



**CONFORME SOLICITAÇÃO DO AUTOR, ESTA
PRODUÇÃO INTELECTUAL POSSUI
RESTRIÇÃO DE ACESSO**

**CAXIAS DO SUL
2020**

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
ÁREA DO CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

DETERMINAÇÃO DA PENETRAÇÃO PROSTÁTICA DE CLINDAMICINA
POR MICRODIÁLISE EM RATOS WISTAR

Lisiani Ritter

Caxias do Sul, 2020.

LISIANI RITTER

**DETERMINAÇÃO DA PENETRAÇÃO PROSTÁTICA DE CLINDAMICINA
POR MICRODIÁLISE EM RATOS WISTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Biotecnologia da
Universidade de Caxias do Sul, visando à
obtenção do grau de Mestre em
Biotecnologia

Orientador: Prof. Dr. Leandro Tasso

Caxias do Sul, dezembro de 2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade de Caxias do Sul
Sistema de Bibliotecas UCS - Processamento Técnico

R614d Ritter, Lisiani

Determinação da penetração prostática de clindamicina por microdiálise em ratos Wistar [recurso eletrônico] / Lisiani Ritter. – 2020.

Dados eletrônicos.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2020.

Orientação: Leandro Tasso.

Modo de acesso: World Wide Web

Disponível em: <https://repositorio.ucs.br>

1. Prostatite. 2. Próstata. 3. Clindamicina. 4. Microdiálise. I. Tasso, Leandro, orient. II. Título.

CDU 2. ed.: 616.65-002

Catalogação na fonte elaborada pela(o) bibliotecária(o)
Carolina Machado Quadros - CRB 10/2236

LISIANI RITTER

DETERMINAÇÃO DA PENETRAÇÃO PROSTÁTICA DE CLINDAMICINA POR MICRODIÁLISE EM RATOS WISTAR

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, visando a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Tasso

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 18 DE DEZEMBRO DE 2020.

Dr. Fábio Firmbach Pasqualotto

Dr. Felipe Kellermann Hurtado

Prof. Dr. Thiago Barcellos da Silva

RESUMO

A prostatite é considerada um conjunto de doenças que acomete a próstata, que pode ser causada por agentes microbianos infecciosos como o *Propionibacterium acnes*, patógeno envolvido com a acne vulgar. Este microrganismo tem sido identificado em prostatites e relacionado ao desenvolvimento de tumores prostáticos. A clindamicina, por ter efeito sobre este microrganismo, foi objeto de estudo desta pesquisa. Os microrganismos são combatidos pela presença de concentrações livres do antimicrobiano capazes de penetrar o sítio infeccioso e alcançar concentrações suficientes nesta biofase, sendo melhor relacionadas com o efeito farmacológico do que o emprego das concentrações plasmáticas totais. Desta forma, nosso estudo realizou previamente o desenvolvimento de um método bioanalítico por cromatografia líquida de alta eficiência, acoplada à espectrometria de massas, para determinação da clindamicina tanto em matriz plasmática quanto no microdialisado prostático, evidenciando cumprir com os requisitos de performance analítica. As sondas de microdiálise foram calibradas previamente *in vitro* por diálise e retrodiálise (fluxos de 1,0 e 2,0 $\mu\text{L}/\text{min}$), e *in vivo* através da retrodiálise (1,0 $\mu\text{L}/\text{min}$). A clindamicina foi administrada a ratos Wistar na dose de 80 mg/kg pela via intravenosa. Amostras plasmáticas e do microdialisado prostático foram obtidas por um período de 8 horas. Os parâmetros farmacocinéticos foram determinados por abordagem não compartimental e compartimental empregando-se o software Phoenix (WinNonlin). A relação próstata/plasma foi determinada considerando-se a área sob a curva (ASC) do perfil concentração livre versus tempo do tecido e a ASC do perfil concentração plasmática total versus tempo, corrigida pela fração livre da clindamicina [$\text{ASC}_{\text{tecido, livre}} / (f_u \cdot \text{ASC}_{\text{plasma, total}})$], onde f_u é a fração livre de clindamicina no plasma de ratos ($f_u = 0,325$). A metodologia analítica desenvolvida e validada apresentou-se seletiva, linear, precisa e exata, sem efeito de matriz e com estabilidade analítica dentro dos padrões estabelecidos. A taxa de recuperação das sondas de microdiálise *in vitro* empregando-se a diálise e a retrodiálise para o fluxo de 1,0 $\mu\text{L}/\text{min}$ variou de $42,87 \pm 1,94\%$, a $45,13 \pm 1,27\%$, e no fluxo de 2,0 $\mu\text{L}/\text{min}$ de $32,30 \pm 1,54\%$ a $35,87 \pm 2,04\%$, sendo a recuperação *in vivo* de $38,11 \pm 1,14\%$. O perfil farmacocinético plasmático foi modelado por modelo farmacocinético de dois compartimentos. A ASC foi de $58,53 \pm 14,78$ h.mg/L e $19,40 \pm 4,40$ h.mg/L para plasma e microdialisado prostático. O fator de penetração da clindamicina no microdialisado prostático foi de 1,02. As concentrações livres teciduais de clindamicina medidas excederam a concentração inibitória mínima

