

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS

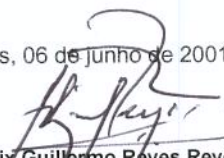
UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE
***FIBRA KONJAC: ASPECTOS NUTRICIONAIS E
INTERAÇÃO COM MEDICAMENTO (GLIBENCLAMIDA)***

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Mirian Ribeiro Leite Moura**, aprovada pela Comissão Julgadora em 06 de junho de 2001.

Mirian Ribeiro Leite Moura

Campinas, 06 de junho de 2001

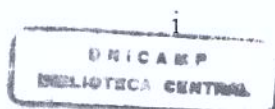

Prof. Dr. Felix Guillermo Reyes Reyes
Presidente da Banca

Orientador: Prof. Dr. Felix Guillermo Reyes Reyes

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos,
da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de
Doutor em Ciência de Alimentos.

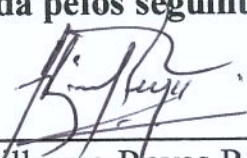
Campinas - SP

2001

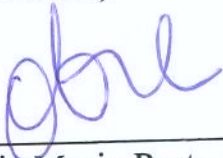


200116943

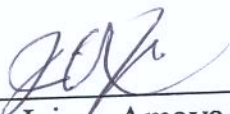
Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:



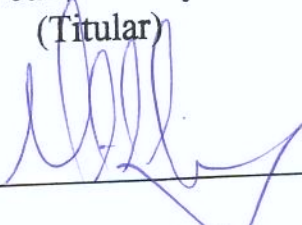
Prof. Dr. Felix Guillermo Reyes Reyes
(Orientador)



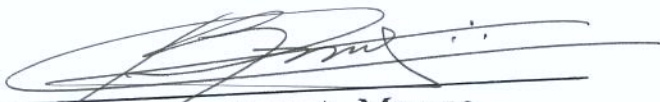
Prof. Dra. Gláucia Maria Pastore
(Titular)



Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfán
(Titular)



Prof. Dr. Miguel A. Areas
(Titular)



Prof. Dr. Ronilson A. Moreno
(Titular)

Prof. Dr. Yong Kun Park
(Suplente)

Prof. Dr. Gilberto de Nucci
(Suplente)

NO JUSTO MOMENTO

No justo momento em que:
o fracasso lhe atropela o carro da esperança;
o apoio habitual lhe falte à existência;
a ventania da advertência lhe agoite o espírito;
a aflição se lhe intrometa nos passos;
a tristeza lhe empane os horizontes;
a solidão lhe venha a fazer companhia; no momento justo, enfim, em que a
crise ou a angústia, a sombra ou a tribulação se lhe façam mais difíceis de
suportar, não chore e nem esmoreça.
A água pura a fim de manter-se pura é servida em taça vazia.
A treva da meia-noite é a ocasião em que o tempo dá sinal de partida
para nova alvorada.
Por maior a dificuldade, jamais desanime.
O seu pior momento na vida é sempre o instante de melhorar.

Albino Teixeira

DEDICATÓRIA

**Dedico e agradeço a DEUS por iluminar meu caminho,
aos meus pais e
aos meus filhos Rafael e Bianca,
pela compreensão e carinho.**

AGRADECIMENTOS

Ao professor Félix G. R. Reyes, pelos ensinamentos, paciência, carinho, compreensão e amizade.

Aos professores Miguel Arcanjo Areas, Giberto de Nucci e Ronilson Moreno que contribuíram para realização deste trabalho.

A todos os professores, técnicos e funcionários da FEA pelos ensinamentos e ajuda ao longo do curso.

A Capes pela bolsa de estudo a mim concedida, ao CNPq e a Fapesp pelo apoio à execução do trabalho.

Aos amigos da UFRJ que me incentivaram ao longo do curso, em especial a Sônia Maria Nakamura Pereira.

A minha família pelo amor, incentivo e ajuda nos momentos difíceis.

As amigas Márcia Madeira, Verônica Lobato, Sandra Gregório e Silvia Helena Vitorino pela amizade e apoio ao longo do curso.

A todos que de certa forma contribuíram para a execução deste trabalho.

SUMÁRIO

Resumo geral	1
Summary.....	3
Introdução geral	5
Objetivos	7

CAPÍTULO 1

Interação Alimento – Medicamento: Uma Revisão.

Resumo	9
Abstract	9
Revisão bibliográfica	10
Referências bibliográficas	28

CAPÍTULO 2

Effect of Konjac Flour (*Amorphophallus Konjac*) on Glucose Tolerance and Blood Lipids Profile in Non Diabetic and Diabetic Rats.

Abstract	36
Introduction	37
Material and methods.....	38
Results.....	39
Discussion.....	39
Conclusion.....	45
Acknowledgements.....	45
References.....	45

CAPÍTULO 3

Determination of Glibenclamide in Human Plasma by High-Performance Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry.

Abstract.....	50
Introduction	50
Material and methods.....	52
Results.....	55
Discussion.....	55
Conclusion.....	61
Acknowledgements.....	61
References.....	62

CAPÍTULO 4

Effect of Konjac Flour on the Bioavailability of Glibenclamide in Healthy Volunteers.

Abstract	65
Introduction.....	65
Subjects and methods.....	67
Results.....	70
Discussion.....	73
Conclusion.....	75
Acknowledgements.....	75
References.....	75

CONCLUSÕES GERAIS

Conclusões gerais	78
-------------------------	----

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO 1 – **Interação Alimento-Medicamento: Uma Revisão.**

Tabela 1. Fatores que exercem influência sobre a biodisponibilidade dos fármacos.....	11
Tabela 2. Influência do alimento no processo de absorção e de biotransformação de fármacos.....	20
Tabela 3. Problemas de absorção intestinal primária causados por influência de fármacos.....	24
Tabela 4. Modificações fisiológicas que afetam o estado nutricional do idoso.....	25
Tabela 5. Fatores que acarretam problemas nutricionais no idoso.....	26

CAPÍTULO 3 - **Determination of Glibenclamide in Human Plasma by High-Performance Liquid Chromatography / tandem Mass Spectrometry.**

Table 1: Between-run and within-run precision, as well as the accuracy coefficient of variation for spiked plasma at different glibenclamide levels.....	60
---	----

CAPÍTULO 4 - **Effect of Konjac Flour on the Bioavailability of Glibenclamide in Healthy Volunteers.**

Table 1: Age, height and body weight of the volunteers selected for the clinical study (mean SD).....	67
Table 2- Plasma glibenclamide concentrations after oral administration of 2.5 mg glibenclamide with and without fruit and konjac flour (5g).....	71

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 – Interação Alimento-Medicamento: Uma Revisão.

Figura 1. Esquema generalizado da biodisponibilidade de fármacos.....	11
Figura 2. Etapas do processo de utilização de nutrientes.....	14
Figura 3. Fatores que induzem a desnutrição no idoso e alterações decorrentes.....	27

CAPÍTULO 2 - Effect of Konjac Flour (*Amorphophallus konjac*) on Glucose Tolerance and Blood Lipids Profile in Non Diabetic and Diabetic Rats.

Figure 1 - Glucose tolerance in non diabetic (DNC and DNK) and diabetic rats (DC e DK) K: groups that received konjac flour (0,1g/kg p.c.) and C: control group.....	40
Figure 2 - Effect of konjac flour on plasma lipoprotein, TC and TG concentrations in diabetic rats.....	41
Figure 3 - Serum glucose levels at the end of the sub-chronic study (18 days) and 1.0 to 1.5 h after feeding the diabetic rats. Values are means $\pm$ SEM, n = 8 for control group and n= 13 for konjac group.....	43
Figure 4 - Effects of diets on body weight (g) in diabetic rats. Values are means $\pm$ SD, n = 8 for control group and n= 13 for konjac group.....	44
Figure 5 - Food intake (g/day) in diabetic rats. Values are means $\pm$ SEM, n = 8 for control group and n= 13 for konjac group.....	44

CAPÍTULO 3 - Determination of Glibenclamide in Human Plasma by High- Performance Liquid Chromatography / tandem Mass Spectrometry.

Figure 1 - Chemical structure of (a) glibenclamide and (b) glipizide.....	52
Figure 2 – LC/MS mass spectrum of glibenclamide.....	57
Figure 3 – LC/MS mass spectrum internal standard.....	57
Figure 4 – Selected ion chromatograms (MRM), showing peak retention times (a) glibenclamide (MRM of two channels; ES+ 494.2 → 368.8 and (b) glipizide (MRM of two channels; ES+ 446 → 347.3)	58
Figure 5 - Selected ion chromatograms (MRM), of the control sample corresponding to the MRM of a (a) glibenclamide (ES+ 494.2 → 368.8) and (b) glipizide (ES+ 446 → 347.3).....	59
Figure 5 - Plasma level profiles for glibenclamide (2.5 mg) in fifteen healthy Volunteers.....	61

CAPÍTULO 4 - Effect of Konjac Flour on the Bioavailability of Glibenclamide in Healthy Volunteers.

Figure 1 - Means glibenclamide concentration in plasma in fifteen volunteers versus time curves obtained after a single oral dose (2.5 mg) , and together with a fruit and together with a fruit and konjac flour (5 g).....	71
Figure 2 – Means (and SEM) concentration of plasma insulin in fifteen volunteers given only glibenclamide (2.5 mg) , glibenclamide together with the fruit, glibenclamide together with the fruit and konjac flour (5 g).....	72

Figure 3 – Means (and SEM) concentration of plasma blood glucose in fifteen volunteers given only glibenclamide (2.5 mg) , glibenclamide together with the fruit, glibenclamide together with the fruit and konjac flour (5g).....72

ANEXO I

Efeito da farinha de konjac sobre a tolerância à glicose em ratos	80
---	----

ANEXO II

Effect of konjac flour (<i>Amorphophallus konjac</i>) on glucose tolerance in non diabetic and diabetic rats	82
--	----

ANEXO III

The effect of konjac flour on the blood lipid profile in diabetic rats	84
--	----

ANEXO IV

Efeito da farinha de konjac e da polpa de laranja sobre a tolerância à glicose em ratos.....	86
--	----

ANEXO V

Effect of Konjac Flour on the Absorption of Glibenclamide by Healthy Volunteers	88
---	----

RESUMO GERAL

Tem sido sugerido que dietas ricas em fibras podem ser benéficas para os diabéticos desde que elas possam reduzir a glicose sangüínea pós-prandial e os níveis de lipídeos sangüíneos. Outro ponto de interesse é a possível influência das fibras dietéticas sobre a cinética de fármacos. Assim, o objetivo deste estudo foi: a) avaliar o efeito de farinha konjac (uma fibra dietética introduzida recentemente no Brasil) na absorção de glicose, usando o teste de tolerância à glicose (GTT) e o perfil lipídico em ratos Wistar machos, não diabéticos e diabéticos; b) avaliar, em voluntários humanos, a influência de farinha konjac sobre a biodisponibilidade da glibenclamida (medicamento hipoglicemiante). Para o GTT, depois de 18 h de jejum, os animais receberam 2,0 mL de solução de glicose (1,5 g/kg peso corpóreo) por sonda oro-gástrica, sem e com a adição de farinha de konjac (0,1 g/kg peso corpóreo). A glicemia foi determinada (método glicose oxidase) no estado de jejum e após 30, 60, 90 e 120 min. A glicemia dos animais não diabéticos e diabéticos que receberam farinha de konjac foi significativamente menor ($p \leq 0,05$) em relação ao seus controles somente aos 30 min. Para a avaliação do efeito da farinha konjac sobre o perfil lipídico, os animais foram alimentados, durante 18 dias, dieta controle (DC) (AIN/93) ou dieta contendo farinha konjac, 5% (DK), em substituição de amido. Ao término do período experimental não foram verificadas diferenças significativas entre os grupos teste e controle nos níveis plasmáticos de triacilgliceróis, colesterol total e LDL-colesterol. O nível de HDL-colesterol foi menor ($p \leq 0,05$) no grupo teste comparada ao grupo controle. Perda de peso corpóreo do grupo teste foi menor ($p \leq 0,05$) que a do grupo controle. O estudo relacionado ao efeito da farinha konjac sobre a biodisponibilidade da glibenclamida foi conduzido em voluntários humanos saudáveis. Este foi realizado em três fases de forma randomizada comparando a formulação da glibenclamida comercial, como segue: fase 1: glibenclamida (2,5 mg); fase 2: glibenclamida + banana amassada (100 g) e fase 3: glibenclamida + banana amassada + konjac (5 g). Foram obtidas amostras de sangue pré-dose, e em intervalos freqüentes até 24 h pós-dose. A glibenclamida foi determinada em plasma por método validado, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência/espectrometria de massa (CLAE/EM-EM). Os parâmetros farmacocinéticos

calculados incluíram: C_{max} , $AUC_{(0-24\text{ h})}$, T_{max} , $t_{1/2}(h)$ e K_e . Todas estas variáveis foram analisadas usando estatística paramétrica e não paramétrica. Os valores obtidos de C_{max} (ng/mL) e $t_{1/2}(h)$ foram $102,5 \pm 26,6$; $78,0 \pm 31,4$; $70,6 \pm 18,3$ e 2,8; 3,7; 4,6 h, para as fases 1, 2 e 3, respectivamente. O valor de T_{max} (2 h) permaneceu inalterado para todas as fases. Os resultados sugerem que a farinha konjac não afeta a biodisponibilidade da glibenclamida, além do efeito produzido pela ingestão de alimentos (neste estudo representado pela banana).

SUMMARY

It has been suggested that diets rich in fiber may be beneficial to the diabetics since they could reduce the postprandial blood glucose and serum lipid levels. Another point of interest is the possible influence of dietary fibers on the kinetics of drugs. So, the aim of this study was to: a) evaluate the effect of konjac flour (a dietary fiber recently introduced in Brazil) on the absorption of glucose, using the glucose tolerance test (GTT), and on lipid profile in non diabetic and diabetic male Wistar rats and b) to assess, in human volunteers, the influence of konjac flour on the bioavailability of glibenclamide (a hypoglycemic drug). For the GTT, after 18 h fasting state, the animals received 2.0 mL glucose solution (1.5 g/kg body weight.) by oral (intragastric) tube, with and without konjac flour addition (0.1 g/ kg body weight). Glycemia was determined (glucose oxidase method) in the fasting state and after 30, 60, 90 and 120 min postprandial. The glycemia of the non diabetic and diabetic animals that received konjac flour was significantly lower ($p \leq 0,05$) in relation to their control only at 30 min. For the evaluation of the effect of konjac on the lipid profile, the animals were fed a standard diet (DC) (AIN/93) or one containing konjac flour, 5% (DK), instead of the starch during 18 days. At the end of the experimental period verified no difference between the test and control groups on: triacylglycerols, total cholesterol and LDL-cholesterol plasmatic levels. The HDL-cholesterol level was lower ($p \leq 0.05$) in the test than in the control group. Body weight loss of the test group was lower ($p \leq 0.05$) than the control group. The study of the effect of konjac on the bioavailability of glibenclamide was conducted in healthy volunteers. It was a three-way randomized crossover design comparing one glibenclamide commercial formulation as follows: stage 1: glibenclamide (2.5 mg); stage 2: glibenclamide + mashed banana (100 g) and stage 3: glibenclamide + mashed banana + konjac (5 g). Plasma samples were obtained pre-dose and at frequent intervals for up to 24 h post-dose. Glibenclamide was determined in plasma by a validated method using high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry (HPLC/MS-MS). The pharmacokinetic parameters calculated included: C_{max} , $AUC_{(0-24\text{ h})}$, T_{max} , $t_{1/2(h)}$ and K_e . All these variables were analyzed using both parametric and non-parametric statistics. The C_{max} and $t_{1/2(h)}$ values obtained were 102.5 ± 26.6 ; 78.0 ± 31.4 ; 70.6 ± 18.3 and 2.8; 3.7; 4.6 h, for stages

1, 2 and 3, respectively. The T_{max} value (2 h) was the same for all the 3 stages. Results suggest that konjac flour do not affect the bioavailability of glibenclamide further to the influence provoked by the ingestion of foods (in this study represented by the banana).

INTRODUÇÃO GERAL

A dieta influencia todos os estágios do ciclo da vida, sendo que a sua importância está calcada, entre outros, no fornecimento de nutrientes necessários ao sustento do corpo humano.

A fibra alimentar, um componente presente na dieta, adquiriu importância a partir de 1973, quando BURKITT (1971/73) e BURKITT e col. (1972) através de estudos experimentais e epidemiológicos, propuseram uma estreita relação entre carência de fibras alimentares nas dietas e a incidência de várias doenças tais como: câncer de cólon, constipação intestinal, hipercolesterolemia e diabetes. O resultado destes estudos para a comunidade científica determinou um estímulo a novas pesquisas e o repensar do papel da fibra na saúde do homem, em função dos seus efeitos fisiológicos, metabólicos e nutricionais.

A Farinha de konjac, normalmente referida como konjac mannan é um pó de coloração clara obtida do tubérculo da *Amorphophallus konjac* (c. Koch) membro da família Araceae encontrada na Ásia oriental, tubérculo secular bastante utilizado na tradicional cozinha japonesa e chinesa, apresentando baixo teor de proteína, lipídeo e vitaminas, mas com alto teor de fibra. O konjac é uma glucomanana consistindo de glicose e manose com ligações glicosídicas β 1-4, numa razão molar de 1:1.6. No Brasil, teve seu uso normatizado pelo Ministério da Saúde, através da Portaria Nº 13, de 11 de janeiro de 1996, autorizando seu uso como aditivo alimentar com as funções de agente espessante e estabilizante. No comércio é encontrado em cápsulas, ou fazendo parte de formulações em produtos como “shakes”. Estudos clínicos e epidemiológicos indicam os benefícios do konjac em enfermidades crônicas e problemas relacionados com o funcionamento gastrointestinal. Contudo, no que tange a interação da fibra konjac com medicamentos, principalmente os hipoglicemiantes, verifica-se que os dados disponíveis são praticamente inexistentes.

O efeito da fibra konjac sobre metabolismo de glicose pode ser útil no controle da dieta e na dosagem de drogas hipoglicemiantes, especialmente no diabético não insulino-dependente -DMNID.

A medicação administrada aos DMNID consiste em agentes hipoglicemiantes orais, os quais são ministrados quando os pacientes não respondem satisfatoriamente a dietoterapia.

A glibenclamida é, atualmente, uma das drogas hipoglicemiantes orais mais amplamente utilizada no tratamento do DMNID. Segundo dados da Hoechst Marrion Roussel S/A, a glibenclamida responde, em média, por 600.000 tratamentos/mês, cerca de 40% do consumo de hipoglicemiantes orais no Brasil. Fato que nos levou a optar pelo estudo deste medicamento.

OBJETIVOS

O presente trabalho objetivou avaliar a ação da fibra alimentar konjac sobre:

1. A tolerância à glicose em ratos diabéticos e não diabéticos,
2. O perfil lipídico (teores de triglicérides (TG), colesterol total, HDL, LDL), nível de glicose sangüínea e avaliação do peso corpóreo em ratos diabéticos, quando da ingestão sub-crônica da fibra.
3. A biodisponibilidade da glibenclamida, correlacionando as concentrações de insulina e glicose no plasma de voluntários em função da extensão e velocidade de absorção do referido medicamento.

CAPÍTULO 1

INTERAÇÃO FÁRMACO-NUTRIENTE: UMA REVISÃO

**TRABALHO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO NA:
REVISTA DE NUTRIÇÃO, CAMPINAS.**

INTERAÇÃO FÁRMACO-NUTRIENTE: UMA REVISÃO

RESUMO

A dieta influencia todos os estágios do ciclo da vida, fornecendo nutrientes necessários ao sustento do corpo humano. Alterações de ordem funcional e/ou estrutural, provocadas por doenças e infecções agudas ou crônicas, levam à utilização de medicamentos, cujo objetivo é restaurar a saúde. A via preferencial de escolha para a administração de medicamentos é a oral, entre outras razões por sua comodidade e segurança. O fenômeno de interação fármaco-nutriente pode surgir antes ou durante a absorção gastrointestinal, durante a distribuição e armazenamento nos tecidos, no processo de biotransformação ou ainda durante a excreção. Assim, é de importância fundamental ter o conhecimento dos medicamentos que podem ser afetados em sua velocidade de absorção e /ou quantidade absorvida na presença de alimentos, bem como aqueles que não são afetados. Por outro lado, muitos medicamentos incluindo antibióticos, antiácidos e laxativos podem causar má absorção de nutrientes.

Termos de indexação: interação fármaco-nutriente, farmacologia clínica, absorção de alimentos e medicamentos.

ABSTRACT

Diet influences the whole life cycle, supplying nutrients required to maintain the human body. Functional and/or structural alterations, caused by diseases and acute or chronic infections, lead to the use of drugs in order to restore the health. The oral route is preferred for drug administration, owing to safety and convenience among other reasons. The drug-nutrient interaction phenomenon can occur before or during gastrointestinal absorption, during distribution and storage in the tissues, in the biotransformation process, or even during excretion. Thus, to know the drugs whose rate of absorption and/or absorbed amount can be affected in the presence of food, as well as those that are not affected, is of fundamental importance. On the other hand, a number of commonly used drug including antibiotics, antacids and laxatives, can cause malabsorption of nutrients.

Index terms: food-drug interactions, clinical pharmacology, absorption of foods and drugs.

INTRODUÇÃO

O alimento, independentemente da cultura do indivíduo e da época vivida, é um fator essencial e indispensável à manutenção e à ordem da saúde. A importância do alimento está associada à sua capacidade de fornecer ao corpo humano nutrientes necessários ao seu sustento. Para o equilíbrio harmônico dessa tarefa é essencial que os alimentos sejam ingeridos em quantidade e qualidade adequadas para que funções específicas como plástica, reguladora e calórica sejam satisfeitas, mantendo assim a integridade estrutural e funcional do organismo.

A falta de um ou mais nutrientes conduz a um estado nutricional inadequado, provocando alterações de ordem funcional e/ou estrutural no organismo, o que requer suplementação (regime dietoterápico). Essas alterações também podem ser provocadas por fármacos (ROE, 1978).

Os nutrientes são também capazes de interagir com fármacos, sendo um problema de grande relevância na prática clínica, alterando a relação risco/benefício. Essas interações são facilitadas, uma vez que os medicamentos na sua maioria, são administrados por via oral.

Os nutrientes podem alterar os efeitos dos fármacos por interferirem nos processos farmacocinéticos, como: absorção, distribuição, biotransformação e excreção (OLIVEIRA, 1991; YAMREUDEEWONG et al., 1995), acarretando prejuízo terapêutico. A absorção dos nutrientes e de alguns fármacos ocorre por mecanismos semelhantes e freqüentemente competitivos e, portanto, apresentam como principal sítio de interação o trato gastrointestinal.

Desde a década de 80, a "Joint Commission on Accreditation of Hospitals" vem incentivando profissionais como, farmacêuticos e nutricionistas, a monitorar as interações fármaco-nutriente que ocorrem com pacientes internados, bem como orientá-los acerca dessas interações quando eles deixam o hospital (LASSWELL et al., 1992; MURRAY et al., 1991). Portanto, na equipe de saúde, estes profissionais desempenham um papel importante na identificação da interação fármaco-nutriente, bem como na educação de pacientes em programas de aconselhamento (THOMAS, 1995). Entretanto, nos E.U.A.,

em uma ampla pesquisa, constatou-se que, na maioria dos hospitais, não há um programa de consulta formal (WIX et al., 1992).

Um maior conhecimento, no que diz respeito a essa interação, conduz a um controle mais efetivo entre a administração do medicamento e a ingestão de alimentos favorecendo, assim, a adoção de terapias racionais. O presente artigo tem como objetivo apresentar os diversos aspectos envolvidos na interação fármaco-nutriente.

ABSORÇÃO E METABOLISMO DOS FÁRMACOS/NUTRIENTES

A maioria dos fármacos administrados oralmente é absorvido por difusão passiva, enquanto os nutrientes são absorvidos, preferencialmente, por mecanismo de transporte ativo. Quando se administra um fármaco por via oral, sua absorção pelo tubo gastrointestinal e, conseqüentemente, sua concentração sangüínea, são dependentes de vários fatores, descritos na Tabela 1 (ROE, 1984).

