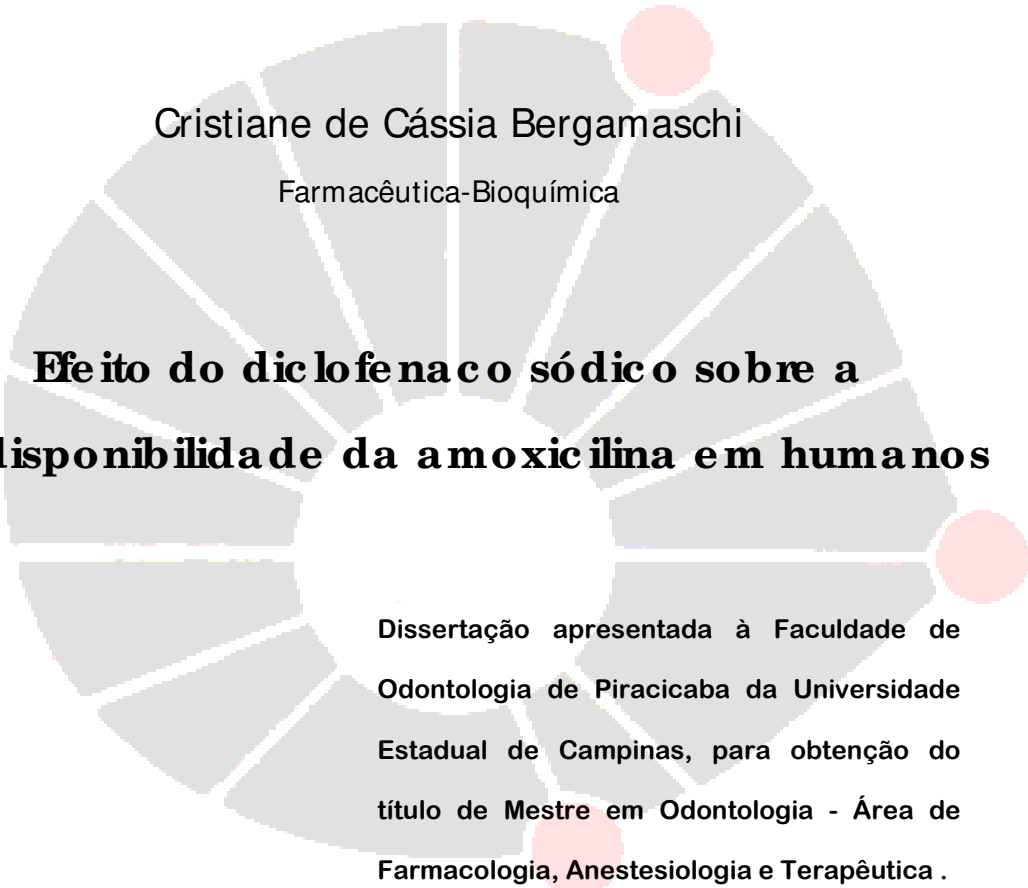


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



Cristiane de Cássia Bergamaschi
Farmacêutica-Bioquímica

**Efeito do diclofenaco sódico sobre a
biodisponibilidade da amoxicilina em humanos**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do
título de Mestre em Odontologia - Área de
Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica .

UNICAMP

PIRACICABA – SP
2006



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



Cristiane de Cássia Bergamaschi

Farmacêutica-Bioquímica

**Efeito do diclofenaco sódico sobre a
biodisponibilidade da amoxicilina em humanos**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do
título de Mestre em Odontologia - Área de
Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica.

Orientador:

Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo

Co-orientador:

Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Eduardo Dias de Andrade

Prof. Dr. Vitoldo Antônio Kozlowski Jr.

Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo

PIRACICABA – SP
2006

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

Bibliotecário: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

B452e	Bergamaschi, Cristiane de Cássia. Efeito do diclofenaco sódico sobre a biodisponibilidade da amoxicilina em humanos. / Cristiane de Cássia Bergamaschi. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2006. Orientadores: Francisco Carlos Groppo, Pedro Luiz Rosalen. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba. 1. Amoxicilina. 2. Medicamentos – Interação. 3. Biodisponibilidade. I. Groppo, Francisco Carlos. II. Rosalen, Pedro Luiz. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título. (mg/fop)
-------	---

Título em inglês: Effect of Sodium Diclofenac on the bioavailability of Amoxicillin

Palavras-chave em inglês (*Keywords*): 1. Amoxicillin. 2. Drug interactions. 3. Bioavailability

Área de concentração: Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica

Titulação: Mestre em Odontologia

Banca examinadora: Eduardo Dias de Andrade, Vitoldo Antônio Kozlowski Jr., Francisco Carlos Groppo

Data da defesa: 17/02/2006



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, em sessão pública realizada em 17 de Fevereiro de 2006, considerou a candidata CRISTIANE DE CÁSSIA BERGAMASCHI aprovada.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "F. C. Groppo", written over a horizontal line.

PROF. DR. FRANCISCO CARLOS GROPPPO

A large, stylized handwritten signature in blue ink, written over a horizontal line.

PROF. DR. VITOLDO ANTONIO KOZLOWSKI JUNIOR

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Eduardo", written over a horizontal line.

PROF. DR. EDUARDO DIAS DE ANDRADE

200 60 7 8 7 2

Dedicatória

Dedicatória

À **Deus Pai**, pela vida...

Aos meus queridos pais, **Clementino e Waldecir** por serem meu alicerce, por todo amor, carinho, dedicação e confiança que sempre depositaram em mim...

Ao **Rogério**, pelo amor, constante carinho, ajuda nos momentos difíceis, por ter sido meu grande incentivador, sem o qual essa jornada não teria começado...

À minha **tia e madrinha Claudete** pelo exemplo e por todo o amor...

Aos meus irmãos **Marco, Guto, Júlio e André** e as minhas cunhadas **Claúdia, Maria e Luzia**, pelo constante incentivo, por serem conselheiros de todas as horas, por serem meu espelho e pela união...

Aos meus sobrinhos **Camila, Thaísa e Bento** por representarem a esperança e a alegria da vida...

À **Carmelinda, Dona Aparecida, Rosa, Tia Cida e Tia Elza**, que sempre me incentivaram e torceram por mim...

A todos da **minha família** e à **família Motta**...

dedico este trabalho

Agradecimentos Especiais

Ao **Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo**, amigo e orientador, agradeço pela orientação, pelos ensinamentos compartilhados, pela paciência, pelo incentivo, pelos momentos de descontração, pelos momentos de “chamada de atenção”, pelo exemplo de professor e pesquisador, meu profundo respeito e admiração.

À **Profa. Dra. Maria Cristina Volpato**, pelo exemplo, amizade, torcida e pelas palavras amigas e encorajadoras nos momentos difíceis.

Ao **Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen**, pela amizade, dedicação e imprescindíveis ensinamentos nas aulas de seminários.

Ao **Prof. Dr. Eduardo Dias de Andrade**, pela amizade e exemplo de professor e pessoa admirável.

Ao **Prof. Dr. José Ranali**, pela amizade, incentivo e confiança.

Ao **Prof. Dr. Thales Rocha Mattos Filho**, pela amizade e apoio.

Aos amigos **Maria Elisa dos Santos, Eliane Melo Franco e José Carlos Gregório**, pelo carinho, convivência, prontidão e acima de tudo, pela amizade.

Agradecimentos Especiais

Aos amigos de mestrado **Michele, Karina, Rodrigo, Gilson, Alcides e Humberto** agradeço pelos momentos alegres, pelo crescimento que tivemos juntos, pelos ensinamentos e seminários, e acima de tudo pelo companheirismo. Vocês representam uma família para mim...

Ao **Rogério, Gilson, Karina e Michele** que estiveram ao meu lado nesta jornada e que compartilharam comigo as alegrias e os momentos difíceis, agradeço pelo auxílio na realização deste trabalho...

Aos queridos amigos farmacólogos: **Regiane, Giovana, Roberta, Sinvaldo, Ramiro, Felipe, Marcos, Luciana, Mirela, Bruno, Paulo, Vivian, Luciana Berto** e não-farmacólogos: **Paula, Renato, Ronaldo, Luciana, Patrique, Juliana, Leandro, Juliana Trindade, Dona Neuza, Cristina, Vanessa, Fabíola, Gilmar, Tatiana, Eduardo**, e tantos outros **amigos**, que sempre incentivaram e torceram por mim, agradeço pela convivência, amizade e ensinamentos de vida.

Aos amigos **Jorge Valério e Juliana**, agradeço pela amizade e pelos ensinamentos que vão além das aulas de inglês.

Aos amigos **Voluntários**, agradeço pela colaboração, disposição, paciência e por acreditarem neste trabalho.

Aos **amigos e funcionários da FOP**, que direta ou indiretamente, embora não citados, me incentivaram e apoiaram durante o trabalho.

Agradecimentos

Agradecimentos

À **Universidade Estadual de Campinas**, por meio do Reitor: Prof Dr. José Tadeu Jorge.

À **Faculdade de Odontologia de Piracicaba** (FOP-UNICAMP), na pessoa de seu diretor: Prof. Dr. Thales Rocha Mattos Filho.

Ao **Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen**, coordenador dos Cursos de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

Ao **Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo**, coordenador do Curso de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica.

À **Profa. Dra. Maria Cristina Volpato**, chefe do departamento de Ciências Fisiológicas da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

Ao CNPq, **Centro Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico**, pela concessão de bolsa de estudo para realização deste trabalho e à **FAPESP** pelo auxílio à pesquisa para o desenvolvimento deste trabalho.

À **Sra. Sueli Ferreira de Oliveira**, bibliotecária da FOP, pela atenção e preciosa ajuda na revisão bibliográfica.

À **Sr. Érica Alessandra Sinhoreti** e à **Sr. Raquel Quintana Sachi**, secretárias da Coordenadoria do Programa de Pós-Graduação da FOP-UNICAMP, pela solicitude e presteza de seus serviços.

De tudo ficaram três coisas:

A certeza de que estamos sempre recomeçando...

A certeza de que precisamos continuar...

A certeza de que seremos interrompidos antes de terminar...

Portanto devemos fazer da interrupção um caminho novo...

Da queda um passo de dança...

Do medo, uma escada...

Do sonho, uma ponte...

Da procura, um encontro...

