

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Influência do nifedipino na disposição cinética dos enantiômeros
da venlafaxina e seus metabólitos em voluntários sadios**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientado: Eduardo Tozatto

Orientadora: Prof^a Dr^a Vera Lucia Lanchote

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.

Tozatto, Eduardo

Influência do nifedipino na disposição cinética dos enantiômeros da venlafaxina e seus metabólitos em voluntários sadios. Ribeirão Preto, 2012.

109 p.; 30cm.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientador: Lanchote, Vera Lucia.

1. Venlafaxina. 2. Nifedipino. 3. Farmacocinética clínica.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do aluno: Eduardo Tozatto

Título do trabalho: Influência do nifedipino na disposição cinética dos enantiômeros da venlafaxina e seus metabólitos em voluntários sadios

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientadora: Prof^a Dr^a Vera Lucia Lanchote

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

RESUMO

TOZATTO, E. **Influência do nifedipino na disposição cinética dos enantiômeros da venlafaxina e seus metabólitos em voluntários sadios.** 2012. 109f. Tese (doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

A venlafaxina é um fármaco usado no tratamento da depressão e dos transtornos de ansiedade generalizada. É disponível na clínica na forma de mistura racêmica dos enantiômeros S-(+) e R-(-) em formulação de liberação controlada. O enantiômero S-(+) inibe a recaptação da serotonina, enquanto o enantiômero R-(-) inibe a recaptação da serotonina e da norepinefrina. A venlafaxina é biotransformada pelo CYP2D6 e CYP2C19 em seu principal metabólito, O-desmetilvenlafaxina, o qual apresenta atividade farmacológica semelhante à venlafaxina. Outros metabólitos da venlafaxina, dependentes do CYP3A4, incluem a N-desmetilvenlafaxina e a N,O-di-desmetilvenlafaxina. A absorção e a distribuição da venlafaxina são moduladas pela ação da glicoproteína-P. O nifedipino, um fármaco da classe dos inibidores dos canais de cálcio, é descrito como inibidor da glicoproteína-P. O presente estudo investiga a influência do nifedipino na disposição cinética e no metabolismo da venlafaxina em voluntários sadios caracterizados como portadores de atividade normal do CYP3A (omeprazol como fármaco marcador) e fenotipados como metabolizadores rápidos do CYP2C19 (omeprazol como fármaco marcador) e do CYP2D6 (metoprolol como fármaco marcador). Os voluntários investigados receberam, em estudo cruzado e randomizado, dose única oral de 150 mg de venlafaxina racêmica (Fase 1) e 40 mg de nifedipino associada com dose única oral de 150 mg de venlafaxina racêmica (Fase 2). Foram coletadas amostras seriadas de sangue até 72 horas após a administração dos fármacos para o estudo farmacocinético. As concentrações plasmáticas dos enantiômeros da venlafaxina e de seus metabólitos foram determinadas por LC-MS/MS utilizando a coluna Chirobiotic V com fase móvel constituída de mistura de metanol: solução aquosa de acetato de amônio 15 mmol/L pH 6,0 (80:20, v/v). A farmacocinética da venlafaxina mostrou-se enantiosseletiva com acúmulo plasmático (AUC 526,0 vs 195,7 ng.h/mL) e menores valores de clearance (Cl/f 142,67 vs 408,01 L/h) para o enantiômero S-(+). A disposição cinética do metabólito ativo O-desmetilvenlafaxina apresentou enantiosseletividade apenas no parâmetro concentração plasmática máxima com observação de maiores valores para o enantiômero R-(-) (C_{max} 69,33 vs 56,94 ng/mL). A disposição cinética da N,O-di-desmetilvenlafaxina também mostrou-se enantiosseletiva apenas para o parâmetro concentração plasmática máxima, mas com observação de maiores valores para o enantiômero S-(+) (C_{max} 7,08 vs 4,61 ng/mL). A administração de dose única oral de 40 mg de nifedipino não alterou a farmacocinética de ambos os enantiômeros da venlafaxina e de seus metabólitos O-desmetilvenlafaxina e N,O-di-desmetilvenlafaxina, seja utilizando teste estatístico não paramétrico (teste de Wilcoxon para dados pareados, p < 0,05), seja avaliando o IC 90% das razões das médias geométricas de AUC e C_{max} (Fase 2/Fase 1). Os dados obtidos evidenciam que o nifedipino na dose de 40 mg não age como um inibidor da P-gp.

Palavras-chave: venlafaxina, nifedipino, farmacocinética, enantiômeros, metabolismo.

ABSTRACT

TOZATTO, E. **Influence of nifedipine on the kinetic disposition of venlafaxine enantiomers and its metabolites in healthy volunteers.** 2012. 109p. Doctoral Thesis. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