Tabela 1- Fatores que exercem influência sobre a biodisponibilidade dos fármacos.

ASPECTOS RELACIONADOS AOS FÁRMACO	VARIAÇÕES INDIVIDUAIS
Solubilidade	Idade
Tamanho da partícula	Ingestão de fluidos
Forma farmacêutica	Ingestão de alimentos
Efeitos do fluido gastrointestinal	Tempo de trânsito intestinal
Metabolismo pré-sistêmico	Microflora intestinal
pKa do fármaco	Metabolismo intestinal e hepático
Natureza química (sal ou éster)	Patologia gastrointestinal
Liberação imediata ou lenta	pH gastrointestinal
Circulação entero-hepática	

O trajeto dos fármacos no organismo pode ser representado através de três fases: biofarmacêutica, farmacocinética e farmacodinâmica, demonstradas de forma generalizadas na Figura 1.

Fase Biofarmacêutica

Compreende todos os processos que ocorrem com o medicamento a partir da sua administração, considerando as fases de liberação e dissolução do princípio ativo. Esta fase deixa o fármaco disponível para a absorção.

Fase Farmacocinética

Esta fase inclui os processos nos quais o organismo interfere sobre o fármaco.

A farmacocinética é o estudo dos processos de absorção, distribuição, biotransformação e excreção.

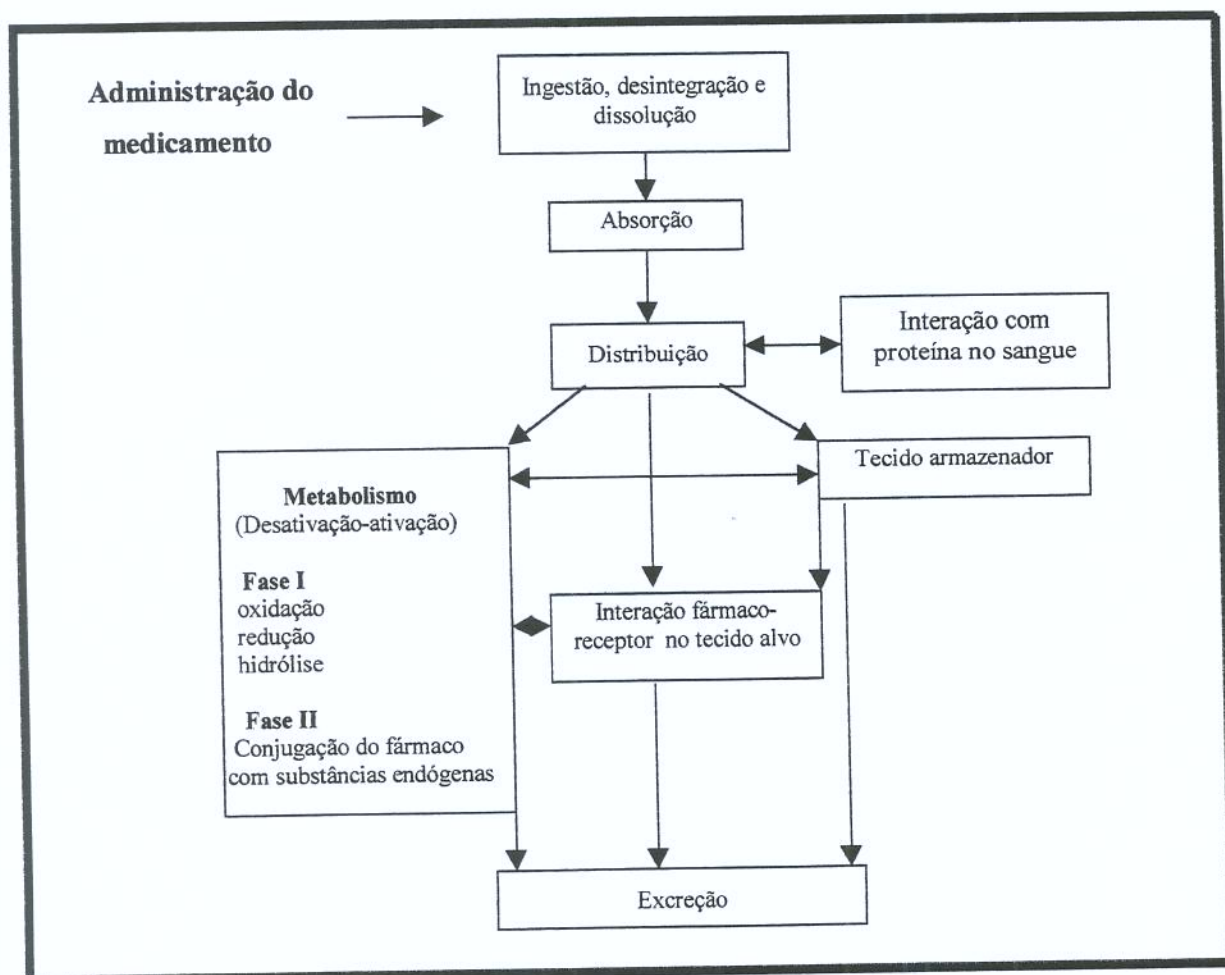


Figura 1 - Esquema generalizado da biodisponibilidade dos fármacos

O metabolismo ocorre em dois tipos de reações básicas, referidas como reações fase I e fase II (Figura 1). A fase I inclui reações bioquímicas como: oxidação, redução e hidrólise, que conduzem a modificações nas moléculas dos fármacos. A fase II inclui reações que conjugam os grupos funcionais dos fármacos a moléculas endógenas. Estas reações são catalisadas por enzimas ou sistemas enzimáticos, sendo o fígado o principal local de metabolismo de compostos ativos, em função de seu amplo sistema microsomal. Outros órgãos e tecidos, como os pulmões, rins, mucosa intestinal, pele e plasma sanguíneo, também podem participar desse processo (SILVA, 1994).

O sistema de catálise do metabolismo oxidativo dependente do citocromo P450, atua sobre uma ampla gama de substâncias endógenas, bem como, substâncias químicas estranhas, tais como fármacos, poluentes ambientais e carcinógenos. Modificações na atividade desse sistema pode alterar a resposta metabólica frente a essas substâncias (ANDERSON, 1988; ANDERSON et al., 1982).

A Figura 2 representa um esquema similar com relação à biodistribuição de nutrientes. Há similaridades na absorção, mas as distribuições metabólicas do fármaco e do nutriente são diferentes. Os nutrientes entram no processo metabólico normal da célula também na forma de substrato para reações bioenergéticas, produzindo energia para contrabalançar a entropia ou na forma de cofator para as reações anabólicas e catabólicas. Os fármacos, por sua vez, geralmente participam de reações que resultam na modificação química, na atividade farmacológica e na sua excreção (HAYES & BORZELLECA, 1985).

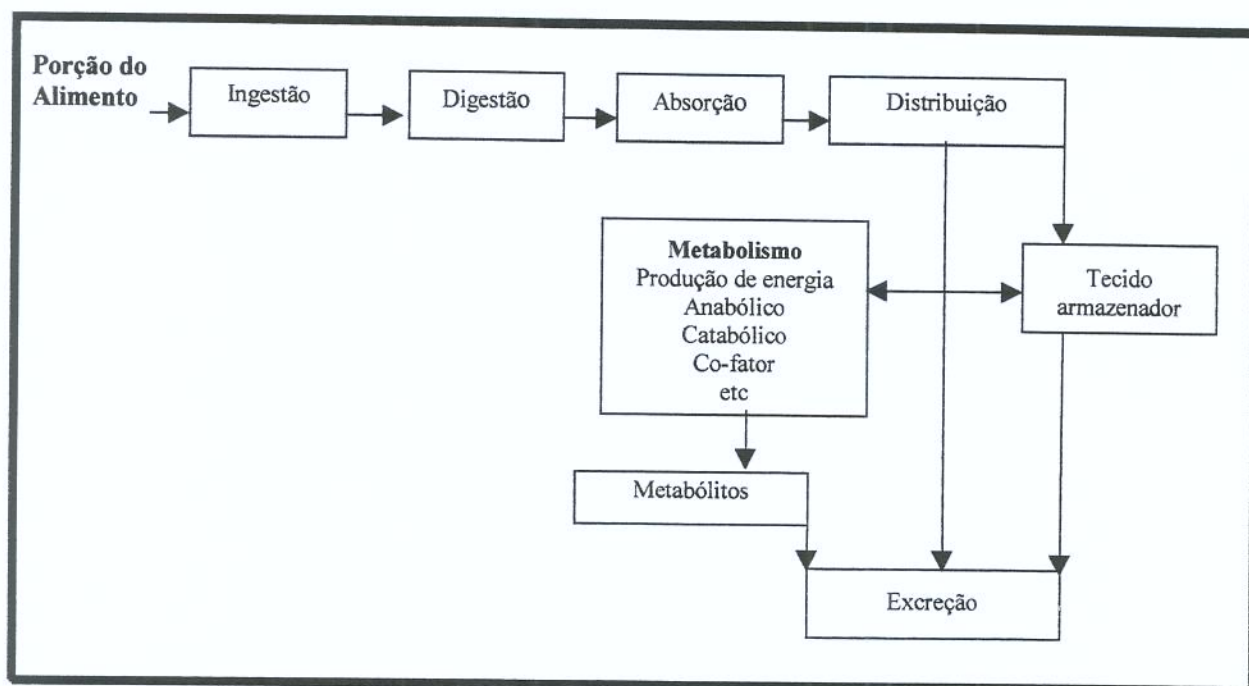


Figura 2 - Etapas do processo de utilização de nutrientes (Fonte-HAYES & BORZELLECA, 1985).

Fase Farmacodinâmica

Esta fase envolve as ações do fármaco sobre o organismo. A grande maioria dos fármacos, ou seus metabólitos ativos, se ligam ao sítio receptor no local de ação, e o resultado dessa ligação produz o efeito terapêutico, cuja resposta é variável e depende de vários fatores individuais, além dos fatores farmacocinéticos (SILVA, 1994).

O conceito de biodisponibilidade, no sentido restrito, é o termo empregado para descrever a fração da dose administrada de um produto farmacêutico que é capaz de alcançar a circulação sistêmica e exercer ação terapêutica. Este parâmetro expressa a extensão e a velocidade das fases biofarmacêutica e farmacocinética da substância ativa (REYNOLDS, 1993).

INTERAÇÃO FÁRMACO-NUTRIENTE

As interações entre nutrientes e fármacos podem alterar a disponibilidade, a ação ou a toxicidade do fármaco e/ou do nutriente. Estas interações podem ser físico-químicas, fisiológicas e patofisiológicas (ROE, 1993; 1985). Interações físico-químicas são

caracterizadas por formação de um complexo entre componentes alimentares e os fármacos. As interações fisiológicas incluem as modificações induzidas por medicamentos no apetite, digestão, esvaziamento gástrico e biotransformação e *clearance* renal. As interações patofisiológicas ocorrem quando os fármacos prejudicam a absorção e/ou inibição do processo metabólico de nutrientes (THOMAS, 1995; TOOTHAKER & WELLING, 1980).

A ingestão de alimentos com medicamentos pode ter efeito marcante sobre a velocidade e extensão na sua absorção. A administração de medicamentos com as refeições, segundo aqueles que a recomendam, se faz por três razões fundamentais: possibilidade no aumento da sua absorção; redução do efeito irritante de alguns fármacos sobre a mucosa gastrintestinal; e como auxiliar no cumprimento da terapia, associando a ingestão do medicamento com uma atividade relativamente fixa, que corresponde aos horários das principais refeições (GAI, 1992; KIRK, 1995).

Entretanto, estas razões são insuficientes para justificar este procedimento, de forma generalizada, uma vez que a ingestão de alimentos poderá afetar a biodisponibilidade do fármaco através de interações físico-químicas ou químicas (GAI, 1992; ROE, 1994; THOMAS, 1995). Afetando a biodisponibilidade, ocorre modificação na sua farmacocinética e, conseqüentemente, alteração da farmacodinâmica (THOMAS, 1995), podendo comprometer a ação terapêutica. Assim, é de fundamental importância ter o conhecimento das substâncias ativas que têm sua velocidade de absorção e /ou quantidade absorvida, bem como daquelas que não são afetados pela presença de nutrientes (TOOTHAKER & WELLING, 1980). Esses mecanismos têm sido aprofundados em estudos com humanos, no sentido de demonstrar mais precisamente os efeitos dos nutrientes sobre a biodisponibilidade dos fármacos (LAVELLE et al., 1996; RADULOVIC et al., 1995).

Analgésicos e anti-inflamatórios, por exemplo, são com frequência administrados com alimentos. O objetivo é diminuir as irritações da mucosa gástrica provocadas, principalmente, pela administração desses medicamentos por tempo prolongado. A maioria dos estudos realizados demonstra que os nutrientes diminuem a velocidade de

absorção dos fármacos, provavelmente por retardar o esvaziamento gástrico (SOUICH et al., 1992).

O retardo na absorção de certos fármacos quando ingeridos com alimentos nem sempre indica que sua absorção será reduzida. Mas, provavelmente, poderá ser necessário um período maior para alcançar sua concentração sanguínea máxima, interferindo na latência do efeito. Entretanto, substâncias que formam complexo com nutrientes estão freqüentemente indisponíveis para absorção (GAI, 1992).

A natureza das diferentes interações pode apresentar os seguintes caminhos (TRUSWELL, 1975):

- alguns nutrientes podem influenciar no processo de absorção de fármacos;
- alguns nutrientes podem alterar o processo de biotransformação de algumas substâncias;
- alterações na excreção de fármacos por influência de nutrientes;
- fármacos podem afetar o estado nutricional;
- o estado nutricional pode interferir sobre o metabolismo de certos fármacos diminuindo ou anulando seu potencial terapêutico ou aumentando seu efeito tóxico.

Processo Absortivo

A influência dos nutrientes sobre a absorção dos fármacos depende: do tipo de alimento, da formulação farmacêutica, do intervalo de tempo entre a refeição e sua administração e do volume de líquido com o qual ele é ingerido. (FLEISHER et al., 1999; WELLING, 1984; 1977; WILLIAMS et al., 1993).

O trato gastrointestinal representa o principal sítio de interação fármaco-nutriente, uma vez que o processo de absorção de ambos ocorre por mecanismos semelhantes e podem ser competitivos. A maioria das interações clinicamente significativas interfere no processo de absorção (TOOTHAKER & WELLING, 1980), considerando-se os estudos até hoje realizados.

A ingestão de alimentos é capaz de desencadear no trato digestivo a liberação de secreção que, por ação qualitativa e quantitativa dos sucos digestivos, age hidrolisando e degradando ligações químicas específicas, através da ação do ácido clorídrico e enzimas

específicas (GUYTON, 1992). Portanto, substâncias sensíveis a pH baixo podem ser alteradas ou inativadas pelo ácido gástrico quando ingeridas com alimentos (TOOTHAKER & WELLING, 1980) como, por exemplo, a inativação da penicilina e da eritromicina (WELLING, 1984; 1978).

Paralelamente, o nutriente pode influenciar na biodisponibilidade do fármaco através da modificação do pH do conteúdo gastrintestinal, esvaziamento gástrico, aumento do trânsito intestinal, competição por sítios de absorção, fluxo sanguíneo esplâncnico e ligação direta do fármaco com componentes dos alimentos (SOUICH et al., 1992; WELLING, 1984).

Modificação do pH do conteúdo gastrintestinal - Após a ingestão de alimentos ou líquidos o pH de 1,5 do estômago se eleva para aproximadamente 3,0. Esta modificação pode afetar a desintegração das cápsulas, drágeas ou comprimidos e conseqüentemente a absorção do princípio ativo. O aumento do pH gástrico em função dos alimentos ou líquidos pode reduzir a dissolução de comprimidos de eritromicina ou de tetraciclina (TROVATO, 1991; WELLING & TSE, 1982). Por outro lado, medicamentos como a fenitoína ou o dicumarol desintegram-se mais facilmente com a alcalinização do pH gástrico (WELLING, 1984). O pH também interfere na estabilidade, assim como na ionização dos fármacos, promovendo uma alteração na velocidade e extensão de absorção (HARRISON et al., 1992).

Velocidade do esvaziamento gástrico - A presença de alimentos no estômago contribui para o retardo do esvaziamento gástrico devido aos sinais de retroalimentação duodenal, incluindo principalmente o reflexo enterogástrico e retroalimentação hormonal. Portanto, a velocidade do esvaziamento do estômago é limitada pela quantidade de quimo que o intestino delgado pode processar (GUYTON, 1992).

Refeições sólidas, ácidas, gordurosas, quentes, hipertônicas e volumes líquidos acima de 300 ml tendem a induzir um acentuado retardo do esvaziamento gástrico, enquanto refeições hiperprotéicas têm efeito menos acentuado no retardo do esvaziamento gástrico (GUYTON, 1992; WELLING, 1984). Assim, a composição da dieta influencia no

tempo de permanência dos fármacos no trato digestivo e, por sua vez, aumenta ou diminui a absorção dos mesmos.

O esvaziamento gástrico lento pode aumentar a absorção dos fármacos que são absorvidos por mecanismos saturantes, isto é, prolongamento do tempo de contato do princípio ativo com a superfície de absorção, (WELLING, 1984; GAI, 1992), facilitando a difusão através da membrana celular.

Aumento da atividade peristáltica do intestino - A atividade peristáltica do intestino delgado é provocada, em parte, pela entrada de quimo no duodeno e pelo fluxo gastroentérico. Esse reflexo aumenta o grau geral de excitabilidade do intestino delgado, incluindo aumentos de motilidade e secreção (GUYTON, 1992).

O aumento moderado da motilidade tanto pode favorecer a dissolução do medicamento facilitando o contato das substâncias ativas com a superfície de absorção otimizando assim, a velocidade do processo (TOOTHAKER & WELLING, 1980), quanto diminuir a sua biodisponibilidade, em função do aumento da velocidade do trânsito intestinal.

Secreções de ácidos, enzimas e sais biliares aumentam na presença de alimentos. Os ácidos e sais biliares, pelas suas propriedades tensoativas, auxiliam a solubilização e favorecem a absorção de fármacos lipossolúveis (AULUS, 1994; TOOTHAKER & WELLING, 1980). Os sais biliares também podem formar complexos não absorvíveis com substâncias como a colestiramina (ROE, 1985; TOOTHAKER & WELLING, 1980). De forma geral, as secreções podem aumentar a disponibilidade do fármaco, dependendo da sua natureza, ácida ou básica, lipofilicidade ou da formulação do mesmo (WELLING, 1984), como por exemplo, griseofulvina que tem sua absorção aumentada quando ingerida com dietas hiperlipídicas (KIRK, 1995).

Competição pelos sítios de absorção - A presença de nutrientes pode constituir uma competição pelos sítios de absorção, cuja consequência dependerá de qual componente apresenta maior afinidade por esse sítio. A levodopa (L-dopa), usada no tratamento da doença de Parkinson, tem ação terapêutica inibida por dieta hiperprotéica, entretanto, uma

dieta hipoprotéica potencializa e estabiliza esse efeito (DUVOISIN & SAGE, 1996). Esta alteração deve-se ao fato dos aminoácidos competirem com a levodopa tanto na absorção intestinal, quanto pela penetração no cérebro (WELLING, 1977).

Fluxo sangüíneo esplâncnico (FSE) - A circulação esplâncnica é constituída pelo suprimento sangüíneo do trato gastrintestinal, baço e do pâncreas. A ingestão de alimentos aumenta o fluxo sangüíneo esplâncnico, e o grau de modificação depende do tipo e da quantidade da refeição ingerida. Refeições hiperprotéicas e hiperlipídicas elevam o FSE, que é maior para grandes refeições do que para as pequenas. O aumento do FSE pós-prandial tem sido implicado na diminuição do efeito de primeira passagem levando, portanto, ao aumento da disponibilidade sistêmica de um número de fármacos, incluindo alguns bloqueadores beta-adrenérgicos (WELLING, 1989).

Ligação direta do fármaco com componentes dos alimentos (quelato) - A interação fármaco-nutriente pode ocorrer por formação de um complexo, resultando na diminuição da disponibilidade do fármaco e do nutriente.

Os íons di e trivalentes (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} e Fe^{3+}) presentes no leite ou outros alimentos, são capazes de formar quelatos não absorvíveis com as tetraciclínas, ocasionando a excreção fecal dos minerais, bem como do fármaco (WELLING, 1984; 1977).

Os fármacos mais comumente prescritos e suas respectivas interações com nutrientes, bem como as recomendações quanto a sua administração, estão listados na Tabela 2.

Tabela 2 - Influência dos alimentos/nutrientes no processo de absorção e de biotransformação de fármacos.

