

UNIVERSIDADE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Influência do diabetes *mellitus* gestacional na disposição cinética e metabolismo estereosseletivos do labetalol em pacientes com hipertensão arterial

Teresa Maria de Jesus Ponte Carvalho

Ribeirão Preto

2009

UNIVERSIDADE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Influência do diabetes *mellitus* gestacional na disposição cinética e metabolismo estereosseletivos do labetalol em pacientes com hipertensão arterial

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia para obtenção do título de doutor em Toxicologia.

Área de concentração: Toxicologia

Orientada: Teresa Maria de Jesus Ponte Carvalho

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.

Carvalho, Teresa Maria de Jesus Ponte

Influência do diabetes *mellitus* gestacional na disposição cinética e metabolismo estereosseletivos do labetalol em pacientes com hipertensão arterial, Ribeirão Preto, 2009.

128p.: il.; 30cm.

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de Concentração: Toxicologia.

Orientador: Lanchote, Vera Lucia

1. Labetalol, 2. Estereoisômeros 3. Diabetes *mellitus* gestacional

FOLHA DE APROVAÇÃO

Teresa Maria de Jesus Ponte Carvalho

Influência do diabetes *mellitus* gestacional na disposição cinética e metabolismo estereosseletivos do labetalol em pacientes com hipertensão arterial

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia para obtenção do título de doutor em Toxicologia.

Área de concentração: Toxicologia

Orientador: 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:.....

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho de pesquisa, em primeiro lugar ao Leonardo (Léo), meu companheiro e parceiro de vida. Ao Caio, meu filho, que pacientemente esteve ao meu lado nesta jornada. E, às gestantes que participaram deste estudo, que mesmo em um momento especial e difícil de suas vidas concordaram em participar deste estudo.

AGRADECIMENTOS

- À Universidade Federal do Ceará (UFC), da qual faço parte como docente, pelo apoio no processo de afastamento das atividades, em especial ao professor Francisco Belmino da Coordenadoria de Recursos Humanos da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da UFC pelo empenho na viabilização deste processo.
- À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão de bolsa de doutorado.
- Ao CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo financiamento do trabalho de pesquisa.
- À Professora Vera Lanchote que respondeu de forma afirmativa ao pedido de orientação, dando-me a oportunidade de crescimento em âmbito profissional e pessoal. Além de contribuir na melhoria do ensino da toxicologia no Ceará.
- À Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto pelo acolhimento em todo o período de pós-graduação.
- Aos docentes da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto pelos conhecimentos repassados durante o curso.
- Aos funcionários da Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto pela colaboração e orientações transmitidas.
- Ao professor Dr. Antônio Cardoso, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Toxicologia pela forma sempre cordial em colaborar.
- Ao Laboratório de Toxicologia e Metabolismo de Fármacos, coordenado pela professora Vera Lanchote e integrado pelos funcionários Maria Paula Marques e Natalino Bocado, o meu reconhecimento e agradecimento por todo o aprendizado e apoio para realização deste trabalho.

- A todos os pesquisadores do Laboratório pelo convívio diário, tanto profissional quanto pessoal, que possibilitaram a troca de experiências e de conhecimentos durante o desenvolvimento deste trabalho. Dentre elas estão: Adriana, Ana Leonor, Carolina, Carol, Bruno, Daniel, Eduardo, Fernanda, Flávia, Francine, Josiane, Juciane, Marcel, Natália, Natalícia, Paulo, Patrícia, Renata, Stella, Rodrigo e Vanessa.
- Aos docentes do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP pela parceria e orientação na seleção das pacientes e realização das coletas de sangue, em especial ao responsável clínico pelo estudo.
- Ao corpo clínico (médicos, residentes e equipe de enfermagem) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, especialmente do Centro Obstétrico, pela contribuição no desenvolvimento do trabalho clínico.
- À Natalícia e Dra. Cláudia Baraldi pela contribuição na seleção de pacientes e coleta sanguínea.

“ Não estamos perdidos. Ao contrário, venceremos se não
tivermos desaprendido a aprender ”

Rosa de Luxemburgo

RESUMO

CARVALHO, T.M.J.P. **Influência do diabetes mellitus gestacional na disposição cinética e metabolismo estereosseletivos do labetalol em pacientes com hipertensão arterial**, 2009.128f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

O labetalol, um anti-hipertensivo considerado seguro para uso em gestantes, está disponível na clínica como mistura de dois racematos (quatro estereoisômeros), sendo o isômero (R,R) antagonista β e o (S,R) responsável pela atividade α bloqueadora. O estudo investiga a influência do diabetes *mellitus* gestacional (DMG) na disposição cinética e no metabolismo estereosseletivos do labetalol administrado por via endovenosa ou oral. Foram investigadas 30 gestantes hipertensas distribuídas em 04 grupos: não diabéticas tratadas com dose única de 40 mg de cloridrato de labetalol endovenoso (grupo EVH, n=8) ou 100 mg de cloridrato de labetalol via oral (grupo VOH, n=9) e diabéticas tratadas com 40 mg de cloridrato de labetalol endovenoso (grupo EVD, n=6) ou 100 mg de cloridrato de labetalol via oral (grupo VOD, n=7). As amostras seriadas de sangue foram coletadas até 12 h (via oral) ou 15 h (via endovenosa) após a administração do cloridrato de labetalol. Os estereoisômeros do labetalol em plasma foram analisados em coluna de fase quiral Chirobiotic V empregando LC-MS-MS. Os parâmetros farmacocinéticos do labetalol inalterado e labetalol glicuronídeo foram calculados com auxílio do programa WinNonlin e avaliados empregando os testes de Mann-Whitney e Friedman com pós-teste de Dunn ($p < 0,05$). A farmacocinética do labetalol não é estereosseletiva em gestantes diabéticas e não diabéticas tratadas com o fármaco por via endovenosa. No entanto, a administração oral de labetalol resulta em menores valores de área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo (AUC) para o isômero ativo (R,R)-labetalol tanto em gestantes diabéticas (60,9 vs 162,7 vs 157,9 vs 114,6 ng.h/mL, respectivamente para (R,R); (SR); (S,S,) e (R,S)) quanto não diabéticas (45,6 vs 84,2 vs 89,4 vs 78,3 ng.h/mL, respectivamente para (R,R); (SR); (S,S,) e (R,S)). O DMG resulta em alterações na disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol na administração oral. Os valores de AUC do isômero inativo (S,S)-labetalol (157,9 vs 89,4 ng.h/mL) e para o isômero α -bloqueador (S,R)-labetalol (162,7 vs 84,2 ng.h/mL) são maiores ($p < 0,05$) nas gestantes diabéticas do que nas gestantes não diabéticas. As gestantes diabéticas também mostram maior biodisponibilidade oral do isômero (S,R)-labetalol (54,7 vs 24,0 %) explicada pela reduzida eliminação pré-sistêmica conseqüente da menor capacidade de conjugação com o ácido glicurônico (68,4 vs 77,9 %). Os valores de AUC do isômero (S,R) aproximadamente 100 % maiores nas gestantes diabéticas tratadas com o fármaco por via oral (162,7 vs 84,2 ng.h/mL) pode ter relevância clínica considerando a atividade α -bloqueadora do referido isômero.

Palavras-chave: labetalol, estereoisômeros, farmacocinética, metabolismo, diabetes *mellitus* gestacional, gravidez, hipertensão arterial.

