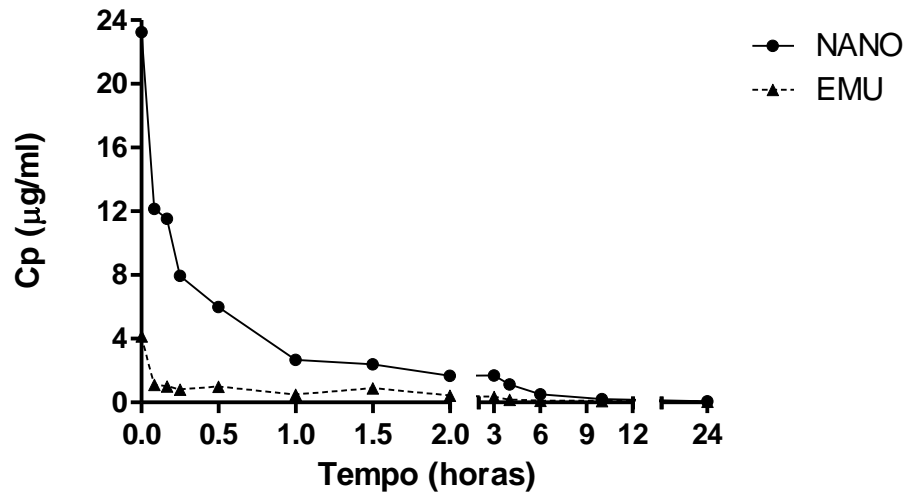
Cão 03



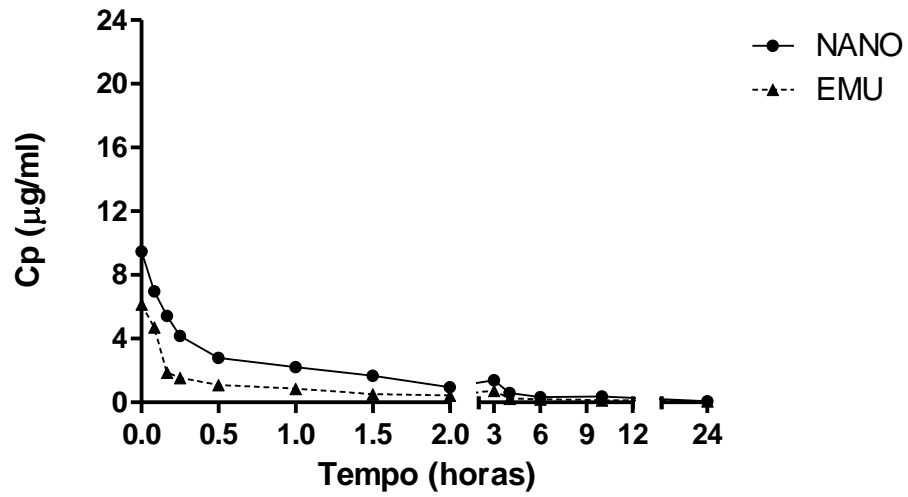
Cão 04



Cão 05



Cão 06



PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS INDIVIDUAIS

ANIMAL	C_{max}	ASC_{0-24}	$ASC_{0-\infty}$
C1 EMU	16,92	1.315,61	1.316,77
C2 EMU	18,81	1.242,94	1.243,29
C3 EMU	10,87	1.060,83	1.062,55
C4 EMU	18,14	1.087,91	1.088,47
C5 EMU	4,65	459,94	460,90
C6 EMU	8,79	664,55	665,38
média	13,03	971,96	972,90
desv pad	5,79	337,50	337,48

ANIMAL	V_1	V_2	V_3	V_{dss}
C1 EMU	2,03	4,61	27,59	34,22
C2 EMU	2,50	4,63	10,29	17,42
C3 EMU	3,38	7,47	22,68	33,53
C4 EMU	2,22	4,62	25,67	32,51
C5 EMU	7,47	20,94	6,07	89,08
C6 EMU	4,92	12,16	31,37	61,20
média	3,75	9,07	20,61	44,66
desv pad	2,11	6,52	10,12	25,96

ANIMAL	CL	Cl_1	Cl_2	Cl_3
C1 EMU	627,00	64,74	494,71	62,23
C2 EMU	737,11	70,57	857,26	104,95
C3 EMU	442,26	49,89	655,35	20,69
C4 EMU	913,55	91,68	597,80	41,51
C5 EMU	976,89	127,34	4.113,05	103,16
C6 EMU	1.050,55	87,49	418,26	105,70
média	791,23	81,95	1.189,41	73,04
desv pad	231,67	26,98	1.440,17	37,00

ANIMAL	$t_{1/2\alpha}$	$t_{1/2\beta}$	$t_{1/2\gamma}$	MRT
C1 EMU	1,75	38,56	635,62	9,16
C2 EMU	1,20	23,85	218,23	5,48
C3 EMU	2,34	107,13	1.137,64	11,46
C4 EMU	1,57	38,34	636,41	5,99
C5 EMU	0,90	79,73	809,42	12,95
C6 EMU	4,60	61,19	528,30	9,48
média	2,06	58,14	660,94	9,09
desv pad	1,34	31,07	304,67	2,94