Fármacos	Alimentos/Nutrientes	Mecanismos/Efeitos	Recomendações	Referências
Antimicrobianos				
Rifampicina	Refeição regular.	Retardo do esvaziamento gástrico, da liberação e da dissolução; ↓ absorção.	Administrar 2 h antes ou 3 h após as refeições	Zent & Smith, 1995.
Eritromicina -base e estearato	Refeição regular; dieta hiperlipídica.	Retardo do esvaziamento gástrico, da liberação e da dissolução; ↓ absorção.	Administrar 2 h antes ou 3 h após as refeições ou usar preparações que não são afetadas pelos alimentos.	Welling, 1984. Randinitis et al., 1989.
Ampicilina	Refeição regular.	Retarda esvaziamento gástrico; ↓ absorção.	Administrar 1 h antes ou 2 h após as refeições.	Kirk, 1995. Welling, 1984.
Ciprofloxacina	Leite, iogurte, alimentos ricos em ferro, Mg, Zn, Ca.	↓ absorção por complexação com cátions divalentes.	Administrar 2 h antes ou 3 h após as refeições.	Neuvonen et al., 1991.
Tetraciclina	Refeição regular.	Retarda esvaziamento gástrico, a liberação e a dissolução; barreira física; ↓ absorção.	Administrar 2 h antes ou 3 h após as refeições.	Roe, 1984.
Griseofulvina	Dieta hiperlipídica.	↑ excreção de sais biliares; ↑ solubilidade; ↑ absorção.	Administrar com as refeições.	Kirk, 1995. Thomas, 1995.
Isoniazida	Refeição regular.	Retarda esvaziamento gástrico; ↑ pH gástrico; ↓ a solubilidade e absorção.	Administrar com estômago vazio, se tolerado.	Self et al., 1999.
Cefalosporinas	Refeição regular.	Altera a motilidade e tempo de trânsito no trato GI, reduzindo e retardando o nível sérico do antibiótico.	Administrar 2 h antes ou 3 h após as refeições.	McCracken et al., 1978.
Cardiovasculares/ diuréticos				
Digoxina	Refeição regular.	Alteração do tempo de trânsito gastrointestinal e motilidade; ↓ velocidade de absorção.	Administrar 2 h antes ou 3 h após as refeições ↓ os efeitos colaterais (náuseas, vômitos).	Welling, 1977. Johnson et al 1978.
Captopril	Refeição regular.	↓ absorção; ↓ efeito terapêutico.	Administrar 2 h ou 3 h após as refeições.	Ohman et al., 1985.

continua

Cont. Tabela 2

Fármacos	Alimentos/Nutrientes	Mecanismos/Efeitos	Recomendações	Referências
Nifedipina	Dieta hiperlipídica.	↑ a velocidade e a extensão da absorção; ↑ incidência de efeitos colaterais (dor de cabeça, tonteira, etc.).	Administrar fora das refeições ↓ incidência dos efeitos colaterais.	Qato & Mohamed, 1998.
Propranolol	Dieta hiperprotéica.	↓ fase I da biotransformação hepática; ↑ fluxo sanguíneo esplâncnico; ↑ absorção.	Administrar 2 h ou 3 h após as refeições.	Liedholm et al., 1990.
Hidralazina	Refeição regular.	↓ 1º passo do metabolismo, bloqueio da biotransformação enzimática no trato GI, ↑ absorção.	Administrar 2h ou 3h após as refeições.	Melander et al., 1977;1985.
Anticoagulantes				
Warfarina	Alimentos ricos em vitamina k (espinafre, brócolis, couve, repolho, peixe).	Vitamina K pode antagonizar o efeito da warfarina.	Consumo moderado de alimentos ricos em vitamina K.	Karlson et al., 1986.
Broncodilatadores				
Teofilina	Dietas hiperprotéicas e hipoglicídicas.	↑ atividade do citocromo P450; ↓ meia vida plasmática do medicamento; ↓ tempo de efeito.	Dieta equilibrada.	Anderson, 1979.
Teofilina	Café, chá, outras bebidas contendo cafeína.	Aumento dos efeitos colaterais (insônia, estado nervoso); eliminação prejudicada.	Ingestão moderada de cafeína.	Sato et al., 1993.
Antiparkinsonianos				
Levodopa	Dieta hiperprotéica.	Competição entre o fármaco e aminoácidos pela absorção através da mucosa intestinal e do cérebro.	Monitorar a resposta clínica e evitar dietas hiperprotéicas se oportuno.	Kempster & Wahlqvist, 1994.
Antipiréticos, analgésicos e anti-inflamatórios.				
Ac. acetilsalicílico	Refeição regular; leite; vegetais.	Modifica pH gástrico; ↓ solubilidade; ↓ a velocidade e extensão da absorção.	Administrar com alimentos para ↓ irritação gástrica.	Harrison et al., 1992.
Ibuprofeno	Refeição regular.	Retarda absorção.	Administrar com alimentos para ↓ irritação gástrica.	Halsas et al., 1999.
Paracetamol	Dietas hiperlipídicas.	↓ a liberação e dissolução; ↓ a velocidade e extensão da absorção.	Administrar 2 h antes ou 3 h após as refeições.	Wessel et al., 1992.

continua

Cont. Tabela 2

Fármacos	Alimentos/Nutrientes	Mecanismos/Efeitos	Recomendações	Referências
Antidepressivos				
Inibidores da monoamino oxidase - MAO Tranilcipromina	Alimentos ricos em tiraminas (iogurtes, vinho tinto, cerveja, queijos fermentados, fígado de galinha, peixes e carnes defumados).	Inibição da MAO - ↑ níveis das catecolaminas liberadas e também ↑ quantidade de tiramina absorvida.	Evitar alimentos ricos em tiraminas.	Sweet et al., 1995.
Anticonvulsivantes				
Fenitóina	Refeição regular e dieta hiperlipídica.	Retardo do esvaziamento gástrico; ↑ produção de bile favorecendo a dissolução e ↑ absorção.	Administrar com as refeições ou com leite para prevenir irritação gastrointestinal.	Hamaguchi et al., 1993.
Imunossupressores				
Metotrexato (MTX)	Desjejum	↓ a velocidade e extensão da absorção.	Administrar de estômago vazio.	Dupuis et al., 1995.
↓ diminuir	↑ aumenta			

INTERFERÊNCIA DO ESTADO NUTRICIONAL NA BIODISPONIBILIDADE DOS FÁRMACOS

As deficiências nutricionais resultam de quantidades de nutrientes essenciais oferecidos inadequadamente, o que acarreta precariedade do estado nutricional. Este, por sua vez, pode afetar a ação do fármaco por alterar a absorção, a distribuição, a biotransformação e a excreção, influenciando, portanto, na resposta terapêutica (HOYUMPA & SCHENKER, 1982; KRISHNASWAMY et al., 1981). Provavelmente, o fator mais importante do regime alimentar no metabolismo de compostos ativos, é a quantidade de proteína na dieta. Um regime alimentar com elevado teor de proteína e baixo teor de carboidrato, aumenta a velocidade do metabolismo do fármaco, enquanto dieta com baixo teor de proteína e alto teor de carboidrato favorece o efeito oposto (ROE, 1984; 1978).

A proteína e outros nutrientes podem influenciar a atividade enzimática do citocromo P450 microsomal hepático no homem. Desta forma, a meia-vida plasmática de vários fármacos pode ser alterada em função dos nutrientes oferecidos na dieta, aumentando ou reduzindo a atuação desse importante sistema enzimático (ANDERSON,

1982; AULUS, 1994; ROE, 1984). Micronutrientes (zinco, magnésio, ácido ascórbico e riboflavina) apresentam papel de grande relevância na metabolização hepática de fármacos (HOYUMPA & SCHENKER, 1982; INSOGNA, et al., 1980), como por exemplo, o zinco que é essencial para enzimas específicas associadas às fases I e II no processo de biotransformação.

INTERFERÊNCIA DO FÁRMACO NO ESTADO NUTRICIONAL

Os fármacos podem alterar o metabolismo de nutrientes. O efeito dessas interações normalmente resulta na alteração do estado nutricional (TROVATO et al., 1991), sendo imprescindível o controle do uso de substâncias produtoras de efeitos prejudiciais à nutrição, por exemplo, o metotrexato e a ciclosporina danificam a mucosa intestinal diminuindo a absorção de cálcio (ROE, 1984).

No tratamento de doenças crônicas, o uso prolongado de medicamentos, pode provocar a perda de nutrientes. Nestes casos, a suplementação dietética é necessária para restabelecer as condições nutricionais normais do paciente.

A alteração induzida pelas substâncias ativas na absorção de nutrientes pode ser primária ou secundária. A má absorção primária induzida por medicamentos é devida a efeitos diretos dos agentes farmacológicos sobre a mucosa ou sobre o processo intraluminal, e, estão apresentadas na Tabela 3. A má absorção secundária é devida ao pobre estado fisiológico, ou ainda, quando o fármaco interfere com o metabolismo de um nutriente, que por sua deficiência poderá ocasionar a má absorção de outros (ROE, 1984; TROVATO et al., 1991).

Substâncias como antiácidos, laxativos, e antibióticos (Tabela 3) podem causar má absorção de nutrientes. O uso prolongado de laxativos estimulantes como bisacodil induz ao aumento da velocidade do trânsito intestinal e conseqüentemente reduz a absorção de glicose, proteína, sódio, potássio e algumas vitaminas, enquanto que o uso excessivo daqueles que contém fenolftaleína diminui a absorção de vitaminas C e D (ROE, 1984; 1978). Grandes doses de óleo mineral interferem na absorção de vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K), betacaroteno, cálcio e fosfatos, devido à barreira física e/ou diminuição do tempo de trânsito intestinal (CLARK et al., 1987; TROVATO et al., 1991). O metabolismo

da vitamina D, cálcio e fosfatos está inter-relacionado, ou seja, a deficiência de uma dessas substâncias pode provocar anormalidades metabólicas, caracterizando má absorção secundária (YAMREUDEEWONG et al., 1995). O uso excessivo de óleo mineral pode provocar raquitismo em crianças e osteomalacia em adultos, por deficiência de cálcio (INSOGNA et al., 1980; ROE, 1978).

Aumento na excreção de minerais ocorre com o uso prolongado ou altas doses de diuréticos. A furosemida, diurético de alça, acarreta perda de potássio, magnésio, zinco e cálcio (ROE, 1984).

Tabela 3 - Problemas de absorção intestinal primária causados por influência de fármacos.

Fármacos	Perda de nutrientes	Mecanismos/efeitos	Referências
Antiácidos Hidróxido de alumínio Carbonato de cálcio Bicarbonato de sódio Trisilicato de magnésio	Lipídeos, folacina, K, Ca, P.	↑ pH, modificação na solubilidade; formação de complexos; ↓ absorção.	Roe, 1985.
Laxativos Óleo mineral	Caroteno, vitaminas A, D, K, lipídeos.	Barreira física para absorção; solubilização de nutrientes; ↑ trânsito intestinal.	Clark et al., 1987.
Fenolftaleína	Vitaminas A, E, K, D. Lipídeos e cálcio.	↑ trânsito intestinal; ↓ tempo de permanência; ↓ vilosidades intestinais; ↓ absorção.	Roe, 1978.
Bisacodil	Lipídeos, Na, K, Ca.	Estimulação direta da motilidade intestinal; ↓ tempo de permanência; ↓ absorção no cólon.	Kirk, 1995.
Antibióticos Neomicina Isoniazida	Lipídeos, Na, K, Ca, Fe, Vitamina B ₁₂ , B ₆ .	Danifica a mucosa; ↓ vilosidades intestinais; precipita sais biliares; provoca esteatorréia; ↓ atividade da lipase pancreática.	Melander et al, 1976. Pellock et al, 1985.
Tetraciclina	Cálcio e ferro.	↓ absorção por ligações com íons cálcio ou sais de ferro (formação de quelatos).	Roe, 1984. Neuvonen & Turakka, 1974.
Agente Hipocolesterolêmico Colestiramina, Colestipol Clofibrato	Lipídeos, Fe, vitaminas A, K, D, B ₁₂ .	Perda de apetite; ligação com ácidos biliares e nutrientes; ↓ absorção.	Roe, 1985.
↓ diminui	↑ aumenta		

O PACIENTE IDOSO

A ingestão de nutrientes como proteínas, lipídeos, minerais e vitaminas em quantidade e qualidade adequadas é importante para a manutenção do estado nutricional. No idoso, o requerimento nutricional é diferenciado devido, principalmente, à diminuição do metabolismo basal, aliado na maioria das vezes ao sedentarismo.

Modificações fisiológicas, como as descritas na Tabela 4, podem afetar o estado nutricional do idoso, não sendo estas adequadamente avaliadas (VARMA, 1994). Portanto, atenção maior deve ser dada no que diz respeito às necessidades nutricionais para a preservação da integridade estrutural e funcional do organismo.

O estado nutricional do idoso pode ser avaliado pelo regime alimentar, medidas antropométricas, exames bioquímicos, avaliação clínica, fatores sócio-econômicos e ambientais, por exemplo; instabilidade emocional, proximidade da família e amigos e o abuso de álcool ou de medicamentos, (MUNRO et al., 1987).

Os problemas nutricionais e reações medicamentosas, no idoso, advêm das alterações próprias do processo de senescência e fatores conforme descritos na Tabela 5 (ROE, 1985).

Tabela 4 - Modificações fisiológicas que afetam o estado nutricional do idoso

Músculo magro é substituído por gordura (mesmo sem ganho de peso);
Ocorrem modificações na atividade enzimática e nos componentes das secreções gástricas;
Atividade da amilase salivar freqüentemente diminuída;
Enzimas de atividade proteolítica podem estar diminuídas;
Atividades das amilase e lipase pancreáticas podem estar diminuídas;
Hipocloridria e acloridria são freqüentes;
Tolerância à glicose tende a diminuir;
Fluxo sanguíneo renal e velocidade de filtração glomerular estão reduzidas mesmo na ausência de doença renal.

Tabela 5 - Fatores que acarretam problemas nutricionais no idoso.

Cronicidade e multiplicidade das doenças, as quais aumentam as chances da ingestão de vários medicamentos por um longo período tempo;
Aplicação errônea de medicamento devido a: (a) falta de informações, (b) confusão mental, (c) diminuição do sensório, (d) decisão pessoal, e (f) problemas econômicos;
Retardo no metabolismo e eliminação de fármacos;
Uso de medicamentos de venda livre;
Tomar medicação indicada por terceiros;
Ingestão de álcool com o medicamento;
Incompatibilidade alimento-medicamento;
Interação nutriente-fármaco.

A probabilidade da prescrição medicamentosa, para o idoso, é maior quando comparada com outras faixas etárias, face ao tratamento de doenças crônicas e ou tratamento de doenças agudas intercorrentes (LEE et al, 1991; SCHUMANN, 1999; VARMA, 1994). O idoso pode ingerir de 3 a 10 medicamentos/dia , o que eleva o risco de indução da deficiência nutricional (VARMA, 1994).

Comumente o idoso tem como prática a automedicação, para alívio dos sintomas relacionados à doença ou outro problema qualquer de saúde que possam estar vinculados ou não com a idade. Os medicamentos de venda livre que o idoso ingere com frequência são os laxativos, os anti-histamínicos, as vitaminas, os minerais, os analgésicos e os antiácidos e, quando ingeridos de forma abusiva, causam sintomas que adversamente afetam o apetite e o estado nutricional (ROE, 1994; SCHUMANN, 1999).

Na Espanha, dados do Encontro Nacional de Saúde, revelaram que 23% da população adulta e 21% da população infantil fazem uso da automedicação (ESPARZA, 1997); TERESI et al., (1994) prevêem que no ano 2010, metade do total dos medicamentos que a população dos Estados Unidos consumirá não será prescrita diretamente pelo médico.

Os medicamentos que o idoso utiliza podem ser mais ou menos absorvidos em função das condições de consumo, ou seja, associados ou não às refeições, bem como do seu estado nutricional (CHEN et al., 1985; ROE, 1984). Por outro lado, as deficiências nutricionais podem ocorrer por indução medicamentosa, sendo as mais freqüentes as depleções de vitaminas e de minerais (FLODIM, 1990; MURRAY & HEALY, 1991).

Medicamentos podem causar um estado nutricional insatisfatório em pacientes idosos por diferentes mecanismos. Em contrapartida, o estado nutricional inadequado pode alterar a ação do fármaco. A digoxina, importante agente terapêutico no tratamento da insuficiência cardíaca congestiva, possui propriedade anorexígena além de causar náuseas e vômitos. O uso concomitante com diurético facilita a perda não somente de sódio, mas também de potássio, magnésio e cálcio. Em mulheres na menopausa a perda de cálcio aumenta o risco de osteoporose (ROE, 1993). A Figura 3 ilustra fatores que levam à desnutrição e as alterações decorrentes da desnutrição, acarretando modificações na ação, efeito e utilização do medicamento (AULUS, 1988).

A idade exerce uma grande influência no processo farmacocinético do fármaco e, portanto, o idoso representa uma população de grande risco quanto a interação fármaco-nutriente.

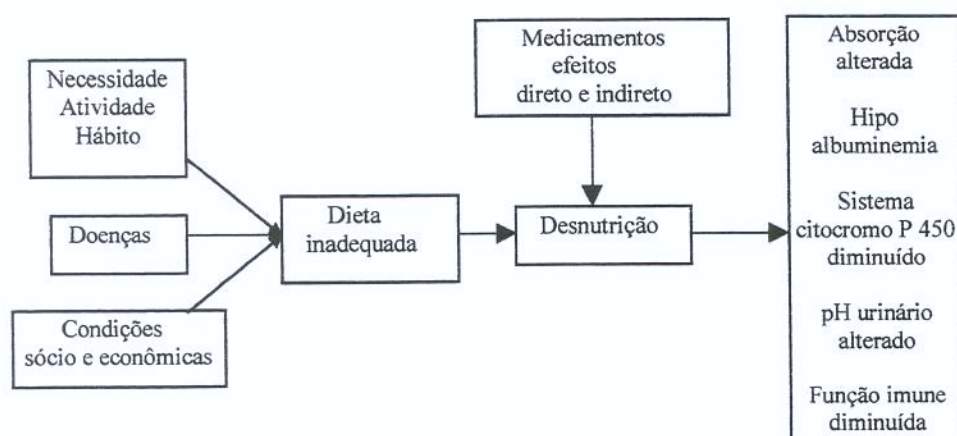


Figura 3- Fatores que induzem a desnutrição no idoso e alterações decorrentes

COMENTÁRIOS FINAIS

Ao final da década de 90 verifica-se uma vasta literatura que demonstra como os constituintes dos alimentos podem influenciar na biodisponibilidade de fármacos e vice-versa. Entretanto, depara-se com a falta de informações de ordem prática, em programas hospitalares, que em muito ajudariam a equipe de saúde e, principalmente, aos usuários de medicamentos de uso contínuo, portadores de doenças crônicas degenerativas, idosos e aqueles com estado nutricional insatisfatório.

Muitos dos efeitos adversos observados ao longo da vida de um indivíduo não são documentados, ou então, são simplesmente entendidos como sendo efeitos adversos do medicamento, não se considerando o processo de interação fármaco-nutriente.

No Brasil, não existe um programa de educação e acompanhamento do paciente em hospitais, universitários e não universitários, no que diz respeito à essa interação.

Nos países de Primeiro Mundo, a exemplo dos Estados Unidos, são poucos os hospitais que possuem programa de educação e acompanhamento, cujo objetivo é determinar a extensão dessas interações que ocorrem no dia a dia. Programas de monitorização ajudariam a detectar e prevenir problemas potencialmente sérios de interação fármaco-nutriente.

Em síntese, AULUS (1994) comenta com muita propriedade que “O conhecimento prévio das características do paciente (necessidades, idade, funções fisiológicas, estado nutricional, hábitos de alimentação), da doença (crônica, aguda ou ambas) e do medicamento (eficácia, margem de segurança, posologia, modo e tempo de utilização) constituem conduta ética que, com certeza, cerceia os riscos advindos das interações entre fármacos e alimentos”.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, K.E. Influences of diets and nutrition on clinical pharmacokinetics. *Clinical Pharmacokinetics*, v.14, n.6, p.325-346, 1988.

- ANDERSON, K.E., CONNEY, A.H., KAPPAS, A. Nutrition and oxidative drug metabolism in man: relative influence of dietary lipids, carbohydrate, and protein. *Clin. Pharmacol. Ther.*, v.26, n.4, 493-501, 1979.
- ANDERSON, K.E.; CONNEY, A.H., KAPPAS, Nutritional influences on chemical biotransformations in humans. *Nutrition Review*, v.40, n.6, p.161-171, 1982.
- AULUS, A.B. Implicações clínicas das interferências alimento-medicamento-alimento na geriatria, *F. Médica (BR)* v.97, n.3, p. 187-193, 1988.
- AULUS, A B. Fármaco e alimentos. In: SEIZI-OGA, I., AULUS, C.B, Eds. Medicamentos e suas interações, 1. ed. Atheneu Editora São Paulo Ltda. São Paulo, p. 157 – 188, 1994.
- CHEN, L.H.; LIU, S., COOK, NEWELL, M.E., BARNES, K. Survey of drug use by the elderly and possible impact of drugs on nutritional status. *Drug-Nutr. Interact*, v.3, p. 73-86, 1985.
- CLARK, J.H., RUSSEL,G.J. FITZGERALD, J.F., NAGAMORI, K.E. Serum beta-carotene, retinol, an alpha-tocopherol levels during mineral oil therapy for constipation. *Am. J. Dis. Chil.*, v.141, p.1210-2, 1987.
- DUPUIS, L.L., KOREN, G., SILVERMAN, E.D., LAXER, R.M. Influence of food on the bioavailability of oral methotrexate in children. *The Journal of Rheumatology*, v.22, n.8, p.1570-1573, 1995.
- DUVOISIN, R.C., SAGE, J. Parkinson's Disease - a guide for patient and family. 4th ed., Lippincott-Raven, Publishers, Philadelphia, Pennsylvania. USA. 1996.
- ESPARZA GIL. Interacciones alimento-medicamento y autocuidado. *Alimentaria*, mayo, p.19-25, 1997.
- FLEISHER, D., L.I, C., ZHOU, Y., PAO, L.H., KARIM, A. Drug, Meal and formulation interaction influencing drug absorption after oral administration. Clinical Implication. *Clint. Pharmacokinet*, v.36, n. 3, p. 233-54, 1999.
- FLODIM, N.W. Micronutrient supplements: toxicity and drug interactions. *Progress in Food and Nutrition Science*. v.14, p. 277-331, 1990.
- GAI, M.N.H. Los Alimentos como factor de modificación de la absorción de medicamentos: In: Biodisponibilidad de medicamentos y coloqui sobre relación

- universidad e industria. Simposio International II. Aquilies Arancibia, Maria Nella Gai y Fernando Nella. Santiago, Universidad de Chile - Facultad de Ciencias Químicas e Farmacéuticas, 1992, p. 227-232.
- GUYTON, A. C. Tratado de fisiología médica, 8ª edição. Editora Guanabara Koogan S.A. 1992.
- HALSAS, M., HIETALA, J., VESKI, P., JURJENSON, H., MARVOLA, M. Morning versus evening dosing of ibuprofen using conventional and time-controlled release formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, n.189, n.2, p.179-185, 1999.
- HAMAGUCHI, T., SHINKUMA, D. IRIE, T. Effect of a high-fat meal on the bioavailability of fenitoína in a commercial powder with a large particle size. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* v. 31, n.7, p.326-330, 1993.
- HARRISON, L.I. RIEDEL, D.J., ARMSTRONG, K.E. GOLDLUST, M.B., EKHOLM, B.P. Effect of food on salsalate absorption. *Therapeutic Drug Monitoring*, v.14, n.2, p. 87-91, 1992.
- HAYES, J.R. & BORZELLECA, J.F. Nutrient interaction with drugs and other xenobiotics. *Journal of the American Dietetic Association*, March v.85, n.3, p. 335-339, 1985.
- HOYUMPA, A.M., SCHENKER, S. Major drug interactions: effect of liver disease, alcohol, and malnutrition. *Annu. Rev. Med.*, v.33, p. 113-149, 1982.
- INSOGNA, K.L. BORDLEY, D.R., CARO, J.E., LOCKWOOD, D.H. Osteomalacia and weakness from excessive antacid ingestion. *JAMA*, v. 244, p. 2544-6, 1980
- JOHNSON, B.F., O'GRADY, J., SABEY, G.A, BYE, C. Effect of a standard breakfast on digoxin absorption in normal subjects. *Clin. Pharmacol. Ther.* v.23, p. 315-319, 1978.
- KARLSON, B., LEIJ, B., HELLSTROM, K. On the influence of vitamin K-rich vegetables and wine on the effectiveness of warfarin treatment. *Acta Med. Scand.*, v. 220, p.347-350, 1986.
- KEMPSTER, P.A., WAHLQVIST, M.L. Dietary factors in the management of parkinson's disease. *Nutrition Review*, v.52, n.2, p. 51-58, 1994.
- KIRK, J. Significant drug-nutrient interactions. *American Family Physician*, v.51, n.5, p.175-1182, 1995.

- KRISHNASWAMY, K., USHASRI, V., NAIDU, A. N. The effect of malnutrition on the pharmacokinetics of phenylbutazone. *Clinical Pharmacokinetics*, v.6, p. 152-159, 1981.
- LASSWELL, A.B., LORECK, E.S. Development of a program in accord with JCAHO standards for counseling on potential drug-food interactions. *J. Am. Diet. Assoc.*, v.92, p. 1124-1125, 1992.
- LAVELLE, J., FOLLANSBEE, S., TRAPNELL, C.B., BUHLES, W.C., GRIFFY, K.G., JUNG, D., DORR, A., CONNOR, J. Effect of food on the relative bioavailability of oral ganciclovir. *J. Clin. Pharmacology*, v.36, p.238-241, 1996.
- LEE, C.R., MCKENZIE, C.A., MATOOTH, R. Food and drug interactions. *US. Pharmacist*, p.44-58, 1991.
- LIEDHOLM, H., WAHLIN-BOLL, MELANDER, A. Mechanisms and variations in the food effect on propranolol bioavailability. *Eur. J. Clin. Pharmacol*, v. 38, n.5, p. 469-475, 1990.
- MCCRACKEN, G.H. GINSBURG, C.M. CLAHSSEN, J.C., THOMAS, M.L. Pharmacology evaluation of orally administered antibiotics in infants and children: effect of feeding on bioavailability. *Pediatrics*, v.62, p. 738-743, 1978.
- MELANDER, A, DANIELSON, K., HANSON, A. Reduction of isoniazid bioavailability in normal men by concomitant intake of food. *Acta Med. Scand.*, v.200, p.93-97, 1976.
- MELANDER, A, DANIELSON, K., HANSON, A, RUDELL, B. SCHERSTÉN, B., THULIN, T., WHALIN, E. Enhancement of hydralazine bioavailability by food. *Clin. Pharmacol. Ther.* v.22, p. 104-107, 1977.
- MELANDER, A., LIEDHOLM, H., McLEAN, A. Concomitant food intake does enhance the bioavailability and effect of hydralazine. *Clin. Pharmacol. Ther.*, v.38, p. 475-476, 1985.
- MUNRO, H.N., SUTER, P.M., RUSSELL, R.M. Nutrition Requirements of the elderly. *Annu. Rev. Nutr.*, v.7, p. 23-49, 1987.
- MURRAY, J.J., HEALY, M.D. Drug-mineral interaction: a new responsibility for the hospital dietitian. *J. Am. Diet. Assoc.*, v. 91, n.1, p. 66-73, 1991.
- NEUVONEN, P.J., KIVISTO, K.T., LEHTO, P. Interference of dairy products with the absorption of ciprofloxacin. *Clin. Pharmacol. Ther.*, Nov. v.50, n.5, p.498-502, 1991.

