UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Influência da inalação de metanol na farmacocinética
enantiosseletiva da fluvastatina em ratos

Juciane Lauren Cavalcanti Cardoso

Ribeirão Preto
2008

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Influência da inalação de metanol na farmacocinética
enantiosseletiva da fluvastatina em ratos

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Toxicologia
para obtenção do Título de Mestre em
Toxicologia.

Área de Concentração: Toxicologia

Orientada: Juciane Lauren Cavalcanti Cardoso

Orientador: Prof. Dr. José Salvador Lepera

Juciane Lauren Cavalcanti Cardoso

Ribeirão Preto
2008

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.

Cardoso, Juciane Lauren Cavalcanti
Influência da inalação de metanol na farmacocinética
enantiosseletiva da fluvastatina em ratos. Ribeirão Preto, 2008.
61 p.: il.; 30cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Ciências
Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração:
Toxicologia.

Orientador: Lepera, José Salvador.

1. Fluvastatina. 2. Metanol. 3. Enantiômeros. 4. Farmacocinética

Nome do aluno: Juciane Lauren Cavalcanti Cardoso

Título do trabalho: Influência da inalação de metanol na farmacocinética enantiosseletiva da fluvastatina em ratos.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia para obtenção do Título de Mestre em Toxicologia.

Área de Concentração: Toxicologia

Orientador: Prof. Dr. José Salvador Lepera

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr.

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr.

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr.

Instituição: _____

Assinatura: _____

Dedicatória

Dedico este trabalho:

Primeiramente a Deus, por me conceber a essência da vida;

Dedico essa conquista aos meus pais, Wanda e Benê, e a minha avó

Zoraide, pela educação, dedicação, apoio e carinho;

Dedico ao André, pelo seu amor e carinho;

Aos meus verdadeiros amigos.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Salvador Lepera, pela orientação, amizade, paciência e ensinamentos.

Ao Marcel, pela ajuda, ensinamentos e sua amizade.

A minha grande amiga Fernanda, pela ajuda, amizade, apoio e carinho.

Aos amigos de laboratório Adriana, Ana Leonor, Bruno, Carolina, Flávia, Natália, Renata, Teresa e Vanessa pela amizade e convivência.

Aos funcionários do laboratório de Toxicologia da FCFRP-USP, Maria Paula e Natalino, pela amizade e pelos valiosos ensinamentos.

Aos funcionários do laboratório de Toxicologia da FCFAR-UNESP, Bete, Valéria e Maria pela grande ajuda no experimento.

Aos colegas da pós graduação, professores e funcionários da FCFRP-USP.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

RESUMO

A fluvastatina (FV), um inibidor da HMG-CoA redutase, é comercializada como mistura racêmica dos enantiômeros (-)-3S,5R e (+)-3R,5S e com eliminação no homem essencialmente dependente do CYP2C9. O metanol, amplamente usado é um inibidor do CYP2C9. Diante do exposto, o estudo visou avaliar a influência do metanol na farmacocinética enantiosseletiva da fluvastatina. Foram investigados ratos machos Wistar tratados com dose única de 5 mg/kg de fluvastatina racêmica. Os animais foram divididos em três grupos: controle e expostos a metanol em concentração de 262 mg/m³ e 1048 mg/m³. Os enantiômeros da FV foram analisados em HPLC e detecção por fluorescência. A análise farmacocinética foi realizada por modelo bicompartimental. A farmacocinética da fluvastatina é enantiosseletiva em ratos do grupo controle e do grupo metanol 262 mg/m³ com acúmulo plasmático do enantiômero (-)-3S,5R. A disposição cinética da FV para os animais do grupo metanol 1048 mg/m³ não é enantiosseletiva. A perda da enantiosseletividade na farmacocinética da FV no grupo de animais expostos ao metanol 1048 mg/m³ pode ser traduzida por influência seletiva do metanol na disposição cinética do eutômero (+)-3R,5S-FV. Em resumo, os dados evidenciam que a exposição ao metanol 1048 mg/m³ resulta em perda da enantiosseletividade com inibição do metabolismo somente do eutômero (+)-3R,5S.

