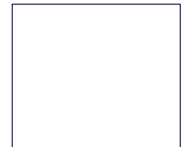


UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Farmacocinética e PK-PD dos isômeros do nebivolol em voluntários
sadios metabolizadores extensivos ou lentos para o CYP2D6



Carolina Pinto Vieira

Ribeirão Preto

2011

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Farmacocinética e PK-PD dos isômeros do nebivolol em
voluntários sadios metabolizadores extensivos ou lentos para o
CYP2D6**

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

Área de Concentração: Toxicologia

Orientada: Carolina Pinto Vieira

Orientadora: Profa Dra Vera Lucia Lanchote

Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP

Ribeirão Preto
2011

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.

Vieira, Carolina Pinto

Farmacocinética e PK-PD dos isômeros do nebivolol em voluntários sadios metabolizadores extensivos ou lentos para o C

Orientadora: Vera Lucia Lanchote. Ribeirão Preto, 2011.

83p.: il.; 30cm.

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de Concent

Orientador: Lanchote, Vera Lucia

1. Nebivolol; 2. Enantiômeros; 3. Farmacocinética;
4. voluntários sadios

Folha de Aprovação

Carolina Pinto Vieira

Farmacocinética e PK-PD dos isômeros do nebivolol em voluntários sadios
metabolizadores extensivos ou lentos para o CYP2D6

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

Área de Concentração: Toxicologia

Orientadora: Profa Dra Vera Lucia
Lanchote

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

Dedico este trabalho:

À Deus, por me conceder mais uma oportunidade de crescimento e força para superar os desafios ao longo dessa caminhada.

À minha mãe Valéria, pela educação a mim dispensada, pela minha formação e pelos mais belos exemplos de honestidade e dignidade

Por estar sempre presente, ainda que de longe, em todos os momentos felizes e tristes da minha vida.

E, sobretudo pelo seu amor incondicional.

À minha avó Helena pelo seu forte apoio na orientação de minha vida, em virtude de sua fonte de sabedoria derivada da longa experiência.

Ao meu pai Eduardo, Andressa, meus irmãos Matheus e Vinícius por estarem sempre ao meu lado e apoiarem minhas escolhas.

Agradecimiento

Meus sinceros agradecimentos

À Profa Dra Vera Lucia Lanchote, pela orientação, pelo enriquecimento científico, profissional e pessoal proporcionado neste período.

Aos voluntários, que aceitaram participar desse trabalho, dando a sua colaboração indispensável para a realização do mesmo.

À Maria Paula pelos ensinamentos e pela ajuda constante na execução desse trabalho.

Ao Sr Natalino pela ajuda e por tornar o laboratório um ambiente mais alegre.

A todos os colegas e amigos do Laboratório: Ana Leonor, Carolina Miranda, Francine, Juciane, Natália, Natalícia, Estela, Rodrigo, Otávio e Giovana, pelas trocas de experiências profissionais e pessoais, pela inestimável ajuda e pelo carinho no nosso convívio diário.

Ao meu amigo Daniel, pelo carinho, pela sua paciência e ajuda na realização deste trabalho.

Ao meu amigo Glauco, pelas incansáveis ajudas nos programas de computador.

Aos docentes e funcionários do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, em especial ao Departamento de Clínica Médica e Unidade de Pesquisa Clínica (UPC) pela parceria e contribuição no desenvolvimento do trabalho clínico, na seleção e coleta das amostras dos voluntários

Às funcionárias da seção de Pós-graduação, Ana, Rosana e Rosemary, pela dedicação e paciência.

Aos docentes e funcionários da Faculdade de Ciências Farmacêuticas-USP por possibilitar a realização do mestrado.

À minha amiga Thalita pela amizade e apoio tão fundamentais.

Ao Kid, meu fiel e grande amigo.

A todos que não foram citados aqui, mas que de alguma maneira contribuíram para a realização desse trabalho.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.



Resumo

VIEIRA, C.P. **Farmacocinética e PK-PD dos isômeros do nebivolol em voluntários sadios metabolizadores extensivos ou lentos para o CYP2D6**. 2011. 83f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

O nebivolol, um fármaco com quatro centros quirais, está disponível na clínica como mistura racêmica dos isômeros *d*-nebivolol (SRRR) e *l*-nebivolol (RSSS). A atividade β -adrenérgica do nebivolol reside no isômero *d*-nebivolol, enquanto o *l*-nebivolol promove a liberação de óxido nítrico das células endoteliais. O nebivolol é eliminado por metabolismo dependente do CYP2D6. O estudo avalia a farmacocinética e a relação farmacocinética-farmacodinâmica (PK-PD) dos isômeros do nebivolol em voluntários sadios. Foram investigados 15 voluntários sadios (10 homens e 5 mulheres) fenotipados com metoprolol como metabolizadores extensivos (EM, n=13) ou metabolizadores lentos para o CYP2D6 (PM, n=2). Os voluntários sadios foram tratados com dose única oral de 10 mg de nebivolol racêmico. As amostras seriadas de sangue foram coletadas até 48 h após a administração do fármaco. Os isômeros do nebivolol foram resolvidos na coluna Chirobiotic® V e analisados nas amostras de plasma empregando LC-MS/MS. Os parâmetros farmacocinéticos foram calculados por modelo bicompartimental com *lag time*, empregando o programa WinNonLin. A farmacodinâmica do nebivolol foi avaliada empregando como parâmetro a variação da frequência cardíaca entre os períodos final e anterior ao teste de esforço isométrico durante 2 min utilizando o *handgrip* a 30% da contratilidade voluntária máxima. A análise PK-PD relacionando o efeito na variação da frequência cardíaca induzida pelo exercício isométrico com as concentrações plasmáticas do isômero *d*-nebivolol foi avaliada empregando o modelo E_{max} sigmóide inibitório. A disposição cinética do nebivolol é enantiosseletiva nos voluntários sadios EM, com razões isoméricas de AUC_l/AUC_d de 1,41. Os valores de concentração plasmática máxima (1,46 vs 0,79 ng/mL), área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo (6,45 vs 3,99 ng.h/mL), *clearance* aparente (774,51 vs 1252,70 L/h) e volume de distribuição aparente (10936 vs 19082 L) mostram diferenças com significância estatística (Teste de Wilcoxon, $p < 0,05$) entre os isômeros *l*-nebivolol e *d*-nebivolol para os voluntários sadios EM. A disposição cinética do nebivolol não é enantiosseletiva nos voluntários sadios PM investigados, com razões isoméricas de AUC_l/AUC_d de 0,93 e 0,98. Os valores de *clearance* aparente obtidos para os voluntários PM (87-350 vs 81-344 L/h, respectivamente para o *l*-nebivolol e *d*-nebivolol) são menores do que para os EM (775 vs 1253 L/h). O modelo E_{max} sigmóide inibitório descreveu a análise PK-PD relacionando o efeito na variação da frequência cardíaca induzida pelo exercício isométrico com as concentrações plasmáticas do isômero *d*-nebivolol em voluntários sadios EM com valores de E_{max} de 4,47 bpm (IC 95% 1,37-7,57) e de EC_{50} de 222,16 pg/mL (IC 95% 96,29-540,60 pg/mL).