- NEUVONEN, P.J., TURAKKA, H. Inhibitory effect of various iron salts on the absorption of tetracycline in man. *Eur. J. Clin. Pharmacol*, v. 7, p. 357-60, 1974.
- OHMAN, K.P., KAGEDAL, B. LARSSON, R., KARLBERG, B.E. Pharmacokinetics of captopril and its effects on blood pressure during acute and chronic administration and in relation to food intake. *J. Cardiovasc. Pharmacology*, 7 (suppl 1.), p. 20-24, 1985.
- OLIVEIRA, G.G., A Interação fármaco-nutriente sua importância na terapêutica. *A Folha Médica*, v.102, n.4, p. 137-142, 1991.
- PELLOCK, J.M., HOWELL, J., KENDING, E.L., BAKER, H. Pyridoxine deficiency in children treated with isoniazid. *Chest*, v. 87, p.658-661, 1985.
- QATO, M.K., MOHAMMED, F.A. Effect of food on the comparative bioavailability of two commercially available sustained-release tablet formulations containing nifedipine. *STP Pharma Sciences*, v.8, n.6, p. 369-373, 1998.
- RADULOVIC, L.L., CILLA, D.D., POSVAR, E.L., SEDMAN, A.J., WHITFIELD, L.R. Effect of food on the bioavailability of atorvastatin, an HMG-COA reductase inhibitor, *J. Clin. Pharmacol.*, v.35, p. 990-994, 1995.
- RANDINITIS, E.J., SEDMAN, A.J., WELLING, P.G., KINKEL, A.W. Effect of a high-fat meal on the bioavailability of a polymer-coated erythromycin particle tablet formulation. *J. Clin. Pharmacol*, v.29, p.79-84, 1989.
- REYNOLDS, J.E.F. *Martindale: the extra pharmacopeia*. 3^a ed. London: The Pharmaceutical Press, 1993.
- ROE, D.A. Drugs, diets, and nutrition. *Am. Pharm*, v.18, n.10, p.62-64, 1978.
- ROE, D.A. Nutrient and drug interactions. *Nutrition Review*, v.42, n.4, p.141-154, 1984.
- ROE, D.A. Therapeutic significance of drug-nutrient interactions in the elderly. *Pharmacology Rev.*, v.36, n.2, p. 109, 1984.
- ROE, D.A. Geriatric Nutrition. In: ROE, D. A. Therapeutic Effects of Drug-Nutrient Interactions in the Elderly. *Journal of The American Dietetic Association*, v. 85, n.2, p.174-178, 181, 1985.
- ROE, D.A. Drug and food interaction as they affect the nutrition of older individuals. *Aging Clin. Exp. Res.*, v.5, p. 51-3, 1993.

- ROE, D.A. Medications and nutrition in the elderly. *Primary Care*, v.21, n.1, p.135-147, 1994.
- SATO, J., NAKATA, H. OWADA, E., et al. Influence of usual intake of dietary caffeine on single-dose kinetics of theophylline in healthy human subjects. *Eur. J. Clin. Pharmacology*, v. 44, p. 295-298, 1993.
- SCHUMANN, K. Interaction between drug and vitamins at advanced. Age. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, v. 69, n. 3, p. 173-8, 1999.
- SELF, T.H., CHRISMAN, C.R., BACIEWICZ, A.M., BRONZE, M.S. Isoniazid drug and food interactions. *Am. J. Med. Sic.*, v. 317, n. 5, p. 304-11, may, 1999.
- SILVA, P. *Farmacologia*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan S. A. 1994. 1450p.
- SOUICH, P., CAILLÉ, G., PERREAULT, S. Influencia de los alimentos sobre la biodisponibilidad de los medicamentos. In: Biodisponibilidad de medicamentos y colloquia sobre relación Universidad e Industria. Simposio Internacional I. Aquiles Arancibia y Regina Pezoa Eds. Santiago. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Químicas e Farmacéuticas, 1992, p. 53-69.
- SWEET, R.A., BROWN, E.J., HEIMBERG, R.G. Monoamine oxidase inhibitor dietary restrictions: what are we asking patients to give up? *J. Clin. Psychiatry*, v.56, n.5, p.196-210, 1995.
- TERESI, M.E., MORGAN, D.E. Attitudes of healthcare professionals toward patient counseling on drug-nutrient interactions. *Am. Pharmacology*, v.28, p. 576-579, 1994.
- THOMAS, J, A. Drug-nutrient interactions. *Nutrition Reviews*, v.53, n.10, p. 271-282, 1995.
- TOOTHAKER, R.D. & WELLING, P.G. The effect of food on drug bioavailability. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol*, v. 20, p.173-199, 1980.
- TROVATO, A., NUHLICEK, D.N., MIDTLING, J.E. Drug-nutrient interactions. *Am. Family Physician*, v.44, n.5, p. 1651-1658, 1991.
- TRUSWELL, A.S. Nutrients in pharmacological doses, and adverse effects of foods in patients taking certain drugs. *J. Sci. Food. Agric.*, v.26, p. 1074-1054, 1975.

- VARMA, R.J. Risk for drug-induced malnutrition is unchecked in elderly patients in nursing homes. *Journal of the American Dietetic Association*, v. 94, n.2, p. 192-194, 1994.
- WELLING, P.G. Influence of food and diet on gastrointestinal drug absorption: A review. *J. Pharmacokin. Biopharm.* San Francisco, v.5, n.4, p. 291-334, 1977.
- WELLING, P.G. Bioavailability of erythromycin stearate: influence of food and fluid. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v.67, n.6, p.764-6, 1978.
- WELLING, P.G. Interactions affecting drug absorption. *Clinical Pharmacokinetics*, v.9, p.404-434, 1984.
- WELLING, P.G. Effects of food on drug absorption. *Pharmac. Ther.* v. 43, p.425 -441, 1989.
- WELLING, P.G., TSE, F.L.S. The influence of food on absorption of antimicrobial agents. *J. Antimicrob. Chemoter.*, v.9, p. 7-27, 1982.
- WESSEL, J.C. KOELEMAN, H.A, BONESCHANS, B., STEYN, H.S. Different types of breakfast and paracetamol absorption. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, v. 30, n. 6, p. 208-213, 1992.
- WILLIAMS, L., DAVIS, J.A., LOWENTHAL, D.T. The influence of food on the absorption and metabolism of drugs. *Clin. Nutr.*, v. 77, p. 815-29, 1993.
- WIX, A.R., DOERING, P.L., HATTON, R.C. Drug-nutrition counseling programs in teaching hospitals. *Am. J. Hosp. Pharm.*, v.49, p 855-860, 1992.
- YAMREUDEEWONG, W., HENANN, N.E., FAZIO, A., LOWER, D.L., CASSIDY, T. Drug-food interaction in clinical practice. *The Journal of Family Practice*, v.40, n.4, p. 376-384, 1995.
- ZENT, C., SMITH, P. Study of the effect of concomitant food on the bioavailability of rifampicin, isoniazid and pyrazinamide. *Tubercle and Lung Disease*, v.76, n.2, p.109-113, 1995.

CAPÍTULO 2

EFFECT OF KONJAC FLOUR (*Amorphophallus konjac*) ON GLUCOSE TOLERANCE AND BLOOD LIPIDS PROFILE IN NON DIABETIC AND DIABETIC RATS

**Effect of Konjac Flour (*Amorphophallus konjac*) on
Glucose Tolerance and Blood Lipids Profile in Diabetic Rats.**

ABSTRACT

An increased intake of dietary fiber appears to be useful for the treatment of both diabetes mellitus and coronary heart disease. However, of the studies have been conducted in non-diabetic animals, and only a few of them with konjac flour. Therefore, in this study we evaluated the effect of konjac flour on the glucose absorption and on plasma cholesterol-lipoproteins (LDL-cholesterol and HDL-cholesterol) profile, as well as on serum glucose level, food intake and body weight gain, in diabetic rats. The assay was carried out in adult male Wistar rats, and the diabetes was induced with aloxan monohydrate (40 mg/kg body weight). For the glucose tolerance test (GTT), the animals (n=6) received 2.0 mL glucose solution (1.5 g/kg body weight) by oral (intra-gastric) tube, with and without konjac flour addition (0.1 g/kg body weight). Glycemia was determined in the fasting state and after 30, 60, 90 and 120 min., administration of the solutions. At 30 min. the glycemia of the non-diabetic and diabetic animals that received 0.1g Konjac flour/kg body weight was significantly lower ($p \leq 0,05$). For the blood lipid profile study, diabetic animals received, a standard diet (DC, n=8) for fifteen days, or another one containing 5 % konjac flour (DK, n=13). No difference between the two groups was found on triacylglycerols, total cholesterol and LDL-cholesterol. HDL-cholesterol of the DK animals was significantly lower ($p \leq 0.05$) than control group. Body weight loss of the DK animals was significantly lower ($p \leq 0.05$) than the control group. Even though the deleterious effect verified on the HDL-cholesterol which demand further studies, the overall results obtained suggest that konjac flour could be beneficial as a diabetic therapeutic coadjuvant treatment.

KEY WORDS: Konjac flour, dietary fiber, diabetes, glycemia, cholesterolemia

INTRODUCTION

The presence of dietary fiber in the diet is of special importance due to the close relation between its low ingestion and the increase of physiological inconveniences such as constipation, colon cancer, diabetes and atherosclerosis, mainly within the urban populations of industrialized countries. (BURKITT, 1973; PASSARETTI, et al., 1991; EASTWOOD & MORRIS, 1992; VOURINEN-MARKKOLA et al., 1992, VUKSAN et al., 1999). The association among dietary fiber ingestion and diabetes, blood lipids and premature atherosclerosis has been recognized (JOHNSON & SOUTHGATE, 1994). In the upper gastrointestinal tract dietary fiber prolongs gastric emptying time and retards the absorption of nutrients. Both of these processes are dependent on the physical form of the fiber, and particularly on its capacity to form viscous solutions (EASTWOOD & MORRIS 1992).

Konjac mannan, normally referred to as konjac flour, is a white color powder obtained from the tuber of *Amorphophallus konjac* (*c. koch*). It is mainly constituted by a water-soluble glucomannan, and has been of considerable interest because the association of its physical properties with biological activity; e.g., it is a highly water-absorbent water-soluble substance, the solution of which exhibits high viscosity (NISHINARI et al., 1992), and high retention capacity of organic molecules and metallic cations (HERNANDES, et al., 1995).

It has been reported that, in rats, feeding-induced hypocholesterolemia and hypoglycemia was observed by inclusion of konjac flour in the diet (DOI et al., 1982). Also, clinical and epidemiological studies indicated the benefits of konjac flour in the prevention and treatment of non transmissible chronic diseases, typical of developed countries, such as diabetes (DOI, et al., 1982.), hypercholesterolemia (CHENG-YU et al., 1990; LAFRANCE et al., 1998; VUKSAN et al., 2000) and problems related to the gastrointestinal functioning (EASTWOOD, 1990). These studies have been conducted using different levels of konjac flour, dispensing it in the form of powder or making part of products like cookies or noodle (DOI, et al., 1982; EBIHARA, et al., 1981; CHENG-YU, et al., 1990; VUKSAN, et al., 1999). In addition, there is a long history of use of konjac in traditional Japanese and Chinese food (EBIHARA, et al., 1981; CHENG-YU, et al., 1990).

In the present study, we investigated the effect of konjac flour in the absorption of glucose, in non diabetic and diabetic rats, using the glucose tolerance test (GTT); and on the plasma cholesterol-lipoproteins (LDL-cholesterol and HDL-cholesterol) profile, serum glucose level, food intake and body weight, in diabetic rats.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Konjac flour was kindly donated by FCM of Brazil Ind. Com. Ltda - Food Ingredients Division.

Animals

Male Wistar rats (2 a 3 months old), bred at the State University of Campinas, São Paulo, Brazil, animal breeding center, were allowed 20 days to adapt to housing conditions during which they were fed a non-purified diet (Purina laboratory diet, Paulinia, SP). For the induction of diabetes, after a fasting state of 18:00h the animals were anesthetized with ethyl ether and aloxan monohydrate (40mg/kg body weight) dissolved in saline solution was injected in the dorsal vein of the penis. The food deprivation was started at 18:00 h. All experiments involving animals were approved by the Institute of Biology Ethic Committee, State University of Campinas, São Paulo.

Glucose tolerance assay

The experiment was carried out using rats weighing 259 ($\pm$ 27) and 313 ($\pm$ 6) grams for the non-diabetic and diabetic groups, respectively. After a fasting state of 18 h, the animals were distributed into four groups: non-diabetic control (NDC, n=6); non-diabetic konjac (NDK, n=6); diabetic control (DC, n=6) and diabetic konjac (DK, n=6). For the glucose tolerance test (GTT), all groups received 2 mL of glucose solution (1.5 g/kg b.w.), through oral-gastric probe. The NDK and DK groups received, in addition, konjac flour (0.1 g/kg b.w.). The glycemia was determined by the glucose-oxidase method in the fasting state and after 30, 60, 90 and 120 minutes from the solutions oral dispensing.

Glucose and blood lipids profile assay after subchronic ingestion of konjac

A second experiment was conducted using diabetic rats weighing 344 (± 27) grams. After 30 minutes of the diabetic induction, the animals were distributed into two groups: diabetic control (DC, $n=8$) that received standard diet (diet composition according the AIN/93 recommendations, REEVES et al., 1993) and diabetic konjac (DK, $n=13$) that received a standard diet containing 5 % konjac flour, instead of starch. The animals had free access to water and food throughout the study. They were housed individually and rooms were maintained at 21 ± 2 °C on a 12 h light-dark cycles (light from 6:00 to 18:00 h).

At the end of the experimental period (18 days) and after 18 h of food deprivation, blood samples were collected from the abdominal cava vein, allowed to clot and the plasma stored at -20 °C for the subsequent measurements of total cholesterol (TC), triacylglycerols (TG), plasma cholesterol-lipoproteins (LDL-cholesterol and HDL-cholesterol). The animals were then fed and, after 1 to 1:5 h, blood samples collected again for the determination of the serum glucose level. Rat body weights (g) and food intakes (g/day) were verified every 3 days. The lipoproteins, TC, TG were determined by enzymatic method (Boehringer Mannheim Art. n° 1497448 and 543004). Serum glucose was determined by the glucose oxidase method (Merck System).

Data Analysis

Data analysis were tested by one-way ANOVA and Student's t-test. P values ≤ 0.05 were considered to indicate significant differences. The GraphPad Prism statistical software was used for calculations.

RESULTS AND DISCUSSION

Several authors have reported that konjac flour, as well as others soluble and insoluble dietary fibers, present beneficial effects on plasma components, both one in laboratory animals and humans (DOI et al., 1982; WU & PENG 1997; JENKINS et al., 1999; TSAI & TSAI, 1999; LEVRAT-VERNY et al., 2000). Nevertheless, the data reported are somewhat conflicting and variable as a function of the animal specie, the experimental model (diabetic and non diabetic animals), and the amount and period of the dietary fiber administration.

Glucose tolerance test-GTT

The results from the glucose tolerance assay obtained indicate that at 30 min, the glycemia of the non diabetic and diabetic animals that received the Konjac flour at 0.1g / kg b.w. was significantly lower ($p \leq 0.05$) their respective controls (Figure 1). This effect was probably due to the fact that the konjac flour increases the gastrointestinal viscosity, difficult the glucose absorption process. Nonetheless, after 60, 90 and 120 min, either in the non diabetic and diabetics animals, the glycemia level of the animals that received konjac flour was similar to the respective control, not being noted any meaningful differences. These results corroborate those reported by EBIHARA et al. (1981a) which reported that, in rats administered a 20% glucose solution alone or in combination with konjac flour, the rises in plasma glucose concentration were significantly depressed at 30 and 60 min after gastric infusion of meal containing konjac fiber. The same profile was also verified by EBIHARA et al. (1981b) in a human study conducted in healthy volunteers, and by DOI et al. (1982) in diabetic individuals that received konjac flour.

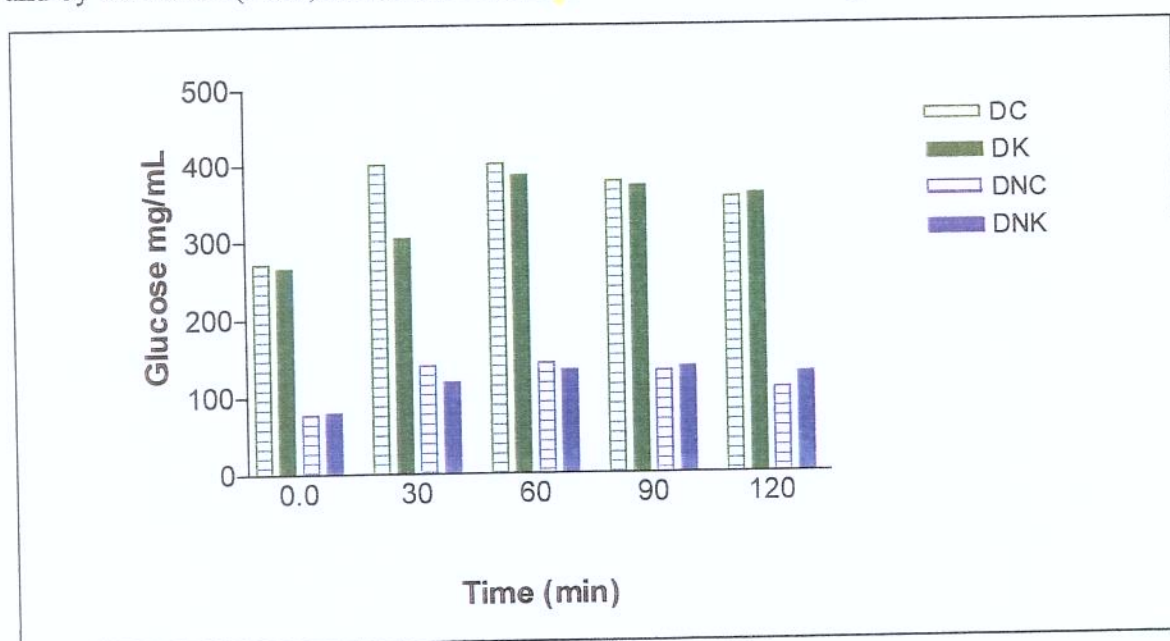


Figure 1 - Glucose tolerance in non diabetic (DNC and DNK) and diabetic rats (DC e DK).
K: groups that received konjac flour (0,1g/kg b.w.) and **C:** control group.

In general, the beneficial effects of water-soluble dietary fibers on glucose tolerance or glucose absorption-rate are assumed to be related to delayed gastric emptying and delayed intraluminal glucose-diffusion (JENKINS, et al., 1976 & JENKINS, et al., 1978).

Plasma lipoprotein, TC and TG

In the sub chronic study conducted to evaluate the effect of konjac flour on blood lipid profile, the results showed that on LDL-cholesterol and total cholesterol levels no difference ($p \leq 0.05$) was found among the groups feed with (test group) and without (control group) konjac flour. Similar result was obtained concerning the triacylglycerols. On the other hand, the HDL-cholesterol level was lower ($p \leq 0.05$) for the test group in relation to control group (Figure 2). LEVRAT-VERNY et al. (2000) also verified that feeding rats with konjac flour (1% for 3 wk) do not modify plasma cholesterol or triacylglycerols levels, and WU & PENG (1997) reported that feeding male Wistar rats with konjac flour at a level of 5% of lipid-rich diet prevented increases in total fasting serum cholesterol, but the level of triacylglycerols were unchanged.

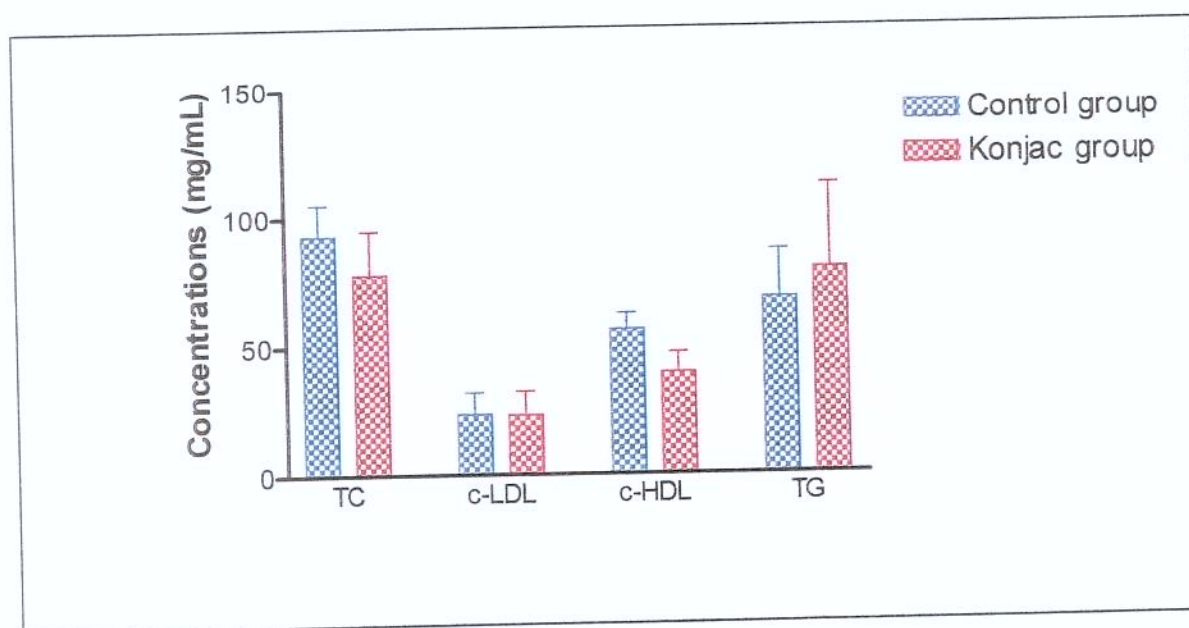


Figure 2 - Effect of konjac flour on plasma lipoprotein, TC and TG concentrations in diabetic rats. Values are means $\pm$ SEM, $n = 8$ for control group and $n = 13$ for konjac group.

In relation to HDL-cholesterol (protective) and LDL-cholesterol (atherogenic), several authors have reported beneficial effects when experimental animals (hamsters and rats) are fed with hydrocolloids such as β -glucans (HECHER et al., 1997; RANHOTRA et al., 1998), or black and red beans (ROSA et al., 1998; ALVARADO et al., 1999). We found a lower level of HDL-cholesterol among those animals that received konjac flour on their diet. Certainly, a reduction on HDL serum level is not desirable since this lipoprotein is associated to risk reduction of cardiovascular diseases, due to inhibition of LDL deposition on the arterial wall. Nevertheless, in a human study, MAO-YU et al. (1990) related that individuals with hyperlipidemia that received 5 g konjac flour per day, during 45 days, the blood levels of triacylglycerols, total cholesterol and LDL-cholesterol significantly decreased, whereas HDL-cholesterol was significantly elevated. While, ARVILL & BODIM (1995) related that healthy volunteers that received 3.9 g konjac flour per day, during 4 weeks, did not presented significant alteration in the concentration of HDL-cholesterol. According to LEVRAT-VERNY et al. (2000), konjac flour at 1 % of the diet had only marginal effect on lipid metabolism, but this hydrocolloid might prove effective at a higher but still moderate dietary concentration.

