

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e
Análises Toxicológicas

**Enantioseletividade na disposição cinética da nisoldipina em
pacientes hipertensos portadores de diabetes mellitus tipo 2.
Utilização da lidocaína como fármaco marcador do CYP3A4**

Maria Paula Marques Pereira

**Tese para obtenção do Grau de
DOUTOR**

**São Paulo
2003**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e
Análises Toxicológicas

**Enantiosseletividade na disposição cinética da nisoldipina em
pacientes hipertensos portadores de diabetes mellitus tipo 2.
Utilização da lidocaína como fármaco marcador do CYP3A4**

Maria Paula Marques Pereira

**Tese para obtenção do Grau de
DOUTOR**

**Orientador:
Profa. Dra. VERA LUCIA LANCHOTE**

**São Paulo
2003**

DEDALUS - Acervo - CQ



30100005402

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

P436e **Pereira, Maria Paula Marques**
Enantiosseletividade na disposição cinética da nisoldipina em
pacientes hipertensos portadores de diabetes mellitus tipo 2.
Utilização da lidocaína como fármaco marcador do CYP3A4 /
Maria Paula Marques Pereira. -- São Paulo, 2003.
90p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises
Clínicas e Toxicológicas.

Orientador: Lanchote, Vera Lucia

I. Toxicologia 2. Farmacocinética 3. Hipertensão :
Medicina 4. Diabetes mellitus : Medicina I. T. II.
Lanchote, Vera Lucia, orientador.

615.9 CDD

Maria Paula Marques Pereira

**Enantiosseletividade na disposição cinética da nisoldipina em
pacientes hipertensos portadores de diabetes mellitus tipo 2.
Utilização da lidocaína como fármaco marcador do CYP3A4**

**Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do grau de Doutor**

**Profa. Dra. Vera Lucia Lanchote
orientador/presidente**

**Prof. Dr. Gilberto De Nucci
1º examinador**

**Prof. Dr. Luis Fernando Lopes Guimarães
2º examinador**

**Profa. Dra. Pierina Sueli Bonato
3º examinador**

**Profa. Dra. Silvia Regina Cavani Jorge Santos
4º examinador**

São Paulo, 30 de abril de 2003

Dedico esse trabalho

*Aos meus pais Divina e José Roberto
pelo amor e por todas as oportunidades dadas a mim*

*Ao meu marido Leonardo
pela paciência, apoio, e acima de tudo, pelo amor nas horas
difíceis e decisivas*

*Às minhas irmãs Renata e Roberta
pelo carinho e amizade*

*Aos meus sobrinhos Laura e Otávio
que nasceram durante essa caminha e só trazem alegria*

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Vera Lucia Lanchote por sua orientação, incentivo, dedicação e grande amizade.

Ao Prof. Dr. Eduardo Barbosa Coelho, que com seu entusiasmo e dedicação proporcionou a realização desse trabalho.

À Profa. Dra. Pierina Sueli Bonato por sua colaboração durante as análises cromatográficas.

À Profa. Dra. Silvia Regina Cavani Jorge Santos pelas correções e esclarecimentos.

À amiga Paula Macedo Cerqueira, pela amizade, companheirismo e incentivo dentro e fora da faculdade.

Aos amigos Eduardo, Sônia, Sandra, Neife, Cidinha, Natalino, Regina e Antônio, que me ensinaram a ser profissional e que hoje são companheiros de trabalho.

Aos colegas de pós-graduação Adriana, Wilson, Ísis, Paulo, Giuliano, Josiane, Vanessa, Fabiano, Rosângela, Olga, Ismar, pelo convívio, amizade e boas risadas.

À Profa. Dra. Silvia Berlanga de Moraes Barros, coordenadora do programa de pós-graduação.

Aos funcionários da seção de pós-graduação da FCF-USP Jorge, Bené e Elaine por toda a atenção.

Aos pacientes que consentiram em participar do estudo e aos funcionários do HCFMRP-USP que colaboraram com profissionalismo durante o desenvolvimento do projeto.

À FAPESP, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pela concessão da bolsa de doutorado e auxílio financeiro ao projeto.

A Deus que olha por todos nós

Obrigado

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

RESUMO

I. INTRODUÇÃO.....	1
1. Hipertensão e Diabetes Mellitus.....	2
2. Enantiosseletividade e Metabolismo da Nisoldipina.....	4
3. Lidocaína como Fármaco Marcador do CYP3A4.....	11
II. OBJETIVOS.....	16
III. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	18
1. Casuística.....	19
2. Protocolo Clínico.....	21
2.1. Nisoldipina.....	21
2.2. Lidocaína e MEGX.....	22
2.3. Noradrenalina.....	22
3. Métodos Analíticos.....	23
3.1. Análise Enantiosseletiva da Nisoldipina em Plasma.....	23
3.1.1. Soluções Padrão e Reagentes.....	23
3.1.2. Extração Líquido-Líquido.....	23
3.1.3. Separação dos Enantiômeros por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)	24
3.1.4. Quantificação dos Enantiômeros Isolados por GC-MS.....	25
3.1.5. Curvas de Calibração.....	28
3.1.6. Limites de Confiança.....	28
3.1.6.1. Recuperação.....	28
3.1.6.2. Linearidade.....	29
3.1.6.3. Limite de Quantificação.....	29
3.1.6.4. Precisão e Exatidão.....	29
3.1.6.5. Seletividade.....	30
3.2. Análise da Lidocaína e MEGX em Plasma.....	30
3.2.1. Soluções Padrão e Reagentes.....	30
3.2.2. Extração Líquido-Líquido.....	31

3.2.3. Análise Cromatográfica.....	31
3.2.4. Curvas de Calibração.....	31
3.2.5. Limites de Confiança.....	34
3.2.5.1. Recuperação.....	34
3.2.5.2. Linearidade.....	34
3.2.5.3. Limite de Quantificação.....	34
3.2.5.4. Precisão e Exatidão.....	35
3.2.5.5. Seletividade.....	35
3.3. Análise de Catecolaminas em Plasma.....	35
3.3.1. Soluções Padrão e Reagentes.....	35
3.3.2. Extração Líquido-Líquido.....	36
3.3.3. Análise Cromatográfica.....	36
3.3.4. Curvas de Calibração	37
4. Análise Farmacocinética.....	39
5. Análise Estatística.....	41
IV.RESULTADOS.....	42
1. Disposição Cinética Enantiosseletiva da Nisoldipina.....	43
2. Análise de Lidocaína e MEGX em Plasma.....	54
3. Análise Farmacodinâmica da Nisoldipina.....	62
V.DISSCUSSÃO.....	68
VI.CONCLUSÕES.....	81
VII.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83
SUMMARY	
ANEXOS	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Metabolismo da nisoldipina no homem

Figura 2 – Metabolismo da lidocaína no homem

Figura 3 – Separação dos enantiômeros da nisoldipina por HPLC

Figura 4 – Quantificação dos enantiômeros da nisoldipina por GC-MS

Figura 5 – Análise da lidocaína e MEGX em plasma

Figura 6 – Análise de catecolaminas em plasma

Figura 7 – Separação dos enantiômeros (+) e (-)-nisoldipina por HPLC na coluna *Chiralcel*[®] OD-H com fase móvel n-hexano:etanol (97,5:2,5 v/v) na vazão de 1,0 ml/min

Figura 8 – Cromatogramas referentes a (+)-nisoldipina no sistema GC-MS (SIM): (A) plasma branco, (B) plasma enriquecido com nisoldipina racêmica

Figura 9 – Cromatogramas referentes a (-)-nisoldipina no sistema GC-MS (SIM): (A) plasma branco, (B) plasma enriquecido com nisoldipina racêmica

Figura 10 - Cromatogramas referentes a análise do plasma de paciente no sistema GC-MS (SIM): (A) (+)-nisoldipina, (B) (-)-nisoldipina

Figura 11 – Curvas de calibração para análise de (+)-nisoldipina e (-)-nisoldipina (0,05 a 10,0 ng de cada enantiômero/ml) em plasma

Figura 12 – Curvas concentração plasmática (+) e (-)-nisoldipina *versus* tempo no intervalo de dose de 24h relativo aos Grupos Controle (n=8) e Diabético (n=9). Dados expressos através de medianas_± IC95%

Figura 13 - Razões enantioméricas (+)/(-) das concentrações plasmáticas de nisoldipina referentes ao Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9). Dados expressos através de medianas_± IC95%

Figura 14 – Cromatogramas referentes a (A) plasma enriquecido com MEGX (1) e lidocaína (2); (B) plasma branco; (C) plasma de paciente tratado com lidocaína 1mg/kg i.v. após 30 min

Figura 15 – Curvas de calibração para a análise seqüencial da lidocaína (0,5 a 5 µg/ml) e do metabólito MEGX (8 a 80 ng/ml) em plasma

Figura 16 - Correlação entre as razões das concentrações lidocaína/MEGX após 30 min de infusão i.v. de 1mg/Kg de lidocaína e os *clearances* aparentes dos enantiômeros da nisoldipina. Dados individuais de pacientes do Grupo Controle (n = 8) e Grupo Diabético (n = 8)

Figura 17 - Cromatogramas referentes a análise das catecolaminas em plasma: (A) branco de reagentes; (B) tampão enriquecido com solução padrão de (1) noradrenalina; (2) adrenalina; (3) dl-normetanefrina; (4) dl-metanefrina; (5) dopamina e (C) plasma de paciente

Figura 18 - Curva de calibração para a noradrenalina em plasma (2-50 pmol/ml)

Figura 19 - Pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e concentração plasmática de (+)-nisoldipina referentes ao Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9) no intervalo de dose. Dados expressos através de medianas \pm IC95%

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Dados individuais dos pacientes investigados. Grupo Controle (n = 8)

TABELA 2 – Dados individuais dos pacientes investigados. Grupo Diabético (n = 9)

TABELA 3 – Parâmetros empregados na análise farmacocinética dos enantiômeros da nisoldipina

TABELA 4 – Limites de confiança do método análise enantiosseletiva da nisoldipina em plasma

TABELA 5 – Seletividade do método de análise enantiosseletiva da nisoldipina em plasma

TABELA 6 – Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina em pacientes do Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9). Dados expressos através da mediana (IC95%) e média

TABELA 7 - Limites de confiança do método de análise seqüencial para a determinação da lidocaína plasmática

TABELA 8 - Limites de confiança do método de análise seqüencial para a determinação do metabólito MEGX em plasma

TABELA 9 - Seletividade do método de análise seqüencial da lidocaína e MEGX

TABELA 10 - Concentrações plasmáticas de lidocaína e MEGX e razões lidocaína/MEGX nos tempos de 15 e 30 minutos relativos ao Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=8). Dados expressos através da mediana (IC95%) e média

TABELA 11 – Concentração plasmática e razões de noradrenalina nos Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9). Dados expressos através da mediana (IC95%) e média

TABELA 12 - Dados de pressão arterial sistólica referentes ao Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9). Dados expressos através da mediana (IC95%) e média

TABELA 13 - Dados de pressão arterial diastólica referentes ao Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9). Dados expressos através da mediana (IC95%) e média

TABELA 14 - Dados de pressão arterial média referentes ao Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9). Dados expressos através da mediana (IC95%) e média

TABELA 15 - Dados de frequência cardíaca referentes ao Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9). Dados expressos através da mediana (IC95%) e média

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AUC^{ss}_{0-24} – área sob a curva concentração plasmática versus tempo no estado de equilíbrio no intervalo de 0-24h

bpm – batida por minuto

GC – ECD – cromatografia em fase gasosa com detector por captura de elétrons

GC – MS – cromatografia em fase gasosa acoplada a detector de massas

GC – NPD – cromatografia em fase gasosa com detector de nitrogênio e fósforo

Cl/F – *clearance* aparente

C_{max} – Concentração plasmática máxima

CYP – citocromo P450

DPBEA – complexo ácido difenilbórico – etanolamina

EDTA – ácido etilenodiaminotetracético

EGTA – [(ácido N,N,N',N' – tetraácido etilenoglicol – bis (β - éter amino etílico)

EPM – erro padrão da média

FC – frequência cardíaca

HPLC – cromatografia líquida de alta eficiência

IC95% - intervalo de confiança 95%

K_a – constante de velocidade de absorção

K_{el} – constante de velocidade de eliminação

MEGX – monoetilglicinaxilidida

mmHg – milímetro de mercúrio

NBD-F – 7-fluoro-4-nitrobenzeno-2-oxa-1,3-diazol

PAD – pressão arterial diastólica

PAS – pressão arterial

PI – padrão interno

SDS – dodecil sulfato de sódio

SIM – *single ion monitoring*

t_{1/2} – meia vida de eliminação

t_{1/2a} – meia vida de absorção

t_{max} – tempo para atingir C_{max}

ToABR – brometo de tetraoctilamônio

UV – ultravioleta

v/v – volume/volume

V_d/F – volume de distribuição

RESUMO

PEREIRA, M. P. M. Enantiosseletividade na disposição cinética da nisoldipina em pacientes hipertensos portadores de diabetes mellitus tipo 2. Utilização da lidocaína como fármaco marcador do CYP3A4. 2003. 90 p. Tese Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

A nisoldipina é um antagonista de cálcio da classe das di-hidropiridinas disponível na clínica como mistura racêmica para o tratamento da hipertensão. No presente estudo foi investigada a influência do diabetes mellitus tipo 2 (DM) sobre a farmacocinética enantiosseletiva e nos parâmetros farmacodinâmicos da nisoldipina. Dezesete pacientes hipertensos, sendo nove portadores de diabetes mellitus foram investigados depois da administração da nisoldipina racêmica na forma de comprimidos de liberação controlada (20mg/dia) ou placebo por 15 dias. As amostras seriadas de sangue (0-24h) foram colhidas no 15º dia, e medidas de pressão arterial por 24h foram simultaneamente avaliadas. Os enantiômeros da nisoldipina em amostras de plasma foram analisados utilizando coluna quiral em cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia gasosa/espectrometria de massas. As diferenças entre as razões enantioméricas foram avaliadas pelo teste de Wilcoxon e os resultados estão reportados através das médias com intervalo de confiança de 95%. O teste da lidocaína foi utilizado como marcador da atividade *in vivo* do CYP3A4. As seguintes diferenças foram observadas entre os enantiômeros (+)-nisoldipina e (-)-nisoldipina, respectivamente, nos pacientes diabéticos (medianas e IC95%): C_{max} 3,0 (1,7-6,1) vs 0,5 (0,4-1,0) ng/ml, AUC^{SS}₀₋₂₄ 44,0 (29,0-74,0) vs 7,9 (5,9-12,8) ng/ml.h, Cl/F 3,4 (1,9-5,4) vs 18,3 (11,7-25,7) l/h/kg. Os valores de Cl/F de (+)-nisoldipina foram menores (teste de Mann-Whitney) em pacientes diabéticos: 6,1 (4,3-7,5) vs 3,4 (1,9-5,4) l/h/kg. A mesma observação foi feita para (-)-nisoldipina, com redução de Cl/F de 33,4 (26,8-51,0) para 18,3 (11,7-25,7) l/h/kg para os grupos controle e diabético, respectivamente. O teste da lidocaína resultou em razões maiores ($p < 0,05$) das concentrações plasmáticas lidocaína/MEGX (30 min após lidocaína i.v.) para o grupo DM (10,8 vs 20,6). A nisoldipina reduz significativamente a pressão arterial sistólica e pressão arterial diastólica ($p < 0,05$, teste de Wilcoxon) em todos os pacientes investigados, comparados ao placebo. Não houve diferenças significativa na redução da pressão arterial observada entre os pacientes diabéticos e não diabéticos. A nisoldipina aumentou significativamente as concentrações de noradrenalina no plasma dos pacientes hipertensos portadores ou não de DM. Os dados também demonstraram que as concentrações de noradrenalina 30 min após a administração de nisoldipina foram menores ($p < 0,05$) nos diabéticos (2,4 pmol/ml) do que nos pacientes não diabéticos (5,3 pmol/ml). Os dados obtidos na presente investigação permitem inferir que o diabetes mellitus tipo 2 altera a disposição cinética do eutômero (+)-nisoldipina e do distômero (-)-nisoldipina em razão da inibição do CYP3A4, sem no entanto modificar o efeito clínico traduzido pela redução na pressão arterial.

Palavras-chave: nisoldipina, enantiômeros, farmacocinética, diabetes, hipertensão.

I. INTRODUÇÃO

1. Hipertensão e Diabetes Mellitus

O diabetes mellitus afeta cerca de 8% da população mundial, sendo a principal causa de cegueira em adultos, a principal causa de amputação de membros inferiores e responsável por 26% dos pacientes que ingressam em programas de diálise. Os pacientes diabéticos representam cerca de 30% dos pacientes que são internados em Unidades Coronarianas Intensivas com dor precordial (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2000).

O diabetes mellitus é uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta de insulina e/ou da incapacidade da insulina em exercer adequadamente sua ação. Clinicamente se manifesta como hiperglicemia crônica com distúrbios do metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas, levando, com o passar dos anos, a danos, disfunção e falência de vários órgãos com destaque para o coração, vasos sanguíneos, olhos, nervos e rins. O diabetes mellitus também ocasiona lesões motora, sensitiva e autonômica. Com freqüência os sintomas clássicos, definidos como perda inexplicada de peso, poliúria e polidipsia, estão ausentes (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2000).

A classificação do diabetes mellitus, segundo o Consenso Brasileiro sobre Diabetes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2000), incorpora o conceito de estágios clínicos da doença, desde a normalidade, passando para a tolerância à glicose diminuída e/ou glicemia de jejum alterada, até o diabetes mellitus propriamente dito. Eliminaram-se, portanto, os termos diabetes juvenil ou adulta, e diabetes mellitus insulino-dependente (IDDM) ou não-insulino-dependente (NIDDM). A nova classificação baseia-se na etiologia do diabetes mellitus e pode ser descrita como:

- diabetes mellitus tipo 1: causado pela deficiência absoluta da secreção de insulina, resultante da destruição auto-imune das células β (beta) do pâncreas. A maioria dos pacientes portadores desse tipo de diabetes tornam-se dependentes de insulina para sobreviverem;
-

- diabetes mellitus tipo 2: causado, em geral, por muitos fatores que acabam contribuindo para uma relativa deficiência de secreção de insulina, e graus variáveis de resistência a insulina. Os principais fatores para o desenvolvimento do diabetes mellitus tipo 2 são a obesidade e a hipertensão;
- diabetes gestacional: é a diminuição da tolerância a glicose, de magnitude variável, diagnosticada pela primeira vez na gestação, podendo ou não persistir após o parto;
- outros tipo de diabetes mellitus: são decorrentes de defeitos genéticos associados com outras doenças ou com uso de fármacos diabetogênicos.

O aumento da mortalidade causada por problemas cardiovasculares dos pacientes diabéticos está relacionado ao estado diabético propriamente dito e à agregação de vários fatores de risco cardiovasculares, como hipertensão arterial, obesidade, e dislipidemia (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2000). A hipertensão e o diabetes mellitus são doenças comumente relacionadas. No diabetes mellitus tipo 2, a hipertensão faz parte do espectro da síndrome metabólica, afetando cerca de 50% dos pacientes. Os pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 1 podem manifestar hipertensão arterial tardiamente, havendo associação com o aparecimento da microalbuminúria e torna-se mais intensa e freqüente à medida que progride para as fases de macroproteinúria e diminuição da função renal (American Diabetes Association, 2002; Sociedade Brasileira de Diabetes, 2000). Tratamentos eficazes contra a hipertensão são reportados para pacientes portadores de diabetes mellitus, sendo atualmente considerada como ideal pressão sanguínea menor que 130/80 mmHg (American Diabetes Association, 2002).

Estudos clínicos e experimentais vêm demonstrando que o diabetes mellitus pode levar a alterações de diversas enzimas, dentre as quais do sistema citocromo P450 (CYP), provocando modificações diferenciadas na expressão de suas isoformas (Shaw, 2001). O diabetes mellitus, experimentalmente induzido em ratos, tende a suprimir a expressão do

CYP1A2, CYP2C11, CYP2C13 e CYP3A2 e a induzir a expressão do CYP2A1, CYP2B1, CYP2C12, CYP4A1 e CYP2E1 (Iber et al., 2001; Schenkman, 1991). Matzke et al. (2000) reportam que o metabolismo da antipirina é induzido em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 1, sugerindo um aumento na atividade do CYP1A2. Hannon-Fletcher et al. (2001) reportam que a expressão do CYP2E1 é elevada em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 1.

2. Enantiosseletividade e Metabolismo da Nisoldipina

O tratamento anti-hipertensivo reduz a incidência e a mortalidade por doenças cardiovasculares na população diabética. No tratamento anti-hipertensivo inicial do paciente diabético, deve-se utilizar agente farmacológico associado à mudança do seu estilo de vida. Qualquer classe de agentes anti-hipertensivos poderá ser incluída no esquema de tratamento, desde que considerados os efeitos no metabolismo glicolipídico e as complicações crônicas associadas ao diabetes mellitus (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2000).

Os antagonistas de cálcio são considerados como fármacos de primeira escolha para o tratamento da hipertensão por causa da alta eficácia e relativa alta tolerabilidade (Shionoiri et al., 1995). São eficazes como monoterapia, possuindo a vantagem de não alterar o perfil lipídico do plasma, nem piorar a sensibilidade periférica à insulina (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2000).

A nisoldipina [(±) 3,5-dicarboxilato de 3- isobutil 5-metil 1,4-di-hidro-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-piridina (Figura 1)], um antagonista de cálcio da classe 1,4 di-hidropiridina, reduz a resistência vascular e a pressão sangüínea inibindo o influxo de cálcio do miocárdio e das células da musculatura lisa. A nisoldipina é empregada na clínica como antianginoso e hipotensor (Chandler et al., 1992; Heinig et al., 1999; Radevski et al., 1999; Schaefer et al., 1997; Van Harten et al., 1989). A nisoldipina administrada sob a forma de comprimidos revestidos apresenta eficácia como

monoterapia em pacientes portadores de hipertensão leve a moderada (Radevski et al., 1999).

A nisoldipina é administrada por via *per oral*, na forma de comprimidos revestidos de liberação controlada, em doses únicas diárias (Heinig et al., 1994; Tokuma & Noguchi, 1995). Os comprimidos de liberação controlada apresentam um revestimento externo que contém 80% da dose total distribuída em um polímero à base de gel de desintegração prolongada, que libera lentamente o medicamento na porção superior do trato gastrintestinal. Neste processo, a concentração plasmática máxima (C_{max}) da nisoldipina é atingida em 6 a 12h (t_{max}). Os 20% restantes da dose são liberados do núcleo do comprimido na porção inferior do trato gastrintestinal, mantendo a concentração plasmática da nisoldipina até 24h (Langtry et al., 1997). Os valores de t_{max} entre 6 a 12h, decorrentes da formulação de liberação controlada, demonstram absorção lenta da nisoldipina se comparado com valores de t_{max} da formulação de liberação imediata (0,9 a 1,8h) (Heinig, 1998).

A nisoldipina é geralmente bem tolerada, apresentando efeitos adversos discretos ou transitórios, que tendem a ocorrer no início da terapia. Os efeitos mais freqüentes estão associados com a ação vasodilatadora, que incluem vertigem, rubor, cefaléia, hipotensão, edema periférico e palpitações. Esses eventos são comuns ao grupo dos antagonistas do cálcio. A nisoldipina ainda apresenta outros efeitos menos freqüentes, como náuseas, distúrbios gastrintestinais, taquicardia e parestesia (Langtry et al., 1997; Plosker et al., 1996; Reynolds, 1996).

A nisoldipina apresenta absorção quase completa no trato gastrintestinal, mas com biodisponibilidade baixa (3,9 - 8,4%), devido ao extenso metabolismo hepático de primeira passagem e metabolismo pré-sistêmico na parede intestinal (Plosker et al., 1996; Zannad, 1995). As dietas ricas em gordura podem ocasionar aumento da velocidade de absorção da nisoldipina (Schaefer et al., 1997).

A nisoldipina é altamente ligada às proteínas plasmáticas com fração livre de 0,27%, indicando extensa distribuição aos tecidos. A meia vida é

variável, estando entre 9,1-14 h em formulações de liberação controlada. O volume de distribuição é alto, entre 1,6 a 7,1 l/kg (Heinig, 1998).

O *clearance* sistêmico de 0,83 a 1,17 l/min caracteriza a nisoldipina como um fármaco de alta razão de extração hepática com *clearance* dependente principalmente do fluxo de sangue hepático (Heinig, 1998). A nisoldipina é eliminada principalmente através do metabolismo, com presença de 74% dos metabólitos na urina e 12% nas fezes. A oxidação da 1,4 di-hidropiridina (nisoldipina) em piridina (M-13), catalisada pelo CYP3A4, representa a via preponderante de metabolismo (Figura 1) (Guengerich et al., 1991). A hidroxilação do éster isobutílico da 1,4 di-hidropiridina (M-9) ou da piridina (M-10) é a segunda via mais importante do metabolismo. Dentre os metabólitos identificados no plasma humano (M13, M9 e M10), somente o metabólito M-9 mantém a função 1,4 di-hidropiridina e apresenta atividade farmacológica qualitativamente similar a nisoldipina em animais de experimentação (Heinig, 1998). Outras reações metabólicas envolvem a hidrólise do éster isobutílico (M-1), a hidrólise do éster metílico (M-4), a hidroxilação do grupamento metila da piridina (M-5) e a formação de conjugados com o ácido glicurônico (M-12) (Heinig, 1998; Kato et al., 2000).

A investigação de pacientes hipertensos com diferentes graus de insuficiência renal demonstrou não haver influência da insuficiência renal na farmacocinética da nisoldipina, uma vez que a eliminação se dá principalmente por metabolismo hepático (Heinig, 1998). Zannad et al. (1995) relatam que a disfunção hepática afeta a farmacocinética da nisoldipina, reportando C_{max} e biodisponibilidade 3 a 4 vezes maiores em pacientes portadores de cirrose hepática, demonstrando significativa redução do metabolismo.

As interações farmacocinéticas da nisoldipina com outros fármacos foram investigadas em voluntários sadios e pacientes hipertensos. As interações da nisoldipina com propranolol, digoxina e warfarina não possuem relevância clínica quanto ao aspecto farmacológico. No entanto, observa-se maior concentração plasmática da nisoldipina na administração

concomitante com cimetidina, um inibidor do CYP3A4. Os indutores do CYP3A4, como a rifampicina e fenitoína, também alteram o metabolismo da nisoldipina (Heinig, 1998).

A nisoldipina é um fármaco quiral disponível no mercado como racemato, com configuração absoluta dos enantiômeros (+)-nisoldipina e (-)-nisoldipina até então não definida (Heinig et al., 1994; Tokuma & Noguchi, 1995). A maioria das di-hidropiridinas possuem um ou mais centros quirais, e a atividade farmacológica pode diferir entre os enantiômeros (Tokuma & Noguchi, 1995). Em ratos, a atividade anti-hipertensiva do enantiômero (+) é aproximadamente 20 vezes maior que a do antípoda (-) (Heinig et al.; 1994).

A administração intravascular de nisoldipina racêmica não resulta em diferenças relevantes entre as concentrações plasmáticas dos enantiômeros (Frost et al., 1990; Heinig et al., 1994). As razões de concentrações plasmáticas (+)/(-) variam de 5 a 13 vezes, respectivamente, em pacientes idosos hipertensos (dose múltipla) e em voluntários sadios (dose única) tratados com nisoldipina racêmica por via *per oral*, sendo maior a razão nos período compreendido entre 2,5 a 4h (15,4 a 16,2h) e menor entre 7 a 14h (6,8 a 9,2h) após a administração. Em voluntários sadios a biodisponibilidade do enantiômero (+) é 6,3 vezes maior que a do (-), provavelmente em função de diferenças enantiosseletivas no *clearance* intrínseco (Frost et al., 1990; Heinig et al., 1994).

A administração dos enantiômeros individuais a voluntários sadios ou a pacientes apresenta limitações em estudos de disposição cinética e metabolismo. A disposição cinética pode diferir nas situações de administração de enantiômeros individuais e racematos em função da possibilidade de interações enantiômero-enantiômero na farmacocinética e/ou farmacodinâmica. A alta atividade farmacológica da nisoldipina associada às baixas doses terapêuticas, a baixa biodisponibilidade, o alto volume de distribuição e a quiralidade denunciam baixas concentrações plasmáticas, exigindo, portanto, métodos analíticos de baixos limites de quantificação, com trabalho nas condições limites dos equipamentos.

Frost et al. (1990) foram pioneiros na investigação da enantiosseletividade na farmacocinética da nisoldipina administrada a voluntários sadios (n=5) por via *per oral* ou intravascular, sob a forma de solução de pseudo-racemato, contendo 4 vezes o enantiômero (+) marcado com ^{13}C em relação ao enantiômero (-) não marcado. Os autores mencionam que as razões enantioméricas de concentrações plasmáticas foram determinadas por GC-MS (cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas) sem quaisquer outros detalhamentos do procedimento analítico. O espectrômetro de massas permite diferenciar as massas entre o isótopo marcado e não marcado do fármaco. Esse método foi usado na determinação estereoespecífica de outras 1,4 di-hidropiridinas como a nitrendipina e a felodipina em plasma.

Somente Heinig et al. (1994) descrevem a separação e quantificação dos enantiômeros da nisoldipina em plasma humano com aplicação em estudos de enantiosseletividade na disposição cinética de administração da nisoldipina sob a forma de racemato. Os autores separam os enantiômeros (+) e (-) por HPLC (cromatografia líquida de alta eficiência) na coluna de fase quiral *Chiralcel*[®] OJ e quantificam a 1,4 di-hidropiridina nas frações HPLC utilizando GC-MS. Os autores reportam limites de quantificação de 0,1 ng de cada enantiômero/ml de plasma, com capacidade de quantificação do enantiômero (+) até 48 h, e do antípoda (-) até 24 h após a administração de dose única de 40 mg do racemato a voluntários sadios. As dificuldades analíticas restringem-se principalmente ao enantiômero (-), presente no plasma humano em concentrações aproximadamente 10 vezes inferiores ao antípoda (+). Zimmer & Muschalek (1994) reportam a análise enantiosseletiva da nisoldipina em plasma de ratos, cães e camundongos utilizando HPLC/GC-MS. No entanto, o limite de quantificação do método de 0,5 ng/ml não é compatível para a aplicação em estudos clínicos.

Todos os procedimentos de preparo das amostras e análise instrumental exigem ambiente com proteção da luz natural e luz amarela como única fonte de iluminação, uma vez que a exposição da nisoldipina à luz resulta em fotodecomposição (Heinig et al., 1994; Heinig, 1998). As

alterações químicas na molécula irradiada envolvem a oxidação do anel dihidropiridina e a redução do grupamento nitro a nitroso. Dependendo da origem da irradiação podem ser obtidos dois diferentes produtos de fotodegradação: o nitrofenilpiridina resultante da luz ultravioleta e o nitrosofenilpiridina resultante da exposição à luz solar (Laroche et al., 1998; Marinkovik et al., 2000). A meia vida de fotodecomposição da nisoldipina no plasma é de 11 minutos (Heinig, 1998).

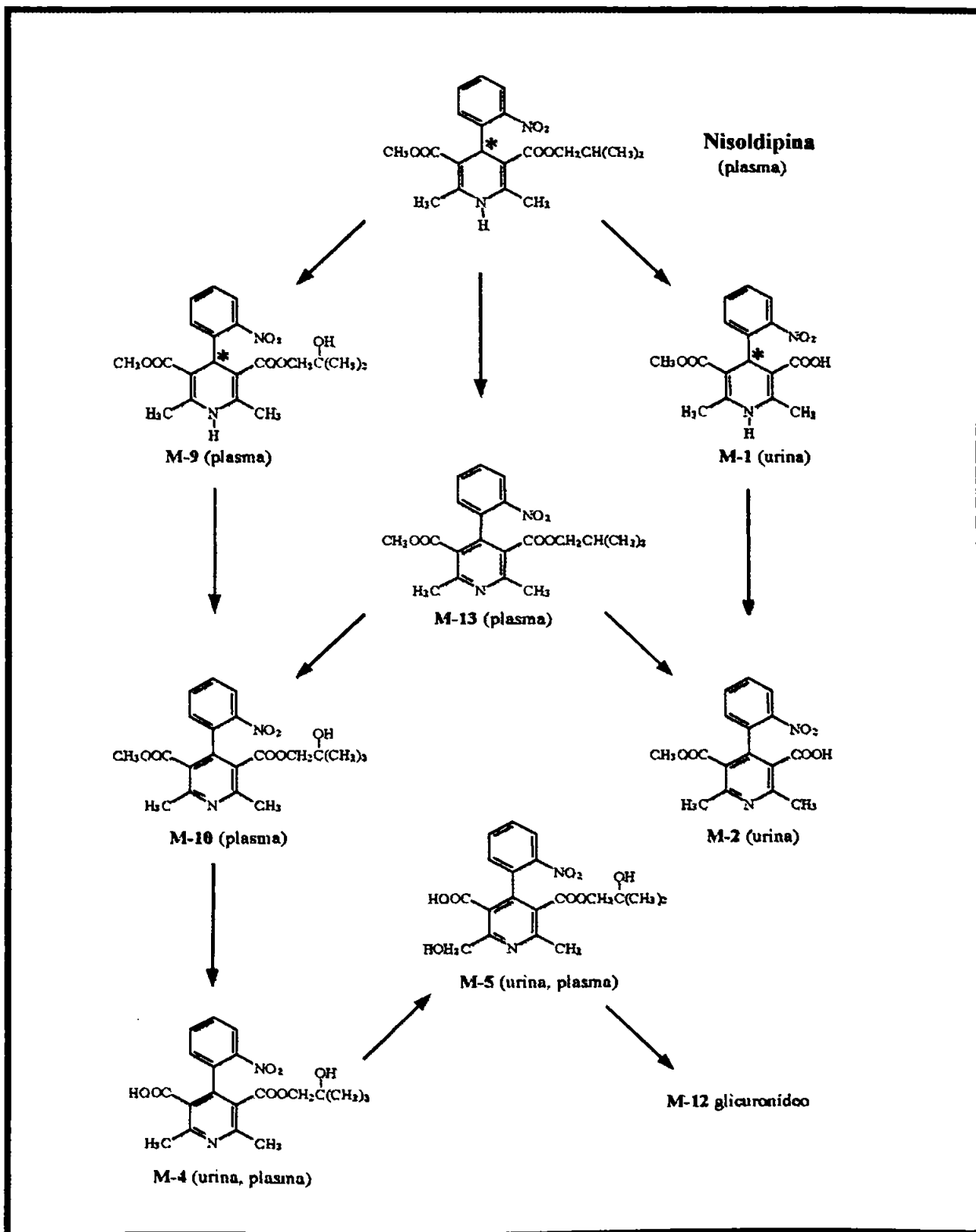


Figura 1-Metabolismo da nisoldipina no homem (Heinig, 1998)

3. Lidocaína como Fármaco Marcador do CYP3A4

O metabolismo hepático caracteriza-se como um processo fundamental na eliminação ou na formação de metabólitos com atividade farmacológica de muitos fármacos em uso na clínica. O CYP atua na Fase I do metabolismo, estimando-se que existam de 30 a 100 diferentes isoformas, com diferentes especificidades por substratos e diferentes mecanismos de controle de expressão. Essa variedade de isoformas permite o reconhecimento do metabolismo de moléculas com as mais variadas estruturas químicas, incluindo medicamentos, poluentes ambientais e compostos endógenos como prostaglandinas, ácidos graxos e esteróides (Gilman et al., 1991). A isoforma mais abundante no fígado humano é o CYP3A4 (30 a 40% do CYP total) envolvido no metabolismo de um número crescente de agentes terapêuticos, dentre os quais a nisoldipina, lidocaína, ciclosporina, eritromicina, midazolam, triazolam e nifedipina. Os substratos endógenos incluem os esteróides, tais como a testosterona, cortisol, progesterona, androstanediol, sulfato de 3-desidroepiandrosterona e estradiol. O CYP3A4 também está envolvido no metabolismo de pró-carcinógenos como a esterigmatocistina e a aflatoxina B1. A atividade do CYP3A4 pode ser induzida *in vivo* por corticoesteróides como a dexametasona, anticonvulsivantes como o fenobarbital, fenitoína e carbamazepina, e antimicrobianos como a rifampicina e rifapentina. Por outro lado, a atividade do CYP3A4 pode ser inibida pela eritromicina, claritromicina, troleandomicina, gestodeno, ritonavir e fluvoxamina (Kivisto & Kroemer, 1997; Shiffman et al., 1996).

A atividade do CYP3A, varia até 10 vezes entre os pacientes considerados não induzidos. Sua atividade e expressão não podem ser atribuídas ao polimorfismo genético, conseqüentemente o conhecimento da atividade *in vivo* da isoforma é de relevância no ajuste racional do regime de dosagem de fármacos substratos do CYP3A4 (Wildt et al., 1999). Dentre os fármacos marcadores da atividade *in vivo* do CYP3A4 destacam-se a eritromicina, midazolam, cortisol, dapsona e lidocaína. As principais

desvantagens do teste da eritromicina relacionam-se com a necessidade de administração intravascular de N-metil eritromicina marcada com ^{14}C , e com a incapacidade da avaliação da atividade intestinal do CYP3A4. O *clearance* do midazolam administrado por via intravascular é tido como uma boa estimativa da atividade do CYP3A4 hepático, no entanto, os efeitos farmacológicos e a necessidade de coletas seriadas de sangue dificultam a aplicação clínica do teste. A razão urinária 6- β -hidroxicortisol/cortisol, embora muito empregada como indicadora da atividade do CYP hepático, por razões até então desconhecidas, parece não refletir ou refletir apenas parcialmente na atividade do CYP3A4. A administração oral de dapsona (razão urinária dapsona hidroxilamina / dapsona + dapsona hidroxilamina) não resulta em boa estimativa da atividade do CYP3A4, em função das contribuições do CYP3A5 intestinal e renal e do CYP2E1 na formação do metabólito dapsona hidroxilamina (Kivisto & Kroemer, 1997).

A lidocaína, anestésico local e fármaco de escolha no tratamento ou prevenção de arritmias ventriculares, é eliminada principalmente por metabolismo com relato de excreção renal do fármaco inalterado inferior a 5%. A desetilação da lidocaína, dependente do CYP3A4, resulta na formação do principal metabólito monoetilglicinoxilidida (MEGX) (Figura 2) (Bargetzi et al., 1989; Isohanni et al., 1998; Sotaniemi et al., 1995). Wang J. et al. (2000), em estudo *in vitro*, utilizando microssomas de fígado humano, sugerem também a participação da isoforma CYP1A2 no metabolismo da lidocaína. O metabólito MEGX é desetilado e hidrolisado a 4-hidroxi-xilodina, o principal metabólito urinário. Em microssomas de fígado humano, a lidocaína é também hidroxilada a 3-hidroxi-lidocaína (Bargetzi et al., 1989; Isohanni et al., 1998).

A lidocaína é um fármaco de média a alta razão de extração hepática (0,6 a 0,8) com *clearance* oral dependente tanto da atividade enzimática quanto do fluxo de sangue hepático (Iwatsubo et al., 1997; Muñoz et al., 1999). No entanto, na administração intravascular de lidocaína, as concentrações plasmáticas do metabólito MEGX refletem primariamente a atividade conjunta do CYP3A4 e CYP1A2. As

concentrações plasmáticas do metabólito MEGX, 15 a 30 min após a administração intravascular de lidocaína (1 mg/kg) a voluntários sadios, variam entre 15 a 130 ng/ml (Shiffman et al., 1996). As menores concentrações plasmáticas são observadas em mulheres tratadas com contraceptivos orais (Shiffman et al., 1996).

O teste MEGX baseia-se na capacidade do metabolismo hepático da lidocaína a MEGX e pode ser referido como um marcador da atividade *in vivo* do CYP3A4 e CYP1A2 (Reichel et al., 1997; Reichel et al., 1998). A dose de lidocaína administrada para o teste MEGX é similar a dose de ataque utilizada no tratamento de arritmias ventriculares. As reações adversas mais comuns incluem parestesias nos lábios, língua e lóbulos das orelhas, gosto metálico, tinido e tonturas que desaparecem em 30 a 60 segundos após a administração (Shiffman et al., 1996). O teste MEGX também é empregado na clínica como teste de função hepática, particularmente para doadores de fígado para transplante e também como indicador de doença hepática progressiva (Laroche et al., Schutz et al., 1998). As concentrações plasmáticas do metabólito MEGX são reduzidas de acordo com a gravidade da cirrose e hepatite crônica refletindo a redução na capacidade do metabolismo hepático (Shiffman et al., 1996).

As concentrações plasmáticas do metabólito MEGX podem ser determinadas por imunoenaios ou por técnicas cromatográficas como GC e HPLC. O imunoenasão, apesar da rapidez e baixo limite de quantificação (3 ng/ml) apresenta as desvantagens da interferência de bilirrubina e de compostos endógenos presentes em algumas amostras de plasma (Andreeva et al., 1997; Marinkovic et al., 2000).

Lorec et al. (1994) e Laroche et al. (1998) reportam a análise seqüencial da lidocaína e do metabólito MEGX em plasma com emprego da cromatografia em fase gasosa com detector de nitrogênio-fósforo. Os autores reportam limite de quantificação de 2,5 ng de MEGX/ml de plasma e eliminação da interferência da cafeína e metabólitos com a introdução do procedimento de extração em fase sólida.

A análise da lidocaína e MEGX por HPLC pode ser realizada com detecção por ultravioleta ou fluorescência. A detecção por ultravioleta foi empregada por Chen et al. (1992) e O'neal et al. (1996) com relato de limite de quantificação de 10 ng de MEGX por ml de plasma. O emprego do detector por fluorescência exige a derivação do MEGX com 7-fluoro-4-nitrobenzeno-2-oxa-1,3-diazol (NBD-F) resultando na queda do limite de quantificação de 2,5 ng/ml de plasma (Andreeva et al., 1997).

O presente estudo reporta a análise seqüencial da lidocaína e do metabólito MEGX em plasma, utilizando HPLC com detecção por ultravioleta, com sensibilidade de 2ng/ml e ausência da interferência de cafeína. O método foi aplicado na avaliação da atividade *in vivo* do CYP3A4 na disposição cinética da nisoldipina em pacientes hipertensos portadores ou não de diabetes mellitus tipo 2.