ABSTRACT

CARVALHO, T.M.J.P. **Influence of gestational diabetes mellitus on the kinetic disposition and stereoselective metabolism of labetalol in patients with arterial hypertension**, 2009. 128f. Thesis (Doctoral). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

Labetalol, a hypertensive agent considered to be safe for use by pregnant women, is clinically available as a mixture of two racemates, with the (R,R) isomer being a β antagonist and the (S,R) isomer being responsible for the α blocking activity. The study investigated the influence of gestational diabetes mellitus (GDM) on the kinetic disposition and stereoselective metabolism of labetalol administered by the intravenous or oral route. Thirty hypertensive pregnant women were divided into 4 groups: non-diabetic women treated with a single 40 mg dose of intravenous labetalol hydrochloride (IVH group, n=8) or with 100 mg labetalol hydrochloride by the oral route (OH group, n=9) and diabetic women treated with 40 mg intravenous labetalol hydrochloride (IVD), n=6) or with 100 mg labetalol hydrochloride by the oral route (OD, n=7). Serial blood samples were collected up to 12 h (oral route) or 15 h (intravenous route) after the administration of labetalol hydrochloride. The labetalol stereoisomers in plasma were analyzed with a chiral phase Chirobiotic V column by LC-MS-MS. The pharmacokinetic parameters of unchanged labetalol and glucuronide labetalol were calculated using the WinNolin software and analyzed by the Mann-Whitney and Friedman tests followed by the Dunn test ($p < 0.05$). The pharmacokinetics of labetalol was not stereoselective in diabetic or non-diabetic pregnant women treated with the drug by the intravenous route. However, oral administration of labetalol resulted in lower values of the area under the plasma concentration versus time curve (AUC) for the active isomer (R,R)-labetalol both in diabetic (60.9 vs 162.7 vs 157.9 vs 114.6 ng.h/mL, respectively for (R,R), (SR), (S,S,) and (R,S)) and non-diabetic pregnant women (45.6 vs 84.2 vs 89.4 vs 78.3 ng.h/mL, respectively for (R,R,), (SR), (S,S,) and (R,S)). GDM involves changes in the kinetic disposition of the stereoisomers of labetalol when administered by the oral route. The AUC values for the inactive (S,S)-labetalol (157.9 vs 89.4 ng.h/mL) and for the α -blocking (S,R) isomer (162.7 vs 84.2 ng.h/mL) were higher ($p < 0.05$) for the diabetic than the non-diabetic pregnant women. The diabetic pregnant women showed greater oral bioavailability of the (S,R)-labetalol isomer (54.7 vs 24.0 %), explained by the reduced pre-systemic elimination due to the lower capacity for conjugation with glucuronic acid (68.4 vs 77.9 %). The approximately 100 % higher AUC values of the (S,R) isomer for the diabetic pregnant women treated with the drug by the oral route may be of clinical relevance in view of the α -blocking activity of the isomer in question.

Key-words: labetalol; stereoisomers; pharmacokinetics; gestational diabetes mellitus; pregnancy; hypertension

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Metabolismo do labetalol no homem	29
Figura 2:	Gráfico do tamanho da amostra em relação ao poder de teste	32
Figura 3:	Fluxograma do procedimento de extração e cromatografia quiral para análise do labetalol em plasma	38
Figura 4:	Fluxograma do procedimento de extração e cromatografia quiral para análise do labetalol total em plasma	39
Figura 5:	Scan do espectro de massas do íon molecular protonado e íon produto do labetalol	47
Figura 6:	Cromatogramas referentes à análise dos estereoisômeros em plasma em coluna chirobiotic V [®]	48
Figura 7:	Cromatogramas referentes à análise dos estereoisômeros em plasma em coluna chirex 3020 [®]	49
Figura 8:	Curvas de concentração plasmática <i>versus</i> tempo dos estereoisômeros do labetalol – Grupo EVH (hipertensas não diabéticas, via endovenosa)	53
Figura 9:	Curvas de concentração plasmática <i>versus</i> tempo dos estereoisômeros do labetalol – Grupo EVD (hipertensas diabéticas, via endovenosa)	55
Figura 10:	Curvas de concentração plasmática <i>versus</i> tempo dos estereoisômeros do labetalol – Grupo VOH (hipertensas não diabéticas, via oral)	57
Figura 11:	Curvas de concentração plasmática <i>versus</i> tempo dos estereoisômeros do labetalol – Grupo VOD (hipertensas diabéticas, via oral)	59
Figura 12:	Influência do diabetes <i>mellitus</i> gestacional na disposição cinética de cada isômero do labetalol inalterado em gestantes hipertensas nas vias endovenosa e oral	62
Figura 13:	Curvas concentração plasmática <i>versus</i> tempo dos estereoisômeros do labetalol glicuronídeo para as pacientes do Grupo EVH (hipertensas não diabéticas)	64
Figura 14:	Curvas de concentração plasmática <i>versus</i> tempo dos estereoisômeros do labetalol glicuronídeo das pacientes do Grupo EVD (hipertensas e diabéticas)	65

Figura 15:	Curvas de concentração plasmática <i>versus</i> tempo dos estereoisômeros do labetalol glicuronídeo nas pacientes do Grupo VOH (hipertensas não diabéticas)	67
Figura 16:	Curvas de concentração plasmática <i>versus</i> tempo dos estereoisômeros do labetalol glicuronídeo nas pacientes do Grupo VOD (hipertensas e diabéticas)	68
Figura 17:	Influência do diabetes <i>mellitus</i> gestacional na % conjugação de cada isômero em gestantes hipertensas nas vias endovenosa e oral.	70
Figura i:	Curvas individuais de concentração plasmática <i>versus</i> tempo para os estereoisômeros do labetalol inalterado. Grupo EVH (gestantes hipertensas, não diabéticas, tratadas com labetalol ev)	121
Figura ii:	Curvas individuais de concentração plasmática <i>versus</i> tempo para os estereoisômeros do labetalol inalterado. Grupo EVD (gestantes hipertensas e diabéticas, tratadas com labetalol ev)	122
Figura iii	Curvas individuais de concentração plasmática <i>versus</i> tempo para os estereoisômeros do labetalol inalterado Grupo VOH (gestantes hipertensas tratadas com labetalol p.o.)	123
Figura iv-	Curvas individuais de concentração plasmática <i>versus</i> tempo para os estereoisômeros do labetalol inalterado. Grupo VOD (gestantes hipertensas e diabéticas tratadas com labetalol p.o.).	124
Figura v:	Curvas individuais de concentração plasmática <i>versus</i> tempo para os estereoisômeros do labetalol glicuronídeo. Grupo EVH (gestantes hipertensas, não diabéticas, tratadas com labetalol ev)	125
Figura vi:	Curvas individuais de concentração plasmática <i>versus</i> tempo para os estereoisômeros do labetalol glicuronídeo. Grupo EVD (gestantes hipertensas e diabéticas, tratadas com labetalol ev)	126
Figura vii	Curvas individuais de concentração plasmática <i>versus</i> tempo para os estereoisômeros do labetalol glicuronídeo Grupo VOH (gestantes hipertensas tratadas com labetalol p.o.)	127
Figura viii-	Curvas individuais de concentração plasmática <i>versus</i> tempo para os estereoisômeros do labetalol glicuronídeo. Grupo VOD (gestantes hipertensas e diabéticas tratadas com labetalol p.o.)	128

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Características das pacientes investigadas	46
Tabela 2:	Efeito matriz para os estereoisômeros do labetalol inalterado e padrão interno (PI) em seis diferentes lotes de plasma humano	50
Tabela 3:	Efeito matriz para os estereoisômeros do labetalol total e padrão interno (PI) em seis diferentes lotes de plasma humano	50
Tabela 4:	Limites de confiança do método de análise dos estereoisômeros do labetalol inalterado em plasma humano	51
Tabela 5:	Limites de confiança do método de análise dos estereoisômeros do labetalol total em plasma humano	52
Tabela 6:	Disposição cinética estereosseletiva do labetalol inalterado. Grupo EVH: gestantes hipertensas não diabéticas tratadas com labetalol ev	54
Tabela 7:	Disposição cinética estereosseletiva do labetalol inalterado. Grupo EVD: gestantes hipertensas e diabéticas tratadas com labetalol ev	55
Tabela 8:	Disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol inalterado nos Grupos EVH e EVD	56
Tabela 9:	Disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol inalterado nas pacientes do Grupo VOH: gestantes hipertensas não diabéticas tratadas com cloridrato de labetalol p.o.	58
Tabela 10:	Disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol inalterado nas pacientes do Grupo VOD: gestantes hipertensas e diabéticas tratadas com labetalol p.o.	60
Tabela 11:	Disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol inalterado nos Grupos VOH e VOD	61
Tabela 12:	Razões isoméricas de AUC entre os grupos investigados	62
Tabela 13:	Biodisponibilidade (F) dos isômeros individuais nas gestantes diabéticas e não diabéticas.	63
Tabela 14:	Disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol glicuronídeo nas pacientes do Grupo EVH: gestantes hipertensas não diabéticas tratadas com cloridrato de labetalol endovenoso	64
Tabela 15:	Disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol glicuronídeo nas pacientes do Grupo EVD: gestantes hipertensas e diabéticas tratadas com cloridrato de labetalol endovenoso	65