Effect of konjac sub-chronic feeding on plasma glucose

At the end of the sub-chronic study, and after feeding the animals, blood glucose level was not different between the test and control groups (Figure 3), which indicate that feeding the konjac flour do not interfere in the diabetic conditions of the animals and corroborate the results of the GTT assay which indicate that konjac flour only affects the glycemia ($p \leq 0.05$) after 30 min postprandial (Figure 1). Nonetheless, in a human study conducted with type II diabetic patients, CHENG YU et al. (1990) reported that the hypoglycemic effect of konjac flour was more pronounced in the postprandial glycemia than in the fasting glycemia, and that among these patients, those with more elevated levels of blood glucose responded in a more satisfactory way to the beneficial effect of this dietary fiber. VUKSAN et al. (2000) also related no difference on fasting blood glucose between konjac flour treatment and control and LAFRANCE et al. (1998) and VUKSAN et al. (1999) reported that konjac flour when added to conventional treatment of diabetic

patients may ameliorate blood lipid profile and glycemic control, possibly improving the health of these patients.

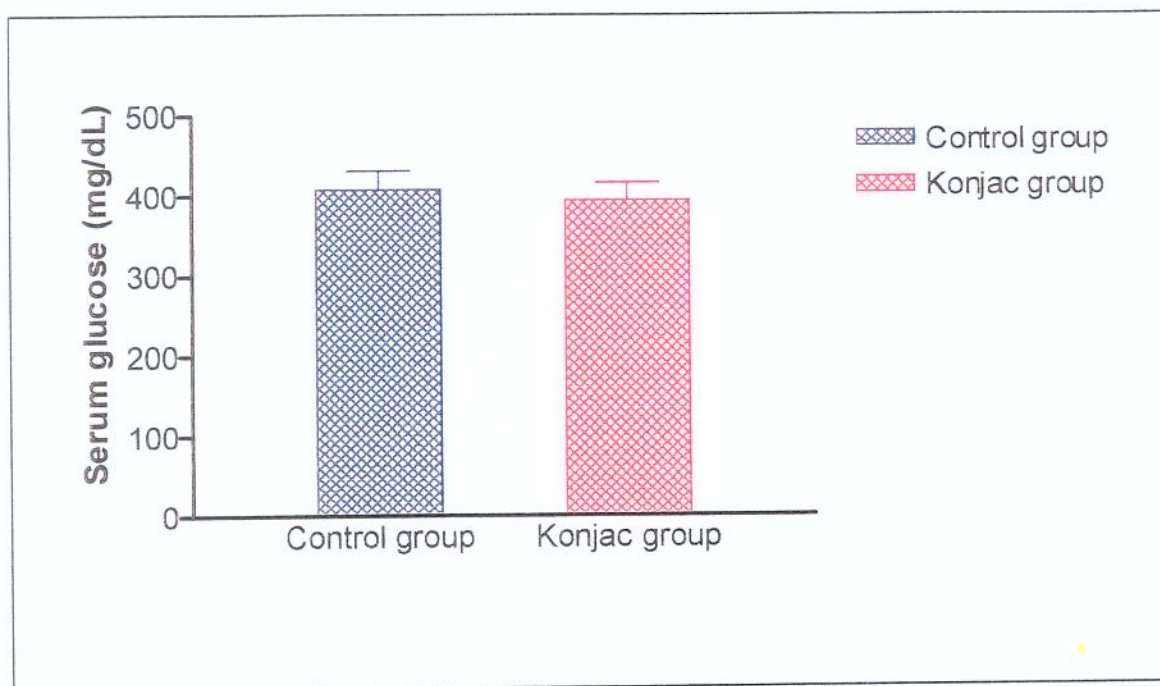


FIGURE 3 - Serum glucose levels at the end of the sub-chronic study (18 days) and 1.0 to 1.5 h after feeding the diabetic rats. Values are means $\pm$ SEM, $n = 8$ for control group and $n = 13$ for konjac group.

Body weight and food intake

Figure 4 shows that, during the subchronic study, the diabetic rats that received konjac flour (5%) on their diet (test group) had lower body weight loss ($p \leq 0.05$) than the control group, even though the food intakes for two groups were not different (Figure 5). Similar results were obtained by AREAS (1994) when feeding diabetic rats with orange pulp as a source of dietary fiber. But, LEVRAT-VERNY et al. (2000), reported no difference among control and test groups when konjac was added at 1% in the animal diet.

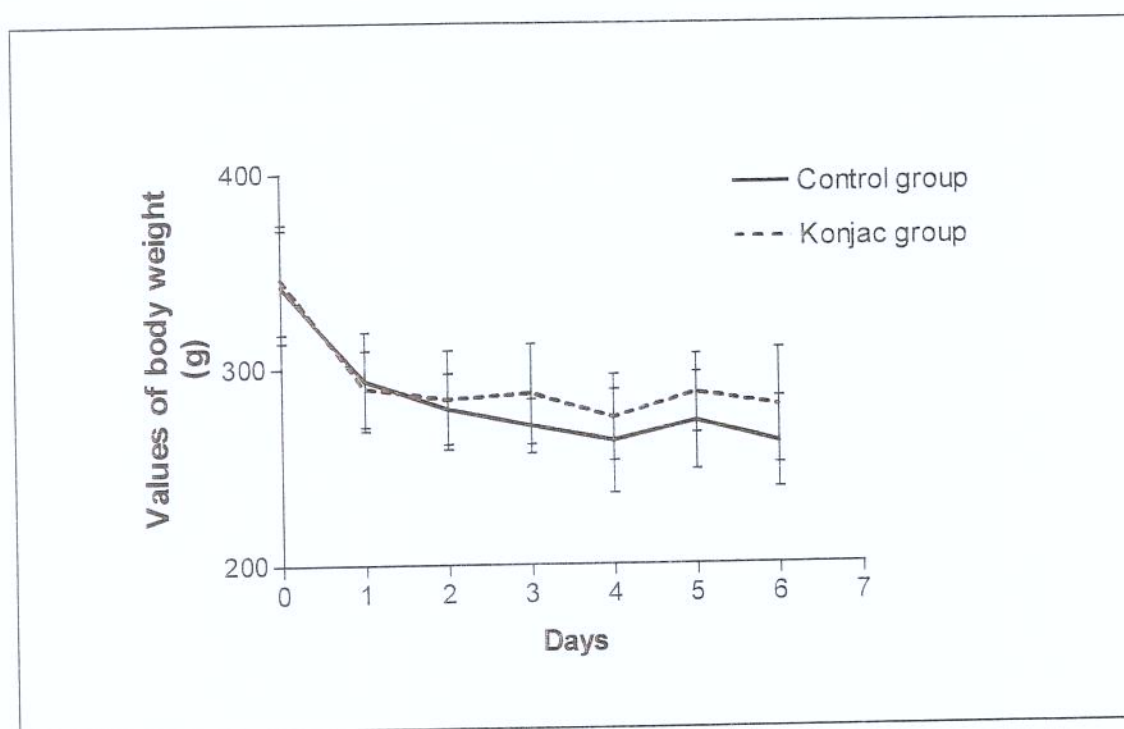


FIGURE 4 - Effects of diets on body weight (g) in diabetic rats. Values are means $\pm$ SD
n = 8 for control group and n= 13 for konjac group.

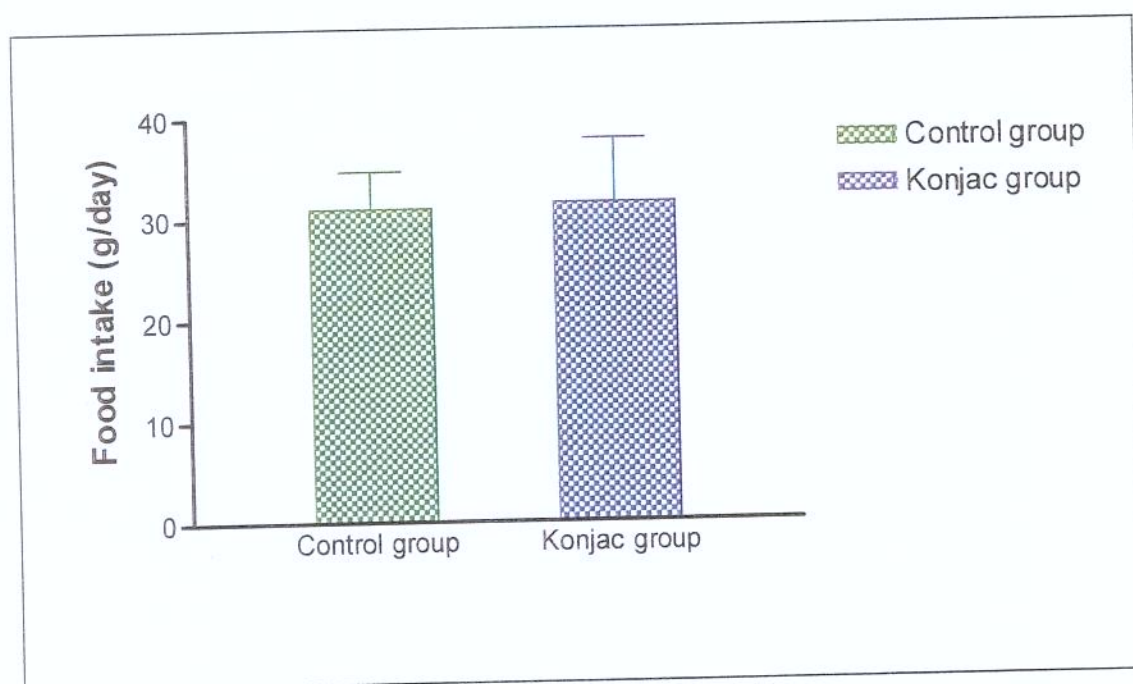


FIGURE 5 - Food intake (g/day) in diabetic rats. Values are means $\pm$ SEM, n = 8 for control group and n= 13 for konjac group.

CONCLUSIONS

Both, in diabetic and non diabetic rats, konjac flour has the property to delay the intestinal absorption of postprandial glucose, specifically at 30 min after the oral-gastric ingestion of a glucose solution with konjac flour at 0.1g / kg b.w. Konjac flour also shows a moderate reduction in total cholesterol, but the deleterious effect verified on the HDL-cholesterol demand further studies. Finally, the effect of konjac flour in reducing the weight loss in the diabetic rats seems to promote a better quality of life to the animals.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank M. A . B. Reis for technical assistance, and CNPq for the financial support. M.R.L. Moura thanks to CAPES for the scholarship support.

REFERENCES

- Alvarado M, Pacheco-Delahaye E, Schnell M, Hevia P. Fibra dietética en el residuo industrial del tomate y su efecto sobre la respuesta glicémica y el colesterol sérico en ratas. Archivos Latinoamericanos de Nutricion. 1999; 49 (2): 138-142.
- Areas MA . Estudo dos efeitos da polpa de laranja sobre parâmetros fisiológicos, nutricionais, bioquímicos e morfológicos em ratos normais e diabéticos. Campinas (BR). Universidade Estadual de Campinas. 1994: 158p.
- Arvill A, Bodin L. Effect of short-term ingestion of konjac glucomannan on serum cholesterol in healthy men. Am J Clin Nutr. 1995 mar;61(3):585-589.
- Burkitt DP. Some diseases characteristics of modern western societies. Br. med. J. 1973;1:274-278.
- Cheng-Yu H, Mao-Yu Z, Shu-Sheng P, Jun-Rong H, Xu W, Huijun J, Fulin Z, YUNXIANG B, Jinzhong L, Yerong Y, Zhaotian L, Xiangxun Z, Zancheng Z. Effect of konjac food on blood glucose level in patients with diabetes. Biomedical and Environmental Science. 1990;3:123-131.
- Doi K, Matsuura M, Kawara A, Uenoyama R, Baba S. Effect of glucomannan (konjac fiber) on glucose and lipid metabolism in non diabetic and diabetic subjects. Excerpta Med. (Gert. Environ. Interact Diabetes Mellitus). 1982; 549:306-312.

- Eastwood M. A function of dietary fibre in the large intestine. In Southgate DAT, Waldron K., Johnson IT FENWICK GR, editors. Dietary fibre: chemical and biological. Norwich, UK: The Royal Society of Chemistry. 1990: 385 p.
- Eastwood M A, MORRIS E R. Physical properties of dietary fiber that influence physiological function: a model for polymers along the gastrointestinal tract. American Journal of Clinical Nutrition Bethesda. 1992; 55: 436-442.
- Ebihara K, Masuhara R, Kiriya S. Effect of konjac mannan, a water-soluble dietary fiber on plasma glucose and insulin responses in young men undergone glucose tolerance test. Nutrition Reports International. 1981 April;23 (4):577-583.
- Hernández T, Hernández A, Martínez C. Fibra alimentaria. concepto, propiedad y métodos de análisis. Alimentaria. 1995;261:19-30.
- Hecker KD, Meier ML, Newman RK, Newman CW. Barley β -glucan is effective as a hypocholesterolaemic ingredient in food. J Sci Food Agri. 1998;77:179-183.
- Jenkins DJA, Goff DV, Leeds AR, Alberti KGMM, Wolever TMS, Hockaday TDR. Unabsorbable carbohydrates and diabetes: decreased post-prandial hyperglycaemic. Lancet. 1975;2:172-174.
- Jenkins DJ, Kendall CW, Mehling CC, Parker T, Rao AV, Agarwal S, Novokmet R, Jones PJ Raeini M, Story JA, Furumoto E, Vidgen E, Griffin LC, Cunname SC, Ryan MA, Connelly PW Combined effect of vegetable protein (soy) and soluble fiber added to a standard cholesterol-lowering diet. Metabolism. 1999;48:809-16.
- Jenkins DJA, Wolever TMS, Leeds AR, Gassull MA, Haisman P, Dilawari J, Goff DV, Metz GL, Alberti KGMM. Dietary fibres, fibre analogues, and glucose tolerance: importance of viscosity. Br. Med. J. 1978;1:1392-1394.
- Johnson I. T, Southgate DAT. Dietary fibre and related substances. Ed. Chapman & Hall. 1994.
- Lafrance L, Rabasa-Lhoret R, Poisson D, Ducros F, Chiasson JL. Effects of different glycaemic index foods and dietary fibre intake on glycaemic control in type 1 diabetic patients on intensive insulin therapy. Diabet Med. 1998 Nov;15(11):972-8.
- Levrat-Verny MA, Behr S, Mustad V, Remesy C, Demigne C. Low levels of viscous hydrocolloids lower plasma cholesterol in rats primarily by impairing cholesterol absorption. Journal of Nutrition. 2000;130(2):243-248.

- Mao-Yu Z, Cheng-Yu H, Xu W, Jun-Rong H, Shu-Shen P. The effect of food containing refined konjac meal on human lipid metabolism. *Biomedical and Environmental Sciences*. 1990;3:99-105.
- Nishinari K, WILLIAMS PPA, Phillips GO. Review of the physico-chemical characteristics and properties of konjac mannan. *Food Hydrocolloids*. 1992 June;6(2):199-222.
- Passaretti S, Franzoni M, Comin U, Donzelli R, Rocca F, Colombo E, Ferrara A, Dinelli M, Prada A, Curzio M, Tittobello A. and participating physicians. Action of glucomannans on complaints in patients affected with chronic constipation: a multicentric clinical evaluation. *J. Gastroenterol*. 1991;23: 421-425.
- Ranhotra GS, Gelroth JA, Leinen SD, Bhatti RS. Dose response to soluble fiber in barley in lowering blood lipids in hamster. *Plant Food for Human Nutrition*. 1998;52:329-335.
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GCJr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *Journal of Nutrition*. 1993;123:1939-1951.
- Rosa COB, Brunoro Costa NM, Nunes RM, Leal PFG. Efeito dos feijões (*Phaseollus vulgaris*, L.) preto, carioquinha e vermelho na redução do colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*. 1998; 48(4): 306-310.
- Rosa COB, Brunoro Costa NM, Leal PFG, Oliveira TT. Efeito dos feijões (*Phaseollus vulgaris*, L.) sem casca na redução do colesterol sanguíneo de ratos hiepercolesterolêmicos. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*. 1998; 48(4): 299-305.
- Tsai CMF, Tsai YI. Effect of dietary fiber on the prevention of liver lipid accumulation induced by high polyunsaturated oil. *Journal of Food Lipids*. 1999 Mar;6(1):75-89.
- Vuksan V, Jenkins DJA, Spadafora P, Sievenpiper JL, Owen R, Vidgen E, Brighnti F, Josse RG, Leiter LA, Bruce-Thompson C. Konjac-mannan (glucomannan) improves glycemia and other associated risk factors for coronary heart disease in type 2 diabetes. a randomized controlled metabolic trial. *Diabetes Care*. 1999 Jun;22 (6):913-9.
- Vuksan V, Vidgen E, Sievenpiper J.L, Brighnti F, Owen R, Josse RG, Swilley JA, Leiter LA, Spadafora P, Xu Z, Jenkins DJA, Novolmet R. Beneficial effects at viscous dietary fiber from konjac-mannan in subjects with the insulin resistance syndrome-results of a controlled metabolic trial. *Diabetes Care*. 2000 Jan;23(1):9-14.

- Vuorinen-Markkola H, Sinisalo M, Koivisto VA. Guar gum in insulin-dependent diabetes: effects on glycemic control and serum lipoproteins. *American Journal of Clinical Nutrition*. Bethesda. 1992; 56(6):1056-1060.
- Wu J, Peng SS. Comparison of hypolipidemic effect of refined konjac meal with several common dietary fibers and their mechanisms of action. *Biomed Environ Sci*. 1997 Mar;10(1):27-37.

CAPÍTULO 3

DETERMINATION OF GLIBENCLAMIDE IN HUMAN PLASMA BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY- TANDEM MASS SPECTROMETRY

Determination of glibenclamide in human plasma by high-performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry.

Abstract

A high-performance liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry (HPLC/MS-MS) method for the determination of glibenclamide in serum is described. Glipizide, an analog of glibenclamide, was used as internal standard. The analyte was extracted from plasma with diethyl ether-dichloromethane (70:30 v/v). The chromatographic conditions comprise a C_{18} and 0.01 mol.L⁻¹ acetic acid + acetonitrile (20+80 v/v) as stationary and mobile phase, respectively. The compounds were measured by multiple reaction monitoring (MRM). The detector response was linear in the range of 1 to 300 ng/mL, and for a sample of 400 μ L human plasma the limit of determination of the method was 1 ng/mL. The coefficient of variation of the method for intra (within-run precision) and inter assay (between-run precision) were less than 10%. The method was applied in a bioavailability study of a commercial formulation of glibenclamide in healthy volunteers of both sexes who received a dose of 2.5 mg. Serum samples were obtained over a period of 24 h. Pharmacokinetic parameters (C_{max} , T_{max} , $AUC_{[0-24]}$ and $t_{1/2}$) are reported.

Keywords: glibenclamide, sulfonylureas, mass spectrometry,

Introduction

Glibenclamide ([N - (4(β - 5 - chloro - 2 - methoxybenzamido - ethyl) benzenesulfonyl) - N' - (4 - cyclohexyl) - urea, a second-generation sulphonylurea, is currently one of the most widely employed oral hypoglycemic drugs in the treatment of non insulin-dependent diabetic patients, being effective at a very low

dosages. The measurement of glibenclamide plasma concentration is essential to optimize therapy, for the assessment of the bioequivalence of commercially available tablets formulations (AL-KHAMIS et al., 1994), as well as for bioavailability studies (SARTOR et al., 1982). For pharmacokinetic purposes, specific, accurate and sensitive analytical methods are required. They have to allow assaying at the low ng/mL of serum level (UIHLEIN & SISTOVARIS, 1982; SANTURIO & PORTO, 1996).

Several assay techniques have been described for the determination of glibenclamide in biological fluids, such as spectrophotometry, fluorescence spectroscopy, gas chromatography (GC) (HARTVIG et al., 1980; MIDHA et al., 1976) and high-performance liquid chromatography (HPLC) (ALKHAMIS et al., 1994; SENER et al., 1995). Atmospheric pressure chemical ionization (APCI) has been used as an interface for liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS) (SUSANTO & REINAUER, 1996; TILLER et al., 1998; RAMOS et al., 1999 and IFA et al., 2000).

Due to the high polarity of glibenclamide and its expected low concentration in serum, it is required to associate derivatization and/or pre-concentration steps to determine the drug by conventional methods such as HPLC, GC and GC/MS (SUSANTO & REINAUER, 1996). In this regard, one of the most employed method for the determination of glibenclamide is based on a derivatization to a fluorescent amine with 7-chloro-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole (NBD-chloride), prior to HPLC with fluorescence detection (ZECCA et al., 1985; ABDELHAMID et al., 1989). The current feasibility of coupling LC/MS and the use of interface and ionization techniques, such as laser desorption, thermospray, electrospray and atmospheric-pressure ionization, expanded the applicability of liquid-chromatographic analysis (SUSANTO & REINAUER, 1996).

The aim of the present study was to implement and validate an accurate and sensitive liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for the determination of glibenclamide in human plasma. The method was applied in a study of bioavailability of a commercial formulation of the drug.

Experimental

Materials

Chemicals and solvents

HPLC-grade solvents and analytical-grade reagents were purchased from Mallinckrodt (St. Louis, MO, USA) and Nuclear (São Paulo, Brazil). Ultrapure water was provided by an Elga UHQ ultrafiltration system (United Kingdom).

Reference substances

Glibenclamide and glipizide (internal standard) reference standards (Fig. 1) were kindly donated by Neo-Química Indústria Farmacêutica.

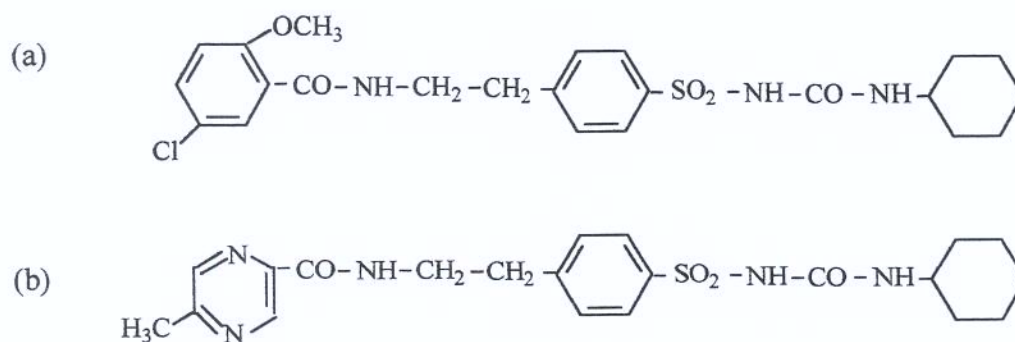


Figure 1 - Chemical structure of (a) glibenclamide and (b) glipizide.

Standard solutions

The analytical curve was obtained with working solutions of glibenclamide prepared from a stock solution of 1 mg/mL (methanol:water 50:50 v/v). The working internal standard solution with a final concentration of 1.5 µg/mL was prepared from a stock solution containing 1 mg/mL glipizide in methanol: 2% trifluoroacetic acid (TFA) aqueous solution (50:50 v/v). This solution was used to obtain of the analytical curve and for the determination of glibenclamide in plasma

Sample Preparation

Tubes containing human plasma (400 μL) were added of 80 μL of the internal standard working solution. The tubes were briefly vortex-mixed and allowed to stand at room temperature for 5 min. Diethyl ether-dichloromethane (4 mL, 70/30 v/v) was added and the samples were vortex-mixed for 30 seconds. The upper organic layer was carefully transferred to siliconized test tubes by using siliconized pasteur pipettes. The solvent was evaporated under a nitrogen flow. To the tubes, 160 μL of mobile phase (see chromatographic conditions) were added, which were vortex-mixed for 10 seconds to reconstitute the residues. The solutions were transferred to microvials, capped, and placed in an HP 1100 autosampler rack. Aliquots (40 μL) were automatically injected into the HPLC system.

Apparatus and HPLC conditions

The HPLC analysis were conducted on a Hewlett-Packard HPLC system, model 1100, equipped with an autosampler. The chromatographic conditions comprised a reverse phase C_{18} analytical column (Genesis, 4 μm ; 150 mm x 4,6 mm) and a C_{18} guard column, (Genesis, 4 μm ; 10 mm x 4 mm) (Jones Chromatography, Thames Valley, UK). The column was thermostated at 40 $^{\circ}\text{C}$ and a column switch was used to divert the column eluant to waste at appropriate times. Mobile phase consisted of 0.01 mol.L⁻¹ acetic acid + acetonitrile (20+80 v/v) and was pumped at 0.4 mL min⁻¹. The detection was carried out by tandem mass spectrometry. The autosampler was maintained at 10 $^{\circ}$ C.