Venlafaxine is a drug used to treat depression and generalized anxiety disorders. It is available in clinical practice in the form of a racemic mixture of S-(+) and R(-) enantiomers, in controlled release formulation. The S-(+) enantiomer inhibits the reuptake of serotonin, while the R(-) enantiomer inhibits the reuptake of both serotonin and norepinephrine. Venlafaxine is biotransformed by CYP2D6 and CYP2C19 in its major metabolite, O-desmethylvenlafaxine, which has similar pharmacological activity when compared to venlafaxine. Other metabolites of venlafaxine, dependent of CYP3A4, include N-desmethylvenlafaxine and N, O-di-desmethylvenlafaxine. The absorption and distribution of venlafaxine are modulated by the action of P-glycoprotein. Nifedipine, a calcium channel blocker drug, is described as an inhibitor of P-glycoprotein. The present study investigates the influence of nifedipine on the kinetic disposition of venlafaxine enantiomers and its metabolites in healthy volunteers characterized as having normal activity of CYP3A (omeprazole as a probe drug) and phenotyped as rapid metabolizers of CYP2C19 (omeprazole as a probe drug) and CYP2D6 (metoprolol as a probe drug). The enrolled volunteers received, in a randomized, two-way study, a single 150 mg oral dose of racemic venlafaxine (Phase 1) and 40 mg oral dose of nifedipine associated with a single 150 mg oral dose of racemic venlafaxine (Phase 2). Serial blood samples were collected until 72 hours after drug administration to the pharmacokinetic study. Plasma concentrations of venlafaxine enantiomers and its metabolites were determined by LC-MS/MS using a Chirobiotic V column and a mobile phase constituted of methanol: aqueous 15 mmol/L ammonium acetate solution pH 6.0 (80:20, v/v). The venlafaxine pharmacokinetics is enantioselective with plasma accumulation (AUC 526.0 vs 195.7 ng h/mL) and lower clearance values (CL/f 142.67 vs 408.01 L/h) for the S-(+) enantiomer. The kinetic disposition of the active metabolite O-desmethylvenlafaxine exhibits enantioselectivity only in the maximum plasma concentration parameter with higher values for the R(-) enantiomer (C_{max} 69.33 vs 56.94 ng/mL). The kinetic disposition of N,O-di-desmethylvenlafaxine is also enantioselective only for the maximum plasma concentration parameter, but with higher values for the S-(+) enantiomer (C_{max} 7.08 vs 4.61 ng/ml). Administration of a 40 mg single oral dose of nifedipine do not alter the pharmacokinetics of both enantiomers of venlafaxine and its metabolites O-desmethylvenlafaxine and N,O-di-desmethylvenlafaxine, using non-parametric statistical test (Wilcoxon test for paired data, p <0.05), or evaluating the 90% CI of the AUC and C_{max} geometric mean ratios (Phase 2/Phase 1). The obtained data show that nifedipine in a 40 mg oral dose does not act as a P-gp inhibitor.

Keywords: venlafaxine, nifedipine, pharmacokinetics, enantiomers, metabolism.

1. Introdução

A depressão é a mais comum das doenças psiquiátricas diagnosticada em adultos, apresentando altos índices de cronicidade e incapacitação para atividades rotineiras, afeta também as relações interpessoais, inclusive com prejuízos econômicos e sociais (RICHARDS, 2011). Os transtornos depressivos foram considerados a quarta doença que mais leva à perda de anos de vida saudável na população, sendo que estimativas sugerem que poderá ser a primeira em 2030. A depressão pode estar associada a outras doenças (diabetes, cardiopatias, asma, dentre outras) e tem seu tratamento baseado em psicoterapia e medicamentos (LOURENÇO et al., 2011).

Os primeiros fármacos lançados para o tratamento dos diferentes transtornos depressivos foram os antidepressivos tricíclicos (TCAs) e os inibidores da monoamino oxidase (IMAOs). A eficácia destes compostos, lançados há mais de 40 anos, é bem estabelecida, principalmente em casos classificados como graves, devido ao mecanismo de ação envolvendo os neurotransmissores norepinefrina e serotonina. A ação nos receptores histamínicos, muscarínicos e α -adrenérgicos acarreta efeitos colaterais não desejados em grande parte dos pacientes tratados. Uma segunda geração de fármacos antidepressivos caracterizados como inibidores seletivos da recaptação da serotonina (SSRIs), lançados no mercado em meados da década de 80, atua de maneira mais seletiva, com menor incidência de efeitos colaterais e conseqüente maior tolerabilidade. No entanto, a maior seletividade em relação à ação nos neurotransmissores também limita a eficácia clínica dos SSRIs (GUTIERREZ et al., 2003).

A venlafaxina (cloridrato de 1-[2-(dimetilamino)-1-(4-metoxifenil) etil] ciclo hexanol, VEN) foi o primeiro medicamento lançado no mercado tendo como ação a inibição da recaptação tanto da serotonina como da norepinefrina. Em doses baixas, de até 50 mg/dia, apresenta ação semelhante aos TCAs inibindo principalmente a recaptação da serotonina. Em doses maiores, descritas como acima de 150 mg/dia, apresenta ação também na recaptação da norepinefrina. Esse duplo mecanismo de ação proporciona maior eficácia em casos de depressão grave, depressão resistente e transtornos de ansiedade generalizada, quando comparado à resposta obtida no tratamento com os TCAs e os SSRIs. O perfil farmacológico da VEN é similar aos considerados responsáveis pelos efeitos terapêuticos dos TCAs, mas sem os efeitos nos receptores associados aos efeitos colaterais desses fármacos, além de apresentar um tempo de resposta relativamente menor (TAFT et al., 1997; BAUER et al., 2009).

A venlafaxina foi inicialmente disponibilizada no mercado como comprimido simples de liberação imediata, administrado em duas doses diárias e, posteriormente, lançada como

cápsula de liberação controlada (XR), uma formulação mais conveniente e com maior aderência dos pacientes ao tratamento. Apesar da redução da concentração plasmática máxima (C_{max}) e do aumento da meia-vida de eliminação (t_{1/2}), que potencialmente reduzem a possibilidade de efeitos adversos e de efeitos da síndrome de descontinuação, ambas as formulações apresentam a mesma ação farmacológica (OLVER et al., 2004).

A venlafaxina é comercializada na forma de mistura racêmica dos enantiômeros S-(+) e R(-), em formulação de liberação controlada nas concentrações de 37,5; 50; 75 e 150 mg de cloridrato de venlafaxina, tendo como referência o medicamento Eflexor XR[®] do Laboratório Wyeth Indústria Farmacêutica Ltda (São Paulo, Brasil). É também comercializada como medicamento similar e genérico em apresentações de, pelo menos, onze laboratórios diferentes (ANVISA, 2012).

