Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto

**Influência do diabetes experimental na disposição cinética e no metabolismo
estereosseletivos do tramadol em ratos**

Ana Leonor Pardo Campos Godoy

Ribeirão Preto

-2009-

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto

**Influência do diabetes experimental na disposição cinética e no metabolismo
estereosseletivos do tramadol em ratos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Toxicologia

Área de Concentração: Toxicologia

Orientada: Ana Leonor Pardo Campos Godoy

Orientadora: Profa. Dra. Vera Lucia Lanchote

Ribeirão Preto

-2009-

FICHA CATALOGRÁFICA

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Godoy, Ana Leonor Prado Campos Godoy

Influência do diabetes experimental na disposição cinética e no metabolismo estereosseletivos do tramadol em ratos. Ribeirão Preto, 2009.

p. : il. ; 30 cm

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP

Orientadora: Lanchote, Vera Lucia.

1. Tramadol 2. Enantiômeros 3. Farmacocinética 4. Metabolismo 5. Diabetes

FOLHA DE APROVAÇÃO

Ana Leonor Pardo Campos Godoy

Influência do diabetes experimental na disposição cinética e no metabolismo estereosseletivos
do tramadol em ratos

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia da Faculdade
de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Toxicologia

Área de concentração: Toxicologia

Orientadora: Vera Lucia Lanchote

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

RESUMO

GODOY, A.L.P.C. **Influência do diabetes experimental na disposição cinética e no metabolismo estereosseletivos do tramadol em ratos.** Tese Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

O *trans*-tramadol (*trans*-T), é um analgésico de ação central disponível na clínica como mistura racêmica dos enantiômeros (+)-*trans*-T e (-)-*trans*-T. O *trans*-T é biotransformado pelo CYP2D ao metabólito ativo O-desmetiltramadol (M1) e pelo CYP2B e CYP3A ao metabólito inativo N-desmetiltramadol (M2). O estudo investiga a influência do diabetes experimental na disposição cinética e no metabolismo dos enantiômeros do *trans*-T e seus metabólitos em animais tratados ou não com insulina e/ou quinidina. Os ratos machos Wistar foram divididos nos grupos controle, quinidina (dose única de quinidina i.p. 80mg/Kg 4 h antes do *trans*-T), diabético (dose única de estreptozotocina i.v. 45 mg/kg), diabético insulina (insulina NPH 2 UI/dia durante 12 dias), diabético quinidina e diabético insulina quinidina. Os animais (n=6/tempo de coleta) receberam dose única oral (gavagem) de 20 mg/kg de rac-*trans*-T e as coletas seriadas de sangue foram realizadas até 12 h após a administração. As concentrações plasmáticas dos enantiômeros do *trans*-T, M1 and M2 foram determinadas por LC-MS-MS usando a coluna de fase quiral Chiralpak® AD. Os parâmetros farmacocinéticos foram calculados com auxílio do programa WinNonlin 4.1. e expressos como mediana. A disposição cinética do *trans*-T é enantiosseletiva no grupo controle com acúmulo plasmático do (+)-*trans*-T (AUC 527,88 vs 116,38 ng.h/mL) e do (+)-M2 (AUC 1210,90 vs 225,34 ng.h/mL); teste de Wilcoxon com $p < 0,05$. A administração de quinidina mostra perda da enantiosseletividade na disposição cinética do *trans*-T e acúmulo plasmático do (-)-M1 (AUC 957,61 vs 1672,70 ng.h/mL) e do (+)-M2 (AUC 4732,40 vs 1582,80 ng.h/mL). A comparação entre os grupos controle e quinidina permite observar que o tratamento com quinidina resulta em acúmulo plasmático do (-)-*trans*-T (AUC 828,44 vs 116,38 ng.h/mL), (+)-*trans*-T (AUC 2243,10 vs 527,88 ng.h/mL), (-)-M2 (AUC 1582,80 vs 225,34 ng.h/mL) e (+)-M2 (AUC 4732,40 vs 1210,90 ng.h/mL). Os animais com diabetes induzido por estreptozotocina quando comparados ao grupo controle mostram inibição (teste Kruskal-Wallis, $p < 0,05$) do metabolismo do (+)-*trans*-T (AUC 527,88 vs 2617,80 ng.h/mL), (-)-*trans*-T (AUC 116,38 vs 1081,70 ng.h/mL) e do (-)-M1 (918,52 vs 2723,90 ng.h/mL). O tratamento com insulina durante 12 dias reverte a inibição preferencial no metabolismo do (-)-*trans*-T causada pelo diabetes experimental. Os valores de AUC do (-)-*trans*-T no grupo diabetes insulina (195,42 ng.h/mL) são próximos aos valores reportados para o grupo controle (116,38 ng.h/mL) e menores do que aqueles reportados para o grupo diabético (1081,70 ng.h/mL). Em relação ao (+)-*trans*-T pode-se observar tendência de redução nas concentrações plasmáticas no grupo de animais diabéticos tratados com insulina (AUC 1460,10 ng.h/mL) em relação ao grupo diabético (AUC 2617,80 ng.h/mL). Concluindo, os animais com diabetes induzido por estreptozotocina mostram inibição preferencial do metabolismo do (-)-*trans*-T, a qual é revertida pelo tratamento com insulina durante 12 dias. O tratamento com quinidina resulta em acúmulo plasmático do (-)-*trans*-T, (+)-*trans*-T, (-)-M2 e (+)-M2. Ressalta-se, no entanto que nos animais com diabetes induzido por estreptozotocina tratados ou não com insulina a quinidina não altera a disposição cinética de ambos os enantiômeros do *trans*-T.