Apparatus and Mass Spectrometry conditions

Mass spectrometry was performed using a Quattro LC triple-quadrupole mass spectrometer (Manchester, UK), equipped with an atmospheric pressure ionization (API) electrospray interface (Micromass) operating in the positive-ion mode using a cross-flow as the counter electrode (Micromass). API conditions

were 340 °C and 140 °C for desolvation and source block temperatures, respectively. Nitrogen was used as nebulizer gas (67 L h⁻¹) and desolvation gas (696 L h⁻¹).

The mass spectrometer was operated in the positive ionization mode (ES+) and set for multiple reaction monitoring (MRM), m/z 494.2 → 368.8 and 446.0 → 347.3 for glibenclamide and glipizide, respectively. The dwelling time and cone voltage was 0.1 second and 20 volts, respectively.

Quantification

The determination of glibenclamide was conducted by internal standard method. The quantification was based on the relative peak areas of the selected multiple reaction ion monitoring of the analyte and internal standard.

Precision and Accuracy

Between-run and within-run precision and accuracy were calculated from the quality control samples. A quality control sample was analyzed every 10 unknown samples.

Bioavailability study

The method was applied to evaluate, in human volunteers, the bioavailability of a commercial tablet formulation of glibenclamide (Daonil® - Hoechst Marion Roussel S/A, Brazil). For this purpose, sixteen healthy volunteers of both sexes were selected for the study. One of them, a female, abandoned the study after the first clinical evaluation. All the volunteers were free from cardiac, hepatic, renal, pulmonary, gastrointestinal, neurological and hematological diseases, as assessed by medical history, clinical evaluation and ECG, as well as they were negative for human acquired immunodeficiency virus, hepatitis and hepatitis C.

The study was conducted in an open, randomized protocol. The volunteers were hospitalized at 10:00 p.m., having had a normal evening meal. After an overnight fasting period (from 10:00 p.m. to 7:00 a. m.) each volunteer received a tablet of glibenclamide (2.5mg).

The volunteers gave written consent to participate in this study and the clinical protocol was approved by the Ethics Committee for Clinical Investigation of the University Hospital of the Federal University of Ceará. More details of the clinical study are published elsewhere (Moura et al, 2001).

Sample Collection

Blood samples (10 mL) were collected into heparinized tubes from a convenient forearm vein at 0; 0.5; 1; 1.5; 2; 2.5; 3; 4; 6; 8; 10; 12 and 24 h, after the oral administration of glibenclamide. The blood samples were centrifuged at $2000 \times g$ for 5 min at room temperature and the plasma separated and stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until assayed for glibenclamide content. All samples from a single volunteer were analyzed on the same day to avoid interassay variation.

Pharmacokinetics and statistical analysis

The determination limit of the method was calculated as recommended by MILLER & MILLER (1993), according to the equation $c=k \cdot s_y/x / m$, where s_y/x : estimate of the standard deviation of the analytical curve, m : angular coefficient of the curve and $k = 10$ for the limit of determination. Maximum observed plasma concentration ($C_{\max}$) and the time to reach it ($T_{\max}$) were obtained from the glibenclamide plasma concentration vs. time. The area under the curve ($AUC_{[0-24]}$) was calculated using the trapezoidal method. The results are expressed as mean $\pm$ SEM.

Results and Discussion

Method development

During the last years, the development of simple and accurate assays for drug determination in blood has greatly increased. Nevertheless, the choice of the analytical methods to be used depends, among others, on the laboratory facilities and financial resources. Certainly, the coupling of liquid chromatography with mass spectrometry as a detector expands the possibility to measure drugs such as a

glibenclamide. To solve the problem that arise between the relatively large solvent volumes that comes from the HPLC equipment and the vacuum requirements of the MS several HPLC/MS interfaces have been developed. In the present study, atmospheric pressure chemical ionization was used as the HPLC/MS interface. By using this technique, the resulting spectra provide molecular weight data and the details that make electron impact spectra useful for identification purposes.

Figures 2 and 3 show the full scan mass spectra of glibenclamide and glipizide respectively . The mass spectrometer should be adjusted to monitor multiple m/z values, present at high intensity and characteristic for the substance under analysis, according to the adopted the APPCI LC/MS technique.

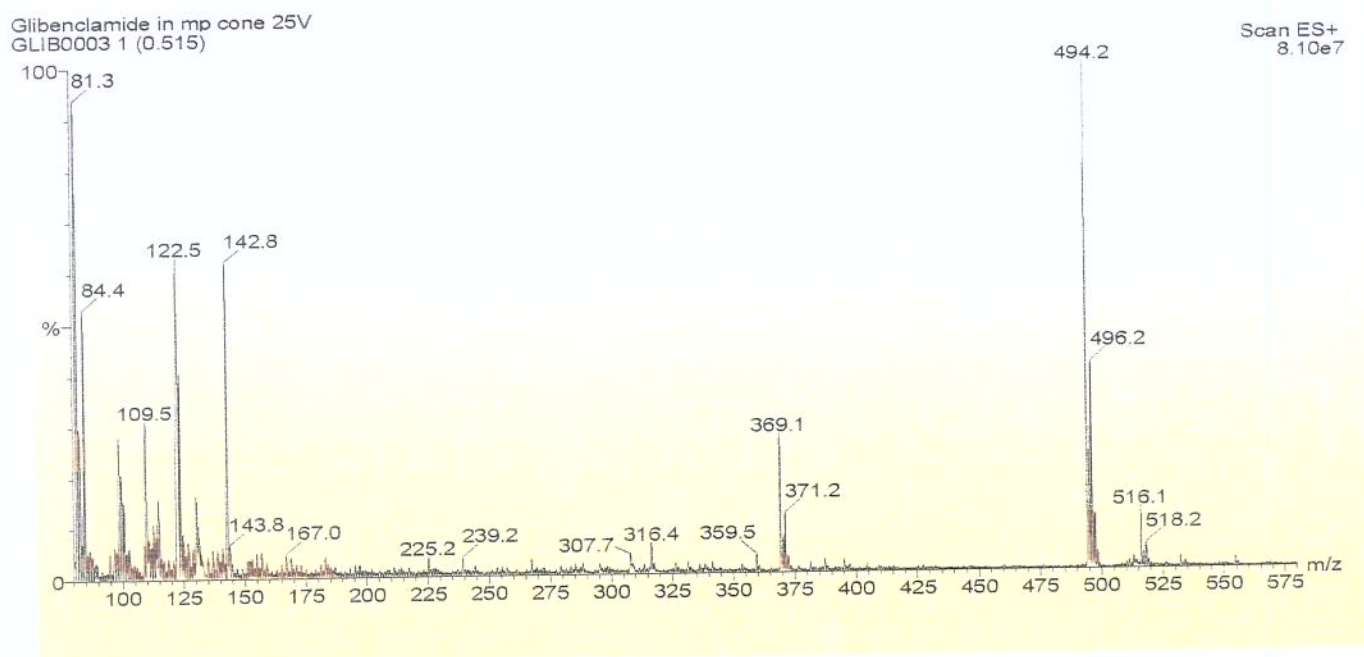


Figure 2 - LC/MS spectrum of glibenclamide.

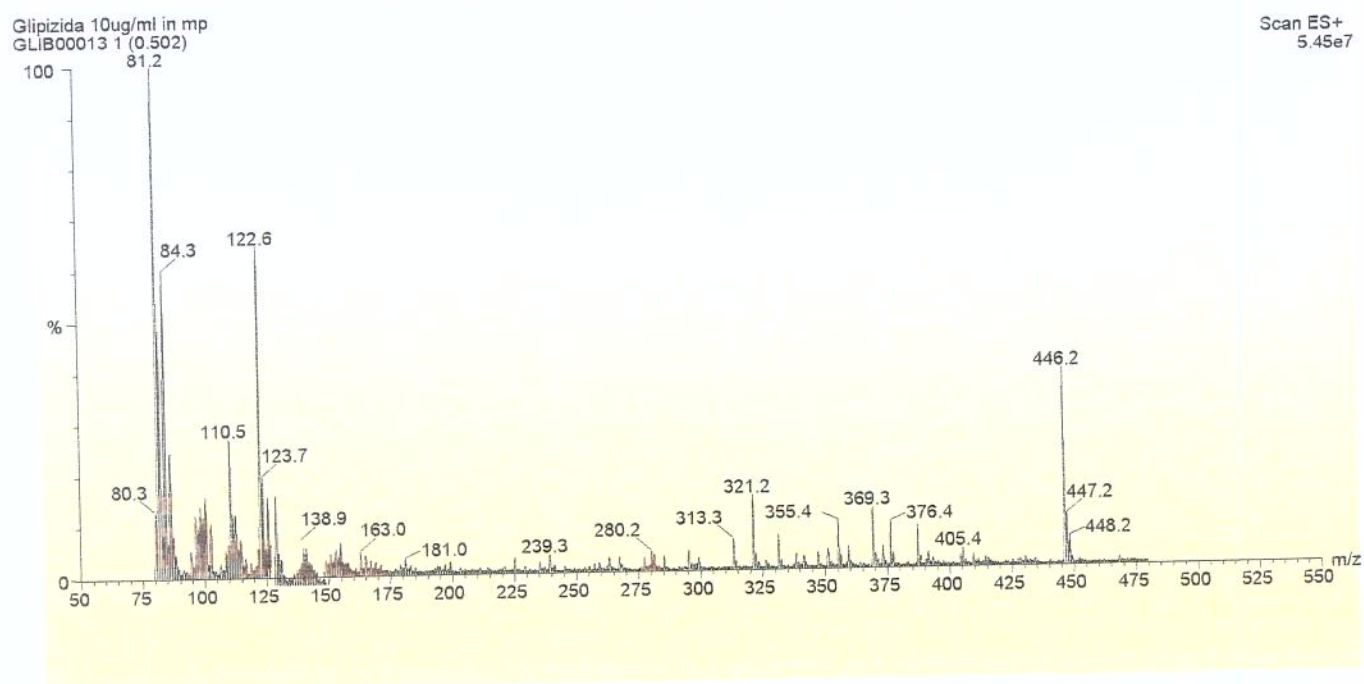


Figure 3 - LC/MS spectrum internal standard.

Typical ion monitoring mass chromatograms are shown in Figure 4. The retention times of glibenclamide and glipizide were 3.5 and 2.9 min, respectively.

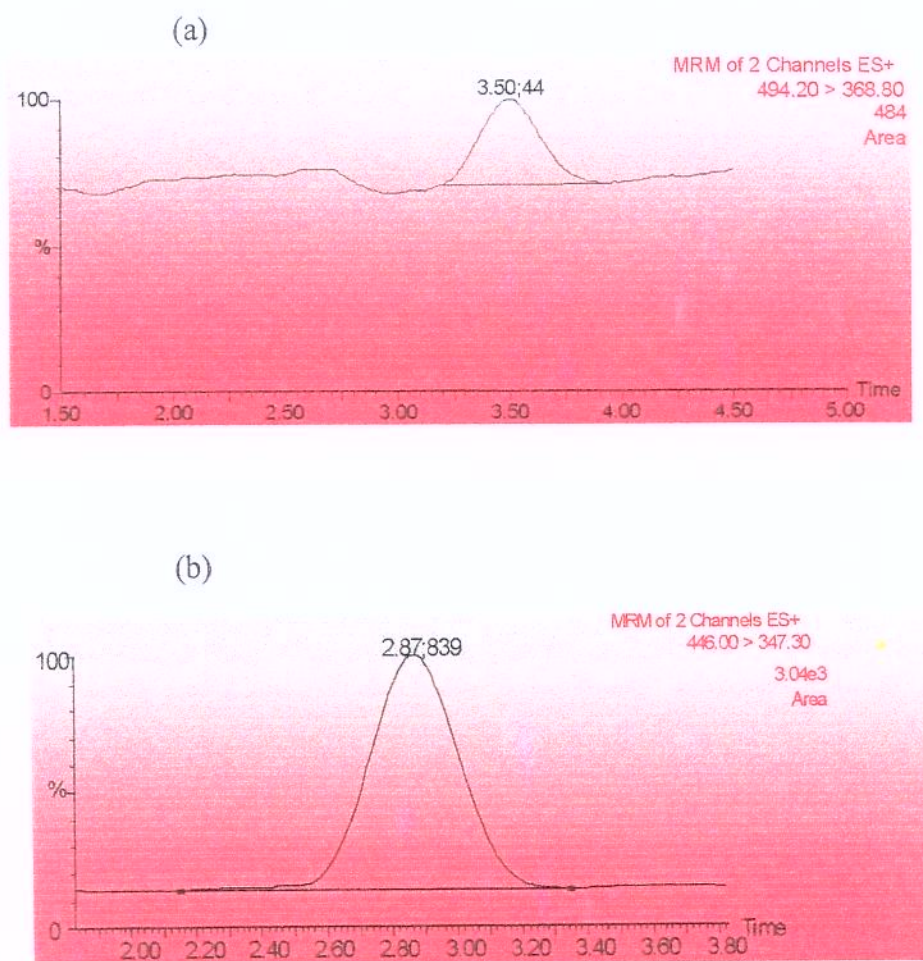


Figure 4 - Selected ion chromatograms (MRM), showing peak retention times (a) glibenclamide (MRM of two channels; ES+ 494.2 → 368.8 and (b) glipizide (MRM of two channels; ES+ 446 → 347.3).

In relation to the accuracy of the method, under the LC/MS condition no plasma endogenous interfering peaks were detected in the mass chromatogram of the control sample corresponding to the MRM of both, glibenclamide and internal standard, which indicate the absence of endogenous interfering compounds in the retention time of the HPLC peak for glibenclamide and internal standard (Figure 5).

Also indicate the high specificity of the APCI LC/MS method when operated in the MRM mode chosen for the determination of glibenclamide. It has been reported that methods based on HPLC with UV or fluorescence detection may give false positive results (Magni et al, 2000). The method described in this paper avoids this problem.

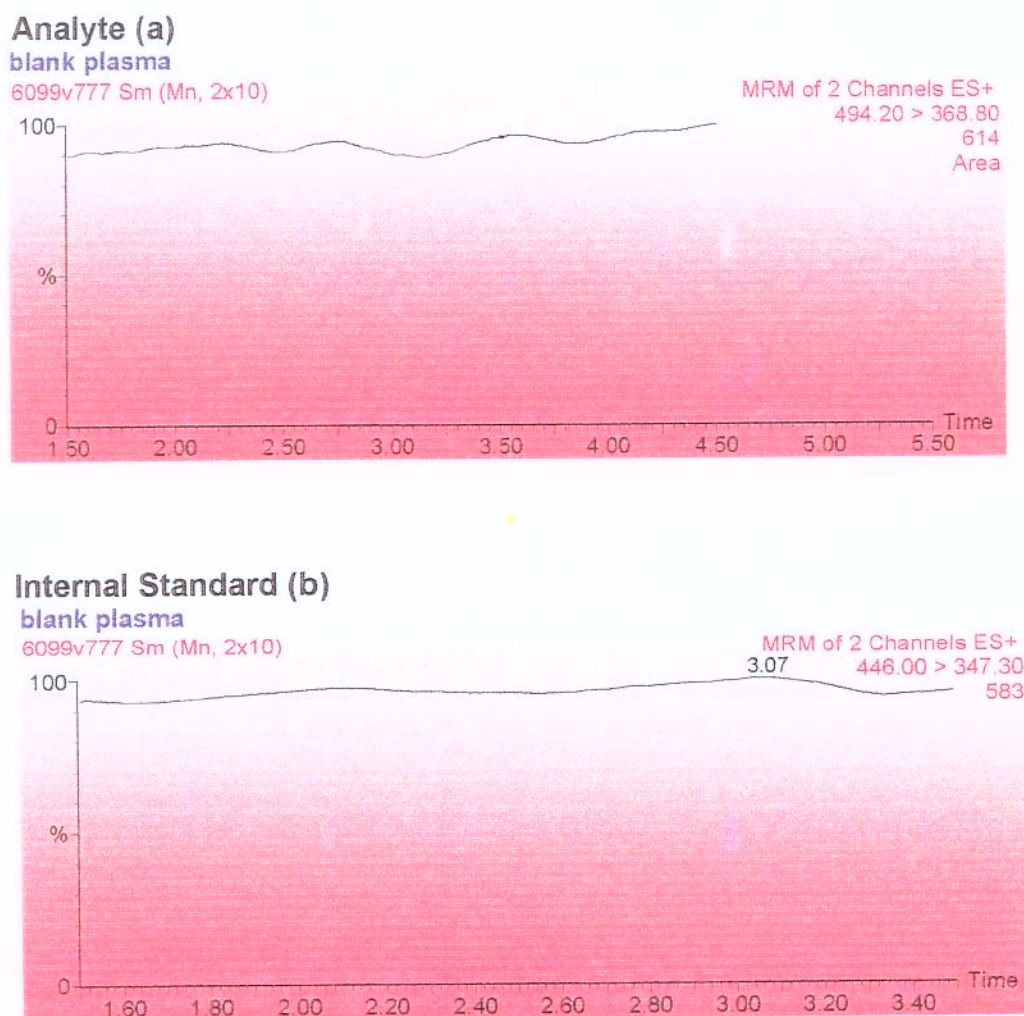


Figure 5 - Selected ion chromatograms (MRM), of the control sample corresponding to the MRM of (a) glibenclamide (ES+ 494.2 → 368.8) and (b) glipizide internal standard (ES+ 446 → 347.3).

Assay performance

The analytical curve of glibenclamide showed linearity throughout the range of 1 to 300 ng mL⁻¹. The corresponding linear regression equation was $y = 0.01970x + 0.00218$, where y = ratio of the areas of the peaks of glibenclamide/internal standard and x = concentration of glibenclamide. The linear regression coefficient was 0.9954 and the limit of determination 1 ng mL⁻¹.

The assay precision was determined as the coefficient of variation [CV % = 100(SD/M)], and accuracy as the percentage relative error [RE % = (E-T)(100/T)], where M is the mean, SD is the standard deviation of M, E is the experimentally determined concentration and T is the theoretical concentration. In Table 1 it is presented a summary of accuracy and precision data for the quality control samples. For all the three spiked glibenclamide levels (3.0, 30.0 and 150.0 ng/mL) of the quality control samples, the within-run and between-run accuracy were lower than 6.6 and 1.2, respectively, and within-run and between-run precision were lower than 11.2 and 10.1, respectively.

Table 1. Between-run and within-run precision, as well as the accuracy coefficient of variation for spiked plasma at different glibenclamide levels.

QCA (3.0 ng/mL)	Mean	Std. Deviation	CV%	RE%
Bach 1 (n=5)	3.1	0.15	4.78	3.53
Bach 2 (n=5)	2.9	0.10	3.53	-1.87
Bach 3 (n=5)	3.1	0.21	6.99	1.93
Between-run (n=15)	3.04	0.17	5.45	1.14
QCB (30.0 ng/mL)				
Bach 1 (n=5)	30.4	0.81	2.65	1.39
Bach 2 (n=5)	30.3	0.40	1.33	0.98
Bach 3 (n=5)	29.4	1.57	5.36	-2.09
Between-run (n=15)	30.03	1.08	3.60	0.09
QCC (150 ng/mL)				
Bach 1 (n=5)	144.1	11.16	7.75	-3.94
Bach 2 (n=5)	159.8	17.86	11.18	6.56
Bach 3 (n=5)	147.0	13.62	9.26	-1.97
Between-run (n=15)	150.32	15.16	10.09	0.24

M=Mean, SD=Std. Deviation, CV=Coefficient of variation, RE=Relative error

Plasma concentration profile of glibenclamide

The volunteers observed no adverse effects. The Figure 6 shows the plasma level profile of glibenclamide after oral administration of 2.5 mg tablet in fifteen healthy volunteers. The calculated pharmacokinetic parameters were: AUC_[0-24] 335 ± 112 , $C_{\max}$ 102.5 ± 26.6 , $T_{\max}$ 2 h (1 - 3) and $t_{1/2}$ 2.8 (1.6 - 5.4).

These results are in agreement with those reported by other authors.

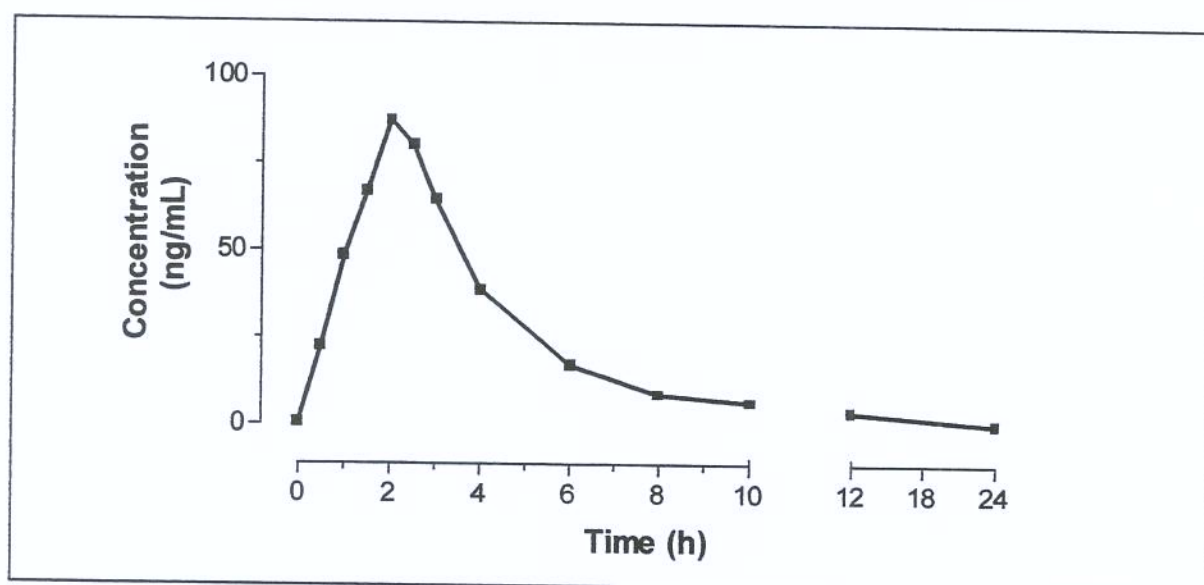


Figure 6 - Plasma level profiles for glibenclamide (2.5 mg) in fifteen healthy volunteers.

Conclusion

The LC/tandem MS method described in this paper for the determination of glibenclamide in human plasma is a simple and rapid method with an adequate accuracy, specificity and precision. The analytical method is particularly suitable for conducting bioavailability /bioequivalence studies of pharmaceutical formulations containing glibenclamide.

Acknowledgement

The authors would like to acknowledge the technical assistance of Mr. Jaime Ilha, as well as the financial support of FAPESP (Grant No. 98/06007-5). M.R.L. Moura thanks to CAPES for the scholarship support.