Palavras-chave: nebivolol, enantiômeros, farmacocinética, voluntários sadios



Abstract

VIEIRA, C.P. **Pharmacokinetics and PK-PD of the isomers of nebivolol in healthy volunteers extensive metabolisers or poor metabolisers for CYP2D6.**

2011. 83p Dissertation (Master Degree). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

Nebivolol is a drug with four chiral centers. It is administered in clinical practice as a racemic mixture of the isomers *d*-nebivolol (SRRR) and *l*-nebivolol (RSSS).

The β - blocking activity of nebivolol is attributed to *d*-nebivolol, whereas *l*-nebivolol promotes the release of nitric oxide from endothelial cells. Nebivolol is eliminated by metabolism dependent on CYP2D6. The present study evaluates the pharmacokinetic and pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) of nebivolol isomers in healthy volunteers (10 men and 5 women) phenotyped with metoprolol as extensive metabolisers (EM, n=13) or poor metabolisers for CYP2D6. The healthy volunteers received a single oral dose of 10mg of racemic nebivolol. Serial blood samples were collected from 0 to 48 h after the administration of nebivolol. The isomers of nebivolol were analyzed by LC-MS-MS on a Chirobiotic® V column and the pharmacokinetic parameters (bicompartiment model, micro, lag time, first order) were calculated by the software Winnonlin. The pharmacodynamic of nebivolol was evaluated using the variation of heart rate as parameter between the end and one minute before the handgrip exercise. Thus, the patients were oriented to conduct the isometric exercise with handgrip for 2 min at 30% of their maximum voluntary contractility. The PK-PD analysis relating the effect on the variation of heart rate induced by the isometric exercise and the plasma concentrations of the isomer *d*-nebivolol were evaluated using the Inhibitory effect sigmoid Emax model. The kinetic disposition of nebivolol is enantioselective on healthy volunteers EM, with isomeric ratios of AUC_l/AUC_d of 0,93 e 0,98. The values of maximum plasma concentration (1,46 vs 0,79 ng/mL), area under the concentration time curve (6,45 vs 3,99 ng.h/mL), apparent clearance (774,51 vs 1252,70 L/h) and volume of distribution (10936 vs 19082 L) show statistically significant differences ($p < 0.05$, Wilcoxon test) between the isomers *l*-nebivolol and *d*-nebivolol for the healthy volunteers EM. The kinetic disposition of nebivolol is not enantioselective on the healthy volunteers PM investigated, with isomeric ratios of AUC_l/AUC_d of 1,07. The values of apparent clearance obtained for the volunteers pm (87-350 vs 81-344 L/h, respectively to *l*-nebivolol and *d*-nebivolol) are smaller than that for EM (775 vs 1253 L/h). The Inhibitory effect sigmoid Emax model described the PK-PD analysis described the effect on the variation of heart rate induced by handgrip isometric exercise with the plasma concentrations of the isomer *d*-nebivolol in healthy volunteers EM with Emax values of 4,47 bpm (IC 95% 1,37-7,57) and EC50 of 222,16 pg/mL (IC 95% 96,29-540,60 pg/mL).

Key-words: nebivolol, enantiomers, pharmacokinetics, healthy volunteers.