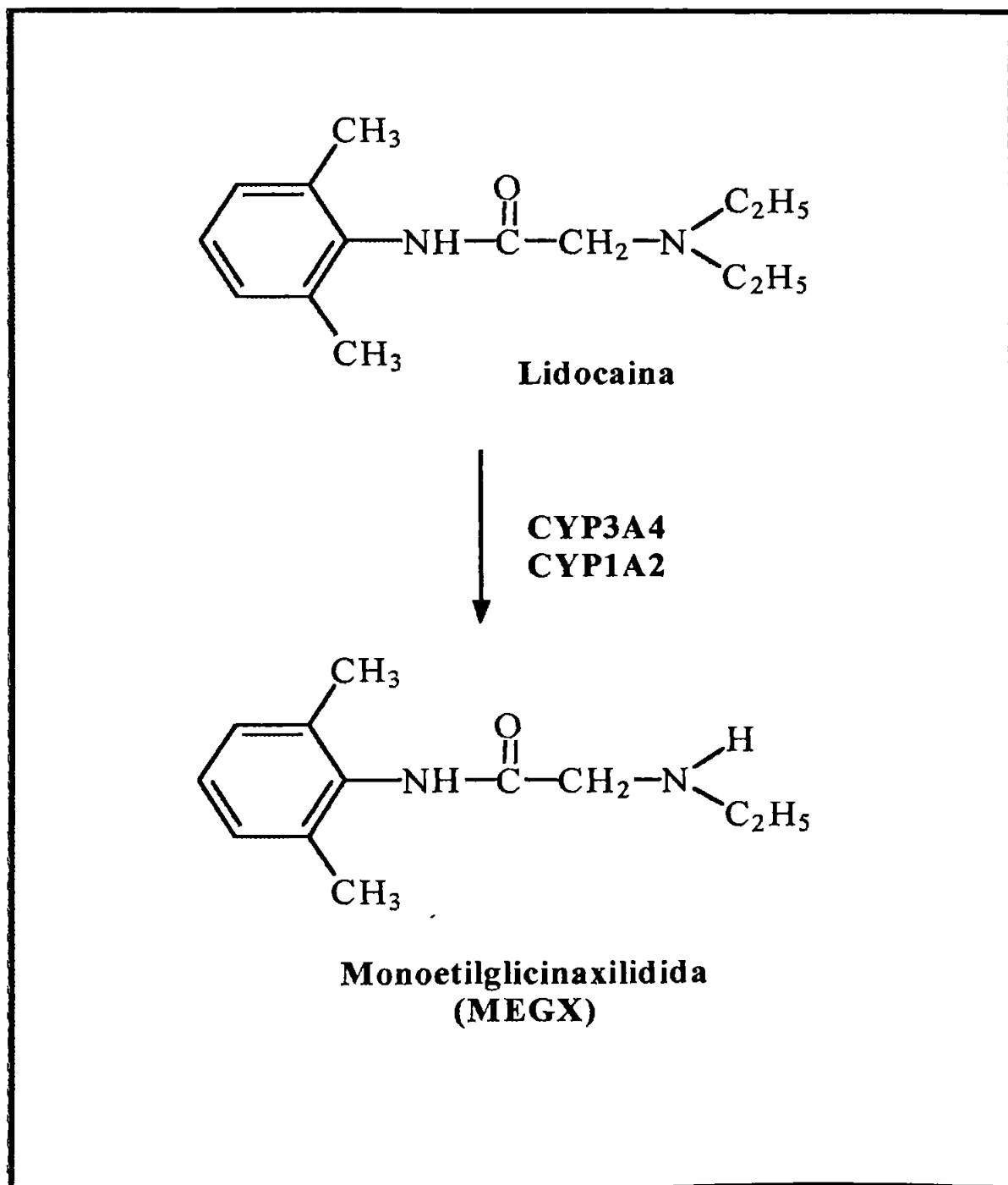


Figura 2 - Metabolismo da lidocaína no homem (Bargetzi et al., 1989)

II. OBJETIVOS

- Desenvolver e validar método de análise enantiosseletiva da nisoldipina em plasma com aplicações em estudo clínico de disposição cinética.
- Avaliar a influência do diabetes mellitus tipo 2 na farmacocinética dos enantiômeros (+)-nisoldipina e (-)-nisoldipina em pacientes hipertensos tratados com nisoldipina racêmica.
- Avaliar a atividade *in vivo* do CYP3A4, utilizando a lidocaína como fármaco marcador.
- Avaliar a influência do diabetes mellitus tipo 2 na farmacocinética da nisoldipina em pacientes hipertensos investigando a concentração plasmática de noradrenalina, a frequência cardíaca e a pressão arterial sistólica e diastólica.

III. CASUÍSTICA E MÉTODOS

1. Casuística

Foram investigados 17 pacientes com hipertensão arterial sistêmica leve a moderada, definida de acordo com os critérios do III Consenso Brasileiro para Tratamento da Hipertensão Arterial (Sociedade Brasileira de Hipertensão, 2002), como Pressão Arterial Sistólica compreendida entre 180 e 140, e Pressão Arterial Diastólica entre 110 e 90 mmHg, portadores ou não de diabetes mellitus tipo 2, de acordo com American Diabetes Association (2002), em seguimento na Unidade Clínica de Hipertensão Arterial do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP). Os pacientes foram informados do estudo com detalhes e forneceram, por escrito, o consentimento livre e esclarecido, conforme modelo em anexo (Anexo 2 e 3). O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMRP-USP, Processo nº 683/99 (Anexo 1). Os pacientes permaneceram internados durante 2 dias na enfermaria da Clínica Médica do HCFMRP-USP durante parte da investigação.

Foram incluídos no Grupo Controle 08 pacientes (07 mulheres e 01 homem) não portadores de diabetes mellitus tipo 2, de acordo com os critérios estabelecidos pela American Diabetes Association (2002) (glicose plasmática em jejum < 126,0 mg/dl), na faixa etária de 29 a 64 anos, peso corpóreo de 62 a 89 kg, altura de 1,57 a 1,80 m e índice de massa corpórea de 23,9 a 34,3 (kg/m²) (TABELA 1). No Grupo Diabético, foram incluídos 09 pacientes (07 mulheres e 02 homens), com idade entre 41 a 63 anos, peso 46,0 a 118,0 kg, altura de 1,47 a 1,67 m e índice de massa corpórea de 21,3 a 43,3 (kg/m²), que apresentavam quadro de diabetes mellitus tipo 2, de acordo com os critérios estabelecidos pela American Diabetes Association (2002) (glicose plasmática em jejum > 126,0 mg/dl) (TABELA 2). Nenhuma das mulheres selecionadas fazia uso de contraceptivo oral. Dos pacientes diabéticos selecionados, 5 encontravam-se em uso de hipoglicemiantes orais e. Nenhum dos pacientes estudados apresentavam controle de metabolismo adequado. Todos os pacientes apresentavam

funções renal e hepática dentro dos limites de normalidade, conforme dados apresentados nas tabelas individuais (Anexo 4).

TABELA 1 - Dados individuais dos pacientes investigados. Grupo Controle (n = 8)

Pacientes	Sexo*	Idade (anos)	Peso (kg)	Altura (m)	IMC** (kg/m ²)	Glicose (mg/dl)	Fármacos Associados
C.M.C.	F	53	62	1,61	23,9	81,2	-
D.A.P.	M	45	87	1,80	26,8	100,0	-
D.S.B.	F	63	66	1,57	26,8	68,8	aminofilina
L.K.K.B.	F	36	81	1,58	32,4	104,5	-
M.R.N.B.	F	64	83	1,56	34,1	98,9	-
R.A.P.A.O.	F	29	68	1,64	25,3	108,7	-
R.M.F.S.	F	59	89	1,61	34,3	95,7	-
V.S.S.	F	35	76	1,62	29,0	84,0	-
Média (±DP)		47,6 (± 13,3)	76,5 (± 10,1)	1,62 (± 0,8)	29,1 (± 4,1)	92,5 (± 13,6)	

*F = feminino; M = masculino; **Peso/Altura²

TABELA 2 - Dados individuais dos pacientes investigados. Grupo Diabético (n = 9)

Pacientes	Sexo*	Idade (anos)	Peso (kg)	Altura (m)	IMC** (kg/m ²)	Glicose (mg/dl)	Fármacos Associados
A.F.S.	M	49	77	1,67	27,6	232,0	-
A.G.S.	M	51	46	1,47	21,3	258,0	glibenclamida
A.L.B.	F	61	63	1,52	27,3	140,0	-
D.I.T.	F	63	61	1,55	25,4	134,0	-
H.S.J.	F	56	67	1,57	27,2	141,0	-
I.L.S.	F	53	65	1,57	26,4	332,0	glibenclamida
M.A.F.	F	48	62	1,53	26,5	131,0	aminofilina; metformina
M.H.F.	F	41	111	1,63	41,8	166,5	metformina
M.H.M.S.	F	57	118	1,65	43,3	311,0	clorpropamida; AAS
Média (±DP)		53,2 (± 6,9)	74,4 (± 24,1)	1,57 (± 0,7)	29,6 (± 7,6)	181,5 (± 68,3)	

*F = feminino; M = masculino; **Peso / Altura²

2. Protocolo Clínico

2.1. Nisoldipina

O estudo unicego e controlado por placebo foi desenvolvido em 2 fases, com alguns pacientes iniciando a investigação com placebo, seguindo de impregnação com nisoldipina, e outros pacientes iniciando o estudo diretamente com impregnação de nisoldipina seguindo de placebo. Todos os pacientes permaneceram em período de *wash-out* de 7 dias antes do início do estudo.

Na Fase I da investigação, os pacientes receberam pela manhã, durante 15 dias, 1 comprimido-placebo (gentilmente fornecido pelo Prof. Dr. Osvaldo de Freitas, docente do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo). No décimo quinto dia, imediatamente antes da última dose do placebo, foi instalado o Monitor de Pressão Arterial (SpaceLabs 90207, Redmond, WA) com programação para realizar medidas de pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica e frequência cardíaca a cada 15 min (8:00 as 22:00) durante o período da vigília, e a cada 30 min (22:00 as 8:00) durante o período do sono, completando um ciclo de 24 h.

Na Fase II da investigação, os pacientes receberam, pela manhã e durante 15 dias, 1 comprimido revestido de 20 mg de nisoldipina racêmica (Syscor[®]AP, Zeneca). No décimo quinto dia do tratamento, os pacientes foram internados na enfermaria do Departamento de Clínica Médica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para instalação do Monitor de Pressão Arterial (mesma programação da Fase I) e coletas seriadas de sangue. Os pacientes, em jejum de 12 h, receberam pela manhã a dose diária de nisoldipina, permanecendo em jejum por mais 2 h. As amostras de sangue (volumes aproximados de 5 ml em seringas heparinizadas com Liquemine[®] 5000 UI, Roche) foram obtidas no intervalo de dose de 24h, nos tempos

zero; 0,5; 1; 2; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; 6; 8; 10; 12; 16; 20; e 24 h. As amostras de sangue foram centrifugadas (20 min a 1800 g) e os plasmas armazenados a -20°C sob a proteção da luz.

2.2. Lidocaína e MEGX

Dos 17 pacientes incluídos no estudo da nisoldipina, 16 foram submetidos ao teste da lidocaína. Os pacientes, durante a fase de internação hospitalar, receberam, por via intravascular (infusão lenta de 1 a 2 min) 1 mg/kg de cloridrato de lidocaína (Xylocaina® a 2% sem vasoconstrictor, Astra). As amostras de sangue (volumes aproximados de 5 ml em seringas heparinizadas com Liquemine® 5000 UI, Roche) foram obtidas imediatamente antes da infusão, 15 e 30 min após o término da infusão. Os plasmas foram obtidos por centrifugação (20 min a 1800 g) e armazenados a -20°C até a análise. Durante a administração da lidocaína foi realizada monitorização eletrocardiográfica, embora não haja descrição do aparecimento de convulsões ou indução de arritmias cardíacas, segundo Shiffman et al. (1996).

2.3. Noradrenalina

As amostras de sangue para o estudo da noradrenalina no plasma dos pacientes incluídos na investigação foram obtidas em três fases distintas: ao término do período de *wash-out* de 7 dias, ao término do período de administração do placebo e ao término do período de administração de nisoldipina.

As colheitas foram realizadas com o paciente na posição supina, em estado de relaxamento 30 min após a inserção de cateter heparinizado. As amostras de sangue (volumes aproximados 5ml em seringas heparinizadas com Liquemine® 5000 UI, Roche) foram transferidas para tubos imersos no gelo contendo 50 µl de uma solução de EGTA [(ácido N,N,N',N' - tetra acético etileno glicol - bis (β - éter aminoetílico)] (Sigma®, St Louis, MO, EUA) / glutathione (Sigma®, St Louis, MO, EUA) (4,75 g de

EGTA e 3 g de glutathiona dissolvidos em 50 ml de água com o pH ajustado para 6-7). As amostras de sangue foram centrifugadas a 4°C (2400 g durante 5 min) e as alíquotas de plasma foram armazenadas a -70°C até a análise.

3. Métodos Analíticos

3.1. Análise Enantiosseletiva da Nisoldipina em Plasma

3.1.1. Soluções Padrão e Reagentes

A solução estoque de nisoldipina racêmica (BAY k 5552; lote R-146-2, 99,4%, Bayer AG, Wuppertal, Alemanha) foi preparada em tolueno (*grau resíduo*, Mallinckrodt, Kentucky, EUA) na concentração de 40 µg/ml. A partir desta solução foram preparadas as soluções diluídas de nisoldipina racêmica nas concentrações 1600; 800; 640; 400; 320; 160; 80 e 16 ng/ml de tolueno.

A solução de nitrendipina empregada como padrão interno foi preparada em tolueno na concentração de 1 ng/ml.

A solução aquosa de hidróxido de sódio (*grau analítico*, Mallinckrodt, Kentucky, EUA) foi preparada na concentração de 12,5 M. O tolueno empregado no procedimento de extração e análise das amostras foi obtido da Mallinckrodt (Kentucky, EUA) como *grau resíduo*; o hexano e o etanol empregados como constituintes da fase móvel foram obtidos da Merck (Darmstadt, Alemanha) como *grau cromatografia*.

Todo o procedimento analítico foi realizado sob luz amarela, uma vez que a nisoldipina é fotossensível.

3.1.2. Extração Líquido-Líquido

Alíquotas de 2 ml de plasma foram acrescidas de 200 µl da solução de NaOH (Merck, Darmstadt, Alemanha) 12,5 M e 8 ml de tolueno. Após

agitação durante 1 h (agitador horizontal, 220 ± 10 ciclos/min) e centrifugação por 10 min (1800 g), 6,5 ml das fases orgânicas foram transferidas para tubos cônicos e evaporadas a secura, sob fluxo de ar à temperatura ambiente, e os resíduos reconstituídos com 75 μ l da fase móvel.

3.1.3. Separação dos Enantiômeros por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

A separação dos enantiômeros da nisoldipina foi realizada em sistema HPLC *Shimadzu* (Kyoto, Japão), constituído por bomba LC-10AD VP, coletor de frações FRC-10A e detector por arranjo de diodos SPD-M10AVP, operando no comprimento de onda de 230 nm para o estabelecimento dos tempos de retenção e no modo desligado para a análise das amostras. O sistema foi controlado pelo programa *Class VP*, versão 5.03. Foi utilizado o sistema de injeção manual da *Rheodyne* (Cotati, CA, EUA), modelo 7125, com amostrador de 50 μ l.

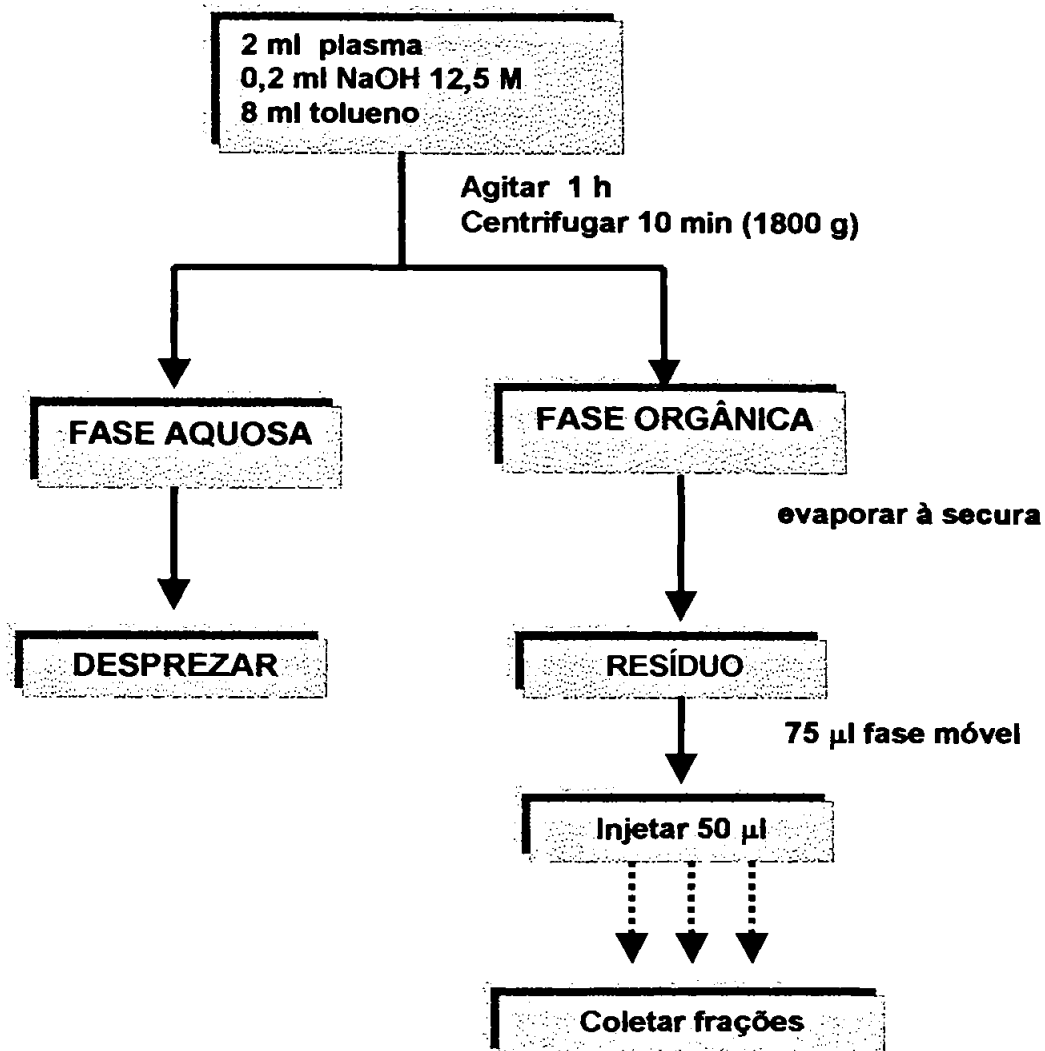
Os enantiômeros da nisoldipina foram separados em coluna de fase quiral *Chiralcel*[®] OD-H (celulose tris (carbamato de 3,5-dimetilfenila) em sílica-gel de partículas de 5 μ m), 250 x 4,6 mm (*Diacel Chemical Industries Ltda*, Los Angeles, CA, EUA), com pré-coluna CN *Lichrospher*[®] 100, partículas de 5 μ m, 4x4 mm (*Merck*, Darmstadt, Alemanha) e fase móvel constituída por mistura de hexano:etanol (97,5:2,5 v/v), na vazão de 1,0 ml/min (Figura 3). Os tempos de retenção dos enantiômeros foram estabelecidos na injeção de uma solução padrão na concentração de 1,6 μ g de cada enantiômero /ml de tolueno (25 μ l da solução foram evaporados à secura, dissolvidos em 75 μ l da fase móvel e 50 μ l injetados no sistema HPLC).

Os extratos de plasma, reconstituídos com 75 μ l da fase móvel, foram injetados no sistema HPLC com o detector desligado, e as frações relativas a cada enantiômero da nisoldipina foram coletadas nos intervalos de tempo de aproximadamente 17,4 a 19,3 min [(+)-nisoldipina] e 19,4 a 21,4 min [(-)-nisoldipina] em tubos cônicos contendo 25 μ l de solução de

padrão interno nitrendipina. O solvente orgânico foi evaporado a secura, e reconstituído com 20 μ l de tolueno. Volumes de 2 μ l foram injetados em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (GC-MS) (Figura 4).

3.1.4. Quantificação dos Enantiômeros Isolados por GC-MS

A quantificação dos enantiômeros isolados da nisoldipina foi realizada em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas da *Shimadzu* (Kyoto, Japão) modelo GC-MS QP5000 com injetor operando em 280^oC no modo *splitless*. Os enantiômeros isolados foram separados do padrão interno e dos constituintes endógenos do plasma na coluna capilar Ultra 1 (metil siloxane imobilizado), com espessura de filme de 0,33 μ m, 12,5 m x 0,2 mm de diâmetro interno (Hewlett-Packard, EUA) com hélio ultra puro na vazão de 1,9 ml/min como gás de arraste e com o seguinte programa de temperatura: temperatura inicial 100^oC durante 1 min, aumento de 35 ^oC/min até 280^oC e permanência durante 3 min na temperatura final, totalizando 9 min. O detector operou a 300^oC no modo SIM (*single ion monitoring*) com ionização por impacto de elétrons (70eV). Os sinais *m/z* utilizados na quantificação da nisoldipina foram 270,20 e 371,35 e para o padrão interno nitrendipina foi empregada *m/z* 360,00.

FASE HPLC - CROMATOGRAFIA QUIRAL

Coluna: *Chiralcel*[®] OD-H

Fase Móvel: hexano:etanol (97,5:2,5 v/v)

Detector: arranjo de diodos, operando em $\lambda = 230$ nm

Figura 3 - Separação dos enantiômeros da nisoldipina por HPLC

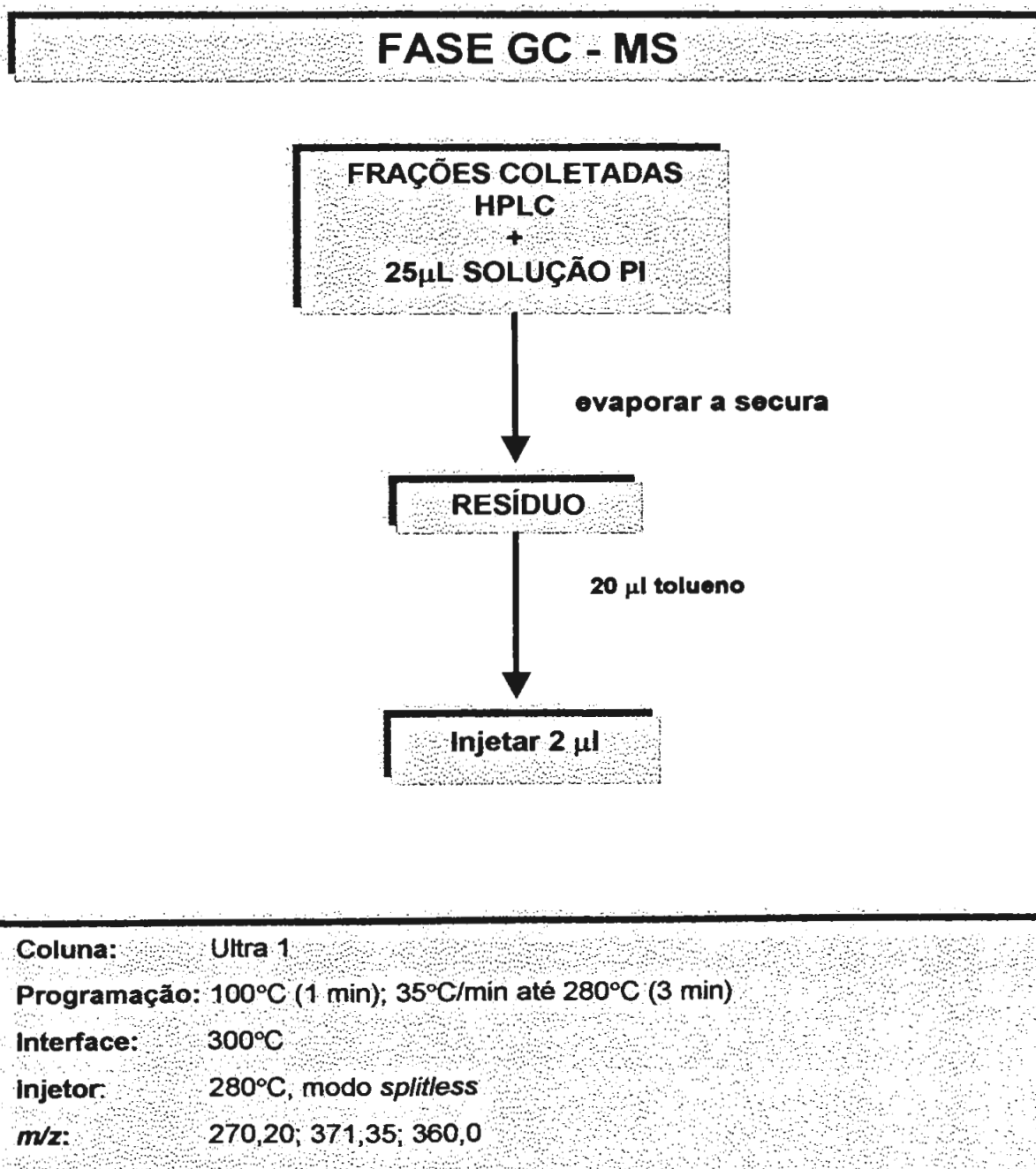


Figura 4 - Quantificação dos enantiômeros da nisoldipina por GC-MS

3.1.5. Curvas de Calibração

As curvas de calibração foram preparadas com alíquotas de 2 ml de plasma branco (obtido de voluntários não tratados com medicamentos durante pelo menos 10 dias) enriquecidas com 25 µl de cada uma das soluções padrão de nisoldipina racêmica, com concentrações finais para cada enantiômero de 0,1; 0,2; 0,4; 1,0; 2,0; 5,0 e 10,0 ng/ml de plasma. As amostras de plasma foram extraídas e os enantiômeros separados por HPLC e quantificados por GC-MS. As curvas de calibração foram obtidas para cada enantiômero através das razões de áreas dos picos obtidos (padrão/padrão interno) em função das concentrações plasmáticas, e calculando as equações de regressão linear e os coeficientes de correlação.

3.1.6. Limites de Confiança (Bressole et al., 1996; Causon, 1997; Ducharme et al., 1996)

3.1.6.1. Recuperação

A recuperação dos enantiômeros da nisoldipina foi avaliada através da injeção no sistema HPLC de soluções-padrão de nisoldipina racêmica, coleta das frações isoladas de cada enantiômero, adição do padrão interno nitrendipina e injeção das frações isoladas no sistema GC-MS. As áreas obtidas foram comparadas àquelas observadas na análise de amostras de plasma branco, enriquecidas com nisoldipina racêmica e submetidas à extração líquido-líquido e aos mesmos procedimentos de análise cromatográfica. Foram utilizadas amostras, em triplicata, com concentrações de 0,4; 2,0 e 5,0 ng/ml de plasma para cada enantiômero de nisoldipina.

3.1.6.2. Linearidade

A linearidade foi avaliada, para cada enantiômero, através da análise de amostras de plasma enriquecidas com nisoldipina racêmica em concentrações crescentes àquelas utilizadas nas construções das curvas de calibração. Foram avaliadas amostras enriquecidas com concentrações até de 50 ng/ml de plasma (0,1 - 50,0 ng/ml). Foram determinados as equações de regressão e os coeficientes de correlação linear.

3.1.6.3. Limite de Quantificação

O limite de quantificação foi determinado como a menor concentração de cada enantiômero analisada com coeficiente de variação igual ou inferior a 20%. Foram analisadas, em quintuplicata, amostras de plasma enriquecidas com nisoldipina racêmica em concentrações decrescentes àquelas utilizadas nas construções das curvas de calibração. Foram avaliadas amostras enriquecidas nas concentrações de 0,05 ng/ml de plasma para cada enantiômero.

3.1.6.4. Precisão e Exatidão

A precisão e a exatidão foram determinadas para os enantiômeros individuais nas concentrações de 0,5 e 5,0 ng/ml de plasma. A análise intra-ensaio incluiu a determinação de 10 alíquotas de cada amostra com a utilização de uma única curva de calibração enquanto a análise interensaios incluiu a análise de alíquotas de ambas as amostras durante 5 dias consecutivos.

A precisão determinada para cada amostra não deve exceder o coeficiente de variação de 15% enquanto a concentração média obtida para cada amostra não deve exceder 15% do valor real da amostra. A exatidão determinada como a % de desvio foi calculada através da equação: % desvio = $[(\text{valor obtido} - \text{valor real}) / \text{valor real}] \times 100$.

3.1.6.5. Seletividade

Amostras de plasma de 10 diferentes voluntários foram analisadas com o objetivo de avaliar a possibilidade de interferência de componentes endógenos da matriz. Estas amostras foram submetidas ao procedimento de extração, injetadas no sistema HPLC, as frações coletadas nos tempos de eluição dos enantiômeros da nisoldipina e posteriormente submetidas ao sistema GC-MS.

Os fármacos passíveis de associação ao tratamento com nisoldipina foram avaliados nas concentrações plasmáticas resultantes de doses terapêuticas. As soluções padrão dos fármacos foram preparadas em metanol e diretamente injetadas no sistema GC-MS.

3.2. Análise da Lidocaína e MEGX em Plasma

3.2.1. Soluções Padrão e Reagentes

A solução estoque de lidocaína (Glaxo Wellcome, Rio de Janeiro, Brasil) foi preparada em metanol (EM Science, grau cromatografia, Merck, Darmstadt, Alemanha) na concentração de 1 mg/ml e diluída para obtenção das soluções de uso nas concentrações 200; 100; 70; 50; 40 e 20 µg/ml de metanol.

A solução do metabólito monoetilglicinaxilidida (MEGX, gentilmente doado pela Astra Pharmaceuticals, Södertalje, Suécia) foi preparada na concentração de 8 µg/ml de metanol. A solução estoque foi diluída em metanol para obtenção das concentrações 3,2; 1,6; 1,0; 0,8; 0,4 e 0,32 µg/ml.

O cloreto de sódio e hidróxido de sódio grau *p.a.*, e hexano e diclorometano, grau cromatografia, todos utilizados no procedimento de extração, foram obtidos da *Merck* (Darmstadt, Alemanha).

O ácido acético e a acetonitrila grau *cromatografia*, e o fosfato monossódico 1-hidratado grau *p.a.*, empregados como constituintes da fase móvel, foram obtidos da *Merck* (Darmstadt, Alemanha).

3.2.2. Extração Líquido-Líquido

Amostras de plasma (1 ml) adicionadas de 50 μ l da solução de hidróxido de sódio 0,15 M foram extraídas com 4 ml de hexano-diclorometano (82:18, v/v) após a saturação da fase aquosa com 500 mg de cloreto de sódio. A lidocaína e o metabólito MEGX foram extraídos através da agitação durante 45 min (agitador horizontal, 220 ± 10 ciclos/min), seguida de centrifugação (1800 g, 10 min) e concentração dos extratos orgânicos à temperatura ambiente e sob corrente de ar. Os resíduos foram retomados em 50 μ l da fase móvel e alíquotas de 20 μ l foram analisadas no sistema HPLC (Fig 5).

3.2.3. Análise Cromatográfica

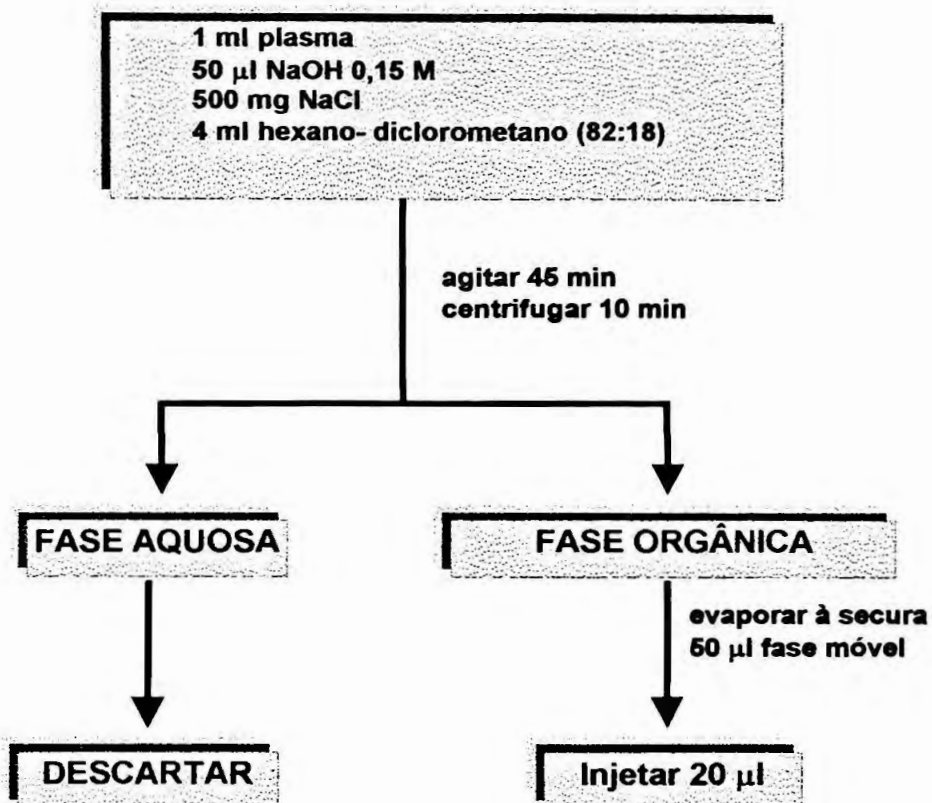
Foi utilizado sistema HPLC *Shimadzu* (Kyoto, Japão), constituído por bomba LC-10AS, detector por absorção no ultravioleta SPD-10A operando em 205 nm e integrador C-R6A. O sistema de injeção *Rheodyne* (Cotati, CA, EUA), modelo 7125, foi utilizado com amostrador de 20 μ l.

A lidocaína e o metabólito MEGX foram separados na coluna de fase reversa Lichrospher® 60 RP-Select B (*Merck*, Darmstadt, Alemanha), partículas de 5 μ m, 250 x 4 mm com pré-coluna similar de 4 x 4 mm. A fase móvel, constituída por mistura de tampão fosfato 25 mM (pH=4,5) e acetonitrila (82:18, v/v), foi empregada na vazão de 1ml/min.

3.2.4. Curvas de Calibração

As curvas de calibração foram construídas de maneira similar após o enriquecimento de amostras de 1 ml de plasma branco (obtido de

voluntários não tratados com medicamentos) com 25 μ l de cada uma das soluções padrão de lidocaína (0,5-5,0 μ g/ml) e MEGX (8-80 ng/ml). As equações de regressão linear e os coeficientes de correlação foram obtidos através das áreas dos picos obtidos em função das concentrações plasmáticas.



Coluna: Lichrospher® 60 RP-select B

Fase Móvel: Tampão fosfato 25 mM pH 4,5 : acetonitrila (82:18, v/v)

Detector: UV ($\lambda = 205$ nm)

Figura 5 - Análise da lidocaína e MEGX em plasma.

3.2.5. Limites de Confiança (Bressole et al., 1996; Causon, 1997; Ducharme et al., 1996)

3.2.5.1. Recuperação

A recuperação da lidocaína e MEGX plasmática foi avaliada através da comparação das alturas dos picos obtidas após a extração do plasma com as alturas dos picos obtidas após a injeção direta das soluções padrão. A recuperação foi avaliada, em triplicata, nas concentrações de 5; 1 e 0,5 $\mu\text{g/ml}$ de plasma para lidocaína e 80; 20 e 8 ng/ml de plasma para MEGX.

3.2.5.2. Linearidade

A linearidade foi avaliada através da análise de amostras de plasma enriquecidas com soluções padrão em concentrações crescentes àquelas empregadas na construção das curvas de calibração. Foram avaliadas amostras enriquecidas com concentrações até de 20 $\mu\text{g/ml}$ de plasma (0,5 - 20,0 $\mu\text{g/ml}$) para lidocaína e 640 ng/ml de plasma (8,0-640,0 ng/ml) para MEGX.

3.2.5.3. Limite de Quantificação

O limite de quantificação foi definido como a menor concentração plasmática de lidocaína ou do metabólito MEGX quantificada com coeficiente de variação igual ou inferior a 20%. Foram analisadas, em quintuplicata, amostras de plasma enriquecidas com lidocaína e MEGX em concentrações menores àquelas utilizadas nas construções das curvas de calibração. Foram avaliadas amostras enriquecidas nas concentrações de 0,1 $\mu\text{g/ml}$ de plasma, para lidocaína, e 2,0 ng/ml de plasma, para MEGX.

3.2.5.4. Precisão e Exatidão

A precisão e a exatidão foram determinadas através da análise de amostras de plasma enriquecidas com lidocaína (0,4 e 2,8 µg/ml) e MEGX (8 e 45 ng/ml). As amostras enriquecidas foram divididas em alíquotas e armazenadas a -20°C. As amostras de plasma foram analisadas, em replicata (n = 10), utilizando uma única curva de calibração para a avaliação intra-ensaio e, em duplicata, durante 5 dias consecutivos para a avaliação interensaios. A precisão determinada para cada amostra não deve exceder o coeficiente de variação de 15% enquanto a concentração média obtida para cada amostra não deve exceder 15% do valor real da amostra. A exatidão determinada como a % de desvio foi calculada através da equação: % desvio = [(valor obtido – valor real) / valor real] x 100.

3.2.5.5. Seletividade

No estudo da seletividade foram avaliadas amostras de plasma de 10 diferentes voluntários, com vistas a possibilidade de detecção de interferentes endógenos. Os fármacos passíveis de administração aos pacientes durante o período da investigação foram avaliados nas concentrações plasmáticas resultantes de doses terapêuticas. As soluções padrão foram diretamente injetadas e os tempos de retenção comparados com aqueles da lidocaína e MEGX.

3.3. Análise de Catecolaminas em Plasma (Forster et al., 1999)

3.3.1. Soluções Padrão e Reagentes

As soluções estoque de bitartarato de noradrenalina, cloridrato de adrenalina, cloridrato de dopamina, cloridrato de dl-normetanefrina; cloridrato de dl-metanefrina e cloridrato de 3-metoxitiramina (Sigma®, St Louis, MO, EUA) foram preparadas na concentração de 1 mM em ácido

acético 400 mM. As soluções estoque foram diluídas em ácido acético 400 mM para obtenção das soluções de uso nas concentrações de 40; 100; 200; 400 e 1000 nM. As soluções são estáveis durante duas semanas quando armazenadas em temperaturas inferiores a 5°C.

Os reagentes glutationa, EGTA [(ácido N,N,N',N' - tetra acético etileno glicol - bis (β - éter aminoetílico)], complexo ácido difenilbórico-etanolamina (DPBEA) e brometo de tetraoctilamônio (ToABR) foram obtidos da Sigma[®] (St Louis, MO, EUA). Os reagentes EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) e SDS (dodecil sulfato de sódio) foram obtidos da Merck (Darmstadt, Alemanha).

O tampão amônio foi preparado com solução de cloreto de amônio 2,0 M ajustada a pH 8,8 com hidróxido de amônia. O tampão foi armazenado a 4°C e o pH verificado no momento do uso.

3.3.2. Extração Líquido-Líquido

Amostras de 500 μ l de plasma foram adicionadas de 250 μ l de tampão amônio 2,0 M pH = 8,8 contendo 2g/l de DPBEA e de 1 ml de heptano contendo 3,5 g/l de ToABR e 10 ml/l de octanol. Os tubos foram agitados em *mixer* durante 90s e centrifugados a 1200 g por 5 min. As fases orgânicas (750 μ l) foram transferidas para novos tubos e adicionadas de 380 μ l de octanol e 50 μ l de ácido acético 400 mM. As misturas foram novamente agitadas durante 90 s e centrifugadas a 1200g por 30s. As fases aquosas inferiores (20 μ l) foram injetadas no sistema HPLC. Os extratos foram mantidos no gelo e protegidos da luz até a análise.

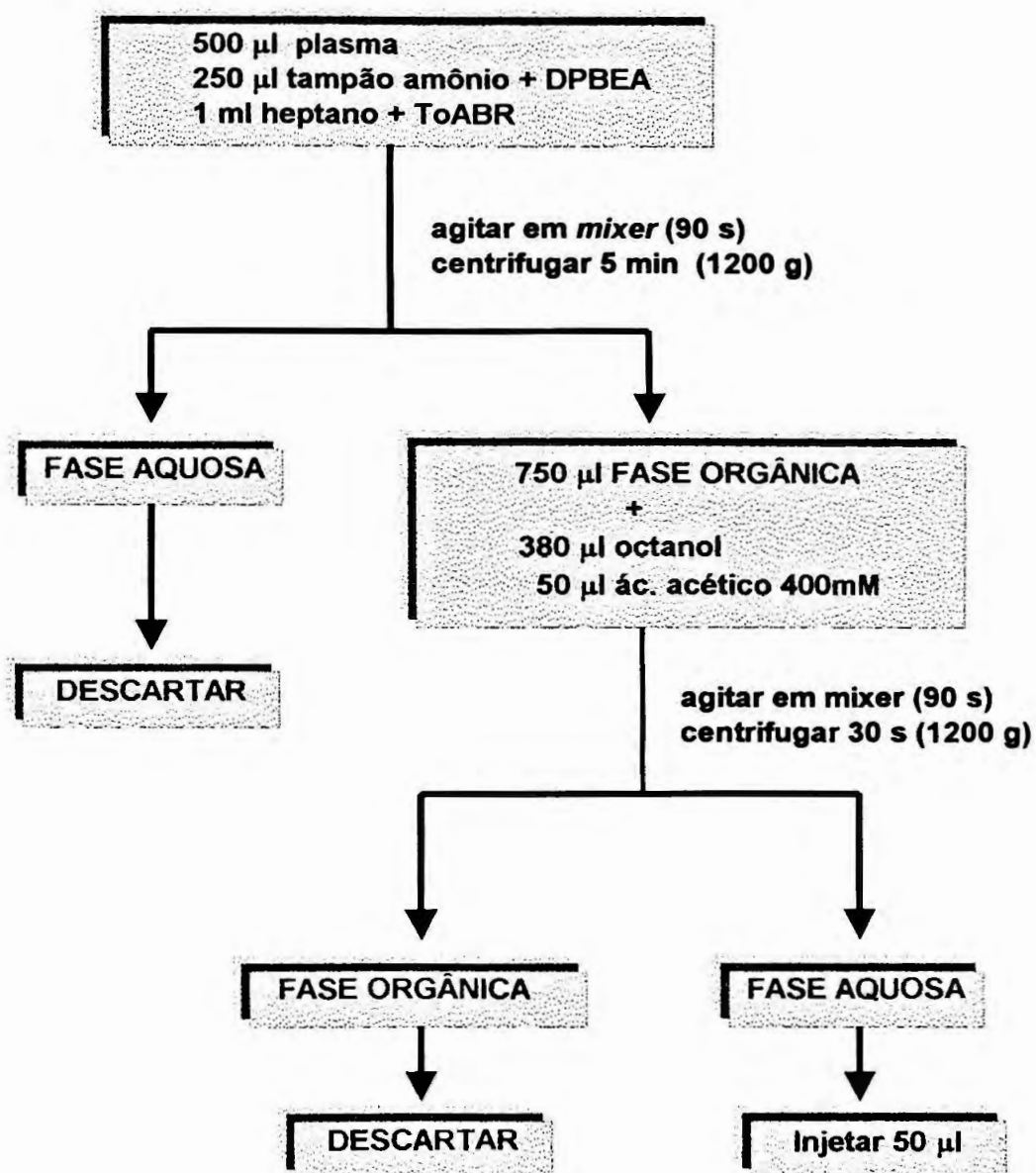
3.3.3. Análise Cromatográfica

Foi empregado o sistema HPLC *Shimadzu*[®] constituído por bomba modelo LC-10 AD, detector eletroquímico com eletrodo Ag/AgCl modelo L-ECD-6A operando com potencial de + 0,75 V e injetor *Rheodyne* (Cotati, CA, EUA) modelo 7125 (amostrador de 20 μ l). As catecolaminas foram

separadas na coluna de fase reversa Purospher® RP-18 *endcapped* (Merck, Darmstadt, Alemanha), partículas de 5 µm (125 x 3,0 mm) empregando pré-coluna similar e fase móvel na vazão de 0,6 ml/min constituída por mistura de 4,51g/l de acetato de sódio, 0,186 g/l de EDTA, 50 mg/l de SDS e 200 ml/l de metanol sendo o pH ajustado com ácido acético glacial para 5,10.