Abstract

GODOY, A.L.P.C. **Influence of experimental diabetes on the kinetic disposition and stereoselective metabolism of tramadol in rats.** 2009. 116 f. Doctoral thesis. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

Trans-tramadol (*trans*-T) is a central action analgesic, which is available in clinical practice as a racemic mixture of the (+)-*trans*-T and (-)-*trans*-T enantiomers. *Trans*-T is biotransformed by CYP2D to the active metabolite O-desmethyltramadol (M1) and by CYP2B and CYP3A to the inactive metabolite N-desmethyltramadol (M2). This study investigates the influence of experimental diabetes on the kinetic disposition and metabolism of the enantiomers of *trans*-T and its metabolites in animals treated or not with insulin and/or quinidine. Male Wistar rats were divided into the following groups: control, quinidine (single i.p. dose of 80 mg/kg quinidine administered 4 h before *trans*-T), diabetic (single i.v. dose of 45 mg/kg streptozotocin), insulin diabetic (2 IU/day NPH insulin for 12 days), quinidine diabetic, and insulin+quinidine diabetic. The animals (n=6 per sampling time) received a single oral (gavage) dose of 20 mg/kg racemic *trans*-T and serial blood samples were collected up to 12 h after administration of the drug. Plasma concentrations of the *trans*-T, M1 and M2 enantiomers were determined by LC-MS/MS using a Chiralpak® AD chiral column. The pharmacokinetic parameters were calculated using the WinNonlin 4.1 program and are expressed as median. The kinetic disposition of *trans*-T was enantioselective in the control group, with the plasma accumulation of (+)-*trans*-T (AUC 527.88 vs 116.38 ng.h/mL) and (+)-M2 (AUC 1210.90 vs 225.34 ng.h/mL) (Wilcoxon test, p<0.05). The administration of quinidine resulted in the loss of enantioselectivity in the kinetic disposition of *trans*-T and in the plasma accumulation of (-)-M1 (AUC 957.61 vs 1672.70 ng.h/mL) and (+)-M2 (AUC 4732.40 vs 1582.80 ng.h/mL). Comparison between the control and quinidine groups showed that treatment with quinidine resulted in the plasma accumulation of (-)-*trans*-T (AUC 828.44 vs 116.38 ng.h/mL), (+)-*trans*-T (AUC 2243.10 vs 527.88 ng.h/mL), (-)-M2 (AUC 1582.80 vs 225.34 ng.h/mL), and (+)-M2 (AUC 4732.40 vs 1210.90 ng.h/mL). Inhibition of the metabolism of (+)-*trans*-T (AUC 527.88 vs 2617.80 ng.h/mL), (-)-*trans*-T (AUC 116.38 vs 1081.70 ng.h/mL), and (-)-M1 (918.52 vs 2723.90 ng.h/mL) was observed in animals with streptozotocin-induced diabetes when compared to the control group (Kruskal-Wallis test, p<0.05). Treatment with insulin for 12 days reversed the preferential inhibition of the metabolism of (-)-*trans*-T caused by experimental diabetes. The AUC value of (-)-*trans*-T obtained for the insulin diabetic group (195.42 ng.h/mL) was close to that found for the control group (116.38 ng.h/mL) and lower than that observed for the diabetic group (1081.70 ng.h/mL). Plasma concentrations of (+)-*trans*-T tended to be lower in the group of diabetic animals treated with insulin (AUC 1460.10 ng.h/mL) compared to the diabetic group (AUC 2617.80 ng.h/mL). In conclusion, preferential inhibition of the metabolism of (-)-*trans*-T is observed in animals with streptozotocin-induced diabetes, which is reversed by insulin treatment for 12 days. Treatment with quinidine results in the plasma accumulation of (-)-*trans*-T, (+)-*trans*-T, (-)-M2, and (+)-M2. However, quinidine does not alter the kinetic disposition of either *trans*-T enantiomer in animals with streptozotocin-induced diabetes treated or not with insulin.

Keywords: Tramadol, Enantiomers, Pharmacokinetic, Metabolism and Diabetes

trans-T

M1

Introdução

M2

O diabetes mellitus (DM), um problema de saúde pública que atinge cerca de 8% da população mundial, é uma síndrome metabólica resultante da incapacidade de produção e/ou absorção da insulina, gerando um estado de hiperglicemia crônica. As complicações geradas pela elevada concentração de glicose no sangue durante longo prazo podem ser descritas principalmente como retinopatia, nefropatia e neuropatia periférica (Sociedade Brasileira sobre Diabetes, 2003-2008; American Diabetes Association, 2008).

A dor neuropática é definida como a dor iniciada ou causada por uma lesão primária ou uma disfunção do sistema nervoso. A neuropatia periférica é uma complicação tardia que acomete aproximadamente 66% dos pacientes com DM tipo 1 e 59% dos pacientes com DM tipo 2. A prevalência da dor neuropática diabética aumenta em função da idade, do tempo de diagnóstico da doença e do grau da hiperglicemia (ADRIAENSEN et al., 2005; SADOSKY et al., 2008).

O controle da dor neuropática diabética consiste na maximização do controle da glicemia e no tratamento farmacológico para o alívio da dor. Os estudos controlados por placebo mostram que antiepilépticos, antidepressivos e opióides tais como o *trans*-tramadol (*trans*-T) são efetivos no alívio da dor neuropática (ADRIAENSEN et al., 2005; CHONG & HESTER, 2007; REEVES & BURKE, 2008).

O *trans*-T é um analgésico de ação central, disponível na clínica como a mistura racêmica do (+)-*trans*-T e do (-)-*trans*-T. Ambos os isômeros (+)-*trans*-T e (-)-*trans*-T contribuem para a atividade analgésica, sendo que o (+)-*trans*-T e o metabólito (+)-O-desmetiltramadol são agonistas μ -opióide, o (+)-*trans*-T é também um inibidor da recaptação de serotonina, enquanto o (-)-*trans*-T é um inibidor da recaptação de norepinefrina (DRIESSEN et al., 1993; FRINK et al., 1996).

O controle da variabilidade interindividual na resposta aos fármacos disponíveis na clínica representa na atualidade um dos maiores desafios da Farmacologia Clínica. Ressalta-se, no entanto, que a influência de doenças, tais como o DM no metabolismo de fármacos quirais, ainda permanece como um tópico de investigação restrito a poucos grupos de pesquisa, embora o metabolismo seja o processo de maior contribuição na expressão da enantioseletividade na farmacocinética (TUCKER et al., 1990; BERNAREGGI, 1995; KROEMER et al., 1996).

O presente estudo apóia-se em relatos de que o DM pode alterar de maneira diferenciada a atividade de isoformas do CYP (SHAW, 2001). O DM experimental induzido em

ratos tende a suprimir a expressão do CYP1A2, CYP2C11, CYP2C13 e CYP3A2 e a induzir a expressão do CYP2A1, CYP2B1, CYP2C12, CYP4A1 e CYP2E1 (IBER et al., 2001; SCHENKMAN, 1991; SHIMOJO, 1993).

Assim, este estudo avalia a influência do diabetes experimental na disposição cinética e no metabolismo enantiosseletivos do *trans*-T em ratos Wistar. O estudo ainda reporta a investigação de animais com diabetes experimental tratados com insulina e/ou quinidina, com o objetivo de abranger outras possíveis condições observadas na clínica, como o controle da glicemia e a população de pacientes diabéticos metabolizadores lentos do CYP2D6.