Lista de Figuras

Figura 1: Estrutura do nebivolol e seus principais metabólitos	2
Figura 2: Metabolismo do nebivolol	4
Figura 3: Gráfico do tamanho amostral em relação ao poder do teste.....	12
Figura 4: Espectro de massas do íon molecular protonado e do íon produto do nebivolol e do íon molecular protonado e do íon produto do tramadol (PI)	24
Figura 5: Cromatogramas referentes à análise dos isômeros do nebivolol em plasma	25
Figura 6: Cromatogramas referentes à análise do metoprolol e do α -hidroximetoprolol em urina.....	27
Figura 7: Curvas de concentrações plasmáticas <i>versus</i> tempo dos isômeros do nebivolol em voluntários sadios tratados com dose única oral de 10 mg de nebivolol racêmico (n=13).....	29
Figura 8: Curvas de concentrações plasmáticas <i>versus</i> tempo dos isômeros do nebivolol no voluntário sadio 14 tratado com dose única oral de 10 mg de nebivolol racêmico	30
Figura 9: Curvas de concentrações plasmáticas <i>versus</i> tempo dos isômeros do nebivolol no voluntário sadio 15 tratado com dose única oral de 10 mg de nebivolol racêmico.....	30
Figura10: Curvas de concentrações plasmáticas <i>versus</i> tempo dos isômeros do nebivolol nos (n=13) voluntários fenotipados como metabolizadores extensivos e as curvas de concentrações plasmáticas <i>versus</i> tempo dos isômeros do nebivolol nos voluntários 14 e 15 fenotipados como metabolizadores lentos para o CYP2D6.....	31
Figura11: Curvas de variação da frequência cardíaca <i>versus</i> tempo para os voluntários sadios fenotipados como metabolizadores extensivos para o CYP2D6 e tratados com dose única oral de 10 mg de nebivolol racêmico (n=13).....	34
Figura12: Análise PK-PD relacionando as concentrações plasmáticas do isômero <i>d</i> -nebivolol em função do efeito na variação da frequência cardíaca induzida pelo exercício isométrico em voluntários sadios fenotipados como metabolizadores extensivos para o CYP2D6 e tratados com dose única oral de 10 mg de nebivolol racêmico (n=13).....	34



Lista de Tabelas

Tabela 1: Características dos voluntários investigados (n=15).....	23
Tabela 2: Efeito matriz para os isômeros do nebivolol e padrão interno (PI) em quatro diferentes lotes de plasma humano.....	25
Tabela 3: Parâmetros de validação do método de análise dos isômeros do nebivolol em plasma	26
Tabela 4: Estudo da estabilidade do método de análise dos isômeros do nebivolol	27
Tabela 5: Investigação do fenótipo oxidativo tipo metoprolol (n=15)	28
Tabela 6: Disposição cinética enantiosseletiva do nebivolol em voluntários sadios classificados como metabolizadores extensivos do CYP2D6 tratados com dose única oral de 10 mg de nebivolol racêmico(n=13)32	32
Tabela 7: Disposição cinética enantiosseletiva do nebivolol em voluntários sadios classificados como metabolizadores lentos do CYP2D6 tratados com dose única oral de 10 mg de nebivolol racêmico(n=2)..	33
Tabela 8: Parâmetros obtidos na análise PK-PD relacionando as concentrações plasmáticas <i>d</i> -nebivolol em função do efeito na variação da frequência cardíaca induzida pelo exercício isométrico em voluntários sadios fenotipados como metabolizadores extensivos para o CYP2D6 e tratados com dose única oral de 10 mg de nebivolol racêmico (n=13)	35



Lista de Abreviaturas e Siglas

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

α -OHM: α -hidroximetoprolol

Cl_{Cr}: *clearance* de creatinina

CEP: Comitê de Ética em Pesquisa

CV: coeficiente de variação

CYP: citocromo P450

DOQI: Disease Outcomes Quality Initiative

EM: metabolizador extensivo

EPM: erro padrão da média

ESI: *electrospray*

HDL: High Density Lipoprotein

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%: intervalo de confiança 95%

IMC: índice de massa corporal

LDL: Low Density Lipoprotein

LIQ: limite inferior de quantificação

LC: cromatografia líquida

LC-MS/MS: cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas

MET: metoprolol

MRM: monitoramento de reações múltiplas

MS/MS: espectrometria de massas

NYHA: New York Heart Association

PA: pressão arterial

PI: padrão interno

PM: metabolizador lento

r: coeficiente de correlação linear

AST: aspartato aminotransaminase

ALT: alanina aminotransaminase

v/v: volume/volume



Lista de Símbolos

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

Cl: *clearance* total

Cl/f: *clearance* total aparente

C_{max}: concentração plasmática máxima

PK/PD: farmacocinética-farmacodinâmica

t_{max}: tempo para atingir a C_{max}

t_{1/2} : meia-vida de eliminação

Vd: volume de distribuição

Vd/f: volume de distribuição aparente

®: marca registrada





*Su
mário*

1 Introdução

A hipertensão arterial atinge 30% da população adulta mundial. A Sociedade Brasileira de Hipertensão relata prevalência da doença na população adulta entre

22,3% a 43,9% (PINTO et al., 2011). Estima-se que no ano de 2025, 1,5 bilhões de pessoas serão hipertensas no mundo (SHARMA & HAKIM, 2011).

Os beta-bloqueadores são considerados fármacos de primeira escolha no tratamento da hipertensão (BAEK et al., 2008). Os beta-bloqueadores não seletivos ou os bloqueadores dos receptores β_1 e β_2 adrenérgicos incluem o propranolol, o pindolol, o nadolol, o timolol e o labetalol, entre outros. Os beta-bloqueadores seletivos dos receptores β_1 incluem o metoprolol, o atenolol, o esmolol, o acebutolol, o nebivolol, entre outros.

O nebivolol é um beta-bloqueador de terceira geração altamente seletivo dos receptores β_1 com ação vasodilatadora mediada pelo óxido nítrico e com efeitos benéficos na função endotelial vascular. O nebivolol é usado na clínica no tratamento da hipertensão e da insuficiência cardíaca crônica (SELVAN et al, 2007; MUNZEL et al., 2009).

O nebivolol, 1-(6-fluor-3,4-dihidro-2H-1-benzopirran-2-il)-2-[[2-(6-fluor-3,4-dihidro-2H-1-benzopirran-2-il)-2-hidroxi-etil]amino]etan-1-ol (Figura 1), um fármaco com quatro centros quirais, está disponível na clínica como mistura racêmica dos isômeros *d*-nebivolol (SRRR) e *l*-nebivolol (RSSS) (SELVAN et al.; 2007).