Fernando Sabino

Sumário

	Resumo	1
	Abstract	2
1	Introdução	3
2	Proposição	7
3	Capítulo	8
3.1	Capítulo I	9
4	Conclusão	30
5	Referências Bibliográficas	31
6	Anexo	35
6.1	Anexo 1 – Termo de consentimento livre esclarecido	35
6.2	Anexo 2 – Resolução do formato alternativo para defesa	40
6.3	Anexo 3 – Certificado de aprovação do comitê de ética da Faculdade de Odontologia de Piracicaba	41
6.4	Anexo 4 – E-mail de confirmação de submissão do artigo	42
6.5	Anexo 5 – Tabela de abreviaturas	43
6.6	Anexo 6 – Dados estatísticos	45

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do diclofenaco sódico sobre a biodisponibilidade da amoxicilina. Vinte voluntários do gênero masculino foram avaliados em um estudo aberto, randomizado, cruzado, com dois períodos e intervalo de uma semana entre as colheitas das amostras de sangue. Os voluntários receberam dose única de 2g amoxicilina (Amoxil[®]) - Grupo 1 ou 2g de amoxicilina (Amoxil[®]) juntamente com 100mg de diclofenaco sódico (Voltaren[®]) - Grupo 2. Imediatamente antes e após 15min, 30min, 1h, 1h30min, 2h, 2h30min, 4h, 6h, 8h, 12h e 24h da administração dos fármacos, foram obtidas amostras de plasma. A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção UV foi usada para quantificar a concentração plasmática de amoxicilina. O método microbiológico, usando *Micrococcus luteus* ATCC 9341 como microorganismo teste, foi realizado para verificar a eficácia antimicrobiana da amoxicilina *in vitro*. Os parâmetros farmacocinéticos concentração máxima (C_{max}), área sob a curva de 0 ao infinito (ASC_{0-inf}), área sob a curva de 0 a t (ASC_{0-24}) e clearance renal (CL) foram submetidos à ANOVA, enquanto os parâmetros tempo necessário para a máxima concentração (T_{max}) e volume de distribuição (VD) foram analisados pelo teste de Wilcoxon ($p < 0.05$). Os valores observados de ASC_{0-24} , C_{max} e T_{max} para o Grupo 1 foram 3391,8 μ g.min/ml ($\pm 1186,7$), 17,3 μ g/ml ($\pm 6,5$) e 121,5min ($\pm 20,6$), respectivamente e para o Grupo 2 foram 2918,4 μ g.min/ml ($\pm 1024,8$), 15,5 μ g/ml ($\pm 5,8$) e 136,5min ($\pm 30,0$), respectivamente. O Grupo 2 demonstrou redução nos parâmetros de ASC and C_{max} ($p < 0.05$). O CL da amoxicilina aumentou ($p < 0.05$) em 18,5% no Grupo 2, sugerindo uma possível interferência do diclofenaco sódico na excreção renal da amoxicilina. O diclofenaco sódico afetou significativamente a farmacocinética da amoxicilina, reduzindo sua biodisponibilidade.

Palavras-Chave: amoxicilina, diclofenaco sódico, interação medicamentosa, biodisponibilidade.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of sodium diclofenac on the bioavailability of amoxicillin. Twenty volunteers were evaluated in an open, randomized, two-period, crossover study with one-week of washout period. The study was designed in two groups: a 2-g oral dose of amoxicillin (Amoxil[®]) – Group 1; or a 2-g oral dose of amoxicillin with 100mg of sodium diclofenac (Voltaren[®]) – Group 2. Blood samples were collected at 0, 15min, 30min, 1h, 1h30min, 2h, 2h30min, 4h, 6h, 8h, 12h and 24h after drug administration. High-performance liquid chromatography (HPLC) with UV detection was used to quantify plasmatic amoxicillin concentrations. Bioassay (*Micrococcus luteus* ATCC9341) was performed to verify the antimicrobial efficacy of amoxicillin *in vitro*. The pharmacokinetic parameters AUC, C_{max} and CL were analyzed by ANOVA and T_{max} and VD by Wilcoxon test ($p<0.05$). For group 1, AUC₀₋₂₄, C_{max} and T_{max} values were 3391.8µg-min/ml (± 1186.7), 17.3µg/ml (± 6.5) and 121.5min (± 20.6), respectively, and for Group 2, 2918.4µg-min/ml (± 1024.8), 15.5µg/ml (± 5.8) and 136.5min (± 30.0). Lower values of AUC and C_{max} were obtained for Group 2 ($p<0.05$). The clearance of amoxicillin increased ($p<0.05$) 18.5% in Group 2, suggesting that sodium diclofenac might interfere with amoxicillin renal excretion. In conclusion, sodium diclofenac can reduce the bioavailability of amoxicillin significantly.

Key words: amoxicillin, sodium diclofenac, drug interaction, bioavailability.

1. Introdução

As interações medicamentosas podem ocorrer quando dois fármacos são concomitantemente administrados e um ou ambos podem influenciar o tempo de permanência ou eficácia do outro no organismo (Oh *et al.*, 2006).

É comum a associação entre antimicrobianos e antiinflamatórios na clínica médica e odontológica. A avaliação de possíveis interações entre estes grupos de fármacos, se faz necessária, uma vez que as interações podem comprometer a eficácia clínica dos mesmos. Para avaliar estas associações, muitos autores realizaram estudos de farmacocinética, através dos quais foi possível verificar possíveis modificações na biodisponibilidade dos fármacos quando associados (Merle-Melet *et al.*, 1992; Mueller *et al.*, 1993; Oh *et al.*, 2006).

Para a determinação da concentração de amoxicilina, vários métodos têm sido utilizados dos quais podem ser citados os ensaios iodométrico, óptico (US Pharmacopeia, 1990), microbiológico (Suarez-Kurtz *et al.*, 2001), espectrofotométrico (Devani *et al.*, 1992) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Charles & Chulavatnatol, 1993; Pires de Abreu *et al.*, 2003). Dentre estes métodos, o último tem se mostrado mais sensível e específico para determinação das concentrações de amoxicilina em fluídos corpóreos (Pires de Abreu *et al.*, 2003).

A amoxicilina (α -amino-p-hidroxibenzilpenicilina) é um antimicrobiano conhecido há mais de duas décadas e que possui uso clínico bastante difundido devido ao seu amplo espectro de atividade antimicrobiana e alta biodisponibilidade oral (Suarez-Kurtz *et al.*, 2001). Além disso, o fármaco apresenta excelente absorção por via oral, baixa taxa de efeitos colaterais e boa penetração tecidual (Pires de Abreu *et al.*, 2003).

O mecanismo de ação da amoxicilina baseia-se na inibição da síntese da parede celular, de forma semelhante à penicilina G, diferindo pela maior capacidade de penetração nas barreiras lipídicas, principalmente em microrganismos gram-negativos (Waxman & Strominger, 1983). Além disso, a amoxicilina atua na parede celular mais complexa,

Introdução

atingindo enzimas localizadas na face externa da membrana celular bacteriana (Handsfield *et al.*, 1973).

O uso concomitante com os alimentos não tem demonstrado influência na farmacocinética do fármaco, de modo que, a quantidade absorvida e o $C_{\max}$ (Concentração plasmática máxima) da amoxicilina permanecem inalterados (Eshelman & Spyker, 1978, Dajani *et al.*, 1994).

A $C_{\max}$ da amoxicilina é atingida após cerca de 2 horas da administração, atingindo níveis plasmáticos de 10.3 µg/mL após a administração de 1g do fármaco (Molinaro *et al.*, 1997) e 12.8 mg/L após a administração de 2g do fármaco (Dajani *et al.*, 1994).

A amoxicilina exibe baixa ligação às proteínas plasmáticas, em torno de 17%. É rapidamente distribuída pelo corpo e possui um $t_{1/2}$ (tempo de meia-vida de eliminação) que varia de 1.0 à 1.5 hora (Barr *et al.*, 1994; Paintaud *et al.*, 1992; Suarez-Kurtz *et al.*, 2001).

A eliminação do fármaco ocorre preferencialmente por excreção na urina em sua forma ativa, apresentando uma maior taxa de excreção quando comparada a ampicilina (Gordon *et al.*, 1972). Após 6h da sua administração, 60% de uma dose oral de amoxicilina é excretada inalterada pela urina por filtração glomerular e secreção tubular (Molinaro *et al.*, 1997).

Em odontologia, a amoxicilina é considerada o antimicrobiano de primeira escolha em diversos tipos de infecções (Palmer *et al.*, 2000). É recomendada para o tratamento das infecções bucais devido à sua eficácia contra a maioria dos microrganismos isolados de abscessos dento-alveolares (Martin *et al.*, 1997) e por promover concentrações teciduais satisfatórias (Akimoto *et al.*, 1994).

A amoxicilina tem sido o antimicrobiano de primeira escolha também para a profilaxia contra a endocardite bacteriana para procedimentos odontológicos mais invasivos em pacientes que apresentam riscos para esta patologia. Neste caso, o regime padrão adotado para adultos é composto por uma dose de 2g do fármaco, por via oral, 1 hora antes do procedimento. Esta conduta é recomendada pela *American Heart Association* (AHA) devido ao fato da amoxicilina ser mais bem absorvida pelo trato gastrointestinal e proporcionar níveis séricos mais elevados e duradouros quando comparados a outros beta-lactâmicos (Dajani *et al.*, 1997).

Introdução

Diversos medicamentos contendo amoxicilina para administração oral estão disponíveis no mercado farmacêutico brasileiro. São apresentações em suspensões, cápsulas e comprimidos, incluindo concentrações de 125, 200, 250, 400, 500, 875 e 1000mg (Pires de Abreu *et al.*, 2003; Georgopoulos *et al.*, 2001).

O diclofenaco sódico ou acetato de sódio-[α -(2,6-diclorofenil)-amino-fenil] é um dos fármacos mais utilizados da classe dos antiinflamatórios não esteroidais (AINES), devido ao seu alto grau de atividade antiinflamatória, analgésica e antipirética (Arcelloni *et al.*, 2001).

É derivado do grupo do ácido fenilacético, cujo mecanismo de ação é atribuído à inibição da atividade da enzima cicloxigenase (COX) e prostaglandina sintetase (Andrade, 1999). Admite-se que outros mecanismos de ação possam estar envolvidos, como o aumento da concentração plasmática de beta-endorfinas que podem contribuir no efeito analgésico do diclofenaco (Esteller-Martinez *et al.*, 2004).

A administração oral do diclofenaco sódico causa absorção rápida e completa, no entanto, o fármaco sofre considerável efeito de primeira passagem, limitando sua disponibilidade oral para 50 e 60% (Hinz *et al.*, 2005). O T_{max} (tempo necessário para a máxima concentração) é atingido 1.3 à 2 horas após a administração oral (Davies & Anderson, 1997).

O diclofenaco sofre modificações na sua farmacocinética quando administrado juntamente com os alimentos, ocorrendo redução da quantidade do fármaco absorvido e no valor de C_{max} , assim como atraso no tempo de absorção, representado por um maior valor de T_{max} (Poli *et al.*, 1996).

É um fármaco extensivamente ligado às proteínas plasmáticas, em torno de 99,5% e sofre rápida metabolização pelo fígado. O $T_{1/2}$ é de 1.2 à 2 horas após a administração oral (Davies & Anderson, 1997).

Com administração oral ou intravenosa, o fármaco é excretado em torno de 50 a 70% na urina e 30 a 35% nas fezes, sendo que, após 96 horas da administração somente uma mínima parte (1%) é excretada intacta (Willis *et al.*, 1979).

O diclofenaco sódico está disponível nas apresentações orais em suspensões e comprimidos, incluindo as concentrações de 12.5, 25, 50, 100mg. Dentre estas

Introdução

apresentações, a forma de comprimidos tem sido a mais utilizada em odontologia (Bakshi *et al.*, 1994).

Considerado um fármaco efetivo no alívio e controle da dor, tem sido utilizado desde a década de 70 em procedimentos orais, por prevenir a liberação de mediadores responsáveis pela dor e inflamação. Além da sua eficácia, o uso do diclofenaco tem demonstrado boa tolerabilidade aos pacientes (Hyrkas *et al.*, 1992).