Palavra chave: fluvastatina, enantiômeros, farmacocinética, metanol e exposição ocupacional.

INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a incidência da hipercolesterolemia é bastante elevada, sendo que níveis altos de colesterol desempenham um papel crucial no desenvolvimento da placa aterosclerótica e, em particular, na manifestação da doença arterial coronariana (ERTUK et al., 2003). Há estudos que indicam que as estatinas desempenham papel importante na redução dos níveis de colesterol e na prevenção e no controle da aterosclerose (BALLANTYNE et al., 2001; ERTUK et al., 2003; JORGE et al., 2005).

A fluvastatina (FV) é um inibidor reversível, competitivo e altamente específico da enzima microssomal HMG-CoA, (3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase), a qual converte HMG-CoA a mevalonato, constituindo a etapa limitante na biossíntese do colesterol (PIETRO et al., 2006 ; SCHMIDT & KOHLER, 2005; LANCHOTE et al, 2001).

A FV apresenta configuração éritro e constitui uma mistura racêmica de dois dos quatro possíveis estereoisômeros, o (+)-3R,5S-FV e o (-)-3S,5R-FV (KATHAWALA, 1991; KIRCHHEINER, 2003), e vários estudos indicam que a atividade é maior para o enantiômero (+)-3R,5S-FV (KIM et al., 2006; SCRIPTURE & PIEPER, 2001; KATHAWALA, 1991).

O fármaco é rapidamente absorvido no trato gastrointestinal (98%), e as concentrações plasmáticas máximas são observadas em 0,5 a 1,5 h em consequência da alta solubilidade no fluido gastrointestinal (RAWITHI et al, 2003; SICA & GEHR, 2002; DESAGER & HORSMAN, 1996; TRANSON et al., 1995) A FV apresenta ligação às proteínas plasmáticas maior que 98%, em especial à albumina em plasma de ratos, cães e do homem, e apresenta baixo volume aparente de distribuição (PIETRO et al., 2006; TRANSON et al.,1995), sendo que as maiores concentrações encontram-se distribuídas no fígado, rins, coração e adrenais (TSE et al., 1990).

A FV é eliminada principalmente por metabolismo hepático. No homem, a FV é biotransformada a 5-hidroxi, 6-hidroxi e N-desisopropil-FV pelo CYP2C9. Estudos *in vitro* mostram que 50-80% do clearance metabólico da FV é dependente do CYP2C9. Na formação do metabólito 5-hidroxilado

também participam o CYP2C8, CYP2D6 e CYP3A4. Interações farmacocinéticas de relevância clínica têm sido descritas em humanos com inibidores do CYP2C9, como por exemplo, o fluconazol (KIRCHHEINER et al., 2003).

A eliminação da FV é de cerca de 8% na urina e de 92% nas fezes, em ratos, camundongos, cães e macacos. O *clearance* aparente (CL/F) em cães e coelhos é de $0,3 \text{ L h}^{-1} \text{ Kg}^{-1}$, no homem é de $0,5 \text{ L h}^{-1} \text{ Kg}^{-1}$, e em camundongos e macacos é de $2 \text{ L h}^{-1} \text{ Kg}^{-1}$, expressando essencialmente a eliminação através da biotransformação (TSE & LABBADIA, 1992; TSE et al., 1990).

O metanol, o dimetilsulfóxido e a acetonitrila, quando excedem a concentração de 1% (v/v) são inibidores ou indutores do metabolismo mediado pelo CYP em humanos, de diversos substratos. Na concentração de 2%, o metanol inibe a atividade do CYP2C9 e do CYP2E1 em hepatócitos humanos, sendo que a literatura relata que a inibição dessas enzimas pelo metanol é dose-dependente (EASTERBROOK et al., 2000).