para o *P. acnes* descrito na literatura para isolados prostáticos. A clindamicina poderia ser sugerida como uma opção para estudos envolvendo prostatite com a presença de *P. acnes*.

ABSTRACT

The prostatitis is considered a set of disease which assails the prostate, which can be caused by infectious microbial agents such pathogen evolved with the vulgar acne. This microorganism has been identified in prostatitis and related to the development of prostatic tumors. The clindamycin was the subject of study due to its effects on this microorganism. The microorganisms combated by the presence of antimicrobials free concentrations which can penetrate the infectious site and reach sufficient concentrations in this biophase, better related to the pharmacological effect than the employment of total plasmatic concentrations. In this way, our study previously performed the development of a bioanalytical method by high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry, to the clindamycin determination in the plasmatic matrix as much as the prostate microdialysate, substantiating to comply with the analytical performance requirements. The microdialysis probes were previously calibrated, *in vitro* by dialysis and retrodialysis (flow of 1.0 and 2.0 $\mu\text{L}/\text{min}$) and *in vivo* throughout retrodialysis (1.0 $\mu\text{L}/\text{min}$). The clindamycin was administered in Wistar rats with doses of 80 mg/kg by intravenous route. Plasma samples and from the prostate microdialysate were obtained for 8 hours. Pharmacokinetic parameters were determined by non-compartmental and compartmental analysis employing the Phoenix (WinNolin) software. The relation prostate/plasma was obtained considering the area under the curve (AUC) from the free concentration profile versus tissue and AUC from the total plasma profile versus tissue, corrected by the free fraction of clindamycin [$\text{AUC free tissue}/(fu \cdot \text{AUC plasma, total})$], where *fu* is the clindamycin free fraction in the rat plasma ($fu = 0.325$). The developed analytical methodology has been validated and presented itself as selective, linear, precise, and accurate, without matrix effect and with analytical stability within the established standards. The recovery rates of microdialysis probes *in vitro* employing dialysis and retrodialysis for the flow of 1.0 $\mu\text{L}/\text{min}$ ranged from $42.87 \pm 1.94\%$ to $45.13 \pm 1.27\%$, and in the flow at 2.0 $\mu\text{L}/\text{min}$ of $32.30 \pm 1.54\%$ to $35.87 \pm 2.04\%$. *In vivo* recovery was $38.11 \pm 1.14\%$. The plasmatic pharmacokinetic was modeled by the pharmacokinetic model of two compartments. The AUC was 58.53 ± 14.78 h.mg/L and 19.40 ± 4.40 h.mg/L for plasma and prostate microdialysate. The penetration factor of clindamycin at prostate microdialysate was 1.02. Concentration of free clindamycin

exceeded the minimum inhibitory concentrations to *P. acnes* described in the literature for prostate isolates. Clindamycin could have been suggested as an option for studies evolving prostatitis with the presence of *P.acnes*.