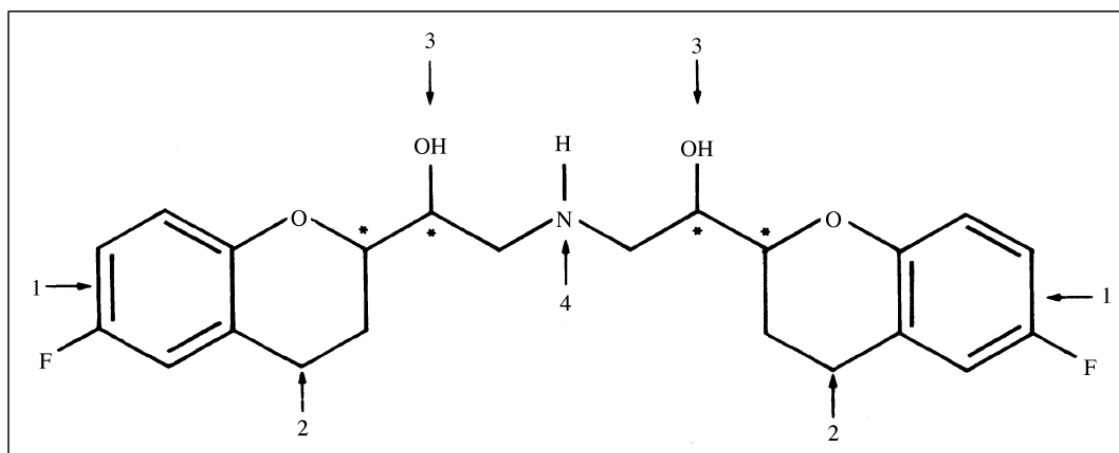


Figura 1: Estrutura do nebivolol e principais sítios de metabolismo. * denota os centros quirais. Principais sítios de metabolismo: 1-hidroxilação aromática, 2-oxidação alicíclica, 3-glicuronidação; 4 -N-desalquilação.

A atividade β -adrenérgica do nebivolol reside no isômero *d*-nebivolol, pois a afinidade do *l*-nebivolol para os receptores β_1 adrenérgicos é 175 vezes menor (PAUWELS et al., 1991). Um estudo duplo cego, randomizado e cruzado mostrou que em voluntários sadios o *l*-nebivolol não atenua o aumento da frequência cardíaca e da pressão arterial sistólica induzidas pelo exercício, enquanto 5 mg de nebivolol racêmico ou 2,5 mg de *d*-nebivolol atenua com significância estatística os

referidos parâmetros (NUETEM & CREE, 1998). No entanto, vários outros mecanismos, além do bloqueio de adrenoceptores β_1 estão envolvidos nas propriedades hemodinâmicas do nebivolol. O *l*-nebivolol, em doses que não interferem com os receptores β adrenérgicos, reduz a pressão arterial sanguínea. O *l*-nebivolol promove a liberação de óxido nítrico das células endoteliais, enquanto o *d*-nebivolol é destituído desta atividade. Esses achados contribuem para explicar a redução na resistência vascular periférica relatada para o nebivolol racêmico. Os efeitos do nebivolol racêmico na função ventricular esquerda são principalmente devido a ação β -bloqueadora do *d*-nebivolol, enquanto o *l*-nebivolol melhora os efeitos hemodinâmicos do *d*-nebivolol. Logo, o nebivolol racêmico reduz a pressão sistólica e a pressão diastólica e causa redução da resistência vascular periférica, sem deprimir a função ventricular esquerda (EVANGELISTA et al., 2007; MANGRELLA et al., 1998).

O nebivolol é um fármaco altamente lipofílico (coeficiente de distribuição octanol/água $\log P = 4,03$), com eliminação dependente principalmente do metabolismo hepático. A fração da dose excretada na urina sob a forma inalterada é menor que 0,05% (CHEYMOL et al., 1997).

O metabolismo do nebivolol ocorre via N-desalquilação direta, glicuronidação e complexa hidroxilação aromática como mostra a Figura 2. As vias de N-desalquilação e hidroxilação são dependentes da atividade do CYP2D6, uma enzima que exhibe polimorfismo genético (INGELMAN-SUDBERG & RODRIGUEZ-ANTONA, 2005; LINDAMOOD et al., 2010).

O polimorfismo genético pode influenciar a farmacocinética e a farmacodinâmica de muitos fármacos em uso na clínica. Com base no polimorfismo genético do CYP2D6 as populações são classificadas como metabolizadores extensivos (EM), metabolizadores lentos (PM) e metabolizadores ultrarápidos (UM) (LU, 2007). A frequência de metabolizadores extensivos na população caucasiana é de 70-80% e de metabolizadores lentos (PM) é de 7 a 10% (FUX et al., 2005; FRANK et al., 2007; LU, 2007).