O metanol reconhecidamente causa neuropatia óptica, acidose metabólica e depressão respiratória em doses elevadas. Baseado no conhecimento disponível sobre a exposição humana e em experimentos com modelos animais, o Comitê da ACGIH propõe como limites de exposição ocupacional os valores de 200 ppm (262 mg/m^3) para a média ponderada pelo tempo (TLV-TWA), mantido desde 1946, e 250 ppm (328 mg/m^3) para as exposições de curta duração (TLV-STEL), proposto a partir de 1976. Tais limites são propostos para prevenir a cefaléia, que pode manifestar-se de forma grave e recorrente nos trabalhadores expostos, bem como prover uma margem de segurança adequada contra a diminuição da visão (ACGIH, 2001).

Embora estejam descritos na literatura vários estudos sobre os efeitos tóxicos do metanol em humanos e em animais de experimentação, pouco se sabe sobre os seus efeitos na atividade do CYP e, conseqüentemente, no metabolismo de medicamentos quirais dependente desse sistema enzimático. Considerando que 50 a 80% do *clearance* metabólico da FV em humanos é dependente do CYP2C9 e que o metanol é um inibidor potencial do CYP2C9 em humanos, o presente estudo visa analisar a influência da inalação de metanol na farmacocinética enantiosseletiva da FV administrada sob forma racêmica a ratos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética de Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP Protocolo-CEP/FCF/CAr n 15/2006).

Foram utilizados ratos machos, Wistar, de 250 ± 10 g, provenientes do Biotério Central do Campus de Botucatu da Universidade Estadual Paulista. Antes dos experimentos, os animais permaneceram durante 3 dias no Biotério da Disciplina de Toxicologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara -UNESP para adaptação, com livre acesso a ração e água. Os animais foram divididos em três grupos, sendo um controle e dois grupos expostos ao metanol (262 mg/m^3 , 1048 mg/m^3).

Grupo controle

Os animais foram expostos ao ar na câmara de exposição, durante 4 períodos de 6 horas com intervalos de 2 horas, durante os quais tiveram livre acesso à ração e água. Os animais foram colocados na câmara de exposição, em jejum de 15 h, imediatamente após a administração por via oral (gavagem) de [R,S-(E)]-(±)-fluvastatina sódica (Lescol[®], Novartis) dissolvida em água na dose de 5 mg/kg. Os animais foram mantidos na câmara de exposição durante as coletas de sangue nos tempos 5, 15, 30; 45 e 60 min e 1,5; 2; 4; 6; 8; 10; 15; 18; 20; 24 e 30 horas. A heparina (Liquemine[®] 5000 UI, Roche) foi empregada como anticoagulante. De cada animal, foram coletadas duas amostras em diferentes tempos (n=6 para cada tempo) através da excisão de cerca de 0,3 mm da porção distal da cauda, após vasodilatação por aquecimento localizado a 42°C. Os plasmas obtidos após a centrifugação, foram armazenados a -20 °C e sob a proteção da luz até a análise.

Grupo metanol

Os animais em jejum de 15 h, receberam por via oral (gavagem) [R,S-(E)]-(±)-fluvastatina sódica (Lescol[®], Novartis) dissolvida em água na dose de 5 mg/kg. A seguir, foram imediatamente colocados na câmara de exposição, por

períodos consecutivos de 6 horas seguidos de intervalos de 2 horas, durante todo o período de coleta das amostras de sangue (0-30 horas), expostos ao metanol (99,8%, Merck, Darmstadt, Alemanha) apenas pelo nariz (NOES). Os animais foram expostos ao solvente durante todo o período de coleta das amostras de sangue em função da curta meia-vida de eliminação do metanol. Durante os intervalos entre exposições consecutivas, tiveram livre acesso à ração e água.

Os animais foram expostos a 262 mg/m³, 1048 mg/m³ equivalentes a 1 e 4 vezes o TLV-TWA para o metanol.

Análise estereosseletiva da fluvastatina em plasma

A análise estereosseletiva da fluvastatina em plasma e a determinação da ordem de eluição dos enantiômeros foram realizadas segundo o método desenvolvido e validado (ROCHA et al., 2001).