Os enantiômeros da VEN possuem atividades distintas, sendo que o enantiômero S-(+) apresenta atividade principal na inibição da recaptação da serotonina, enquanto o enantiômero R(-) apresenta atividade tanto na inibição da recaptação da serotonina como da norepinefrina. Os enantiômeros do metabólito O-desmetilvenlafaxina (ODV) possuem atividade farmacológica comparável à atividade do fármaco inalterado, enquanto os enantiômeros dos metabólitos N-desmetilvenlafaxina (NDV) e N,O-di-desmetilvenlafaxina (DDV) são significativamente menos ativos (SHAMS et al., 2006).

A VEN é considerada um fármaco estável no pH gástrico e intestinal (ASAFU-ADJAYE et al. 2007). Estudos de biodisponibilidade relativa de formulações de liberação controlada (XR) de VEN, conduzidos sob condições de jejum e com alimentação, mostram que os parâmetros farmacocinéticos da VEN não sofrem influência da alimentação (WRIGHT, et al., 2009; SOUZA-FILHO, et al., 2010). A biodisponibilidade da VEN a partir de cápsulas de liberação controlada é de 92 %. A porcentagem de ligação às proteínas plasmáticas é de 27 ± 2 % e 30 ± 12 % para a VEN e ODV, respectivamente (FDA, 2012).

A administração oral de dose única de 150 mg de cloridrato de venlafaxina racêmica (cápsula de liberação controlada) a voluntários sadios resulta em valores de concentração plasmática máxima (C_{max}) de 101 ± 36 ng/mL para a VEN e de 167 ± 49 ng/mL para seu metabólito ODV nos tempos (t_{max}) de 5,7 ± 1,5 h e 12,3 ± 9,2 h, respectivamente (TAFT et al., 1997). Os valores de C_{max} da VEN relatados para voluntários sadios brasileiros tratados com dose única oral de 75 mg de cloridrato de venlafaxina racêmica (cápsula de liberação controlada) foram de 35,7 ± 23,9 ng/mL no t_{max} de 6,2 h (SOUZA-FILHO et al., 2010).

A VEN (55 % da dose absorvida) é biotransformada pelo CYP2D6 (89 %), CYP2C19 (10 %) e CYP2C9 (1 %), em seu principal metabólito (ODV), que possui atividade

farmacológica comparável à VEN. Uma via secundária, responsável pela biotransformação de cerca de 45 % da dose absorvida é realizada pelo CYP3A4 (46 %), CYP2C19 e CYP2C9, formando em menor porcentagem os metabólitos N-desmetilvenlafaxina (NDV) e N,O-di-desmetilvenlafaxina (DDV) (GEX-FABRY et al., 2002, 2004); Figura 1.

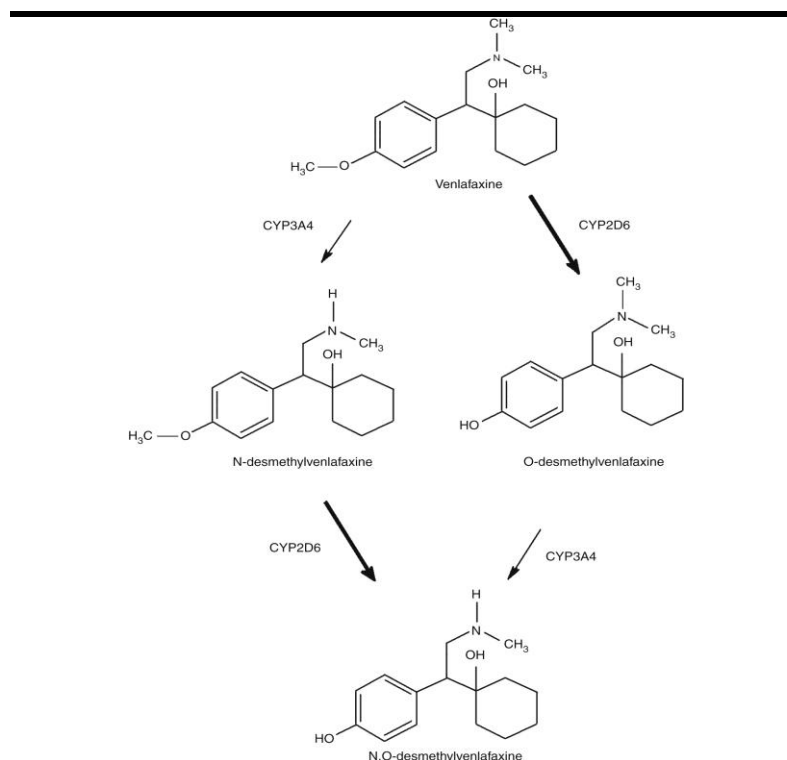


Figura 1. Estrutura da VEN e de seus metabólitos ODV, NDV e DDV (WIJNEN et al., 2009)

A atividade geneticamente determinada do CYP2D6 é o principal fator responsável pela variabilidade na disposição cinética da VEN. O clearance oral da VEN como mistura enantiomérica é de 100 ± 62 L/h em metabolizadores rápidos (EM) e de 23 ± 8 L/h em metabolizadores lentos (PM) do CYP2D6. Outros estudos também sugerem que a atividade do CYP2C19 também contribui para as diferenças inter-individuais na farmacocinética da VEN (LESSARD et al., 1999; FUKUDA et al., 2000). Os valores de clearance renal em voluntários sadios relatados para a VEN e seu metabólito ODV são respectivamente de 0,074 L/h.kg e 0,103 L/h.kg. As meias-vidas de eliminação da VEN e seu metabólito ODV são de aproximadamente 2,1 h e 3,7 h, respectivamente. O volume de distribuição da VEN é de 9,2 L/kg (TROY et al., 1997).