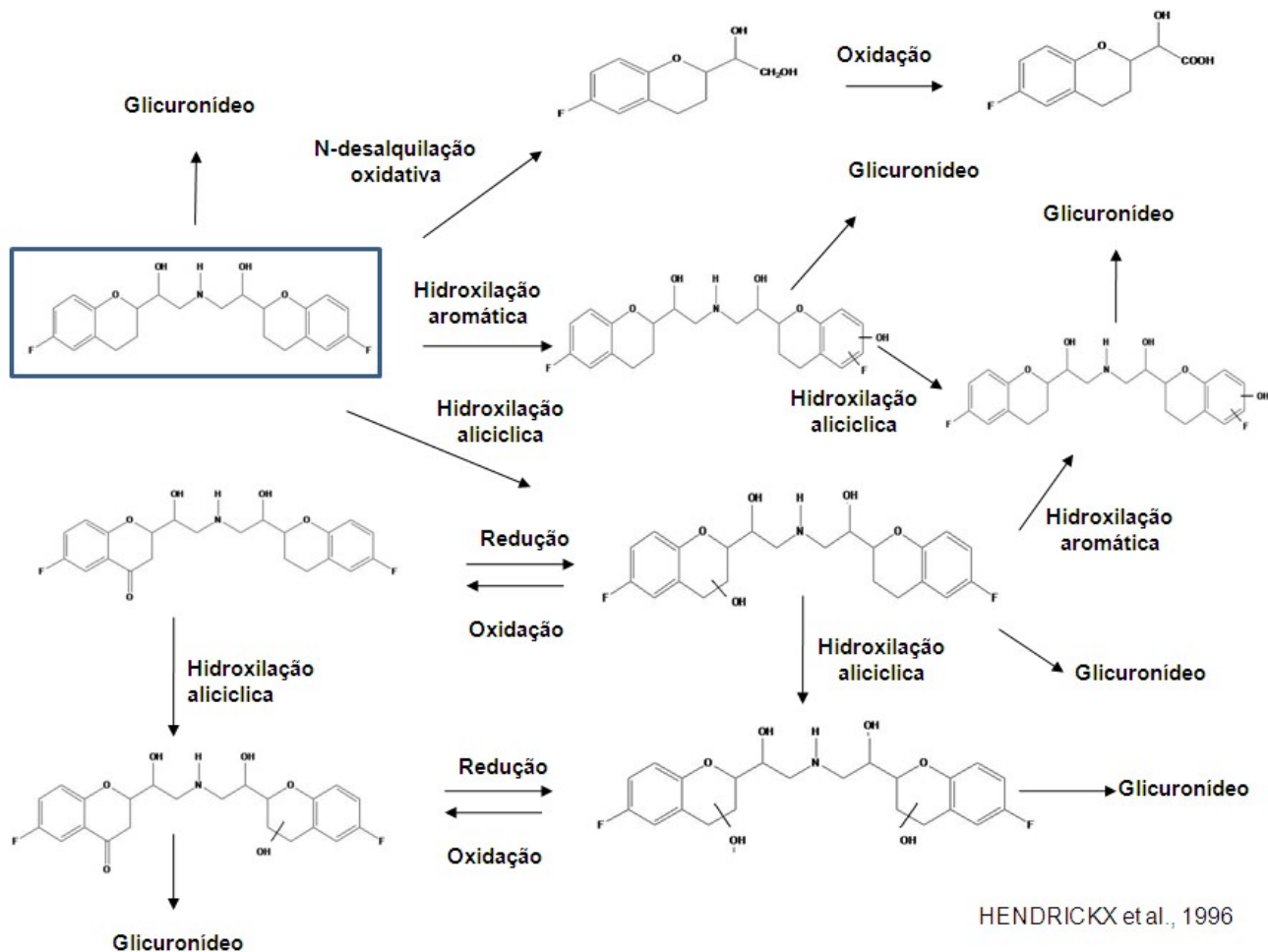


Figura 2: Metabolismo do nebivolol (HENDRICKX et al., 1996)

A hidroxilação aromática representa a principal via de metabolismo do nebivolol em metabolizadores extensivos (EM). Os metabólitos hidroxilados do *d*-nebivolol apresentam atividade β -bloqueadora, enquanto os metabólitos hidroxilados do *l*-nebivolol retêm a capacidade do fármaco inalterado de promover a liberação de óxido nítrico das células endoteliais, embora em menor extensão (PRISANT et al., 2008; MAFFEI et al., 2006). A N-desalquilação, uma via também dependente do CYP2D6, é pouco significativa tanto em pacientes EM quanto em pacientes PM (VAN PEER et al., 1991).

A glicuronidação constitui uma importante via metabólica do nebivolol e os conjugados com o ácido glicurônico são considerados farmacologicamente ativos. Os metabólitos encontrados no plasma em maior quantidade são os conjugados com o ácido glicurônico e os produtos N-desalquilados. Os conjugados hidroxilados são encontrados no plasma de pacientes EM, mas não no plasma de pacientes PM. Considerando que tanto os metabólitos hidroxilados quanto os conjugados são considerados ativos, os efeitos clínicos do nebivolol não diferem entre os pacientes

fenotipados como PM ou EM para o CYP2D6. Ressalta-se ainda que em pacientes EM e em doses iguais ou menores que 10 mg, o nebivolol é preferencialmente β_1 seletivo, sendo que em pacientes PM ou em doses maiores que 10 mg, o nebivolol inibe tanto os receptores β_1 quanto os receptores β_2 adrenérgicos (LINDAMOOD et al., 2010).

A biodisponibilidade oral do nebivolol é de 12% em pacientes EM e 96% em pacientes PM (VAN PEER et al., 1991). O tempo para atingir a concentração plasmática máxima (t_{max}) é de 0,5-2h em pacientes EM e de 3-6h em pacientes PM após a administração de dose única oral de 15 mg. A administração oral de nebivolol 5mg/dia durante 7 dias resulta em maiores valores de concentração plasmática máxima (C_{max}) em pacientes PM do que em pacientes EM (VAN PEER et al., 1991).

O volume de distribuição do nebivolol é alto, com valores variando de 10,1-39,4 L.Kg⁻¹. A meia-vida de eliminação do nebivolol é de aproximadamente 8h em pacientes EM e de 27 h em pacientes PM. As diferenças observadas nos valores de meia-vida de eliminação entre pacientes EM e PM são decorrentes dos valores de *clearance*, os quais são aproximadamente 4 vezes menores em pacientes PM (30 vs 111 L/h). Os metabólitos do nebivolol são excretados nas fezes e na urina de pacientes EM, respectivamente representando 44% e 38% da dose. Em pacientes PM, os valores correspondentes são de 13% e 66% da dose (VAN PEER et al., 1991).