A extração líquido-líquido foi realizada utilizando-se 0,5 mL de plasma adicionado de 1 mL de tampão acetato 0,75 M, pH 4,5 e 5 mL de éter diisopropílico. Após 30 minutos de agitação, o solvente recuperado em volume definido (4 mL) foi concentrado até a secura e o resíduo obtido retomado em 100 µL de hexano:etanol (91,5:8,5 v/v), dos quais 50 µL foram submetidos à análise cromatográfica. A separação do plasma e o procedimento de preparo das amostras foram realizados sob luz amarela como única fonte de iluminação.

O sistema HPLC foi constituído por cromatógrafo Shimadzu (Kyoto, Japão) composto por bomba modelo LC-10 AD VP com amostrador de 50 µL, injetor automático modelo SIL 10 AD VP e detector por fluorescência modelo RF 10 AXL operando em 305 nm de excitação e 390 nm de emissão. Para registrar e integrar os picos dos cromatogramas foi empregado um integrador modelo CR 6A. A separação cromatográfica foi obtida em coluna Chiralcel[®] OD-H, partículas de 5 µm, 150 x 4,6 mm (Chiral Technologies Inc, Exton, PA) com pré-coluna Lichrospher[®] 100 CN, partículas de 5 µm, 4 x 4 mm (Merck, Darmstadt, Alemanha), mantida em forno Shimadzu (Kyoto, Japão) modelo CTO-10 ASVP, à temperatura de 23°C. A fase móvel que eluiu pelo sistema na

vazão de 1 mL/min foi constituída por hexano:etanol 91,5: 8,5 (v/v) com 0,2 % de ácido trifluoracético.

Para a construção das curvas de calibração, alíquotas de 0,5 mL de plasma branco de rato (animais não tratados com fluvastatina), foram enriquecidas com 25 µL de cada uma das soluções padrão sendo, posteriormente, submetidas aos processos de extração líquido-líquido e análise cromatográfica especificados anteriormente. As curvas de calibração foram construídas no intervalo de 5 a 500 ng de cada enantiômero por mL de plasma.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os efeitos tóxicos decorrentes da exposição ao metanol em ratos estão bem descritos na literatura. No entanto, não há dados relativos aos possíveis efeitos da exposição ao solvente na atividade do CYP e, conseqüentemente, no metabolismo de fármacos que depende desse sistema enzimático. No homem a FV é eliminada a 5-hidroxi, 6-hidroxi e N-desisopropil-FV pelo CYP2C9 (KIRCHHEINER et al., 2003). Em hepatócitos de fígado humano o metanol a 2% inibe o CYP2C9 e o CYP2E1 (CHAURET et al., 1998; HICHMAN et al., 1998). Com base nestes dados, o presente estudo avaliou a influência da inalação de metanol na disposição cinética dos enantiômeros da FV em ratos.

A disposição cinética da fluvastatina é enantiosseletiva nos ratos Wistar do grupo controle com acúmulo plasmático do enantiômero (-)-3S,5R-fluvastatina ($P < 0,05$; teste de Wilcoxon para dados pareados), considerado de menor atividade na inibição da HMG-CoA redutase. O acúmulo plasmático do enantiômero (-)-3S,5R traduzido pelo parâmetro $AUC^{0-\infty}$ (2.97 vs 0.99 µg.h.mL⁻¹) é conseqüente do menor volume de distribuição (9.80 vs 44.60 L.kg⁻¹) e do menor clearance aparente (0.85 vs 2.52 L.h⁻¹.kg⁻¹); (Tabela 1) , Rocha et al 2002 investigando ratos machos Wistar tratados com dose única de FV racêmica também observaram acúmulo plasmático, e obtiveram valores de $AUC^{0-\infty}$ (4.34 vs 0.49 µg.h.mL⁻¹), volume aparente de distribuição (9.37 vs