Devido ao amplo uso e eficácia do diclofenaco sódico na terapêutica medicamentosa, diversos estudos foram realizados para verificar os efeitos decorrentes do seu uso concomitante com outros fármacos, tais como a aspirina, a digoxina, a ciclosporina, ranitidina dentre outros (Davies & Anderson, 1997). Embora a associação do diclofenaco com a amoxicilina tenha sido avaliada em animais (Groppo *et al.*, 2004), não existem relatos na literatura que avaliam esta associação em humanos.

2. Proposição

Foram objetivos deste estudo:

1. Determinar alguns parâmetros farmacocinéticos da amoxicilina na dose 2g, através da dosagem plasmática pela Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLEA).
2. Avaliar o efeito do diclofenaco sódico sobre os parâmetros farmacocinéticos da amoxicilina.
3. Avaliar a eficácia antimicrobiana da amoxicilina, *in vitro*.

3. Capítulo

Essa dissertação está baseada na Informação CCPG/001/98/Unicamp que regulamenta o formato alternativo para a dissertação de Mestrado e permite a inserção de artigos científicos de autoria ou co-autoria do candidato. **(Anexo 2)**

Desta forma, esta tese é composta de 1 artigo, o qual será submetido para publicação, conforme descrito abaixo:

3.1. – Artigo 1 - **Effect of Sodium Diclofenac on the bioavailability of Amoxicillin**, o qual foi aceito para publicação ao *International Journal of Antimicrobial Agents*. **(Anexo 4)**

3.1. Title: Effect of Sodium Diclofenac on the bioavailability of Amoxicillin.

Cristiane de Cássia Bergamaschi, PharmD, MSc student^a

Rogério Heládio Lopes Motta, DDS, PhD^b

Gilson Cesar Nobre Franco, DDS, PhD student^a

Karina Cogo, PharmD, MSc student^a

Michele Franz Montan, DDS, MSc student^a

Glaúcia Maria Bovi Ambrosano, PhD^a

Pedro Luiz Rosalen, PharmD, PhD^a

Francisco Carlos Groppo, DDS, PhD^{a*}

^a Piracicaba Dental School – University of Campinas – Department of Pharmacology, Anesthesiology and Therapeutics, Piracicaba, SP, Brazil.

^b Department of Pharmacology, Anesthesiology and Therapeutics - São Leopoldo Dentistry School, Campinas, SP, Brazil.

*Corresponding author:

Francisco Carlos Groppo

Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP

Av. Limeira, 901; 13414-903 Piracicaba, SP, Brazil.

Phone/Fax: 55 19 3412 5310

E-mail: fcgroppo@fop.unicamp.br

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of sodium diclofenac on the bioavailability of amoxicillin. Twenty volunteers were evaluated in an open, randomized, two-period, crossover study with one-week of washout period. The study was designed in two groups: a 2-g oral dose of amoxicillin (Amoxil[®]) – Group 1; or a 2-g oral dose of amoxicillin with 100mg of sodium diclofenac (Voltaren[®]) – Group 2. Blood samples were collected at 0, 15 min, 30 min, 1 h, 1 h 30 min, 2 h, 2 h 30 min, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h and 24 h after drug administration. High-performance liquid chromatography (HPLC) with UV detection was used to quantify plasmatic amoxicillin concentrations. Bioassay (*Micrococcus luteus* ATCC9341) was performed to verify the antimicrobial efficacy of amoxicillin *in vitro*. The pharmacokinetic parameters AUC, C_{max} and CL were analyzed by ANOVA and T_{max} and VD by Wilcoxon test ($p < 0.05$). For group 1, AUC₀₋₂₄, C_{max} and T_{max} values were 3391.8 µg-min/ml (± 1186.7), 17.3 µg/ml (± 6.5) and 121.5 min (± 20.6), respectively, and for Group 2, 2918.4 µg-min/ml (± 1024.8), 15.5 µg/ml (± 5.8) and 136.5 min (± 30.0). Lower values of AUC and C_{max} were obtained for Group 2 ($p < 0.05$). The clearance of amoxicillin increased ($p < 0.05$) 18.5% in Group 2, suggesting that sodium diclofenac might interfere with amoxicillin renal excretion. In conclusion, sodium diclofenac can reduce the bioavailability of amoxicillin significantly.

Key words: amoxicillin; drug interaction; sodium diclofenac; pharmacokinetic parameters; bioavailability

Introduction

Amoxicillin is a widely prescribed antimicrobial agent especially due to its extended spectrum, rapid and extensive oral absorption and good tolerability [1]. Several studies have shown that the bactericidal activity of amoxicillin is better than that of other beta-lactam antibiotics [2,3]. The oral dosage recommended for adult patients is usually 250 to 500 mg tid.[4,5] Higher doses have been prescribed twice a day, with 12 hour intervals, showing the same therapeutic efficacy [5-7].

Two grams of amoxicillin provide a maximum serum concentration of 12.8 mg/L two hours after administration, and can reach to 2.9 mg/L six hours after administration. This last value is approximately 3.6 to 18 times higher than the minimum inhibitory concentration (MIC) of alpha-hemolytic streptococci (0.1 a 0.5 mg/L) [8].

Food does not interfere with absorption or plasmatic concentration of amoxicillin [8]. Its plasmatic protein binding ranges from 17–20% and its excretion is predominantly renal ($T_{1/2}$ from 1 h to 1.5 h) [9].

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) have shown to be effective in controlling mild to moderate postoperative pain. Among NSAIDs, sodium diclofenac has been widely used because of its anti-inflammatory and analgesic efficacy [10]. After oral administration, it is rapidly and completely absorbed, metabolized to glycoconjugate and sulphate metabolites, and excreted in urine and bile [11].

Drug interactions were verified when diclofenac was associated with aspirin, lithium, digoxin, methotrexate, cyclosporin, cholestyramine, and colestipol [12]. However,

information on the association of sodium diclofenac and antimicrobial agents is scarce. The association of amoxicillin with nonsteroidal anti-inflammatory drugs is common in Dentistry and in Medicine [13]. A previous study in rats showed that both amoxicillin tissue and serum concentrations were significantly reduced by sodium diclofenac [14].

The aim of this study was to verify the effect of sodium diclofenac on the bioavailability of amoxicillin in humans.

Materials and methods

2.1. Subject Population

This study consisted of twenty healthy male volunteers, age 21 to 28 years (24.4 ± 2.3 years), weighing 57 to 97 kg (73.9 ± 9.5 kg), and having 1.63 to 1.94 m (1.75 ± 0.07 m) in height. The index of body mass was 19.1 to 26.4 kg/m² (23.1 ± 2.0 kg/m²). Volunteers were free from cardiac, hepatic, renal, pulmonary, neurological, gastrointestinal, and hematological diseases, psychiatric disorders and allergy to penicillin.

The protocol of this study was approved by the Ethical Committee of Piracicaba Dental School - University of Campinas, Sao Paulo, Brazil (#160/2003). All participants gave written consent after they were informed of the nature and details of the study (**Anexo 3**).

Subjects were instructed to avoid any kind of drug therapy for at least 2 weeks prior to study and up to its completion. They were also refrained from alcoholic drinks and xanthine-containing foods as well as from beverages such as tea, coffee, and cola, 48 hours prior to each dosing and until the last blood sample was collected [15].

2.2. Drugs

Amoxicillin 500 mg capsules (Amoxil[®] BD - Glaxo Smithkline, lot # FE0003, Rio de Janeiro, Brazil) and sodium diclofenac 100 mg tablets (Voltaren[®] - Novartis, lot # Z0028A, São Paulo, Brazil) were used.

2.3. Clinical Protocol

This study was conducted in an open, randomized, two-period, crossover balanced design with a one-week washout period between doses. Blood collections were carried out at the ambulatory of Piracicaba Dental School (UNICAMP), Sao Paulo, Brazil.

After a 12 hour fasting period, the subjects received a single oral dose of either 2 g Amoxicillin (Group 1) or 2 g Amoxicillin plus 100 mg sodium diclofenac (Group 2), both with water (200 mL). Two hours after drug administration, the subjects had a standard breakfast (peach juice and a loaf of bread with margarine) and were then allowed to consume water *ad libitum*. A complete standardized meal (lunch) was allowed four hours after drug administration. The volunteers were observed and told to inform of any adverse effect during the study.

Blood samples (5 mL) from antecubital vein were collected via heparinized cannula at pre-dose, 15 min, 30 min, 1 h, 1 h 30 min, 2 h, 2 h 30 min, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h and 24 hours after drug administration and placed into sterile tubes with 100 µL of 10% EDTA solution. The heparinized saline solution (0.9% NaCl and heparine, 9.8:0.2) injection (0.4 mL) was flushed into the cannula to prevent blood clotting after each blood sampling. The last sampling was obtained using sterile syringe and needle. Immediately after each blood

collection, the samples were centrifuged at 3000 g for 15 min and plasma was then separated and stored at -70°C.

2.4. Sample Analysis

Amoxicillin plasmatic concentrations were measured by high performance liquid chromatography (HPLC). In addition, a bioassay test was used to observe the influence of sodium diclofenac on the *in vitro* bactericidal activity of amoxicillin *against Micrococcus luteus* or synergistic antibacterial activity of sodium diclofenac.

2.5. Bioassay

Three sterilized metal cylinders (5 mm-diameter) plus plasma samples (40 µl) were placed in Petri dishes containing Mueller Hinton agar (Merck, Darnstadt, Germany), previously inoculated with 10⁸ cfu/mL of *Micrococcus luteus* ATCC 9341. The resulting inhibition zones were measured (in mm) 18 hours after incubation at 37°C.

2.6. Chromatographic Analysis

The liquid chromatography equipment consisted of a HPLC pump (Varian Model 9012) and a manual injection valve (Rheodyne 7125) equipped with a 50µl loop (Varian Inc. Corporate, Palo Alto, USA). The chromatographic separations were carried out using a LiChrospher 100 RP18 column (125mm x 4mm x 5µm, Merck, Darnstadt, Germany). The separated components were detected using a Varian pump model 9012 with a 9050 UV-VIS detector (Varian Inc. Corporate, Palo Alto, USA). The detection signals were obtained

using the Star integrator software (Varian Inc. Corporate, Palo Alto, USA). Amoxicillin analysis was performed using previously adapted and validated methods [16, 17].

The samples (500 μ L) were submitted to extraction by using 250 μ L of a perchloric acid protein-precipitation solution [16]. The samples were kept at room temperature for 10 min and centrifuged (15.000 g) for 15 min at 4°C. The pH of the final supernatant was adjusted to 5.2 and 50 μ L of Cefadroxil (100 μ g/mL) was added to plasma samples as internal standard.

The samples were eluted with a mobile phase consisting of a 0.01 M aqueous solution of sodium monophosphate (pH=4.8) and acetonitrile (97:3). The flow-rate was 1.0 mL/min and the wavelength was set at 229 nm [17]. Total analysis time was 6 min.

Standard stock solutions of amoxicillin were diluted in drug-free plasma from 100 μ g/mL to 0.1 μ g/mL to achieve the calibration curves, and stored in the dark at 4°C.