Tabela 16:	Disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol glicuronídeo nas pacientes dos Grupos EVH e EVD	66
Tabela 17:	Disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol glicuronídeo nas pacientes do Grupo VOH: gestantes hipertensas não diabéticas tratadas com cloridrato de labetalol p.o.	67
Tabela 18:	Disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol glicuronídeo nas pacientes do Grupo VOD: gestantes hipertensas e diabéticas tratadas com cloridrato de labetalol p.o.	69
Tabela 19:	Disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol glicuronídeo nos Grupos VOH e VOD.	70
Tabela i:	Características individuais das gestantes hipertensas incluídas na investigação	97
Tabela ii:	Resultados da avaliação laboratorial sistêmica das gestantes avaliadas	98
Tabela iii:	Dados individuais da disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol inalterado nas gestantes investigadas	102
Tabela iv:	Disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol inalterado. Grupo EVH,	113
Tabela v:	Disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol inalterado no Grupo EVD	114
Tabela vi:	Disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol inalterado no Grupo VOH	115
Tabela vii:	Disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol inalterado no Grupo VOD	116
Tabela viii:	Dados individuais da disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol glicuronídeo no Grupo EVH	117
Tabela ix:	Dados individuais da disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol glicuronídeo no Grupo EVD	118
Tabela x:	Dados individuais da disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol glicuronídeo no Grupo VOH	119
Tabela xi:	Dados individuais da disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol glicuronídeo no Grupo VOD	120

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AGP: α -glicoproteína ácida

AST: aspartato transaminase

ALT: alanina transaminase

APB: 3-amino-1-fenilbutano

AHB: 3-amino-1-(4-hidroxifenil) butano

CV: coeficiente de variação

CYP: citocromo P450

DEA: dietilamina

DM: diabetes *mellitus*

DMG: diabetes *mellitus* gestacional

EVH: gestantes hipertensas não diabéticas tratadas labetalol ev

EVD: gestantes hipertensas diabéticas tratadas labetalol ev

ESI: interface de electrospray

EPM: erro padrão médio

ev: via endovenosa

F: biodisponibilidade

G: glicuronídeo

GST: glutathione transferase

γ -GT: gama glutamil transferase

HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência

HCFMRP: Hospital das Clínicas Faculdade de Medicina Ribeirão Preto

FCFRP: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto

IC 95%: índice confiança 95%

IMC: índice de massa corporal

LIQ: limite inferior de quantificação

LC: cromatografia líquida

MRM: multiple reaction monitoring

MS/MS: espectrometria de massas

NAT: N-acetil-transferase

PI: padrão interno

p.o.: via oral

r= coeficiente de correlação linear

TFA: ácido trifluoroacético

TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido

UGT: uridinodifosfato glicuronosiltransferase

UDP: uridino difosfato

UDPGA: UDP-ácido glicurônico

VOH: gestantes hipertensas não diabéticas tratadas labetalol p.o.

VOD: gestantes hipertensas diabéticas tratadas labetalol p.o

LISTA DE SÍMBOLOS

$AUC^{0-\infty}$: área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo

Cl : *clearance* total

Cl/f : *clearance* total aparente.

C_{max} : concentração plasmática máxima

t_{max} : tempo para alcançar C_{max}

K_a : constante velocidade absorção

α : constante de velocidade de distribuição

β : constante de velocidade de eliminação rápida

γ : constante de velocidade de eliminação lenta

$t_{1/2 a}$: meia-vida de absorção

$t_{1/2 \alpha}$: meia-vida de distribuição

$t_{1/2 \beta}$: meia-vida de eliminação rápida

$t_{1/2 \gamma}$: meia-vida de eliminação lenta

V_d : volume de distribuição

V_d/f : volume de distribuição aparente

®: marca registrada

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract	ii
Lista de figuras	iii
Lista de tabelas	v
Lista de abreviaturas e siglas	vii
Lista de símbolos	ix
1.0 INTRODUÇÃO	20
1.1 Enantiosseletividade	20
1.2 A influência do diabetes <i>mellitus</i> na farmacocinética	22
1.3 Farmacocinética na gravidez	24
1.4 Hipertensão arterial na gravidez	25
1.5 Farmacocinética do labetalol	26
2.0 OBJETIVOS	30
3.0 CASUÍSTICA E MÉTODOS	31
3.1 Casuística	31
3.1.1 Aspectos éticos	31
3.1.2 Cálculo do tamanho amostral	31
3.1.3 Critérios de inclusão de pacientes	32
3.1.3.1 Critérios diagnósticos	32
3.1.3.2 Critérios de inclusão	33
3.1.3.3 Critérios de exclusão	33
3.2 Protocolo clínico	34
3.3 Análise estereosseletiva do labetalol inalterado e labetalol total em plasma	34

3.3.1	Soluções-padrão e reagentes	35
3.3.2	Análise cromatográfica	35
3.3.3	Determinação da ordem de eluição dos estereoisômeros labetalol	36
3.3.4	Preparo das amostras	37
3.3.4.1	Análise estereosseletiva labetalol inalterado plasma	37
3.3.4.2	Análise estereosseletiva do labetalol total em plasma	38
3.3.5	Determinação do efeito matriz	39
3.3.6	Teste de racemização	40
3.3.7	Validação dos métodos analíticos	40
3.3.7.1	Curva de calibração/ linearidade	41
3.3.7.2	Limite inferior de quantificação	41
3.3.7.3	Recuperação	42
3.3.7.4	Precisão e exatidão	42
3.3.7.5	Estabilidade do labetalol inalterado e labetalol total plasma	43
3.3.8	Análise farmacocinética	44
3.3.9	Análise estatística	44
4.0	RESULTADOS	45
4.1	Características das pacientes investigadas	45
4.2	Métodos analíticos	47
4.2.1	Análise estereosseletiva do labetalol em plasma	47
4.2.2	Ordem de eluição dos estereoisômeros do labetalol	48
4.2.3	Racemização	49
4.2.4	Efeito matriz estereosseletiva do labetalol inalterado em plasma	49
4.2.5	Efeito matriz estereosseletiva do labetalol total em plasma	50
4.2.6	Validação	50

4.2.6.1	Análise estereosseletiva labetalol inalterado em plasma	50
4.2.6.2	Análise estereosseletiva labetalol total em plasma	51
4.2.7	Farmacocinética dos estereoisômeros labetalol inalterado gestantes	53
4.2.7.1	Gestantes tratadas com labetalol endovenoso	53
	• Grupo EVH (gestantes hipertensas não diabéticas, labetalol ev)	53
	• Grupo EVD (gestantes hipertensas diabéticas, labetalol ev)	54
4.2.7.2	Gestantes tratadas com labetalol p.o.	57
	• Grupo VOH (gestantes hipertensas, labetalol p.o.)	57
	• Grupo VOD (gestantes hipertensas e diabéticas, labetalol p.o.)	59
4.2.8	Disposição cinética dos estereoisômeros do labetalol glicuronídeo	63
4.2.8.1	Gestantes tratadas com labetalol endovenoso	63
	• Grupo EVH (gestantes hipertensas não diabéticas, labetalol ev)	63
	• Grupo EVD (gestantes hipertensas diabéticas, labetalol ev)	64
4.2.8.2	Gestantes tratadas com labetalol p.o.	66
	• Grupo VOH (gestantes hipertensas, labetalol p.o.)	66
	• Grupo VOD (gestantes hipertensas e diabéticas, labetalol p.o.)	68
5.0	DISCUSSÃO	71
6.0	CONCLUSÕES	82
7.0	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
	ANEXOS	93

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Enantiosseletividade

A investigação da enantiosseletividade na farmacocinética contribui no controle da resposta terapêutica de fármacos quirais assim como no planejamento e síntese de novos produtos farmacêuticos. Os enantiômeros individuais de um racemato, caracterizados por diferentes orientações espaciais, podem manifestar diferentes efeitos farmacológicos em razão das exigências conformacionais implícitas no processo de ligação dos fármacos a receptores específicos. A atividade farmacológica pode residir em apenas um dos enantiômeros ou os dois enantiômeros podem apresentar atividade farmacológica qualitativa e/ou quantitativa idêntica. Conseqüentemente, o tratamento com um fármaco racêmico representa um recurso terapêutico constituído de uma combinação fixa de medicamentos com diferentes propriedades farmacológicas e diferentes potenciais de manifestação de toxicidade (LENNARD, 1991; RODEN, 1994; MAIER et al., 2001; RENTSCH, 2002; MCCONATHY et al., 2003).

A enantiosseletividade na farmacocinética surge em decorrência da discriminação entre os enantiômeros nos processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção, resultante da interação do fármaco com macromoléculas biológicas quirais. No processo de absorção, o fenômeno da enantiosseletividade somente é observado quando for dependente de carreadores (JAMALI et al., 1989; TUCKER et al., 1990; MEHVAR et al. 2001; WALDECK, 2003). Na distribuição, o fenômeno da enantiosseletividade é observado devido à ligação dos enantiômeros com as proteínas do plasma (albumina e α_1 -glicoproteína ácida) ou tecido (JAMALI et al., 1989; TUCKER et al., 1990). Como exemplo, o propranolol apresenta estereosseletividade na ligação em direções opostas para diferentes proteínas. O

isômero R(+)-propranolol liga-se em menor proporção a α_1 -glicoproteína ácida e em maior proporção a albumina que o isômero S(-)-propranolol (MEHVAR et al., 2001).