3.3.4. Curvas de Calibração

As curvas de calibração foram obtidas através da análise (em duplicatas) de alíquotas de 500 µl de tampão amônio 2,0 M pH = 8,8 enriquecidas com 25 µl de cada uma das soluções padrão de noradrenalina e adrenalina, correspondendo portanto a 1; 2; 5; 10; 20 e 50 pmol/ml de plasma. As equações de regressão linear e coeficientes de correlação foram obtidos através das razões de áreas dos picos obtidos em função das concentrações plasmáticas.



Coluna: Purospher® RP-18

Fase Móvel: acetato de sódio + EDTA + SDS + metanol (20%), pH 5,10

Detector: eletroquímico com eletrodo Ag/AgCl (+ 0,75V)

Figura 6 - Análise de catecolaminas em plasma.

4. Análise Farmacocinética

A disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina foi avaliada no estado de equilíbrio, no intervalo de dose de 0-24h (Chandler et al., 1992; Heinig, 1998; Schaefer et al., 1997; Van Harten et al., 1989). A concentração plasmática máxima (**C_{max}**) e o tempo para atingir **C_{max}** (**t_{max}**) foram obtidos diretamente dos dados experimentais. Os demais parâmetros foram calculados com base nas curvas do *log* das concentrações plasmáticas (**c**) *versus* tempo (**t**). As meias vidas de absorção e eliminação (**t_{1/2a}**, **t_{1/2}**) foram determinadas com base no modelo monocompartimental. As constantes de velocidade de absorção e eliminação (**K_a**, **K_{el}**) foram calculadas através da equação $0,693/t_{1/2}$. A área sob a curva **c** *versus* **t**, no estado de equilíbrio, foi calculada no intervalo de dose (**AUC^{ss}₀₋₂₄**) pelo método dos trapezóides. Esse parâmetro foi empregado nos cálculos do *clearance* aparente ($Cl/F = Dose/f / AUC^{ss}_{0-24}$) e do volume aparente de distribuição ($Vd/F = Cl/F / K_{el}$).

TABELA 3 - Parâmetros empregados na análise farmacocinética dos enantiômeros da nisoldipina

Parâmetros	Unidade	Descrição	Equação
C_{max}	ng/ml	concentração plasmática máxima	dados obtidos
t_{max}	h	tempo para atingir C _{max}	dados obtidos
t_{1/2a}	h	meia vida de absorção	método dos resíduos
K_a	h ⁻¹	constante de velocidade de absorção	0,693 / t _{1/2a}
t_{1/2}	h	meia vida de eliminação	gráfico log c vs t
K_{el}	h ⁻¹	constante de velocidade de eliminação	0,693 / t _{1/2}
AUC^{SS}₀₋₂₄	ng.h/ml	área sob curva concentração plasmática vs tempo	trapézios
Cl/F	l/h/kg	clearance aparente	dose / AUC ^{SS} ₀₋₂₄
Vd/F	l/kg	volume de distribuição aparente	Cl/F / K _{el}

5. Análise Estatística

Os teste estatísticos foram realizados com auxílio do *software* GraphPad *InStat*[®] para obtenção dos cálculos de mediana, média, intervalo de confiança 95% (IC95%), desvio padrão (DP) e erro padrão da média (EPM).

Foi aplicado teste de Wilcoxon (teste pareado não paramétrico) para avaliar os dados farmacodinâmicos e as razões enantioméricas de concentrações plasmáticas (+)/(-)-nisoldipina.

O teste de Mann-Witney (teste não pareado não paramétrico) foi usado para avaliar os efeitos da diabetes mellitus tipo 2 sobre a farmacocinética enantiosseletiva da nisoldipina, com nível de significância de 5%.

O método de Spearman (correlação não paramétrica) foi usado para avaliar a correlação entre os dados individuais da razão plasmática lidocaína/MEGX e o *clearance* aparente dos enantiômeros da nisoldipina, obtidos na investigação dos grupos controle e diabético.

IV. RESULTADOS

1. Disposição Cinética Enantiosseletiva da Nisoldipina

O estudo da disposição cinética dos enantiômeros (+)-nisoldipina e (-)-nisoldipina em pacientes hipertensos portadores ou não de diabetes mellitus tipo 2 exigiu o desenvolvimento de método de análise com limite de quantificação e seletividade compatíveis com as baixas concentrações plasmáticas dos enantiômeros. Os dados apresentados nas TABELAS 4 e 5 evidenciam baixos limites de quantificação, precisão, exatidão e seletividade do método analítico. A Figura 7 mostra a separação dos enantiômeros (+) e (-)-nisoldipina por HPLC na coluna *Chiralcel*[®] OD-H com fase móvel hexano:etanol (97,5:2,5 v/v) na vazão de 1,0 ml/min. As Figura 8, 9 e 10 mostram os cromatogramas gerados no sistema GC-MS (SIM) referentes às frações (+) e (-)-nisoldipina coletadas do sistema HPLC. As curvas de calibração referentes aos enantiômeros (+) e (-)-nisoldipina construídas no intervalo de 0,1 a 10 ng/ml de plasma estão apresentadas na Figura 11.

As curvas de concentrações plasmáticas dos enantiômeros (+) e (-)-nisoldipina *versus* tempo referentes aos Grupos Controle e Grupo Diabético estão apresentadas na Figura 12 através das medianas \pm IC95%. Os parâmetros farmacocinéticos que denunciam enantiosseletividade na disposição cinética da nisoldipina estão apresentados na TABELA 6. A Figura 13 exhibe as razões enantioméricas de concentrações plasmáticas (+)-nisoldipina/(-)-nisoldipina obtidas no intervalo de dose de ambos os grupos.

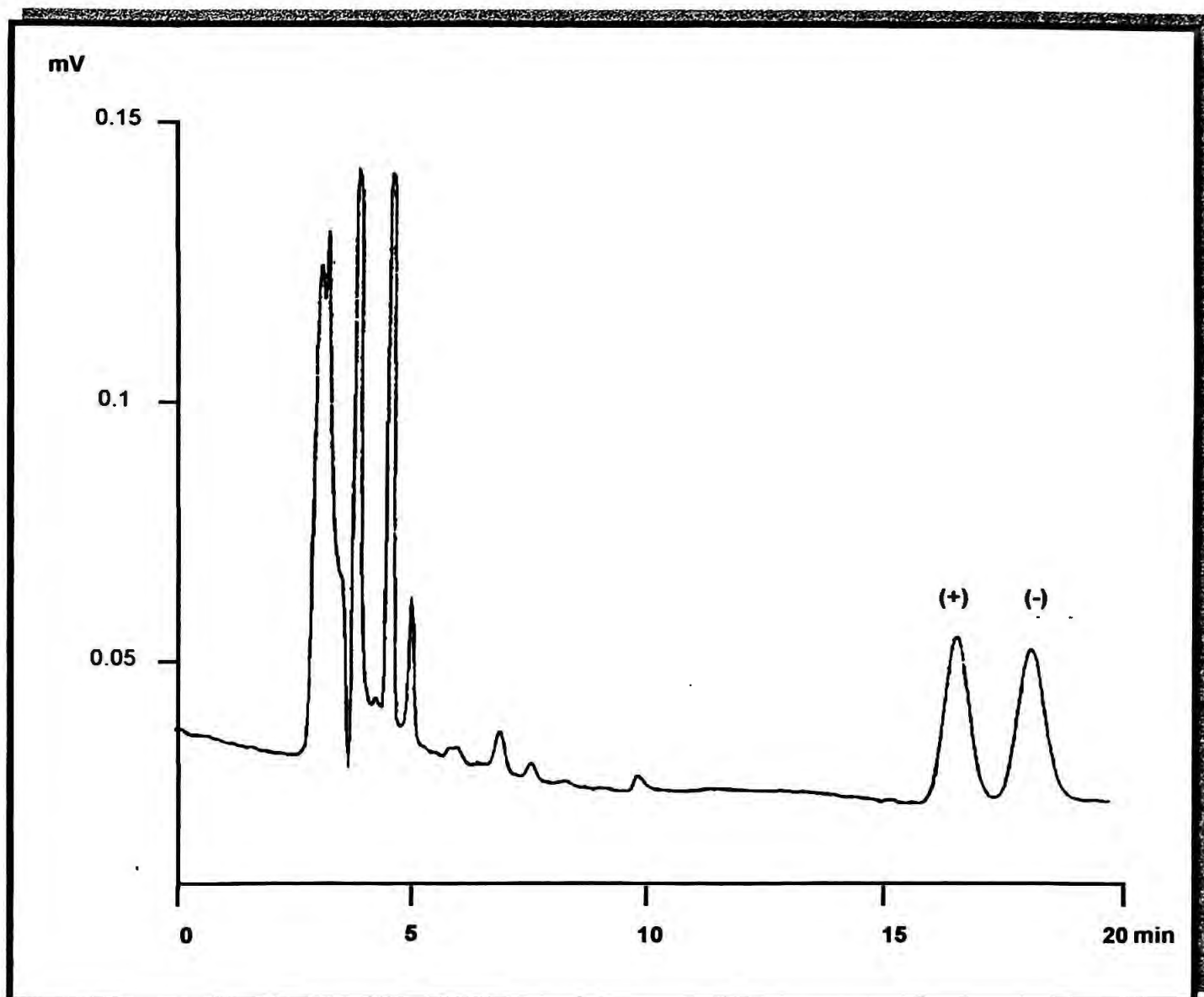
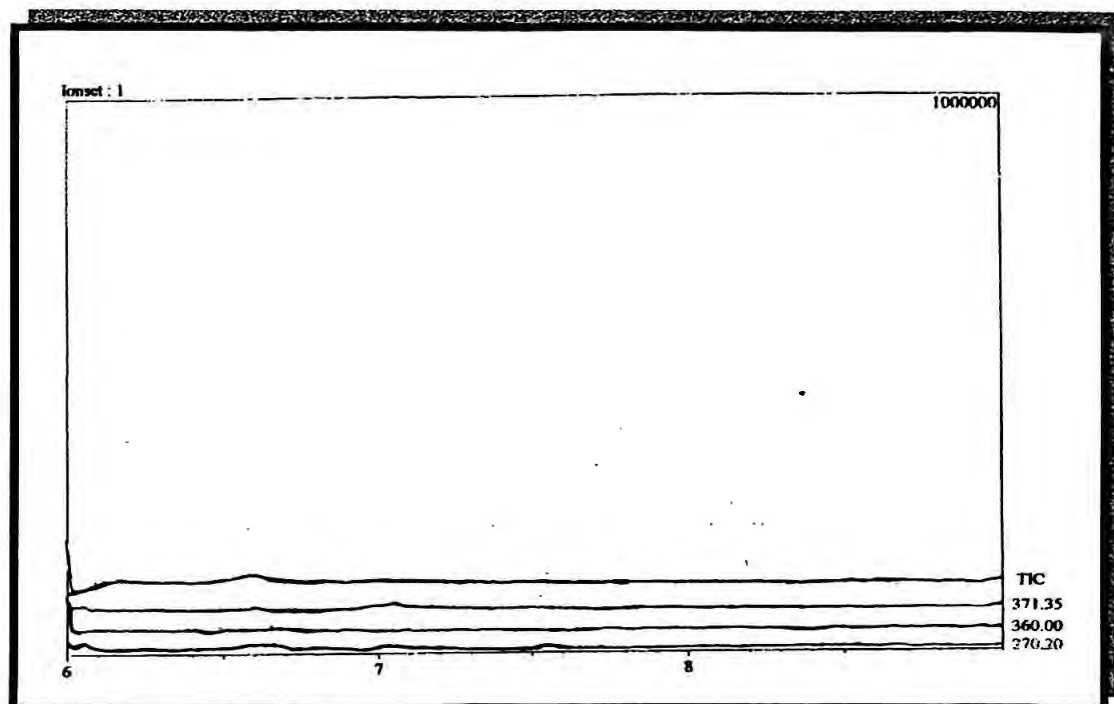


Figura 7 -Separação dos enantiômeros (+) e (-)-nisoldipina por HPLC na coluna *Chiralcel*[®] OD-H com fase móvel hexano:etanol (97,5:2,5 v/v) na vazão de 1,0 ml/min.

A



B

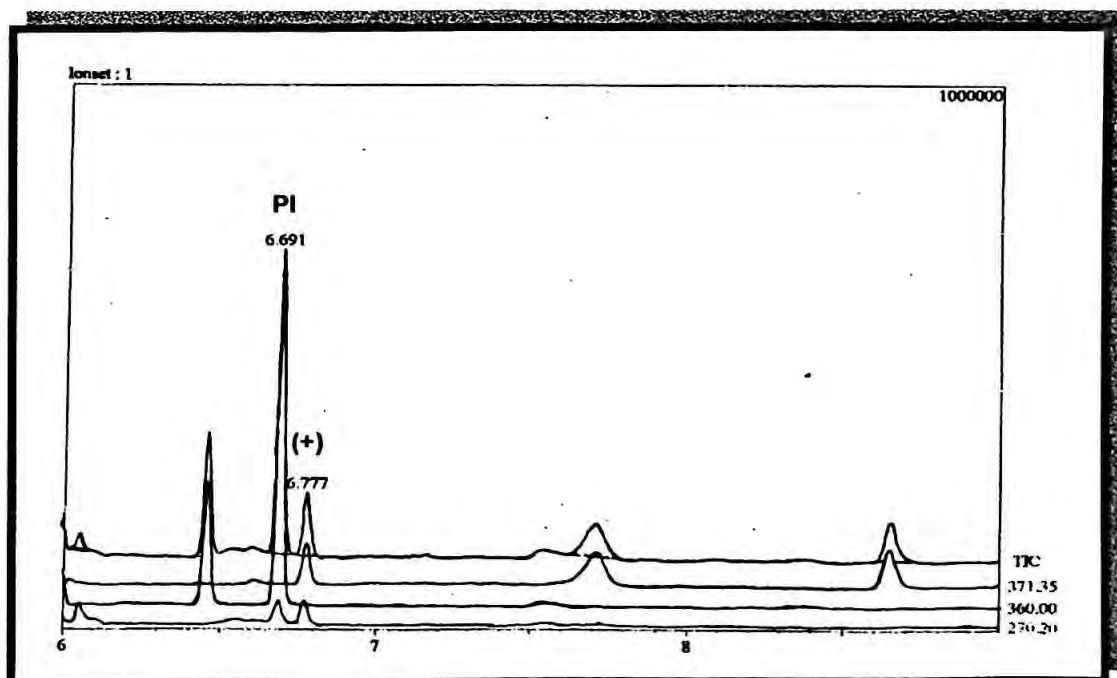
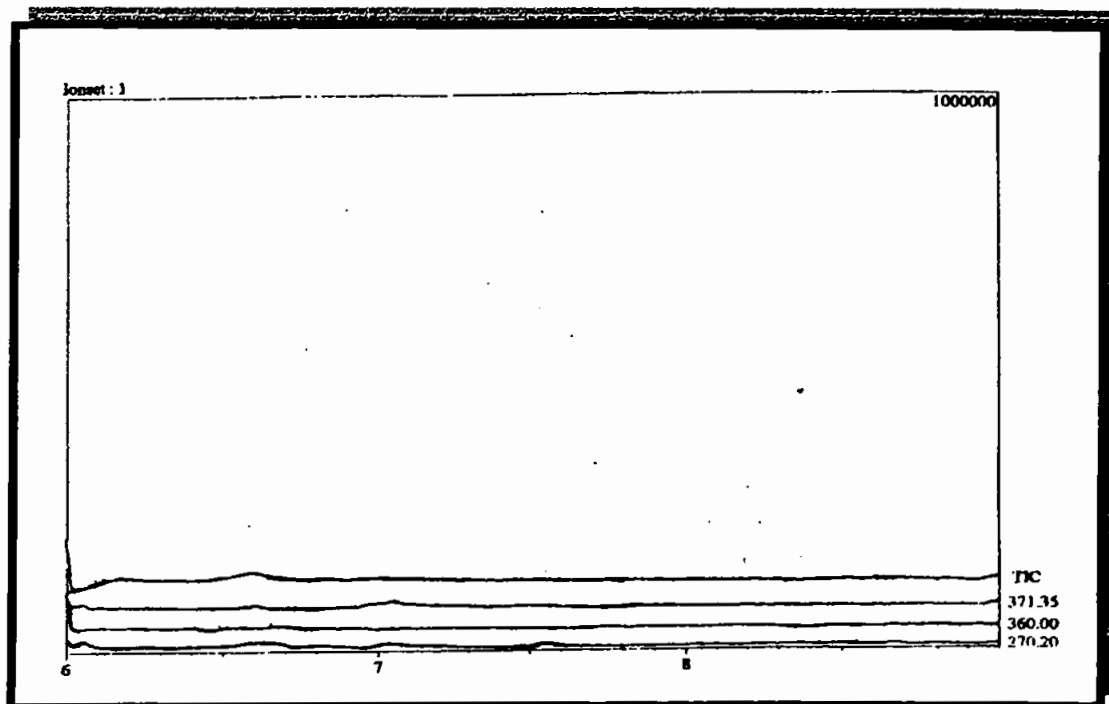


Figura 8 - Cromatogramas referentes a (+)-nisoldipina no sistema GC-MS (SIM):
(A) plasma branco, (B) plasma enriquecido com nisoldipina racêmica

A



B

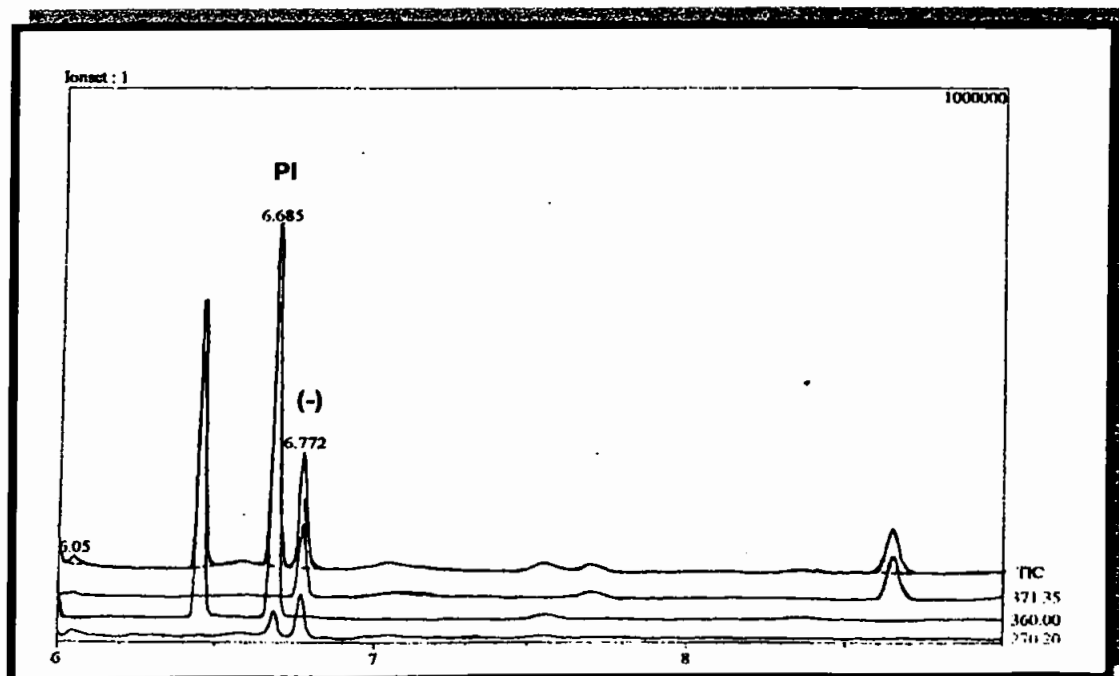


Figura 9 - Cromatogramas referentes a (-)-nisoldipina no sistema GC-MS (SIM): (A) plasma branco, (B) plasma enriquecido com nisoldipina racêmica

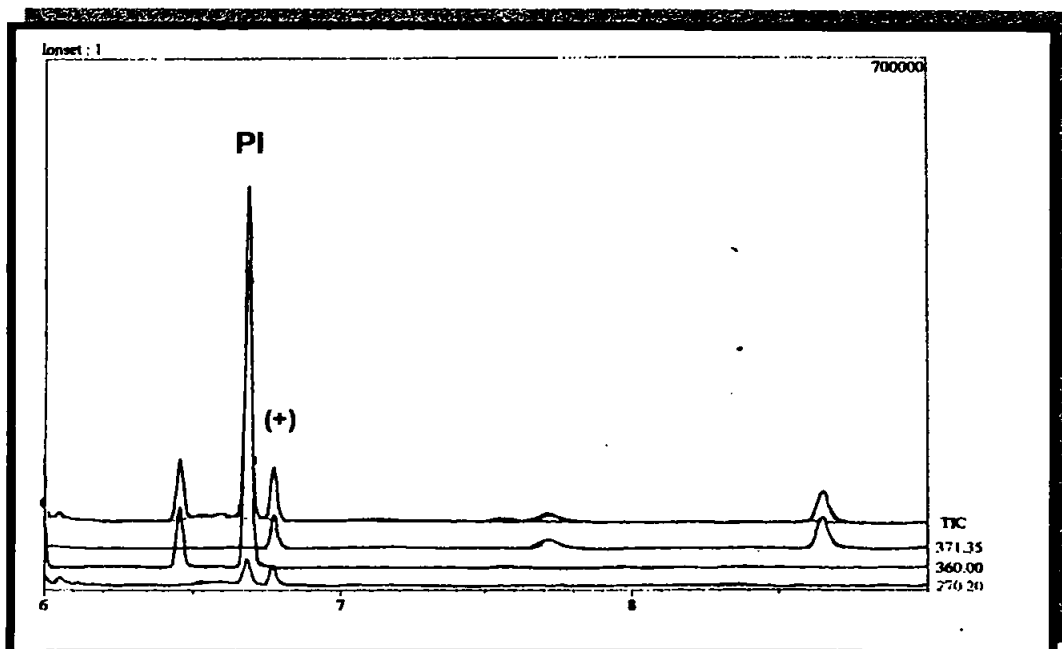
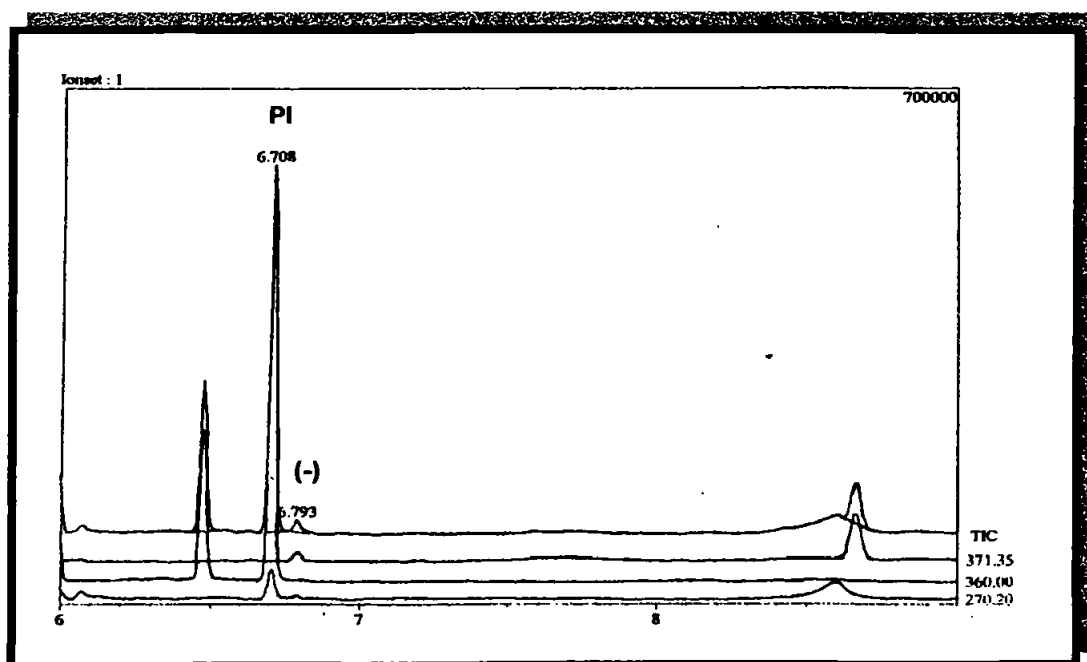
A**B**

Figura 10 – Cromatogramas referentes a análise do plasma de paciente no sistema GC-MS (SIM): (A) (+)-nisoldipina e (B) (-)-nisoldipina

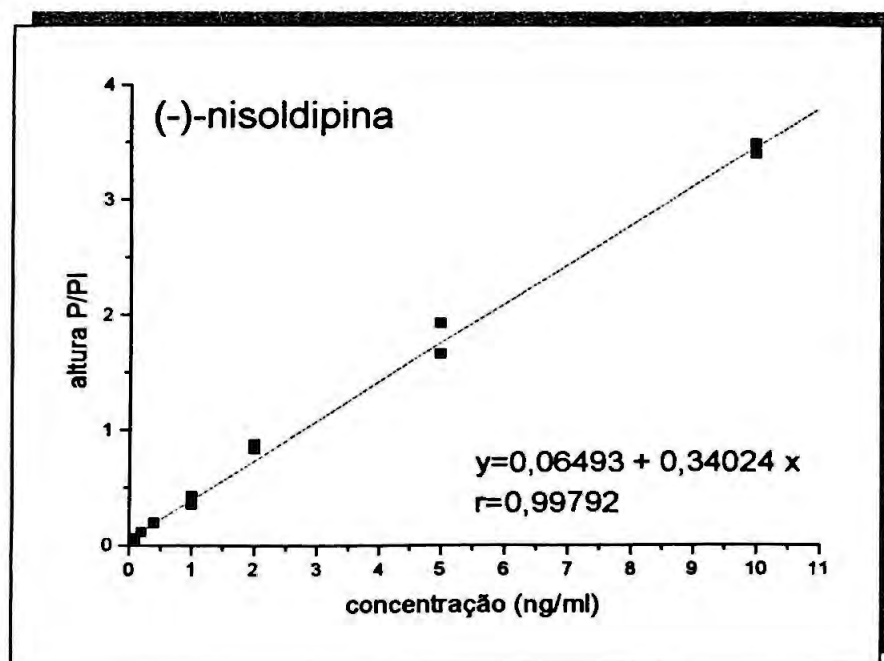
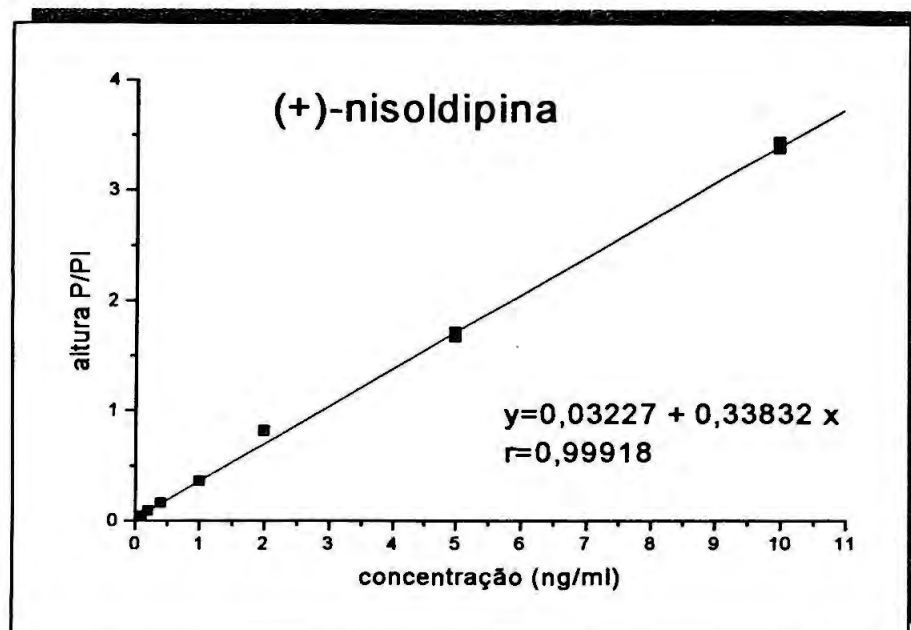


Figura 11 – Curvas de Calibração para análise de (+)-nisoldipina e (-)-nisoldipina (0,05 a 10,0 ng de cada enantiômero/ml) em plasma

TABELA 4 - Limites de confiança do método de análise enantiosseletiva da nisoldipina em plasma

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
Linearidade (ng/ml)	0,1-50,0 r = 0,992	0,1-50,0 r = 0,992
Limite de quantificação (ng/ml)	0,05	0,05
CV % (n=5)	14,7	13,8
Precisão intra-ensaio (CV %)	12,0	13,1
0,5 ng/ml (n=10)	12,0	13,8
5,0 ng/ml (n=10)		
Precisão interensaios (CV %)	11,6	14,1
0,5 ng/ml (n=5)	14,1	14,7
5,0 ng/ml (n=5)		
Exatidão intra-ensaio (*ES%)	5,0	-1,3
0,5 ng/ml (n=10)	0,9	8,4
5,0 ng/ml (n=10)		
Exatidão interensaios (*ES%)	-10,0	-8,8
0,5 ng/ml (n=5)	-3,1	-3,1
5,0 ng/ml (n=5)		
Recuperação (%)	55,6	51,8

* Erro sistemático

TABELA 5 - Seletividade do método de análise enantiosseletiva da nisoldipina em plasma

fármaco	concentração ($\mu\text{g/ml}$ plasma)	tempo de retenção (min)
nisoldipina	2,00	6,86
nitrendipina (PI)	1,00	6,77
carbamazepina	12,0	6,46
clobazam	0,90	6,31
clonazepam	0,07	7,33
diazepam	2,00	6,09
fenitoína	20,0	6,3
fenobarbital	30,0	6,13
flurazepam	0,03	7,24
hidroclorotiazida	0,43	6,57
lorazepam	0,24	8,10
N-desalquilflurazepam	0,06	7,21
N-desmetil diazepam	0,17	6,20
nitrazepam	0,07	8,21
primidona	12,0	6,52

Fármacos não detectados no intervalo de 0-30 min: amiodarona, amitriptilina, bromazepam, captopril, cimetidina, diclofenaco, digoxina, disopiramida, etidocaina, flunitrazepam, furosemida, imipramina, mexiletina, propranolol, ranitidina, sotalol.

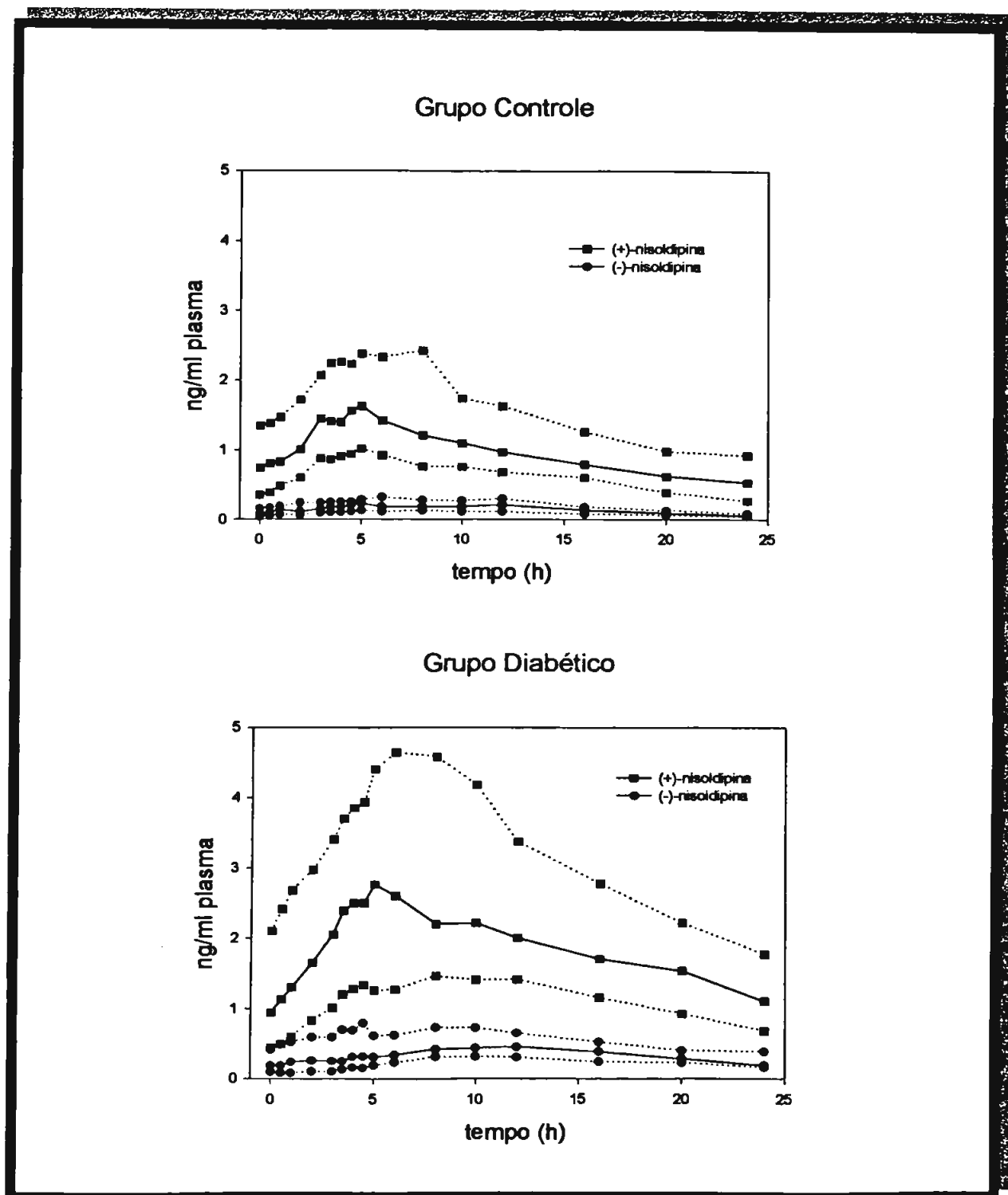


Figura 12 - Curvas concentração plasmática (+) e (-)-nisoldipina *versus* tempo no intervalo de dose de 24h relativo aos Grupos Controle (n=8) e Diabético (n=9). Dados expressos através de medianas+ IC95%.

TABELA 6 - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina em pacientes do Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9). Dados expressos através da mediana (IC95%) e média.

Parâmetros	Grupo Controle (+)-nisoldipina	Grupo Controle (-)-nisoldipina	Grupo Diabético (+)-nisoldipina	Grupo Diabético (-)-nisoldipina
C_{max} (ng/ml)	1,89 (1,32-2,66)	0,27 ^a (0,17-0,37)	3,00 [*] (1,72-6,05)	0,52 ^Δ (0,39-0,98)
	1,99	0,27	3,89	0,68
t_{max} (h)	5,50 (3,72-7,03)	5,50 (4,27-9,23)	6,00 (4,23-8,99)	10,00 (6,69-11,09)
	5,37	6,75	6,61	8,89
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng.h/ml)	22,21 (17,47-35,52)	3,53 ^a (2,81-4,86)	44,01 [*] (28,95-74,01)	7,88 ^Δ (5,85-12,84)
	26,50	3,84	51,47	9,35
t_{1/2a} (h)	2,15 (1,20-3,60)	2,20 (1,60-3,47)	2,10 (1,83-3,28)	3,30 (2,10-5,26)
	2,40	2,54	2,55	3,68
K_a (h⁻¹)	0,32 (0,20-0,59)	0,33 (0,21-0,44)	0,33 (0,22-0,38)	0,21 (0,14-0,36)
	0,39	0,32	0,30	0,25
t_{1/2} (h)	9,40 (7,05-11,27)	8,05 (5,68-9,44)	14,72 (9,35-19,07)	13,70 [*] (9,69-17,02)
	9,16	7,56	14,21	13,35
K_{el} (h⁻¹)	0,08 (0,06-0,10)	0,09 (0,07-0,14)	0,06 (0,03-0,08)	0,05 [*] (0,04-0,07)
	0,08	0,10	0,06	0,06
Cl/F (l/h/kg)	6,07 (4,31-7,50)	33,41 ^a (26,75-50,96)	3,45 [*] (1,94-5,35)	18,35 ^Δ (11,69-25,70)
	5,91	38,85	3,64	18,70
Vd/	72,64 (47,20-108,03)	403,65 ^a (259,29-591,88)	80,00 (43,27-95,73)	134,4 ^a (221,93-428,63)
	77,61	425,58	69,50	325,28
F (l/kg)				
(+)/(-) AUC^{SS}₀₋₂₄		7,17 (5,71-8,22)	4,73 (3,61-7,81)	
		6,97	5,71	

C_{max} = concentração plasmática máxima; t_{max} = tempo para atingir C_{max}; t_{1/2a} = meia vida de absorção; K_a = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; K_{el} = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; Vd/F = volume de distribuição aparente.

*p<0,05 Teste de Mann-Whitney, Grupo Controle vs Grupo Diabético;

^Δp<0,05 Teste de Wilcoxon, (+)-nisoldipina vs (-)-nisoldipina.

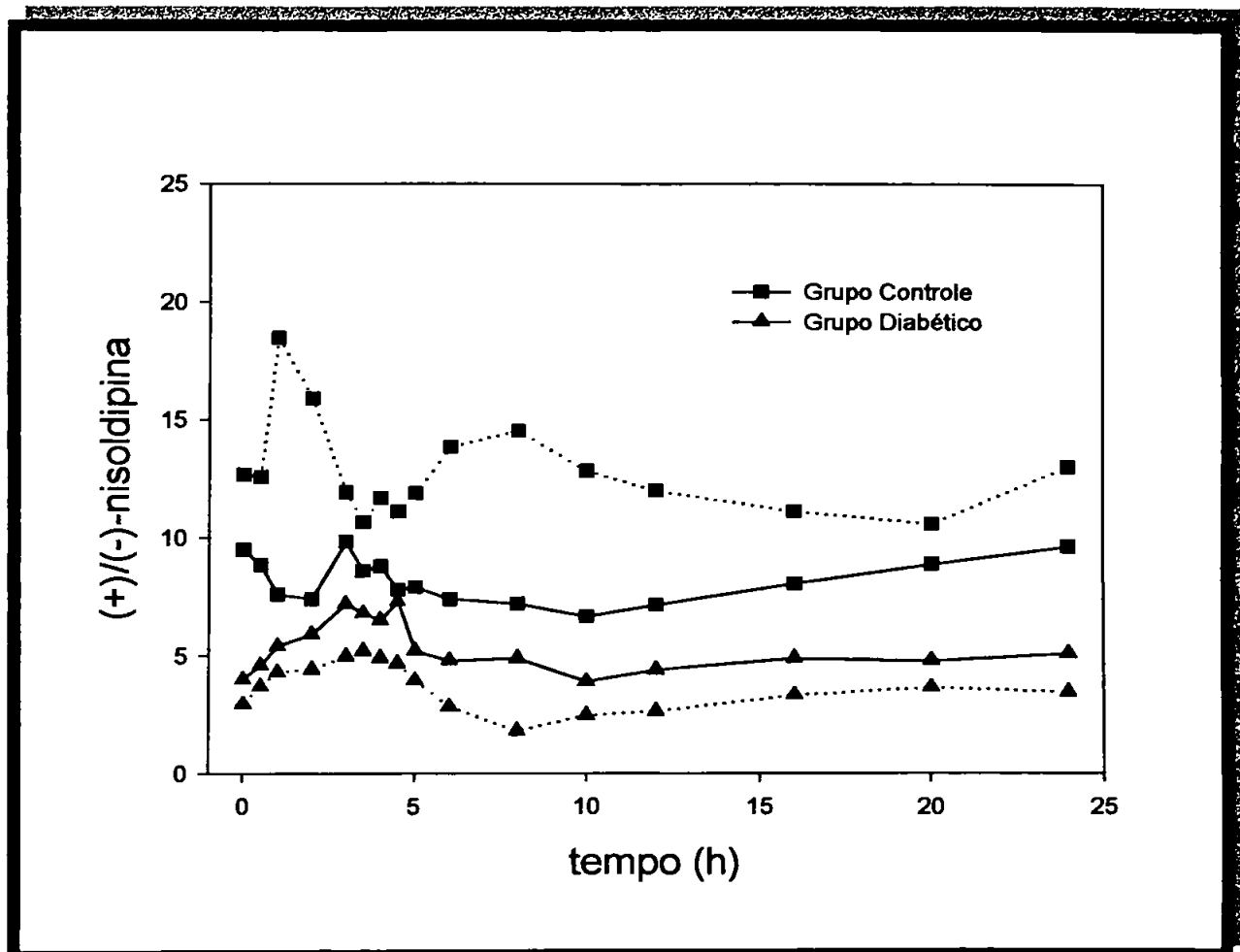


Figura 13 - Razões enantioméricas (+)/(-) das concentrações plasmáticas de nisoldipina referentes ao Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9). Dados expressos através de medianas \pm IC95%.

2. Análise da Lidocaína e MEGX em Plasma

Os cromatogramas relativos à análise simultânea da lidocaína e do metabólito MEGX em plasma estão apresentados na Figura 14 com evidência de ausência de interferentes endógenos da matriz. As curvas de calibração construídas nos intervalos de 0,5 a 5 $\mu\text{g/ml}$ de plasma, para lidocaína, e de 8 a 80 ng/ml de plasma, para MEGX, são lineares e apresentam coeficientes de correlação maiores que 0,99, como apresentado na Figura 18. Os limites de confiança do método analítico estão apresentados nas TABELAS 7, 8 e 9.

As concentrações de lidocaína e seu metabólito MEGX determinadas em 15 e 30 minutos após o término da infusão de 1 mg/kg de lidocaína, assim como a razão lidocaína/MEGX em cada tempo de colheita para cada grupo, estão reportados nas TABELA 10. A Figura 16 mostra a correlação entre as razões lidocaína/MEGX e os *clearances* aparentes (Cl/F) dos enantiômeros da nisoldipina para os Grupos Controle e Diabético.