37.76 L.kg⁻¹) e clearance aparente (0.58 vs 5.33 L.h⁻¹.kg⁻¹), próximos ao encontrado no presente estudo.

LANCHOTE et al., 2001 e PIETRO et al., 2006, também sugerem o acúmulo plasmático do enantiômero (-)-(3S,5R) na investigação de voluntários sadios tratados com FV racêmica. As razões de concentrações plasmáticas (-)/(+), reportadas pelos respectivos autores foram de 1.4 e 1.84. No presente estudo, as razões de concentrações plasmáticas (-)/(+) foram de 2.50 (Tabela 1) para os animais do grupo controle em comparação com valores de aproximadamente 9 vezes reportados por Rocha et al., 2002 na investigação de ratos Wistar. Ressalta-se que os animais investigados no presente estudo permaneceram contidos na câmara de exposição durante 6 horas e, portanto submetidos a uma condição de estresse.

Os ratos do grupo metanol foram expostos ao vapor do solvente em câmara do tipo “apenas pelo nariz”, em concentrações equivalentes a 1 e 4 vezes o TLV-TWA 262 mg/m³ e 1048 mg/m³ (ACGIH, 2001). As vantagens da exposição apenas pelo nariz estão em utilizar menor quantidade de material a ser inalado, produzir exposição mais uniforme entre os animais, ser mais facilmente controlada e evitar a penetração do solvente por outras vias. No entanto, há a desvantagem da restrição no tempo de experimentação, devido ao estresse provocado pela contenção do animal, que em geral é limitado ao máximo de seis horas (HOLLANDER et al., 1988; KENNEDY & VALENTINE et al., 1994).

A disposição cinética da fluvastatina para os animais do grupo metanol expostos a 262 mg/m³, à semelhança do grupo controle, foi enantiosseletiva com observação de acúmulo plasmático do enantiômero (-)-3S,5R (P < 0,05; teste de Wilcoxon para dados pareados). O acúmulo plasmático do enantiômero (-)-3S,5R, traduzido pelo parâmetro AUC^{0-∞} (2.40 vs 0.76 µg.min.mL⁻¹) é conseqüente do menor clearance aparente (1.04 vs 3.34 L.h⁻¹.kg⁻¹). As razões de concentrações plasmáticas (-)/(+) foram de 2.68 (Tabela 1) para os ratos do grupo metanol 262 mg/m³ e foram próximas a razão de concentração plasmática do grupo controle de 2.50 (Tabela 1).

A disposição cinética da FV para os animais do grupo metanol 1048 mg/m³ não é enantiosseletiva; (Tabela 1). Os parâmetros farmacocinéticos relativos ao enantiômero (-)-3S,5R-fluvastatina não mostram diferenças

significativas entre os animais do grupo controle e os animais expostos ao metanol 1048 mg/m³.

A perda da enantiosseletividade na farmacocinética da FV no grupo de animais expostos ao metanol 1048 mg/m³ pode ser traduzida por influência seletiva do metanol na disposição cinética do eutômero (+)-3R,5S-FV. Os dados apresentados na Tabela 1 mostram diferenças significativas em relação ao eutômero (+)-3R,5S-FV, entre os animais dos grupos controle e metanol, para os seguintes parâmetros: $AUC^{0-\infty}$ (0.99 vs 1.65 $\mu\text{g.h.mL}^{-1}$), volume aparente de distribuição (44.60 vs 10.45 L.kg^{-1}) e clearance aparente (2.52 vs 1.51 $\text{L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$). Os dados sugerem que o metanol inibe preferencialmente o metabolismo do eutômero (+)-3R,5S-FV com conseqüente redução do clearance aparente e acúmulo plasmático do referido enantiômero. A redução observada na meia-vida de eliminação (10.85 vs 5.23 h) pode ser explicada em função da expressiva redução do volume aparente de distribuição (44.60 vs 10.45 L.kg^{-1}).