A farmacocinética pode ser influenciada pela enantiosseletividade observada na interação do fármaco com macromoléculas biológicas quirais, tais como na absorção dependente de carreadores, na ligação às proteínas plasmáticas, nos processos de secreção

biliar e de excreção renal e no metabolismo, sendo que nos processos de biotransformação é que são observadas as maiores diferenças (KROEMER et al., 1996; NATION, 1994; TUCKER et al., 1990). GEX-FABRY et al. (2004) e EAP et al. (2003) reportam diferenças inter-individuais nas razões de concentrações plasmáticas, tanto dos enantiômeros da VEN como da ODV, podendo resultar em diferenças na resposta esperada ao tratamento.

O CYP2D6 catalisa o metabolismo de ambos os enantiômeros da VEN, mas catalisa de maneira preponderante o metabolismo do enantiômero R-(-)-VEN. O clearance oral do enantiômero R-(-)-VEN é aproximadamente 9 vezes maior em voluntários fenotipados como EM do que em voluntários fenotipados como PM (173 vs 20 L/h), enquanto o clearance oral do enantiômero S-(+)-VEN é somente 2 vezes maior em voluntários fenotipados como EM do que em voluntários fenotipados como PM (73 vs 37 L/h) (EAP et al., 2003).

O clearance de formação do metabólito R-(-)-ODV é maior do que o do S-(+)-ODV (127 vs 47 L/h) em voluntários fenotipados como EM. No entanto, em voluntários fenotipados como PM, o clearance de formação do metabólito S-(+)-ODV é maior do que o do R-(-)-ODV (16 vs 1 L/h) (EAP et al., 2003).

A N-desmetilação da VEN catalisada pelo CYP3A não é enantiosseletiva. Os maiores valores de clearance de formação do metabólito R-(-)-DDV quando comparado ao S-(+)-DDV (9 vs 3 L/h) em voluntários fenotipados como EM são explicados pela maior formação de R-(-)-ODV com subsequente formação de R-(-)-DDV (EAP et al., 2003).

A absorção e a distribuição da VEN são moduladas pela ação da glicoproteína-P (P-gp) (BALAYSSAC et al., 2005; THUERAUF et al., 2006, UHR et al., 2007; WIKINSKI, 2005; BHATT et al., 2005). A administração intraperitoneal de VEN (10 mg/kg) a camundongos *knockout* para a P-gp resulta em concentrações no cérebro de VEN e seus metabólitos 2-4 vezes maiores do que aquelas observadas para camundongos com níveis normais de expressão da P-gp (KARLSSON et al., 2011).

A P-gp é uma proteína de efluxo localizada em sítios de absorção, distribuição e eliminação de fármacos, atuando no transporte de fármacos para fora da célula, mesmo contra um gradiente de concentração. Foi primeiramente identificada e estudada em células tumorais resistentes a fármacos, sendo posteriormente identificada em tecidos saudáveis como na membrana apical de células do intestino, membrana dos canalículos biliares dos hepatócitos, células endoteliais dos capilares do cérebro e na membrana tubular dos rins. Devido à sua localização em sítios de absorção, distribuição e eliminação de fármacos, a P-gp atua de forma importante na farmacocinética de inúmeros compostos de interesse farmacológico e/ou de seus metabólitos, tais como fármacos anticâncer, antipsicóticos, esteróides, inibidores de

HIV proteases, antibióticos, fármacos cardiovasculares e antidepressivos (HENNESSY et al., 2007; VARMA et al., 2006; VARMA et al., 2003; LIN et al., 2003; UHR et al., 2003).

Estudos têm mostrado a importância da P-gp na modulação do transporte de fármacos psicoativos no cérebro. Assim, a possível interação dessa classe de fármacos nas associações com outros medicamentos deve ser cuidadosamente considerada na prática clínica (LINNET et al., 2008). MAKHIJA et al. (2002) e UHR et al. (2003) reportam que as concentrações de fármacos psicoativos, substratos da P-gp, são consideravelmente mais elevadas no sistema nervoso central de ratos *knockout* para a P-gp. Evidências indicam que a maior expressão da P-gp explica a não resposta a diversos fármacos, inclusive antiepiléticos, em pacientes refratários ao tratamento (ZHANG et al., 2012). Portanto, a modulação da ação da P-gp constitui um fator de extrema importância na farmacocinética e farmacodinâmica dos fármacos de ação central.

A P-gp pode interagir com grande número de compostos de estrutura química diversa. De acordo com o tipo de interação, esses compostos podem ser classificados como substratos, inibidores ou moduladores da P-gp. Compostos ativamente transportados pela P-gp são denominados substratos, enquanto aqueles que comprometem sua atividade de transporte são classificados como inibidores. Os classificados como moduladores atuam interagindo com a molécula da P-gp, impedindo sua ligação com os substratos. Moduladores e inibidores produzem o mesmo efeito nos sistemas biológicos, aumentando a permeabilidade aos substratos (CHEN et al., 2011). Dentre os fármacos descritos como inibidores da P-gp podem ser citados os antiarrítmicos (amiodarona, quinidina), antibióticos e antifúngicos (eritromicina, itraconazol, cetoconazol), antiparasitários (quinina, cloroquina), bloqueadores do canal de cálcio (nifedipino, nitrendipino, verapamil), inibidores da protease (ritonavir, saquinavir), anestésicos locais (bupivacaina), hormônios (aldosterona, cortisol, análogos da progesterona), antidepressivos tricíclicos (desipramina, trazadona), etc. Além de fármacos, outros compostos também foram identificados como inibidores ou indutores da P-gp como suco de frutas cítricas (toranja), corantes (rodamina) e componentes de formulações (*tween* 80) (HENNESSY et al., 2007; CHEN et al., 2011).