2.7. Pharmacokinetic and statistical analyses

Computer software (PK Solutions, Non-compartmental Pharmacokinetics Data analysis Excel Template, 2001, Summit Research Services, Montrose, CO, USA) was used to obtain the following parameters: $C_{\max}$ - the highest concentration observed during the 24-hour study period; $T_{\max}$ - the time at which $C_{\max}$ occurred; AUC_{0-24} - the area under the plasma concentration-time curve from baseline to 24 h; $AUC_{0-\infty}$ - the area under the plasma concentration-time curve from baseline to infinity; CL (renal clearance); and VD (volume of distribution).

The statistical analysis was performed using the SAS software (SAS 1999-2001, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). ANOVA was used to analyze all variables, except $T_{\max}$ and VD , which were analyzed by Wilcoxon test. Bioassay data were also analyzed by Wilcoxon test.

Results

All volunteers completed the study in good health conditions as confirmed by medical examination after study completion. Given that no adverse effects were reported or observed, both amoxicillin and sodium diclofenac were well tolerated after oral administration.

The HPLC was sensitive in quantifying amoxicillin in plasma (limit of quantification=0.1µg/mL, $R^2=0.9996$). Figure 1 shows the calibration curve for HPLC methods.

The association of sodium diclofenac with amoxicillin provided a significant reduction (ANOVA, t test, $p<0.05$) in the following pharmacokinetic parameters: $C_{\max}$, AUC_{0-24h} and $AUC_{0-\infty}$. No statistically significant differences were observed for VD parameter (Wilcoxon test, $p>0.05$). A significant increase in CL and $T_{\max}$ was also observed when both drugs were combined ($p<0.05$). The renal clearance of amoxicillin increased (ANOVA, t test, $p<0.05$) 18.5% when sodium diclofenac was combined with amoxicillin.

Mean plasmatic concentrations of amoxicillin (Group 1) and amoxicillin plus sodium diclofenac (Group 2) are shown in Figure 2.

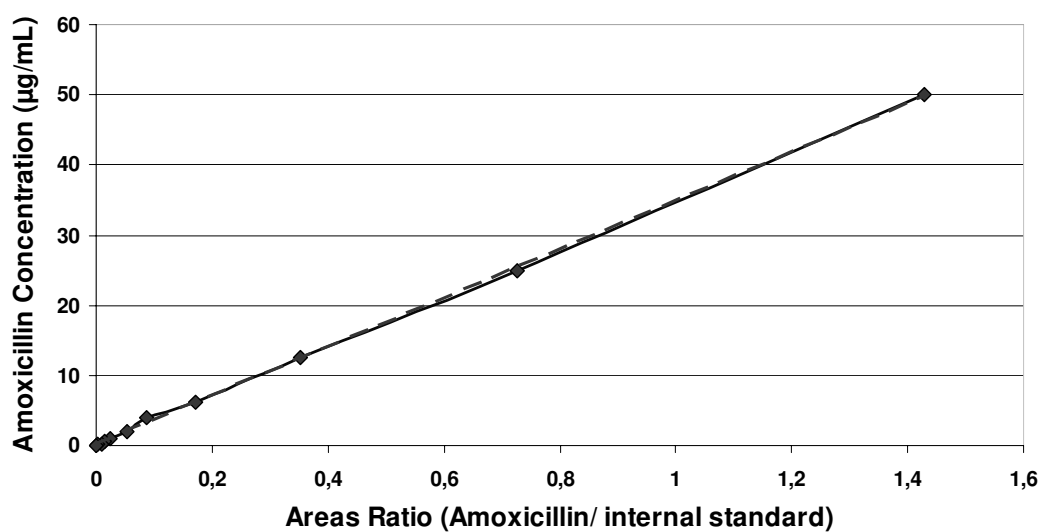


Figure 1: Calibration curve of plasma concentration of amoxicillin and areas ratio (amoxicillin/internal standard) by HPLC method.

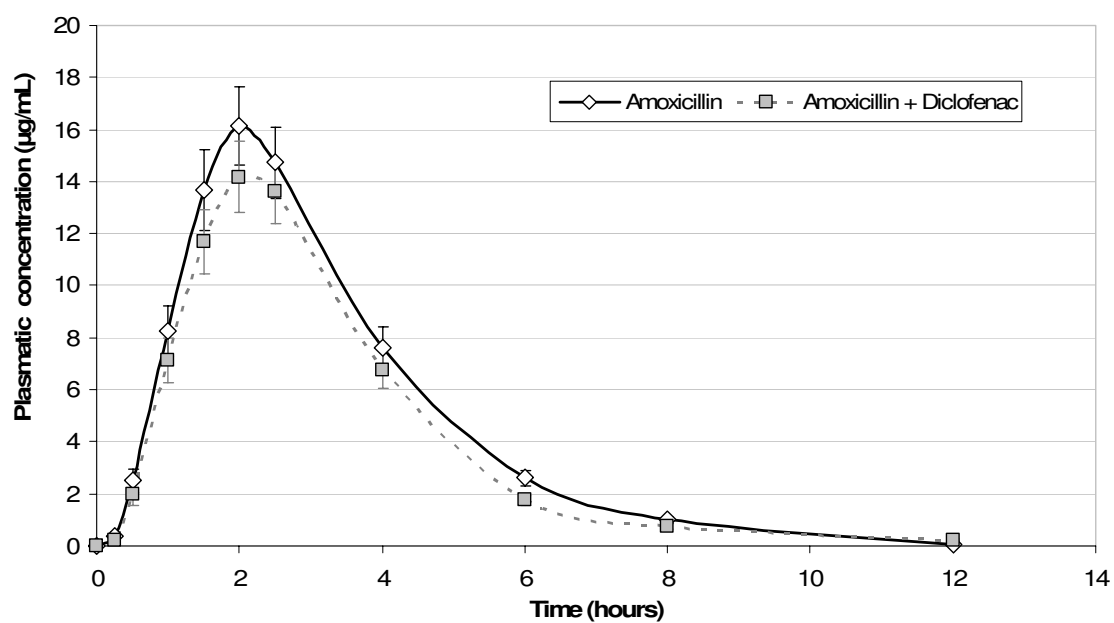


Figure 2: Mean ($\pm$ SEM) values for plasma concentration of amoxicillin and blood collection time after single oral doses of amoxicillin and amoxicillin plus diclofenac: HPLC method.

Capítulo

Table 1 shows the mean values for each pharmacokinetic parameter ($C_{\max}$, $T_{\max}$, AUC_{0-24h} , $AUC_{0-\infty}$, VD and CL) obtained from 20 volunteers after drug administration concerning groups 1 and 2.

Table 1: Mean ($\pm$ SD) pharmacokinetic parameters after oral administration of amoxicillin and amoxicillin plus diclofenac.

Pharmacokinetic parameters	Drugs	Arithmetic mean	Confidence Interval (90%)	p
$C_{\max}$ ($\mu\text{g/ml}$)	Amoxicillin	17.3($\pm$ 6.5)	14.8 to 19.8	0.0146
	Amoxicillin + diclofenac	15.5($\pm$ 5.8)	13.2 to 17.7	
$T_{\max}$ (min)	Amoxicillin	121.5($\pm$ 20.6)	113.5 to 129.5	0.014
	Amoxicillin + diclofenac	136.5($\pm$ 30)	124.9 to 148.1	
$AUC_{(0-t)}$ ($\mu\text{g-min/ml}$)	Amoxicillin	3391.8($\pm$ 1186.7)	2933.0 to 3850.6	0.0105
	Amoxicillin + diclofenac	2918.4($\pm$ 1024.8)	2522.1 to 3314.6	
$AUC_{(0-\infty)}$ ($\mu\text{g-min/ml}$)	Amoxicillin	3569.2($\pm$ 1180.2)	3044.7 to 3961.8	0.0035
	Amoxicillin + diclofenac	3096.2($\pm$ 1003)	2622.6 to 3420.5	
VD (liters)	Amoxicillin	17.87($\pm$ 7.89)	309.2 to 1334.2	0.156
	Amoxicillin + diclofenac	19.01($\pm$ 5.41)	300.5 to 2344.7	
CL (ml/min/kg)	Amoxicillin	8.6($\pm$ 2.6)	7.6 to 9.6	0.0017
	Amoxicillin + diclofenac	9.9($\pm$ 3.3)	8.7 to 11.2	

The bioassay was sensitive in measuring inhibition zone diameters, showing a quantification limit of 0.1 µg/mL and $R^2=0.9933$. Figure 3 shows the inhibition zone diameters obtained by using the activity bioassay method for both groups. The bioassay method revealed antimicrobial activity of amoxicillin in both groups. The differences between groups 1 and 2 were statistically significant ($p<0.05$) only at 1h 30 min and 2 h after drug administration.

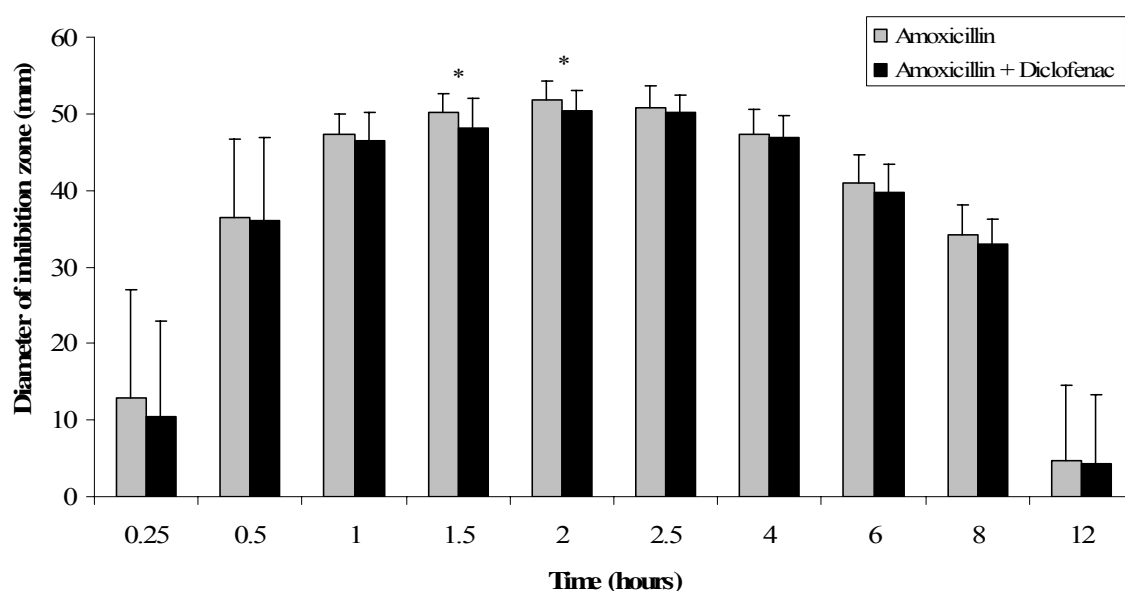


Figure 3: Comparison of diameters of the inhibition zones (mean±SD) of groups 1 and 2, obtained by using the bioassay method (* = $p<0.05$).