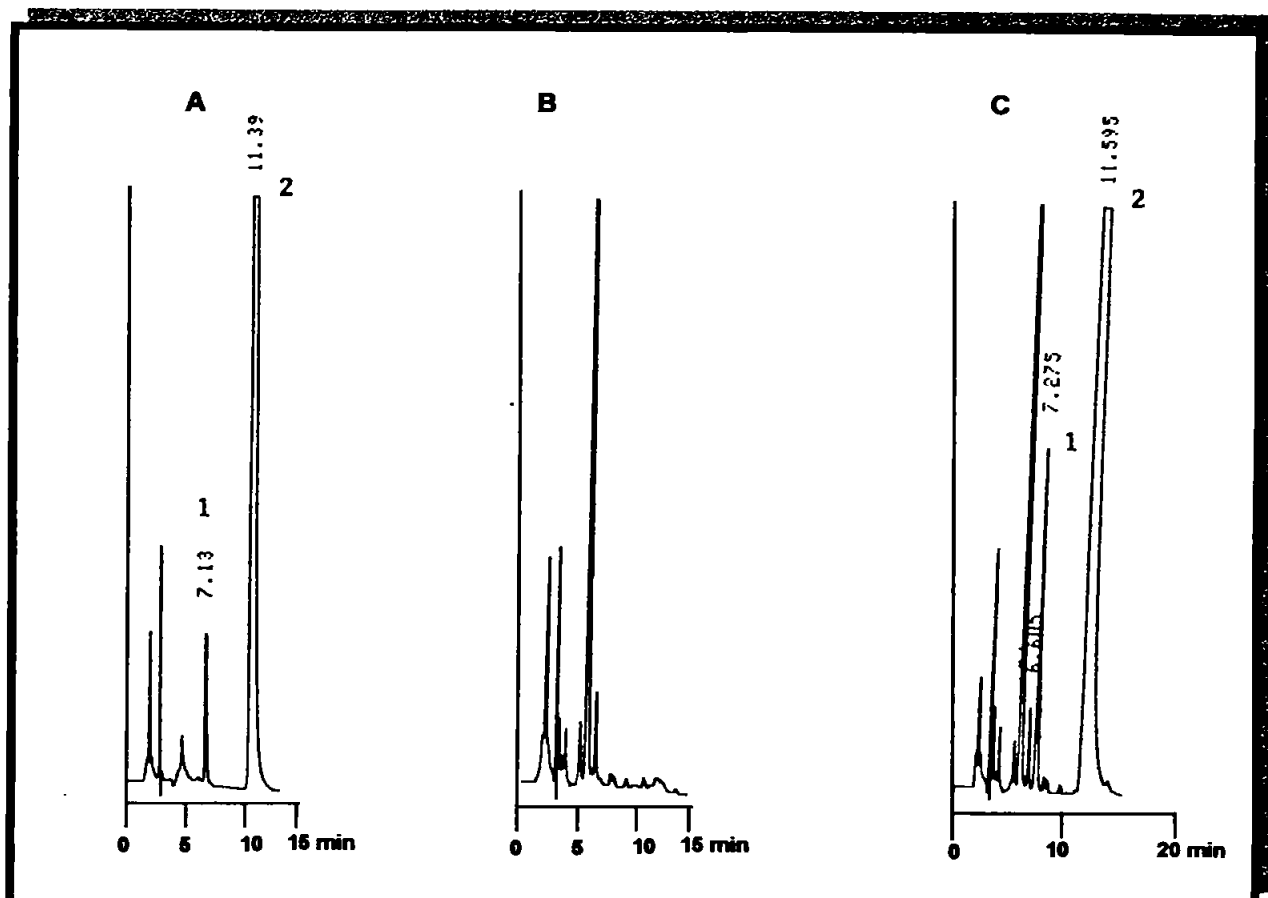


Figura 14 - Cromatogramas referentes a (A) plasma enriquecido com MEGX (1) e lidocaína (2); (B) plasma branco; (C) plasma de paciente tratado com lidocaína 1mg/kg i.v. após 30 min

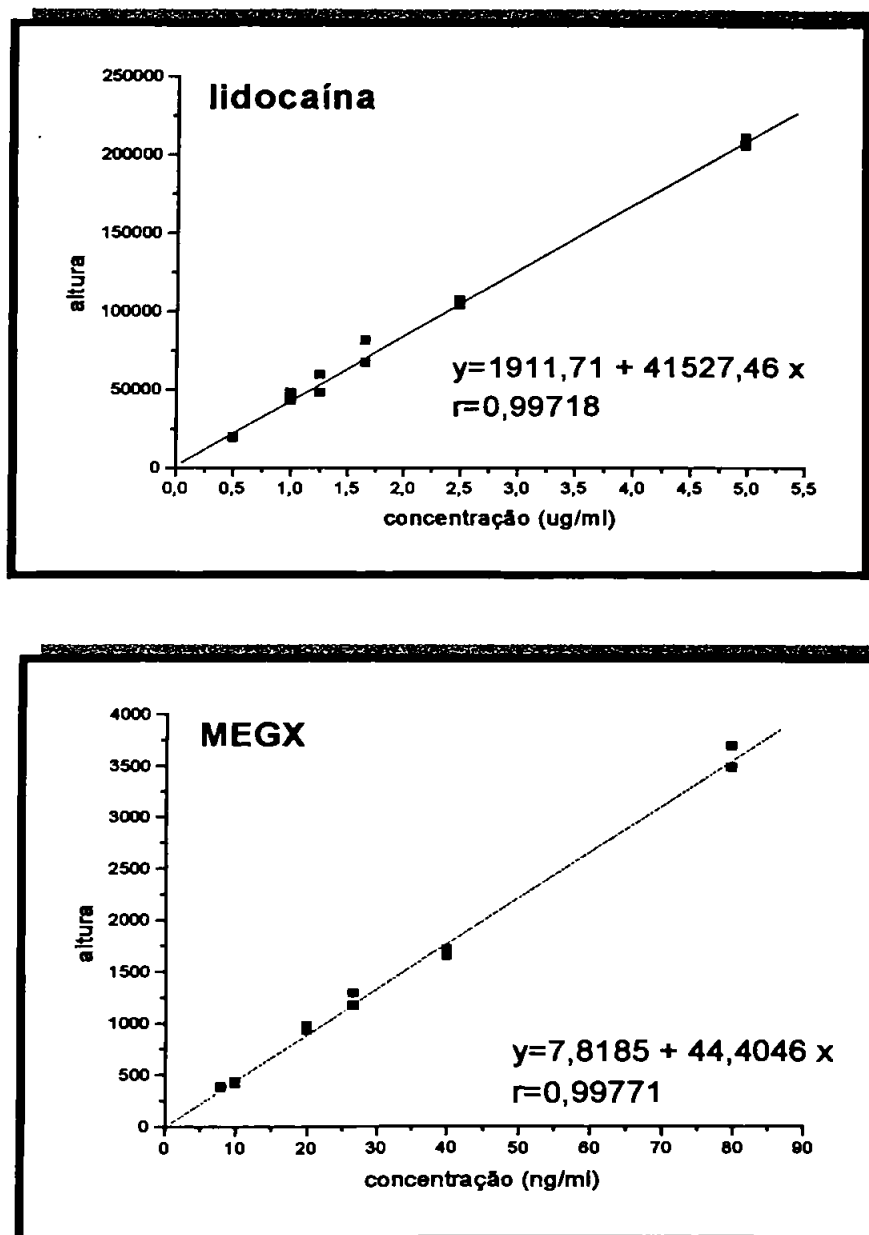


Figura 15 - Curvas de calibração para a análise simultânea da lidocaína (0,5 a 5 $\mu\text{g/ml}$) e do metabólito MEGX (8 a 80 ng/ml) em plasma

TABELA 7 - Limites de confiança do método de análise seqüencial para a determinação da lidocaína plasmática

	Lidocaína
Recuperação (%)	100,8
Limite de quantificação ($\mu\text{g/ml}$) (n=5)	0,1
Linearidade ($\mu\text{g/ml}$)	0,5-20,0 $r = 0,9964$
Precisão intra-ensaio (CV %)	
2,8 $\mu\text{g/ml}$ (n=10)	7,5
0,4 $\mu\text{g/ml}$ (n=10)	9,7
Precisão interensaios (CV %)	
2,8 $\mu\text{g/ml}$ (n=5)	5,4
0,4 $\mu\text{g/ml}$ (n=5)	6,1
Exatidão intra-ensaio (*ES%)	0,6
2,8 $\mu\text{g/ml}$ (n=10)	5,8
0,4 $\mu\text{g/ml}$ (n=10)	
Exatidão interensaios (*ES%)	-0,7
2,8 $\mu\text{g/ml}$ (n=5)	13,5
0,4 $\mu\text{g/ml}$ (n=5)	

*Erro sistemático

TABELA 8 - Limites de confiança do método de análise seqüencial para a determinação do metabólito MEGX em plasma

	MEGX
Recuperação (%)	73,2
Limite de quantificação (ng/ml) (n=5)	2,0
Linearidade (ng/ml)	8,0-640,0 r = 0,9977
Precisão intra-ensaio (CV %)	
45,0 ng/ml (n=10)	7,5
8,0 ng/ml (n=10)	9,5
Precisão interensaios (CV %)	
45,0 ng/ml (n=5)	7,2
8,0 ng/ml (n=5)	5,5
Exatidão intra-ensaio (*ES%)	
45,0 ng/ml (n=10)	1,2
8,0 ng/ml (n=10)	1,9
Exatidão interensaios (*ES%)	
45,0 ng/ml (n=5)	-6,2
8,0 ng/ml (n=5)	5,3

***Erro sistemático**

TABELA 9 - Seletividade do método de análise seqüencial da lidocaína e MEGX

Fármaco	Concentração (µg/ml)	Tempo de Retenção (min)
lidocaína	5,0	10,8
MEGX	0,1	6,8
amiodarona	1,0	8,6
amitriptilina	0,2	ND
bromazepam	0,2	43,6
captopril	1,3	3,0
carbamazepina	12,0	23,9
cimetidina	1,5	3,8
disopiramido	5,0	11,4 / 22,9
fenitoina	20,0	24,0
fenobarbital	30,0	20,6
imipramina	0,2	12,4
mexiletina	2,0	18,1
primidona	12	9,1
propranolol	1,0	7,2
ranitidina	1,5	4,0
sotalol	1,4	3,8

ND = não detectado no intervalo de 0-60 min

TABELA 10 - Concentrações plasmáticas de lidocaína e MEGX e razões lidocaína/MEGX nos tempos de 15 e 30 minutos relativos ao Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=8). Dados expressos através da mediana (IC95%) e média.

	Grupo Controle (n=8)	Grupo Diabético (n=8)
Lidocaína 15 min (µg/ml)	1,74 (1,29-2,47) 1,88	2,29 (1,85-2,69) 2,27
MEGX 15 min (ng/ml)	62,55 (39,58-93,50) 66,54	40,00 (26,05-59,01) 42,53
Lidocaína/MEGX (15 min)	28,25 (13,60-52,72) 33,16	56,30* (34,77-87,87) 61,32
Lidocaína 30 min (µg/ml)	0,75 (0,52-1,03) 0,78	0,73 (0,53-1,14) 0,84
MEGX 30 min (ng/ml)	71,95 (49,83-102,09) 75,96	42,90 (30,62-67,09) 48,86
Lidocaína/MEGX (30 min)	10,80 (7,22-14,93) 11,07	20,60* (12,26-24,91) 18,58

*p<0,05 teste de Mann-Whitney

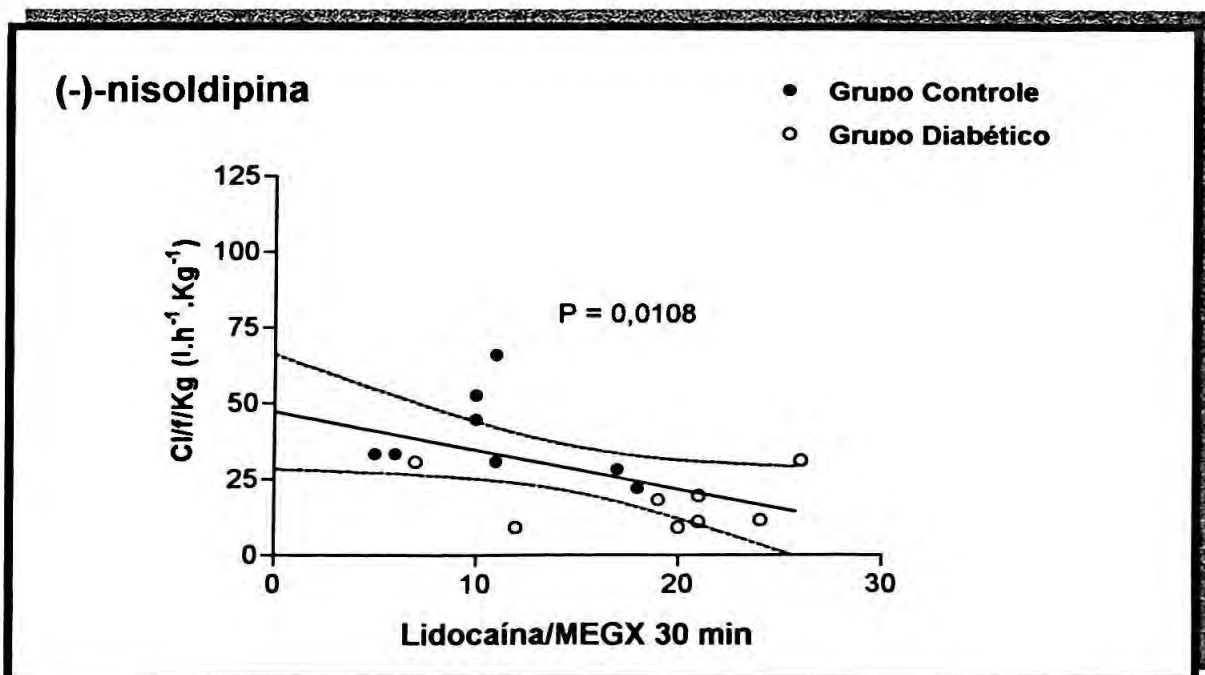
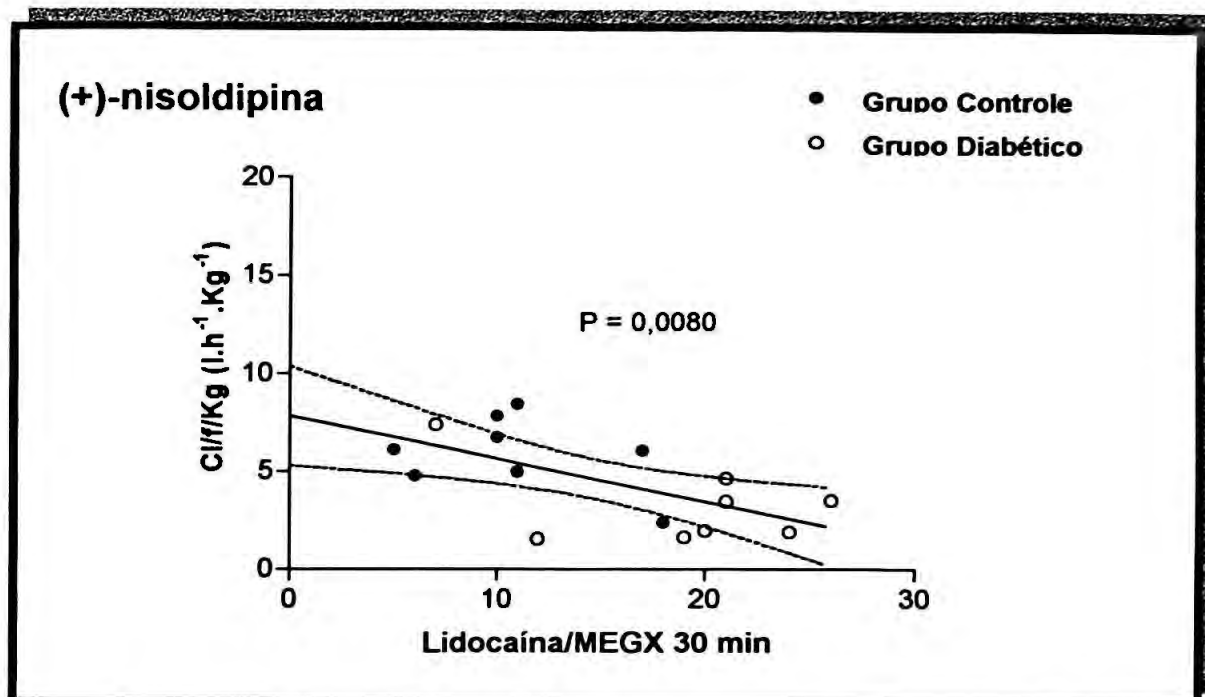


Figura 16 - Correlação entre as razões das concentrações lidocaína/MEGX após 30 min de infusão i.v. de 1mg/Kg de lidocaína e os *clearances* aparentes dos enantiômeros da nisoldipina. Dados individuais de pacientes do Grupo Controle (n = 8) e Grupo Diabético (n = 8)

3. Análise Farmacodinâmica da Nisoldipina

Os cromatogramas relativos à análise de noradrenalina estão apresentados na Figura 17, com separação de adrenalina, noradrenalina, dl-normetanefrina, dl-metanefrina e dopamina, em coluna Purospher® RP-18 (Merck). A Figura 18 mostra a curva de calibração de noradrenalina em plasma. Na TABELA 11 estão apresentadas as concentrações plasmáticas de noradrenalina referentes aos Grupos Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9), através das medianas (IC95%) e médias.

Os dados obtidos da monitorização de pressão arterial dos pacientes do Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9), após administração de doses múltiplas de nisoldipina (20 mg / 24h) ou placebo, estão apresentados nas TABELAS 12 a 15. Os dados referentes a pressão arterial sistólica (PAS), a pressão arterial diastólica (PAD) e a concentração plasmática do eutômero (+)-nisoldipina referentes ao Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9), no intervalo de dose, estão apresentados na Figura 19.

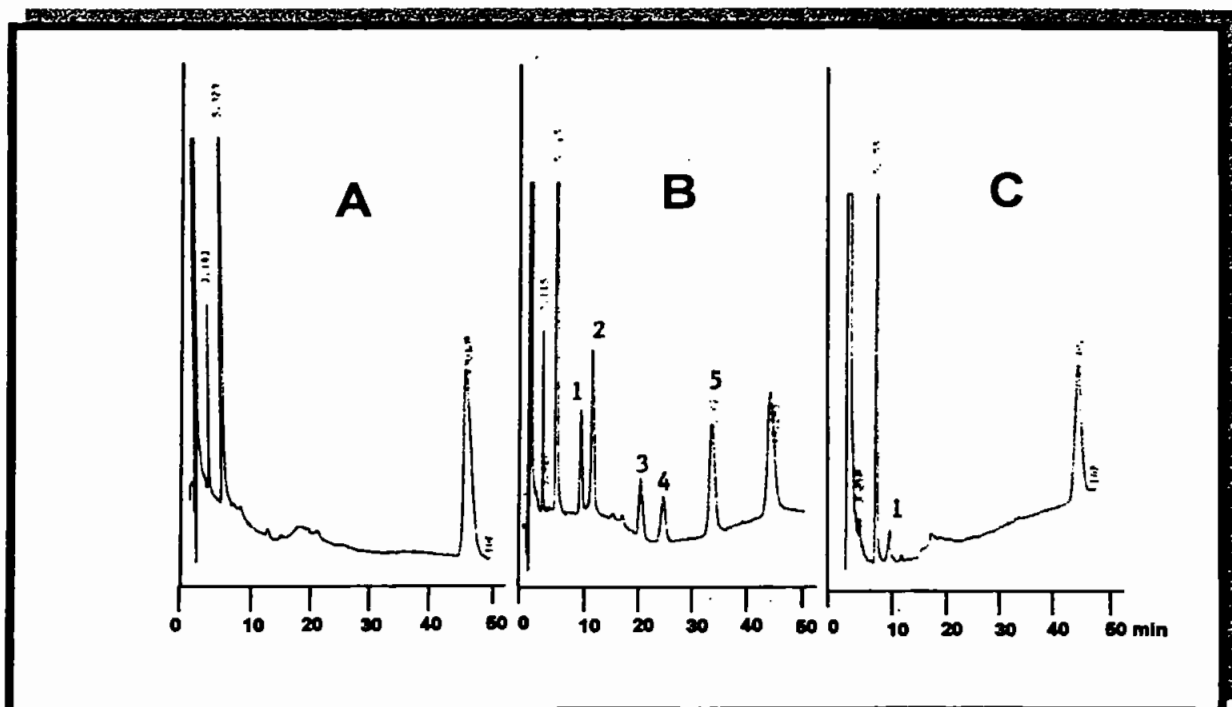


Figura 17 - Cromatogramas referentes a análise das catecolaminas em plasma: (A) branco de reagentes; (B) tampão enriquecido com solução padrão de (1) noradrenalina; (2) adrenalina; (3) dl-normetanefrina; (4) dl-metanefrina; (5) dopamina e (C) plasma de paciente.

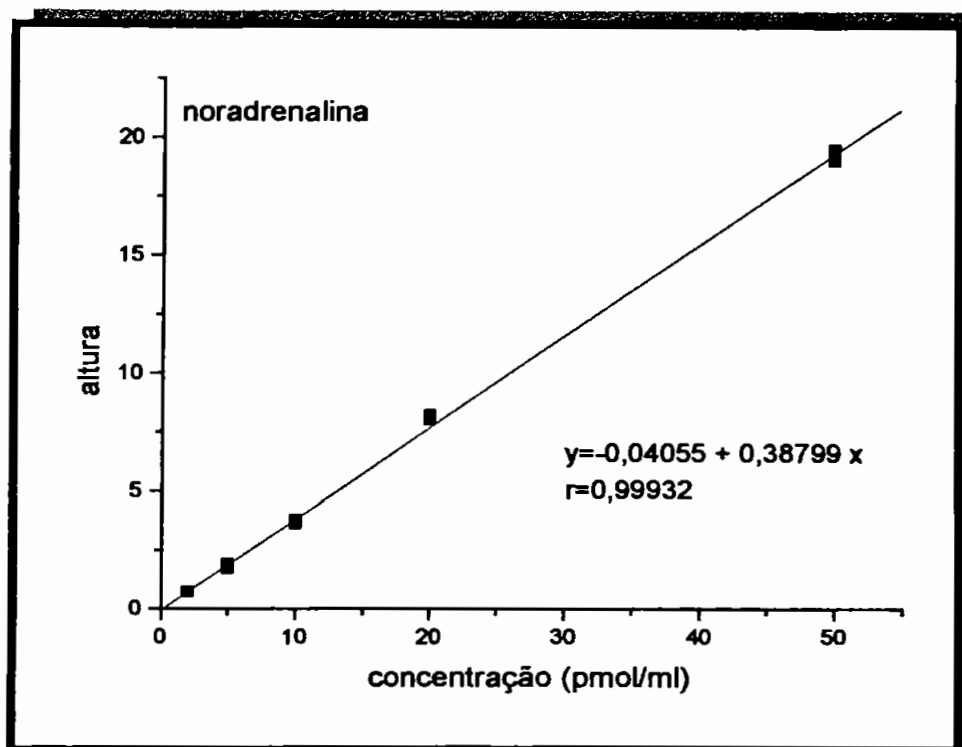


Figura 18 - Curva de calibração para a noradrenalina em plasma (2-50 pmol/ml)

TABELA 11 - Concentrações plasmáticas e razões de noradrenalina nos Grupos Controle (n=8) e Diabético (n=9). Dados expressos através da mediana (IC95%) e média

	Noradrenalina (pmol/ml plasma)		
	Fase Placebo	Fase Nisoldipina	Razão Placebo/Nisoldipina
Grupo Controle	2,50 (1,45-4,00) 2,72	5,30 ^Δ (3,01-6,59) 4,80	0,63 (0,38-0,83) 0,61
Grupo Diabético	1,30 (0,96-2,40) 1,68	2,40 ^{ΔΔ} (2,06-3,64) 2,86	0,65 (0,36-0,76) 0,56

^Δp<0,05 teste de Wilcoxon, placebo vs nisoldipina

*p<0,05 teste de Mann-Whitney, Grupo Controle vs Grupo Diabético

TABELA 12 - Dados de pressão arterial sistólica referentes ao Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9). Dados expressos através da mediana (IC95%) e média

	Grupo Controle Placebo	Grupo Controle Nisoldipina	Grupo Diabético Placebo	Grupo Diabético Nisoldipina
Diurno	141,0 (130,5-151,0) 140,7	121,5 * (111,4-142,0) 127,0	135,0 (125,3-142,9) 134,1	120,0* (111,4-132,6) 122,0
Noturno	130,0 (121,8-140,2) 131,0	115,0 * (105,6-131,9) 118,7	129,0 (122,6-141,6) 132,1	119,0* (108,5-128,0) 118,2
24h	134,0 (125,2-145,8) 135,5	117,5 * (109,92-139,1) 124,5	133,0 (124,63-141,8) 133,2	120,0* (112,6-131,4) 122,0

*p<0,05 teste de Wilcoxon, placebo vs nisoldipina

^p<0,05 teste de Mann-Whitney , Grupo Controle vs Grupo Diabético

TABELA 13 - Dados de pressão arterial diastólica referentes ao Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9). Dados expressos através da mediana (IC95%) e média

	Grupo Controle Placebo	Grupo Controle Nisoldipina	Grupo Diabético Placebo	Grupo Diabético Nisoldipina
Diurno	86,5 (80,1-95,3) 87,8	79,5* (69,8-87,5) 78,6	81,0 (77,2-89,2) 83,2	77,0 * (71,8-84,0) 77,9
Noturno	80,5 (69,6-90,6) 80,1	72,0* (64,4-79,8) 72,1	74,0 (70,0-88,0) 79,0	72,0 * (66,5-80,8) 73,7
24h	81,5 (73,0-93,5) 83,2	77,0* (68,2-85,0) 76,6	79,0 (75,3-88,0) 81,7	75,0 * (69,9-83,2) 76,5

*p<0,05 teste de Wilcoxon, placebo vs nisoldipina

^p<0,05 teste de Mann-Whitney , Grupo Controle vs Grupo Diabético

TABELA 14 - Dados de pressão arterial média** referentes ao Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9). Dados expressos através da mediana (IC95%) e média

	Grupo Controle Placebo	Grupo Controle Nisoldipina	Grupo Diabético Placebo	Grupo Diabético Nisoldipina
Diurno	106,5 (97,9-115,1) 106,5	94,0 * (84,9-105,8) 95,4	100,0 (94,8-108,3) 101,5	92,0 * (85,9-100,8) 93,3
Noturno	97,0 (89,6-108,9) 99,2	85,5 * (79,4-98,6) 89,0	93,0 (89,1-106,9) 98,0	89,0 * (81,7-97,8) 89,8
24h	101,0 (93,1-112,7) 102,9	90,5 * (83,7-103,5) 93,6	98,0 (93,0-107,6) 100,3	91,0 * (84,0-99,8) 91,9

*p<0,05 teste de Wilcoxon, placebo vs nisoldipina

[^]p<0,05 teste de Mann-Whitney , Grupo Controle vs Grupo Diabético

**[2/3 x (PA sistólica + PA diastólica)]

TABELA 15 - Dados de frequência cardíaca referentes ao Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9). Dados expressos através da mediana (IC95%) e média

	Grupo Controle Placebo	Grupo Controle Nisoldipina	Grupo Diabético Placebo	Grupo Diabético Nisoldipina
Diurno	90,0 (77,4-95,4) 86,3	80,5 (76,6-88,90) 82,7	87,0 (76,4-94,0) 85,0	79,0 (71,4-91,5) 81,4
Noturno	83,5 (77,3-86,5) 81,9	77,0 (70,2-83,5) 76,9	79,0 (63,9-91,2) 77,5	70,0 (63,6-87,1) 75,3
24h	87,0 (79,7-90,3) 85,0	79,0 (74,9-86,6) 80,7	87,0 (72,5-92,2) 82,3	76,0 (68,8-90,3) 79,5

*p<0,05 teste de Wilcoxon, placebo vs nisoldipina

[^]p<0,05 teste de Mann-Whitney , Grupo Controle vs Grupo Diabético

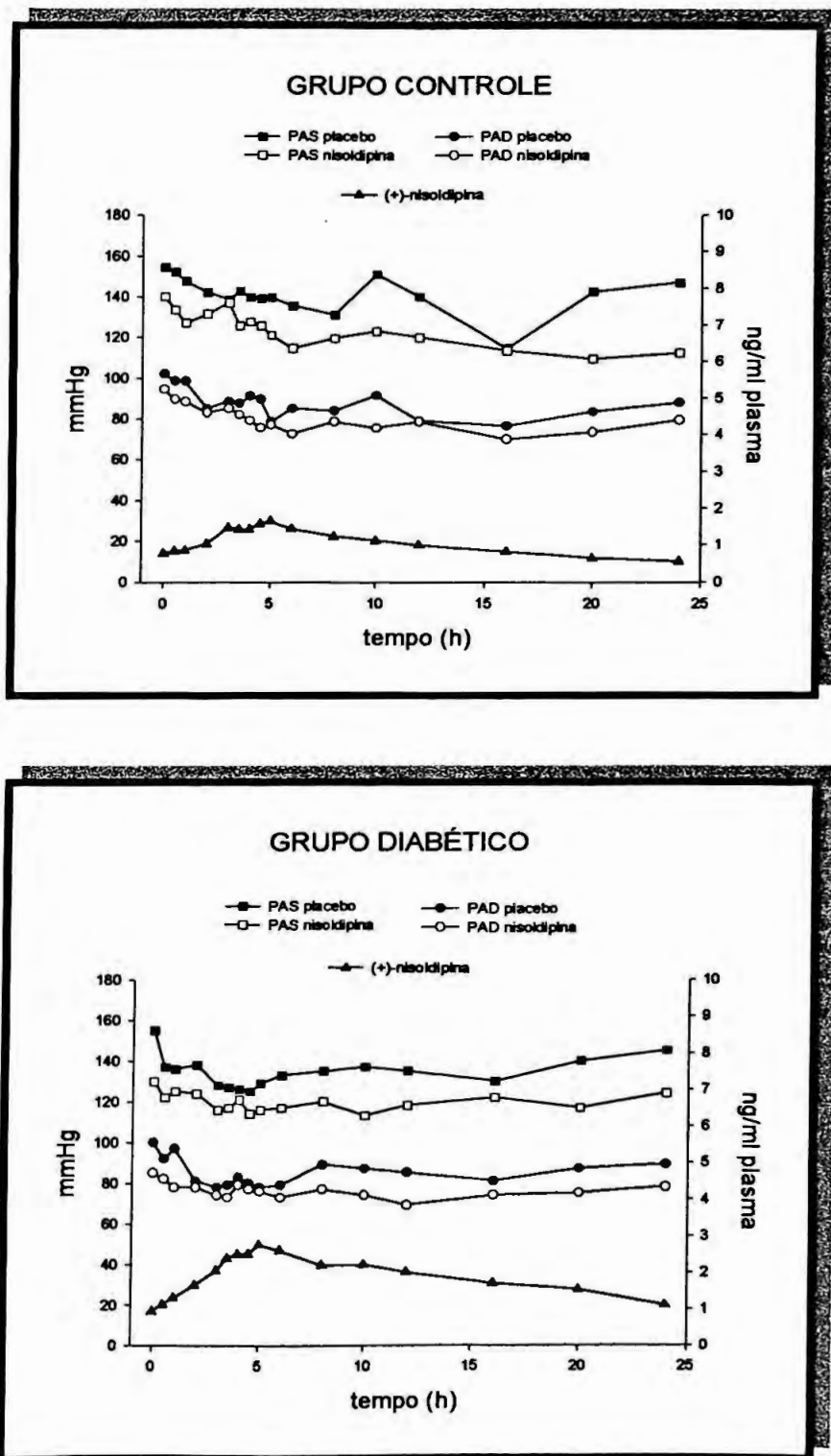


Figura 19 - Pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e concentração plasmática de (+)-nisoldipina referentes ao Grupo Controle (n=8) e Grupo Diabético (n=9) no intervalo de dose. Dados expressos através de medianas.

V. DISCUSSÃO

As baixas doses de di-hidropiridinas antagonistas de cálcio administradas ao homem, associadas à alta eliminação pré-sistêmica e ao alto volume de distribuição, resultam em concentrações plasmáticas extremamente baixas e, conseqüentemente, em dificuldades analíticas em estudos de disposição cinética e metabolismo. O carbono na posição 4 do anel di-hidropiridina, com exceção da nifedipina, exibe quiralidade devido à ligação a quatro grupos diferentes. A maioria destes compostos é usada na clínica como mistura racêmica apesar dos enantiômeros exibirem atividades farmacológicas significativamente diferentes (Tokuma & Noguchi, 1995).

Os estudos de investigação do fenômeno da enantiosseletividade na farmacocinética destas di-hidropiridinas no homem exigem métodos com limite de quantificação da ordem de 0,1 ng/ml de cada enantiômero no plasma. A determinação estereoespecífica em plasma ou soro de várias di-hidropiridinas antagonistas de cálcio como a nivaldipina, nitrendipina, felodipina, nimodipina, manidipina, benidipina, entre outras, em concentrações tão baixas quanto 0,01 a 0,4 ng/ml tem sido descritas utilizando o método direto de separação dos enantiômeros por HPLC com subseqüente quantificação por GC-MS ou GC-ECD (cromatografia em fase gasosa com detector por captura de elétrons) (Tokuma & Noguchi, 1995). A associação de técnicas HPLC/GC-MS foi empregada por Heinig et al. (1994) e por Zimmer & Muschalek (1994) na separação e quantificação dos enantiômeros da nisoldipina, respectivamente, em plasma humano e plasma de animais de experimentação.

Heinig et al. (1994) empregaram a coluna de fase quiral *Chiralcel*[®] OJ [tris (4-metilbenzoato) celulose em sílica] na separação dos enantiômeros da nisoldipina empregando como fase móvel uma mistura de n-heptano-isopropanol (88:12 v/v) contendo 0,2 % de ácido trifluoroacético. Os enantiômeros foram eluídos na seqüência (+) e (-), respectivamente, com tempos de retenção de 12 e 17 min. No presente estudo, foi

empregada a coluna de fase quiral *Chiralcel*[®] OD-H (celulose tris 3,5-dimetilfenil carbamato) em função da eluição dos enantiômeros (+) e (-) como picos simétricos e com total resolução utilizando fase móvel sem a adição de ácidos, e portanto, com menor risco de racemização (Figura 7). As colunas de fases quirais AS (amilose tris S- α -metilbenzil carbamato), AD (amilose tris 3,5-dimetilfenil carbamato) e OB-H (celulose tribenzoato) não mostraram boa resolução dos enantiômeros da nisoldipina com emprego de diferentes fases móveis adicionadas ou não de ácido trifluoroacético.

A quantificação dos enantiômeros isolados nas frações HPLC por GC-MS-SIM com limite de quantificação de 0,05 ng/ml de cada enantiômero no plasma foi realizada utilizando a coluna capilar Ultra-1 (metilsiloxano) de 12,5 m de comprimento e 0,2 mm de diâmetro interno (Figuras 8, 9 e 10). Outras colunas experimentadas como SPB-1 (100%-dimetilpolisiloxano), DB-608 (50%-metil-50%-fenilpolisiloxano), DB-1 (100%-dimetilpolisiloxano), DB-5 (95%-dimetil-5%-difenilpolisiloxano), DB-1301 (94%-metil-6%-cianopropilfenilpolisiloxano) e LM-1 (polímero de etileno) resultaram na eluição dos enantiômeros da nisoldipina como picos largos e pouco simétricos com conseqüente baixo limite de quantificação. A coluna Ultra-1 foi anteriormente empregada por Heinig et al. (1994) na quantificação da nisoldipina empregando o composto deuterado como padrão interno.

Os enantiômeros da nisoldipina foram extraídos do plasma, em meio básico, utilizando tolueno como solvente extrator. A recuperação da nisoldipina sob a forma de mistura enantiomérica ou como enantiômeros isolados foi próxima a 60 % (TABELA 4). A recuperação foi independente das concentrações empregadas com precisão e exatidão compatíveis com a aplicação do método em estudos de disposição cinética. Os extratos de plasma branco (10 diferentes matrizes de plasma humano) não mostraram componentes endógenos interferentes nas regiões de eluição da nisoldipina e do padrão interno nas situações de injeção das frações HPLC no sistema GC-MS (Figuras 7 e 8). Outros solventes extratores experimentados como misturas de pentano e diclorometano em diferentes proporções, éter etílico,

éter di-isopropílico, éter metil terc-butiílico, clorofórmio e acetato de etila resultaram em recuperações inferiores a 50 % ou em cromatogramas com interferentes endógenos nas regiões de interesse.

O método enantiosseletivo foi validado em plasma humano no intervalo de concentrações de 0,1 a 10,0 ng/ml para ambos enantiômeros da nisoldipina. Todo o procedimento analítico foi realizado em ambiente com luz amarela como única fonte de iluminação e com utilização somente de vidraria âmbar.

O limite de quantificação de 0,05 ng/ml de cada enantiômero no plasma (TABELA 4) permite inferir o método como mais sensível que aquele reportado por Heinig et al. (1994). A alta sensibilidade é fundamental principalmente na quantificação do enantiômero (-)-nisoldipina presente no plasma em concentrações aproximadamente 10 vezes inferiores ao antípoda (+). A linearidade do método até 50,0 ng/ml de cada enantiômero no plasma abrangeu todas as concentrações experimentadas (TABELA 4), atingindo valores aproximadamente 10 vezes maiores que as concentrações plasmáticas máximas em situações de doses terapêuticas.

Os coeficientes de variação obtidos na avaliação da precisão intra e interensaios, em duas diferentes concentrações, foram menores que 15% (TABELA 4) inferindo principalmente a repetibilidade na coleta dos enantiômeros nas frações HPLC, uma fase destituída de padronização interna. As concentrações médias obtidas de ambos enantiômeros da nisoldipina estão dentro dos limites de 15% dos valores reais (TABELA 4), assegurando a exatidão dos resultados.

Vários fármacos passíveis de associação ao tratamento com a nisoldipina, como diuréticos, antidepressivos, antiepilépticos, benzodiazepínicos, antagonistas do receptor H₁, entre outros relacionados na TABELA 5, não são interferentes do método analítico.

O método de análise dos enantiômeros (+) e (-)-nisoldipina, em plasma humano, foi aplicado no estudo da investigação da enantiosseletividade na disposição cinética da nisoldipina administrada sob forma racêmica, em regime de dose múltipla, a pacientes portadores ou

não de diabetes mellitus tipo 2. Os dados permitiram inferir que os enantiômeros da nisoldipina foram eluídos da coluna de fase quiral OD-H na seqüência (+) e (-) em função das maiores concentrações no plasma do paciente do enantiômero presente na fração 1 coletada do sistema HPLC. Tal afirmação baseia-se no estudo de Heinig et al. (1994) com demonstração de concentrações do enantiômero (+) aproximadamente 10 vezes maiores que o enantiômero (-) no plasma de voluntários sadios tratados com nisoldipina racêmica por via *per oral*.

Na presente investigação, a disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina foi avaliada no estado de equilíbrio, no intervalo de dose de 24h. O estado de equilíbrio foi assegurado pela administração de doses múltiplas de nisoldipina racêmica durante 15 dias a pacientes hipertensos (Grupo Controle) ou pacientes portadores de hipertensão leve a moderada e com diabetes mellitus tipo 2 (Grupo Diabético).

Os parâmetros farmacocinéticos com razões enantioméricas diferentes da unidade ($p < 0,05$), obtidos na investigação do Grupo Controle, denunciam o acúmulo plasmático do enantiômero (+) com razões (+)/(-) de 6,97. Os maiores valores de C_{max} (1,89 vs 0,27 ng/ml) e AUC^{SS}_{0-24} (22,21 vs 3,53 ng.h/ml) do enantiômero (+)-nisoldipina são conseqüentes do menor volume de distribuição (72,64 vs 403,65 l/kg) e do menor *clearance* aparente (6,07 vs 33,41 l/h/kg) (TABELA 6). O acúmulo plasmático do enantiômero (+)-nisoldipina também pode ser observado no Grupo Diabético em função dos maiores valores de C_{max} (3,00 vs 0,52 ng/ml) e AUC^{SS}_{0-24} (44,01 vs 7,88 ng.h/ml), razões (+)/(-) de 4,73 e menores volume de distribuição (80,00 vs 134,4 l/kg) e *clearance* aparente (3,45 vs 18,35 l/h/kg). O acúmulo plasmático do enantiômero (+) foi referido por Frost et al. (1990) na investigação de voluntários sadios tratados com nisoldipina (pseudoracemato) por via oral ($AUC^{SS}_{0-24 (+)-nisol} / AUC^{SS}_{0-24 (-)-nisol} = 6,3$) e por Heinig et al. (1994) na investigação de voluntários sadios ($AUC^{SS}_{0-24 (+)-nisol} / AUC^{SS}_{0-24 (-)-nisol} = 13$), pacientes idosos hipertensos ($AUC^{SS}_{0-24 (+)-nisol} / AUC^{SS}_{0-24 (-)-nisol} = 5,5$) e pacientes portadores de cirrose ($AUC^{SS}_{0-24 (+)-nisol} / AUC^{SS}_{0-24 (-)-nisol} = 12,1$) que receberam por via *per oral* nisoldipina

racêmica. Frost et al. (1990) e Heinig et al. (1994) salientam que a administração de nisoldipina racêmica por via intravascular não resulta em concentrações plasmáticas com razões enantioméricas diferentes da unidade, e que portanto a estereosseletividade é função da eliminação pré-sistêmica.

Ressalta-se ainda que as razões enantioméricas (+)/(-) de concentrações plasmáticas da nisoldipina não são constantes durante o intervalo de dose de 24h, mas aumentam até aproximadamente o tempo necessário para atingir C_{max} (t_{max}), com sugestão de metabolismo preferencial do enantiômero (-)-nisoldipina. Após o t_{max} , observa-se a redução nas razões (+)/(-)-nisoldipina até valores próximos àqueles observados imediatamente antes da administração de nisoldipina racêmica (Figura 13).

Não há dados na literatura referentes aos parâmetros farmacocinéticos dos enantiômeros individuais da nisoldipina. O volume de distribuição aparente (V_d) da nisoldipina como mistura enantiomérica é alto, com valores reportados da ordem de 1,6 a 7,1 l/kg (Heinig, 1998), portanto valores próximos àqueles obtidos na presente investigação para o enantiômero (+)-nisoldipina de maior concentração plasmática. O maior volume de distribuição do enantiômero (-)-nisoldipina poderia ser explicado em função de estereosseletividade na ligação às proteínas plasmáticas, no entanto não há dados relativos aos enantiômeros individuais. O *clearance* aparente (Cl/F) da nisoldipina como mistura enantiomérica é alto, com valores reportados na literatura variando de 6,7 a 20,0 l/min na administração do fármaco racêmico sob a forma de comprimidos de liberação controlada a voluntários sadios ou pacientes hipertensos (Heinig, 1998). Os dados apresentados na TABELA 6 evidenciam que o *clearance* aparente da (+)-nisoldipina é significativamente maior que o da (-)-nisoldipina para todos os pacientes investigados.

A área sob a curva concentração plasmática de (+)-nisoldipina *versus* tempo (AUC^{SS}_{0-24}), expressa através da mediana, variou de 22,21 ng.h/ml (Grupo Controle) para 44,01 ng.h/ml (Grupo Diabético), com

$p < 0,05$, caracterizando a influência do diabetes mellitus tipo 2 na farmacocinética enantiosseletiva da nisoldipina. A mesma observação pode ser referida ao enantiômero (-)-nisoldipina, onde o parâmetro AUC^{SS}_{0-24} aumentou de 3,53 ng.h/ml para 7,88 ng.h/ml, respectivamente, para os Grupos Controle e Diabético (TABELA 6). O aumento das concentrações plasmáticas de ambos os enantiômeros da nisoldipina no grupo de pacientes diabéticos pode ser explicado em função da redução no *clearance* aparente de aproximadamente 50% para os enantiômeros (+)-nisoldipina (6,07 vs 3,45 l/h/kg) e (-)-nisoldipina (33,41 vs 18,35 l/h/kg).

Os pacientes incluídos na investigação foram submetidos ao teste da lidocaína como marcador da atividade *in vivo* do CYP3A4. O metabolismo da lidocaína a monoetilglicinaxilidida (MEGX), dependente da atividade do CYP3A4 do fígado humano, constitui a base do teste MEGX como marcador da atividade *in vivo* da isoforma em estudos de disposição cinética de substratos do CYP3A4, tais como a nisoldipina. O teste exige a quantificação plasmática da lidocaína e do metabólito MEGX 15 e 30 min após o término da infusão lenta do antiarrítmico (Reichel et al., 1997; Reichel et al., 1998; Shiffman et al., 1996).