A P-gp e o CYP3A4 atuam de maneira sinérgica na eliminação pré-sistêmica de fármacos, embora por diferentes mecanismos, ou seja, um substrato da P-gp recircula repetidamente entre o lúmen e as células epiteliais, conduzindo à exposição prolongada ao CYP3A4 e conseqüente redução da biodisponibilidade do fármaco (KATOH et al., 2001). Embora muitos substratos da P-gp também sejam substratos do CYP3A4, o nifedipino é relatado como substrato do CYP3A4 e não substrato da P-gp (KIM, 2002; ZHOU et al.,

2007). No entanto, o nifedipino é relatado por vários autores como inibidor da P-gp (ZHOU et al., 2007). A administração de dose única de nifedipino (40 mg/kg) a ratos, via cateter intranasal, aumentou em três vezes a área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo do carvedilol, provavelmente em função do nifedipino inibir a P-gp com consequente aumento da biodisponibilidade do carvedilol (HOKAMA et al., 2002).

O nifedipino (éster do ácido 1,4-diidro-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-dimetil-3,5-piridinodicarboxílico) é um fármaco da classe dos inibidores dos canais de cálcio utilizado na clínica no tratamento da hipertensão arterial e angina. O nifedipino atua promovendo a vasodilatação periférica com consequente diminuição da pressão arterial, assim como aumentando a oxigenação do músculo cardíaco. O tratamento com nifedipino deve ser iniciado com doses a partir de 10 mg/dia, podendo chegar a doses de até 60 mg/dia. O nifedipino é um fármaco de baixa biodisponibilidade devido à alta eliminação pré-sistêmica, atingindo a concentração plasmática máxima de $40,6 \pm 8,0$ ng/mL no tempo $3,15 \pm 0,88$ h após a administração de dose única oral de 10 mg a voluntários sadios. A meia-vida de eliminação do nifedipino em voluntários sadios é de $7,53 \pm 2,10$ h (WANG et al., 2011; FDA, 2012; ANVISA, 2012).

Considerando a VEN como substrato da P-gp (BALAYSSAC et al., 2005; THUERAUF et al., 2006; UHR et al., 2007; WIKINSKI, 2005; BHATT et al., 2005) e o nifedipino como provável inibidor da P-gp (ZHOU et al., 2007; HOKAMA et al., 2002), o presente estudo investiga a influência do nifedipino na disposição cinética e no metabolismo da VEN em voluntários sadios fenotipados como metabolizadores rápidos para o CYP2D6 e CYP2C19 e com atividade normal do CYP3A.

6. Conclusões

6.1. O método desenvolvido e validado para a quantificação das concentrações plasmáticas dos enantiômeros da VEN e seus metabólitos ODV, NDV e DDV mostrou especificidade e sensibilidade compatíveis com a aplicação em estudos de disposição cinética e metabolismo da VEN administrada em regime de dose única.

6.2. A farmacocinética da VEN é enantiosseletiva com acúmulo plasmático do enantiômero S-(+)-VEN nos voluntários sadios investigados caracterizados como portadores de atividade normal do CYP3A (omeprazol como fármaco marcador) e fenotipados como metabolizadores rápidos do CYP2C19 (omeprazol como fármaco marcador) e do CYP2D6 (metoprolol como fármaco marcador).

6.3. O metabólito N-desmetilvenlafaxina (NDV) não foi detectado no plasma de 9 voluntários sadios investigados (n=10) tratados com dose única oral de 150 mg de VEN racêmica.

6.4. A concentração plasmática máxima do enantiômero S-(+)-ODV (O-desmetilvenlafaxina) é menor do que a do R-(-)-ODV nos voluntários sadios investigados tratados com dose única oral de 150 mg de VEN racêmica.

6.5. A concentração plasmática máxima do enantiômero S-(+)-DDV (N,O-di-desmetilvenlafaxina) é maior do que a do R-(-)-DDV nos voluntários sadios investigados tratados com dose única oral de 150 mg de VEN racêmica.

6.6. A administração de dose única oral de 40 mg de nifedipino não alterou a disposição cinética e o metabolismo dos enantiômeros da VEN e de seus metabólitos ODV e DDV nos voluntários sadios investigados.