Do conhecimento até então existente, o metabolismo é o processo que apresenta maior grau de enantioseletividade na disposição cinética de fármacos quirais. O *clearance* hepático é determinado principalmente pelo fluxo sanguíneo hepático, pela ligação do fármaco às proteínas plasmáticas e pela atividade intrínseca das enzimas. Qualquer alteração na atividade das enzimas envolvidas no metabolismo pode afetar a razão enantiomérica de concentrações plasmáticas do fármaco. Quando os enantiômeros são metabolizados pelas mesmas enzimas em diferentes velocidades, a indução ou inibição destas enzimas afetará o metabolismo de ambos os enantiômeros com diferentes extensões. No entanto, quando os enantiômeros são metabolizados por enzimas diferentes a possibilidade de indução ou inibição é apenas da enzima ou enzimas envolvidas no metabolismo de um dos isômeros (CALDWELL, 1996; KROEMER et al., 1996; RENTSCH, 2002).

Também pode ser observada estereosseletividade quando um fármaco não quiral é metabolizado a um composto quiral, com formação preferencial de um dos enantiômeros, como a fenitoína que sofre hidroxilação formando um metabólito quiral, onde o S-metabólito é formado em maior extensão (JAMALI et al., 1989). A estereosseletividade ainda pode ser observada quando alguns enantiômeros mudam de uma configuração enantiomérica para outra (inversão quiral), de forma espontânea ou bidirecional ou de forma unidirecional facilitada pela presença de enzimas. A talidomida e o ibuprofeno são exemplos de fármacos quirais que sofrem inversão quiral (TUCKER et al., 1990; BROCKS, 2006).

A identificação dos fatores responsáveis pelas concentrações plasmáticas com razões enantioméricas diferentes da unidade, contribui na definição das origens de variabilidade individual na resposta aos fármacos empregados na terapêutica. Os fatores genéticos, a interação de fármacos e a influência de doenças são fatores preponderantes (BROCKS, 2006).

Várias doenças podem provocar alterações nos processos farmacocinéticos enantiosseletivos. Essas alterações se devem principalmente a modificações nas concentrações de proteínas, alterações na atividade de enzimas responsáveis pelo metabolismo de fármacos e alterações das funções renal, hepática entre outras. A atividade enzimática e a expressão de genes do citocromo P450 (CYP) podem ser profundamente alteradas por doenças, entretanto essas alterações podem ser enzimas seletivas e a seletividade variar dependendo da doença (CHENG et al., 2001).

1.2 Influência do diabetes *mellitus* na farmacocinética

Segundo a *American Diabetes Association* (ADA, 2008) e a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2008), o diabetes *mellitus* (DM) não é uma única doença, mas um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos que apresentam em comum a hiperglicemia. Esta hiperglicemia é o resultado de alterações na ação da insulina, na secreção de insulina ou em ambos. O DMG é caracterizado por intolerância à glicose de graus variáveis diagnosticado pela primeira vez durante a gestação, e que pode ou não persistir após o parto e está associado com o aparecimento de hipertensão gestacional e pré-eclâmpsia de grau leve a grave (BRYSON et al., 2003; ÖSTLUND et al., 2004). O DMG representa aproximadamente 90 % de todas as gestações complicadas por diabetes, sendo sua prevalência estimada em 1 a 14 %, dependendo da população estudada (ADA, 2008).

O DM pode alterar a disposição cinética e o metabolismo dos fármacos em uso na clínica dependendo do tipo e do tempo de diagnóstico da doença, assim como do substrato investigado. As altas concentrações de ácidos graxos livres e proteínas glicosiladas observadas em pacientes diabéticos podem alterar a extensão da ligação dos fármacos às proteínas plasmáticas (EMAMI et al., 1998). Alguns estudos clínicos e experimentais

demonstram que o DM pode levar a alterações de diversas enzimas do CYP provocando modificações diferenciadas na expressão de suas isoformas (supressão do CYP2C11 e CYP2C12 e indução do CYP4A e CYP2E1) (SHAW, 2001).

Xiaotao & Hall (1995) reportam enantiosseletividade no metabolismo do ibuprofeno em ratos diabéticos com aumento da constante de velocidade de formação do metabólito ibuprofenila-coenzima A com conseqüente aumento da fração de inversão do enantiômero (R) ao correspondente (S). Poggi et al. (2004) relatam aumento unidirecional na velocidade de inversão quiral do enantiômero (R)-fenoprofeno ao eutômero (S) em ratos diabéticos. Rocha et al. (2002) observam aumento no *clearance* do enantiômero (-)-(3S,5R)-fluvastatina e redução na razão $AUC_{(-)}/AUC_{(+)}$ em ratos com DM induzido por estreptozotocina. Lee et al. (2007) reportam aumento no metabolismo do omeprazol em ratos com diabetes induzido por aloxano ou estreptozotocina, com sugestão de indução do CYP1A2 e CYP3A1. O metabolismo da antipirina é induzido em pacientes portadores de DM tipo 1, com sugestão de aumento na atividade do CYP1A2 (MATZKE et al., 2000; SOTANIEMI et al., 2002). No entanto, a atividade do CYP3A4 é reduzida em pacientes hipertensos portadores de DM tipo 2 tratados com nisoldipina (MARQUES et al., 2002). Moisés et al. (2008) relatam redução do *clearance* aparente (Cl/f) da lidocaína em pacientes com DMG, sugerindo inibição do CYP1A2 e o CYP3A4.

As alterações provocadas pelo DM nas reações de conjugação catalisadas pelas UDP-glucuronosiltransferases (UGTs) ainda são conflituosas. As UGTs são enzimas microsossomais responsáveis pelas reações de glicuronidação e que existem como uma superfamília de enzimas. A glicuronidação catalisada pelas UGTs é dependente da quantidade de UDP-ácido glicurônico (UDPGA) (GRANT et al., 1987). A ativação ou inibição da glicuronidação pode ser devido também a indução ou inibição direta da enzima. (BRAUN et al. 1998).

A concentração intracelular de UDP-ácido glicurônico é reduzida no fígado de ratos

com diabetes induzido por estreptozotocina, com conseqüente redução na capacidade de conjugação de 1-naftol e fenolftaleína (GRANT et al., 1987). No entanto, estudos posteriores realizados por Braun et al. (1998) mostram aumento na concentração de UGT1A1 em microsomas hepáticos de ratos espontaneamente diabéticos.

1.3 Farmacocinética na gravidez

A gravidez é considerada um estado fisiológico associado com alterações na disposição cinética e metabolismo de fármacos. Na absorção, há redução na motilidade intestinal, velocidade de esvaziamento gástrico e aumento do pH gástrico, levando a redução nas secreções gástricas. O volume de distribuição (Vd) de medicamentos geralmente é aumentado em função do aumento do volume do líquido extracelular, da menor concentração plasmática de albumina e α_1 -glicoproteína ácida e do aumento da concentração de ácidos graxos livres. O metabolismo é uma importante via de eliminação não renal de medicamentos e que varia na gravidez, em conseqüência da indução ou inibição enzimáticas dependente do equilíbrio entre concentração de progesterona e de estrógeno e, em menor extensão, da contribuição do compartimento fetal no metabolismo. Há aumento da atividade do CYP3A4, CYP2D6, CYP2C9 e UGT1A4, UGT2B7 e diminuição da atividade do CYP1A2 e CYP2C19. O *clearance* renal de medicamentos também é aumentado em razão do fluxo de sangue renal. Essas alterações podem traduzir em menores ou maiores concentrações plasmáticas de medicamentos quando gestantes são tratadas com regimes de dosagem convencionais (LITTLE, 1999; DAWES et al., 2001; ANDERSON, 2005).

Estudos reportados por Miners (1986) e Beaulac-Baillargeon (1994) ao estudarem o metabolismo do paracetamol (substrato de UGT1A1) durante a gravidez, observaram aumento do *clearance* oral e diminuição da meia-vida de eliminação do paracetamol, como

conseqüência do aumento de 75 % na capacidade de glicuronidação. Tracy et al. (2005) reportam que a atividade do CYP1A2 (expressa através do *clearance* da cafeína) está reduzida, enquanto a atividade do CYP2D6 (expressa através da O-desmetilação do dextrometorfano) e a atividade do CYP3A (expressa através da N-desmetilação do dextrometorfano) estão aumentadas durante os três trimestres da gravidez.