Os enantiômeros individuais de um racemato, caracterizados por diferentes orientações espaciais, podem apresentar um perfil farmacológico e/ou toxicológico distinto, em razão dos diferentes processos de ligação dos fármacos com macromoléculas biológicas quirais. Conseqüentemente, o tratamento com um fármaco racêmico constitui para a terapêutica uma combinação fixa de medicamentos com diferentes propriedades farmacológicas e diferentes potenciais de manifestação de toxicidade (BROCKS, 2006).

A enantiosseletividade na farmacocinética é de interesse para os fármacos quirais que exibem propriedade farmacodinâmicas distintas entre os enantiômeros. Sabe-se que os receptores, as proteínas plasmáticas, as proteínas transportadoras e as enzimas são capazes de discriminar entre os enantiômeros de um racemato (CASLAVSKA & THORMANN, 2011; TUCKER et al., 1990; NATION, 1994; DUCHARME et al.,1996; KROEMER et al., 1996; BROCKS, 2006).

A enantiosseletividade manifesta-se nos processos farmacocinéticos relacionados com a absorção dependente de carreadores, com a ligação às

proteínas plasmáticas, com os processos de secreção biliar, excreção renal e no metabolismo. No entanto, o metabolismo é o processo que apresenta maior influência na estereosseletividade observada na farmacocinética (OIAN & HALL, 1995; KROEMER et al., 1996; BROCKS, 2006; LU, 2007).

Os parâmetros farmacocinéticos dos isômeros do nebivolol estão até então descritos somente para a administração intravenosa do nebivolol racêmico em voluntários sadios e em pacientes obesos. Os autores mostram valores próximos de área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo (47,8 vs 48,0 µg.h/L), *clearance* (48,6 vs 48,4 L/h) e volume de distribuição (599 vs 739 L), respectivamente apresentados para os isômeros *d*-nebivolol e *l*-nebivolol, em voluntários sadios tratados com dose única intravenosa de 0,073 mg/kg de peso corporal ideal do fármaco racêmico (CHEYMOL et al., 1997).

Os estudos de administração oral do nebivolol racêmico administrado em regime de dose múltipla a voluntários sadios mostram acúmulo plasmático do isômero *l*-nebivolol (os valores de AUC do *l*-nebivolol são aproximadamente o dobro daqueles do *d*-nebivolol, considerando a soma do fármaco inalterado e dos metabólitos hidroxilados) (VAN PEER et al., 1991; HIMMELMANN et al., 1996).

A relação entre a concentração do fármaco e a resposta biológica do organismo pode ser analisada simultaneamente utilizando modelos matemáticos. A farmacodinâmica pode ser definida como uma relação quantitativa entre as concentrações plasmáticas e/ou teciduais do fármaco observadas, e a magnitude do efeito farmacológico observado (MÉGARBANE et al., 2008).

O exercício isométrico com o *handgrip* induz aumento da pressão arterial acompanhado por aumento da frequência cardíaca e da resistência vascular na musculatura esquelética em repouso (KAMIYA et al., 2001). Duprez et al. (1991) avaliaram a influência do nebivolol na hemodinâmica cardiovascular, durante o exercício isométrico, em voluntários sadios tratados durante 7 dias com doses diárias de 5 mg de nebivolol racêmico. Os autores mostraram que o nebivolol reduziu de maneira aguda e crônica a pressão arterial sanguínea devido a redução na frequência cardíaca e no débito cardíaco.

A presente investigação abrange o estudo da farmacocinética dos isômeros do nebivolol e a avaliação da relação farmacocinética-farmacodinâmica, empregando as concentrações plasmáticas do *d*-nebivolol em função da variação na frequência cardíaca induzida pelo exercício isométrico em voluntários sadios, metabolizadores extensivos ou lentos para o CYP2D6 e tratados com dose única oral do fármaco racêmico.

Conclusões

1- O método desenvolvido e validado para a análise dos isômeros do nebivolol em plasma é sensível (limite de quantificação de 25 pg de cada isômero/mL), preciso e exato (coeficientes de variação e erros relativos < 15%), permitindo a quantificação dos isômeros do nebivolol até 48 h após a administração de dose única oral de 10 mg do fármaco racêmico a voluntários sadios.

2- A disposição cinética do nebivolol é enantiosseletiva em voluntários sadios metabolizadores extensivos para o CYP2D6, com razões isoméricas de AUC_l/AUC_d de 1,41 (n=13). Os valores de concentração plasmática máxima (C_{max}), área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo ($AUC^{0-\infty}$), Cl/f e Vd/f mostram diferenças com significância estatística ($p < 0,05$) entre os isômeros do nebivolol

3-A disposição cinética do nebivolol não é enantiosseletiva em voluntários sadios metabolizadores lentos para o CYP2D6, com razões isoméricas de AUC_l/AUC_d de 0,93 e 0,98.

4-Os valores de Cl/f obtidos para os metabolizadores lentos (87-350 vs 81-344 L/h) são menores do que para os metabolizadores extensivos para o CYP2D6 (775 vs 1253 L/h, respectivamente para o *l*-nebivolol e *d*-nebivolol).

5-O modelo Emax sigmóide inibitório descreveu a análise PK-PD relacionando o efeito na variação da frequência cardíaca induzida pelo exercício isométrico com as concentrações plasmáticas do isômero *d*-nebivolol em voluntários sadios metabolizadores extensivos para o CYP2D6 com valores de Emax de 4,47 bpm (IC 95% 1,37-7,57) e de EC50 de 222,16 pg/mL (IC 95% 96,29-540,60 ng/mL).