ANIMAL	k_{10}	k_{12}	k_{13}	k_{21}	k_{31}
C1 EMU	0,0319	0,2440	0,0307	0,1073	0,0023
C2 EMU	0,0283	0,3434	0,0421	0,1851	0,0102
C3 EMU	0,0148	0,1940	0,0061	0,0878	0,0009
C4 EMU	0,0413	0,2690	0,0187	0,1294	0,0016
C5 EMU	0,0171	0,5509	0,0138	0,1964	0,0017
C6 EMU	0,0185	0,0850	0,0215	0,0344	0,0034
média	0,0253	0,2811	0,0221	0,1234	0,0033
desv pad	0,0103	0,1576	0,0127	0,0610	0,0035

ANIMAL	A	B	C
C1 EMU	12,03	3,46	0,29
C2 EMU	9,06	2,66	1,10
C3 EMU	6,81	2,52	0,14
C4 EMU	10,59	3,67	0,13
C5 EMU	3,23	0,94	0,12
C6 EMU	5,33	0,86	0,31
média	7,84	2,35	0,35
desv pad	3,32	1,21	0,38

ANIMAL	α	β	γ
C1 EMU	23,83	1,08	0,07
C2 EMU	34,61	1,74	0,19
C3 EMU	17,79	0,39	0,04
C4 EMU	26,45	1,09	0,07
C5 EMU	46,22	0,52	0,05
C6 EMU	9,03	0,65	0,08
média	26,32	0,91	0,08
desv pad	12,98	0,50	0,06

ANIMAL	C_{max}	ASC_{0-24}	$ASC_{0-\infty}$
C1 NANO	16,71	1276,78	1277,50
C2 NANO	13,21	740,11	740,54
C3 NANO	19,09	2156,43	2158,35
C4 NANO	26,36	2262,79	2265,47
C5 NANO	23,25	2193,87	2194,56
C6 NANO	21,44	1591,96	1592,84
média	20,01	1703,66	1704,88
desv pad	4,71	613,36	613,98

ANIMAL	V_1	V_2	V_3	V_{dss}
C1 NANO	1,89	3,34	22,60	27,83
C2 NANO	4,28	10,78	29,45	44,51
C3 NANO	1,83	2,49	10,13	14,45
C4 NANO	1,47	1,21	10,80	13,48
C5 NANO	1,49	2,67	4,90	9,06
C6 NANO	3,34	3,62	12,13	19,08
média	2,38	4,02	15,00	21,40
desv pad	1,16	3,42	9,15	12,99

ANIMAL	CL	Cl ₁	Cl ₂	Cl ₃
C1 NANO	679,50	67,25	319,20	31,00
C2 NANO	1143,50	100,11	1090,96	79,46
C3 NANO	228,09	27,61	290,03	47,29
C4 NANO	246,74	24,94	92,62	28,81
C5 NANO	268,15	31,06	78,80	10,48
C6 NANO	506,28	42,19	157,30	35,81
média	512,04	48,86	338,15	38,81
desv pad	357,02	29,50	382,01	23,23

ANIMAL	$t_{1/2\alpha}$	$t_{1/2\beta}$	$t_{1/2\gamma}$	MRT
C1 NANO	2,32	40,84	760,84	6,30
C2 NANO	1,74	56,74	511,39	6,91
C3 NANO	2,31	36,79	479,63	8,19
C4 NANO	4,36	36,43	600,65	8,79
C5 NANO	6,79	80,89	463,33	4,48
C6 NANO	6,64	62,43	494,92	6,90
média	4,03	52,35	551,79	6,93
desv pad	2,27	17,68	113,13	1,51

ANIMAL	k_{10}	k_{12}	k_{13}	k_{21}	k_{31}
C1 NANO	0,0355	0,1686	0,0164	0,0956	0,0014
C2 NANO	0,0234	0,2547	0,0164	0,1012	0,0027
C3 NANO	0,0151	0,1582	0,1860	0,1164	0,0047
C4 NANO	0,0170	0,0632	0,0258	0,0768	0,0027
C5 NANO	0,0208	0,0528	0,0196	0,0295	0,0021
C6 NANO	0,0126	0,0471	0,0070	0,0435	0,0030
média	0,0207	0,1241	0,0452	0,0772	0,0028
desv pad	0,0082	0,0836	0,0692	0,0342	0,0011

ANIMAL	A	B	C
C1 NANO	12,18	4,57	0,15
C2 NANO	5,68	1,55	0,24
C3 NANO	11,27	4,94	1,25
C4 NANO	12,71	8,23	0,89
C5 NANO	16,53	4,36	0,54
C6 NANO	6,16	2,79	0,63
média	10,75	4,41	0,62
desv pad	4,16	2,27	0,41

ANIMAL	α	β	γ
C1 NANO	17,98	1,02	0,06
C2 NANO	23,22	0,73	0,08
C3 NANO	17,99	1,13	0,09
C4 NANO	9,55	1,14	0,07
C5 NANO	6,13	0,51	0,09
C6 NANO	6,26	0,67	0,08
média	13,52	0,87	0,08
desv pad	7,17	0,26	0,01

Valores médios das macroconstantes para NANO e EMU

	A	B	C
NANO	10,75±4,16	4,41±2,27	0,62±0,41
EMU	7,84±3,32	2,35±1,21	0,35±0,38