O Capítulo 1 relata o desenvolvimento e a validação do método de análise sequencial dos enantiômeros do *trans*-T e seus metabólitos O-desmetiltramadol (M1) e N-desmetiltramadol (M2) em plasma de ratos, utilizando a coluna quiral Chiralpak® AD acoplada ao sistema LC-MS/MS. O método enantiosseletivo apresenta seletividade e sensibilidade compatíveis com a aplicação em estudo de farmacocinética de dose única.

O Capítulo 2 discute a influência da quinidina (inibidor do CYP2D) na disposição cinética e no metabolismo enantiosseletivos do *trans*-T em ratos não diabéticos. Os resultados sugerem que a quinidina é um inibidor preponderante da formação e eliminação do (+)-M1, o enantiômero com atividade agonista μ -opióide.

O Capítulo 3 avalia a influência do diabetes experimental na disposição cinética e no metabolismo enantiosseletivos do *trans*-T em ratos Wistar tratados e não tratados com insulina e/ou quinidina. Os resultados sugerem que o diabetes experimental inibe o metabolismo de ambos os enantiômeros do *trans*-T, mas em maior extensão o do (-)-*trans*-T. No entanto, a insulina é capaz de reverter a inibição do metabolismo do (-)-*trans*-T, enquanto a quinidina não altera a farmacocinética de ambos enantiômeros do *trans*-T em animais com diabetes experimental.

A investigação ressalta a importância do emprego de métodos enantiosseletivos na avaliação de estudos de farmacocinética de medicamentos quirais.

M1

M2

Objetivos

-Desenvolver e validar método de análise sequencial dos enantiômeros do *trans*-T e seus metabólitos M1 e M2 em plasma de ratos com aplicação em estudo de disposição cinética e metabolismo.

-Investigar a influência do inibidor do CYP2D quinidina na disposição cinética e no metabolismo enantiosseletivos do *trans*-T em ratos tratados com dose única oral do fármaco racêmico.

-Investigar a influência do diabetes experimental na disposição cinética e no metabolismo enantiosseletivos do *trans*-T em ratos tratados com dose única oral do fármaco racêmico.

-Investigar a influência da insulina na disposição cinética e no metabolismo enantiosseletivos do *trans*-T em ratos com diabetes experimental.

-Investigar a influência do inibidor do CYP2D quinidina na disposição cinética e no metabolismo enantiosseletivos do *trans*-T em ratos com diabetes experimental tratados ou não com insulina.

Capítulo 1

Análise enantiosseletiva do tramadol, O-desmetiltramadol e N-desmetiltramadol em plasma de ratos empregando LC-MS/MS

RESUMO

O tramadol (*trans*-T) é um analgésico de ação central, disponível na clínica como mistura racêmica dos enantiômeros (+)-*trans*-T e (-)-*trans*-T. O *trans*-T é principalmente metabolizado ao ativo O-desmetiltramadol (M1) e ao inativo N-desmetiltramadol (M2). O presente estudo reporta a análise sequencial e enantiosseletiva do *trans*-T, M1 e M2 em plasma de ratos empregando LC/MS-MS. Os enantiômeros do *trans*-T e seus metabólitos foram resolvidos na coluna de fase quiral Chiralpak® AD com fase móvel constituída por mistura de hexano e etanol (95,5:4,5 v/v) adicionada de 0,1% de dietilamina. As amostras de plasma de ratos (500 µL) foram extraídas em meio básico com éter metil-terc-butilico. A recuperação foi superior a 75% para ambos os enantiômeros do *trans*-T e seus metabólitos. O efeito matriz foi praticamente ausente. Os limites de quantificação foram de 0,5 ng para cada enantiômero/mL do *trans*-T e M1 e 0,1 ng para cada enantiômero/mL do M2. As curvas de calibração mostraram linearidade nos intervalos de concentrações plasmáticas de 0,5-5000 ng para cada enantiômero do *trans*-T e M1/mL e de 0,1-1250 ng para cada enantiômero do M2/mL. O estudo da precisão e exatidão revelou coeficientes de variação menores que 15%. O método desenvolvido e validado foi aplicado na investigação da enantiosseletividade na disposição cinética e no metabolismo do *trans*-T em ratos. Ratos machos Wistar (n=6/tempo de coleta) receberam dose única oral de rac-*trans*-T 20 mg/Kg. As amostras seriadas de sangue foram coletadas até 12 h após a administração do fármaco. A disposição cinética do *trans*-T e M2 mostrou enantiosseletividade no plasma de ratos (AUC (+)/(-) = 4,31 e 5,04, respectivamente). A direção e a extensão da enantiosseletividade na farmacocinética do *trans*-T, M1 e M2 em ratos são comparáveis com os dados reportados em humanos.

1. INTRODUÇÃO

O tramadol (2-[(dimetilamino) metil]-1-(3-metoxifenil) ciclo hexanol), um analgésico de ação central estruturalmente similar a codeína e morfina, consiste de uma mistura racêmica dos isômeros 1R, 2R-(+)-*trans*-tramadol [(+)-*trans*-T] e 1S,2S-(-)-*trans*-tramadol [(-)-*trans*-T], sendo que ambos os isômeros contribuem para a ação analgésica via diferentes mecanismos. A potência analgésica do *trans*-T em relação à morfina é de aproximadamente 10% na administração parenteral. O *trans*-T promove atenuação da dor pós-operatória comparável com a petidina, sendo que sua eficácia analgésica pode ser melhorada através da associação com um analgésico não opióide. O *trans*-T é particularmente indicado para pacientes com risco de complicações na função cardiopulmonar nas situações de cirurgias do tórax ou abdômem superior e quando os analgésicos não opióides são contra-indicados. O *trans*-T é efetivo na atenuação da dor resultante de trauma, parto, cólica renal, cólica biliar, como também na atenuação da dor crônica causada por câncer ou dor neuropática (SACERDOTE P. et al, 2000; SAVOIA, et al, 2000; TAO Q, et al, 2002; GROND & SABLITZKI, 2004).