O metabólito MEGX e a lidocaína foram separados como picos simétricos na coluna de fase reversa *Select B* com tempos de retenção, respectivamente, de 6,8 e 10,8 min. A análise de alíquotas de plasma branco coletado de diferentes voluntários sadios não evidencia interferências de componentes endógenos (Figura 14). Estudos anteriores empregam apenas as colunas C8 (Chen et al., 1992; O'Neal & Poklis, 1996) ou C18 (Andreeva et al., 1997) na separação do fármaco inalterado e biotransformado.

A possibilidade do emprego do padrão interno fenacetina foi explorada durante o desenvolvimento do método. A opção somente pela padronização externa foi decorrente da eluição do fármaco em 19 min, contribuindo significativamente para o aumento do tempo de análise sem vantagens em termos de exatidão e precisão.

As recuperações da lidocaína e metabólito MEGX adicionados em plasma, respectivamente 100% e 73%, foram precisas e independentes das concentrações (TABELAS 7 e 8). A extração do MEGX em meio básico com hexano:diclorometano (82:18, v/v) resultou em recuperação similar àquela reportada por Laroche et al. (1998) empregando procedimento de extração em fase sólida em colunas CN e eluição com metanol.

O limite de quantificação de 2,0 ng/ml de MEGX (TABELA 8) no plasma permite inferir o método como mais sensível que aqueles até então reportados. Chen et al., 1992 e O'Neal & Poklis, 1996 relatam limites de quantificação de 10,0 ng/ml empregando HPLC com detecção por ultravioleta. Os métodos reportados por Andreeva et al. (1997) empregando HPLC com detector por fluorescência ou por Laroche et al. (1998) empregando GC-NPD (cromatografia em fase gasosa com detector de nitrogênio-fósforo) exibem sensibilidade de 2,5 ng/ml. Os imunoenaios oferecem sensibilidade da ordem de 3,0 a 8,0 ng/ml para a análise do metabólito MEGX plasmático (Schütz et al., 1998).

O método apresentou linearidade para todas as concentrações experimentadas de MEGX, atingindo valores de 640,0 ng/ml (TABELA 8) e excedendo os valores máximos esperados na administração de lidocaína intravascular. Por outro lado, as concentrações plasmáticas de lidocaína sob forma inalterada foram lineares até 20 µg/ml (TABELA 7) com necessidade de exclusão do maior valor experimental de 40 µg/ml.

Os coeficientes de variação obtidos no estudo da precisão intra e interensaios para concentrações altas e baixas de lidocaína (0,4 e 2,8 µg/ml) e MEGX (8,0 e 45,0 ng/ml) foram inferiores a 10% assegurando a precisão dos resultados e preenchendo os critérios mais rígidos de aplicação do método em estudos clínicos do metabolismo oxidativo. As mesmas concentrações plasmáticas obtidas com erros sistemáticos inferiores a 15% (TABELAS 7 e 8) podem inferir o método como exato.

No estudo da seletividade do método foram avaliados diferentes fármacos passíveis de co-administração no período de realização do teste MEGX (TABELA 9). Não foram observados quaisquer interferentes.

Ressalta-se ainda a capacidade da coluna *Select B* na resolução do metabólito MEGX e cafeína normalmente presente no plasma.

Os paciente incluídos na investigação de nisoldipina foram submetidos ao teste da lidocaína para investigação da atividade do CYP3A4, sendo tratados com 1 mg/kg de lidocaína. As concentrações do metabólito MEGX, determinadas 15 e 30 min após o término da infusão, foram para o Grupo Controle, respectivamente, de 62,55 e 71,95 ng/ml plasma, e para o Grupo Diabético 40,00 e 42,90 ng/ml plasma (TABELA 15), sendo condizentes com os valores apresentados por Shiffman et al. (1996) que relatam concentrações plasmáticas do metabólito MEGX entre 15 a 130 ng/ml, 15 a 30 min após a administração intravascular de lidocaína (1 mg/kg) a voluntários sadios.

O teste da lidocaína foi utilizado como marcador da atividade *in vivo* do CYP3A4. Wang J. et al. (2000) reportam que em microsomas de fígado humano o CYP3A4 como também o CYP1A2 são capazes de metabolizar a lidocaína a MEGX, fato que define a lidocaína como marcador não específico da atividade *in vivo* do CYP3A4. Os pacientes incluídos na investigação foram submetidos ao teste da lidocaína considerando a participação do CYP3A4 no metabolismo da lidocaína. As razões individuais de lidocaína/MEGX nos tempos de 15 e 30 min *versus clearance* (+) e (-) nisoldipina obtidos de pacientes de ambos os grupos, foram plotados promovendo a correlação ($p < 0,05$) entre esses parâmetros (Figura 16). Considerando que a correlação entre as razões lidocaína/MEGX e os *clearances* dos enantiômeros da nisoldipina reflete a atividade da enzima envolvida no metabolismo dos fármaco, os dados indicam que os substratos são oxidados pelas mesmas ou similares isoformas.

Os dados de razões de concentrações plasmáticas lidocaína/MEGX, avaliadas em 15 e 30 min, após a administração de lidocaína são significativamente maiores nos pacientes do Grupo Diabético (56,30 vs 28,25) em relação ao Grupo Controle (TABELA 10), sugerindo que o diabetes mellitus tipo 2 inibe a isoforma ou isoformas do CYP envolvidas no metabolismo da nisoldipina. Esses resultados justificam a redução no

clearance aparente de ambos os enantiômeros da nisoldipina no Grupo Diabético, com sugestão de inibição do CYP3A4, considerando que a isoforma CYP1A2 não está envolvida no metabolismo da nisoldipina.

A extração líquido-líquido das catecolaminas do plasma foi realizada com base no trabalho de Forster & Macdonald (1999). As catecolaminas foram extraídas do plasma por complexação com o ácido difenilbórico etanolamina, formação de par iônico com o brometo de tetraoctilamônio e extração para o solvente orgânico heptano:octanol (99:1,v/v). A presença de um pico interferente no branco de reagentes exigiu diversos experimentos com modificações na porcentagem dos constituintes da fase móvel. A impossibilidade de separação do pico interferente com as catecolaminas resultou na substituição da coluna Nova-Pak® C-18 pela coluna Purospher® RP-18 *endcapped*. Os cromatogramas mostrando a resolução das catecolaminas na coluna Purospher® RP-18 *endcapped* com branco de reagente livre da presença de picos interferentes estão apresentados na Figura 17.

A curva de calibração para a análise de noradrenalina no plasma foi construída com base nas faixa de referência reportada por Hollenbach et al. (1998) na investigação de 59 pacientes. Os autores reportam concentrações de noradrenalina no plasma humano de $2,11 \pm 0,24$ pmol/ml (média \pm SD) e inferem que o sexo não é fator de influência ($2,17 \pm 0,26$ pmol/ml para homens vs $2,07 \pm 0,22$ pmol/ml para mulheres). As concentrações de adrenalina e dopamina no plasma humano são aproximadamente 10 e 100 vezes inferiores àquelas da noradrenalina, respectivamente; médias de 0,314 e 0,028 pmol/ml. Forster & Macdonald (1999) inferem que em voluntários sadios adultos a concentração de noradrenalina é pelo menos 3 vezes superior a de adrenalina, ou seja, 0,5-3,5 pmol/ml de noradrenalina em comparação com 0,1-0,5 pmol/ml de adrenalina. A curva de calibração para a análise de noradrenalina no plasma humano, no intervalo de 2 a 50 pmol/ml, resultou em coeficiente de correlação maior que 0,99 (Figura 18).

As concentrações de noradrenalina no plasma dos pacientes hipertensos portadores ou não de diabetes mellitus tipo 2, (TABELA 11), estão dentro da faixa de referência anteriormente reportada (Forster & Macdonald, 1999). O cromatograma do plasma de paciente (Figura 17) não mostra as outras catecolaminas em função da sensibilidade do sistema HPLC estar ajustada somente para a análise da noradrenalina. No entanto, ressalta-se a ausência da interferência, assim como a capacidade do sistema na separação de outras catecolaminas.

A musculatura lisa vascular é o sítio alvo do efeito clínico das di-hidropiridinas antagonistas do cálcio. A nisoldipina é considerada como um fármaco de alta seletividade pela musculatura lisa, praticamente sem efeito sobre o miocárdio ou eletrofisiologia cardíaca. Seu maior efeito farmacológico inclui a vasodilatação periférica e das artérias coronárias (Zannad, 1995). Os dados apresentados na TABELA 11 mostram que a nisoldipina aumenta as concentrações plasmáticas de noradrenalina nos pacientes hipertensos portadores ou não de diabetes mellitus tipo 2. Os dados ainda evidenciam que as concentrações plasmáticas de noradrenalina, 30 min após a administração da nisoldipina, são menores nos pacientes diabéticos que nos não diabéticos (2,40 vs 5,30 pmol/ml plasma). Segundo Granados et al. (2000) e Takahashi et al. (2001) pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2 apresentam redução nas concentrações de noradrenalina devido a presença de neuropatia autonômica no sistema cardiovascular. Sugere-se que os pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2 estudados apresentam algum comprometimento neurológico do sistema autônomo. Embora os valores sejam significativamente diferentes entre os dois grupos, a elevação dos nível de noradrenalina da fase placebo para a fase nisoldipina foi semelhante nos dois grupos, em decorrência da administração de nisoldipina (TABELA 11).

Como conseqüência da vasodilatação arterial periférica, a nisoldipina reduz a resistência sistêmica e a pressão sanguínea (Zannad, 1995). Os dados de pressão sanguínea plotados em função do tempo, comparados

aos dados de concentração plasmática *versus* tempo do eutômero (+)-nisoldipina durante o intervalo de dose de 24h estão apresentados na Figura 19. A nisoldipina de liberação controlada reduz significativamente ($p < 0,05$) a pressão arterial sistólica no período de 24h (120,0 vs 133,0 e 117,5 vs 134,0 mmHg) e a pressão arterial diastólica (75,0 vs 79,0 e 77,0 vs 81,5 mmHg) em pacientes diabéticos e não diabéticos, respectivamente, quando comparados ao placebo (TABELAS 12 e 13). Os dados também mostram que a nisoldipina reduziu a pressão sanguínea ao longo do intervalo de dose, e que a redução máxima da pressão arterial sistólica e pressão diastólica ocorreram aproximadamente no mesmo tempo de concentração máxima do eutômero (+)-nisoldipina (Figura 19).

Apesar das diferenças significativas nas concentrações dos enantiômeros da nisoldipina em plasma, não há diferença significativa na redução da pressão sanguínea entre os Grupos Controle e Diabético. Esperava-se maior efeito no Grupo Diabético em decorrência das maiores concentrações do eutômero (+)-nisoldipina. Como o estudo envolve apenas uma dose de nisoldipina (20mg) não é possível descartar que a dose empregada estivesse promovendo o efeito máximo hipotensor, e nesse caso, o aumento da dose não produziria aumento de efeito. Entretanto, Plosker & Faulds (1996) mostram que em pacientes hipertensos graves, há relação entre dose e efeito na administração de até 60mg de nisoldipina. Outra explicação para o fato seria a redução da sensibilidade do músculo liso vascular a nisoldipina pelos pacientes portadores de diabetes. Não há dados em humanos na literatura que possam sustentar essa hipótese. Entretanto, Wang R. et al. (2000) e Hattori et al. (1996) mostram que, em ratos com diabetes experimental, tanto a resposta vasoconstrictora provocada pelo influxo de cálcio extracelular quanto as propriedades eletrofisiológicas dos canais de cálcio tipo L, encontram-se alteradas.

ZANNAD (1995) reporta que a nisoldipina pode aumentar a frequência cardíaca em razão da ativação reflexa do sistema nervoso simpático. No entanto, na administração da formulação de liberação controlada não se espera alterações na frequência cardíaca, em razão dos

baixos valores de C_{max}. Os dados observados na presente investigação permitem inferir que a nisoldipina de liberação controlada, em relação ao placebo, não altera a frequência cardíaca nos pacientes diabéticos (76,0 vs 87,0 bpm) ou não (79,0 vs 87,0 bpm) (TABELA 15).

Os dados obtidos na presente investigação permitem inferir que o diabetes mellitus tipo 2 altera a disposição cinética do eutômero (+)-nisoldipina em razão da inibição do CYP3A4, sem no entanto modificar o efeito clínico traduzido pela redução na pressão arterial sistólica e pressão arterial diastólica.

VI. CONCLUSÕES

- A análise enantiosseletiva da nisoldipina em plasma por HPLC/GC-MS apresenta sensibilidade, linearidade, seletividade, precisão e exatidão compatíveis com a aplicação em estudos clínicos de disposição cinética.
- A disposição cinética da nisoldipina em pacientes hipertensos, portadores ou não de diabetes mellitus tipo 2, é enantiosseletiva, com evidência de concentrações plasmáticas aproximadamente 7 vezes maiores do eutômero (+)-nisoldipina e razões (+)/(-) variáveis durante o intervalo de dose.
- A redução no *clearance* aparente de ambos os enantiômeros da nisoldipina e as razões significativamente maiores das concentrações plasmáticas lidocaína/MEGX, nos pacientes do Grupo Diabético em relação ao Grupo Controle, sugerem que o diabetes mellitus tipo 2 inibe o CYP3A4, uma vez que o CYP1A2 não está envolvido no metabolismo da nisoldipina.
- A nisoldipina aumenta as concentrações plasmáticas de noradrenalina nos pacientes hipertensos portadores ou não de diabetes mellitus tipo 2.
- O diabetes mellitus tipo 2 não altera o efeito da nisoldipina traduzido pela redução na pressão arterial sistólica e pressão arterial diastólica na dose empregada.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION . Treatment of hypertension in adults with diabetes. **Diabetes Care** v.25, p.S71-S73, 2002. Supplement 1.

ANDREEVA, M.; NIEDMANN, P.D.; SCHÜTZ, E.; WIELAND, E.; ARMSTRONG, V.W.; OELLERICH, M. Determination of MEGX by HPLC with fluorescence detection. **Clin Chem**, Baltimore, v.43, n.6, p.1081-1083, 1997.

BARGETZI, M.J.; AOYAMA, T.; GONZALEZ, F.J.; MEYER, U.A. Lidocaine metabolism in human liver microsomes by cytochrome P450III_{A4}. **Clin Pharmacol Ther**, St. Louis, v.46, n. 5, p.521-527, 1989.

BRESSOLLE, F.; BROMET-PETIT, M.; AUDRAN, M. Validation of liquid chromatographic and gas chromatographic methods. Applications to pharmacokinetics. **J Chromatogr B**, Amsterdam, v.686, n.1, p.3-10, 1996.

CAUSON, R. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis. **J Chromatogr B**, Amsterdam, v.689, n.1, p.175-180, 1997.

CHANDLER, M.H.H.; CLIFTON, G.D.; LETTIERI, J.T.; MAZZU, A.L.; ALLINGTON, D.R.; THIENEMAN, A.C.; FOSTER, T.S.; HARRISON, M.R.. Multiple dose pharmacokinetics of four different doses of nisoldipine in hypertensive patients. **J Clin Pharmacol**, Stamford, v.32, n.6, p.571-575, 1992.

CHEN, Y.; POTTER, J.M.; RAVENSCROFT, P.J. High-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of monoethylglycinexylidide and lignocaine. **J Chromatogr**, Amsterdam, v.574, n.2, p.361-364, 1992.

DE CHAMPLAIN, J.; KARAS M.; NGUYEN, P.; CARTIER, P.; WISTAFF, R.; TOAL, C.B; NADEAU, R.; LAROCHELLE, P. Different effects of nifedipine and amlodipine on circulating catecholamine levels in essential hypertensive patients. **J Hypertens**, London, v.16, n.11, p.1357-1369, 1998.

DIAMANT, J. & BYERS, S.O. A precise catecholamine assay for small plasma samples. **J Lab Clin Med**, St. Louis, v.85, n.4, p.768-693, 1975.

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.

FORSTER, C.D.; MACDONALD, I.A. The assay of the catecholamine content of small volumes of human plasma. **Biomed Chromatogr**, London, v.13, n.3, p.209-215, 1999.

FROST, N.; AHR, G.; WEBER, H.; WINGENDER, W.; KUHLMANN, J. Nisoldipine enantiomers – Assessment of pharmacokinetics by stable isotope technique. In: KUHLMANN, J.; WINGENDER, W. (Ed) **Dose-Response Relationship of Drugs**. W. Zuckschwerdt Verlag München, 1990. p.87-92.

GANHAO, M.F.; HATTINGH, J.; HURWITZ, M.L.; PITTS, N.I. Evaluation of a simple plasma catecholamine extraction procedure prior to high-performance liquid chromatography and electrochemical detection. **J Chromatogr**, Amsterdam, v.564, n.1, p.55-66, 1991.

GILMAN, A.G.; RALL, T.W.; NIES, A.S.; TAYLOR, P. **As bases farmacológicas da terapêutica**. Tradução por Penildo Silva . 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.1232p.

GRANADO, G.; GARAY-SEVILLA, M.E.; MALACARA, J.M.; WROBEL-ZASADA, K.; RIVERA-CISNEROS, A. Plasma epinephrine and norepinephrine response to stimuli in autonomic neuropathy of type 2 diabetes mellitus. **Acta Diabetol**, Berlin, v.37, n.2, p.55-60, 2000.

GUENGERICH, F.P.; BRIAN, W.R.; IWASAKI, M.; SARI, M.A.; BÄARNHJELM, C.; BERNTSSON, P. Oxidation of dihydropyridine calcium channel blockers and analogues by human liver cytochrome P-450 IIIA4. **J Med Chem**, Easton, v.34, n.6, p.1838-1844, 1991.

HANNON-FLETCHER, M.P.A.; O'KANE, M.J.; MOLES, K.W.; BARNETT, Y.A.; BARNETT, C.R. Lymphocyte cytochrome P450-CYP2E1 expression in human IDDM subjects. **Food Chem Toxicol**, Oxford, v.39, n.2, p.125-132, 2001.

HATTORI, Y.; KAWASAKI, H.; FUKAO, M.; GANDO, S.; AKAISHI, Y.; KANNO, H. Diminishment of contractions associated with depolarization-evoked activation of Ca²⁺ channel in diabetic rat aorta. **J Vasc Res**, Basel, v.33, n.6, p.454-462, 1996.

HEINIG, R.; MUSCHALEK, V.; AHR, G. Determination of the enantiomers of nisoldipine in human plasma using high-performance liquid chromatography on a chiral stationary phase and gas chromatography with mass-selective detection. **J Chromatogr B**, Amsterdam, v.655, n.2, p.286-292, 1994.

HEINIG, R. Clinical pharmacokinetics of nisoldipine coat-core. **Clin Pharmacokinet**, Auckland, v.35, n.1, p.191-208, 1998.

HEINIG, R.; ADELMANN, H.G.; AHR, G. The effect of ketoconazole on the pharmacokinetics, pharmacodynamics and safety of nisoldipine. **Eur J Clin Pharmacol**, Berlin, v.55, n.1, p.57-60, 1999.

HOLLENBACH, E.; SCHULZ, C.; LEHNERT, H. Rapid and sensitive determination of catecholamines and the metabolite 3-methoxy-4-hydroxyphen-ethyleneglycol using HPLC following novel extraction procedures. **Life Sci**, Oxford, v.63, n.9, p.737-750, 1998.

IBER, H.; LI-MASTERS, T.; CHEN, Q.; YU, S.; MORGAN, E.T. Regulation of hepatic cytochrome P450 2C11 via cAMP: implications for down-regulation in diabetes, fasting, and inflammation. **J Pharmacol Exp Ther**, Baltimore, v.297, n.1, p.174-180, 2001.

ISOHANNI, M.H.; NEURONEN, P.J.; PALKAMA, V.J.; OLKKOLA, K.T. Effect of erythromycin and itraconazole on the pharmacokinetics of intravenous lignocaine. **Eur J Clin Pharmacol**, Berlin, v.54, n.7, p. 561-565, 1998.

IWATSUBO, T.; HIROTA, N.; OOIE, T.; SUZUKI, H.; SHIMADA, N.; CHIBA, K.; ISHIZAKI, T.; GREEN, C.E.; TYSON, C.A.; SUGIYAMA, Y. Prediction on in vivo drug metabolism in the human liver from in vitro metabolism data. **Pharmacol Ther**, Oxford, v.73, n.2, p.147-171, 1997.

KATOH, M.; NAKAJIMA, M.; SHIMADA, N.; YAMAZAKI, H.; YOKOI, T. Inhibition of human cytochrome P450 enzymes by 1,4-dihydropyridine calcium antagonists: prediction of in vivo drug-drug interactions. **Eur J Clin Pharmacol**, Berlin, v.55, n.11-12, p.843-852, 2000.

KIVISTÖ, K.T.; KROEMER, H.K. Use of probe drugs as predictors of drug metabolism in humans. **J Clin Pharmacol**, Stamford, v.37, p.40S-48S, 1997. *Supplement 1*.

KRSTULOVIC, A.M.; POWELL, A.M. Use native fluorescence measurements and stopped-flow scanning technique in the high-performance liquid chromatographic analysis of catecholamines and related compounds. **J Chromatogr**, Amsterdam, v.171, n.1, p.345-356, 1979.

LANGTRY, H.D.; SPENCER, C.M. Nisoldipine coat-core. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and clinical efficacy in the management of ischaemic heart disease. **Drugs**, Auckland, v.53, n.5, p. 867-884, 1997.

LAROCHE, N.; LENEVEU, A.; ROUX, A.; FLOUVAT, B. Capillary gas chromatographic method for the measurement of small concentrations of monoethylglycinexylidide and lidocaine in plasma. **J Chromatogr B**, Amsterdam v.716, n.1-2, p.375-381, 1998.

LÓPEZ, J.A.; MARTÍNEZ, V.; ALONSO, R.M.; JIMÉNEZ, R.M. High-performance liquid chromatography with amperometric detection applied to the screening of 1,4-dihydropyridines in human plasma. **J Chromatogr A**, Amsterdam, v.870, n.1-2, p.105-114, 2000.

LOREC, A.M.; BRUGUEROLLE, B.; ATTOLINI, L.; ROUCOULES, X. Rapid simultaneous determination of lidocaine, bupivacaine, and their two main metabolites using capillary gas-liquid chromatography with nitrogen phosphorus detector. **Ther Drug Monit**, New York, v.16, n.6, p. 592-595, 1994.

MARINKOVIC, V.; AGBABA, D.; KARLJIKOVIC-RAJIC, K.; COMOR, J.; ZIVANOV-STAKIC, D. UV derivative spectrophotometric study of the photochemical degradation of nisoldipine. **II Farmaco**, Pavia, v.55, n.2, p.128-133, 2000.

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**, Carlisle, v.20, n.2, p.182-190, 2000.

MCCARTHY, M.; MENZEL, S. The genetic of type 2 diabetes. **Br J Clin Pharmacol**, London, v.51, n.3, p.209-212, 2001.

MUÑOZ, A.E.; MIGUEZ, C.; RUBIO, M.; BARTELLINI, M.; LEVI, D.; PODESTÁ, A.; NISELMAN, V.; TERG, R. Lidocaine and monoethylglycinexylidide serum determinations to analyze liver function of cirrhotic patients after oral administration. **Dig Dis and Sci**, New York, v.44, n.4, p.789-795, 1999.

NEUBECKER, T.A.; COOMBS, M.A.; QUIJANO, M.; O'NEILL, T.P.; CRUZE, C.A.; DOBSON, L.M. Rapid and selective method for norepinephrine in rat urine using reversed-phase ion-pair high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **J Chromatogr B**, Amsterdam, v.718, n.2, p.225-233, 1998.

OELLERICH, M.; ARMSTRONG, V. W. The MEGX test: a tool for the real-time assessment of hepatic function. **Ther Drug Monit**, New York, v.23, n.2, p. 81-92, 2001.

O'NEAL, C.L.; POKLIS, A. Sensitive HPLC for simultaneous quantification of lidocaine and its metabolites monoethylglycinexylidide and glycinexylidide in serum. **Clin Chem**, Baltimore, v.42, n.2, p.330-331, 1996.

PETTERSSON, J.; HUSSI, E.; JANNE, J. Stability of human plasma catecholamines. **Scand J Clin Lab Invest**, Oslo, v.40, n.4, p.297-303, 1980.

PLOSKER, G.L.; FAULDS, D. Nisoldipine coat-core. A review of its pharmacology and therapeutic efficacy in hypertension. **Drugs**, Auckland, vol.52, n.2, p.232-253, 1996.

RADEVSKI, I.; SKUDICKY, D.; CANDY, G.; SATHEKGE, S.; STRUGO, V.; SARELI, P. Antihypertensive monotherapy with nisoldipine CC is superior to enalapril in black patients with severe hypertension. **Am J Hypertens**, New York, v.12, n.1, p.194-203, 1999.

REICHEL, C.; NACKE, A.; SUDHOP, T.; WIENKOOP, G.; LUERS, C.; HAHN, C.; POHL, C.; SPENGLER, U.; SAUERBRUCH, T. The low-dose monoethylglycinexylidide test: assessment of liver function with fewer side effects. **Hepatology**, Baltimore, v.25, n.6, p.1323-1327, 1997.

REICHEL, C.; SKODRA, T.; NACKE, A.; SPENGLER, U.; SAUERBRUCH, T. The lignocaine metabolite (MEGX) liver function test and P-450 induction in humans. **J Clin Pharmacol**, Stamford, v.46, n.6, p.535-539, 1998.

REYNOLDS, J.E.F. **Martindale – the extra pharmacopoeia**. 35 ed. London: Royal Pharmaceutical Society, 1996. p.916.

SCHAEFER, H.G.; HEINIG, R.; AHR, G.; ADELMANN; TETZLOFF, W.; KUHLMANN, J. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling as a tool to evaluate the clinical relevance of a drug-food interaction for a nisoldipine controlled-release dosage form. **Eur J Clin Pharmacol**, Berlin, v.51, n.6, p.473-480, 1997.

SCHENKMAN, J.B. Induction of diabetes and evaluation of diabetic state on P450 expression. **Methods Enzymol**, New York, v.206, p.325-333, 1991.

SCHÜTZ, E.; SHIPKOVA, M.; NIEDMANN, P.D.; WIELAND, E.; ARMSTRONG, V.W.; OELLERICH, M. Determination of monoethylglycinexylidide by fluorescence polarization immunoassay in highly icteric serum samples: modified precipitation procedure and HPLC compared. **Clin Chem**, Baltimore, v.44, n.6, p.1269-1274, 1998.

SHAW, M.A. New insights into drug metabolism and toxicology. Report of a symposium on drug metabolism and toxicity held at the British Pharmacological Society Meeting in Cardiff, UK, in July 2000. **Br J Clin Pharmacol**, London, v.51, n.3, p.209-212, 2001.

SHIFFMAN, M.L.; LUKETIC, V.A.; SANYAL, A.J.; THOMPSON, E.B. Use of hepatic lidocaine metabolism to monitor patients with chronic liver disease. **Ther Drug Monit**, New York, v.18, n.4, p.372-377, 1996.

SHIONOIRI, H.; MINAMISAWA, K.; MASUMORI, S.; SATTA, H.; MINAMISAWA, M.; TAKIZAWA, T.; JINNO, Y.; TAKEDA, K.; NAGASAWA, T.; TAKASAKI, I.; SUGIMOTO, K.; ISHII, M. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of nisoldipine in hypertensive patients with normal and mild to moderate impaired renal function. **Arzneimittelforschung**, Aulendorf, v.45, n.7, p.785-789, 1995.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Consenso Brasileiro sobre Diabetes. **Diagnóstico e classificação do diabetes mellitus e tratamento do diabetes mellitus tipo 2**, Brasília: SBD, 2000. 85p.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO. IV diretrizes brasileiras de hipertensão arterial. **Hipertensão**, São Paulo, v. 5, n.4, p.131-135, 2002.

SOTANIEMI, E.A.; RAUTIO, A.; BÄCKSTROM, M.; ARVELA, P.; PELKONEN, O. CYP3A4 and CYP2A6 activities marked by the metabolim of lignocaine and coumarin in patients with liver and kidney diseases and epileptic patients. **Br J Clin Pharmacol**, London, v.39, n.1, p.71-76, 1995.

TAKAHASHI, N.; NAKAGAWA, M.; SAIKAWA, T.; OOIE, T.; YUFU, K.; SHIGEMATSU, S.; HARA, M.; SAKINO, H.; OKEDA, T.; YOSHIMATSU, H.; SAKATA, T. Effects of essential hypertension on cardiac autonomic function in type 2 diabetic patients. **J Am Coll Cardiol**, New York, v.38, n.1, p.232-237, 2001.

THE EXPERT COMMITTEE ON THE DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF DIABETES MELLITUS (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION). Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, Alexandria, v.26, p.S5-S20, 2002. Supplement 1.

TOKUMA, Y.; NOGUCHI, H. Stereoselective pharmacokinetics of dihydropyridine calcium antagonists. **J Chromatogr A**, Amsterdam, v.694, n.1, p.181-193, 1995.

TSUNODA, M.; TAKEZAWA, K.; SANTA, T.; IMAI, K. Simultaneous automatic determination of catecholamines and their 3-O-methyl metabolites in rat plasma by high-performance liquid chromatography using peroxyoxalate chemiluminescence reaction. **Anal Biochem**, New York, v.269, n.2, p.386-392, 1999.

VAN HARTEN, J.; BURGGRAAF, J.; LIGTHART, G.J.; VAN BRUMMELEN, P.; BREIMER, D.D. Single- and multiple-dose nisoldipine kinetics and effects in the young, the middle-aged, and the elderly. **Clin Pharmacol Ther**, St Louis, v.45, n.6, p.600-606, 1989.

WANG, J.S.; BACKMAN, J.T.; TAAVITSAINEN, P.; NEUVONEN, P.J.; KIVISTÖ, K.T. Involvement of CYP1A2 and CYP3A4 in lidocaine n-deethylation and 3-hidroxylation in human. **Drug Metab Dispos**, Bethesda, v.28, n.8, p.959-965, 2000.

WANG, R.; WU, Y.; TANG, G.; WU, L.; HANNA, S.T. Altered L-type Ca²⁺ channel currents in vascular smooth muscle cells from experimental diabetic rats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, Bethesda, v.278, n.3, p.H714-H722, 2000.

WILDT, S.N.; KEARNS, G.L.; LEEDER, S.; VAN DEN ANKER, J.N. Cytochrome P450 3A. **Clin Pharmacokinet**, Auckland, v.37, n.6, p.485-505, 1999.

WOOD, A.T. & HALL, M.R. Reversed-phase high-performance liquid chromatography of catecholamines and indoleamines using a simple gradient solvent system and native fluorescence detection. **J Chromatogr B**, Amsterdam, v.744, n.1, p.221-225, 2000.

ZANNAD, F. Clinical pharmacology of nisoldipine coat core. **Am J Cardiol**, New York, v.75, n.13, p.41E-45E, 1995.

ZIMMER, D.; MUSCHALEK, V. Enantioselective assay for the determination of nisoldipine in dog, rat and mouse plasma by chiral microbore high-performance liquid chromatography combined with gas chromatography-mass spectrometry. **J Chromatogr A**, Amsterdam, v.666, n.1-2, p.241-248, 1994.

Referências bibliográficas de acordo com a Norma Técnica da ABNT NBR 6023 - Informação e Documentação - Referências - Elaboração (ago/2000).

SUMMARY

PEREIRA, M. P. M. **Enantioselective kinetic disposition of nisoldipine in hypertensive patients presenting with type 2 diabetes mellitus. Lidocaine used as a marker drug of CYP3A4.** 2003. 90 p. Tese Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Nisoldipine is a dihydropyridine calcium antagonist marketed as a racemic mixture and used for the treatment of hypertension. In the present study we investigated the influence of type-2 diabetes mellitus (DM) on the enantioselective pharmacokinetic and dynamic parameters of nisoldipine. Seventeen hypertensive patients, nine of them with DM, were investigated after administration of racemic nisoldipine as coat-core tablets ($20 \text{ mg}\cdot\text{day}^{-1}$) for 15 days. Serial blood samples (0-24 h) were collected on the 15th day, and 24-h ambulatory blood pressure monitoring was simultaneously evaluated. Nisoldipine enantiomers in plasma samples were analysed using chiral high-performance liquid chromatography combined with gas chromatography/ mass spectrometry. The enantiomeric ratios differing from one were evaluated by the Wilcoxon test, and the results are reported as medians with the 95 % confidence intervals. The lidocaine test carried out as an *in vivo* marker of activities of CYP3A4 (and CYP1A2) activities. The following differences were observed between the (+)-nisoldipine and (-)-nisoldipine, respectively, in the patients presenting with DM (means and ranges): C_{max} 3.0 (1.7-6.1) vs 0.5 (0.4-1.0) $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$, $\text{AUC}_{0-24}^{\text{SS}}$ 44.0 (29.0-74.0) vs 7.9 (5.9-12.8) $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}\cdot\text{h}$, Cl/F 3.4 (1.9-5.4) vs 18.3 (11.7-25.7) $\text{l}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$. The Cl/F value of (+)-nisoldipine was lower (Mann-Whitney test) in patients with DM: 6.1 (4.3-7.5) vs 3.4 (1.9-5.4) $\text{l}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$. The same observation was made for the (-)-N, with Cl/F reducing from 33.4 (26.8-51.0) to 18.3 (11.7-25.7) $\text{l}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ for the non-diabetic and DM groups, respectively. The lidocaine test resulted in higher ratios ($p < 0.05$) of plasma lidocaine/MEGX concentrations (30 min after *i.v.* lidocaine) for DM (10.8 vs 20.6). Nisoldipine significantly reduced systolic and diastolic blood pressure (BP) ($p < 0.05$, Wilcoxon test) in all patients investigated compared to placebo. No significant differences in BP reduction were observed between diabetic and non-diabetic patients. N significantly increased noradrenaline concentrations in plasma of hypertensive patients with or without DM. The data also demonstrated that the plasma concentrations of noradrenaline 30 min after N administration were lower ($p < 0.05$) in diabetic ($2.4 \text{ pmol}\cdot\text{ml}^{-1}$) than in non-diabetic patients ($5.3 \text{ pmol}\cdot\text{ml}^{-1}$). The present data permit us to infer that type-2 diabetes mellitus alters the kinetic disposition of the (+)-N eutomer and (-)-N distomer due to the inhibition of CYP3A4, although it does not modify the clinical effect brought about by the reduction in BP.

Key words: nisoldipine, enantiomers, pharmacokinetics, diabetes, hypertension

ANEXOS

**1. PARECER DA COMISSÃO
DE ÉTICA EM PESQUISA**



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CEP. 14048-900
RIBEIRÃO PRETO - S.P.
BRASIL

CAMPUS UNIVERSITÁRIO - MONTE ALEGRE
FONE: 602-1000 - FAX (016) 633-1144


Ribeirão Preto, 19 de abril de 1999

Ofício nº 916/99
CEP/SPC

Senhor Professor:

O trabalho intitulado **"ENANTIOSSELE-
TIVIDADE NA DISPOSIÇÃO CINÉTICA DA NISOLDIPINA EM
PACIENTES HIPERTENSOS PORTADORES DE DIABETE MELITO
TIPO II. UTILIZAÇÃO DA LIDOCAÍNA COMO FÁRMACO MARCADOR
DO CYP3A4"**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua
59ª Reunião Ordinária realizada em 19/04/99, e enquadrado na
categoria: **APROVADO**, de acordo com o Processo HCRP nº 683/99.

Aproveito a oportunidade para apresentar a
Vossa Senhoria protestos de estima e consideração.



PROF. DR. SÉRGIO PEREIRA DA CUNHA
Coordenador do Comitê de Ética
em Pesquisa do HCFMRP-USP

Ilustríssimo Senhor
Prof. Dr. EDUARDO BARBOSA COELHO
Depto. de Clínica Médica
Em mãos

**2. CONSENTIMIENTO LIVRE E
ESCLARECIDO: GRUPO CONTROLE**

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE
RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Campus Universitário Monte Alegre – RIBEIRÃO PRETO – SÃO PAULO

PESQUISA CIENTÍFICA
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

NOME DO PACIENTE / IDADE:...../.....

REGISTRO E/OU DOCUMENTO DE IDENTIFICAÇÃO.....

NOME DA PESQUISA: “ENANTIOSELETIVIDADE NA DISPOSIÇÃO CINÉTICA DA NISOLDIPINA EM PACIENTES HIPERTENSOS PORTADORES DE DIABETE MELITO TIPO II. UTILIZAÇÃO DA LIDOCAÍNA COMO FÁRMACO MARCADOR DO CYP3A4”

RESPONSÁVEL CLÍNICO: Prof. Dr. Eduardo Barbosa Coelho (FMRP-USP) – CREMESP 68.329

COORDENADOR: Prof. Dr. Vera Lucia Lanchote

OBSERVAÇÕES: Projeto Integrado Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP, Centro Avançado de Estudos em Farmacologia Clínica e Terapêutica: Unidade I Laboratório de Pesquisa -INCOR HC FMUSP e Unidade II - Laboratório-Escola –Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP.

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Declaro que em/...../..... concordei voluntariamente em participar, como paciente do projeto de pesquisa acima referido. Fui devidamente informado em detalhes pelo médico responsável que:

- 1- O estudo implica em que eu me submeta a procedimentos, exames complementares e tratamentos devidamente planejados, conforme texto a seguir:

O diabetes pode produzir alterações no organismo que façam com que os remédios usados para tratar a pressão alta percam o efeito ou produzam efeitos indesejados. O objetivo deste trabalho é estudar porque isto ocorre. Para isso precisamos comparar o efeito de uma droga usada para tratar a pressão alta, a nisoldipina em pacientes com pressão alta com e sem diabetes. Assim, iremos dar ao Sr. (Sr.a) um remédio para abaixar a pressão arterial chamado nisoldipina. O Sr. (Sr.ª) irá tomá-lo por boca durante 1 mês. Em parte deste estudo, este remédio será trocado, sem o Sr (Sr.ª) saber, por um comprimido sem efeito, para sabermos o quanto o remédio foi eficaz em reduzir sua pressão. Poderão aparecer efeitos não desejados do remédio como dor de cabeça, vermelhidão no rosto, inchaço nos tornozelos, tonturas ou aumento da sua pressão arterial. Em caso de aparecimento destes sintomas, o Sr (Sr.ª) deverá procurar um médico participante desta pesquisa e se for necessário trocaremos o seu remédio. Durante a metade ou ao

final do estudo haverá a necessidade de interná-lo (la) por 2 dias. Nestes dias iremos colher cerca de 16 amostras de 5 ml de sangue da veia do seu braço para a dosagem do remédio que o Sr. (Sr.ª) estará tomando. Nós também faremos um teste para saber quanto o seu fígado é capaz de destruir os medicamentos que você está tomando e colheremos mais 3 amostras de 5 ml de sangue da veia do braço. Para isto injetaremos na veia do seu braço um remédio chamado lidocaína. Pode haver uma sensação de mal-estar, que não traz risco à sua saúde, de curta duração com aparecimento de formigamento na ponta do nariz, nos lábios e nas orelhas, além de zumbidos e tonturas. No meio e no final do estudo também instalaremos no seu braço um aparelho para a medida da pressão arterial por 24 horas. Este aparelho mede a pressão de 15 em 15 minutos durante o dia e de 30 em 30 minutos durante a noite. Ele causará uma leve pressão no seu braço e durante o uso do aparelho não será possível tomar banho. O Sr. (Sr.ª) deverá anotar em um diário qualquer alteração que esteja sentindo, além dos horários em que se alimenta, que vai dormir, que toma seus medicamentos ou exerce qualquer esforço físico. A sua colaboração permitirá entender como o diabetes afeta o funcionamento de alguns medicamentos utilizados para abaixar a pressão arterial, possibilitando no futuro ajustar melhor as doses para obter um melhor tratamento.

2- Não sou obrigado a continuar participando do projeto e posso, a qualquer momento sair do mesmo, sem que isso leve a que eu deixe de ser tratado como os demais pacientes na Instituição.

3- Meu consentimento aplica-se, igualmente, a participar da pesquisa como componente de grupo-controle, podendo receber substâncias sem efeito antihipertensivo, com a finalidade de dimensionar o "efeito-placebo", ou seja, o efeito psicológico que o tratamento médico e o uso de medicamentos farmacêuticos podem apresentar independente de suas propriedades farmacológicas.

4- A pesquisa não será feita se houver, relacionados à mesma, grandes riscos para mim. Da mesma forma, caso algum risco proibitivo venha a se revelar no decurso do estudo, o pesquisador se compromete a me alertar sobre o fato e a suspender de imediato minha participação como paciente.

5- A segurança de que não serei identificado e que será mantido o caráter confidencial da informação relacionada a minha privacidade.

6- A garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida a cerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa e o tratamento a que serei submetido.

7- O compromisso de me proporcionar informação atualizada durante o estudo, ainda que esta possa afetar minha vontade de continuar participando.

OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:.....

Ribeirão Preto,.....de.....de 199.....

assinatura do paciente ou de seu
responsável

Assinatura do médico que obteve o
consentimento
(carimbo ou nome legível com CRM)

TESTEMUNHAS NÃO LIGADAS À PESQUISA:

1-.....
assinatura

.....
identificação

2-.....
assinatura

.....
identificação

**3. CONSENTIMIENTO LIVRE E
ESCLARECIDO: GRUPO DIABÉTICO**

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO
PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Campus Universitário Monte Alegre – RIBEIRÃO PRETO – SÃO PAULO

PESQUISA CIENTÍFICA
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

NOME DO PACIENTE / IDADE:...../.....

REGISTRO E/OU DOCUMENTO DE IDENTIFICAÇÃO.....

NOME DA PESQUISA: "ENANTIOSSELETIVIDADE NA DISPOSIÇÃO CINÉTICA DA NISOLDIPINA EM PACIENTES HIPERTENSOS PORTADORES DE DIABETE MELITO TIPO II. UTILIZAÇÃO DA LIDOCAÍNA COMO FÁRMACO MARCADOR DO CYP3A4"

RESPONSÁVEL CLÍNICO: Prof. Dr. Eduardo Barbosa Coelho (FMRP-USP) –
CREMESP 68.329

COORDENADOR: Prof. Dr. Vera Lucia Lanchote

OBSERVAÇÕES: Projeto Integrado Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP,
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP,
Centro Avançado de Estudos em Farmacologia Clínica e
Terapêutica: Unidade I Laboratório de Pesquisa -INCOR HC
FMUSP e Unidade II - Laboratório-Escola –Faculdade de Ciências
Farmacêuticas - USP.