Discussion

Amoxicillin pharmacokinetic parameters have been investigated in doses of 500 mg, 875 mg and 1000 mg [17-20]. However, literature review showed few data regarding amoxicillin pharmacokinetics in doses higher than 1000 mg, or even 2000 mg, the dose used in the present study.

Previous studies using chromatography analyses have reported $C_{\max}$ values of 10.3 $\mu\text{g/mL}$ and 11.1 $\mu\text{g/mL}$ after 1000mg and 8.15 $\mu\text{g/mL}$ after 500mg amoxicillin administration. [17, 21, 22]. High values of $C_{\max}$, $\text{AUC}_{0-24\text{h}}$, and $\text{AUC}_{0-\infty}$ were observed in the present study, probably due to the high dose of amoxicillin used. Mainz et al. [22] observed values of 2418.0 mg-min/L for AUC_{0-12} and 2496.0 mg-min/L for $\text{AUC}_{0-\text{inf}}$ after 1000mg amoxicillin administration.

However, $T_{\max}$ values observed in the present study were similar to those reported by Molinaro et al. [21] and Mainz et al. [22], both volunteers receiving a single oral dose of 1000mg amoxicillin. It is well established that different doses of the same drug does not interfere with $T_{\max}$ values.

The bioassay method demonstrated small differences in the inhibition zone diameters observed for both groups, showing that the antimicrobial efficacy of amoxicillin *in vitro* was slightly modified by the concomitant administration of diclofenac.

However, these results could be questioned as the bioassay method can detect active substances of any drugs, irrespective of their chemical characteristics such as different chemical species that result from metabolic reactions [23]. In addition, considering its antimicrobial properties previously observed by Annadurai et al. [24], sodium diclofenac could increase the diameters of inhibition zones. Other factors such as alterations in the physical and chemical characteristics of the media (pH, e.g.) caused by the combination of both drugs (amoxicillin and sodium diclofenac) might also interfere with the inhibition zone diameters [25].

Grosso et al. [14] demonstrated that sodium diclofenac could significantly reduce amoxicillin blood levels in rats, which was probably not caused by metabolism or renal excretion interferences, since amoxicillin and diclofenac have different pharmacokinetics (plasmatic protein binding, excretion and metabolization).

In the present study, a reduction in $C_{\max}$ and AUC values was observed for amoxicillin co-administered plus diclofenac, decreasing amoxicillin absorption, probably due to changes in its absorption mechanism.

Some studies have reported that diclofenac and other NSAIDs might interfere with the intestinal active transport of some drugs such as methotrexate. This transport is mediated by a reduced folate carrier (RFC) and is dependent on the substantial amount of adenosine triphosphate (ATP). Diclofenac can reduce ATP, resulting in an inhibition of methotrexate intestinal absorption [26]. However, no studies were found to report the influence of this type of intestinal transport on amoxicillin absorption.

Amoxicillin intestinal absorption has a significant passive diffusion component [27]. To some penicillins, the intestinal absorption involves the di, tri or oligopeptide transporter system [28]. This transporter system consists of two homologous peptide transporters, PEPT1 found mainly in the small intestine and PEPT2 in the kidney. Amoxicillin has higher affinity for PEPT2, suggesting that this system might interfere with its tubular reabsorption [29].

Drugs such as amiloride and enalapril have high affinity for peptide transporters and cause a significant decrease in amoxicillin concentration [30, 31]. However, these peptide transporters are not usually associated with diclofenac; moreover, the intestinal absorption

of diclofenac occurs mainly by its excretion in the bile.

Sodium diclofenac, unlike amoxicillin (17–20%) [9], has high plasma protein binding (about 99%), suggesting that the protein binding is not responsible for the low amoxicillin concentrations observed in the present study. The risk of interactions caused by protein displacement has been reported as significant especially with drugs that are highly protein bound (>90%); protein binding has no clinical importance if less than 70% of an antimicrobial agent is bound [32]. Drug interactions caused by protein displacement might modify drug distribution volume, which was, however, observed to remain unaltered in the present study.

Sodium diclofenac is extensively biotransformed into the liver by the enzyme CYP2C9 of cytochrome P450, responsible for the oxidation of most NSAIDs. Also, it is an inhibitory substrate with high affinity for this enzyme and has been shown to inhibit the metabolism of other CYP2C9 substrates *in vitro* [33].

Diclofenac was observed to reduce the partial clearance of quinidine through N-oxidation when they were administered concomitantly [34]. Another study showed that diclofenac produced non-competitive inhibition of codeine glucoronidation, considered important to the formation of the codeine-6-glucuronide metabolite [35]. However, a decrease in amoxicillin bioavailability was verified in the present study, suggesting that these metabolic interactions might not occur with amoxicillin.

Its enzymatic induction in the liver could be responsible for the low area under curve and maximum plasmatic concentration values. However, amoxicillin is metabolized into penicillinoic acid to a limited extent, which is then excreted in urine. Six hours after

administration, about 60% of an oral dose of amoxicillin is excreted as unchanged form in urine by glomerular filtration and tubular secretion [36].

Some studies have shown that renal tubular secretion of diclofenac and other drugs is mediated by different types of organic anion transporters (hOATs). There are two types of organic anion transporters, OAT1 and OAT3, both found at the proximal tubule [37, 38]. Diclofenac has shown to be a potent inhibitor of hOATs [39]. In rats, the concomitant use of tetracycline and diclofenac inhibited the renal tubular secretion of tetracycline, reducing its renal clearance [40].

The association of diclofenac with amoxicillin increased by 18.5% the mean renal clearance of amoxicillin. This increase could be responsible for the reduction in AUC and $C_{\max}$ values observed in the present study. Further studies are needed to verify whether this interaction occurs in intestinal absorption or renal excretion.

In conclusion, sodium diclofenac could significantly affect the pharmacokinetics of amoxicillin, reducing amoxicillin bioavailability.

Acknowledgment

This work was supported by both CAPES and FAPESP (#03/10902-0). The authors thank Mr Jorge Valerio for his assistance in manuscript preparation.

References

- [1] Dhaon NA. Amoxicillin tablets for oral suspension in the treatment of acute otitis media: a new formulation with improved convenience. *Adv Ther.* 2004 Mar-

Apr;21(2):87-95.

[2] Spangler SK, Lin G, Jacobs MR, Appelbaum PC. Postantibiotic effect of sanfetrinem compared with those of six other agents against 12 penicillin-susceptible and -resistant pneumococci. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997 Oct;41(10):2173-2176.

[3] Thorburn CE, Knott SJ, Edwards DI. In vitro activities of oral beta-lactams at concentrations achieved in humans against penicillin-susceptible and -resistant pneumococci and potential to select resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998 Aug;42(8):1973-1979.

[4] Langan CE, Cranfield R, Breisch S, Pettit R.. Randomized, double-blind study of grepafloxacin versus amoxycillin in patients with acute bacterial exacerbations of chronic bronchitis. *J Antimicrob Chemother*. 1997 Dec;40 Suppl A: 63-72.

[5] Georgopoulos A, Borek M, Ridl W. Amoxycillin Bronchitis Study Group. Randomized, double-blind, double-dummy study comparing the efficacy and safety of amoxycillin 1 g bd with amoxycillin 500 mg tds in the treatment of acute exacerbations of chronic bronchitis. *J Antimicrob Chemother*. 2001 Jan;47(1):67-76.

[6] Lan AJ, Colford JM, Colford JM Jr. The impact of dosing frequency on the efficacy of 10-day penicillin or amoxicillin therapy for streptococcal tonsillopharyngitis: A meta-analysis. *Pediatrics*. 2000 Feb;105(2): E19.

[7] Bantar C, Nicola F, Fernandez LC, Arenoso HJ, Soutric J, Montoto M, et al. Rationale for treating community-acquired lower respiratory tract infections with amoxicillin/sulbactam combination through pharmacodynamic analysis in the setting of

aminopenicillin-resistant organisms. *J Chemother*. 2001 Aug;13(4):402-406.

[8] Dajani AS, Bawdon RE, Berry MC. Oral amoxicillin as prophylaxis for endocarditis: what is the optimal dose? *Clin Infect Dis*. 1994 Feb;18(2):157-160.

[9] Suarez-Kurtz GS, Ribeiro FM, Vicente FL, Struchiner CJ. Development and validation of limited-sampling strategies for predicting amoxicillin pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001 Nov;45(11):3029-3036.

[10] Esteller-Martinez E, Paredes JG, Castellon EV, Aytes LB, Escoda CG. Analgesic efficacy of diclofenac sodium versus ibuprofen following surgical extraction of impacted lower third molars. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2004 Nov-Dec;9(5):448-453.

[11] Mendes GB, Franco LM, Moreno RA, Fernandes AG, Muscara MN, de Nucci G. Comparative bioavailability of two suspension formulations of potassium diclofenac in healthy male volunteers. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 1994 Mar;32(3):131-135.

[12] Davies NM, Anderson KE. Clinical pharmacokinetics of diclofenac. Therapeutic insights and pitfalls. *Clin Pharmacokinet*. 1997 Sep;33(3):184-213.

[13] Alexander RE, Thronsdon RR. A review of perioperative corticosteroid use in dentoalveolar surgery. *Oral Surg Oral Méd Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2000 Oct;90(4):406-415.

[14] Groppo FC, Simões RP, Ramacciato JC, Rehder V, de Andrade ED, Mattos-Filho TR. Effect of sodium diclofenac on serum and tissue concentration of amoxicillin and on staphylococcal infection. *Biol Pharm Bull*. 2004 Jan;27(1):52-55.

- [15] Kim YG, Kim HJ, Kwon JW, Lee MG. Bioequivalence of clarithromycin tablet formulations assessed in Korean males. *Int J Pharmacol Ther*. 2001 Aug;39(8):356-361.
- [16] Carlqvist J, Westerlund D. Automated determination of amoxicillin in biological fluids by column switching in ion-pair reversed-phase liquid chromatographic systems with post-column derivatization. *J Chromatogr*. 1985 Nov 8;344:285-296.
- [17] Pires de Abreu LR, Ortiz RM, de Castro SC, Pedrazzoli J Jr. HPLC determination of amoxicillin comparative bioavailability in healthy volunteers after a single dose administration. *J Pharm Pharm Sci*. 2003 May-Aug;6(2):223-230.
- [18] Brundusino A, Lopes HV, Coelho DSB, Oliani C. Randomized crossover pharmacokinetic study with two oral amoxicillin pharmaceutical forms (tablets and capsules) at three different dosages. *Eur Bull Drug Res*. 1999;7:5-10.
- [19] Oliveira CH, Abib E, Vannuchi YB, Sucupira M, Ilha J, de Nucci G. Comparative bioavailability of 4 amoxicillin formulations in healthy human volunteers after a single dose administration. *Int J Clin Pharm Ther*. 2001 Apr;39(4):167-172.
- [20] Baglie S, Rosalen PL, Franco LM, Ruenis AP, Baglie RC, Franco GC, et al. Comparative bioavailability of 875 mg amoxicillin tablets in healthy human volunteers. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2005 Jul;43(7):350-354.
- [21] Molinaro M, Corona G, Fiorito V, Spreafico S, Bártoli AN, Zoia C. Bioavailability of two different oral formulations of amoxicillin in healthy subjects. *Arzneimittelforschung*. 1997 Dec;47(12):1406-1410.
- [22] Mainz D, Borner K, Koeppe P, Kotwas J, Lode H. Pharmacokinetics of lansoprazole, amoxicillin and clarithromycin after simultaneous and single

administration. *J Antimicrob Chemother.* 2002 Nov;50(5):699-706. Erratum in: *J Antimicrob Chemother.* 2003 Feb;51(2):477.