O *cis*-tramadol em microssomas de fígado humano é metabolizado principalmente por O- e N-desmetilação e por reações de conjugação com o ácido glicurônico ou com sulfonatos. A O-desmetilação do *cis*-tramadol ao metabolito ativo O-desmetiltramadol (M1) é dependente do CYP2D6, enquanto a N-desmetilação com formação do metabólito M2 é dependente do CYP2B6 e CYP3A4 (STAMER et al., 2007). Os principais metabólitos do *trans*-T na investigação de voluntários sadios são o M1, o M2, o N,N-didesmetiltramadol (M3), o N,N,O-tridesmetiltramadol (M4) e o N,O-didesmetiltramadol (M5) (SUBRAHMANYAM et al., 2001); (Figura 1). Em ratos, a O-demetilação do *trans*-T é catalisada pelo CYP2D1 (HUI-CHEN et al., 2003a).

Ambos os isômeros (+)-*trans*-T e (-)-*trans*-T contribuem para a atividade analgésica. O (+)-*trans*-T e o metabólito (+)-M1 são agonistas μ -opióide. O (+)-*trans*-T é um inibidor da recaptação de serotonina, enquanto o (-)-*trans*-T é um inibidor da recaptação de norepinefrina (DRIESSEN et al., 1993; FRINK et al., 1996). As ações sinérgicas e complementares dos dois isômeros aumentam a eficácia analgésica e o perfil de tolerabilidade da mistura racêmica *trans*-T (RAFFA et al., 1993).

O *trans*-T é rapidamente absorvido no trato gastrointestinal de ratos atingindo a concentração plasmática máxima (C_{max}) 0,6 h após a administração oral. A meia-vida de eliminação é de 1,7-1,9 h para ambos os enantiômeros do *trans*-T e de 2,5 -3,8 h para ambos os enantiômeros do metabólito M1 (PARASRAMPURIA et al., 2007). A disposição cinética do

trans-T é enantiosseletiva em ratos tratados com dose única oral de 10-20mg/kg. A razão enantiomérica (+)/(-) da área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo (AUC) varia de 1,82 a 4,1. A enantiosseletividade na farmacocinética do *trans*-T parece ser dependente da eliminação pré-sistêmica (HUI-CHEN et al., 2003b; PARASRAMPURIA et al., 2007). O clearance total aparente do (-)-*trans*-T é maior do que o do (+)-*trans*-T em ratos tratados com o fármaco racêmico por via oral na dose de 10 mg/kg (1030 *versus* 238 mL/kg.min) (HUI-CHEN et al., 2003b). A distribuição do *trans*-T e do metabólito M1 no tecido cerebral de ratos também é enantiosseletiva com relatos de maiores concentrações dos isômeros (+)- *trans*-T e (-)-M1 (HUI-CHEN et al., 2001). No entanto, PARASRAMPURIA et al., (2007) relatam que a disposição cinética do metabólito M1 não é enantiosseletiva para dados de concentração plasmática (HUI-CHEN et al., 2001; HUI-CHEN et al., 2002; HUI-CHEN et al., 2003b; PARASRAMPURIA et al., 2007).

A análise do *trans*-T em plasma é descrita empregando HPLC com diferentes detectores, tais como o ultravioleta, eletroquímico, fluorescência e massas. Muitos desses métodos são enantiosseletivos (CECCATO et al., 1997; CAMPANERO et al., 1999; CECCATO et al., 2000; CAMPANERO et al., 2004; MUSSHOF et al., 2006; MEHVAR et al., 2007; ARDAKANI et al., 2008), outros ainda fazem análise seqüencial do metabólito M1 (CAMPANERO et al., 1999; CECCATO et al., 2000; CAMPANERO et al., 2004; MUSSHOF et al., 2006; MEHVAR et al., 2007; ARDAKANI et al., 2008). Apesar do grande número de métodos enantiosseletivos desenvolvidos e validados, apenas dois mostram aplicações em estudos de farmacocinética na administração oral de *trans*-T a ratos (HUI-CHEN et al., 2003b; PARASRAMPURIA et al., 2007). A análise do *trans*-T e M1 em plasma empregando LC-MS/MS foi até então descrita apenas por PATEL et al. (2009), no entanto os fármacos foram determinados como mistura isomérica. O metabólito M2 ainda não foi determinado em amostras de plasma de ratos. Assim, esta é a primeira vez que se faz a análise sequencial e enantiomérica do *trans*-T, M1 e M2 usando MS-MS como detector. O método foi desenvolvido, validado e aplicado a estudos farmacocinéticos em ratos Wistar machos (n=6/tempo de coleta), tratados com 20 mg/Kg de *trans*-T, por via oral.

Figura 1. Estruturas químicas do *trans*-T e seus metabólitos M1 (O-desmetiltramadol), M2 (N-desmetiltramadol), M3 (N,N-didesmetiltramadol), M4 (O,N,N-tridesmetiltramadol) e M5 (O,N-didesmetiltramadol) (ROUINI, et al., 2008).

Conclusões

1- O método de análise sequencial dos enantiômeros do *trans*-T e dos metabólitos M1 e M2 em plasma de ratos apresenta limites de confiança compatíveis com a aplicação em estudos de farmacocinética de dose única. Os limites de quantificação para cada enantiômero do *trans*-T e do M1 foram de 0,5 ng/mL, enquanto para o M2 foram de 0,1 ng de cada enantiômero/mL de plasma.

2- A administração de dose única de 80 mg/kg de quinidina i.p., 4 h antes da administração oral do *trans*-T, resulta em acúmulo plasmático dos enantiômeros (+)-*trans*-T (AUC 527,88 vs 2243,10 ng.h/mL), (-)-*trans*-T (AUC 116,38 vs 828,44 ng.h/mL), (+)-M2 (AUC 1210,90 vs 4732,40 ng.h/mL), (-)-M2 (AUC 225,34 vs 1582,80 ng.h/mL) e (-)-M1 (AUC 918,52 vs 1672,70 ng.h/mL). A influência da quinidina na farmacocinética do *trans*-T pode ser explicada em função da inibição da formação e da eliminação do metabólito M1 dependente da atividade do CYP2D.

3- O diabetes experimental inibe o metabolismo dos enantiômero (+)-*trans*-T (AUC 527,88 vs 2617,80 ng.h/mL) e (-)-*trans*-T (AUC 116,38 vs 1081,70 ng.h/mL), mas de maneira preponderante o do (-)-*trans*-T. As maiores concentrações plasmáticas do (-)-*trans*-T resultam proporcionalmente em maiores concentrações plasmáticas do (-)-M1. A comparação entre os grupos controle e diabético permite observar que o diabetes experimental inibe o CYP2D envolvido exclusivamente no metabolismo do (+)-*trans*-T, como também o CYP2D e outras isoformas do CYP envolvidas no metabolismo do (-)-*trans*-T.