A atividade das isoenzimas do CYP e UGT é baixa no fígado fetal quando comparada com a atividade no fígado de mulheres grávidas. O CYP3A7 é predominante, mas os níveis de CYP3A4 no fígado fetal são baixos. A atividade do CYP2C9 e CYP2C19 no feto é 1-2 % da atividade materna durante o primeiro trimestre da gestação, alcançando aproximadamente 30 % dos valores do adulto ao nascimento (ANDERSON, 2005).

1.4 Hipertensão arterial na gravidez

A elevação da pressão sanguínea na gravidez ocorre quando a pressão arterial sistólica e diastólica for maior ou igual a 140/90 mmHg. A hipertensão arterial na gravidez pode ser classificada em pré-existente (crônica), pré-eclâmpsia com superposição de hipertensão crônica, pré-eclâmpsia/eclâmpsia e hipertensão arterial gestacional. A pré-eclâmpsia ocorre geralmente após 20 semanas de gravidez e caracteriza-se pela elevação da pressão sanguínea acompanhada por proteinúria e a eclâmpsia é a ocorrência, na mulher com pré-eclâmpsia, de convulsões não atribuídas a outras causas. As desordens hipertensivas ocorrem em 6 a 8 % das gestações e contribuem significativamente como causa de mortalidade e morbidade maternas e perinatais, portanto a terapia anti-hipertensiva é necessária para preservar a segurança materna na gravidez e no período pós-natal (NHBPP, 2000). Os principais agentes anti-hipertensivos utilizados na gestação são a metildopa (agonista adrenérgico α_2), o labetalol (bloqueador α_1 e β -adrenérgico), a

hidralazina (vasodilatador direto) e a nifedipina (bloqueador de canal de cálcio) (MAGEE, 2001).

O labetalol age como bloqueador seletivo α_1 -adrenérgico e não seletivo β -adrenérgico, com proporção α/β de 1:7 após a administração intravenosa e 1:3 após a administração oral, levando a significativa redução na pressão sanguínea pela diminuição da resistência vascular sistêmica, sem diminuição do fluxo sanguíneo útero-placentário, indicando diminuição na resistência vascular útero-placentária e sem alterações significativas na frequência cardíaca ou no débito cardíaco (ELATROUS et al. 2002; VARON et al. 2003; BELAL et al. 2003). É um fármaco considerado seguro para uso em gestantes, por não estar associado com restrição do crescimento intrauterino e hipoglicemia fetal, efeitos relatados para os β -bloqueadores (principalmente para o atenolol) e a bradicardia causada no feto, não é comum (KEAN, 2002; ROSENTHAL et al., 2002). O labetalol está associado com menor hipotensão materna, menor número de cesareanas e a hipotensão transitória observada nos recém-nascidos de mães tratadas com labetalol desaparece em 24 horas (QASQAS et al., 2004).

1.5 Farmacocinética do labetalol

O labetalol apresenta dois centros quirais, quatro estereoisômeros, disponível para uso clínico como uma mistura de dois pares diastereoisoméricos de racematos. O estereoisômero (R,R), denominado de dilevalol, representa 25 % da mistura isomérica e apresenta atividade principal como antagonista β não seletivo e agonista β_2 seletivo. O estereoisômero (S,R) é altamente seletivo para o α_1 .adrenoceptor, sendo responsável pela maioria da atividade α -bloqueadora. Os estereoisômeros (R,S) e (S,S) são relativamente menos potentes como

antagonistas adrenoceptores e considerados por alguns autores como farmacologicamente inativos (DONNELLY et al., 1991; KULIG et al., 2004).

O labetalol é completamente e rapidamente absorvido no trato gastrointestinal com picos de concentração plasmática máxima (C_{max}) ocorrendo de 1 a 2 horas e meia-vida de eliminação ($t_{1/2}$) de 6 a 8 horas após a administração oral em homens e mulheres não grávidas. O labetalol apresenta alto *clearance* hepático e extenso metabolismo pré-sistêmico, o que resulta em baixa biodisponibilidade oral (em torno de 30%) (DONNELLY et al., 1991). A ligação do labetalol às proteínas plasmáticas é de aproximadamente 50 %, com α_1 -glicoproteína ácida e albumina representando as proteínas de maiores ligação no plasma (MARTINEZ-GOMEZ et al., 2006). É extensivamente metabolizado no fígado, com menos de 5 % da dose sendo excretada sob a forma inalterada na urina. A principal via de metabolismo é a glicuronidação dependente da atividade de UGT1A1 e UGT2B7 (JEONG et al., 2008).

O *clearance* oral do labetalol é aumentado durante o segundo e o terceiro trimestres da gravidez quando comparado aos valores do pós-parto. Como não há alteração na ligação do fármaco às proteínas plasmáticas, o aumento da eliminação do labetalol nas mulheres grávidas pode ser explicado pelo aumento da atividade da UGT1A1 e pela glicuronidação adicional hepática fetal exercida pela UGT2B7 que tem expressão no fígado fetal de 10-20 % dos níveis em adultos (CHOI et al., 2007; JEONG et al., 2008).

O labetalol é biotransformado por conjugação em três glicuronídeos, o benzílico, o fenólico e o hidróxi (NIEMEIJER et al., 1991, MARTIN et al., 1976, 1978, YELESWARAM et al., 1993). O labetalol também sofre N-desalquilação oxidativa com formação do metabólito APB (3-amino-1-fenilbutano) e AHB (3-amino-1-(4-hidroxifenil) butano) (ALTON et al., 1994; GAL et al., 1988; YELESWARAM et al., 1992). Foi proposta ainda por Gal (1988) a formação dos produtos ácido e triol a partir do aldeído; Figura 1.

Adicionalmente, Roberts et al. (2002) citaram a participação do CYP2D6 no metabolismo oxidativo do labetalol.

A administração oral da mistura isomérica de labetalol resulta na predominância do estereoisômero (S,S) no plasma e na urina. A proporção no plasma dos estereoisômeros (R,S) e (R,R) é de 22 e 9 %, respectivamente, enquanto na urina é de 4 e 24 %, respectivamente, sugerindo estereosseletividade no *clearance* renal (DAKERS et al., 1997). Em 1990, Lalonde et al. relataram que as concentrações plasmáticas de (R,R)-labetalol são aproximadamente 40 % menores que as dos outros estereoisômeros, confirmando a estereosseletividade na disposição cinética do labetalol. Para Johnson et al. (2000) as concentrações plasmáticas de labetalol são 80 % mais altas em mulheres do que em homens. No entanto, a resposta anti-hipertensiva é similar considerando que a concentração do estereoisômero (R,R) responsável pela resposta β -bloqueadora é similar entre homens e mulheres.

Em 1999, Boulton et al. reportaram a distribuição transplacentária do labetalol em 04 parturientes (50-200 mg de labetalol como mistura isomérica administrado a cada 08 ou 12 horas) e observaram estereosseletividade na disposição cinética do labetalol no sangue materno e no sangue do cordão umbilical, com maiores concentrações plasmáticas do estereoisômero inativo (S,S). Segundo Qasqas et al. (2004), o labetalol é excretado no leite materno com o pico de concentração ocorrendo em 3 horas após a dose, com razão de concentrações leite/plasma variando de 0,8 a 2,6 nas mães lactentes. Relataram também que as concentrações plasmáticas no sangue do cordão umbilical representam 50 a 75 % das concentrações plasmáticas observadas no sangue materno no momento do parto.