[23] Perea S, Pennick GJ, Modak A, Fothergill AW, Sutton DA, Sheehan DJ, Rinaldi MG. Comparison of high-performance liquid chromatographic and microbiological methods for determination of voriconazole levels in plasma. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000 May;44(5):1209-1213.

[24] Annadurai S, Basu S, Ray S, Dastidar SG, Chakrabarty AN. Antibacterial activity of the antiinflammatory agent diclofenac sodium. *Indian J Exp Biol.* 1998 Jan;36(1):86-90.

[25] Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC Jr. *Introduction to Diagnostic Microbiology.* Philadelphia: J B Lippincott Company; 1994.

[26] Sosogi A, Gao F, Tomimatsu T, Hirata K, Horie T. Non-steroidal anti-inflammatory drugs affect the methotrexate transport in IEC-6 cells. *Life Sci.* 2003 Jun;73(4):437-446.

[27] Margarit F, Moreno-Dalmau J, Obach R, Peraire C, Pla-Delfina, JM. Intestinal absorption kinetics of a series of aminopenicillins and azidocillin. A comparative study in the rat. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 1991;SpecNo 3:102-107.

[28] Moore VA, Irwin WJ, Timmins P, Lambert PA, Chong S, Dando SA, Morrison RA. A rapid screening system to determine drug affinities for the intestinal dipeptide transporter 2: affinities of ACE inhibitors. *Int J Pharm.* 2000 Dec 4;210(1-2):29-44.

[29] Terada T, Saito H, Mukai M, Inui K. Recognition of beta-lactam antibiotics by rat peptide transporters, PEPT1 and PEPT2, in LLC-PK1 cells. *Am J Physiol.* 1997

Nov;273(5 Pt 2):F706-711.

[30] Westphal JF, Brogard JM, Jehl F, Carbon C. Assessment of the role of enterocyte ion exchange in the intestinal absorption of amoxicillin, based on a study of the interaction with amiloride. *Pathol Biol* 1995 Sep;43(7):590-595.

[31] Schoenmakers RG, Stehouwer MC, Tukker JJ. Structure-transport relationship for the intestinal small-peptide carrier: is the carbonyl group of the peptide bond relevant for transport? *Pharm Res*. 1999 Jan;16(1):62-68.

[32] Groppo FC, Mattos TR, Del-Fiol FS. Bioassay of amoxicillin in rats. *Biol Pharm Bull*. 2000 Sep;23(9):1033-1035.

[33] Kappers WA, Groene EM, Kleij LA, Witkamp RF, Zweers-Zeilmaker WM, Feron VJ, et al. Inhibition of tolbutamide 4-methylhydroxylation by a series of non-steroidal anti-inflammatory drugs in V79-NH cells expressing human cytochrome P4502C10. *Xenobiotica*. 1996 Dec;26(12):1231-1239.

[34] Damkier P, Hansen LL, Brosen K. Effect of diclofenac, disulfiram, itraconazole, grapefruit juice and erythromycin on the pharmacokinetics of quinidine. *Br J Clin Pharmacol*. 1999 Dec;48(6):829-838.

[35] Ammon S, von Richter O, Hofmann U, Thon KP, Eichelbaum M, Mikus G. In vitro interaction of codeine and diclofenac. *Drug Metab Dispos*. 2000 Oct;28(10):1149-1152.

[36] Reynolds JE, Martindale F. *The extra Pharmacopoeia*. London: Royal Pharmaceutical Society Press; 1996.

[37] Hosoyamada M, Sekine T, Kanai Y, Endou H. Molecular cloning and functional

expression of a multispecific organic anion transporter from human kidney. *Am J Physiol.* 1999 Jan;276(1 Pt 2):F122-128.

[38] Cha SH, Sekine T, Fukushima JI, Kanai Y, Kobayashi Y, Goya T, et al. Identification and characterization of human organic anion transporter 3 expressing predominantly in the kidney. *Mol Pharmacol.* 2001 May;59(5):1277-1286.

[39] Khamdang S, Takeda M, Noshiro R, Narikawa S, Enomoto A, Anzai N, et al. Interactions of human organic anion transporters and human organic cation transporters with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002 Nov;303(2):534-539.

[40] Oh YH, Han HK. Pharmacokinetic interaction of tetracycline with non-steroidal anti-inflammatory drugs via organic anion transporters in rats. *Pharmacol Res.* 2006 Jan;53(1):75-79.

Conclusão

4. Conclusão

No presente estudo, foi concluído que o diclofenaco sódico interfere em alguns parâmetros farmacocinéticos da amoxicilina, causando uma redução significativa em sua biodisponibilidade.

5. Referências Bibliográficas*

1. Akimoto Y, Mochizuki Y, Uda A, Omata H, Shibutani J, Nishimura H, *et al.* Amoxicillin concentration in pus from abscess caused by odontogenic infection. ***Gen Pharmacol.*** 1994; 25(1): 111-3.
2. Andrade ED. ***Terapêutica medicamentosa em odontologia.*** São Paulo: Artes Médicas; 1999.
3. Arcelloni C, Lanzi R, Pedercini S, Molteni G, Fermo I, Pontiroli A, Paroni R. High-performance liquid chromatographic determination of diclofenac in human plasma after solid-phase extraction. ***J Chromatogr B Biomed Sci Appl.*** 2001; 763(1-2): 195-200.
4. Bakshi R, Frenkel G, Dietlein G, Meurer-Witt B, Schneider B, Sinterhauf U. A placebo-controlled comparative evaluation of diclofenac dispersible versus ibuprofen in postoperative pain after third molar surgery. ***J Clin Pharmacol.*** 1994; 34(3): 225-30.
5. Barr WH, Zola EM, Candler EL, Hwang SM, Tendolkar AV, Shamburek R, *et al.* Differential absorption of amoxicillin from the human small and large intestine. ***Clin Pharmacol Ther.*** 1994; 56(3): 279-85.
6. Charles B, Chulavatnatol S. Simple analysis of amoxicillin in plasma by high performance liquid chromatography with internal standardization and ultraviolet detection. ***Biomed Chromatogr.*** 1993; 7(4): 204-207.
7. Dajani AS, Bawdon RE, Berry MC. Oral amoxicillin as prophylaxis for endocarditis: what is the optimal dose? ***Clin Infect Dis.*** 1994; 18(2): 157-60.

* De acordo com a norma da FOP/Unicamp, baseada no modelo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

Referências bibliográficas

8. Dajani AS, Taubert KA, Wilson W, Bolger AF, Bayer A, Ferrieri P *et al.* Prevention of bacterial endocarditis: recommendations by the American Heart Association. *Clin Infect Dis.* 1997; 25(6): 1448-58.
9. Devani MB, Patel IT, Patel TM. Spectrophotometric determination of amoxicillin and its dosage forms. *J Pharm Biomed Anal.* 1992; 10(5): 355-358.
10. Davies NM, Anderson KE. Clinical pharmacokinetics of diclofenac. Therapeutic insights and pitfalls. *Clin Pharmacokinet.* 1997; 33(3): 184-213.
11. Eshelman FN, Spyker DA. Pharmacokinetics of amoxicillin and ampicillin: crossover study of the effect of food. *Antimicrob Agents Chemother* 1978; 14(4): 539-43.
12. Esteller-Martinez VE, Garcia PJ, Castellon CE, Aytes LB, Escoda GC. Analgesic efficacy of diclofenac sodium versus ibuprofen following surgical extraction of impacted lower third molars. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2004; 9(5): 448-53; 444-8.
13. Georgopoulos A, Borek M, Ridl W. Randomized, double-blind, double-dummy study comparing the efficacy and safety of amoxycillin 1 g bd with amoxycillin 500 mg tds in the treatment of acute exacerbations of chronic bronchitis. *J Antimicrob Chemother.* 2001; 47(1): 67-76.
14. Gordon C, Regamey C, Kirby WM. Comparative clinical pharmacology of amoxicillin and ampicillin administered orally. *Antimicrob Agents Chemother.* 1972; 1(6): 504-7.
15. Groppo FC, Simões RP, Ramacciato JC, Rehder V, de Andrade ED, Mattos TR. Effect of sodium diclofenac on serum and tissue concentration of amoxicillin and on staphylococcal infection. *Biol Pharm Bull.* 2004; 27(1): 52-5.
16. Handsfield HH, Clark H, Wallace JF, Holmes KK, Turck M. Amoxicillin, a new penicillin antibiotic. *Antimicrob Ag Chemother.* 1973; 3: 262-265.

Referências bibliográficas

17. Hinz B, Chevts J, Renner B, Wuttke H, Rau T, Schmidt A *et al.* Bioavailability of diclofenac potassium at low doses. *Br J Clin Pharmacol.* 2005; 59(1): 80-4.
18. Hyrkas T, Ylipaavalniemi P, Oikarinen VJ, Hampf G. Postoperative pain prevention by a single-dose formulation of diclofenac producing a steady plasma concentration. *J Oral Maxillofac Surg.* 1992; 50(2): 124-7.
19. Martin MV, Longman LP, Hill JB, Hardy P. Acute dentoalveolar infections: an investigation of the duration of antibiotic therapy. *Br Dent J.* 1997; 183(4): 135-7.
20. Merle-Melet M, Bresler L, Lokiec F, Dopff C, Boissel P, Dureux JB. Effects of diclofenac on ceftriaxone pharmacokinetics in humans. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992; 36(10): 2331-3.
21. Molinaro M, Corona G, Fiorito V, Spreafico S, Bartoli AN, Zoia C. Bioavailability of two different oral formulations of amoxicillin in healthy subjects. *Arzneimittelforschung.* 1997; 47(12): 1406-10.
22. Mueller EA, Kovarik JM, Koelle EU, Merdjan H, Johnston A, Hitzenberger G. Pharmacokinetics of cyclosporine and multiple-dose diclofenac during coadministration. *J Clin Pharmacol.* 1993; 33(10): 936-43.
23. Oh YH, Han HK. Pharmacokinetic interaction of tetracycline with non-steroidal anti-inflammatory drugs via organic anion transporters in rats. *Pharmacol Res.* 2006; 53(1): 75-9.
24. Paintaud G, Alvan G, Dahl ML, Grahnen A, Sjovall J, Svensson JO. Nonlinearity of amoxicillin absorption kinetics in human. *Eur J Clin Pharmacol.* 1992; 43(3): 283-8.
25. Pires de Abreu LR, Ortiz RM, de Castro SC, Pedrazzoli J Jr. HPLC determination of amoxicillin comparative bioavailability in healthy volunteers after a single dose administration. *J Pharm Pharm Sci.* 2003; 6(2): 223-30.
26. Palmer NA, Pealing R, Ireland RS, Martin MV. A study of prophylactic antibiotic

Referências bibliográficas

- prescribing in National Health Service general dental practice in England. *Br Dent J*. 2000; 189(1): 43-6.
27. Poli A, Moreno RA, Ribeiro W, Dias HB, Moreno H Jr, Muscara MN, *et al*. Influence of gastric acid secretion blockade and food intake on the bioavailability of a potassium diclofenac suspension in healthy male volunteers. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 1996; 34(2): 76-9.
28. Suarez-Kurtz GS, Ribeiro FM, Vicente FL, Struchiner CJ. Development and validation of limited-sampling strategies for predicting amoxicillin pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001; 45(11): 3029-36.
29. United States Pharmacopeia: USP 22: The national formulary: NF17. Rockville: United States Pharmacopeia Convention; 1990. p.80-84.
30. Waxman DJ & Strominger JL. Penicillin-binding proteins and the mechanisms of action of beta-lactam antibiotics. *Annu Rev Biochem*. 1983; 52: 825.
31. Willis JV, Kendall MJ, Flinn RM. The pharmacokinetics of diclofenac sodium following intravenous and oral administration. *Eur J Clin Pharmacol*. 1979; 16: 405-10.