4- O tratamento com insulina durante 12 dias (2 UI/dia) reverte a inibição no metabolismo do (-)-*trans*-T (1081,70 vs 195,42 ng.h/mL) causada pelo diabetes experimental.

5- A administração de dose única de 80 mg/kg de quinidina i.p., 4 h antes da administração oral do *trans*-T, não altera a disposição cinética de ambos enantiômeros do *trans*-T e do M2 nos animais com diabetes experimental tratados ou não com insulina.

M1

M2

Referências Bibliografias

ADRIAENSEN, H.; PLAGHKI, L.; MATHIEU, C.; JOFFROY, A.; VISSERS, K.; Critical review of oral treatments for diabetic neuropathic pain – clinical outcomes based on efficacy and safety data from placebo – controlled and direct comparative studies. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, v. 21, p. 213-40, 2005.

AI, C.; LI, Y.; WANG, Y.; CHEN, Y.; YANG, L.; Insight into the effects of chiral isomers quinidine and quinine on CYP2D6 inhibition. *Bioorg. & Med. Chem. Letters*, v. 19, p. 803-06, 2009.

AKLILLU, E. PERSSON, I. BERTILSSON, L. JOHANSSON, I., RODRIGUES, F.; ILGELMAN-SUNDBERG, M.; Frequent distribution of ultrarapid metabolizers of debrisoquine in an ethiopian population carrying duplicated and multiduplicated functional CYP2D6 alleles. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 278, p. 441-46, 1996.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, *Diabetes Care*, v.31, p. 55-60, 2008.

ARDAKANI, Y.H., MEVHAR, R., FOROUMADI, A., ROUINI, M.R., Enantioselective determination of tramadol and its main phase I metabolites in human plasma by high-performance liquid chromatography, *J of Chromatography B*, v. 864, p. 109-15, 2008.

ARDAKANI, Y.H., ROUINI, M.R., Improved liquid chromatographic method for the simultaneous determination of tramadol and its three main metabolites in human plasma, urine and saliva, *J. of Pharmaceutical and Biomedical Anal.*, v. xxx, p.1-6, 2007.

BANSAL, V.; KALITA, J.; MISRA, U.K.; Diabetic neuropathy. *Postgrad Med J.* v. 82, p. 95-100, 2006.

BARNETT, C.R.; FLATT, P.R.; IONNIDES, C.; Induction of hepatic microsomal P 450 I and IIB proteins by hyperketonaemias. *Biochem. Pharmacol.*, v.40, p. 393-7, 1990.

BERNAREGGI, A.; Pharmacokinetics of chiral drugs. *Boll. Chim. Farm.*, v.134, p.63-8, 1995.

BERTILSSON, L. Geographical/interracial differences in polymorphic drug oxidation. *Clin. Pharmacokinet.*, v. 29, p. 192-09, 1985.

BORALLI, V.B., COELHO E.B., LANCHOTE, V.L.; Influence of quinidine, cimetidine, and ketoconazole on the enantioselective pharmacokinetics and metabolism of metoprolol en rats. *Chirality*, p.1-8, 2009.

BORBÁS, T.; BENKÓ, B.; DALMADI, B.; SZABÓ, I.; TIHANYI, K.; Insulin in flavin-containing monooxygenase regulation Flavin-containing monooxygenase and

cytochrome P450 activities in experimental diabetes. *Eur. J. Pharmac. Sci.*, v. 28, p. 51-58, 2006.

CAMPANERO, M.A.; CALAHORRA, B.; VALLE, M.; TROCONIZ, I.F.; HONORATO, J.; Enantiomeric Separation of Tramadol and its Active Metabolite in Human Plasma by Chiral High-Performance Liquid Chromatography: Application to Pharmacokinetic Studies, *Chirality*, v. 11, p. 272-79, 1999.

CAMPANERO, M.A.; GARCIA-QUESTGLAS, E; SÁDABA, B; AZANZA, J.R.; Simultaneous stereoselective analysis of tramadol and its primary phase I metabolites in plasma by liquid chromatography. Application to a pharmacokinetic study in humans. *J Chromatogr. A*, v. 1031, p. 219-28, 2004.

CECCATO, A., CHIAP, P.; CROMMEN, H.J. Automated determination of tramadol enantiomers in human plasma using solid-phase extraction in combination with chiral liquid chromatography. *J. of Chromatography B*, v. 698, p.161-70, 1997.

CECCATO, A., VANDERBIST, F., PABST, J-Y, STREEL, B, Enantiomeric determination of tramadol and its main metabolite O-desmethyltramadol in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J of Chromatography B*, v. 748, p. 65-76, 2000.

CELLEK, S.; FOXWELL, N.A., MONCADA, S. Two phases of nitrenergic neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes*, v.52, p. 2353-2362, 2003.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION: NATIONAL DIABETES FACT SHEET. (CDC). 2006. Acesso: Set, 2006. Disponível em <http://www.cdc.gov/diabetes/pubs/general05.htm>.

CENTER FOR CHRONIC DISEASE PREVENTION AND CONTROL: DIABETES IN CANADA. 2nd ed., 2002.

CHOI, Y.H.; LEE, M.G.; LEE, I.; Effects of diabetes mellitus induced by alloxan on the pharmacokinetics of metformin in rats: restoration of pharmacokinetic parameters to the control state by insulin treatment. *J Pharm Pharm Sci.*, v. 11,p. 88-103, 2008.

CHONG, M.S.; HESTER, J.; Diabetic painful neuropathy: current and future treatment options. *Drugs*, v.67, p.569-85, 2007.

CHOW, T.; IMAOKA, S.; HIROI, T.; FUNAE, Y. Developmental changes in the catalytic activity and expression of CYP2D isoforms in the rat liver. *Drug metabol. and Disp.*, v. 27, p.188-92,1999.

CURTICAPEAN, A.; MUNTEAN, D.; CURTICAPEAN, M.; DOGARU, M.; VARI, C.; Optimized HPLC method for tramadol and O-desmethyl tramadol determination in human plasma. *J. Biochem. Biophys. Methods*, v. 70, p. 1304-12, 2008.

DAHL, M.L.; JOHANSSON, I.; BERTLSSON, L. INGELMAN-SUNDBERG, M.; SJÖQVIST, F.; Ultrarapid hydroxylation of debrisoquine in a Swedish population. Analysis of the molecular genetic basis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 274, p.516-20, 1995.

DI MARCO, A.; YAO, D.; LAUFER, R.; Demethylation of radiolabelled dextromethorphan in rat microsomes and intact hepatocytes. *Eur. J. Biochem.*,v. 270, p. 3768-77, 2003.