6.7. O nifedipino administrado em dose única oral de 40 mg a voluntários sadios não age como inibidor da P-gp.

7. Referências Bibliográficas

1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - **RE nº 899, de 29 de maio de 2003 - Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Brasília, DF, 2003.
2. ASAFU-ADJAYE, E.B.; FAUSTINO, P.J.; TAWAKKUL, M.A.; ANDERSON, L.W.; YU, L.X.; KWON, H.; VOLPE, D.A. Validation and application of a stability-indicating HPLC method for the in vitro determination of gastric and intestinal stability of venlafaxine. **J Pharm Biomed Anal**, Oxford, v.43, p.1854-1859, 2007.
3. BALAYSSAC, D.; AUTHIER, N.; CAYRE, A.; COUDORE, F. Does inhibition of P-glycoprotein lead to drug–drug interactions? **Toxicol Lett**, Amsterdam, v. 156, p. 319–329, 2005.
4. BAUER, M.; THARMANATHAN, P.; VOLZ, H.P.; MOELLER, H.J.; FREEMANTLE, N. The effect of venlafaxine compared with other antidepressants and placebo in the treatment of major depression. **Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci**, Berlin, v. 259, p. 172-185, 2009.
5. BHATT, J.; JANGID, A.; VENKATESH, G.; SUBBAIAH, G.; SINGH, S. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS–MS) method for simultaneous determination of venlafaxine and its active metabolite O-desmethyl venlafaxine in human plasma. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**, Amsterdam, v. 829, p. 75–81, 2005.
6. BROCKS, D. R. Drug Disposition in Three Dimensions: An Update on Stereoselectivity in Pharmacokinetics. **Biopharm Drug Dispos**, Chichester, v. 27, p. 387–406, 2006.
7. CACCAMESE, S.; BIANCA, S.; CARTER, G. T. Direct High-Performance Liquid Chromatographic Separation of the Enantiomers of Venlafaxine and 11 Analogs Using Amylose-Derived Chiral Stationary Phases. **Chirality**, New York, v. 21, p. 569–577, 2009.
8. CERQUEIRA, P.M.; BORALLI, V.B.; COELHO, E.; GUIMARÃES, L.F.L.; BONATO, P.,S.; LANCHOTE, V. Enantioselective determination of metoprolol acidic metabolite in plasma and urine using liquid chromatography chiral columns: applications to pharmacokinetics. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**, Amsterdam, v. 783, p. 433-41, 2003.
9. CHEN, L.; LI, Y.; YU, H.; ZHANG, L.; HOU, T. Computational models for predicting substrates or inhibitors of P-glycoprotein. **Drug Discov Today**, Kidlington, In press. 2011.
10. Clinical Pharmacology and Therapeutics, Statistical Guide for Clinical Pharmacology and Therapeutics. **Clin Pharmacol Ther**, St. Louis, v. 88, p. 150-152, 2010.
11. COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Fundamentos de cromatografia**. 1ª edição. Editora Unicamp. 2006.

12. DUPONT, W. D.; PLUMMER, W. D. Power and Sample Size Calculations for Studies Involving Linear Regression. **Control Clin Trials**, New York, v. 19, p. 589–601, 1998.
13. EAP, C.B.; LESSARD, E.; BAUMMAN, P.; AMEY, M.B.; YESSINE, M. A.; O'HARA, G.; TURGEON, J. Role of CYP2D6 in the stereoselective disposition of venlafaxine in humans. **Pharmacogenetics**, London, v. 13, p. 39-47, 2003.
14. FANALI, S.; RUDAZ, S.; VEUTHEY, J-L.; DESIDERIO, C. Use of vancomycin silica stationary phase in packed capillary electrochromatography. **J Chromatogr A**, Amsterdam, v. 919, p. 195-203, 2001.
15. FONSECA, P.; BONATO, P.S. Chiral HPLC analysis of venlafaxine metabolites in rat liver microsomal preparations after LPME extraction and application to an in vitro biotransformation study. **Anal Bioanal Chem**, Heidelberg, v.396, n. 2, p. 817-824.
16. FUKUDA, T.; NISHIDA, Y.; ZHOU, Q.; YAMAMOTO, I.; KONDO, S.; AZUMA, J. The impact of the CYP2D6 and CYP2C19 genotypes on venlafaxine pharmacokinetics in a Japanese population. **Eur J Clin Pharmacol**, Berlin, v. 56, p. 175-180, 2000.
17. GABRIELSON, J. & WEINER, D. **Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis: Concepts and Applications**. 3rd edition, Swedish Pharmaceutical Press. 2000.
18. GEX-FABRY, M.; BALANT-GORGIA, A.E.; BALANT, L.P.; RUDAZ, S.; VEUTHEY, J-L.; BERTSCHY, G. Time course of clinical response to venlafaxine: relevance of plasma level and chirality. **Eur J Clin Pharmacol**, Berlin, v. 59, p. 883-91, 2004.
19. GEX-FABRY, M.; RUDAZ, S.; BALANT-GORGIA, A.E.; BRACHET, A.; VEUTHEY, J-L.; BALANT, L.P.; BERTSCHY, G. Steady-state concentration of venlafaxine enantiomers: model-based analysis of between-patient variability. **Eur J Clin Pharmacol**, Berlin, v. 58, p. 323-31, 2002.
20. GONZALEZ, H. M.; ROMERO, E. M.; T, PEREGRINA, A. A.; CHÁVEZ, C. T. J.; ESCOBAR-ISLAS, E.; LOZANO, F. K.; HOYO-VADILLO, C. CYP2C19 and CYP3A4 Dependent Omeprazole Metabolism in West Mexicans. **J. Clin Pharmacol**, Stamford, v. 43, n. 11, p. 1211-1215, 2003.
21. GUTIERREZ, M.A.; STIMMEL, G.L.; AISO, J.Y. Venlafaxine: A 2003 Update. **Clin Ther**, Princeton, v. 25, p. 2138-2154, 2003.
22. HENNESSY, M.; SPIERS, J.P. A primer on the mechanics of P-glycoprotein the multidrug transporter. **Pharmacol Res**, London, v. 55, p. 1-15, 2007.