6.1 Anexo 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

I. Título do Projeto Experimental

Efeito do Diclofenaco Sódico sobre a Biodisponibilidade da Amoxicilina

Pesquisadores: Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo¹ e a Farmacêutica Cristiane de Cássia Bergamaschi².

Os Pesquisadores pertencem à Faculdade de Odontologia de Piracicaba – FOP/UNICAMP.

II. Justificativa

Devido ao amplo uso e eficácia do diclofenaco sódico na terapêutica medicamentosa, alguns estudos têm sido relatados para verificar os efeitos decorrentes do seu uso concomitante com outros. Entretanto, não existem relatos na literatura que avaliam a associação entre o diclofenaco sódico e a amoxicilina em seres humanos, fato este que causa apreensão, uma vez que a associação entre estes medicamentos é uma prática comum na clínica médica e odontológica.

Além disso, poucos são os estudos que avaliam os parâmetros farmacocinéticos da amoxicilina quando utilizada na dose recomendada pela American Heart Association (2 gramas) para a profilaxia da endocardite, assim como possíveis variações farmacocinéticas que possam ocorrer, caso a amoxicilina seja administrada nesta dose concomitantemente com outro fármaco.

GROPPPO et al. 2004, verificaram que o uso concomitante de diclofenaco sódico (2,5mg/kg/im) com amoxicilina (50mg/kg/vo) em ratos, resultou num decréscimo de aproximadamente oito vezes a concentração sérica e tecidual da amoxicilina. Diante desse resultado, estudos avaliando a interação medicamentosa entre antimicrobianos e antiinflamatórios, em seres humanos, são de grande importância, pois a amoxicilina é o antimicrobiano mais utilizado atualmente em odontologia. Além disso, a dosagem de amoxicilina pela saliva representaria uma medida não-invasiva da determinação de suas concentrações.

III. Objetivos

Avaliar o efeito em seres humanos do diclofenaco sódico sobre os parâmetros farmacocinéticos da amoxicilina quando administrada na dose recomendada pela American Heart Association (2g) para a profilaxia da endocardite bacteriana;

IV. Procedimentos

1) Seleção dos Voluntários

Serão selecionados 20 voluntários sadios, homens, com idade entre 20 e 30 anos e peso

¹ Professor livre docente em Farmacologia, do Depto. de Ciências Fisiológicas. Telefone para contato: (19) 3412-5308 ou 3412-5310 ou e-mail: fcgroppo@fop.unicamp.br

² Aluna de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Telefone para contato: (19) 3412-5308 ou 3435-2963 ou e-mail: crisbergamaschi@fop.unicamp.br

variando $\pm 15\%$ do peso considerado normal, levando-se em consideração a altura e estrutura física.

Os indivíduos serão provenientes da FOP (professores, funcionários, alunos da graduação e pós-graduação). Não será permitida a participação de qualquer indivíduo que possa se sentir coagido, por quaisquer motivos, pelos pesquisadores. Para participar do experimento, o voluntário deverá estar devidamente cadastrado e com a assinatura do termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Você não poderá participar do estudo se apresentar:

- história de alergia a algum medicamento, especialmente aos medicamentos em estudo (amoxicilina que é do grupo das penicilinas) ;
- evidência de qualquer anormalidade significativa no exame físico ou clínico;
- história de doenças gastrintestinais como: diarreia, gastrites, úlceras, etc...;
- história de doença hepática, renal, cardíaca, pulmonar, neurológica, sangüínea, diabetes ou glaucoma;
- história de doença psiquiátrica, a qual possa comprometer sua habilidade em fornecer consentimento por escrito;
- hábito de fumar mais de 20 cigarros por dia, ou se tiver dificuldade de se abster de fumar durante cada período de estudo;
- história de dependência ou uso de drogas ou ingestão excessiva de álcool, em uma base habitual de mais de duas unidades de bebidas alcoólicas por dia (um copo de cerveja ou de vinho ou uma medida de licor), ou possui dificuldade de abstinência durante cada período do estudo;
- tiver tomado qualquer medicamento indutor enzimático como fenobarbital (Gardenal, Edhanol e outros) no período de 30 dias, e qualquer medicamento de venda livre, como aspirina, paracetamol (Tylenol), etc, no período de 14 dias antes do dia do estudo;
- problemas em cumprir com o protocolo do estudo;
- dificuldade de localizar veias nos braços direito ou esquerdo para permitir coleta das amostras de sangue por meio de cânula venosa em cada período;
- perda ou doação de mais de 350 mL de sangue nos últimos três meses, incluindo o sangue que você possa perder durante este estudo;
- tiver participado de qualquer estudo clínico nas seis semanas anteriores ao primeiro dia de estudo.

2) Procedimentos do estudo

As datas das coletas serão determinadas pelos pesquisadores e informadas previamente a você. Nos 14 dias antes e durante o estudo, você não deve ter ingerido qualquer medicação incluindo: aspirina, antiinflamatórios não esteróides (ex.: diclofenaco, ibuprofeno, sulindaco, nimesulide, piroxicam, meloxicam), acetaminofeno (paracetamol) ou qualquer outra medicação para dor, anti-histamínicos (antialérgicos), antiácidos e xarope para tosse. Você também não deve ter consumido certos medicamentos prescritos por médicos, como antiulcerosos (cimetidina, ranitidina, famotidina, omeprazol), e antiinfeciosos como eritromicina e cetoconazol por 30 dias antes e durante o estudo.

Durante 48 horas antes e durante o estudo, você não deve consumir qualquer bebida que contenha álcool ou qualquer produto/bebida que contenha cafeína (chocolate, café, cola,

medicações, chá). Caso haja a necessidade de utilizar qualquer tipo de medicamento, você deverá comunicar imediatamente o responsável pelo estudo.

Após você ser considerado como participante da pesquisa, deverá comparecer na manhã no dia e horário a ser marcado, sem ter feito a refeição matinal, a qual será padronizada para todos. Após a refeição matinal, você receberá uma cápsula de Amoxil[®] (Smithkline-Beecham) de 2g (GRUPO 1), que deverá ser deglutida com um copo de água (200mL). Quatro horas após a administração da amoxicilina será servido um almoço padronizado. Após o almoço, você será dispensado e orientado para manter-se em baixa atividade física e abster-se de bebidas contendo xantinas (café, chá e refrigerantes à base de cola). Nos períodos subsequentes, isto é, após 6, 8, 12 e 24 horas, você deverá retornar e novas amostras de sangue e saliva deverão ser colhidas.

Após 1 semana do uso da amoxicilina, você deverá utilizar amoxicilina 2g juntamente com dois comprimidos de diclofenaco sódico de 50mg (GRUPO 2). Os mesmos procedimentos já descritos serão seguidos. Os parâmetros farmacocinéticos observados nos dois grupos serão comparados.

3) Local da pesquisa

As colheitas de material biológico serão realizadas no Ambulatório da Faculdade de Odontologia de Piracicaba. Durante este período, você será acompanhado pelos pesquisadores.

4) Colheita das amostras de sangue e saliva

Antes da administração dos fármacos, serão colhidas, de cada voluntário, uma amostra de 5 mL de sangue (através do sistema Vaccum-container[®]) e 0,5 ml de saliva (através de tubo de ensaios previamente esterilizado). Estas colheitas serão consideradas como sendo a colheita de sangue e saliva controle. Após 15min, 30 min, 1, 1:30, 2, 2:30, 4, 6, 8, 12 e 24 horas novas amostras de 5 mL de sangue e 0,5ml de saliva serão colhidas.

V. Desconfortos e Riscos Esperados

Os riscos decorrentes deste projeto são distúrbios gastrintestinais, tais como diarreia, vômito ou enjôo com a utilização da amoxicilina e do diclofenaco sódico. A análise da literatura mostra que, quando estes inconvenientes aparecem, são reversíveis e transitórios, além disso, são mais frequentes quando há administração contínua destes medicamentos e em nosso trabalho será utilizada a dose única.

Dor, inchaço e/ou insensibilidade do braço podem ocasionalmente resultar das múltiplas coletas de sangue durante o estudo. Este procedimento, ocasionalmente, pode também provocar reações que geralmente são de curta duração e limitadas a uma sensação de fraqueza, acompanhada por transpiração e diminuição nos batimentos cardíacos. Como qualquer outro, o medicamento em estudo pode causar efeitos colaterais. Se você não se sentir bem ou tiver qualquer mal-estar, informe imediatamente os pesquisadores.

Todos os eventos adversos observados e o tratamento dispensado serão anotados no formulário de registro de eventos adversos. O indivíduo que apresentar evento(s) adverso(s) será acompanhado até que o(s) mesmo(s) esteja(m) sanado(s).

VI. Benefícios do Experimento

Você não receberá nenhum benefício decorrente deste estudo.

VII. Forma de acompanhamento e assistência e garantia de esclarecimentos

Você tem a garantia de que receberá respostas a qualquer pergunta, ou esclarecimento a qualquer dúvida, acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa.

Os pesquisadores citados acima assumem o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a sua vontade em continuar participando dele.

Os pesquisadores acompanharão e assistirão você a qualquer momento, durante a pesquisa ou quando assim solicitados.

VIII. Grupo controle ou Placebo

Não haverá presença de grupo controle ou placebo neste experimento.

IX. Retirada do Consentimento

Você tem a liberdade de retirar seu consentimento ou se recusar a participar, a qualquer momento e deixar de participar do estudo, conforme determinação da Resolução 196/96 do CNS do Ministério da Saúde. Caso deixe de participar do estudo por qualquer razão o sujeito não sofrerá qualquer tipo de prejuízo.

X. Garantia de sigilo

Comprometem-se os pesquisadores de resguardar todas as informações individuais acerca da pesquisa, tratando-as com impessoalidade e não revelando a identidade do sujeito que as originou.

XI. Formas de ressarcimento de despesas e de indenização

Os voluntários serão ressarcidos economicamente no valor de R\$50,00.