DRIESSEN, B.; REIMANN, W.; GIERTZ, H.; Effects of the central analgesic tramadol on the uptake and release of noradrenaline and dopamine *in vitro*. *Br. J. Pharmacol.*, v. 108, p. 806-11, 1993.

ERMAMI, J., PASSUTTO, F. M., JAMALI, F.; Effect of experimental diabetes mellitus and arthritis on the pharmacokinetics of hydroxychloroquine enantiomers in rats. *Pharma. Res.*, v. 15, p.897-903, 1998.

EVANS, A.M.; NATION, R.L.; SANSOM, L.N.; BOCHNER, F.; SOMOGYI, A.A.; Stereoselective drug disposition: potential for misinterpretation of drug disposition data. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, v.26, p.771-80, 1988.

FRINK, M.C.; HENNIES, H.H.; ENGLBERGER, W.; HAURAND, M.; WILFFERT, B.; Influence of Tramadol on Neurotransmitter Systems of the Rats Brain. *Arzneim-Forsch/ Drug Res.*,v. 46, p. 1029-36,1996.

GAN, S.H.; ISMAIL, R.; Validation of a high-performance liquid chromatography method for tramadol and o-desmethyiltramadol in human plasma using solid-phase extraction. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.*, v. 759, p. 325-35, 2001.

GARCÍA-QUETGLAS, E.; AZANZA, J.R.; SÁDABA, B.; MUÑOZ, M.J.; GIL, I.; CAMPANERO, M.A.; Pharmacokinetics of tramadol enantiomers and their respective phase I metabolites in relation to CYP2D6 phenotype. *Pharmacol. Research*, v. 55, p. 122-30, 2007.

GARRIDO, M.J.; SAYAR, O.; SEGURA, C.; RAPADO, J.; DIOS-VIÉITEZ, M.C.; RENEDO, M.J.; TROCÓNIZ, I.F.; Pharmacokinetic/Pharmacodynamic modeling of the antinociceptive effects of (+)-tramadol in the rat: Role of cytochrome P450 2D activity. *The J. of Pharmacol. and experimental Therap.* v. 305, p. 710-18, 2003.

GODOY, A.L.P.C., Influência do diabetes experimental na disposição cinética e metabolismo estereosseletivos da mexiletina em ratos. Dissertação de Mestrado, 2006.

GROND, S.; SABLITZKI, A.; Clinical Pharmacology of tramadol, Review Article, *Clin. Pharmacokinet.* v. 43, p. 879-923, 2004.

HANNON-FLETCHER M.P., O'KANE M.J., MOLES K.W., BARNETT Y.A., BARNETT

C.R.; Lymphocyte cytochrome P450-CYP2E1 expression in human IDDM subjects. *Food Chem. Toxicol.*, v. 39, p.125-32, 2001.

HARATI, Y.; GOOCH, C.; SWENSON, M.; EDELMAN, S.; GREENE, D.; RASKIN, P.; DONOFRIO, P.; CORNBATH, D.; SACHDEO, R.; SIU, C.O.; KAMIN, M.; Double-blind randomized trial of tramadol for the treatment of the pain of diabetic neuropathy. *Neurology*, v. 50, p. 1842-46, 1998.

HUI-CHEN, L.; NA, W.; CHANG-SUO, L.; YU-QIN, H.; JIAN-FANG, L.; YAN-NING, H.; Distribution of enantiomers of *trans*-tramadol and *trans*-O-demethyltramadol in central nervous system of rats. *Acta Pharmacol. Sin.*, v. 22, p. 871-75, 2001.

HUI-CHEN, L.; SHU-MIN, J.; YONG-LI, W.; Gender-related differences in pharmacokinetics of enantiomers of *trans*-tramadol and its active metabolite, *trans*-O-demethyltramadol, in rats. *Acta Pharmacol. Sin.*, v. 24, p. 1265-69, 2003b.

HUI-CHEN, L.; WANG, N.; YU, Y.; HOU, Y. N.; Stereoselectivity in *trans*-tramadol metabolism and *trans*-O-demethyltramadol formation in rat liver microsomes. *Acta Pharmacol. Sin.*, v. 24, p. 85-90, 2003a.

HUI-CHEN, L.; ZHANG, X.J.; YANG, Y.Y.; WANG N.; HOU, Y. N.; Stereoselectivity in renal clearance of *trans*-tramadol and its active metabolite, *trans*-O-demethyltramadol. *Acta Pharmacol. Sin.*, v. 23, p. 83-86, 2002.

IBER, R.; LI-MASTERS, T.; CHEN, Q.; YU, S.; MORGAN, E. T. Regulation of hepatic cytochrome P450c11 via c AMP: Implications for down-regulation in diabetes, fasting and inflammation. *J Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 297, p.174-80, 2001.

JENSEN, T.; BACKONJA, M.M.; JIMÉNEZ, S.H.; TESFAYE, S.; VALENSI, P.; ZIEGLER, D.; New perspectives on the management of diabetic peripheral neuropathic pain. *Diabetes Vasc. Dis. Res.*, v.3, p. 108-19, 2006.

JOHANSSON, I.; LUNDQVIST, E.; BERTILSSON, L.; DAHL, M.L.; SJÖQVIST, F.; INGELMAN-SUNDBERG, M. Inherited amplification of an active gene in the cytochrome P450 CYP2D locus as a cause of ultrarapid metabolism of debrisoquine. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 90, p. 11825-29, 1993.

KLOTZ, U.; Tramadol – the Impact of its Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties on the Clinical Management of Pain. *Arzneim Forsch Drug Res*, v. 53, p. 681-687, 2003.

KOO, J.R.; NI, Z.; OVIESI, F.; VAZIRI, N.D. Antioxidant therapy potentiates antihypertensive action of insulin in diabetic rats. *Clin Exp Hypertens*, v. 24, p. 333-44, 2002.

KOO, J.R.; VAZIRI, N.D.; Effects of diabetes, insulin and antioxidants on NO synthase abundance and NO interaction with reactive oxygen species. *Kidney*

Int., v. 63, p. 195-201, 2003.

KRAEMER, T.; PFLUGMANN, T.; BOSSMANN, M.; KNELLER, N.M.; PETERS, F.T.; PAUL, L.D.; SPRINGER, D.; STAACK, R.S.; MAURER, H.H.; Fenproporex N-dealkylation to amphetamine-enantioselective *in vitro* studies in human liver microsomes as well as enantioselective *in vivo* studies in Wistar and Dark Agouti rats. *Bioch. Pharmacol.*, v. 68, p. 947-57, 2004.