23. HOKAMA, N.; HOBARA, N.; MASAYUKI, S.; KAMEYA, H.; OSHIRO, S.; SAKANASHI, M. Influence of nifedipine and nifedipine on plasma carvedilol disposition after administration in rats. **J Pharm Pharmacol**, London, v. 58, p. 821-2, 2002.
24. KANDHWAL, K.; DEY, S.; NAZARUDHEEN, S.; REYAR, S.; MISHRA, S.; THUDI, N. R.; KHUROO, A. H.; MONIF, T. Establishing bioequivalence of racemic venlafaxine formulations using stereoselective assay method: Is it necessary? **Chirality**, New York, v. 23, n. 10, p. 948–954, 2011.
25. KARLSSON, L.; HIEMKE, C.; CARLSSON, B.; JOSEFSSON, M.; AHLNER, J.; BENGTSSON, F.; SCHMITT, U.; KUGELBERG, F.C. Effects on enantiomeric drug disposition and open-field behavior after chronic treatment with venlafaxine in the P-glycoprotein knockout mice model. **Psychopharmacology**, Berlin, v. 215, p. 367-377, 2011.
26. KATOH, M.; NAKAJIMA, M.; YAMAZAKI, T.; YOKOI, T. Inhibitory effects of CYP3A4 substrates and their metabolites on P-glycoprotein – mediated transport. **Eur J Pharm Sci**, Amsterdam, v. 12, p. 505-13, 2001.
27. KIM, R.B. Drugs as P-glycoprotein substrates, inhibitors, and inducers. **Drug Metab Rev**, New York, 2002, v. 34, n. 1, p. 47-54.
28. KINGBÄCK, M.; JOSEFSSON, M.; KARLSSON, L.; AHLNER, J.; BENGTSSON, F.; KUGELBERG; F. C.; CARLSSON, B. Stereoselective determination of venlafaxine and its three demethylated metabolites in human plasma and whole blood by liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometric detection and solid phase extraction. **J Phar Biomed Anal**, Oxford, v. 53, p. 583–590, 2010.
29. KINGBACK, M.; KARLSSON, L.; ZACKRISSON, A.; CARLSSON, B.; JOSEFSSON, M., BENGTSSON, F.; AHLNER, J.; KUGELBERG, F. C. Influence of CYP2D6 genotype on the disposition of the enantiomers of venlafaxine and its major metabolites in postmortem femoral blood. **Forensic Sci Int**, Lausanne, v. 214, p. 124–134, 2012.
30. KROEMER, H.K.; FROMM, M.F.; EICHELBAUM, M. Stereoselectivity in drug metabolism and action: effects of enzyme inhibition and induction. **Ther Drug Monit**, Hagerstown, v. 18, n. 4, p. 388-92, 1996.
31. LESSARD, E.; YESSINE, M.A.; HAMELIN, B.A.; O'HARA, G.; LEBLANC, J.; TURGEONS, J. Influence of CYP2D6 on the disposition and cardiovascular toxicity of the antidepressant agent venlafaxine in humans. **Pharmacogenetics**, London, v. 9, n. 4, p. 435-443, 1999.
32. LIN, J.H.; YAMAZAKI, M. Role of P-Glycoprotein in Pharmacokinetics: Clinical Implications. **Clin Pharmacokinet**, New York, v. 42, p. 59-98, 2003.

33. LINNET, K.; EJSING, T. B. A review on the impact of P-glycoprotein on the penetration of drugs into the brain. Focus on psychotropic drugs. **Eur. Neuropsychopharmacol**, Amsterdam, v. 18, p. 157-169, 2008.
34. LIU, W.; CAI, H.L.; LI, H.D. High performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry (HPLC-MS/ESI) method for simultaneous determination of venlafaxine and its three metabolites in human plasma. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**, Amsterdam, v. 850, p. 405-411, 2007.
35. LIU, W.; WANG, F.; LI, H.D. Simultaneous stereoselective analysis of venlafaxine and O-desmethylvenlafaxine enantiomers in human plasma by HPLC-ESI/MS using a vancomycin chiral column. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**, Amsterdam, V. 850, P. 183-189, 2007.
36. LOURENÇO, M.T.C.; KENNEDY, H. Desvenlafaxine in the treatment of major depressive disorder. **Neuropsychiatr Dis Treat**, Albany, v. 2009, n. 5, p. 127-136, 2011.
37. SWEETMAN, S. C. **Martindale: The complete drug reference**. Pharmaceutical Press, 2005. 3335 p.
38. MAKHIJA, S.N.; VAVIA, P.R. Once daily sustained release tablets of venlafaxine, a novel antidepressant. **Eur J Pharm Biopharm**, Stuttgart, v. 54, p. 9-15, 2002.

MCALPINE, D.E.; BIERNACKA, J.M.; MRAZEK, D.A.; O'KANE, D.J.; STEVENS, S.R.; LANGMAN, L.J.; COURSON, V.L.; BHAGIA, J.; MOYER, T.P. Effect of cytochrome P450 enzyme polymorphisms on pharmacokinetics of venlafaxine. **Ther Drug Monit**. 2011 Feb;33(1):14-20.
39. NATION, R.L. Chirality in new drug development. Clinical pharmacokinetic considerations. **Clin Pharmacokinet**, Auckland v. 27, p. 249-55, 1994.
40. NICHOLS, A.I.; LOBELLO, K.; GUICO-PABIA, C.J.; PAUL, J.; PRESKORN, S.H. Venlafaxine metabolism as a marker of cytochrome P450 enzyme 2D6 metabolizer status. **J. Clin Psychopharmacol**, Baltimore, v. 29, n. 4, p. 383-386, 2009.
41. OLVER, J.S.; BURROWS, G.D.; NORMAN, T.R. The treatment of depression with different formulations of venlafaxine: a comparative analysis. **Hum Psychopharmacol**, Chichester, v. 19, p. 9-16, 2004.
42. RICHARDS, D. Prevalence and clinical course of depression: A review. **Clin Psychol Rev**, New York, v. 31, p. 1117-1125, 2011.
43. ROCHA, A. **Enantiosseletividade no metabolismo do citalopram associado a inibidores do CYP: estudos clínico e experimental**. Tese de doutorado, 2007.