As razões enantioméricas das áreas sob as curvas concentração plasmática versus tempo ($AUC^{0-\infty} (-)/AUC^{0-\infty} (+)$) foram de 2.50 (Tabela 1) no grupo controle e próximas a unidade no grupo metanol 1048 mg/m³ (Tabela 1). A redução da razão de concentrações plasmáticas (-)/(+) nos animais do grupo metanol 1048 mg/m³ pode ser uma conseqüência da redução do clearance aparente do (+)-3R,5S ($P < 0.05$), provavelmente relacionada a diferenças na atividade de sistemas enzimáticos envolvidos na biotransformação dos enantiômeros da fluvastatina em ratos. Os dados permitem sugerir que os enantiômeros da fluvastatina são metabolizados em ratos por diferentes sistemas enzimáticos e que o metanol inibe apenas o sistema enzimático envolvido na eliminação do eutômero (+)-3R,5S-FV.

HICKMAN et al., 1998 e CHAURET et al., 1998 relatam que o metanol em concentrações maiores que 1% inibe o CYP2C9 em microssomos humano, enquanto EASTERBROOK et al., 2001 relatam que o metanol na concentração de 2% inibe o CYP2C9 e o CYP2E1 em hepatócitos do homem.

Os dados apresentados na presente investigação sugerem que o metanol 1048 mg/m³ inibe o metabolismo somente do eutômero (+)-3R,5S-FV, o qual é metabolizado preferencialmente pelo CYP2C9, resultando em perda da enantiosseletividade no metabolismo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

1.AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNAMENTAL INDUSTRIAL HYGIENISTS. Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. 7th Ed. Cincinnati, ACGIH, 2001.

BALLANTYNE, C. M; PAZZUCCONI, F; PINTÓ, X; RECKLESS, J.,P; STEIN, E; MCKENNEY, J; BORTOLINI, M; CHIANG, Y. T. Efficacy and tolerability of Fluvastatin extended-release delivery system: a pooled analysis. **Clinical Therapeutics**, v. 23, n.2, p. 177-192, 2001.

CHAURET, N; GAUTHIER, A; NICOLL-GRIFFITH, D.A. Effect of common organic solvents on *in vitro* cytochrome P450-mediated metabolic activities in human liver microsomes. **Drug Metab Dispos**, v. 26, p. 1-4, 1998.

DESAGER, J. P; HORSMANS, Y. Clinical pharmacokinetics of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors. **Clin Pharmacokinet**, New York, v.31, n.5, p.348-371, 1996.

EASTERBROOK, J. CHUANG, L. YUMIKO, S. ALBERT, P. L. Effects of organic solvents on the activities of cytochrome P450 isoforms, UDP- dependent glucuronyl transferase, and phenol sulfotransferase in human hepatocytes. **The drug metabolism and disposition**, v.29, p.141-144, 2001.

ERTUK, S; ONAL, A; ÇETIN, S. M. Analytical methods for the quantitative determination of 3- hydroxyl 3- methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors in biological samples. **Journal of Chromatography B**. v. 793, p. 193-205, 2003.

HICKMAN, D; WANG, J. P; WANG Y; UNADKAT, J. D Evaluation of the selectivity of *in vitro* probes and suitability of organic solvents for the measurement of human cytochrome P450 monooxygenase activities. **Drug Metab Dispos** , v. 26,p. 207-215, 1998.

HOLÄNDER, W. Exposure facilities and aerosol generation and characterization for inhalation experiments. In Mohr, U. (ed.). **Inhalation Toxicology**. New York, Springer-Verlag, p. 67-85, 1988.

HORTON, V. L; HIGUCHI, M. A; RICKERT, DE. Physiologically based pharmacokinetic model for methanol in rats, monkeys, and humans. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 117, 26-36, 1992.

JORJE, A. R. J; ALMEIDA, E. A; OZAKI, M. R; JORJE, M; CARNEIRO, A. Efeitos da atorvastatina, fluvastatina, pravastatina e sinvastatina sobre a função endotelial, a peroxidação lipídica e a aterosclerose aórtica em coelhos hipercolesterolêmicos. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v.84, n.4, p. 314-319, 2005.