KROEMER, H.K.; FROMM, M.F.; EICHELBAUM, M.; Stereoselectivity in drug metabolism and action: effects of enzyme inhibition and induction. *Ther. Drug Monit.*, v.18, p. 388-92, 1996.

LAW, M.Y.L.; SLAWSON, M.H.; MOODY, D.E.; Selective involvement of cytochrome P450 2D subfamily in *in vivo* 4-hydroxylation of amphetamine in rat. *Drug Metabol. Disp.*, v. 28, p. 348-52, 2000.

LINTZ, W.; ERLACIN, S.; FRANKUS, E.; URAGG, H.; Biotransformation of tramadol in man and animal. *Arzneimittelforschung*, v. 31, p. 1932-43, 1981.

MARQUES, M.P.; COELHO, E.B.; SANTOS, N.A.G.; GELEILETE, T.J.M.; LANCHOTE, V.L. Dynamic and kinetic disposition of nisoldipine enantiomers in hypertensive patients presenting with type -2 diabetes mellitus. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, v. 58, p. 607-14, 2002.

MATZKE, G.R.; FRYE, R.F.; EARLY, J.J.; STRAKA, R.J.; CARSON, S.W.; Evaluation of the influence of diabetes mellitus on antipyrine metabolism and CYP1A2 and CYP2D6 activity. *Pharmacotherapy*, v.20, p.182-90, 2000.

MEVHAR, R; ELLIOT, K; PARASRAMPURIA, R; ERADIRI, O; Stereospecific high-performance liquid chromatographic analysis of tramadol and its O-desmethylated (M1) and N,O-demethylated (M5) metabolites in human plasma, *J of Chromatography B*, v. 852, p. 152-59, 2007.

MUSSHOFF, F.; MADEA, B.; STUBER, F.; STAMER, U.M.; Enantiomeric determination of tramadol and O-desmethyltramadol by liquid chromatography-mass spectrometry and application to postoperative patients receiving tramadol. *J. of Anal. Toxicology*, v. 30, p. 463-67, 2006.

NATION, R.L.; Chirality in new drug development. Clinical pharmacokinetic considerations. *Clin. Pharmacokinet.*, v.27, p.249-55, 1994.

NEGRE-SALVAYRE, A.; SALVAYRE, R.; AUGÉ, N.; PAMPLONA, R.; PORTERO-OTÍN, M.; Hyperglycemia and glycation in diabetes complications. [Epub ahead of print], 2009.

NIWA, T.; SHIRAGA, T.; MITANI, Y.; TERAOKAWA, M.; TOKUMA, Y; KAGAYAMA, A; Stereoselective metabolism of cibenzoline, an antiarrhythmic drug, by human and rat liver microsomes: Possible involvement of CYP2D and CYP3A. *Drug*

metabol. and Dispositon, v. 28, p. 1128-34, 2000.

PAAR, W.D.; FRANKUS, P.; DENGLER, H.J.; The metabolism of tramadol by human liver microsomes. *Clin Investig.*, v.70, p. 708-10, 1992.

PARASRAMPURIA, R.; VUPPUGALLA, R.; ELLIOTT, K.; MEHVAR, R.; Route-Dependent Stereoselective Pharmacokinetics of Tramadol and Its Active O-Demethylated Metabolite in Rats. *Chirality*, v. 19, p. 190-96, 2007.

PATEL, B.N.; SHARMA, N.; SANYAL, M.; SHRIVASTAV, P.S., An accurate, rapid and sensitive determination of tramadol and its active metabolite O-desmethyltramadol in human plasma by LC-MS/MS. *J. of Pharmac. and Biomed. Analysis*, v. 49, p. 354-66, 2009.

PEDERSEN, R.S.; DAMKIER, P.; BROSEN, K.; Enantioselective pharmacokinetics of tramadol in CYP2D6 extensive and poor metabolizers. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, v. 67, p.513-21, 2006.

POGGI, J.C., BARISSA, G.R., DONADI, E.A., LANCHOTE, V.L., REIS, M.L.; Enantioselective kinetic disposition of fenoprofen in rats with experimental diabetes or adjuvant-induced arthritis. *Pharmacology*, v. 72, p. 85-91, 2004.

PRESTON, R.A. & EPSTEIN, M.; Effects of diabetes on cardiovascular drug metabolism. *Diabetes Care*, v. 22, p. 982-88, 1999.

PRESTON, R.A.; CHUNG, M.; GAFFNEY, M.; ALONSO, A.; BALDODANO, N.M.; EPSTEIN, M. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of amlodipine in hypertensive patients with or without type II diabetes mellitus. *J. Clin. Pharmacol.*, v.41, p.1215-24, 2001.

QUETGLAS, E.G.; AZANZA, J.R.; CARDENAS, E.; SÁDABA, B.; CAMPANERO, M.A.; Stereoselective pharmacokinetic analysis of tramadol and its main phase I metabolites in healthy subjects after intravenous and oral administration of racemic tramadol. *Biopharm. Drug Dispos.*, v. 28, p. 19-33, 2007.

RAFFA RB & STONE DJ. Unexceptional seizure potential of tramadol and its enantiomers or metabolites in mice. *J Pharmacol Exp Ther*, v.325, p. 500-06, 2008.
RAFFA, R. B.; FRIDERICH, E.; REIMANN, W.; SHANK, R.P.; CODD, E.E.; VAUGHT, J.L.; JACOB, H.I.; SELVE, N.; Complementary and Synergistic Antinoceptive Interaction between the Enantiomers of Tramadol. *J.of Pharmacol. And Exp. Therap.*, v.267, p. 331-40,1993.

REEVES, R.R.; BURKE, R.S.; Tramadol: Basic Pharmacology and emerging Concepts, *Drugs of Today*, v. 44, p. 827-36, 2008.

ROCHA, A.; COELHO, E.B.; LANCHOTE, V.L.; Influence of quinidine, fluvoxamine, and ketoconazole on the enantioselective pharmacokinetics of citalopram in

rats., *J. Physiol. Pharmacol.*, v. 86, p. 770-76, 2008.

ROCHA, A.; COELHO, E.B.; LANCHOTE, V.L.; Stereospecific disposition of fluvastatin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Can. J. Pharmacology*, v. 80, p. 1071-75, 2002.