References

- ABDELHAMID, M. E.; SULEIMAN, M. S.; ELSAYED, Y. M.; NAJIB, N. M.; HASAN, M. M. A Rapid High-Performance Liquid-Chromatography assay of Glibenclamide in Serum. **J. Clin. Pharm. Ther.** v.14, n. 3, p.181-188, jun 1989.
- AL-KHAMIS, K. I.; EL-SAYED, Y. M.; AL-RASHOOD, K. A .; AL-YAMANI, M. High-Performance Liquid Chromatography Method for Determination of Glibenclamide in Human Plasma, **Analytical Letters**, v.27, n. 7, p. 1277-1293, 1994.
- HARTVIG, P.; FAGERLUND, C. and GYLLENHAAL, O . Electron-Capture Gas Chromatography of Plasma Sulphonylureas after Extractive Methylation. **Journal of Chromatography**, v. 181, p. 17, 1980.
- IFA, D. R.; MORAES, M. E.; MORAES, M. O.; SANTAGADA, V.; CALIENDO, G. and NUCCI, G. Determination of 21- Hydroxydeflazacort in Human Plasma by High - Performance Liquid Chromatography/Atmospheric Pressure Chemical Ionization tandem Mass Spectrometry. Application to Bioequivalence Study, **Journal of Mass Spectrometry**, v.35, p. 440-445, 2000.
- MAGNI, F.; MARAZZINI, L.; PEREIRA, S.; MONTI, L. KIENLE, M. G. Identification of Sulfonylureas in Serum by Electrospray Mass Spectrometry. **Analytical Biochemistry**, v 282, n.1, p.136-141, jun, 2000.
- MIDHA, K. K.; MCGILVERAY, I.J and CHARETTE, C. GLC Determination of Plasma-Levels of Intact Chlorpropamide or Tolbutamide **J. Pharm. Sci.**, v. 65, n. 4, p. 576-579, 1976.
- MILLER J.C & MILLER, J. N. **Statistic for Analytical Chemistry**. Ellis Horwood , 3. ed. 1993. 233 p.
- RAMOS, L.; BAKHTIAR, R. and TSE, F. Application of Liquid Chromatography Atmospheric Pressure Chemical Ionization tandem Mass Spectrometry in the Quantitative Analysis of Glyburide (glibenclamide) in Human plasma, **Rapid Communication in Mass Spectrometry**, v. 13, n. 24, p. 2443-2443, 1999.

- SANTURIO, J. R. V. and PORTO, E. G. Determination of Glibenclamide in Human Plasma by Solid-Phase Extraction and High-Performance Liquid Chromatography, **Journal of Chromatography, B**, v. 682, p. 364-370, 1996.
- SARTOR, G.; LUNDQUIST, I.; MELANDER, A .; SCHERSTEN, B. & WAHLIN-BOLL, E. Improves Effect of Glibenclamide on Administration Before Breakfast. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v.21, p. 403-405, 1982.
- SENER, A . AKKAN, A . G. and MALAISSE, W. J. Standardized Procedure for the assay and Identification of Hypoglycemic in Human Plasma, **Acta Diabetologia**, v. 32, p. 64-68, 1995.
- SUSANTO, F. and REINAUER, H. Glibenclamide in Serum: Comparison of High-Performance Liquid Chromatography using Fluorescence Detector and Liquid Chromatography Mass Spectrometry with Atmospheric-Pressure Chemical-ionization (APCI LC/MS), **Fresenius Journal of Analytical Chemical**, v. 356, n. 5, p. 352-357, 1996.
- TILLER, P. R.; LAND, A . P.; JARDINE, I.; MURPHY, D. M.; SOZIO, R.; AYRTON, A . and SCHAEFER, W. H. Application of Liquid Chromatography Mass Spectrometry Analysis to the Characterization of Novel Glyburide Metabolites formed in Vitro, **Journal of Chromatography A**, v. 794, n. 1-2, p. 15-25, jan 23, 1998.
- UIHLEIN, M. and SISTOVARIS, N. High-Performance Liquid Column and Thin-Layer Chromatographic Determination of Human Serum Glibenclamide at Therapeutic Levels, **Journal of Chromatography**, v. 227, p. 93-101, 1982.

CAPÍTULO 4

EFFECT OF KONJAC FLOUR ON BIOAVAILABILITY OF GLIBENCLAMIDE IN HEALTHY VOLUNTEERS

EFFECT OF KONJAC FLOUR ON THE BIOAVAILABILITY OF GLIBENCLAMIDE IN HEALTHY VOLUNTEERS

Abstract

A study related to the effect of konjac on the bioavailability of glibenclamide was conducted in human healthy volunteers. It was a three-way randomized crossover design comparing one glibenclamide commercial formulation as follows: stage 1: glibenclamide (2.5 mg); stage 2: glibenclamide + mashed banana (100 g) and stage 3: glibenclamide + mashed banana + konjac (5 g). Plasma samples were obtained pre-dose and at frequent intervals for up to 24 h post-dose. Glibenclamide was determined in plasma by a validated method using high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry (HPLC/MS-MS). The pharmacokinetic parameters calculated included: C_{max} , $AUC_{(0-24\text{ h})}$, T_{max} , $t_{1/2(h)}$ and K_e . All these variables were evaluated using both parametric and non-parametric tests. The C_{max} and $t_{1/2(h)}$ values obtained were 102.5 ± 26.6 ; 78.0 ± 31.4 ; 70.6 ± 18.3 and 2.8; 3.7; 4.6 h, for stages 1; 2 and 3, respectively. Results suggest that konjac flour do not affect the bioavailability of glibenclamide ($p < 0.05$) further to the influence provoked by the ingestion of foods (in this study represented by the fruit banana). Also, the plasmatic insulin and glucose levels of the volunteers were not importantly affected by the konjac fiber.

Key words: glibenclamide, konjac fiber, bioavailability, food-drug interaction

Introduction

Dietary fiber is an important component original from the vegetables cell walls. For a long time those components of vegetables tissues had little nutritional relevance. The interest for the dietary fibers started from 1973, when BURKITT (1971/73) and BURKITT et al. (1972), through experimental and epidemic studies, proposed a narrow relationship among lack of dietary fibers in the diets with the possible cause of several chronic diseases.

Soluble dietary fiber has been related as valuable for individuals that suffer of diabetes mellitus, as well as others degenerative diseases such as constipation, hypertension

and cardiovascular diseases. On the other hand, it has been reported that dietary fiber prolongs gastric emptying time and, as a consequence, retards the absorption of nutrients. Both of these processes are dependent on the physical form of the fiber and, particularly, on its viscosity (EASTWOOD, 1992; JENKINS, et al., 1978; JOHNSON & SOUTHGATE, 1994).

Clinical and epidemiological studies have demonstrated the effectiveness of dietary fiber, such as konjac fiber, in reducing the postprandial blood glucose and lipid levels, reducing body weight and alleviating constipation (BURKITT, 1971 and 1973; DOI, et al., 1982; JENKINS, et al., 1976; JENKINS, et al., 1977 and 1978; EBIHARA, et al., 1981; CHENG-YU et al., 1990; READ, 1990; LAFRANCE et al., 1998; VUKSAN, et al., 1999; VUKSAN, et al., 2000). In addition, it has been reported that a reduction of insulin or anti-diabetic drugs doses can be achieved when a fiber-enriched meal is given to the diabetic patients (JENKINS et al., 1976; LAFRANCE et al., 1998 & VUKSAN, et al., 1999). It has also been reported that meals, as well as dietary fibers, could alter the bioavailability of oral anti-diabetic drugs (SARTOR et al., 1980 and 1982; SHIMA et al., 1983). In spite of this, only one study has been reported relating the effect of konjac fiber on the bioavailability of glibenclamide.

Konjac fiber, a glucomannan unabsorbable polysaccharide obtained from the tuber of *Amorphophallus konjac* (*c. koch*), member of the family Araceae found in the oriental Asia, has been a center of considerable interest because the association of its physical properties with biological activity (DOI, et al., 1982; EASTWOOD & MORRIS, 1992; NISHINARI, et al., 1992). It has been used from the last centuries at the traditional Japanese and Chinese cuisine. It contains low protein, lipids and vitamin levels and a high fiber content (CHENG-YU et al., 1990 & NISHINARI et al., 1992) and its use as a food additive have recently been approved in Brazil.

Furthermore, glibenclamide, a second-generation sulphonylurea, is currently one of the most widely employed oral hypoglycemic drugs in the treatment of non insulin-dependent diabetic patients.

The aim of this study was to assess the effect of konjac fiber on the bioavailability of glibenclamide, in addition it was also evaluated its effect on plasma glucose and insulin levels, in healthy volunteers.

Subjects and Methods

Subjects

Sixteen healthy volunteers of both sexes were selected for the study. One of them, a female, abandoned the study after the first clinical evaluation. In Table 1 shows the age, height and the body weight of the volunteers.

All the volunteers were free from cardiac, hepatic, renal, pulmonary, gastrointestinal, neurological and hematological diseases, as assessed by medical history, clinical evaluation and ECG. The following laboratory tests were performed in each volunteer: blood glucose, creatinine, urea, AST, ALT, alkaline phosphatase, gamma-GT, total bilirubin, total protein, serum albumin, and total protein, hemoglobin, hematocrit, total and differential white cell counts, erythrocyte sedimentation rate and routine urinalysis. All volunteers were negative for human acquired immunodeficiency virus, hepatitis, hepatitis C, and gave written consent to participate in this study.

At each blood sampling time, systolic and diastolic arterial pressure (measured noninvasively with a sphygmomanometer) and heart rate were recorded.

Table 1: Age, height and body weight of the volunteers selected for the clinical study (mean $\pm$ SD).

Sex	n	Age (Years)	Height (cm)	Body weight (Kg)
Male	8	34.1 $\pm$ 3.1	175.4 $\pm$ 5.4	76.3 $\pm$ 4.6
Female	7	26.3 $\pm$ 5.9	155.4 $\pm$ 2.9	62.4 $\pm$ 5.3

Clinical Protocol

The study was conducted in an open, randomized protocol. It was a 3-stage study design (control group and two test groups), with a two-week interval between doses. During each stage study, of approximately 36 hours, the volunteers were hospitalized at 10:00 p.m., having had a normal evening meal. After an overnight fasting period (from 10:00 p.m. to 7:00 a. m.) each volunteer received, for the corresponding stage of the study as follows:

- Stage I: glibenclamide (2.5mg) (Daonil®)- Hoechst Marion Roussel S/A, Brazil) alone (control group);
- Stage II: glibenclamide (2.5 mg) and fruit (mashed banana, approximately 100 g);
- Stage III: glibenclamide (2.5 mg), fruit (mashed banana, approximately 100 g), and konjac fiber (5 g).

During the study, blood samples were collected into heparinized tubes from a convenient forearm vein at 0; 0.5; 1; 1.5; 2; 2.5; 3; 4; 6; 8; 10; 12 and 24 h after following glibenclamide administration.

In order to prevent undesirable hypoglycemia, after 1.5 h of the beginning of the clinical assay, the volunteers received a standard breakfast consisted of 200 ml of milk, white bread (50 g) with butter (5 g) and a fruit (a slice of papaya). The breakfast contained about 473.0 Cal. The volunteers also received a lunch, afternoon snack, dinner and breakfast after 5.0 h, 9.0 h, 11.0h and 24.0 h of the beginning of the clinical assay, respectively.

The clinical protocol was approved by the Ethics Committee for Clinical Investigation of the University Hospital (State University of Ceará – Ceará).

Materials

Konjac Fiber was kindly donated from FCM of Brazil Ind. Com. Ltd. - Food Ingredients Division (São Paulo).

Glibenclamide (Daonil® 2.5 mg - Hoechst Marion Roussel S/A, Brazil) was purchased at a local drug store.

Methods

Blood sample preparation

The blood samples were centrifuged at 2000 x g for 5 min at room temperature and the plasma decanted and stored at - 20 °C until assayed.

Glibenclamide determination

Total glibenclamide plasma concentrations were determined by a validated method using high-performance liquid chromatography coupled to a mass spectrometer (LC-MS-MS). The methodology employed, developed at the Cartesius Analytical Unit, University of São Paulo, will be described on a separated paper to be submitted for publication.

Glucose determination

Plasma glucose was determined by the glucose oxidase method (Diagnostica - Merck®, Darmstadt, Germany).

Insulin determination

Serum insulin was determined by radioimmunoassay method (Coat-A-Count® Insulin- Diagnostic Products Corporation -DPC®, Los Angeles, USA).

Pharmacokinetic study

The maximum observed plasma concentration (C_{max}) and the time taken to achieve this maximum level (T_{max}) for Glibenclamide were evaluated. The areas under the glibenclamide concentration-time curves (AUC) were calculated using the linear trapezoidal method. Tukey test for multiple comparisons among the 3-stage study (control group and two test experiments) was used for glucose and insulin. P-values ≤ 0.05 were considered to indicate significant differences.

The following software were used:

1. WinNonLin Professional Network Edition, Version 1.5. Scientific Consulting, Inc, registred to Clinical Pharmacology ICB-USP.
2. Bioequivalence Program for Two-Period Crossover Studies, Version 3.4, by Herman P. Wignand
3. Microsoft Excel Version 7.0 - SR2 Microsoft Corporation Redmond, WA - Site Licence acquired from Microsoft Brazil.
4. GraphPad Prism Version 3.02 - GraphPad Software, Inc - San Diego, CA - Network Licence acquired from GraphPad Software.

Results

Glibenclamide

The average concentrations of plasmatic glibenclamide (C_{max}), in pre and postprandial conditions, are presented in the Figure 1 and the average of the kinetic data in Table 2. For all the 3 study groups, the maximum glibenclamide concentration (T_{max}) occurred at 2 h after ingestion and the $t_{1/2}$ was 2.8, 3.7 and 4.6 h for glibenclamide, glibenclamide + fruit and glibenclamide + fruit + konjac, respectively (Table 2).

When pre and postprandial conditions were compared, it was verified that the results for glibenclamide and glibenclamide with fruit differs significantly ($p \leq 0.05$). Nevertheless, The addition of konjac to the fruit did not induce further effect.

Insulin

The insulin concentration for the 3 study groups was maximum during the interval period of 2 to 2:30 h (Figure 2), which was the same period for maximum glibenclamide plasma concentration (Figure 1). For the 2 test groups (glibenclamide + fruit and glibenclamide + fruit + konjac) the average plasmatic insulin concentration increased from the first 0.5 h after glibenclamide administration. Nonetheless, for the control group (glibenclamide) this effect was observed after 1.5 h.

Glucose

The glucose plasmatic concentration for the 2 test groups (glibenclamide + fruit and glibenclamide + fruit + konjac) increased from the first 0.5 h after the experiment beginning. The same effect was noticed for the control group only after one hour. The lowest minimum glucose plasmatic concentration was achieved at 1.5 h (Figure 3). Significant differences ($p \leq 0.05$) were found among all the three test groups (glibenclamide vs. glibenclamide + fruit; glibenclamide vs. glibenclamide + fruit + konjac and glibenclamide + fruit vs. glibenclamide + fruit + konjac).

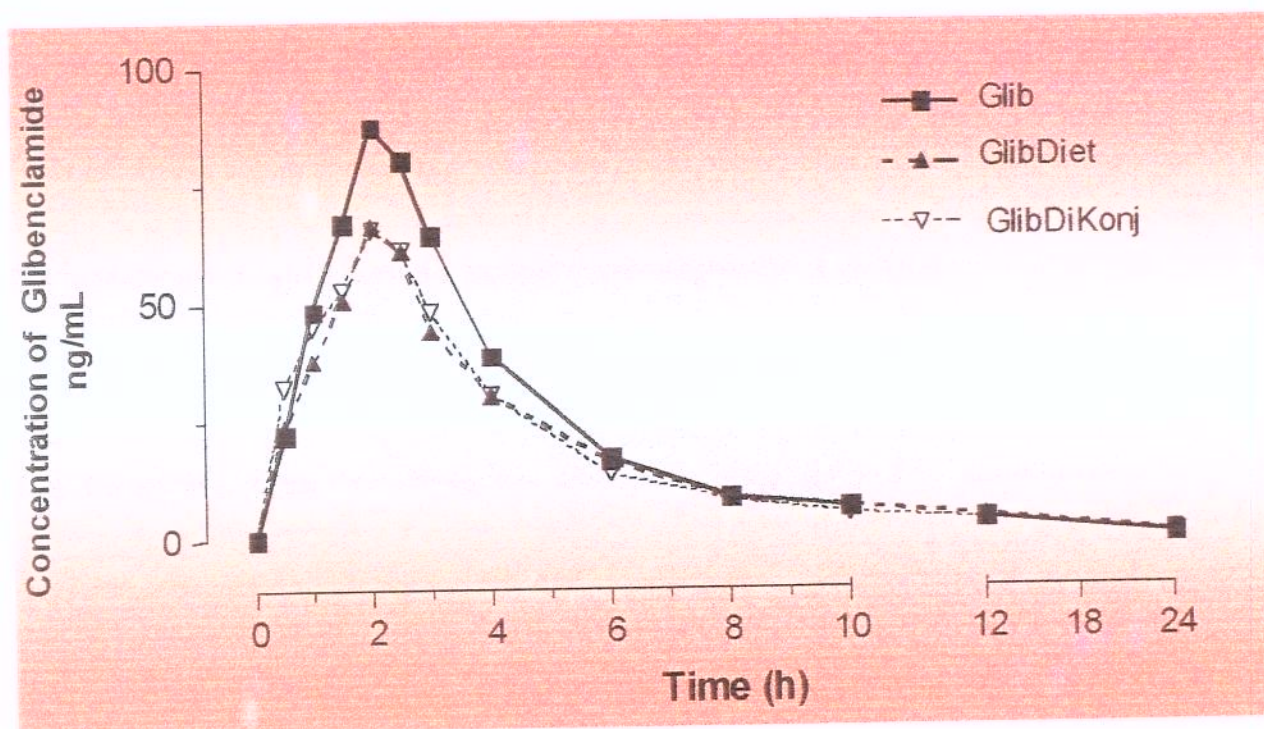


FIGURE 1 - Means glibenclamide concentrations in plasma in fifteen volunteers versus time curves obtained after a single oral dose of the drug (2.5 mg), together with a fruit and together with fruit and konjac flour (5 g).

TABLE 1-Plasma glibenclamide concentrations after a oral dose of 2.5 mg glibenclamide with and without fruit and konjac flour (5g).

Concentration of Glibenclamide										
	Glibenclamide			Glibenclamide+fruit			Glibenclamide+fruit+konjac			
AUCall ([ng*h]/ml) (0-24h)	335	112		274	93		280	96		
AUC INF ([ng*h]/ml)	351	118		299	99		301	110		
AUCall / Inf % (0-24h)	95.5			91,5			93.2			
Cmax ng/mL	102.5	26.6		78.0	31.4		70.6	18.3		
Tmax (hr) range	2	1	3	2	1	3	2	2	3	
T1/2 (h)	2.8	1.6	5.4	3.7	1.4	11.3	4.6	1.9	14.4	
Ke (1/h)	0.278	0.127	0.426	0.234	0.062		0.224	0.048	0.362	

AUC, area under the curve; Ke, elimination rate constant; T_{1/2}, half-life.

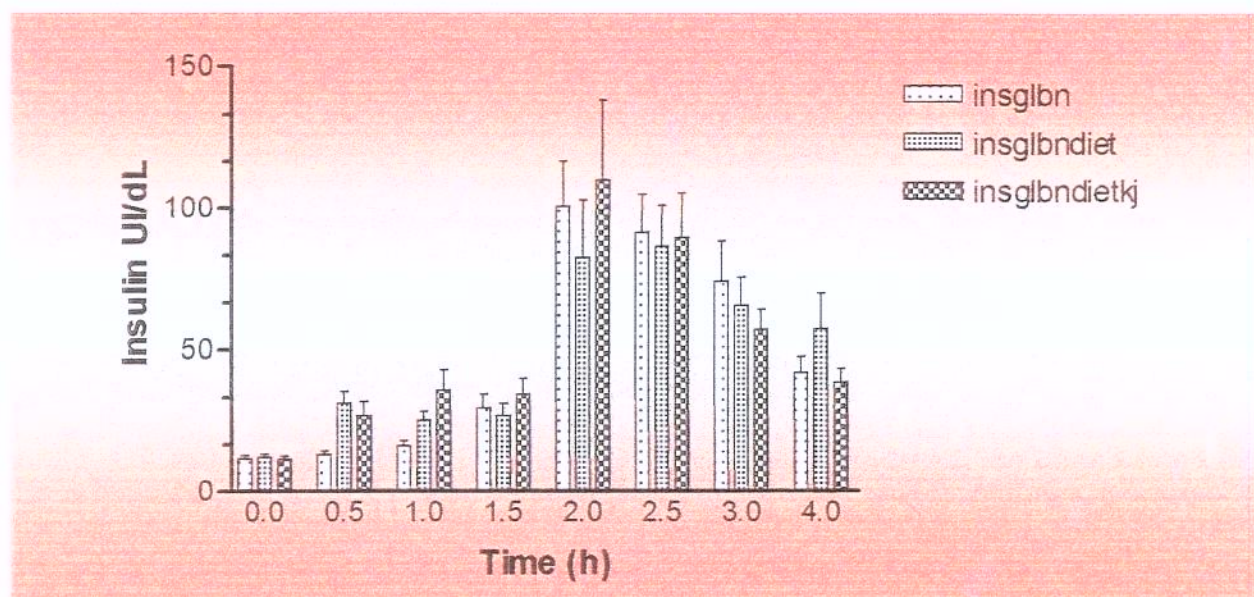


FIGURE 2 - Means (and SEM) concentrations of plasma insulin in fifteen volunteers given only glibenclamide (2.5mg), glibenclamide together with the fruit, glibenclamide together with the fruit and konjac flour (5g).

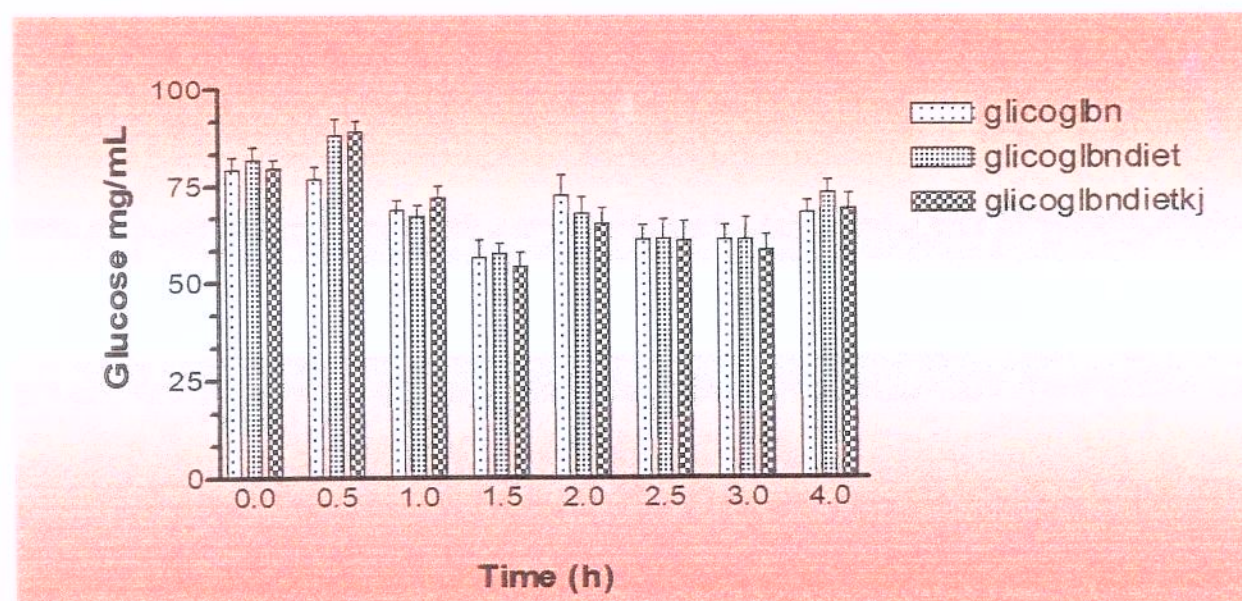


FIGURE 3 - Means (and SEM) concentrations of plasma blood glucose in fifteen volunteers given only glibenclamide (2.5g), glibenclamide together with the fruit, glibenclamide together with the fruit and konjac flour (5g).

Discussion

The konjac fiber could influence the glucose metabolism and be useful when present in the diet, in the control of diabetes mellitus non-insulin dependent (DMNID). On the other hand, data in the literature indicate that ingestion of 8 to 15g of konjac fiber can induce intestinal discomfort (JENKINS et al., 1978 and WILLIAMS et al., 1980). DOI et al. (1982) reported that an amount of konjac fiber above 5 g induce flatulence, abdominal pain, as well as other collateral effects. For these reasons, in the present study, 5g of konjac fiber were adopted as the level offered to the volunteers. Even so, two of the fifteen volunteers manifested abdominal pain and flatulence, when they received the konjac fiber.