KATHAWALA, F. G. HMG-CoA reductase inhibitors: na exciting development in the treatment of hyperlipoproteinemia. **Med. Res. Rev.**, New York, v.11, p.121-146, 1991.

KENNEDY JR. G. L; VALENTINE, R. Inhalation Toxicology. *In*. Hayes, A. W. (ed). **Principles and Methods of Toxicology**, 3rd ed. New York, Raven Press, p. 805-838, 1994.

KIM, M. J; NAFZIGER, A. N; KASHUBA, A. D. M; KIRCHHEINER, J; BAUER, S; GAEDIGK, A; BERTINO, J. S. JR. Effects of fluvastatin and cigarette smoking on CYP2C9 activity measured using the probe S-warfarin. **Pharmacogenetics**, v. 62, p. 431-436, 2006.

KIRCHHEINER, J; KUDLICZ, D; MEISEL, C; BAUER, S; MEINEKE, I; ROOTS, I; BROCKMÖLLER, J. Influence of CYP2C9 polymorphism on the pharmacokinetics and cholesterol-lowering activity of (-)-3S,5R-FV and (+)-3R,5S-FV in healthy volunteers. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v.74, n.2, p.186-194, 2003.

LANCHOTE, V. L; ROCHA, A; ALBUQUERQUE, F. U. V; COELHO, E. B.; BONATO, P. S. Stereoselective analysis of fluvastatin in human plasma for pharmacokinetics studies. **Journal of Chromatography B**, v. 765, p. 81-88, 2001.

PIETRO, G. D; COELHO, E. B; GELEILETE, M; MARQUES, M. P; LANCHOTE, V. L. Chiral evaluation of fluvastatin in human plasma by high-performance liquid chromatography electrospray mass spectrometry. **Journal of chromatography. B**, v. 832, n.2, p. 256-261, 2006.

RAWITHI, S. AI; HUSSEIN, R. F; ALZAHIRANI, A. Sensitive assay for the determination of fluvastatin in plasma utilizing high performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 25, n. 1, p. 88-92, 2003.

ROCHA, A. Enantiosseletividade na farmacocinética da fluvastatina em ratos espontaneamente hipertensos e/ou com *diabetes mellitus* experimental.

Ribeirão Preto, 2001. 59p. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

ROCHA, A; COELHO, E. B; LANCHOTE, V. L. Stereospecific disposition of fluvastatin in streptozotocin-induced diabetics rats. **Can. J. Physiol. Pharmacol**, v.80, p.1071-1075, 2002.

SCHIMIDT, R. A; KOHLER, I. Efeitos a curto prazo e tolerabilidade de altas doses de fluvastatina em pacientes dislipidêmicos. **Revista da AMRIGS**, v.49, n.4, p. 233-236, 2005.

SCRIPTURE, C.D; PIEPER, J. A. Clinical pharmacokinetics of fluvastatin. **Clin. Pharmacokinet**, New York, v.40, n.4,p.263-281, 2001.

SICA, D.A; GEHR, T. W. B. 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors and rhabdomyolysis: considerations in the renal failure patient. **Curr. Opin. Nephrol. Hyperten**, Philadelphia, v.11, p.123-133, 2002.

TRANSON, C; LEEMANN, T; VOGT, N; DAYER, P. In vivo inhibition profile of cytochrome P450 (CYP2C9) by +/- fluvastatin. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 58, n.4, p. 412-417, 1995.

TSE, F. L; SMITH, H. T; BALLARD, F. H; NICOLETTI, J. Disposition of fluvastatin, an inhibitor of HMG-CoA reductase, in mouse, rat, dog, and monkey. **Biopharm Drug Dispos**, v. 11, n.6, p.519-531, 1990.

TSE, F. L.T; LABBADIA, D. Absorption and disposition of fluvastatin, na inhibitor of HMG-CoA reductase, in the rabbit. **Biopharm. Drug Dispos**, v.13, n.4, p.285-294, 1992.