QUALQUER DÚVIDA ENTRE EM CONTATO COM OS PESQUISADORES

Prof. Dr. FRANCISCO CARLOS GROPPPO

Endereço : AVENIDA LIMEIRA 901

Bairro : AREIÃO Cidade : PIRACICABA - SP CEP : 13414-903

Fone : (19) 3412-5310 E-Mail : fcgroppo@fop.unicamp.br

CRISTIANE DE CÁSSIA BERGAMASCHI

Endereço : RUA SANTA CRUZ, N° 1213, APTO. 84

Bairro : CIDADE ALTA Cidade : PIRACICABA - SP

Fone : (19) 3435-2963 ou (19) 3412-5308 E-Mail : crisbergamaschi@fop.unicamp.br

Eu, _____, certifico que tendo lido as informações acima e estando suficientemente esclarecido de todos os itens pelo

Anexos

Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo e Cristiane de Cássia Bergamaschi, estou plenamente de acordo com a realização do experimento. Assim, eu autorizo a execução do trabalho de pesquisa, exposto acima, em mim.

Piracicaba, ____ de _____ de 200__.

Nome do Voluntário

Assinatura do Voluntário

Nome do Pesquisador

Assinatura do Pesquisador

ATENÇÃO: A SUA PARTICIPAÇÃO EM QUALQUER TIPO DE PESQUISA É VOLUNTÁRIA. EM CASO DE DÚVIDA QUANTO AOS SEUS DIREITOS ENTRE EM CONTATO COM O **COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**.

6.2 Anexo 2 - Resolução do formato alternativo para defesa da dissertação de mestrado.

DELIBERAÇÃO CCPG – 001/98

Dispõe a respeito do formato das teses de Mestrado e de Doutorado aprovadas pela UNICAMP

Tendo em vista a possibilidade, segundo parecer PG Nº 1985/96, das teses de Mestrado e Doutorado terem um formato alternativo àquele já bem estabelecido, a CCPG resolve:

Artigo 1º - Todas as teses de mestrado e de doutorado da UNICAMP terão o seguinte formato padrão:

- I) Capa com formato único, dando visibilidade ao nível (mestrado e doutorado), e à Universidade.
- II) Primeira folha interna dando visibilidade ao nível (mestrado ou doutorado), à Universidade, à Unidade em que foi defendida e à banca examinadora, ressaltando o nome do orientador e co-orientadores. No seu verso deve constar a ficha catalográfica.
- III) Segunda folha interna onde conste o resumo em português e o Abstract em inglês.
- IV) Introdução Geral.
- V) Capítulo.
- VI) Conclusão geral.
- VII) Referências Bibliográficas.
- VIII) Apêndices (se necessários).

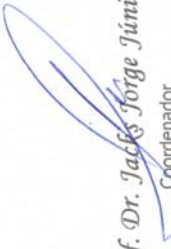
Artigo 2º - A critério do orientador, os Capítulos e os Apêndices poderão conter cópias de artigos de autoria ou de co-autoria do candidato, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, escritos no idioma exigido pelo veículo de divulgação.

Parágrafo único – Os veículos de divulgação deverão ser expressamente indicados.

Artigo 3º - A PRPG providenciará o projeto gráfico das capas bem como a impressão de um número de exemplares, da versão final da tese a ser homologada.

Artigo 4º - Fica revogada a resolução CCPG 17/97.

6.3 Anexo 3 - Certificado do Comitê de ética em Pesquisa Humana.

 UNICAMP	 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA CERTIFICADO
Certificamos que o Projeto de pesquisa "Efeito do Diclofenaco Sódico sobre a biodisponibilidade da Amoxicilina", protocolo CEP nº 160/2003, dos Pesquisadores Cristiane de Cássia Bergamaschi, Francisco Carlos Groppo, Carlos Gustavo Marcondes Rossetti e Pedro Luiz Rosalen, está de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde - MS e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia - UNICAMP.	
We certify that the research project "The effect of diclofenac sodium about bioavailability of amoxicillin", register number 160/2003, of Cristiane de Cássia Bergamaschi, Francisco Carlos Groppo, Carlos Gustavo Marcondes Rossetti and Pedro Luiz Rosalen, is in agreement with the recommendations of 196/96 Resolution of the National Health Committee - Brazilian Health Department and was approved by the Research Ethics Committee of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas - UNICAMP.	
 Prof. Dr. Jacks Jorge Junior Coordenador CEP/FOP/UNICAMP	 Prof. Dra. Cinthia Pereira Machado Tabchoury Secretaria CEP/FOP/UNICAMP
Piracicaba - SP, Brazil, July 02 2004	

6.4 Anexo 4 – Email de confirmação de submissão do artigo.

Shannon, Co. Clare, 16 February 2006

Our reference: ANTAGE 2053

Editorial reference: IJAA-D-06-00019

Re: Effect of Sodium Diclofenac on the bioavailability of Amoxicillin.

To be published in: International Journal of Antimicrobial Agents

Dear Mr. Groppo,

We have received your article for publication and would like to thank you for choosing International Journal of Antimicrobial Agents.

Please read the content of this e-mail carefully and check that your contact details are correct, so we can contact you if needed. The reference for your article is ANTAGE 2053, which should be quoted in all correspondence.

Yours sincerely,

Elsevier Ireland Ltd
Maria Carton

Login Department
Elsevier House
Brookvale Plaza, East Park
Shannon, Co. Clare
Ireland

E-mail: m.carton@elsevier.com

Fax: +353 61 709111

6.5 Anexo 5 - Lista de abreviaturas presentes no texto.

%	por cento
&	e
±	mais ou menos
mg/L	miligrama por litro
µg/mL	micrograma por mililitro
µL	microlitro
L	litro
g	grama
kg	quilograma
mg	miligrama
mg/kg	miligrama por quilograma
mm	milímetro
µg-min/mL	micrograma vezes minuto por mililitro
mg-min/L	miligrama vezes minuto por litro
ml/min/L	mililitro por minuto por quilograma
H	hora
mim	minuto
µm	micrometro
ATCC	American Type Culture Collection (coleção americana de culturas)
g	força gravitacional
°C	grau Celsius
pH	logaritmo negativo da concentração hidrogeniônica
u.f.c./mL	Unidades formadoras de colônias por mililitro
<i>et al.</i>	e outros
ASC ₀₋₂₄ /AUC ₀₋₂₄	Área sob a curva da concentração plasmática de 0 a 24 horas
ASC _{0-∞} /AUC _{0-∞}	Área sob a curva da concentração plasmática de 0 a infinito
C _{max}	Concentração plasmática máxima
T _{1/2}	Tempo de meia vida de eliminação
T _{max}	Tempo para atingir a concentração plasmática máxima
VD	Volume de distribuição
CL	Clearance renal
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
CIM	Concentração inibitória mínima
tid	Três vezes ao dia
AHA	American Heart Association
UV	Ultra-violeta

Anexos

UV-Vis	Ultra-violeta/visível
ANOVA	Análise de Variância
COX	Cicloxygenase
AINES	Antiinflamatórios não esteroidais
eg	por exemplo
ATP	Trifosfato de adenosina
RFC	Reduced folate carrier
PEPT	Peptide transporter
hOAT	Human organic anion transport

Anexos

6.6 Anexo 6 – Dados Estatísticos

Tabela 1: Dados dos parâmetros farmacocinéticos de amoxicilina, obtidos dos voluntários quando administrado amoxicilina.

Voluntários amoxicilina	Cmax ($\mu\text{g/ml}$)	Tmax (min)	AUC(0-t) ($\mu\text{g-min/ml}$)	AUC0-inf ($\mu\text{g-min/ml}$)	Vd (area)/kg (ml/kg)	CL (area)/kg (ml/min/kg)
V1	10,58	120,00	2250,35	2250,39	514,47	12,17
V2	13,73	120,00	2521,85	4285,16	21135,72	6,67
V3	26,56	120,00	5135,83	5135,84	143,22	5,56
V4	16,27	120,00	3329,39	3329,39	242,29	8,71
V5	20,10	120,00	4313,27	4313,27	152,80	6,18
V6	18,49	150,00	3105,25	3105,26	209,94	7,95
V7	12,73	120,00	2521,27	2521,27	218,39	8,18
V8	17,30	90,00	3603,62	3603,63	201,12	7,71
V9	18,78	90,00	2631,26	2631,26	243,94	8,94
V10	25,06	120,00	4426,33	4426,33	169,34	6,36
V11	36,05	120,00	6887,96	6887,97	123,56	5,09
V12	15,41	90,00	3181,15	3241,83	1917,88	9,64
V13	11,66	90,00	1962,90	1962,90	413,66	14,56
V14	8,60	120,00	3067,00	3067,00	205,06	8,69
V15	11,00	120,00	2190,80	2190,80	280,55	10,26
V16	13,83	120,00	2384,47	2384,47	314,40	11,49
V17	16,25	150,00	4008,58	4008,58	172,30	7,03
V18	23,29	150,00	3923,43	3923,43	164,46	6,37
V19	16,12	150,00	3768,49	4080,39	4779,55	6,54
V20	13,84	150,00	2622,40	2715,56	3852,80	12,92
média	17,28	121,50	3391,78	3503,24	1772,77	8,55
ep	1,4528	4,60406	265,3532	265,1971	1059,147	0,58123

Anexos

Tabela 2: Dados dos parâmetros farmacocinéticos de amoxicilina, obtidos dos voluntários quando administrado amoxicilina com diclofenaco

Voluntários Amox. + diclo.	Cmax (µg/ml)	Tmax (min)	AUC(0-t) (µg-min/ml)	AUC0-inf (µg-min/ml)	Vd (area)/kg (ml/kg)	CL (area)/kg (ml/min/kg)
V1	9.69	150.00	1601.82	1601.802	225.0675	17.10403
V2	18.69	120.00	3330.43	3768.23	7544.29	7.58
V3	16.90	120.00	3092.40	3092.40	253.47	9.24
V4	16.65	120.00	3276.98	3276.98	226.69	8.78
V5	14.62	150.00	3139.24	3139.24	215.52	8.49
V6	14.34	150.00	3023.76	3023.77	221.64	8.17
V7	9.14	120.00	2206.72	2206.72	249.43	9.34
V8	23.05	120.00	3849.07	3849.07	187.71	7.22
V9	24.04	120.00	3493.87	3493.87	200.83	6.73
V10	14.81	120.00	2581.24	2581.24	299.31	10.91
V11	31.27	150.00	6341.98	6341.99	132.83	5.53
V12	17.28	120.00	3185.93	3251.43	1953.03	9.61
V13	11.80	120.00	2259.68	2259.68	349.30	12.64
V14	8.76	150.00	1871.45	1871.45	392.59	14.25
V15	10.68	90.00	2204.20	2204.20	276.03	10.20
V16	13.27	120.00	2307.63	2307.63	337.86	11.87
V17	16.31	150.00	3081.68	3081.68	248.24	9.14
V18	17.67	150.00	3384.96	3384.96	196.78	7.39
V19	11.86	240.00	2305.78	3698.30	31377.42	7.21
V20	8.25	150.00	1828.34	1995.61	9803.37	17.58
média	15.45	136.50	2918.36	3021.51	2734.57	9.95
ep	1.2881	6.699372	229.1451	230.7214	1616.441	0.734808