Estudos anteriores mostram que o DM pode alterar os processos farmacocinéticos enantiosseletivos (EMAMI et al., 1998) e que as modificações e adaptações fisiológicas na gravidez também promovem alterações no metabolismo do labetalol (JEONG et al., 2008). Considerando a ausência de dados relativos a estereosseletividade no metabolismo do labetalol

em gestantes hipertensas portadoras ou não de DMG, o presente estudo visa avaliar a influência da via de administração e do DMG na disposição cinética e no metabolismo dos estereoisômeros do labetalol em gestantes hipertensas

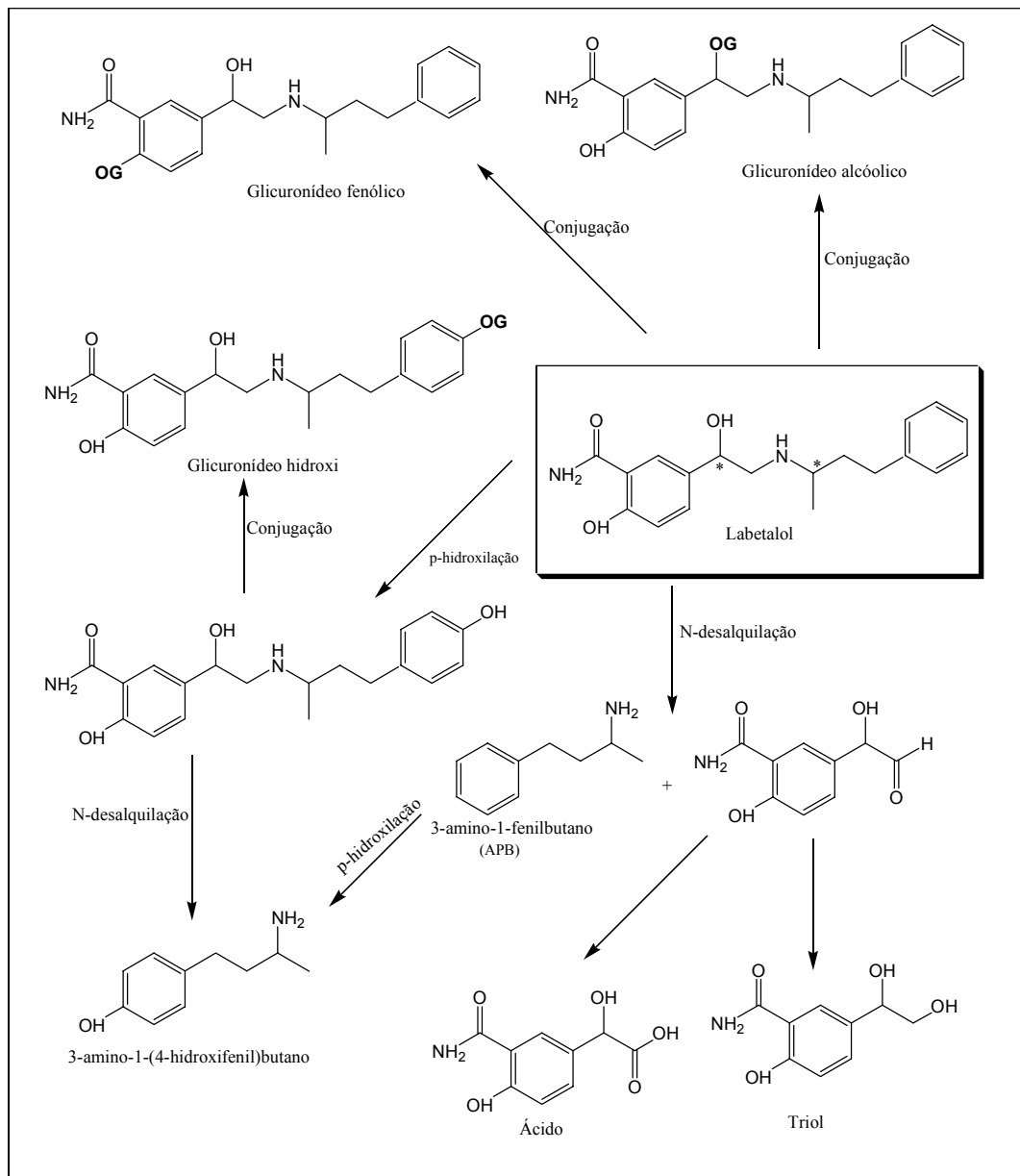


Figura 1: Metabolismo do labetalol no homem (NIEMEIJER et al., 1991, MARTIN et al., 1976, 1978, YELESWARAM et al., 1992, 1993, ALTON et al., 1994; GAL et al., 1988)
* carbono quiral

CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

1- Os métodos de análise dos estereoisômeros do labetalol inalterado e labetalol total em plasma humano, empregando a coluna quiral Chirobiotic V acoplada ao sistema LC-MS/MS, apresentam limites de confiança compatíveis com a aplicação em estudo clínico de dose única do fármaco administrado por via oral ou endovenosa.

2- A farmacocinética do labetalol não é estereosseletiva em gestantes hipertensas não diabéticas e em gestantes hipertensas diabéticas tratadas com o fármaco por via endovenosa.

3- A farmacocinética do labetalol é estereosseletiva em gestantes hipertensas não diabéticas e em gestantes hipertensas diabéticas tratadas com o fármaco por via oral com observação de menores valores de AUC para o isômero ativo (R,R)-labetalol. A razão estereoisomérica de AUC (R,R)/(S,S) é menor ($p < 0,05$) na administração oral do que na administração endovenosa tanto no grupo das gestantes não diabéticas (0,51 vs 1,02)) quanto no grupo das gestantes diabéticas (0,42 vs 0,86).

4- A biodisponibilidade do isômero (S,R)-labetalol é maior em gestantes diabéticas do que em gestantes não diabéticas (54,7 vs 24,0 %).

5- A porcentagem de conjugação do isômero (S,R)-labetalol é reduzida em pacientes diabéticas (68,4 vs 77,9 %).

6- Os valores de AUC do isômero (S,R)-labetalol são aproximadamente 100 % maiores em gestantes diabéticas quando comparados aos valores obtidos para gestantes não diabéticas (162,7 vs 84,2 ng.h/mL).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALTON, K.B.; LEITZ, F.; BARILETTO, S.; JAWORSKY, L.; DESRIVIERES, D.; PATRICK, J. High-performance liquid chromatographic assay for labetalol in human plasma using a PRP-1 column and fluorimetric detection. *J. Chromatogr. B*, Amsterdam, v. 311, p. 319-328, 1984.
2. ALTON, K.B.; CHAN, T.; PRAMANIK, B.N. Urinary metabolites of (R),(R)- labetalol. *Drug Metab. Dispos.*, Baltimore, v. 22 (6), p. 1-134, 1994.
3. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, New York, v. 31, suppl.1, p. S55-S60, 2008.
4. ANDERSON, G.D. Pregnancy-induced changes in pharmacokinetics – a mechanistic-based approach. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v. 44, n.10, p. 989-1008, 2005.
5. ANDRISANO, V.; BALLARDINI, R.; HRELIA, P.; CAMELI, N.; TOSTI, A.; GOTTI, R.; CAVRINI, V. Studies on the photostability and in vitro phototoxicity of labetalol. *Eur. J. Pharm. Sci.*, Amsterdam v. 12, p. 495-504, 2001.
6. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária: Resolução RE nº 899 de 29 de maio de 2003. Guia para Validação de Métodos Bioanalíticos. *Diário Oficial*, 30 de maio de 2003.
7. BAZYŁAK G.; ABOUL-ENEIN H.Y. Direct separation of labetalol stereoisomers in a high performance liquid chromatography system using helically self-assembled chelate as chiral selector in the mobile phase. *J. Liq. Chrom. Rel. Technol.*, London, v. 22, p. 1171-1192, 1999.
8. BEAULAC-BAILLARGEON, L.; ROCHELEAU, S. Paracetamol pharmacokinetics during the first trimester of human pregnancy. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, Berlin, v. 46, p. 451-454, 1994.
9. BELAL, F.; AL-SHABOURY, S.; AL-TAMRA, A.S. Spectrophotometric determination of labetalol in pharmaceutical preparations and spiked human urine. *Il Farmaco*, Pavia, v. 58, p. 293-299, 2003.

10. BORALLI, V.B. Estereosseletividade no metabolismo do metoprolol: estudo experimental e investigação de pacientes hipertensos portadores de diabetes *mellitus* e voluntários sadios, 2006. 160f. Tese (Doutorado em Toxicologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
11. BOULTON, D.W.; DAKERS, J.M.; FAWCETT, J.P.; FIDDES, T.M. Transplacental distribution of labetalol stereoisomers at delivery. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, London, v. 47, p. 573-574, 1999.
12. BRAUN, L.; COFFEY, M.J.; PUKÁS, F.; KARDON, T.; NAGY, G.; CONLEY, A. A.; BURCHELL, B.; MANDL, J. Molecular basis of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase induction in spontaneously diabetic rats, acetone-treated rats and starved rats. *Biochem. J.*, London, v. 336, p. 587-592, 1998.
13. BROCKS, D.R. Drug disposition in three dimensions: an update on stereoselectivity in pharmacokinetics. *Biopharm. Drug Dispos.*, Chichester Wiley, v. 27, p. 387-406, 2006.
14. BRYSON, C.L.; IOANNOU, G.N.; RULYAK, S.J.; CRITCHLOW, C. Association between gestational diabetes and pregnancy-induced hypertension. *Am. J. Epidemiol.*, Baltimore, v. 158, p. 1148-1153, 2003.
15. CALDWELL, J. Importance of stereospecific bioanalytical monitoring in drug development, *J. Chromatogr. A*, Amsterdam, v. 719, p. 3-13, 1996.
16. CARVALHO, T.M.J.P.; CAVALLI, R.C.; MARQUES, M.P.; CUNHA, S.P.; BARALDI, C.O.; LANCHOTE, V.L. Stereoselective analysis of labetalol in human plasma by LC-MS/MS: application to pharmacokinetics. *Chirality*, New York, no prelo 2008.
17. CHENG, P.Y.; MORGAN, E.T. Hepatic cytochrome P450 regulation in disease states. *Curr. Drug Metab.*, Netherlands, v. 2 (2), p. 165-183, 2001.
18. CHOI, S.; JEONG, H. Protein binding of labetalol in pregnancy. *Clin. Pharmacol. Ther.*, St. Louis, v. 81, supplement 1, p. S79, 2007.
19. DAKERS, J.M.; BOULTON, D.W.; FAWCETT, J.P. Sensitive chiral high-performance liquid chromatographic assay for labetalol in biological fluids. *J. Chromatogr. B*, Amsterdam, v. 704, p. 215-230, 1997.