7 Referências Bibliográficas

BAEK, I.H.; YUN, M.H.; KWON, K.I. Pharmacokinetic/pharmacodynamic Modeling of the Cardiovascular Effects of Beta Blockers in Humans. **Arch Pharm Res.**, Korea, v.31, n.6, p.814-821, 2008.

BROCKS, D.R. Drug disposition in three dimensions: An update on stereoselectivity in pharmacokinetics. **Biopharm Drug Dispos.**, Chichester Wiley, v. 27, n.8, p. 387-406, 2006.

CASLAVSKA, J & THORMANN, W. Stereoselective determination of drugs and metabolites in body fluids, tissues and microsomal preparations by capillary electrophoresis (2000–2010). **J Chromatogr A.**, Switzerland, v.1218, 588-561, 2011.

CHEYMOL, G.; WOESTENBORGHES, R.; SNOECK, E.; IANUCCI, R.; LE MOING, J.P.; NADITCH, L.; LEVRON, J.C.; POIRIES, J.M. Pharmacokinetic study and cardiovascular monitoring of nebivolol in normal and obese subjects. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, Berlin, v.51, n.6, p.493-498, 1997.

DUCHARME, J.; FERNANDEZ, C.; GIMENEZ, F.; FARINOTTI, R. Critical issues in chiral drug analysis in biological fluids by high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr. B.**, Amsterdam, v.686, n.1, p.65-75, 1996.

DUPONT, W.D & PLUMMER, W.D. PS power and sample size program available for free on the Internet. **Controlled Clin. Trials.**, v.18, n.3, p. 274, 1997.

DUPREZ, D.; LEFEBVRE, R.; DE BACKER, T.; DE SUTTER, P.; TROUERBACH, J.; CLEMENT, D.L. Influence of nebivolol on the cardiovascular hemodynamics during postural changes and isometric exercise. **Cardiovasc Drugs Ther.**, Belgium, v.5, n.4, p.709- 717, 1991.

EVANGELISTA, S.; GARBIN, U.; FRATTA-PASINI, A.; STRANIERI, C.; BOCCIOLETTI, V.; COMINACINI, L. Effect of dl-nebivolol, its enantiomers and metabolites on the intracellular production of superoxide and nitric oxide in human endothelial cells. **Pharmacol Res.**, Italy, v. 55, n.4, p.303–309, 2007.

[FUX, R.; MÖRIKE, K.; PRÖHMER, A.M.; DELABAR, U.; SCHWAB, M.; SCHAEFFELER, E.; LORENZ, G.; GLEITER, C.H.; EICHELBAUM, M.; KIVISTÖ, K.T.](#) Impact of CYP2D6 genotype on adverse effects during treatment with metoprolol: a prospective clinical study. **Clin Pharmacol Ther.**, Germany, v. 78, n. 4, p. 378-87, 2005.

FRANK, D.; JAEHDE, U.; FUHR, U. Evaluation of probe drugs and pharmacokinetic metrics for CYP2D6 phenotyping. **Eur J Clin Pharmacol.**, Germany, v. 63, n.4, p.321-33, 2007.

HASSAN, Y.A.E & ALI, I. Studies on the effect of alcohols on the chiral discrimination mechanisms of amylose stationary phase on the enantioseparation of nebivolol by HPLC. **J Biochem Biophys Methods.**, Saudi Arabia, v.48, n.2, p.175-88, 2001.

HENDRICK, J.; BOCKX, M.; ZWIJSEN, C.; BORGMANS, C.; MANNENS, G.; MEULDERMANS, W.; HEYKANTS, J. Location of the hydroxyl functions in hydroxylated metabolites of nebivolol in different animal species and human subjects as determined by on-line high-performance liquid chromatography-diode-array detection. **J Chromatogr A.**, Belgium, v.5, n.729(1-2), p.341-354, 1996.

HIMMELMANN, A.; HENDER, T.; SNOECK, E.; LUNDGREN, B.; HEDNER, J. Haemodynamic effect and pharmacokinetics of oral *d*- and *l*- nebivolol in hypertensive patients. **Eur J Clin Pharmacol.**, Germany, v.51, n. 3-4, p.259-264, 1996.

HORAI, Y.; JUNKO, T.; ISHIZAKI, T.; ISHIKAWA, K. Correlations among the metabolic ratios of three test probes (metoprolol, debrisoquine and sparteine) for genetically determined oxidation polymorphism in a Japanese population. **Br J Clin Pharmacol.**, Japan, v.29, n.1, p.111-115, 1990.

INGELMAN-SUNDBERG, M.; RODRIGUEZ-ANTONA, C. Pharmacogenetics of drug-metabolizing enzymes: implications for a safe and more effective drug therapy. **Philos Trans R Soc B Biol Sci.**, Sweden, v.360, n. 1460, p.1563-1570, 2005.

KAMIYA, A.; MICHIKAMI, D.; FU, Q.; NIIMI, Y.; IWASE, S.; MANO, T.; SUZUMURA, A. Static handgrip exercise modifies arterial baroreflex control of vascular sympathetic outflow in humans. **Am J Physiol Regul Integr Comp. Physiol.**, Japan, v.281, n.4, p.1134-9, 2001.

KAMALI, F.; HOWES, A.; THOMAS, S.H.L.; FORD, G.A.; SNOECK, E. A Pharmacokinetic and pharmacodynamic interaction study between nebivolol and the H₂- receptor and ranitidine. **Br J Clin Pharmacol.**, Newcastle, v.43, n.2, p.201-204, 1997.