Initially, it was evaluated the possibility to offer the konjac fiber in water, but due to the high viscosity produced by the fiber in water, this possibility was discarded. Thus, owing to ease of addition and acceptance, as well as to being part at the volunteer's diet, washed banana was mixed with the konjac fiber. The banana contains, approximately, 22.8 % of carbohydrates and 0.4 % of dietary fiber, on fresh weight basis (ENDEF-1985).

Glibenclamide (Daonil[®]) was chosen, at the present study, because it is the most commonly employed hypoglycemic drug, representing 40% of the consumption, in relation to other hypoglycemic drugs commercialized in Brazil. In addition, few data are available in the literature that relates interaction of glibenclamide with components of the diet and particularly with konjac fiber.

According to SARTOR et al., 1980, the ingestion of a diet containing low-fat milk (400 mL), white bread (20g) with butter (5 g) and 150 mL of unsweetened black coffee (430 kcal), offered to healthy volunteers (n=9) concomitantly to glibenclamide (5 mg daily), did not interfere in the rate of absorption, peak concentration, elimination rate, nor in the extent of bioavailability of the drug. Nevertheless, SHIMA et al., 1983, observed that the gastrointestinal absorption of glibenclamide could probably be altered by glucomannans, as konjac fiber, through the following mechanisms: slow gastric emptying, thus resulting in slowing the absorption of the drug, and gel forming properties resulting in slower absorption from the intraluminal gel. Nonetheless, the authors verified that the administration of konjac (3.9g) to healthy male volunteers (n=9) did not interfere ($p \leq 0.05$) in the bioavailability of glibenclamide (2.5mg). In our study, we verified that the glibenclamide presented a maximum plasmatic concentration (C_{max}) of 102.5 ng/mL

(± 26.6), and when its was administered concomitantly with fruit (banana), the C_{max} was significantly reduced ($p \leq 0.05$) to 78.0 ng/mL (± 31.4). Also, the addition of konjac to the fruit did not further significantly influence ($p \leq 0.05$) the C_{max} value. Both, fruit (banana) or konjac fiber did not influence the glibenclamide T_{max} .

When glibenclamide was taken together with the fruit and fruit + konjac the volunteers displayed a significant ($p \leq 0.05$) increase of plasma insulin earlier than when glibenclamide was taken alone (Figure 2). This finding corroborates previous reports (GRILL and CERASI, 1978) that emphasized that the stimulatory effect of glibenclamide on insulin release increases with increasing blood glucose, in our study produced from the fruit.

Glibenclamide reduces blood glucose predominantly through the of liberation of insulin by the β -cells of the pancreas and by increased tissue responsiveness to insulin (ILENE, 1990 & PANTEN et al., 1996). On the other hand, SARTOR et al., 1982, reported that glibenclamide (2.5mg), when administered 30 minutes before breakfast or lunch, reduced significantly ($p \leq 0.05$) the glucose concentration, but the same results were not observed when the drug administration was concomitant to the meals. SHIMA et al., 1983, reported similar findings. It was reported by CHENG-YU et al. (1990), that ingestion of konjac food has a hypoglycemic effect on patients with type II diabetes, while on subjects with glucose intolerance it exerted only an adjusting effect. The authors also reported that the effect of konjac food on diabetic subjects was more potent for prandial blood glucose than for fasting blood glucose, and that konjac food has a more beneficial effect on subjects with higher levels of blood glucose.

Our results indicate that the glucose plasmatic level at the beginning of the clinical assay (0.5 h) present an increase when glibenclamide is taken concomitant by with the fruit or the fruit + konjac, this effect was probably do to the ingestion of the fruit (banana). In order to avoid hypoglycemia, a standard breakfast was offered to the volunteers after 1.5 h of the clinical assay beginning. There was not noticed important effect on the plasmatic glucose levels after 2.0 or 2.5 h induced by konjac fiber (Figure 3).

Conclusions

The intake of glibenclamide concomitant to banana decreases its absorption (C_{max}), but the addition of konjac to the fruit did not further influence the C_{max} value significantly. Both, the fruit or konjac fiber did not influence the glibenclamide T_{max} .

The plasmatic insulin and glucose levels of the volunteers were not importantly affected by the konjac fiber.

Acknowledgements

The authors thanks to FAPESP for the financial support of this study (Grant No. 98/06007-5). M. R.L. Moura thanks to CAPES for the scholarship support.

References

- BURKITT, D. P. Epidemiology of Cancer of the Colon and Rectum. **Cancer**, v. 28, p. 3-13, 1971.
- BURKITT, D. P. Some Diseases Characteristics of Modern Western Societies, **Br. Med. J.**, v. 1, p. 274-278, 1973.
- BURKITT, D.P.; WALKER, A. R. P.; PAINTER, N.S.. Effect of Dietary Fibre on Stools and Transit-Times, and its Role in the Causation of disease. **Lancet**, v. 2, n. 30, p. 1408-1411, december 1972.
- CHENG-YU, H; MAO-YU, Z. SHU-SHENG, P.; JUN-RONG, H.; XU, W.; HUIJUN, J.; FULIN, Z.; YUNXIANG, B.; JINZHONG, L.; YERONG, Y.; ZHAOTIAN, L.; XIANGXUN, Z. & ZANCHENG, Z. Effect of Konjac Food on Blood Glucose Level in Patients with Diabetes. **Biomedical and Environmental Science** v. 3: 123-131, 1990.
- DOI, K.; MATSUURA, M.; KAWARA, A.; UENOYAMA, R. & BABA, S. Effect of Glucomannan (Konjac Fiber) on Glucose and Lipid Metabolism in Normal and Diabetic Subjects. **Excerpta Med. (Gert. Environ. Interact Diabetes Mellitus)**. vol. 549, p. 306-312. 1982.
- EBIHARA, K. ; MASUHARA, R. & KIRIYAMA, S. Effect of Konjac Mannan, A Water-Soluble Dietary Fiber on Plasma Glucose and Insulin responses in Young Men

- Undergone Glucose Tolerance Test. **Nutrition Reports International**, v.23, n. 4, p. 577-583, april, 1981.
- EASTWOOD, M. A. & MORRIS, E. R. Physical Properties of Dietary Fiber that Influence Physiological Function: A Model for Polymers Along the Gastrointestinal Tract. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda. , v.55, p. 436-442, 1992.
- FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Estudo Nacional da Despesa Familiar (ENDEF). **Tabelas de Composição dos Alimentos**, v.3. Publicações especiais ; t.1- 3. ed. - Rio de Janeiro. 1985, 213p.
- JENKINS, D. J. A.; GOFF,D.V.; LEEDS, A . R.; ALBERTI, K. G. M. .M.; WOLEVER,T. M. S.; GASSULL, M. A & HOCKADAY, T. D. R. Unabsorbable Carbohydrate and Diabetes: Decreased Post-Prandial Hyperglycaemia. **Lancet**, v. 2, p. 172-174, 1976
- JENKINS, D. J. A .; ; LEEDS, A . R. ; GASSULL, M. A.; COHETE, B. & ALBERTI, K.G. M. .M., Decrease in Postprandial Insulin and Glucose Concentrations by Guar and Pectin. **Ann. Intern. Med.**, n. 86, p. 20-23, 1977.
- JENKINS, D. J. A .; WOLEVER,T. M. S.; LEEDS, A . R.; GASSULL, M. A .; HAISMAN, P.; DILAWARI, J.; GOFF,D.V.; MESZ, G. L. & ALBERTI, K. G. M. .M. Dietary Fibres Analogues, and Glucose Tolerance: Importance of viscosity. **Brit.Med. J.**, n 2 p. 1392-1394, 1978.
- JOHNSON. I. T. AND SOUTHGATE, D. A . T. Dietary Fibre and Related Substances. Chapman & Hall. London , UK. First edition, 1994. 130 p.
- LAFRANCE, L.; RABASA-LHORET, R.; POISSON, D.; DUCROS, F. AND CHIASSON, J.L. Effects of Different Glyceamic Index Foods and Dietary Fibre Intake on Glyceamic Control in Type 1 Diabetic Patients on Intensive Insulin Therapy. **Diabet Med**, v.15, n. 11, p. 972-8, nov, 1998.
- NISHINARI, K.; WILLIAMS, P., P.A. & PHILLIPS, G. O. Review of the Physico-Chemical Characteristics and Properties of Konjac Mannan. **Food Hydrocolloids**, v. 6, n.2, p.199-222 june 1992.
- PANTEN, U. SCHWANSTECHE, M. . SCHWANSTECHE, C. Sulfonylurea Receptors and Mechanism of Sulfoylurea Action. **Endocrinology & Diabetes**, v. 104, p. 1-9, 1996.
- READ, N. W. Pharmaceutical Aspects of Dietary Fibre. In Dietary Fibre: Chemical and Biological Aspects. Edited by. SOUTHGATE, D. A . WALDRON, K. T. JOHNSON. I. T.

- & FENWICK, G. R. Especial Publication nº 83,. **The Royal Society of Chemistry**, april, 1990, p. 386.
- SARTOR, G.; LUNDQUIST, I.; MELANDER, A .; SCHERSTEN, B. & WAHLIN-BOLL, E. Improves Effect of Glibenclamide on Administration Before Breakfast. **European Journal of Clinical Pharmacology**. v.21, p. 403-405, 1982.
- SARTOR, G.; MELANDER, A .; SCHERSTEN, B. & WAHLIN-BOLL. Serum Glibenclamide in Diabetic Patients, and Influence of Food on the Kinetics and Effects of Glibenclamide. **Diabetologia**, v . 18, p. 17-22, 1980.
- SHIMA, K.; TANAKA, A .; IKEGAMI, H.; TABATA, M. SAWAZAKI, N. & KUMAHARA, Y. Effect of Dietary, Glucomannan, on Absorption of Sulfonylurea in Man. **Horm. Metabol. Res.** v. 15, p. 1-3, 1983.
- VUKSAN, V.; JENKINS, D.J.A; SPADAFORA, P.; SIEVENPIPER, J.L.; OWEN, R.; VIDGEN, E.; BRIGHNTI, F.; JOSSE, R. G.; LEITER, L. A .; BRUCE-THOMPSON, C. Konjac-mannan (Glucomannan) Improves Glycemia and other Associated Risk Factors for Coronary Heart Disease in Type 2 Diabetes. A Randomized Controlled metabolic Trial. **Diabetes Care**, v.22, n.6, p. 913-9, jun, 1999.
- VUKSAN, V.; VIDGEN, E.; SIEVENPIPER, J.L.; BRIGHNTI, F.; OWEN, R.; JOSSE, R. G.; SWILLEY, J. A .; LEITER, L. A .; SPADAFORA, P.; XU, Z.; JENKINS, D.J.A .AND NOVOLMET, R. Beneficial Effects at Viscous Dietary Fiber from Konjac-Mannan in Subjects with the Insulin Resistance Syndrome-Results of a Controlled Metabolic Trial. **Diabetes Care**, v.23, n.1, p. 9-14, jan. 2000.
- ZUCHERMAN, I. H. Elder x Glyburide, **Geriatric Medicine Today**, v. 9, n.9, p. 63-64, september 1990.

CONCLUSÕES GERAIS

1. Ensaio com ratos Wistar machos (diabéticos e não diabéticos)

Os resultados obtidos indicam que:

- 1.1. Aos 30 min., a glicemia dos ratos diabéticos e não diabéticos que receberam a fibra de konjac a 0,1g/Kg p.c. foi significativamente inferior ($p \leq 0,05$) em relação ao grupo controle;
- 1.2. Os níveis de triglicérides e LDL-colesterol, foram ligeiramente menores no grupo tratado com fibra konjac. Entretanto as diferenças não foram significativas entre o grupo teste e o grupo controle;
- 1.3. O nível de HDL-colesterol foi significativamente menor ($p \leq 0,05$) no grupo que recebeu fibra konjac em relação ao grupo controle;
- 1.4. A perda de peso, ao final do experimento, foi significativamente menor ($p \leq 0,05$) nos animais que receberam fibra konjac em relação aos animais do grupo controle (9,4 g e 31,7 g, respectivamente).

2. Ensaio com voluntários humanos

Os resultados indicam que:

- 2.1. A ingestão concomitante da glibenclamida com fruta (neste estudo representada pela banana), provocou menor absorção (C_{max}) do referido medicamento, mas a adição de fibra konjac não influenciou significativamente o valor de (C_{max}).
- 2.2. Tanto a fruta (banana) como a fibra konjac não influenciaram o T_{max} da glibenclamida.
- 2.3. Os níveis de glicose e insulina não foram afetados significativamente pela fibra konjac.

ANEXO I

EFEITO DA FARINHA DE KONJAC SOBRE A TOLERÂNCIA À GLICOSE EM RATOS

RESUMO APRESENTADO NO:

XV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

04 - 07/08/1996, POÇOS DE CALDAS - MINAS GERAIS

SEÇÃO 6 / POSTER 134

EFEITO DO KONJAC SOBRE A TOLERÂNCIA À GLICOSE EM RATOS

AREAS, M.A.¹; GREGORIO, S.R.²; MOURA, M.R.L.³ & REYES, F.G.R.¹

¹-FEA/IB-UNICAMP, ²-IN/NUT.USU-RJ, ³-FF-UFRJ-RJ

FEA/UNICAMP – Campus Universitário CEP 13083-970 – Campinas -SP

Dietas com elevado teor de fibras podem ser benéficas para o tratamento do diabetes mellitus por reduzirem a glicemia pós-prandial. Farinha de konjac, normalmente referida como konjac manana, é um pó de coloração clara obtido do tubérculo da *Amorphophallus konjac* (c. Koch), membro da família Araceae. Caracteriza-se como fibra solúvel com elevada capacidade de formar soluções viscosas. Os seus efeitos fisiológicos têm sido associados a essa característica físico-química, visto que às soluções aquosas com alto grau de viscosidade, diminuem o contato do quimo geleificado com a mucosa intestinal, assim como a ação de enzimas, retardando e/ou reduzindo a absorção de nutrientes. Deste modo, a viscosidade proporcionada pela farinha de konjac no trato gastrointestinal poderá influenciar os níveis de glicose sangüínea pós-prandial. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da farinha de konjac na absorção de glicose, utilizando-se o teste de tolerância à glicose (GTT). O ensaio foi realizado em ratos Wistar machos, adultos, com $313 \pm 16,3$ gramas de peso corpóreo. Após 18 horas de jejum os animais receberam 2mL de solução de glicose (1,5g/Kg/peso corpóreo) por sonda orogástrica, sem e com a adição de farinha de konjac (0,1 e 0,3g/Kg peso corpóreo). A glicemia foi determinada (método glicose-oxidase) no estado de jejum e após 30, 60, 90 e 120 min., da administração oral das soluções. Os resultados mostraram que aos 30 min., a glicemia dos animais que receberam a farinha de konjac a 0,1g/Kg p.c. foi significativamente inferior ($p \leq 0,05$) entre os grupos, embora tenha sido observado retardo fisiológico na absorção da glicose, nos animais que receberam farinha de konjac. As diferentes concentrações de farinha de konjac, quando comparadas entre si, não apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) na glicemia pós-prandial. Os resultados obtidos indicam que a farinha de konjac, por retardar a absorção de glicose, pode ser utilizada na redução dos níveis glicêmicos pós-prandial.

ANEXO II

EFFECT OF KONJAC FLOUR (*Amorphophallus konjac*) ON GLUCOSE TOLERANCE IN NORMAL AND DIABETIC RATS

RESUMO APRESENTADO NO:
16th INTERNATIONAL CONGRESS OF NUTRITION
27/07 - 01/08/1997, MONTREAL - CANADÁ
POSTER - PT 496

EFFECT OF KONJAC FLOUR (*Amorphophallus konjac*) ON GLUCOSE TOLERANCE IN NORMAL AND DIABETIC RATS

M. R. L. Moura, S. R. Gregorio, M. A. B. Reis, M. A. Areas and F. G. R. Reyes, Univ. Federal do Rio de Janeiro - FF, Univ. Gama Filho, Univ. Santa Úrsula - D.N. and Univ. Estadual de Campinas - IB and FEA, BRASIL

Dietary fiber could be beneficial for the treatment of diabetes mellitus due to the lowering of the postprandial glycemia. Konjac mannan, normally referred as konjac flour, is a white colour powder obtained from the tuber of *Amorphophallus Konjac* (*c. koch*). Its physiological effects have been associated to its capacity to form viscous solutions. The aim of this study was to evaluate the effect of Konjac flour on the glucose absorption, in normal and diabetic rats, using the glucose tolerance test (GTT). The assay was carried out in adults male Wistar rats. The diabetes was induced with aloxan monohydrate (40mg/kg body weight). After 18 h fasting state, the animals received 2.5 - 3.0 ml glucose solution (1.5 g/kg body weight.) by oral (intragastric) tube, with and without Konjac flour addition (0.1 g/ kg body weight). Glycemia was determined (glucose - oxidase method) in the fasting state and after 30, 60, 90 and 120 min., administration of the solutions. At 30 min. the glycemia of the normal and diabetic animals that received 0.1g Konjac flour / kg body weight was significantly lower ($p < 0,05$) in relation to their control. After 60, 90 e 120 min, there was no significant differences ($p < 0,05$) among the groups, even though, the glycemia of the animals that received konjac flour was slightly lower. The results indicated that the konjac flour was able to delay the postprandial blood glucose peak concentration suggesting its use as diabetic therapeutical coadjuvant.

ANEXO III

THE EFFECT OF KONJAC FLOUR ON THE BLOOD LIPID PROFILE IN DIABETIC RATS

RESUMO APRESENTADO NO:

16TH INTERNATIONAL CONGRESS OF NUTRITION

27/07 - 01/08/1997, MONTREAL - CANADÁ

POSTER - PR 212

THE EFFECT OF KONJAC FLOUR ON THE BLOOD LIPID PROFILE IN DIABETIC RATS

S.R. Gregorio, L.L. Cruz, M.R. Moura, M.A. Reis, M.A. Areas and F.G.R. Reyes. Univ. Gama Filho /Univ. Santa Ursula-DN, UNE E. Guzmán y Vale -Lima-Peru-DB, Univ. Federal do Rio de Janeiro-FF, Univ. Estadual de Campinas-IB/FEA BRAZIL

The soluble dietary fibers could show beneficial effects on the plasma lipid profile and glucose levels for the treatment of diabetes. Konjac flour (*Amorphophalus konjac*) has recently been introduced in Brazil and MERCOSUL members countries as a food additive.

The purpose of this work was to study the effect of konjac flour on plasma total cholesterol (TC), triglycerides (TG), plasma cholesterol-lipoproteins (c-LDL, c-VLDL and c-HDL), serum glucose level, food intake and body weight gain in male diabetic Wistar rats ($343.86 \text{ g} \pm 27.27$). Diabetes was induced with alloxan monohydrate (40mg/kg body weight). The animals were fed with semi-purified diet without (control, n=8) or with (treated, n=13) Konjac flour addition (5% w/w), during 15 days. TC, TG, lipoproteins and serum glucose were determined by enzymatic procedures. The food intake and weight gain were recorded at every three days.

The levels of TC, c-LDL, were slightly lower in the animals treated with Konjac, although there was not significant difference ($p \leq 0.05$) among the treated and control groups. c-HDL was significantly lower in the treated group ($p \leq 0.05$). At the end of the experiment, the mean weight loss was 9.4 g and 31.7 g in the Konjac and control groups, respectively. This difference was significant ($p \leq 0.05$). It should be mentioned that the animals fed with Konjac flour showed a much better life quality in terms of reduced mortality and weight loss.

ANEXO IV

EFEITO DA FARINHA DE KONJAC E DA POLPA DE LARANJA SOBRE A TOLERÂNCIA À GLICOSE EM RATOS

RESUMO APRESENTADO NA:

**XII REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA
EXPERIMENTAL - FeSBE**

27-30/08/1997, CAXAMBÚ - MINAS GERAIS

POSTER - 09.023

EFEITO DA FARINHA DE KONJAC E DA POLPA DE LARANJA SOBRE A TOLERÂNCIA À GLICOSE EM RATOS

¹MOURA, Mirian R. Leite; ²AREAS, Miguel Arcanjo; ³GREGORIO, Sandra Regina e ⁴REYES, Felix G.R.

¹Univ. Federal do Rio de Janeiro - FF; ²Univ. Estadual de Campinas - IB; ³Univ. Gama Filho e Univ. Santa Úrsula D.N.; ⁴Univ. Estadual de Campinas - FEA

RESUMO

Objetivo: Avaliar o efeito da farinha de konjac e da polpa de laranja na absorção de glicose, em ratos, utilizando-se o teste de tolerância à glicose (GTT).

Métodos e Resultados: Os ensaios foram realizados em ratos Wistar machos, adultos, que receberam após 18 horas de jejum solução de glicose (1,5g/Kg peso corpóreo) por sonda orogástrica sem (controle farinha konjac-CFK) e com adição de farinha konjac (FK-0,1g/Kg peso corpóreo) e sem (controle polpa de laranja-CPL) e com polpa de laranja (PL-0,15g/kg peso corpóreo). A glicemia foi determinada (método glicose-oxidase) no estado de jejum e após 30, 60, 90 e 120 min., da administração oral das soluções. Os resultados estão apresentados a seguir:

Tabela - Efeitos da farinha de konjac e da polpa de laranja na glicemia (mg/dl), em ratos Wistar

Grupo	0	30	60	90	120
Ck	76,25 12,12	139,12 15,16	142,00 20,71	131,12 12,71	108,37 14,06
K	79,20 6,45	118,00* 12,58	132,80 6,96	135,80 11,62	127,20 11,69
CPL	52,75 15,61	98,62 8,79	94,12 13,09	79,37 21,62	67,62 19,33
PL	47,75 9,31	87,25 8,91	72,37* 10,50	67,12 12,10	57,50 11,10

(*) indica diferença significativa ($p < 0,05$) para os grupos que receberam FC e PL, em relação aos respectivos controles.

Conclusão: Os resultados obtidos indicam que a farinha de konjac e a polpa de laranja por retardam a absorção de glicose, podendo, assim, serem utilizadas na redução dos picos glicêmicos pós-prandiais.

ANEXO V

EFFECT OF KONJAC FLOUR ON THE ABSORPTION OF GLIBENCLAMIDE BY HEALTHY VOLUNTEERS

RESUMO APRESENTADO NO:

2001 PHARMACEUTICAL CONGRESS OF THE AMERICAS

MARCH 24 - 29, 2001

ORLANDO, FLORIDA, USA

POSTER - 1201

Effect of Konjac Fiber on the Absorption of Glibenclamide by Healthy Volunteers.

M.R.L. Moura¹, G. de Nucci², R. A. Moreno³, E.J. Abib², F.G.R. Reyes²

¹Federal University of Rio de Janeiro; Rio de Janeiro, Brazil; ²State University of Campinas: Campinas, Brazil; ³University of Araras: Araras, Brazil.

Purpose. The aim of this study was to assess the effect of konjac fiber on the bioavailability of glibenclamide, in healthy volunteers. **Methods.** Fifteen volunteers (8 males and 7 females) were selected for the study, which was conducted in an open, randomized protocol. It was a 3-stage study design, with a two-week interval between stages, as follows: Stage 1: glibenclamide (2,5 mg); Stage 2: glibenclamide + mashed banana (100 g) and Stage 3: glibenclamide + mashed banana + konjac (5 g). At each stage, the oral doses were administered after overnight fasting (10 h). Serum samples were obtained over 24 h. Serum concentration of glibenclamide was determined by a validated method using high-performance liquid chromatography coupled to a mass spectrometer (LC-MS-MS). The Ethics Committee for Clinical Investigation of the University Hospital, State University of Campinas, São Paulo, Brazil approved the clinical protocol. **Results.** The pharmacokinetic parameters evaluated for glibenclamide, at each of the 3-stages included (for stages 1; 2 and 3, respectively): C_{max} (102.5; 78.0; 70.6), t_{1/2}(h) (2.8; 3.7; 4.6 h) AUC_(0-24 h) (335; 274 ; 280), and Ke (0.278; 0.234; 0.224). T_{max} was the same (2 h) for all the 3-stages. **Conclusions.** Results suggest that konjac do not importantly affect the bioavailability of glibenclamide further to the influence of food ingestion (in this study represented by the fruit banana).

Acknowledgement. FAPESP, CAPES and CNPq for the financial support.