ROUINI, M.R.; GHAZI-KHANSARI, M.; ARDAKANI, Y.H.; DASIAN, Z.; LAVASANI, H.; A disposition kinetic study of tramadol in rat perfused liver, *Biopharm. Drug Dispos.*, v. 29, p. 231-35, 2008.

SACERDOTE P.; BIANCHI, M.; GASPANI, L.; MANFREDI, B.; MAUCIONE, A.; TERNO, G.; AMMATUNA, M.; PANERAI, A. E.; The Effects of Tramadol and Morphine on Immune Responses and Pain After Surgery in Cancer Patients. *Anesth. Analg.*, v. 90, p. 1411-14, 2000.

SADOSKY, A., Mc DERMOTT, M.A., BRANDENBURG, N.A., STRAUSS, M.; A Review of the Epidemiology of Painful Diabetic Peripheral Neuropathy. *Postherpetic Neuralgia, and Less Commonly Studied Neuropathic Pain Conditions*, v.8, p. 45-56, 2008.

SAVOIA, G.; LORETO, M.; SCIBELLI, G.; Systemic review of trials on the use of tramadol in the treatment of acute and chronic pain. *Minerva Anesthesiol*, v. 10, p. 713-31, 2000.

SCHENKMAN, J.B.; Induction of diabetes and evolution of diabetic state on P450 expression. *Methods Enzymol*, v. 206, p.325-33, 1991.

SHAW, M.A.; News insights into drugs metabolism and toxicology. Report of a symposium on drug metabolism and toxicity held at the British Pharmacological Society Meeting in Cardiff, UK, in July 2000. *Br J Clin Pharmacol*, v.51, p.209-12, 2001.

SHIMOJO, N., ISHIZAKI, T.; IMAOKA, S.; FUNAE, Y.; FUJII, S.; OKUDA, K. Changes in amounts of cytochrome P 450 isozymes and levels of catalytic activities in hepatic and renal microsomes of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Biochem. Pharmacol.*, v.46, p. 621-27, 1993.

SHIMOJO, N.; Cytochrome P 450 changes in rats with streptozotocin - induced diabetes. *Int. J. Biochem.*, v.26 p. 1261-68, 1994.

SIDHU J.S., OMIECINSKI C.J.; Insulin-mediated modulation of cytochrome P450 gene induction profiles in primary rat hepatocyte cultures. *J Biochem Mol Toxicol.*, v.13, p.1-9, 1999.

SINDHU, R.K.; KOO, J.R.; ROBERTS, C.K.; VAZIRI, N.D.; Dysregulation of hepatic superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in diabetes: response to insulin and antioxidant therapies. *Clin Exp Hypertens.*, v. 26, p. 43-53, 2004.

SINDHU, R.K.; KOO, J.R.; SINDHU, K.K.; EHDAIE, A.; FARMAND, F.; ROBERTS, C.K. Differential regulation of hepatic cytochrome P450 monooxygenases in streptozotocin-induced diabetic rats. *Free Radic Res.*, v. 40, p. 921-28, 2006.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, www.sbd.com.br, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Consenso Brasileiro sobre Diabetes. Diagnóstico e classificação do diabetes mellitus e tratamento do diabetes mellitus tipo 2, Rio de Janeiro: Diagraphic, p.72, 2003.

SOETEBEER, U.B.; SCHIERENBERG, M.O.; SCHULZ, H.; ANDRESEN, P.; BLASCHAKE, G.; Direct chiral assay of tramadol and detection of the phase II metabolite O-desmethyl tramadol glucuronide in human urine using capillary electrophoresis with laser-induced native fluorescence detection. *J. of Chrom.*, v. 765, p. 3-13, 2001.

SRIVASTA, L.M.; BORA, O.S.; BHATT, S.D.; Diabetogenic action of streptozotocin. *Trends Pharmacol. Sci.*, v. 3, p. 376-78, 1982.

STAMER, U. M.; MUSSHOFF, F.; KOBILAY, M.; MADEA, B.; HOEFT, A.; STUBER, F. Concentrations of Tramadol and O-desmethyltramadol Enantiomers in Different CYP2D6 Genotypes. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, v. 82, p. 41-47, 2007.

SURAHMANIAM, V.; RENWICK, A.B.; WALTERS, D.G.; YOUNG, P.J.; PRICE, R.J.; TONELLI, A.P.; LAKE, B.G. Identification of cytochrome P-450 isoforms responsible for *cis*-tramadol metabolism in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos*, v. 29, p. 1146-55, 2001.

SWEETMAN, S.C.; BLAKE, P.S.; McGLASHAN, J.M.; PARSONS, A.V. Martindale. The complete drug reference. London, Pharmaceutical Press, 33 ed., p. 932-2, 2002.

TAO, Q.; STONE, D.J.; BORENSTEIN, M.R.; CODD, E.E.; COOGANT, T.P.; DESAI-KRIEGER, D.; LIAO, S.; RAFFA, R.B.; Differential tramadol and O-desmethyl metabolite levels in brain vs plasma of mice and rats administered tramadol hydrochloride orally. *J. Clin. Pharm. Ther.* v. 27, p. 99-106, 2002.

TUCKER, G.T.; LENNARD, M.S. Enantiomer specific pharmacokinetics. *Pharmacol. Ther.*, v.45, p.309-29, 1990.

WANG N., LIU H.C., LIU C.S., HOU Y.N., Stereoselectivity in O-demethylation of *trans* tramadol in rat liver microsomes in vitro. *Yao Xue Bao*, v. 37, p. 169-74, 2002.

WILD, S.; ROGLIC, G.; GREEN A.; SICREE R.; KING H. Global Prevalence of Diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, v. 27, p.1047-53, 2004.

WOODCROFT, K. J.; NOVAK, R. F. Insulin differentially affects xenobiotic-enhanced, cytochrome p-450 (CYP) 2E1, CYP3A, and CYP4A expression in primary cultured rat hepatocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 289, p. 1121-27, 1999.

WRIGHT, M.R & JAMALI, F. Methods for the analysis of enantiomers of racemic drugs application to pharmacological and pharmacokinetics studies. *J. of Pharm. Toxic. Meth.*, v. 29, n. 1, p. 1-9, 1993.

XIAOTAO, Q.; HALL, S.D. Enantioselective effects of experimental diabetes mellitus on the metabolism of ibuprofen. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 274, p. 1192-98, 1995.

ZYSSET, T. & SOMMER, L., Diabetes alters drug metabolism - *in vivo* studies in a streptozotocin-diabetic rat model. *Experientia*, v.42, p.560-62, 1986.