20. DAWES, M.; CHOWIENCZYK, P.J. Pharmacokinetics in pregnancy. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, Amsterdam, v. 15 (6), p. 819-826, 2001.
21. DEL VILLAR, E.; VEGA, P.; GAULE, C.; SANCHEZ, E. Diabetes in female rats; changes in liver microsomal aminopyrine N-demethylase and UDP-glucuronyl transferase activities. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.*, Geneva, v. 15 (4), p. 279-285, 1990.
22. DESAI, D.M.; GAL, J. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of the stereoisomers of labetalol via derivation with chiral and non-chiral isothiocyanate reagents. *J. Chromatogr. B*, Amsterdam, v. 579, p. 165-171, 1992.
23. DONNELLY R.; MACPHEE, G.I. Clinical pharmacokinetics and kinetics-dynamic relationships of dilevalol and labetalol. *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v. 21 (2), p. 95-109, 1991.
24. DOROUDIAN, A.; YELESWARAM, K. Sensitive high-performance liquid chromatographic method for direct separation of labetalol stereoisomers in biological fluids using a α_1 -acid glycoprotein stationary phase. *J. Chromatogr. B*, Amsterdam, v. 619, p. 79-86, 1993.
25. DUPONT, W.D.; PLUMMER, W.D. PS power and sample size program available for free on the Internet. *Control. Clin. Trials*, New York, v.18 (3), p. 274, 1997.
26. EACHO, P.I.; SWEENEY, D.; WEINER, M. Conjugation of p -nitroanisole and p -nitrophenol in hepatocytes isolated from streptozotocin diabetic rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, Baltimore, v. 218 (1), p.34-40, 1981.
27. ELATROUS, S.; NOUIRA, S.; BESBES, O.; MARGHLI, S.; BOUSSARSSAR, M.; SAKKOUHI, M.; ABROUG, F. Short-term treatment of severe hypertension of pregnancy: prospective comparison of nicardipine and labetalol. *Intensive Care Med.*, New York, v. 28 (9), p. 1281-1286, 2002.
28. EMAMI, J., PASSUTTO, F.M.; JAMALI, F. Effect of experimental diabetes mellitus and arthritis on the pharmacokinetics of hydroxychloroquine enantiomers in rats. *Pharm. Res.*, New York, v. 15 (6), p. 897-903, 1998.
29. GAL, J.; ZIRROLI, J.A.; LICHTENSTEIN, P.S. Labetalol is metabolized oxidatively in humans. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, Westbury, v. 62 (1), p. 3-17, 1988.

30. GODOY, A.L.P.C. Influência do diabetes experimental na disposição cinética e metabolismo estereosseletivo da mexiletina em ratos, 2006, 139f. Dissertação (Mestrado em Toxicologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
31. GOEL, T.V.; NIKELLY, J.G.; SIMPSON, R.C.; MATTUSZEWSKI, B.K. Chiral separation of labetalol stereoisomers in human plasma by capillary eletrophoresis. *J. Chromatogr. A*, Amsterdam, v. 1027, p. 213-221, 2004.
32. GRANT, M.H.; DUTHIE, S.J. Conjugation reactions in hepatocytes isolated from streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochem. Pharmacol.*, Oxford, v. 36 (21), p. 3647-3655, 1987.
33. JAMALI, F.; MEHVAR, R.; PASUTTO, F.M. Enantioselective aspects of drug action and disposition: therapeutic pitfalls. *J. Pharm. Sci.*, Tokyo, v. 78 (9), p. 695-715, 1989.
34. JEONG, H.; CHOI, S.; SONG, J.W.; CHEN, H.; FISCHER, J.H. Regulation of UDP-glucuronosyltransferase (UGT)1A1 by progesterone and its impact on labetalol elimination. *Xenobiotica*, London, v. 38 (1), p. 62-75, 2008.
35. JOHNSON, J.A.; AKERS, W.S.; HERRING, V.L.; WOLFE, M.S. Gender differences in labetalol kinetics: importance of determining stereoisomer kinetics for racemic drugs. *Pharmacotherapy*, Boston, v. 20 (6), p. 622-628, 2000.
36. JOSEFSSON, M.; SABANOVIV, A. Sample preparation on polymeric solid extraction sorbents for liquid chromatographic-tandem mass spectrometric analysis of human whole blood- A study on a number of beta-agonists and beta-antagonists. *J. Chromatogr. A*, Amsterdam, v. 1120, p. 1-12, 2006.
37. KEAN, L. Managing hypertension in pregnancy. *Curr. Obstet. Gynaecol.*, New York v. 12, p. 104-110, 2002.
38. KROEMER, H.K.; FROMM, M.F.; EICHELBAUM, M. Stereoselectivity in drug metabolism and action: effects of enzyme inhibition and induction. *Ther. Drug Monit.*, New York, v. 18, p. 388-92, 1996.
39. KULIG, K.; NOWICKI, P.; MALAWSKA, B., Influence of the absolute configuration on pharmacological activity of antihypertensive and antiarrhythmic drugs. *Pol. J. Pharmacol.*, Warszawa, v. 56, p. 499-508, 2004.

40. LALONDE, R.L.; O'REAR, T.L.; WAINER, J.W.; DRDA, K.D.; HERRING, V.L. Labetalol pharmacokinetics and pharmacodynamics: evidence of stereoselective disposition. *Clin. Pharmacol. Ther.*, St. Louis, v. 48 (5), p. 509-519, 1990.
41. LEE, D.Y.; LEE, M.G.; SHIN, H.S.; LEE, I. Changes in omeprazole pharmacokinetics in rats with diabetes induced by alloxan or streptozotocin: faster clearance of omeprazole due to induction of hepatic CYP1A2 and 3A1. *J. Pharm. Pharm. Sci.*, Edmonton, Alta, v. 10 (4), p. 420-433, 2007.
42. LENNARD, M.S. Clinical pharmacology through the looking glass: reflections on the racemate vs enantiomer debate. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, London, v. 31, p. 623-625, 1991.
43. LITTLE, B.B. Pharmacokinetics during pregnancy: evidence-based maternal dose formulation. *Obstet. Gynecol.*, New York, v. 93 (5), p. 858-868, 1999.
44. McCONATHY, J.; OWENS, M.J. Stereochemistry in drug action. *Primare Care Companion J. Clin. Psychiatry*, Memphis, v. 5 (2), p. 70-73, 2003.
45. MAIER, M.M.; FRANCO, P.; LINDNER, W. Separation of enantiomers: needs, challenges, perspectives. *J. Chromatogr.*, Amsterdam, v. 906, p. 3-33, 2001.
46. MAGEE, L.A. Drugs in pregnancy. Antihypertensives. *Best Pract. Res. Obstet. Gynaecol.*, Amsterdam, v. 15 (6), p. 827-845, 2001.
47. 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.*, Berlin, v. 58, p. 607-14, 2002.
48. MARTIN, L.E.; HOPKINS, R.; BLAND, R. Metabolism of Labetalol by animals and man. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, London, v. 3 supplement 3, p. 695-710, 1976.
49. MARTIN, L.E.; CAREY, P.; BLAND, R. Assay of Labetalol and its metabolites in biological fluids. *Meth. Surv. Biochem.*, New York, v. 7, p. 227-242, 1978.
50. MARTÍNEZ-GOMEZ, M.A.; SAGRADO, S.; VILLANUEVA-CAMAÑAS, R.M.; MEDINA-HERNÁNDEZ, M.J. Characterization of basic drug-human serum protein interactions by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, Weinheim, v. 27 (17), p. 3410-3419, 2006.