KROEMER, H.K.; FROMM, M.F.; EICHELBAUM, M. Stereoselectivity in drug metabolism and action: effects of enzyme inhibition and induction. **Ther Drug Monit.**, Germany, v.18, n.4, p. 388-92, 1996.

KUBO, T.; AZEVEDO, E. R.; NEWTON, G. E.; PARKER, J. D. FLORAS, J. S. Lack of evidence for peripheral alpha(1)- adrenoceptor blockade during long-term treatment of heart failure with carvedilol. **J Am Coll Cardiol**, Canada, v. 38, n.5, p. 1463-1469, 2001

LEFEBVRE, J.; POIRIER, L.; POIRIER, P.; TURGEON, J.; LACOURCIERE, Y. The influence of CYP2D6 phenotype on the clinical response of nebivolol in patients with essential hypertension. **Br J Clin Pharmacol**, Canada, v.63, n.5, p.575-582, 2006.

LINDAMOOD, C.; ORTIZ, S.; SHAW, A.; RACKLET, R.; GORSKI, C. Effects of commonly administered agents and genetics on nebivolol pharmacokinetics drug-drug interaction studies. **J Clin Pharmacol**, USA, v.51, n.4, p.575-585, 2010.

LU,H. Stereoselectivity in drug metabolism. **Expert Opin Drug Metab Toxicol**, USA, v.3, n.2, p.149-158, 2007

MAFFEI, A.; VECCHIONE, C.; ARETINI, A.; POULET, R.; BETTARINI, U.; GENTILE, M. T.; CIFELLI, G.; LEMBO, G. Characterization of nitric oxide release by nebivolol and its metabolites. **Am J Hypertens**, Italy, v.19, n.6, p.579-86, 2006.

MANGRELLA, M.; ROSSE, F.; FICI, F.; ROSSI, F. Pharmacology of nebivolol. **Pharmacol res**, Italy, v.38, n.6, p.419-431, 1998.

MÉGARBANE, B.; ASLANI, A.A.; DEYE, N.; BAUD, F.J. Pharmacokinetic / pharmacodynamic modeling of cardiac toxicity in human acute overdoses: utility and limitations. **Expert Opin Drug Metab Toxicol**, France, v.4, n.5, p.569-579, 2008

MÜNZEL, T & GORI, T. Nebivolol: the somewhat – different beta- adrenergic receptor blocker. **J Am Coll Cardiol**, Germany, v.54, n.16, p.1491-1499, 2009.

NATION, R.L. Chirality in new drug development. Clinical pharmacokinetic considerations. **Clin. Pharmacokinet**, Adelaide, v.27, n.4, p.249-55, 1994.

NEVES, D.V. Fenotipagem do CYP2D6 em idosos cardiopatas classificados como metabolizadores extensivos ou lentos do metoprolol. 2009. 83 p. Dissertação Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

NUETEN, L.V & CREE, J.D. Nebivolol: Comparison of the Effects of dl-nebivolol, d-nebivolol, l-nebivolol, Atenolol, and Placebo on Exercise- Induced increases in Heart Rate and Systolic Blood Pressure. **Cardiovasc Drugs Ther**, Boston, v.12, n.4, p.339-344, 1998.

OIAN, X & HALL, S.D. Enantioselective effects of experimental diabetes mellitus on the metabolism of ibuprofen. **J. Pharmacol. Exp. Ther**, USA, v. 274, n.3, p. 1192-98, 1995.

PAUWELS, P.J; VAN GOMPEL ,P; LEYSEN, J,E. Human beta-1 and beta-2 adrenergic receptor binding and mediated accumulation of cAMP in transfected Chinese hamster ovary cells. Profile of nebivolol and know beta- adrenergic blockers. **Biochem Pharmacol**, Belgium, v.42, n.9, p.1683-9, 1991.

PINTO, S.L.; SILVA, R.C.R.; PRIORE, S.; ASSIS, A.M.O.; PINTO, E.J. Prevalência de pré-hipertensão e de hipertensão arterial e avaliação de fatores associados em crianças e adolescentes de escolas públicas de Salvador, Bahia, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Brasil, v.27, n.6, p.1065-1076, 2011.

PRISANT, L.M. Nebivolol: pharmacologic profile of an ultraselective, vasodilatory β 1-bloker. **J Clin Pharmacol**, USA, v.48, n.2, p.225-239, 2008.

RAMAKRISHNA, N.V.S.; VISHWOTTAM, K.N.; KOTESHWARA, M.; MANOJ, S.; SANTOSH, M.; VARMA, D.P. Rapid quantification of nebivolol in human plasma by liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. **J Pharm Biomed Anal**, India, v.39, n.5, p.1006-1013, 2005.

SELVAN, P.S; VEERAN GODWDA, K; MANDAL,U; SAM SOLOMON, W.D; PAL, T.K. Simultaneous determination of fixed dose combination of nebivolol and valsartan in human plasma by liquid chromatographic-tandem mass spectrometry and its application to pharmacokinetic study. **J Chromatography B Analyt Technol Biomed Life Sci**, India, v.858, n.1-2, p.143-150, 2007.

SHARMA, M & HAKIM, A.M. The management of hypertension for primary stroke prevention: a proposed approach. **Int J Stroke**, Canada, v.6, n.2, p.144-149, 2011.

TUCKER, G.T.; LENNARD, M.S. Enantiomer specific pharmacokinetics. **Pharmacol. Ther**, UK, v.45, n.3, p.309-29, 1990.

VAN PEER, A.; SNOECK, E.; WOESTENBORGHS, R.; VAN DE VELDE, V.; MANNENS, G.; MEULDERMANS, W.; HEYKANTS, J. Clinical pharmacokinetics on nebivolol. A review. **Drug Invest**, Belgium, v.3(Suppl 1), p.25-30, 1991.