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Declaro que em/...../..... concordei voluntariamente em participar, como paciente do projeto de pesquisa acima referido. Fui devidamente informado em detalhes pelo médico responsável que:

- 2- O estudo implica em que eu me submeta a procedimentos, exames complementares e tratamentos devidamente planejados, conforme texto a seguir:

O fato do Sr. (Sr.^a) ter diabetes pode produzir alterações no organismo que façam com que os remédios usados para tratar a pressão alta percam o efeito ou produzam efeitos indesejados. O objetivo deste trabalho é estudar porque isto ocorre. Assim, iremos dar ao Sr. (Sr.^a) um remédio para abaixar a pressão arterial chamado nisoldipina. O Sr. (Sr.^a) irá tomá-lo por boca durante 1 mês. Em parte deste estudo, este remédio será trocado, sem o Sr. (Sr.^a) saber, por um comprimido sem efeito, para sabermos o quanto o remédio foi eficaz em reduzir sua pressão. Poderão aparecer

efeitos não desejados do remédio como dor de cabeça, vermelhidão no rosto, inchaço nos tornozelos, tonturas ou aumento da sua pressão arterial. Em caso de aparecimento destes sintomas, o Sr (Sr.ª) deverá procurar um médico participante desta pesquisa e se for necessário trocaremos o seu remédio. Durante a metade ou ao final do estudo haverá a necessidade de interná-lo (la) por 2 dias. Nestes dias iremos colher cerca de 16 amostras de 5 ml de sangue da veia do seu braço para a dosagem do remédio que o Sr. (Sr.ª) estará tomando. Nós também faremos um teste para saber quanto o seu fígado é capaz de destruir os medicamentos que você está tomando e colheremos mais 3 amostras de 5 ml de sangue da veia do braço. Para isto injetaremos na veia do seu braço um remédio chamado lidocaína. Pode haver uma sensação de mal-estar, que não traz risco à sua saúde, de curta duração com aparecimento de formigamento na ponta do nariz, nos lábios e nas orelhas, além de zumbidos e tonturas. No meio e no final do estudo também instalaremos no seu braço um aparelho para a medida da pressão arterial por 24 horas. Este aparelho mede a pressão de 15 em 15 minutos durante o dia e de 30 em 30 minutos durante a noite. Ele causará uma leve pressão no seu braço e durante o uso do aparelho não será possível tomar banho. O Sr. (Sr.ª) deverá anotar em um diário qualquer alteração que esteja sentindo, além dos horários em que se alimenta, que vai dormir, que toma seus medicamentos ou exerce qualquer esforço físico. A sua colaboração permitirá entender como o diabete afeta o funcionamento de alguns medicamentos utilizados para abaixar a pressão arterial, possibilitando no futuro ajustar melhor as doses para obter um melhor tratamento para você e para pacientes com doenças semelhantes a sua.

2- Não sou obrigado a continuar participando do projeto e posso, a qualquer momento sair do mesmo, sem que isso leve a que eu deixe de ser tratado como os demais pacientes na Instituição.

3- Meu consentimento aplica-se, igualmente, a participar da pesquisa como componente de grupo-controle, podendo receber substâncias sem efeito antihipertensivo, com a finalidade de dimensionar o "efeito-placebo", ou seja, o efeito psicológico que o tratamento médico e o uso de medicamentos farmacêuticos podem apresentar independente de suas propriedades farmacológicas.

4- A pesquisa não será feita se houver, relacionados à mesma, grandes riscos para mim. Da mesma forma, caso algum risco proibitivo venha a se revelar no decurso do estudo, o pesquisador se compromete a me alertar sobre o fato e a suspender de imediato minha participação como paciente.

5- A segurança de que não serei identificado e que será mantido o caráter confidencial da informação relacionada a minha privacidade.

6- A garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida a cerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa e o tratamento a que serei submetido.

7- O compromisso de me proporcionar informação atualizada durante o estudo, ainda que esta possa afetar minha vontade de continuar participando.

OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:.....

Ribeirão Preto,.....de.....de 199.....

assinatura do paciente
ou de seu responsável

Assinatura do médico que
obteve o consentimento
(carimbo ou nome legível
com CRM)

TESTEMUNHAS NÃO LIGADAS À PESQUISA:

1-.....
assinatura

.....
identificação

2-.....
assinatura

.....
identificação

4. EXAMES LABORATORIAIS: DADOS INDIVIDUAIS

TABELA i - Bioquímica do sangue. Paciente C.M.C. Grupo Controle

		Resultado	Valores de Referência
Uréia	mg/dl	35	<50
Creatinina	mg/dl	0,8	homem: 0,9 - 1,5; mulher: 0,7 - 1,3
Glicose	mg/dl	80	<110
Na	mEq/l	143	135 - 140
K	mEq/l	4,5	3,5 - 5,5
Ácido úrico	mg/dl	3,6	homem: 2,4 - 5,7 ;mulher: 3,4 - 7,0
TGO	U/l	28	10 - 34
TGP	U/l	18	10 - 44
Gama GT	U/l	31	250
Bilirrubina total	mg/dl	0,7	0,2 - 1,2
Bilirrubina direta	mg/dl	0,2	0 - 0,2
Colesterol total	mg/dl	255	<200
HDL	mg/dl	61	>35
LDL	mg/dl	175	<160
triglicérides	mg/dl	90	<200
Clearance creatinina	(ml/min/1,73 m ³)	80	80 - 130

TABELA. ii - Bioquímica do sangue. Paciente D.A.P. Grupo Controle

		Resultado	Valores de Referência
Uréia	mg/dl	47	<50
Creatinina	mg/dl	1,2	homem: 0,9 - 1,5; mulher: 0,7 - 1,3
Glicose	mg/dl	100	<110
Na	mEq/l	-	135 - 140
K	mEq/l	-	3,5 - 5,5
Ácido úrico	mg/dl	5,3	homem: 2,4 - 5,7 ;mulher: 3,4 - 7,0
TGO	U/l	15	10 - 34
TGP	U/l	-	10 - 44
Gama GT	U/l	17	250
Bilirrubina total	mg/dl	-	0,2 - 1,2
Bilirrubina direta	mg/dl	-	0 - 0,2
Colesterol total	mg/dl	193	<200
HDL	mg/dl	27	>35
LDL	mg/dl	146	<160
triglicérides	mg/dl	101	<200
Clearance creatinina	(ml/min/1,73 m ³)	70	80 - 130

TABELA. iii - Bioquímica do sangue. Paciente D.S.B. Grupo Controle

		Resultado	Valores de Referência
Uréia	mg/dl	39	<50
Creatinina	mg/dl	1,0	homem: 0,9 - 1,5; mulher: 0,7 - 1,3
Glicose	mg/dl	69	<110
Na	mEq/l	142	135 - 140
K	mEq/l	4,5	3,5 - 5,5
Ácido úrico	mg/dl	1,9	homem: 2,4 - 5,7 ;mulher: 3,4 - 7,0
TGO	U/l	18	10 - 34
TGP	U/l	62	10 - 44
Gama GT	U/l	34	250
Bilirrubina total	mg/dl	0,2	0,2 - 1,2
Bilirrubina direta	mg/dl	0,1	0 - 0,2
Colesterol total	mg/dl	222	<200
HDL	mg/dl	58	>35
LDL	mg/dl	145	<160
triglicérides	mg/dl	94	<200
Clearance creatinina	(ml/min/1,73 m ³)	88	80 - 130

TABELA. iv - Bioquímica do sangue. Paciente L.K.K.B. Grupo Controle

		Resultado	Valores de Referência
Uréia	mg/dl	22	<50
Creatinina	mg/dl	0,7	homem: 0,9 - 1,5; mulher: 0,7 - 1,3
Glicose	mg/dl	104	<110
Na	mEq/l	143	135 - 140
K	mEq/l	4,0	3,5 - 5,5
Ácido úrico	mg/dl	8,0	homem: 2,4 - 5,7 ;mulher: 3,4 - 7,0
TGO	U/l	15	10 - 34
TGP	U/l	13	10 - 44
Gama GT	U/l	30	250
Bilirrubina total	mg/dl	0,9	0,2 - 1,2
Bilirrubina direta	mg/dl	0,1	0 - 0,2
Colesterol total	mg/dl	203	<200
HDL	mg/dl	46	>35
LDL	mg/dl	130	<160
triglicérides	mg/dl	134	<200
Clearance creatinina	(ml/min/1,73 m ³)	90	80 - 130

TABELA. v - Bioquímica do sangue. Paciente M.R.N.B. Grupo Controle

		Resultado	Valores de Referência
Uréia	mg/dl	30	<50
Creatinina	mg/dl	0,7	homem: 0,9 - 1,5; mulher: 0,7 - 1,3
Glicose	mg/dl	98	<110
Na	mEq/l	147	135 - 140
K	mEq/l	3,8	3,5 - 5,5
Ácido úrico	mg/dl	4,7	homem: 2,4 - 5,7 ;mulher: 3,4 - 7,0
TGO	U/l	25	10 - 34
TGP	U/l	17	10 - 44
Gama GT	U/l	17	250
Bilirrubina total	mg/dl	1,1	0,2 - 1,2
Bilirrubina direta	mg/dl	0,3	0 - 0,2
Colesterol total	mg/dl	182	<200
HDL	mg/dl	47	>35
LDL	mg/dl	113	<160
triglicérides	mg/dl	106	<200
Clearance creatinina	(ml/min/1,73 m ³)	70	80 - 130

TABELA. vi - Bioquímica do sangue. Paciente R.A.P.A.O. Grupo Controle

		Resultado	Valores de Referência
Uréia	mg/dl	45	<50
Creatinina	mg/dl	1,1	homem: 0,9 - 1,5; mulher: 0,7 - 1,3
Glicose	mg/dl	109	<110
Na	mEq/l	148	135 - 140
K	mEq/l	4,7	3,5 - 5,5
Ácido úrico	mg/dl	7,1	homem: 2,4 - 5,7 ;mulher: 3,4 - 7,0
TGO	U/l	14	10 - 34
TGP	U/l	26	10 - 44
Gama GT	U/l	25	250
Bilirrubina total	mg/dl	0,7	0,2 - 1,2
Bilirrubina direta	mg/dl	0,2	0 - 0,2
Colesterol total	mg/dl	189	<200
HDL	mg/dl	40	>35
LDL	mg/dl	124	<160
triglicérides	mg/dl	124	<200
Clearance creatinina	(ml/min/1,73 m ³)	63	80 - 130

TABELA. vii - Bioquímica do sangue. Paciente R.M.F.S. Grupo Controle

		Resultado	Valores de Referência
Uréia	mg/dl	43	<50
Creatinina	mg/dl	0,8	homem: 0,9 - 1,5; mulher: 0,7 - 1,3
Glicose	mg/dl	96	<110
Na	mEq/l	142	135 - 140
K	mEq/l	4,5	3,5 - 5,5
Ácido úrico	mg/dl	3,7	homem: 2,4 - 5,7 ;mulher: 3,4 - 7,0
TGO	U/l	21	10 - 34
TGP	U/l	-	10 - 44
Gama GT	U/l	30	250
Bilirrubina total	mg/dl	0,7	0,2 - 1,2
Bilirrubina direta	mg/dl	0,2	0 - 0,2
Colesterol total	mg/dl	190	<200
HDL	mg/dl	50	>35
LDL	mg/dl	110	<160
triglicérides	mg/dl	138	<200
Clearance creatinina	(ml/min/1,73 m ³)	129	80 - 130

TABELA. viii - Bioquímica do sangue. Paciente V.S.S. Grupo Controle

		Resultado	Valores de Referência
Uréia	mg/dl	23	<50
Creatinina	mg/dl	0,7	homem: 0,9 - 1,5; mulher: 0,7 - 1,3
Glicose	mg/dl	84	<110
Na	mEq/l	144	135 - 140
K	mEq/l	5,2	3,5 - 5,5
Ácido úrico	mg/dl	2,1	homem: 2,4 - 5,7 ;mulher: 3,4 - 7,0
TGO	U/l	25	10 - 34
TGP	U/l	28	10 - 44
Gama GT	U/l	29	250
Bilirrubina total	mg/dl	0,7	0,2 - 1,2
Bilirrubina direta	mg/dl	0,2	0 - 0,2
Colesterol total	mg/dl	193	<200
HDL	mg/dl	52	>35
LDL	mg/dl	123	<160
triglicérides	mg/dl	87	<200
Clearance creatinina	(ml/min/1,73 m ³)	95	80 - 130

TABELA. ix - Bioquímica do sangue. Paciente A.F.S. Grupo Diabético

		Resultado	Valores de Referência
Uréia	mg/dl	49,6	<50
Creatinina	mg/dl	1,0	homem: 0,9 - 1,5; mulher: 0,7 - 1,3
Glicose	mg/dl	232,0	<110
Na	mEq/l	134	135 - 140
K	mEq/l	4,0	3,5 - 5,5
Ácido úrico	mg/dl	4,5	homem: 2,4 - 5,7 ;mulher: 3,4 - 7,0
TGO	U/l	22,8	10 - 34
TGP	U/l	32,2	10 - 44
Gama GT	U/l	18,0	250
Bilirrubina total	mg/dl	0,99	0,2 - 1,2
Bilirrubina direta	mg/dl	0,24	0 - 0,2
Colesterol total	mg/dl	180	<200
HDL	mg/dl	38,7	>35
LDL	mg/dl	104	<160
triglicérides	mg/dl	185	<200
Clearance creatinina	(ml/min/1,73 m ³)	116	80 - 130

TABELA. x - Bioquímica do sangue. Paciente A.G.S. Grupo Diabético

		Resultado	Valores de Referência
Uréia	mg/dl	28,9	<50
Creatinina	mg/dl	1,0	homem: 0,9 - 1,5; mulher: 0,7 - 1,3
Glicose	mg/dl	258	<110
Na	mEq/l	143	135 - 140
K	mEq/l	4,4	3,5 - 5,5
Ácido úrico	mg/dl	3,7	homem: 2,4 - 5,7 ;mulher: 3,4 - 7,0
TGO	U/l	21,4	10 - 34
TGP	U/l	23,3	10 - 44
Gama GT	U/l	37,8	250
Bilirrubina total	mg/dl	0,56	0,2 - 1,2
Bilirrubina direta	mg/dl	0,16	0 - 0,2
Colesterol total	mg/dl	208	<200
HDL	mg/dl	69,5	>35
LDL	mg/dl	118	<160
triglicérides	mg/dl	98	<200
Clearance creatinina	(ml/min/1,73 m ³)	88	80 - 130

TABELA. xi - Bioquímica do sangue. Paciente A.L.B. Grupo Diabético

		Resultado	Valores de Referência
Uréia	mg/dl	-	<50
Creatinina	mg/dl	1,0	homem: 0,9 - 1,5; mulher: 0,7 - 1,3
Glicose	mg/dl	140,2	<110
Na	mEq/l	145	135 - 140
K	mEq/l	4,5	3,5 - 5,5
Ácido úrico	mg/dl	5,6	homem: 2,4 - 5,7 ;mulher: 3,4 - 7,0
TGO	U/l	20,1	10 - 34
TGP	U/l	-	10 - 44
Gama GT	U/l	-	250
Bilirrubina total	mg/dl	0,16	0,2 - 1,2
Bilirrubina direta	mg/dl	0,7	0 - 0,2
Colesterol total	mg/dl	203	<200
HDL	mg/dl	57	>35
LDL	mg/dl	124	<160
triglicérides	mg/dl	106	<200
Clearance creatinina	(ml/min/1,73 m ³)	91,3	80 - 130

TABELA. xii - Bioquímica do sangue. Paciente D.I.T. Grupo Diabético

		Resultado	Valores de Referência
Uréia	mg/dl	43	<50
Creatinina	mg/dl	1,0	homem: 0,9 - 1,5; mulher: 0,7 - 1,3
Glicose	mg/dl	134	<110
Na	mEq/l	141	135 - 140
K	mEq/l	4,7	3,5 - 5,5
Ácido úrico	mg/dl	5,6	homem: 2,4 - 5,7 ;mulher: 3,4 - 7,0
TGO	U/l	21	10 - 34
TGP	U/l	23,5	10 - 44
Gama GT	U/l	25,9	250
Bilirrubina total	mg/dl	0,65	0,2 - 1,2
Bilirrubina direta	mg/dl	0,17	0 - 0,2
Colesterol total	mg/dl	191	<200
HDL	mg/dl	51,5	>35
LDL	mg/dl	120	<160
triglicérides	mg/dl	96	<200
Clearance creatinina	(ml/min/1,73 m ³)	74,6	80 - 130

TABELA. xiii - Bioquímica do sangue. Paciente H.S.J. Grupo Diabético

		Resultado	Valores de Referência
Uréia	mg/dl	19,1	<50
Creatinina	mg/dl	0,5	homem: 0,9 - 1,5; mulher: 0,7 - 1,3
Glicose	mg/dl	141	<110
Na	mEq/l	146	135 - 140
K	mEq/l	4,0	3,5 - 5,5
Ácido úrico	mg/dl	4,9	homem: 2,4 - 5,7 ;mulher: 3,4 - 7,0
TGO	U/l	18	10 - 34
TGP	U/l	22	10 - 44
Gama GT	U/l	18	250
Bilirrubina total	mg/dl	0,9	0,2 - 1,2
Bilirrubina direta	mg/dl	0,1	0 - 0,2
Colesterol total	mg/dl	185	<200
HDL	mg/dl	37,5	>35
LDL	mg/dl	111	<160
triglicérides	mg/dl	180	<200
Clearance creatinina	(ml/min/1,73 m ³)	107,7	80 - 130

TABELA. xiv- Bioquímica do sangue. Paciente I.L.S. Grupo Diabético

		Resultado	Valores de Referência
Uréia	mg/dl	46,5	<50
Creatinina	mg/dl	0,7	homem: 0,9 - 1,5; mulher: 0,7 - 1,3
Glicose	mg/dl	120	<110
Na	mEq/l	147	135 - 140
K	mEq/l	4,0	3,5 - 5,5
Ácido úrico	mg/dl	4,6	homem: 2,4 - 5,7 ;mulher: 3,4 - 7,0
TGO	U/l	20,1	10 - 34
TGP	U/l	25,0	10 - 44
Gama GT	U/l	51,6	250
Bilirrubina total	mg/dl	0,72	0,2 - 1,2
Bilirrubina direta	mg/dl	0,19	0 - 0,2
Colesterol total	mg/dl	-	<200
HDL	mg/dl	-	>35
LDL	mg/dl	-	<160
triglicérides	mg/dl	-	<200
Clearance creatinina	(ml/min/1,73 m ³)	95,4	80 - 130

TABELA. xv - Bioquímica do sangue. Paciente M.A.F. Grupo Diabético

		Resultado	Valores de Referência
Uréia	mg/dl	18	<50
Creatinina	mg/dl	0,9	homem: 0,9 - 1,5; mulher: 0,7 - 1,3
Glicose	mg/dl	131	<110
Na	mEq/l	140	135 - 140
K	mEq/l	4,5	3,5 - 5,5
Ácido úrico	mg/dl	6,0	homem: 2,4 - 5,7 ;mulher: 3,4 - 7,0
TGO	U/l	10	10 - 34
TGP	U/l	30	10 - 44
Gama GT	U/l	22	250
Bilirrubina total	mg/dl	0,3	0,2 - 1,2
Bilirrubina direta	mg/dl	0,1	0 - 0,2
Colesterol total	mg/dl	-	<200
HDL	mg/dl	-	>35
LDL	mg/dl	-	<160
triglicérides	mg/dl	-	<200
Clearance creatinina	(ml/min/1,73 m ³)	101	80 - 130

TABELA. xvi - Bioquímica do sangue. Paciente M.H.F. Grupo Diabético

		Resultado	Valores de Referência
Uréia	mg/dl	25	<50
Creatinina	mg/dl	0,9	homem: 0,9 - 1,5; mulher: 0,7 - 1,3
Glicose	mg/dl	129,5	<110
Na	mEq/l	140	135 - 140
K	mEq/l	4,7	3,5 - 5,5
Ácido úrico	mg/dl	4,9	homem: 2,4 - 5,7 ;mulher: 3,4 - 7,0
TGO	U/l	11	10 - 34
TGP	U/l	36	10 - 44
Gama GT	U/l	44	250
Bilirrubina total	mg/dl	0,98	0,2 - 1,2
Bilirrubina direta	mg/dl	0,22	0 - 0,2
Colesterol total	mg/dl	153	<200
HDL	mg/dl	40	>35
LDL	mg/dl	95	<160
triglicérides	mg/dl	90	<200
Clearance creatinina	(ml/min/1,73 m ³)	95,0	80 - 130

TABELA. xvii - Bioquímica do sangue. Paciente M.H.M.S. Grupo Diabético

		Resultado	Valores de Referência
Uréia	mg/dl	36,5	<50
Creatinina	mg/dl	0,5	homem: 0,9 - 1,5; mulher: 0,7 - 1,3
Glicose	mg/dl	311	<110
Na	mEq/l	140	135 - 140
K	mEq/l	4,6	3,5 - 5,5
Ácido úrico	mg/dl	4,3	homem: 2,4 - 5,7 ;mulher: 3,4 - 7,0
TGO	U/l	19,0	10 - 34
TGP	U/l	30,0	10 - 44
Gama GT	U/l	46,9	250
Bilirrubina total	mg/dl	-	0,2 - 1,2
Bilirrubina direta	mg/dl	-	0 - 0,2
Colesterol total	mg/dl	193	<200
HDL	mg/dl	36,4	>35
LDL	mg/dl	79	<160
triglicérides	mg/dl	385	<200
Clearance creatinina	(ml/min/1,73 m ³)	94	80 - 130

5. PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS: DADOS INDIVIDUAIS

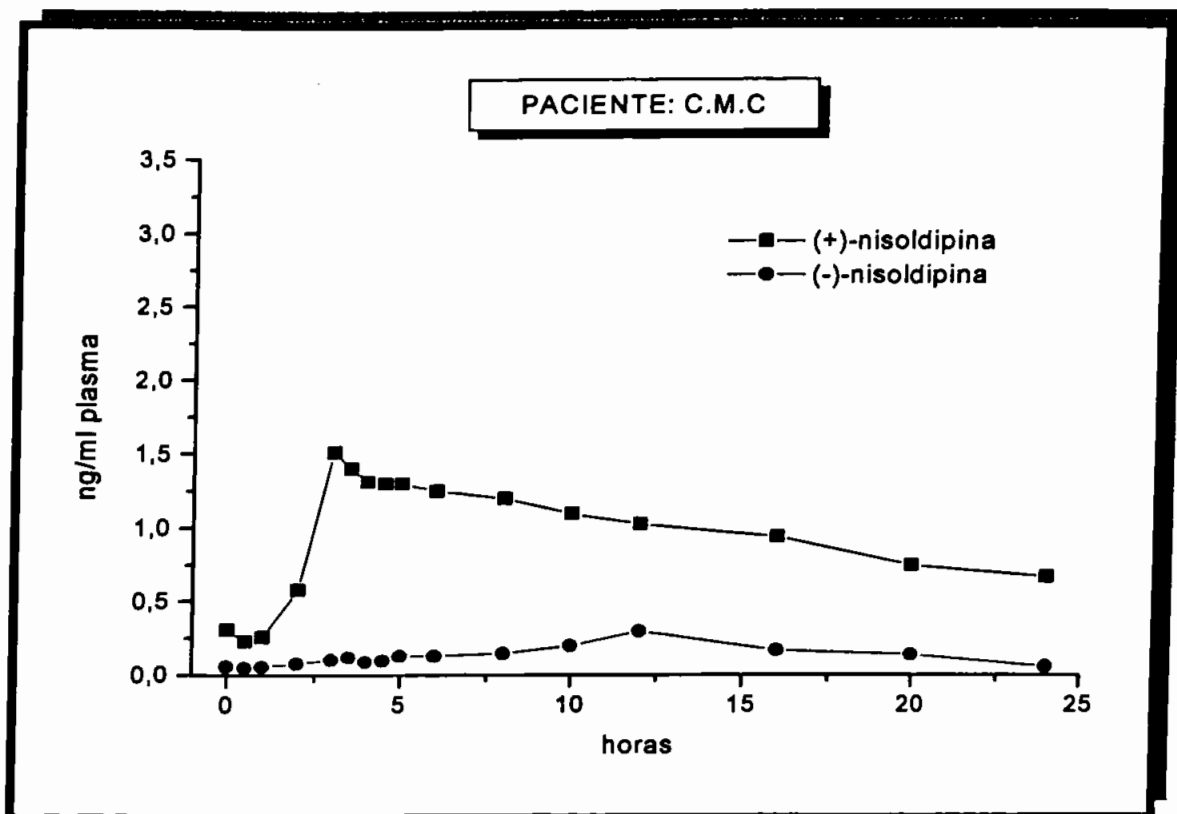


Figura i - Curvas concentração plasmática vs tempo após dose de 20 mg de nisoldipina. Paciente C.M.C. Grupo Controle.

TABELA xviii - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina. Paciente C.M.C. Grupo Controle

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
Cmax (ng/ml)	1,51	0,30
tmax (h)	3,00	12,00
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng/ml.h)	20,55	3,12
t_{1/2a} (h)	2,10	3,80
Ka (h⁻¹)	0,33	0,18
t_{1/2} (h)	12,5	6,10
Kel (h⁻¹)	0,05	0,12
Cl/F (l/h/kg)	7,85	44,61
Vd/F (l/kg)	142,72	392,70
AUC^{SS}_{0-24 (+)/(-)}	6,59	

Cmax = concentração plasmática máxima; tmax = tempo para atingir Cmax; t_{1/2a} =meia vida de absorção; Ka = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; Kel = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; Vd/F = volume de distribuição aparente.

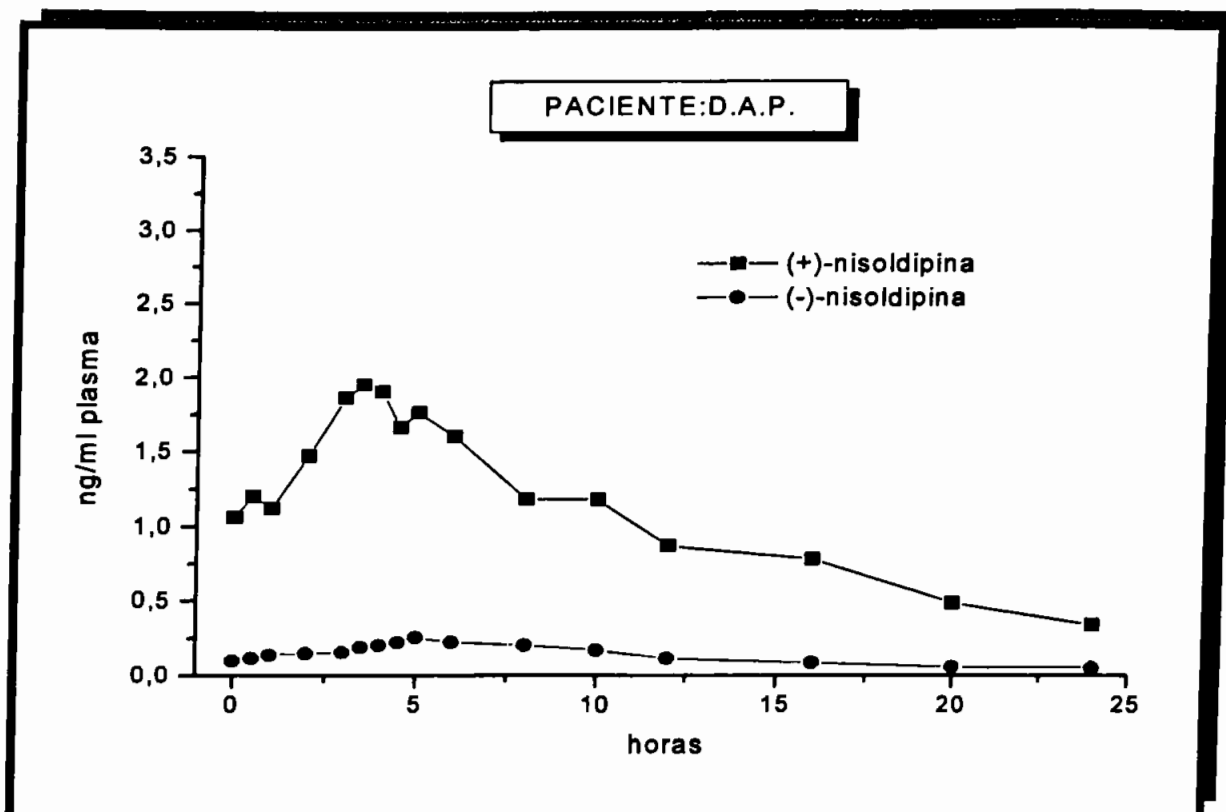


Figura ii - Curvas concentração plasmática vs tempo após dose de 20 mg de nisoldipina. Paciente D.A.P. Grupo Controle

TABELA xix - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina. Paciente D.A.P. Grupo Controle

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
Cmax (ng/ml)	1,95	0,25
tmax (h)	3,50	5,00
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng/ml.h)	24,11	3,04
t_{1/2a} (h)	0,90	1,50
Ka (h⁻¹)	0,77	0,46
t_{1/2} (h)	8,30	8,60
Kel (h⁻¹)	0,08	0,08
Cl/F (l/h/kg)	4,77	33,40
Vd/F (l/kg)	57,10	414,60
AUC^{SS}_{0-24 (+)/(-)}	7,93	

Cmax = concentração plasmática máxima; tmax = tempo para atingir Cmax; t_{1/2a} = meia vida de absorção; Ka = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; Kel = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; Vd/F = volume de distribuição aparente.

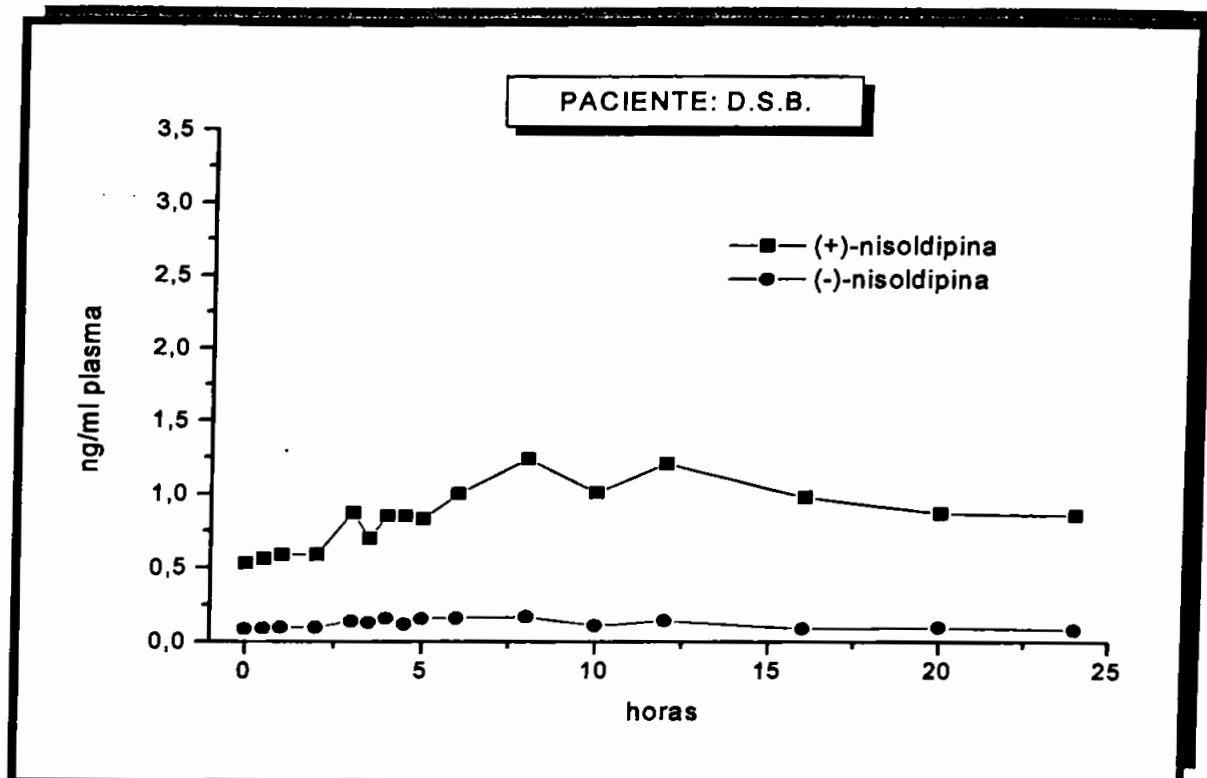


Figura iii - Curvas concentração plasmática vs tempo após dose de 20 mg de nisoldipina. Paciente D.S.B. Grupo Controle

TABELA xx - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina. Paciente D.S.B. Grupo Controle

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
C_{max} (ng/ml)	1,24	0,17
t_{max} (h)	8,00	5,00
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng/ml.h)	22,67	2,88
t_{1/2a} (h)	4,80	1,70
K_a (h⁻¹)	0,14	0,41
t_{1/2} (h)	8,70	9,00
K_{el} (h⁻¹)	0,07	0,07
Cl/F (l/h/kg)	6,72	52,51
Vd/F (l/kg)	92,12	700,00
AUC^{SS}_{0-24 (+)(-)}	7,86	

C_{max} = concentração plasmática máxima; t_{max} = tempo para atingir C_{max}; t_{1/2a} = meia vida de absorção; K_a = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; K_{el} = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; Vd/F = volume de distribuição aparente.

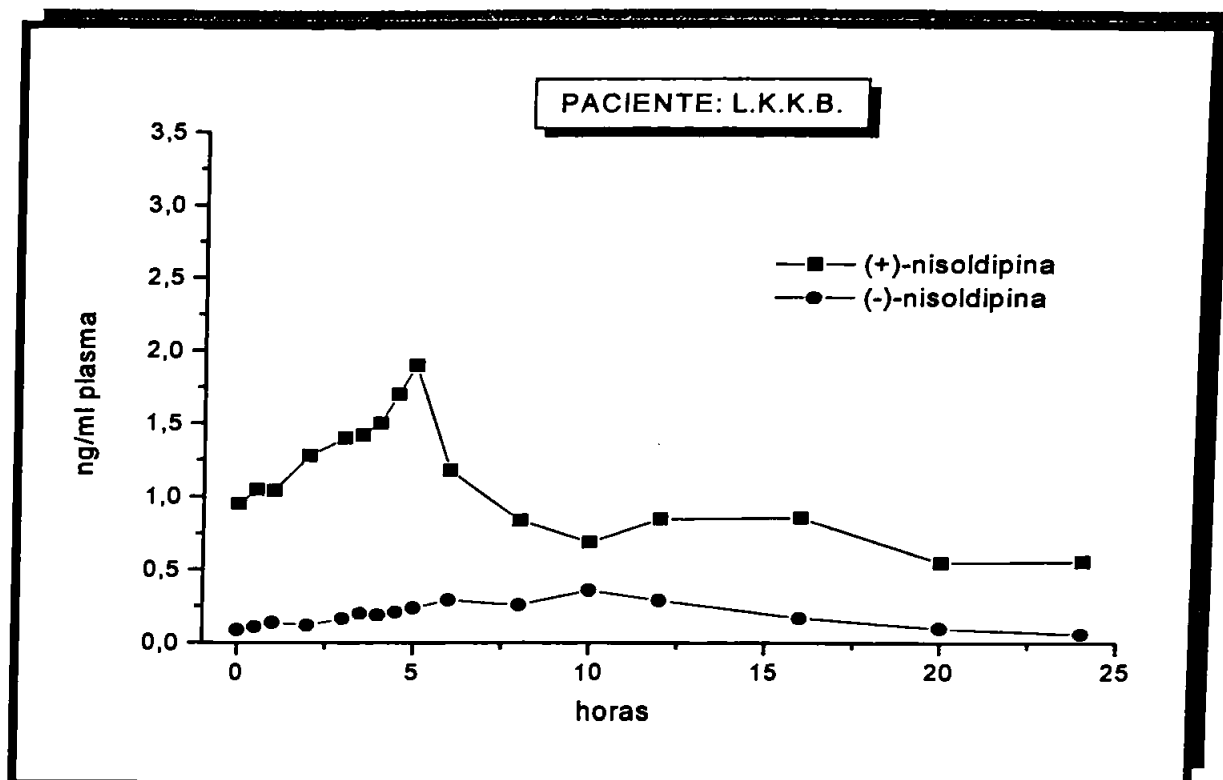


Figura iv - Curvas concentração plasmática vs tempo após dose de 20 mg de nisoldipina. Paciente L.K.K.B. Grupo Controle

TABELA xxi - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina. Paciente L.K.K.B. Grupo Controle

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
Cmax (ng/ml)	1,90	0,36
tmax (h)	5,00	10,00
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng/ml.h)	21,75	4,65
t_{1/2a} (h)	1,20	2,70
Ka (h⁻¹)	0,58	0,26
t_{1/2} (h)	10,10	5,20
Kel (h⁻¹)	0,07	0,13
Cl/F (l/h/kg)	6,05	28,29
Vd/F (l/kg)	88,18	212,23
AUC^{SS}₀₋₂₄ (+)/(-)	4,68	

Cmax = concentração plasmática máxima; tmax = tempo para atingir Cmax; t_{1/2a} =meia vida de absorção; Ka = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; Kel = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; Vd/F = volume de distribuição aparente.

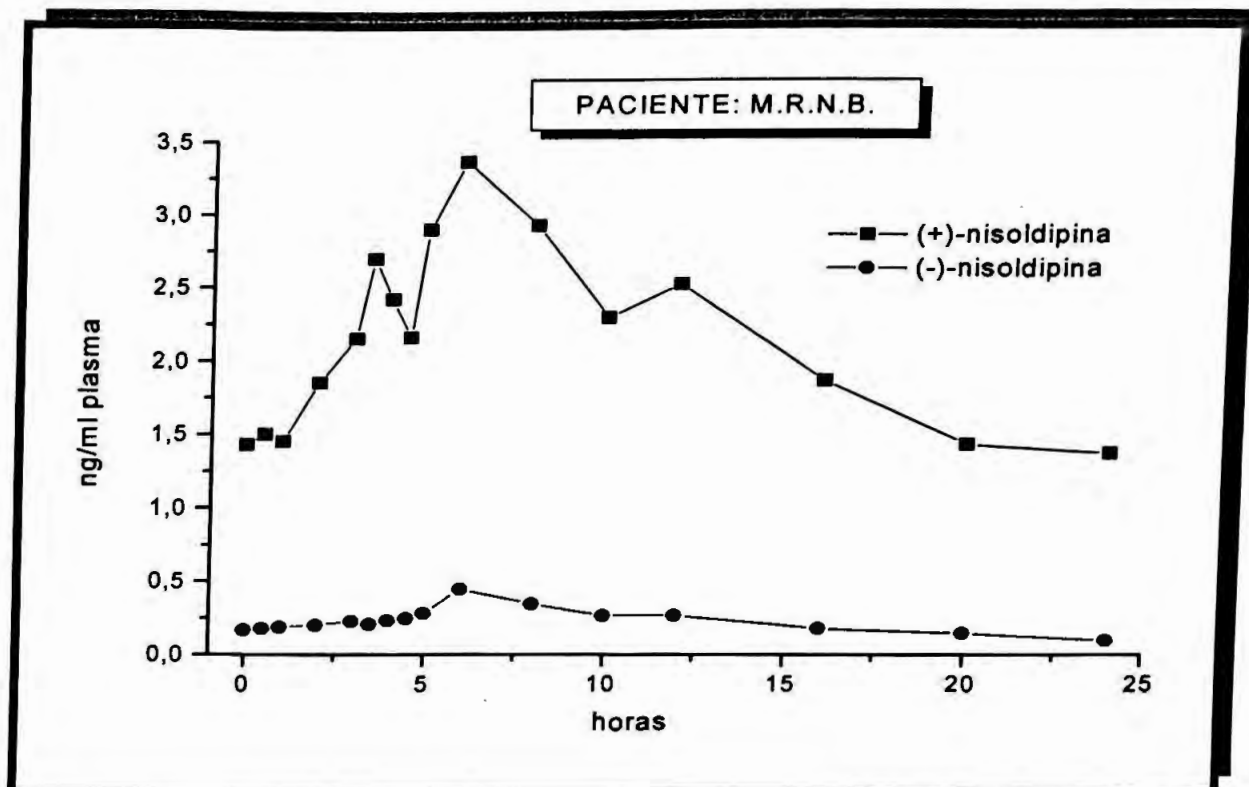


Figura v - Curvas concentração plasmática vs tempo após dose de 20 mg de nisoldipina. Paciente M.R.N.B. Grupo Controle

TABELA xxii - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina. Paciente M.R.N.B. Grupo Controle

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
C_{max} (ng/ml)	3,37	0,45
t_{max} (h)	6,00	6,00
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng/ml.h)	50,54	5,46
t_{1/2a} (h)	2,20	3,90
K_a (h⁻¹)	0,31	0,18
t_{1/2} (h)	11,80	9,00
K_{el} (h⁻¹)	0,06	0,08
Cl/F (l/h/kg)	2,39	22,07
V_d/F (l/kg)	40,71	286,57
AUC^{SS}₀₋₂₄ (+)/(-)	9,26	

C_{max} = concentração plasmática máxima; t_{max} = tempo para atingir C_{max}; t_{1/2a} =meia vida de absorção; K_a = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; K_{el} = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; V_d/F = volume de distribuição aparente.

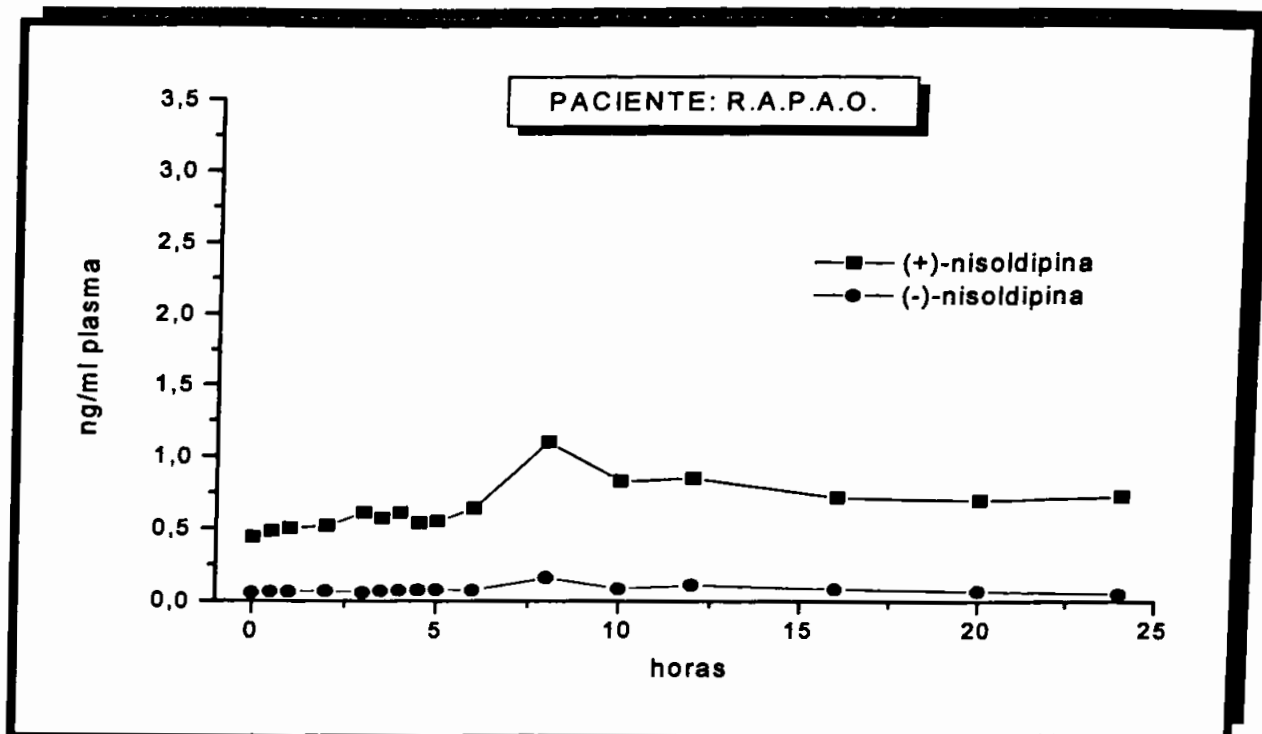


Figura vi - Curvas concentração plasmática vs tempo após dose de 20 mg de nisoldipina. Paciente R.A.P.A.O. Grupo Controle

TABELA xxiii - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina. Paciente R.A.P.A.O. Grupo Controle

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
Cmax (ng/ml)	1,10	0,16
tmax (h)	8,00	8,00
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng/ml.h)	17,23	2,22
t_{1/2a} (h)	4,10	3,70
Ka (h⁻¹)	0,17	0,18
t_{1/2} (h)	10,3	7,50
Kel (h⁻¹)	0,08	0,09
Cl/F (l/h/kg)	8,44	65,85
Vd/F (l/kg)	106,52	712,72
AUC^{SS}_{0-24 (+)/(-)}	7,76	

Cmax = concentração plasmática máxima; tmax = tempo para atingir Cmax; t_{1/2a} =meia vida de absorção; Ka = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; Kel = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; Vd/F = volume de distribuição aparente.