51. 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*, Boston, v. 20, p. 182-190, 2000.
52. MAURER, H.H.; TENBERKEN O.; KRATZSCH, C.; WEBER, A.A.; PETERS, F.T. Screening for library-assisted identification and fully validated quantification of 22 beta-blockers in blood plasma by liquid chromatography-mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization. *J. Chromatogr. A*, Amsterdam, v. 1058, p. 169-181, 2004.
53. MEHVAR, R.; BROCKS, D.R. Stereospecific pharmacokinetics and pharmacodynamics of beta-adrenergic blockers in humans, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, Philadelphia, v. 4 (2), p. 185-200, 2001.
54. MINERS, J.O.; ROBSON, R.A.; BIRKETT, D.J. Paracetamol metabolism in pregnancy. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, London, v. 22 (3), p. 359-362, 1986.
55. MORRISON, M.H.; HAWKSWORTH, G.M. Glucuronic acid conjugation by hepatic microsomal fractions isolated from streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochem. Pharmacol.*, Oxford, v. 33 (23), p. 3833-3838, 1984.
56. MOISÉS, E.C.D.; DUARTE, L.B.; CAVALLI, R.C.; MARQUES, M.P.; LANCHOTE, V.L.; DUARTE, G.; CUNHA, S.P. Pharmacokinetics of lidocaine and its metabolite in peridural anesthesia administered to pregnant women with gestational diabetes mellitus. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, Berlin, v. (64), p. 1189-1196, 2008.
57. NATIONAL HIGH BLOOD PRESSURE EDUCATION PROGRAM (NHBEP). *Am. J. Obstet. Gynecol.*, St. Louis, v. 183, p. S1-S22, 2000.
58. NIEMEIJER, N.R.; GERDING, T.K.; ZEEUW, R.A. Glucuronidation of labetalol at labetalol at the two hydroxy positions by bovine liver microsomes. *Drug Metab. Dispos.*, Baltimore, v. 19 (1), p. 20-23, 1991.
59. ÖSTLUND, I.; HAGLUND, B.; HANSON, U. Gestacional diabetes and preeclampsia. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biology*, Amsterdam, v. 113, p. 12-16, 2004.
60. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of a WHO consultation, Geneva, 1999.

61. PAPINI, O.; BERTUCCI, C.; CUNHA, S.P.; DOS SANTOS, N.A.G.; LANCHOTE, V.L. Quantitative assay of lorazepam and its metabolite glucuronide by reverse-phase liquid chromatography-tandem mass spectrometry in human plasma and urine samples. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, Oxford v. 40, p. 389–396, 2006.
62. 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*, Basel, v. 72 (2), p. 85-91, 2004.
63. POGGI, J.C.; BARISSA, G.R.; DONADI, E.A.; FOSS, M.C.; CUNHA, F.Q.; LANCHOTE, V.L.; REIS, M.L. Pharmacodynamics, chiral pharmacokinetics and pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of fenoprofen in patients with diabetes mellitus. *J. Clin. Pharmacol.*, Thousand Oaks, v. 46, p. 1328-1336, 2006.
64. QASQAS, S.A.; McPHERSON, C.; FRISHMAN W.H.; ELKAYAM, U. Cardiovascular pharmacotherapeutic considerations during pregnancy and lactation, *Cardiol. Rev.*, Baltimore, v. 12 (5), p. 240-261, 2004.
65. RENTSCH, K.M. The importance of stereoselective determination of drugs in the clinical laboratory. *J. Biochem. Biophys. Methods*, Amsterdam, v. 54, p. 1-9, 2002.
66. ROBERTS, R.L.; BEGG, E.J.; JOYCE, P.R.; KENNEDY, M.A. How the pharmacogenetics of cytochrome P450 enzymes may affect prescribing. *N. Z. Med. J.*, Wellington, v. 115, p. 137-140, 2002.
67. ROSENTHAL, T.; OPARIL, S. The effect of antihypertensive drugs on the fetus. *J. Hum. Hypertens.*, London, v. 16 (5), p. 293-298, 2002.
68. ROCHA, A.; COELHO, E.B.; LANCHOTE, V.L. Stereospecific disposition of fluvastatin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, Ottawa, v. 80, p. 1071-1075, 2002.
69. RODEN, D.M. Mirror, mirror on the wall. Stereochemistry in therapeutics. *Circulation*, Hagerstown, v. 89, p. 2451-3, 1994.
70. ROGERS, R.C.; SIBAI, B.M.; WHYBREW, W.D. Labetalol pharmacokinetics in pregnancy-induced hypertension. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, St. Louis, v. 162, p. 362-366, 1990.

71. RUBIN, P.C; BUTTERS, L.; KELMAN, A.W.; KITZSIMONS, C.; REID, J.L. Labetalol disposition and concentration-effect relationships during pregnancy. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, London, v. 15 (4), p. 465-470, 1983.
72. SAOTOME, T.; MINOURA, S.; TERSAHI, K.; SATO, T.; ECHIZEN, H.; ISHIZAKI, T. Labetalol in hypertension during the third trimester of pregnancy: its antihypertensive effect and pharmacokinetic-dynamic analysis. *J. Clin. Pharmacol.*, Stamford, v. 33 (10), p. 979-988, 1993.
73. SHAW, M.A. News insights into drugs metabolism and toxicology. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, London, v. 51, p. 209-212, 2001.
74. SILVA, F.G. Influência do diabetes *mellitus* e da insuficiência renal crônica em tratamento dialítico na farmacocinética e farmacodinâmica do carvedilol em pacientes hipertensos, 2008. 145f. Tese (Doutorado em Toxicologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
75. SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes, 2008.
76. SOTANIEMI, E.A.; PELKONEN, O.; ARRANTO, A.J.; TAPANAINEN, P.; RAUTIO, A.; PASANEN, M., Diabetes and elimination of antipyrine in man: an analysis of 298 patients classified by type of diabetes, age, sex, duration of disease and liver involvement. *Pharmacol. Toxicol.*, Copenhagen, Denmark, v. 90 (3), p. 155-160, 2002.
77. TRACY, T.S.; VENKATARAMANAN, R.; GLOVER, D.D.; CARITIS, S.N. Temporal changes in drug metabolism (CYP1A2, CYP2D6 and CYP3A4 activity) during pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, St. Louis, v. 192 (2), p. 633-639, 2005.
78. TODA, A.; EYANAGI, R.; SAITO, H.; SOEDA, S.; SHIMENO, H.; MORIYAMA, M.; SHIGEMATSU, H. Effects of experimental diabetes on hepatic drug metabolism in rats: the activities of flavin-containing monooxygenase, the phase II conjugation reactions and glutathione related enzymes. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, Westbury, v. 117, p. 13-27, 2005.
79. TUCKER, G.T.; LENNARD, M.S. Enantiomer specific pharmacokinetics. *Pharmacol. Ther.*, Oxford, v. 45 (3), p. 309-329, 1990.
80. UMEZAWA H.; LEE X.; ARIMA Y.; HASEGAWA C.; IZAWA H.; KUMAZAWA T. Simultaneous determination of b-blockers in human plasma using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Biomed. Chromatogr.*, London, v. 22, p. 702-711, 2008.

81. VARON, J.; MARIK, P. Clinical review: the management of hypertensive crises, *Crit. Care*, London, v. 7 (5), p. 374-384, 2003.

82. VEGA, P; GAULE, C.; SANCHEZ, E.; DEL VILLAR, E. Inhibition and activation of UDP-glucuronyltransferase in alloxanic-diabetic rats. *Gen. Pharmacol.*, Oxford, v. 17 (6), p. 641-645, 1986.

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

84. YELESWARAM, K; Sensitive microbore high-performance liquid chromatographic assay for labetalol in the biological fluids of pregnant sheep, *J. Chromatogr. B*, Amsterdam, v. 565, p. 383-390, 1991.

85. YELESWARAM, K; RURAK, D.W.; KWAN, E.; HALL, C.; ABBOTT, F.S.; AXELSON, J.E. Identification and quantification of an oxidative metabolite of labetalol in sheep: pharmacokinetic and metabolic implications. *Biol. Mass Spectrom.*, Chichester, v. 21 (2), p. 534-540, 1992.

86. YELESWARAM, K; RURAK, D.W.; KWAN, E.; HALL, C.; DOROUDIAN, A.; ABBOTT, F.S.; AXELSON, J.E. Disposition, metabolism and pharmacodynamics of labetalol in adult sheep. *Drug Metab. Dispos.*, Baltimore, v. 21 (2), p. 284-292, 1993

87. WALDECK, B. Three-dimensional pharmacology, a subject ranging from ignorance to overstatements. *Pharmacol. Toxicol.*, Copenhagen, Denmark, v. 93 (5), p. 203-210, 2003.