44. SHAMS, M.E.E.; ARNETH, B.; HIEMKE, C.; DRAGICEVIC, M.; MÜLLER, A.; MULLER, M.J.; KAISER, R.; LACKNER, K.; HÄRTTER, S. CYP2D6 polymorphism and clinical effect of the antidepressant venlafaxine. **Int J Clin Pharm**, Dordrech, v. 31, p. 493–502, 2006.
45. SOHN, D.R.; KUSAKA, M.; SHIN, S.G.; JANG, I.J.; CHIBA, K.; ISHIZAKI, T. Utility of a one-point (3-hour postdose) plasma metabolic ratio as a phenotyping test using metoprolol in two east Asian populations. **Ther Drug Monit**, New York, v. 14, n. 3, p. 184-189, 1992.
46. SOUZA-FILHO, J.H.; BONIFÁCIO, F.N.; BEDOR, D.C.G.; RAMOS, V.L.; SOUZA, C.E.M.; SARDON, L.L.F; GONÇALVES, T.M.; MOREIRA, R.C.D.; LEAL, L.B.; SANTANA, D.P. Relative bioavailability of two formulations of venlafaxine extended-release 75 mg capsules in healthy brazilian male volunteers: a single-dose, randomized-sequence, open-label, two-period crossover study in the fasting and fed states. **Clin Ther**, Princeton, v. 32:12, p. 2088-2096, 2010.
47. TAFT, D.R.; IYER, G.R.; BEHAR, L.; DIGREGORIO, R.V. Application of a first-pass effect model to characterize the pharmacokinetic disposition of venlafaxine after oral administration to human subjects. **Drug Metab Dispos**, Bethesda, v. 25, p. 1215-1218, 1997.
48. THERON, H.B.; MERWE, M.J.; SWART, K.J.; WESTHUIZEN, J.H. Employing atmospheric pressure photoionization in liquid chromatography/tandem mass spectrometry to minimize ion suppression and matrix effects for the quantification of venlafaxine and O-desmethylvenlafaxine. **Rapid Commun Mass Spectrom**, London, v. 21, n. 10, p. 1680-1686, 2007.
49. THUERAUF, N.; FROMM, M.F. The role of the P-glycoprotein for disposition and effects of centrally acting drugs for the pathogenesis of CNS diseases. **Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci**, Berlin, v. 256, p. 281-86, 2006.
50. TROY, S.M.; DILEA, C.; MARTIN, P.T.; LEISTER, C.A.; FRUNCILLO, R.J.; CHIANG, S.T. Pharmacokinetics of once-daily venlafaxine extended release in healthy volunteers. **Curr Ther Res Clin Exp**, New York, v. 58, n. 8, p. 504-514, 1997.
51. TUCKER, G.T., LENNARD, M.S. Enantiomer specific pharmacokinetics. **Pharmacol Ther**, Oxford, v. 45, n. 3, p. 309–329, 1990.
52. UHR, M.; GRAUER, M.T.; HOLSBOER, F. Differential enhancement of Antidepressant Penetration into the Brain in Mice with abcb1ab (mdr1ab) P-Glycoprotein Gene Disruption. **Biol Psychiatry**, New York, v. 54, p. 840-6, 2003.
53. UHR, M.; GRAUER, M.T.; YASSOURIDIS, A.; MARTIN EBINGER. Blood–brain barrier penetration and pharmacokinetics of amitriptyline and its metabolites in p-glycoprotein (abcb1ab) knock-out mice and controls. **J Psychiatr Res**, Oxford, v. 41, p. 179-188, 2007.

54. United States Food and Drug Administration. Silver Spring, Estados Unidos. Acesso em 09/01/2012
55. VARMA, M.V.S.; ASHOKRAJ, Y.; DEY, C.S.; PANCHAGNULA, R. P-glycoprotein inhibitors and their screening: a perspective from bioavailability enhancement. **Pharmacol Res**, London, v. 48, p. 347-59, 2003.
56. VARMA, M.V.S.; PERUMAL, O.P.; PANCHAGNULA, R. Functional role of P-glycoprotein in limiting peroral drug absorption: optimizing drug delivery. **Curr Opin Chem Biol**, London, v. 10, p. 367-73, 2006.
57. WANG, R.B.; KUO, C.L.; LIEN, L.L.; LIEN, .EJ. Structure-activity relationship: analyses of p-glycoprotein substrates and inhibitors. **J Clin Pharm Ther**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 203-28, 2003.
58. WIJNEN, P.A.H.M.; LIMANTORO, I.; DRENT, M.; BEKERS, O.; KUIJPERS, P.M.J.C.; KOEK, G.H. Depressive effect of an antidepressant: therapeutic failure of venlafaxine in a case lacking CYP2D6 activity. **Ann Clin Biochem**, London, v. 46, p. 527-530, 2009.
59. WIKINSKI, S. Pharmacokinetic mechanisms underlying resistance in psychopharmacological treatment. The role of P-glycoprotein. **Vertex**, Buenos Aires, v. 16, p. 438-41, 2005.
60. WRIGHT, C.W.; AIKAM, M.S.; WERTS, E.; SEABOLT, J.; HAEUSLER, J.M.C. Bioequivalence of single and multiple doses of venlafaxine extended-release tablets and capsules in the fasted and fed states: four open-label, randomized crossover trials in healthy volunteers. **Clin Ther**, Princeton, v. 31, n. 11, p. 2722-2734, 2009.
61. ZHANG, C.; KWAN, P.; ZUO, Z.; BAUM, L. The transport of antiepileptic drugs by P-glycoprotein. **Adv Drug Deliv Rev**, Amsterdam, In press, 2012.
62. ZHOU, S.F.; XUE, C.C.; YU, X.Q.; LI, C.; WANG, G. Clinically important drug interactions potentially involving mechanism-based inhibition of cytochrome P450 3A4 and the role of therapeutic drug monitoring. **Ther Drug Monit**, New York, v. 29, n.6, p. 687-710, 2007.