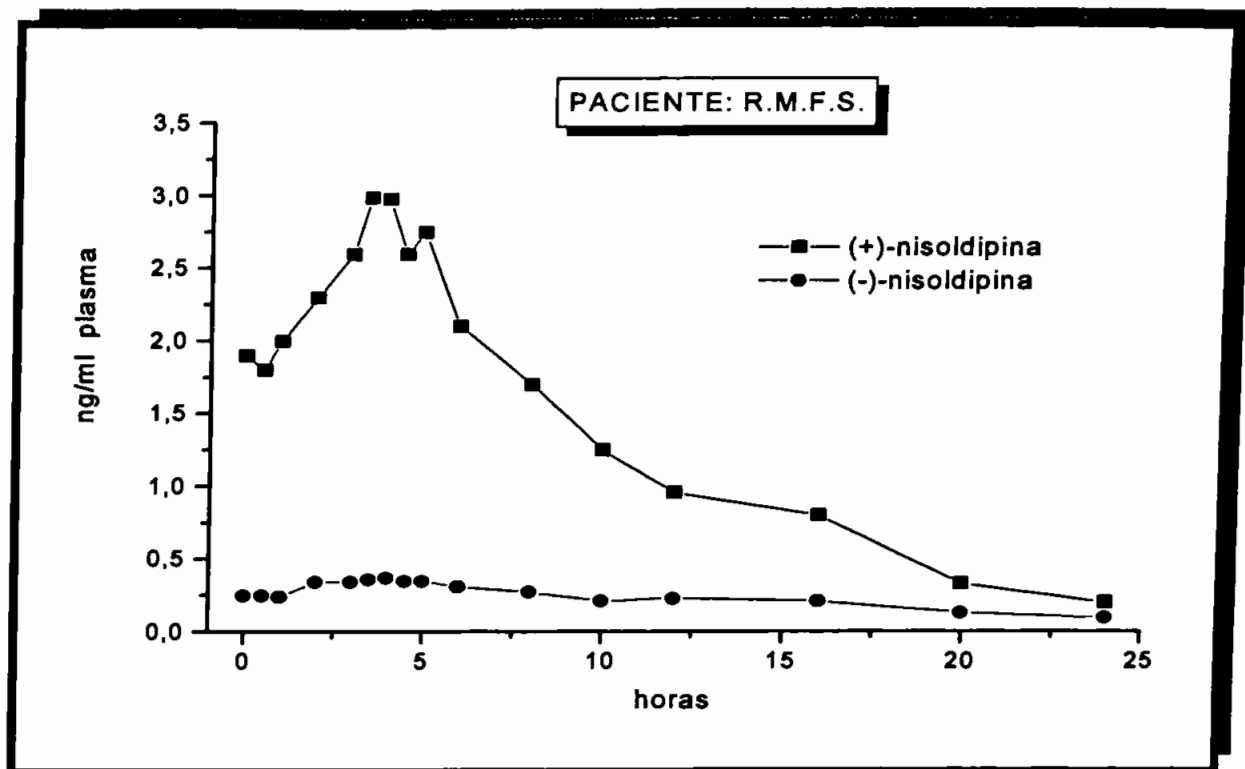


Figura vii - Curvas concentração plasmática vs tempo após dose de 20 mg de nisoldipina. Paciente R.M.F.S. Grupo Controle

TABELA. xxiv - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina. Paciente R.M.F.S. Grupo Controle

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
Cmax (ng/ml)	2,99	0,37
tmax (h)	3,50	4,00
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng/ml.h)	33,53	5,43
t_{1/2a} (h)	1,10	1,50
Ka (h⁻¹)	0,63	0,46
t_{1/2} (h)	5,20	10,90
Kel (h⁻¹)	0,13	0,06
Cl/F (l/h/kg)	4,97	30,69
Vd/F (l/kg)	37,28	483,31
AUC^{SS}₀₋₂₄ (+)/(-)	6,17	

Cmax = concentração plasmática máxima; tmax = tempo para atingir Cmax; t_{1/2a} =meia vida de absorção; Ka = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; Kel = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; Vd/F = volume de distribuição aparente.

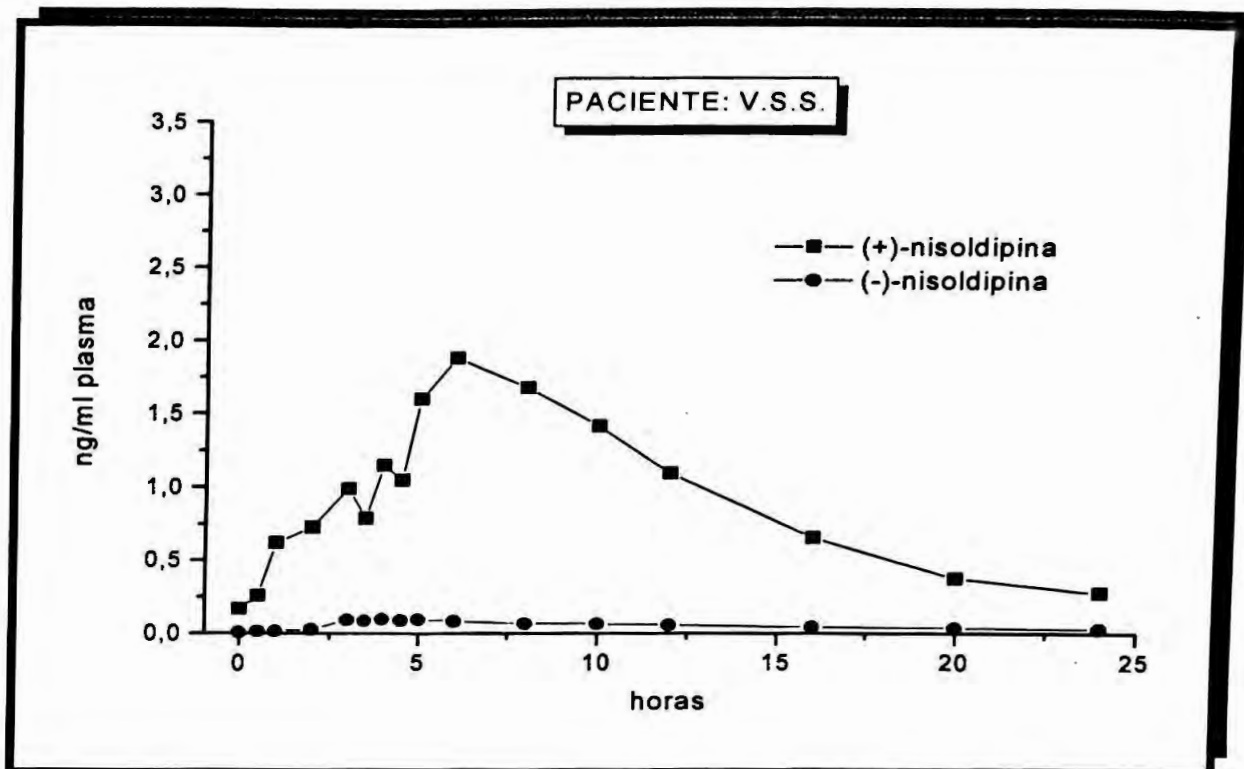


Figura viii - Curvas concentração plasmática vs tempo após dose de 20 mg de nisoldipina. Paciente V.S.S. Grupo Controle.

TABELA xxv - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina. Paciente V.S.S. Grupo Controle

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
C_{max} (ng/ml)	1,88	0,10
t_{max} (h)	6,00	4,00
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng/ml.h)	21,60	3,90
t_{1/2a} (h)	2,80	1,50
K_a (h⁻¹)	0,25	0,46
t_{1/2} (h)	6,40	4,20
K_{el} (h⁻¹)	0,11	0,16
Cl/F (l/h/kg)	6,09	33,42
Vd/F (l/kg)	56,23	202,54
AUC^{SS}₀₋₂₄ (+)/(-)	5,50	

C_{max} = concentração plasmática máxima; t_{max} = tempo para atingir C_{max}; t_{1/2a} =meia vida de absorção; K_a = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; K_{el} = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; Vd/F = volume de distribuição aparente.

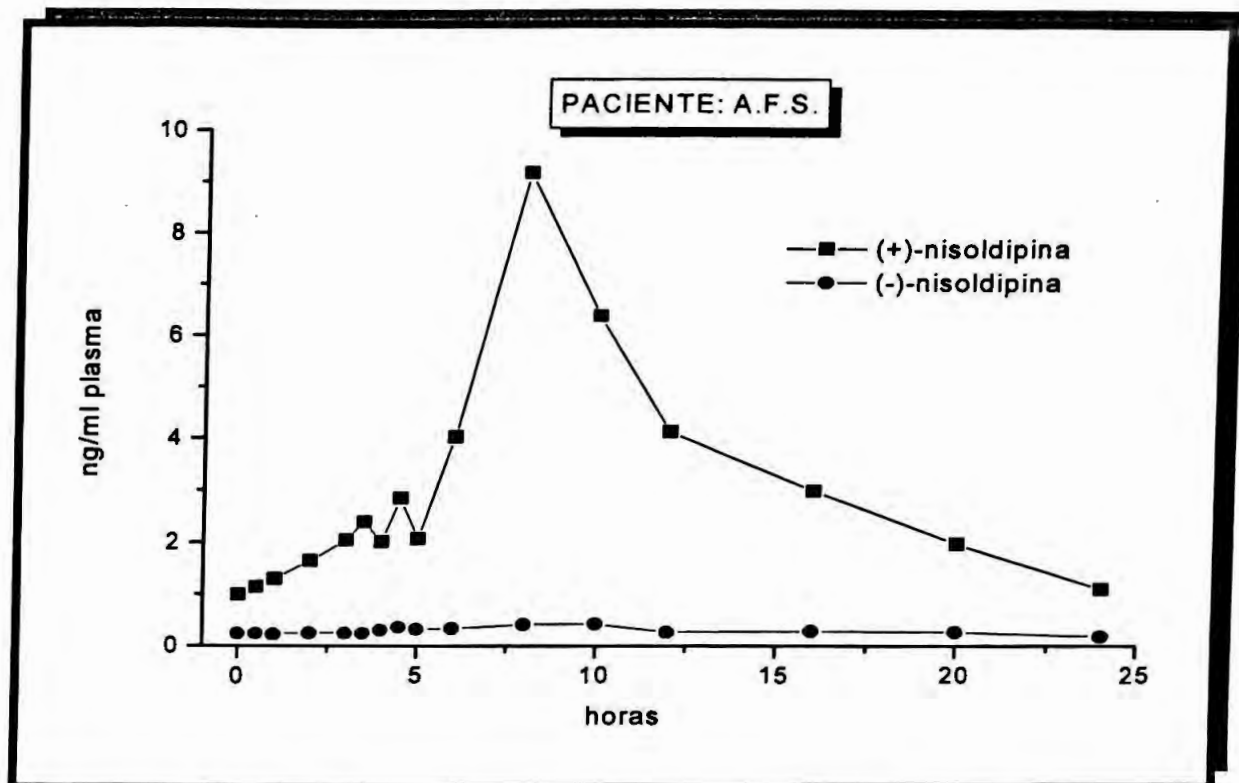


Figura ix - Curvas concentração plasmática vs tempo após dose de 20 mg de nisoldipina. Paciente A.F.S. Grupo Diabético

TABELA xxvi - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina. Paciente A.F.S. Grupo Diabético

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
Cmax (ng/ml)	9,19	0,43
tmax (h)	8,00	10,00
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng/ml.h)	80,4	7,17
t_{1/2a} (h)	2,70	2,90
Ka (h⁻¹)	0,26	0,24
t_{1/2} (h)	5,60	15,00
Kel (h⁻¹)	0,12	0,05
Cl/F (l/h/kg)	1,64	18,35
Vd/F (l/kg)	13,25	397,20
AUC^{SS}_{0-24 (+)/(-)}	11,21	

Cmax = concentração plasmática máxima; tmax = tempo para atingir Cmax; t_{1/2a} =meia vida de absorção; Ka = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; Kel = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; Vd/F = volume de distribuição aparente.

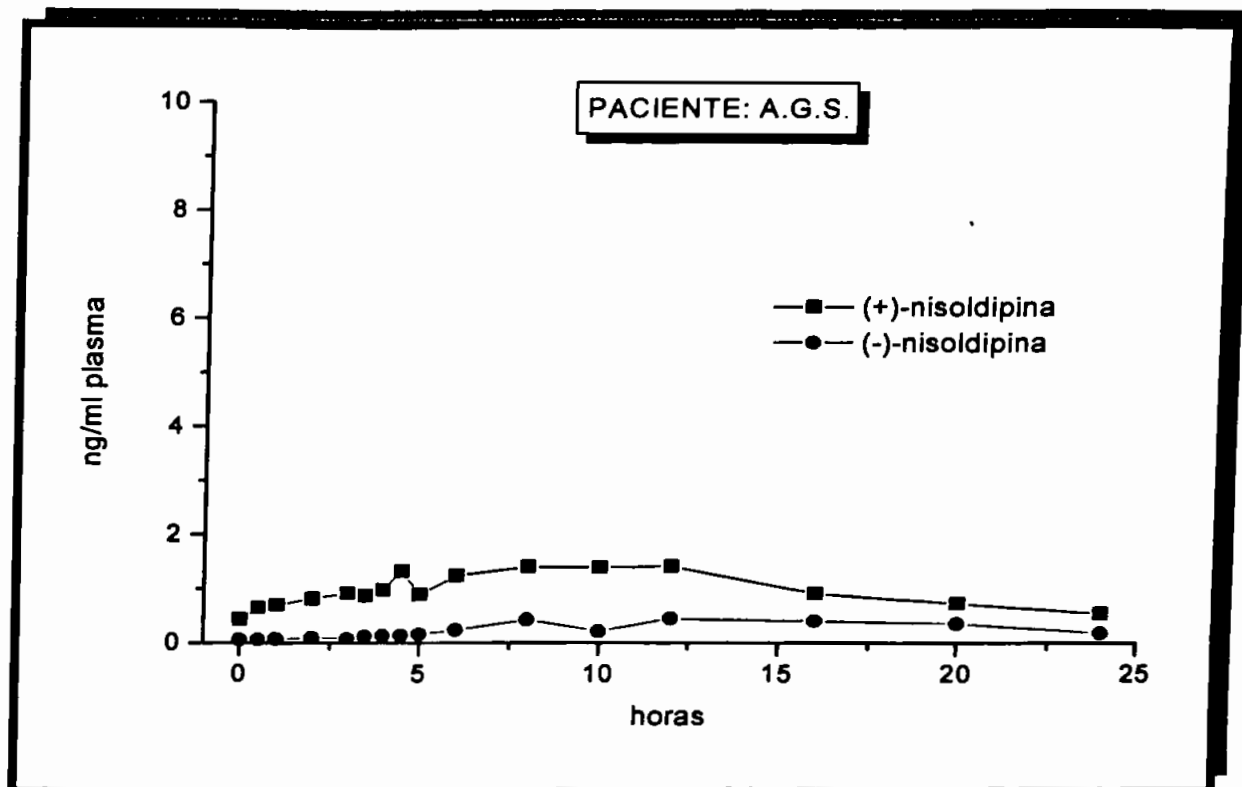


Figura x - Curvas concentração plasmática vs tempo após dose de 20 mg de nisoldipina. Paciente A.G.S. Grupo Diabético

TABELA xxvii - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina. Paciente A.G.S. Grupo Diabético

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
C_{max} (ng/ml)	1,41	0,45
t_{max} (h)	12,00	12,00
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng/ml.h)	24,03	7,05
t_{1/2a} (h)	4,00	6,30
K_a (h⁻¹)	0,17	0,11
t_{1/2} (h)	9,00	8,5
K_{el} (h⁻¹)	0,08	0,08
Cl/F (l/h/kg)	7,37	30,82
V_d/F (l/kg)	95,71	378,02
AUC^{SS}_{0-24 (+)/(-)}	3,41	

C_{max} = concentração plasmática máxima; t_{max} = tempo para atingir C_{max}; t_{1/2a} =meia vida de absorção; K_a = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; K_{el} = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; V_d/F = volume de distribuição aparente.

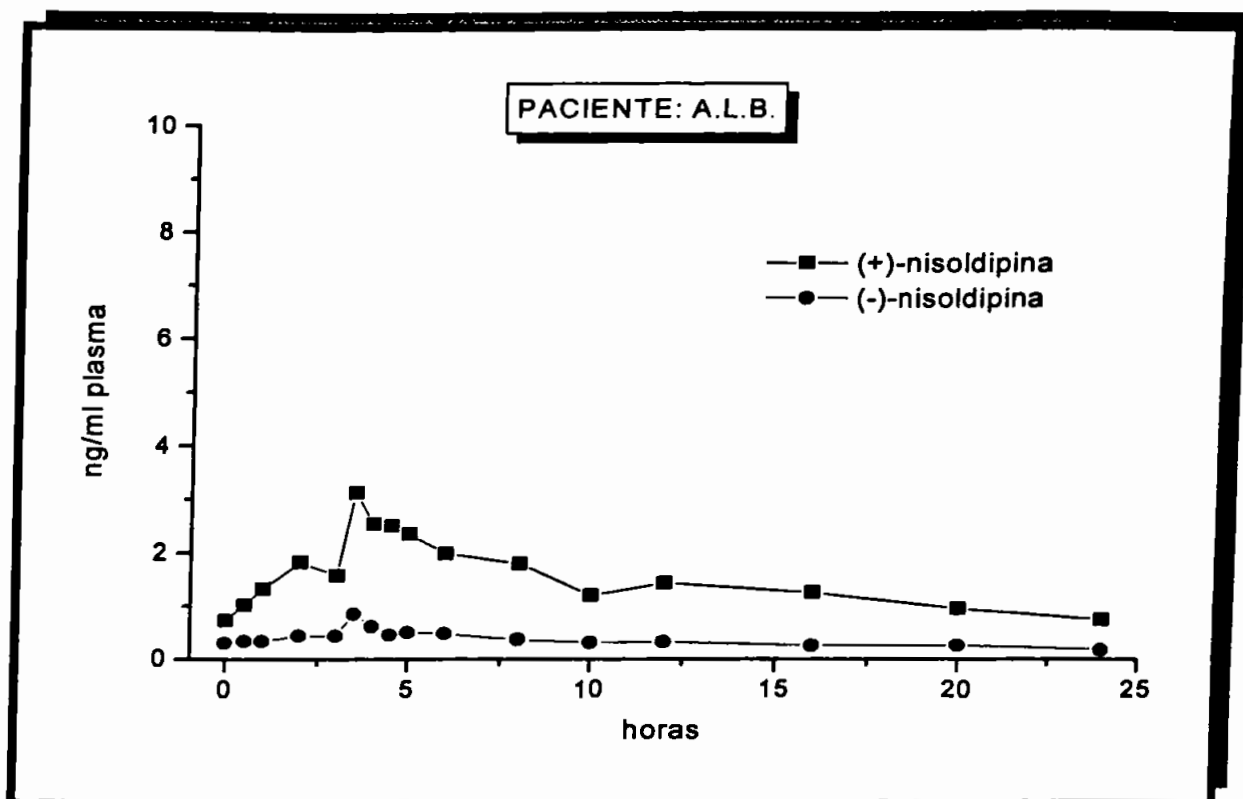


Figura xi - Curvas concentração plasmática vs tempo após dose de 20 mg de nisoldipina. Paciente A.L.B. Grupo Diabético

TABELA xxviii - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina. Paciente A.L.B. Grupo Diabético

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
C_{max} (ng/ml)	3,12	0,85
t_{max} (h)	3,50	3,50
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng/ml.h)	34,06	8,02
t_{1/2a} (h)	1,70	1,40
K_a (h⁻¹)	0,41	0,49
t_{1/2} (h)	12,00	10,00
K_{el} (h⁻¹)	0,06	0,07
Cl/F (l/h/kg)	4,62	19,65
Vd/F (l/kg)	80,00	283,55
AUC^{SS}_{0-24 (+)/(-)}	4,25	

C_{max} = concentração plasmática máxima; t_{max} = tempo para atingir C_{max}; t_{1/2a} = meia vida de absorção; K_a = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; K_{el} = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; Vd/F = volume de distribuição aparente.

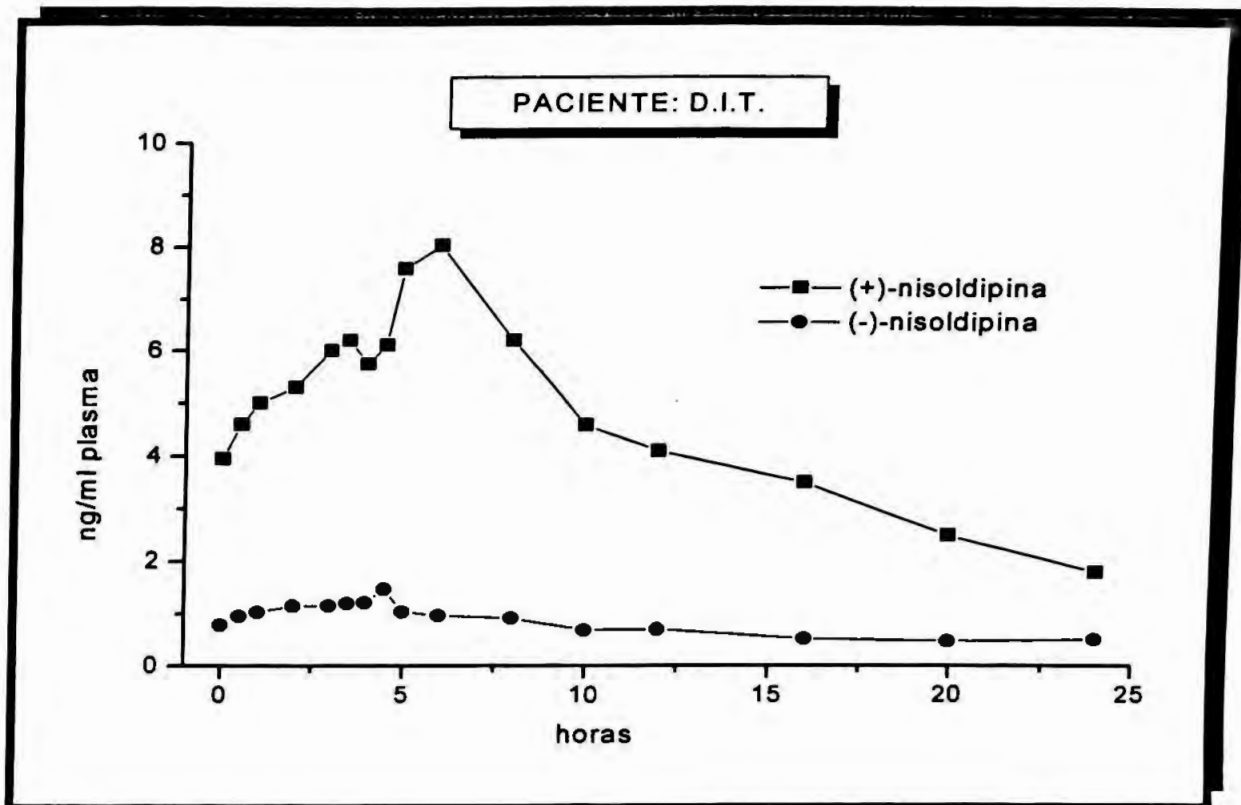


Figura xii - Curvas concentração plasmática vs tempo após dose de 20 mg de nisoldipina. Paciente D.I.T. Grupo Diabético

TABELA xxix - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina. Paciente D.I.T. Grupo Diabético

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
C_{max} (ng/ml)	8,05	1,47
t_{max} (h)	6,00	4,50
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng/ml.h)	105,16	17,95
t_{1/2a} (h)	1,60	1,50
K_a (h⁻¹)	0,43	0,46
t_{1/2} (h)	9,00	17,70
K_{el} (h⁻¹)	0,08	0,04
Cl/F (l/h/kg)	1,56	9,13
Vd/F (l/kg)	20,26	233,20
AUC^{SS}_{0-24 (+)/(-)}	5,86	

C_{max} = concentração plasmática máxima; t_{max} = tempo para atingir C_{max}; t_{1/2a} =meia vida de absorção; K_a = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; K_{el} = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; Vd/F = volume de distribuição aparente.

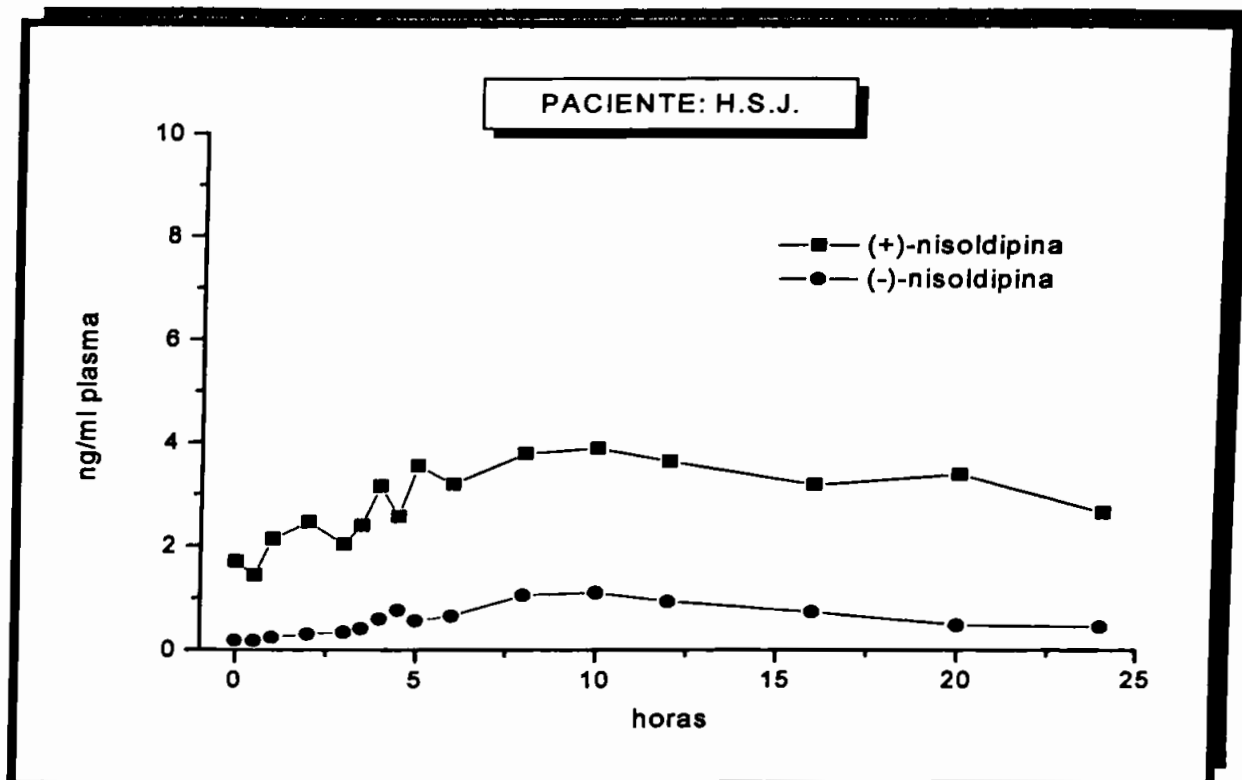


Figura xiii - Curvas concentração plasmática vs tempo após dose de 20 mg de nisoldipina. Paciente H.S.J. Grupo Diabético

TABELA xxx - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina. Paciente H.S.J. Grupo Diabético

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
C_{max} (ng/ml)	3,90	1,11
t_{max} (h)	10,00	10,00
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng/ml.h)	76,51	16,19
t_{1/2a} (h)	3,70	3,30
K_a (h⁻¹)	0,18	0,21
t_{1/2} (h)	21,00	11,00
K_{el} (h⁻¹)	0,03	0,06
Cl/F (l/h/kg)	1,95	9,23
Vd/F (l/kg)	59,10	146,50
AUC^{SS}_{0-24 (+)/(-)}	4,73	

C_{max} = concentração plasmática máxima; t_{max} = tempo para atingir C_{max}; t_{1/2a} = meia vida de absorção; K_a = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; K_{el} = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; Vd/F = volume de distribuição aparente.

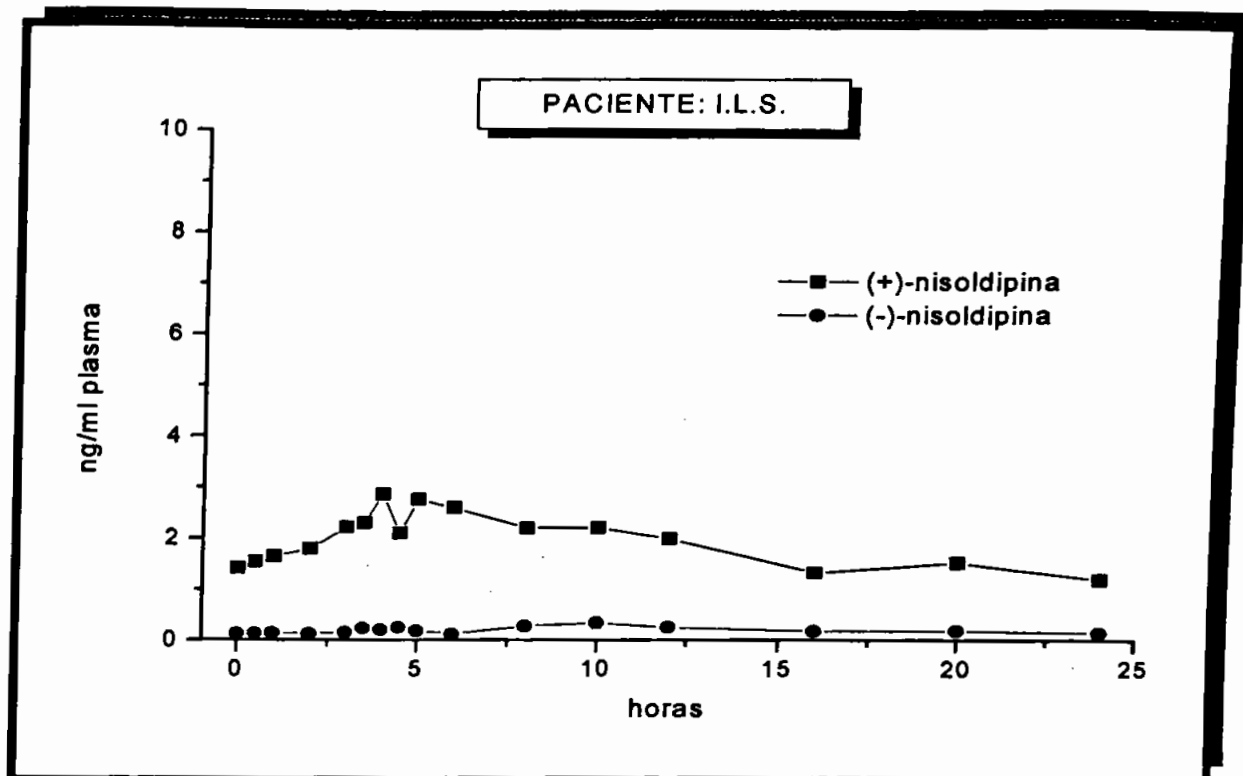


Figura xiv - Curvas concentração plasmática vs tempo após dose de 20 mg de nisoldipina. Paciente I.L.S. Grupo Controle.

TABELA xxxi - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina. Paciente I.L.S. Grupo Diabético

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
Cmax (ng/ml)	2,86	0,34
tmax (h)	5,00	10,00
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng/ml.h)	44,01	4,95
t_{1/2a} (h)	2,00	2,50
Ka (h⁻¹)	0,35	0,28
t_{1/2} (h)	17,00	13,70
Kel (h⁻¹)	0,04	0,05
Cl/F (l/h/kg)	3,51	31,20
Vd/F (l/kg)	86,03	616,60
AUC^{SS}_{0-24 (+)/(-)}	8,90	

Cmax = concentração plasmática máxima; tmax = tempo para atingir Cmax; t_{1/2a} =meia vida de absorção; Ka = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; Kel = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; Vd/F = volume de distribuição aparente.

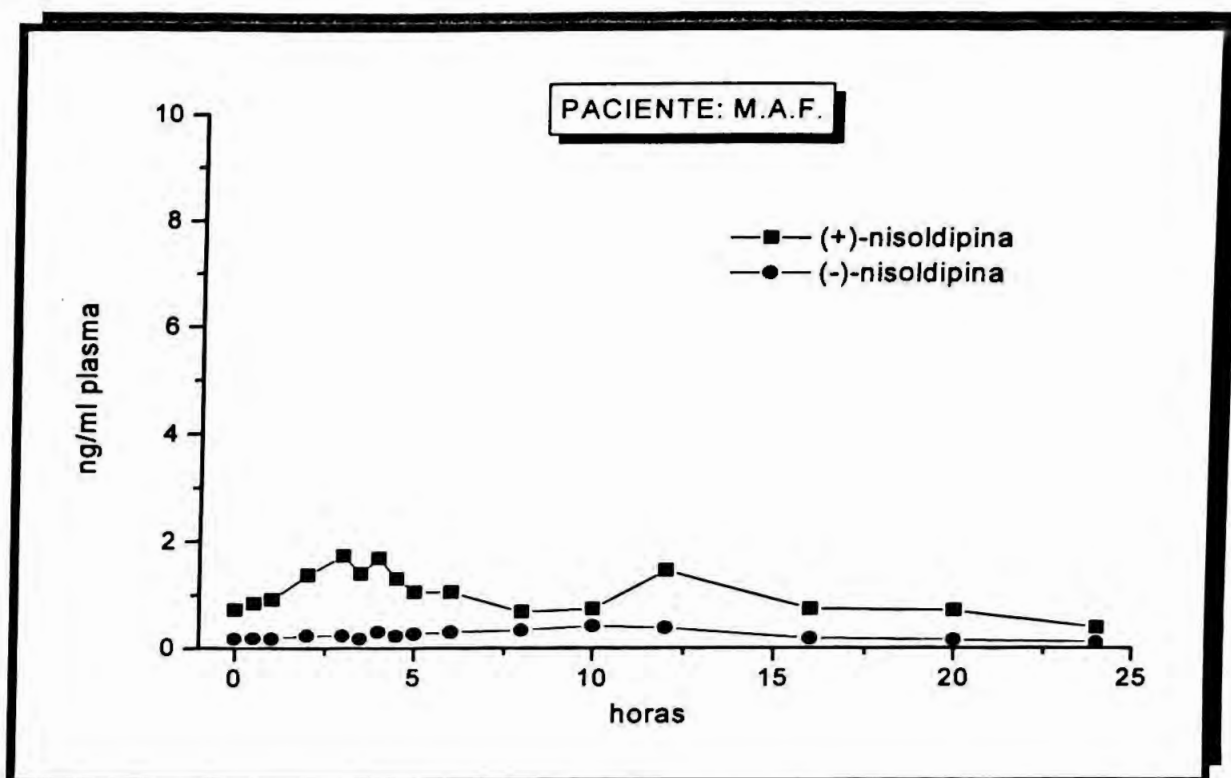


Figura xv - Curvas concentração plasmática vs tempo após dose de 20 mg de nisoldipina. Paciente M.A.F. Grupo Diabético

TABELA xxxii - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina. Paciente M.A.F. Grupo Diabético

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
C_{max} (ng/ml)	1,73	0,42
t_{max} (h)	3,00	10,00
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng/ml.h)	21,55	5,99
t_{1/2a} (h)	2,10	4,10
K_a (h⁻¹)	0,33	0,17
t_{1/2} (h)	10,50	7,20
K_{el} (h⁻¹)	0,07	0,10
Cl/F (l/h/kg)	6,82	27,15
Vd/F (l/kg)	103,30	282,08
AUC^{SS}_{0-24 (+)/(-)}	3,60	

C_{max} = concentração plasmática máxima; t_{max} = tempo para atingir C_{max}; t_{1/2a} =meia vida de absorção; K_a = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; K_{el} = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; Vd/F = volume de distribuição aparente.

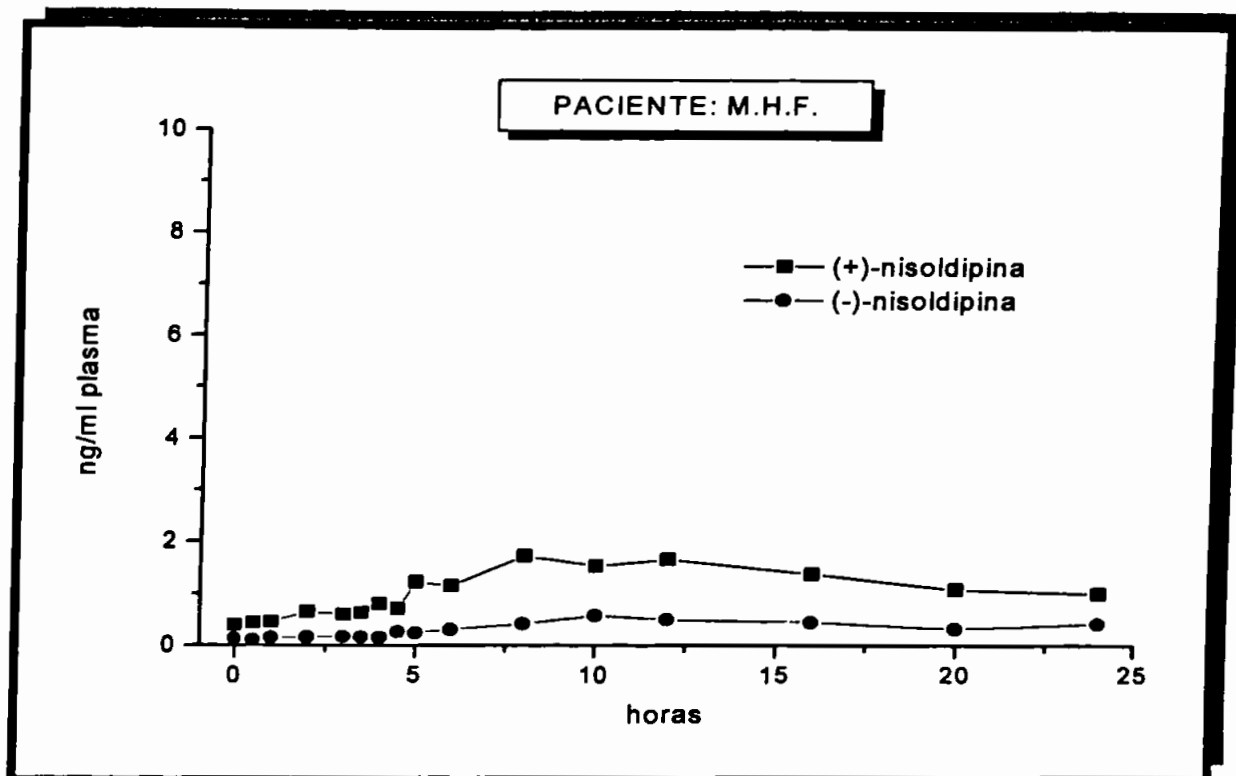


Figura xvi - Curvas concentração plasmática vs tempo após dose de 20 mg de nisoldipina. Paciente M.H.F. Grupo Diabético

TABELA xxxiii - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina. Paciente M.H.F. Grupo Diabético

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
C_{max} (ng/ml)	1,72	0,58
t_{max} (h)	8,00	10,00
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng/ml.h)	28,81	8,93
t_{1/2a} (h)	3,50	7,50
K_a (h⁻¹)	0,20	0,09
t_{1/2} (h)	21,30	22,30
K_{el} (h⁻¹)	0,03	0,03
Cl/F (l/h/kg)	3,45	11,12
Vd/F (l/kg)	106,15	349,70
AUC^{SS}₀₋₂₄ (+)/(-)	3,23	

C_{max} = concentração plasmática máxima; t_{max} = tempo para atingir C_{max}; t_{1/2a} =meia vida de absorção; K_a = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; K_{el} = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; Vd/F = volume de distribuição aparente.

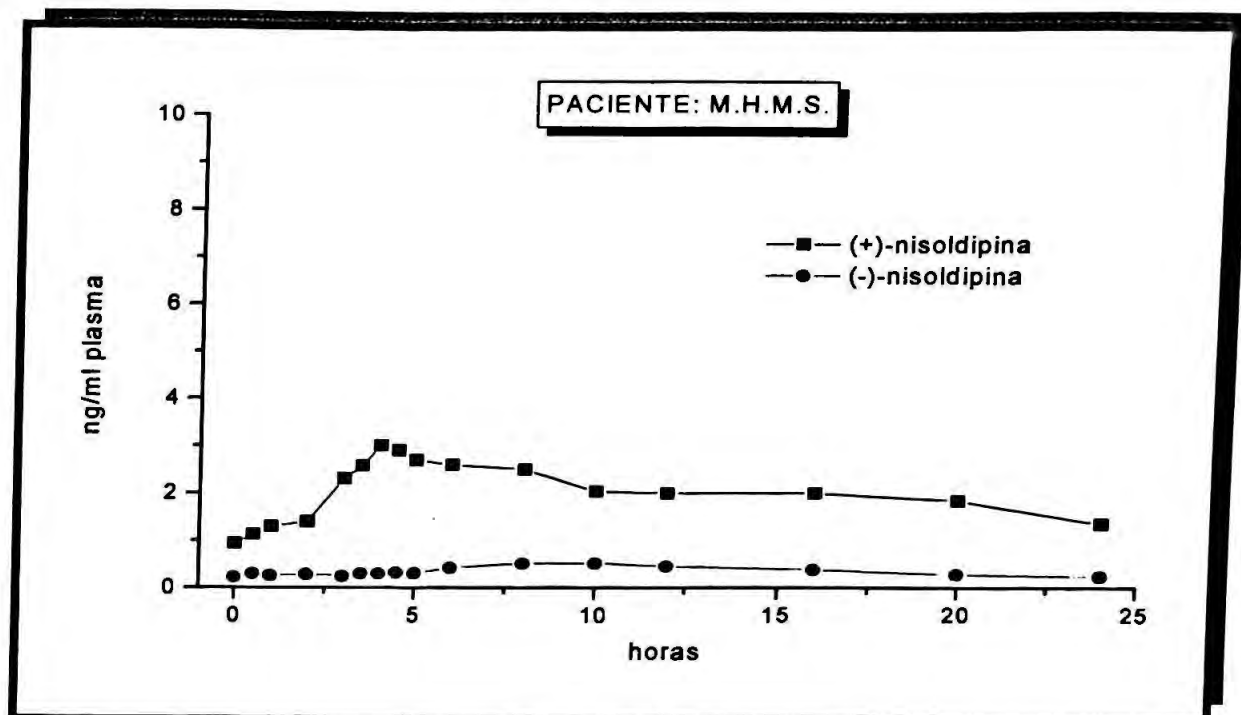


Figura xvii - Curvas concentração plasmática vs tempo após dose de 20 mg de nisoldipina. Paciente M.H.M.S Grupo Diabético

TABELA xxxiv - Disposição cinética enantiosseletiva da nisoldipina. Paciente M.H.M.S. Grupo Diabético

	(+)-nisoldipina	(-)-nisoldipina
Cmax (ng/ml)	3,00	0,52
tmax (h)	4,00	10,00
AUC^{SS}₀₋₂₄ (ng/ml.h)	48,78	7,88
t_{1/2a} (h)	1,70	3,60
Ka (h⁻¹)	0,41	0,19
t_{1/2} (h)	22,50	14,80
Kel (h⁻¹)	0,03	0,05
Cl/F (l/h/kg)	1,90	11,64
Vd/F (l/kg)	61,69	240,66
AUC^{SS}₀₋₂₄ (+)/(-)	6,19	

Cmax = concentração plasmática máxima; tmax = tempo para atingir Cmax; t_{1/2a} =meia vida de absorção; Ka = constante de velocidade de absorção; t_{1/2} = meia vida de eliminação; Kel = constante de velocidade de eliminação; AUC^{SS}₀₋₂₄ = área sob a curva concentração plasmática versus tempo; Cl/F = clearance aparente; Vd/F = volume de distribuição aparente.

**6. PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA
CARDÍACA NISOLDIPINA VERSUS
PLACEBO: DADOS INDIVIDUAIS**

PACIENTE: C.M.C.

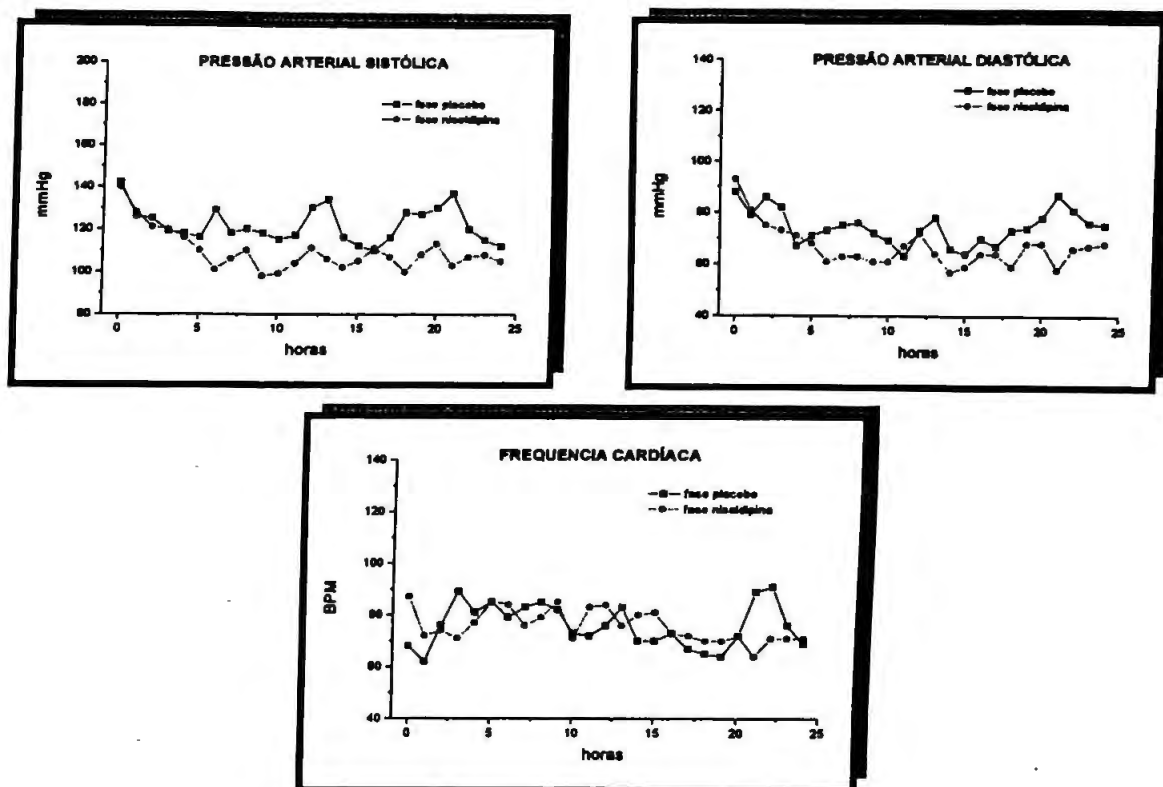


Figura xviii - Curvas de pressão arterial e freqüência cardíaca vs tempo nos períodos placebo e após dose múltipla de 20 mg de nisoldipina. Paciente C.M.C. Grupo Controle

TABELA xxxv - Dados de pressão arterial e freqüência cardíaca nos períodos placebo e após dose múltipla da 20mg de nisoldipina. Paciente C.M.C. Grupo Controle

	Placebo				Nisoldipina			
	PAS	PAD	PAM	FC	PAS	PAD	PAM	FC
Diurno	122	75	92	78	111	68	81	78
Noturno	123	73	92	71	106	64	78	72
24h	122	75	92	76	110	67	81	76

PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média $[2/3 \times (PAS + PAD)]$; FC = freqüência cardíaca.

PACIENTE: D.A.P.

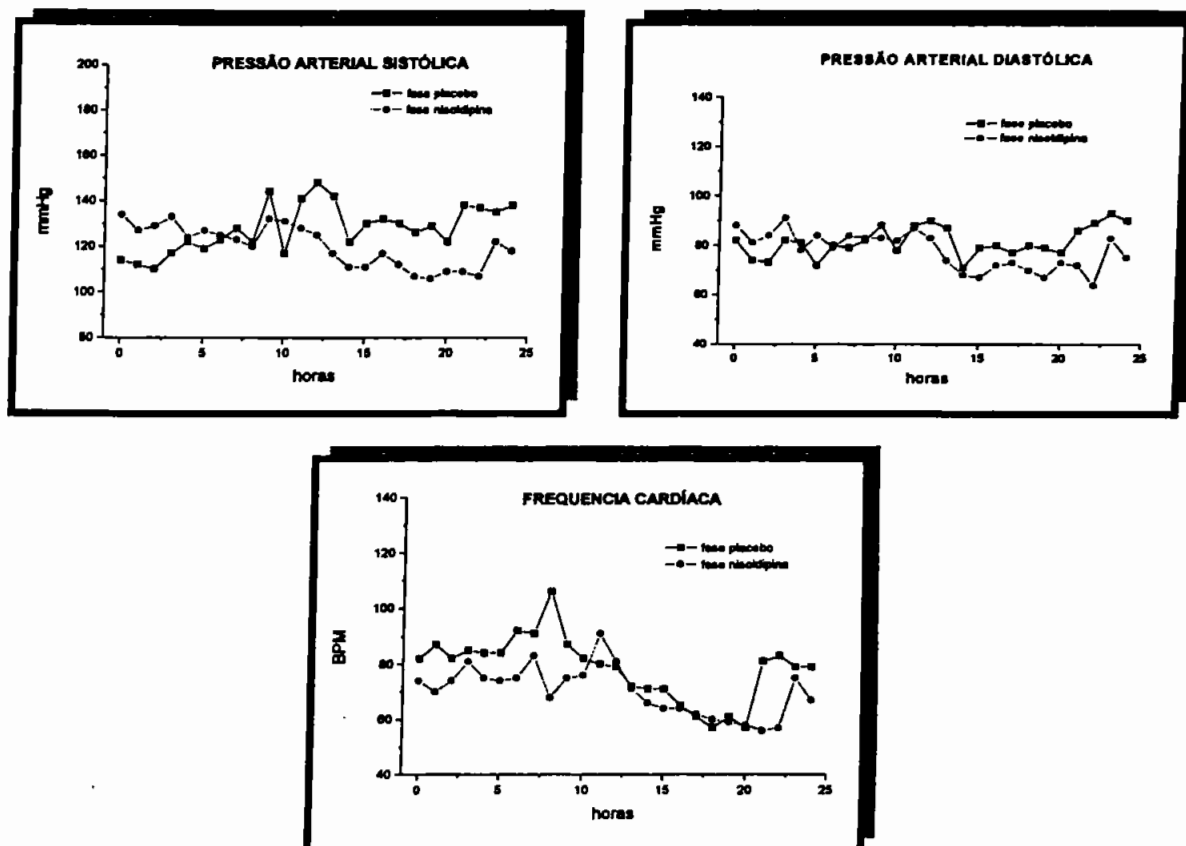


Figura. xix - Curvas de pressão arterial e freqüência cardíaca vs tempo nos períodos placebo e após dose múltipla de 20 mg de nisoldipina. Paciente D.A.P. Grupo Controle

TABELA xxxvi - Dados de pressão arterial e freqüência cardíaca nos períodos placebo e após dose múltipla da 20mg de nisoldipina. Paciente D.A.P. Grupo Controle

	Placebo				Nisoldipina			
	PAS	PAD	PAM	FC	PAS	PAD	PAM	FC
Diurno	130	79	95	65	124	80	95	74
Noturno	127	83	97	85	111	72	85	63
24h	137	81	96	78	120	78	92	70

PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média $[2/3 \times (PAS + PAD)]$; FC = freqüência cardíaca.

PACIENTE: D.S.B.

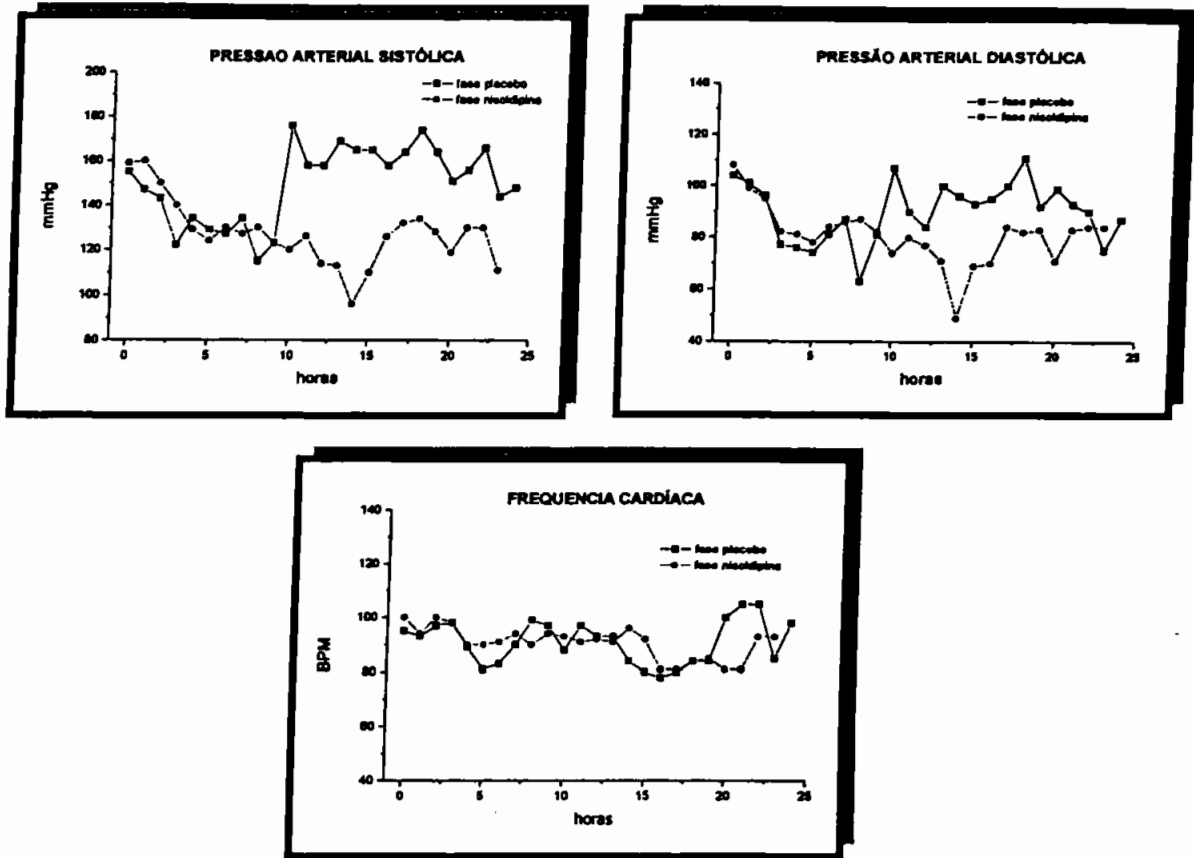


Figura xx - Curvas de pressão arterial e frequência cardíaca vs tempo nos períodos placebo e após dose múltipla de 20 mg de nisoldipina. Paciente D.S.B. Grupo Controle

TABELA xxxvii - Dados de pressão arterial e frequência cardíaca nos períodos placebo e após dose múltipla da 20mg de nisoldipina. Paciente D.S.B. Grupo Controle

	Placebo				Nisoldipina			
	PAS	PAD	PAM	FC	PAS	PAD	PAM	FC
Diurno	142	85	106	88	128	81	98	92
Noturno	133	78	97	88	121	74	90	87
24h	137	81	101	88	128	81	97	91

PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média $[2/3 \times (PAS + PAD)]$; FC = frequência cardíaca.

PACIENTE: L.K.K.B.

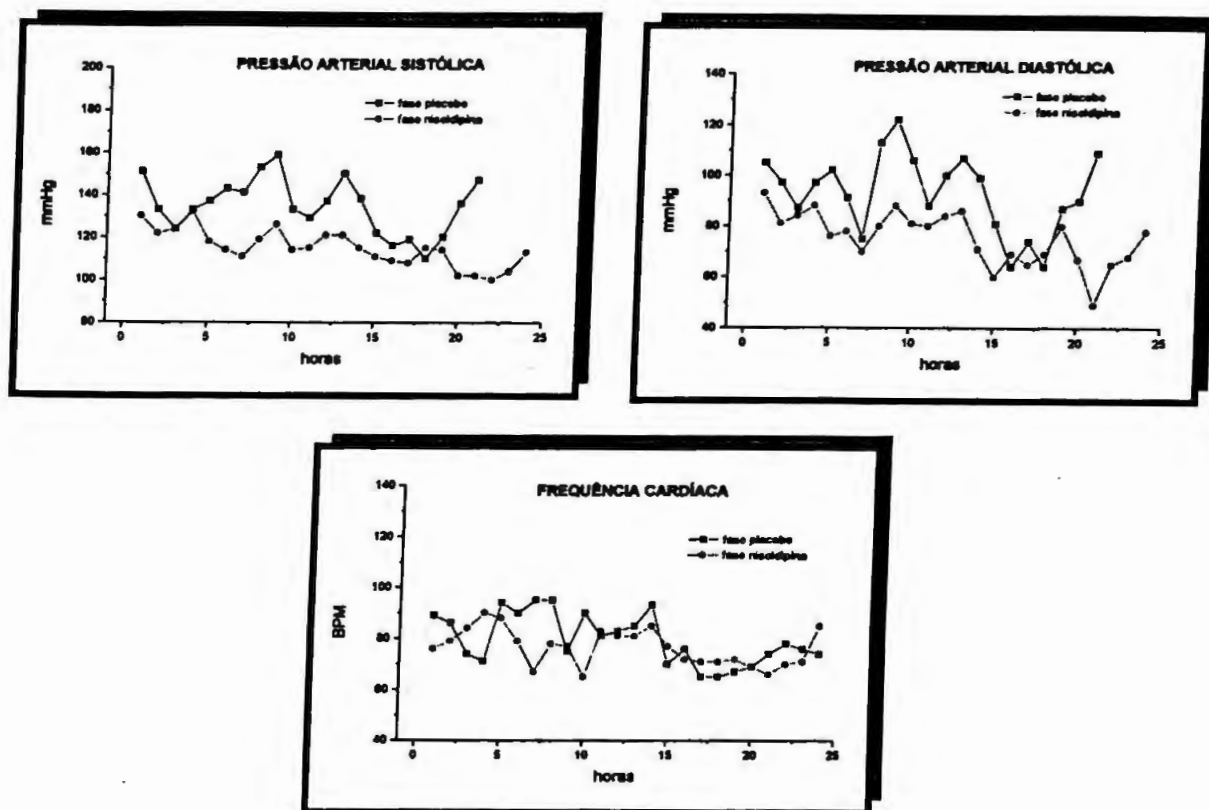


Figura xxi - Curvas de pressão arterial e freqüência cardíaca vs tempo nos períodos placebo e após dose múltipla de 20 mg de nisoldipina. Paciente L.K.K.B. Grupo Controle

TABELA xxxviii - Dados de pressão arterial e freqüência cardíaca nos períodos placebo e após dose múltipla da 20mg de nisoldipina. Paciente L.K.K.B. Grupo Controle

	Placebo				Nisoldipina			
	PAS	PAD	PAM	FC	PAS	PAD	PAM	FC
Diurno	138	95	109	83	119	80	93	79
Noturno	133	92	108	77	112	72	86	73
24h	135	93	109	80	115	75	89	77

PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média $[2/3 \times (PAS + PAD)]$; FC = freqüência cardíaca.

PACIENTE: M.R.N.B.

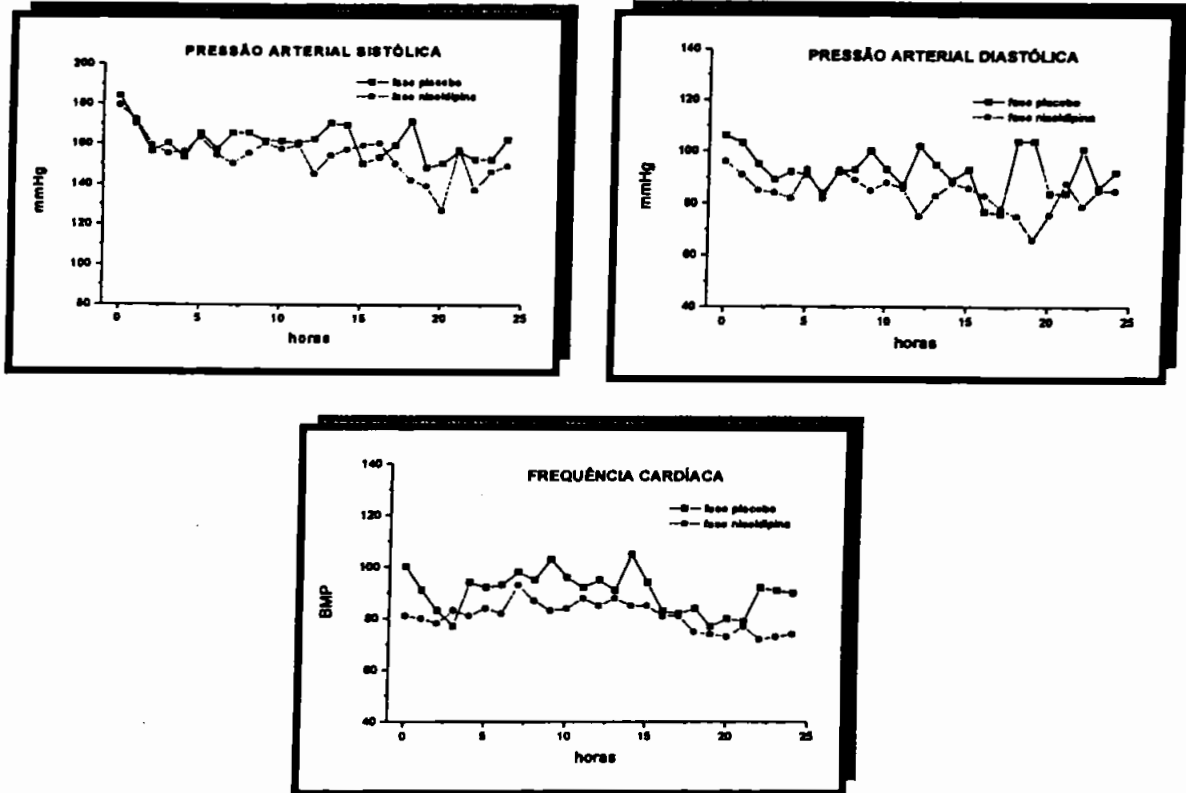


Figura xxii - Curvas de pressão arterial e frequência cardíaca vs tempo nos períodos placebo e após dose múltipla de 20 mg de nisoldipina. Paciente M.R.N.B. Grupo Controle

TABELA xxxix - Dados de pressão arterial e frequência cardíaca nos períodos placebo e após dose múltipla da 20mg de nisoldipina. Paciente M.R.N.B. Grupo Controle

	Placebo				Nisoldipina			
	PAS	PAD	PAM	FC	PAS	PAD	PAM	FC
Diurno	164	95	123	93	162	79	111	88
Noturno	151	88	115	84	144	76	105	87
24h	161	93	121	90	156	78	109	87

PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média $[2/3 \times (PAS + PAD)]$; FC = frequência cardíaca.

PACIENTE: R.A.P.A.O.

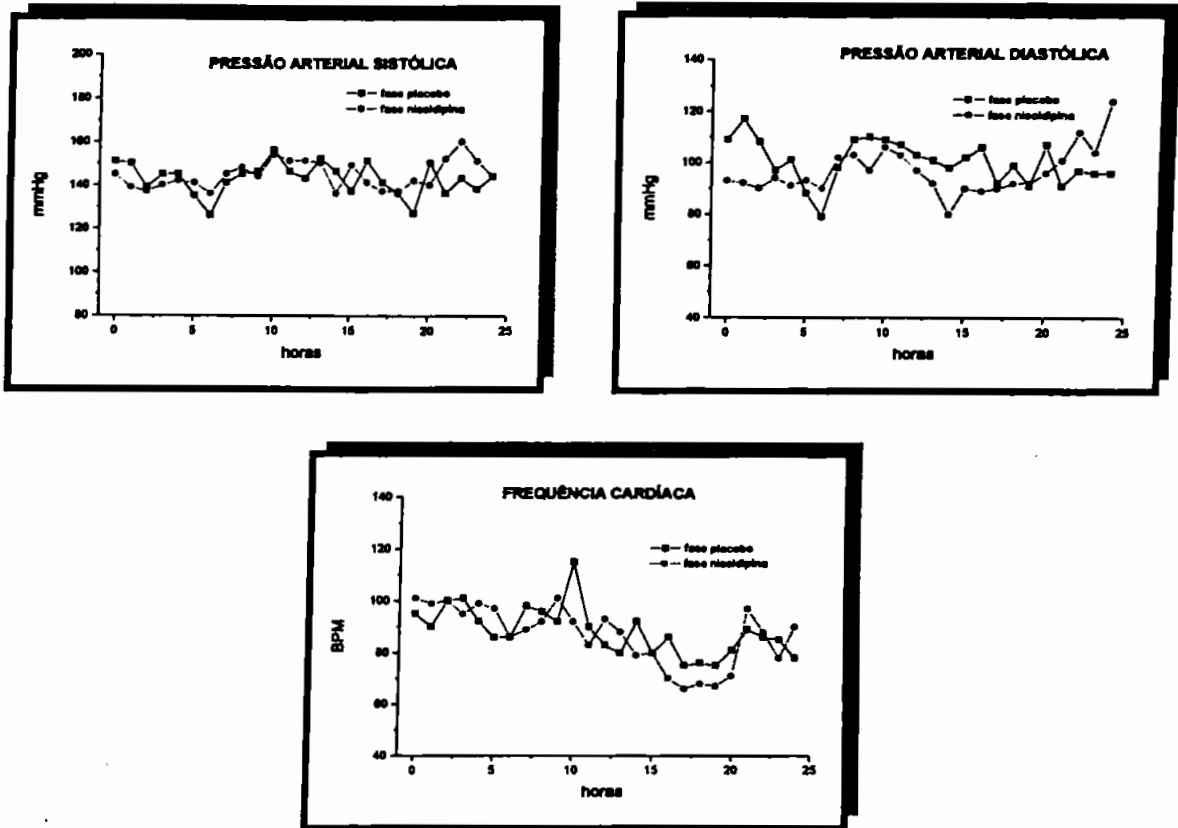


Figura xxiii - Curvas de pressão arterial e frequência cardíaca vs tempo nos períodos placebo e após dose múltipla de 20 mg de nisoldipina. Paciente R.A.P.A.O. Grupo Controle

TABELA xi - Dados de pressão arterial e frequência cardíaca nos períodos placebo e após dose múltipla da 20mg de nisoldipina. Paciente R.A.P.A.O. Grupo Controle

	Placebo				Nisoldipina			
	PAS	PAD	PAM	FC	PAS	PAD	PAM	FC
Diurno	144	102	117	92	147	99	114	93
Noturno	140	98	113	81	142	91	108	77
24h	143	100	116	88	145	96	112	87

PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média [2/3 x (PAS + PAD)]; FC = frequência cardíaca.

PACIENTE: R.M.F.S.

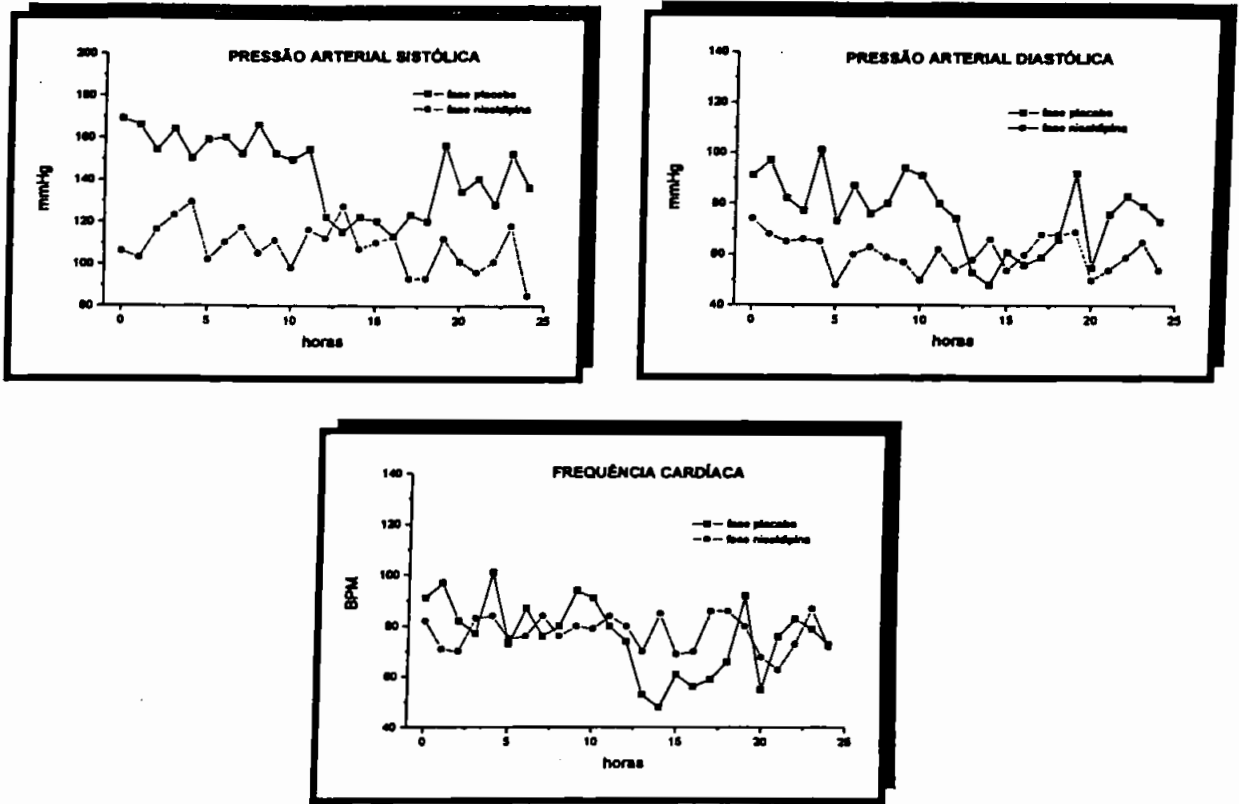


Figura xxiv - Curvas de pressão arterial e frequência cardíaca vs tempo nos períodos placebo e após dose múltipla de 20 mg de nisoldipina. Paciente R.M.F.S. Grupo Controle

TABELA xli - Dados de pressão arterial e frequência cardíaca nos períodos placebo e após dose múltipla da 20mg de nisoldipina. Paciente R.M.F.S. Grupo Controle

	Placebo				Nisoldipina			
	PAS	PAD	PAM	FC	PAS	PAD	PAM	FC
Diurno	140	83	103	94	107	63	79	76
Noturno	126	61	87	83	108	61	80	79
24h	126	61	87	86	108	62	80	78

PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média $[2/3 \times (PAS + PAD)]$; FC = frequência cardíaca.

PACIENTE: V.S.S.

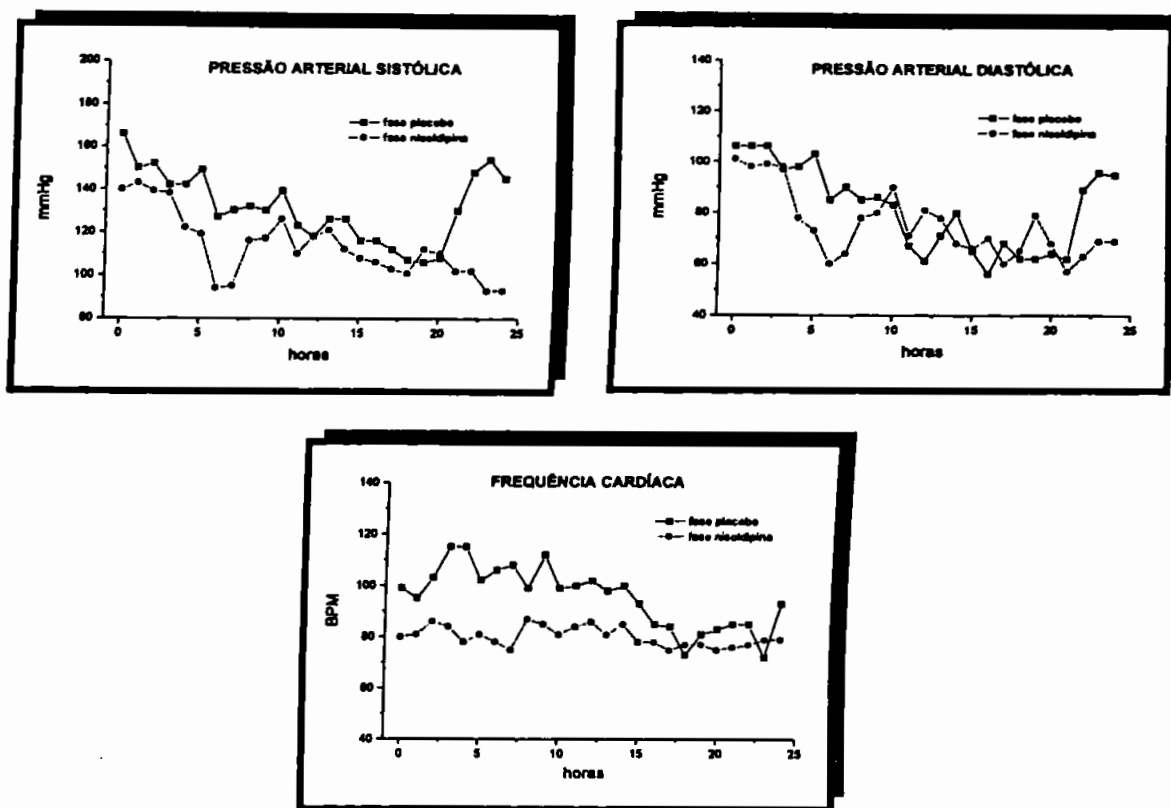


Figura xxv - Curvas de pressão arterial e frequência cardíaca vs tempo nos períodos placebo e após dose múltipla de 20 mg de nisoldipina. Paciente V.S.S. Grupo Controle

TABELA. xlii - Dados de pressão arterial e frequência cardíaca nos períodos placebo e após dose múltipla da 20mg de nisoldipina. Paciente V.S.S. Grupo Controle

	Placebo				Nisoldipina			
	PAS	PAD	PAM	FC	PAS	PAD	PAM	FC
Diurno	140	88	107	98	118	79	92	82
Noturno	115	68	85	86	106	67	80	77
24h	133	82	101	94	114	76	89	80

PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média $[2/3 \times (PAS + PAD)]$; FC = frequência cardíaca.

PACIENTE: A.F.S.

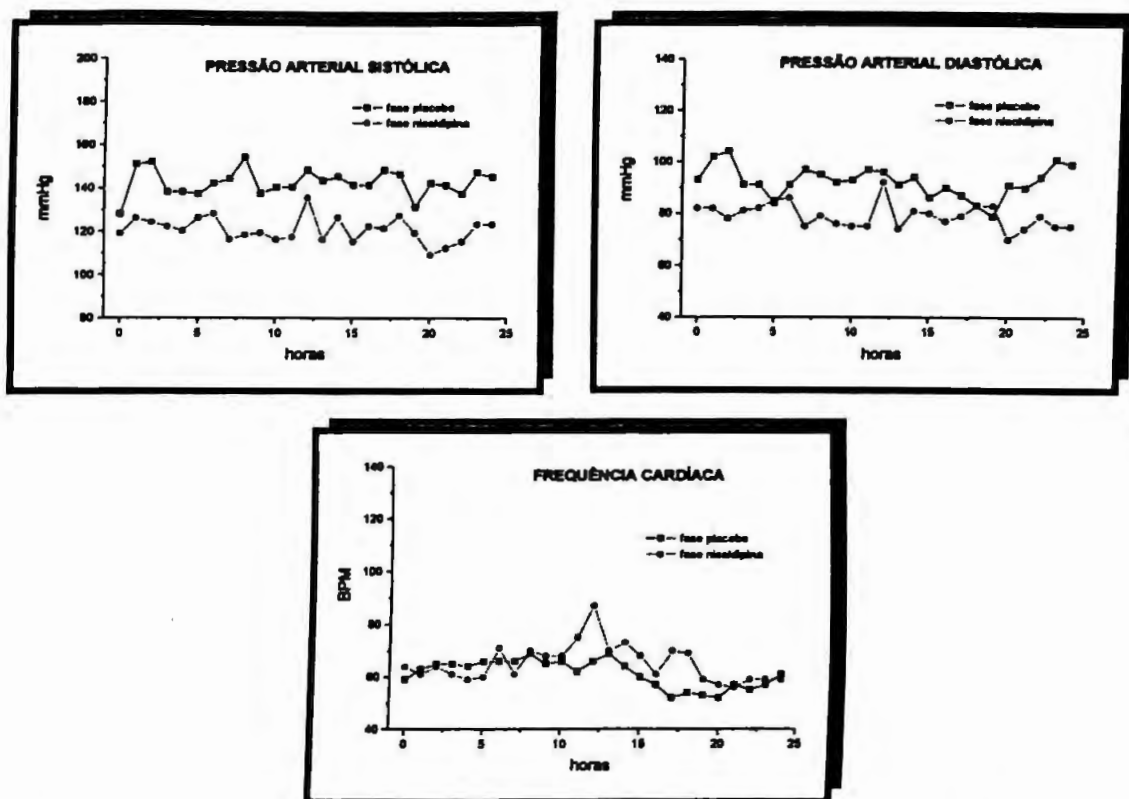


Figura xvii - Curvas de pressão arterial e freqüência cardíaca vs tempo nos períodos placebo e após dose múltipla de 20 mg de nisoldipina. Paciente A.F.S. Grupo Diabético

TABELA xliii - Dados de pressão arterial e freqüência cardíaca nos períodos placebo e após dose múltipla da 20mg de nisoldipina. Paciente A.F.S. Grupo Diabético

	Placebo				Nisoldipina			
	PAS	PAD	PAM	FC	PAS	PAD	PAM	FC
Diurno	143	94	111	64	122	80	93	67
Noturno	141	89	107	54	117	77	91	62
24h	142	92	110	61	120	79	92	65

PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média $[2/3 \times (PAS + PAD)]$; FC = freqüência cardíaca.

PACIENTE: A.G.S.

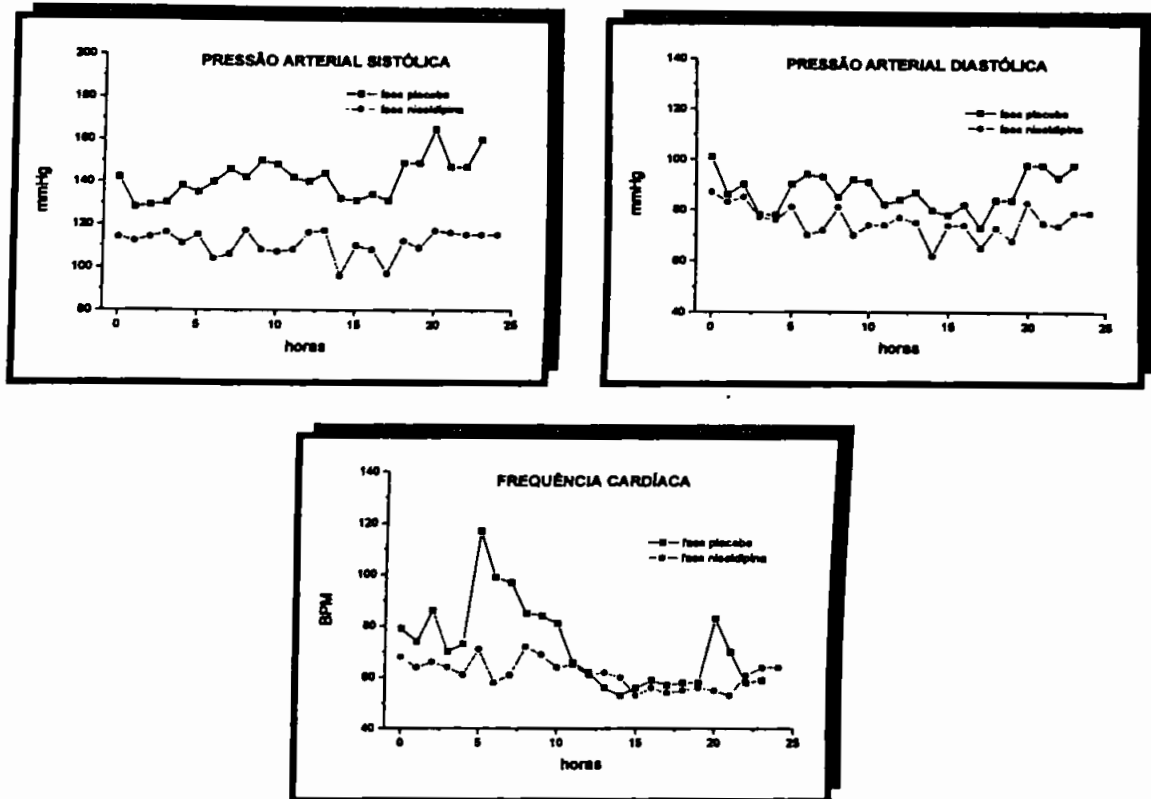


Figura xxvii - Curvas de pressão arterial e frequência cardíaca vs tempo nos períodos placebo e após dose múltipla de 20 mg de nisoldipina. Paciente A.G.S. Grupo Diabético

TABELA xliv - Dados de pressão arterial e frequência cardíaca nos períodos placebo e após dose múltipla da 20mg de nisoldipina. Paciente A.G.S. Grupo Diabético

	Placebo				Nisoldipina			
	PAS	PAD	PAM	FC	PAS	PAD	PAM	FC
Diurno	143	90	109	82	111	77	89	65
Noturno	140	84	105	65	110	73	85	58
24h	141	87	107	73	111	75	87	61

PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média $[2/3 \times (PAS + PAD)]$; FC = frequência cardíaca.

PACIENTE: A.L.B.

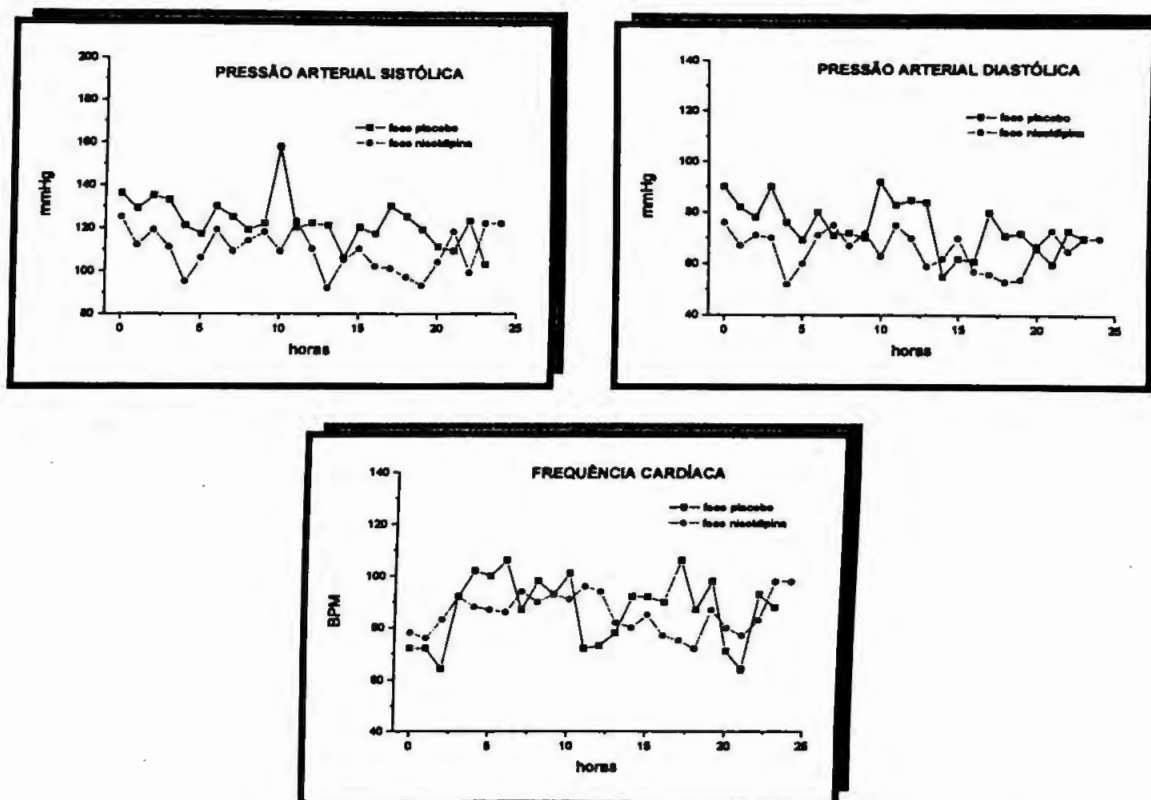


Figura xxviii - Curvas de pressão arterial e frequência cardíaca vs tempo nos períodos placebo e após dose múltipla de 20 mg de nisoldipina. Paciente A.L.B. Grupo Diabético.

TABELA xlv - Dados de pressão arterial e frequência cardíaca nos períodos placebo e após dose múltipla da 20mg de nisoldipina. Paciente A.L.B. Grupo Diabético.

	Placebo				Nisoldipina			
	PAS	PAD	PAM	FC	PAS	PAD	PAM	FC
Diurno	123	75	90	87	112	68	83	86
Noturno	121	67	84	86	106	64	79	85
24h	123	73	89	88	109	66	81	85

PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média $[2/3 \times (PAS + PAD)]$; FC = frequência cardíaca.

PACIENTE: D.I.T.

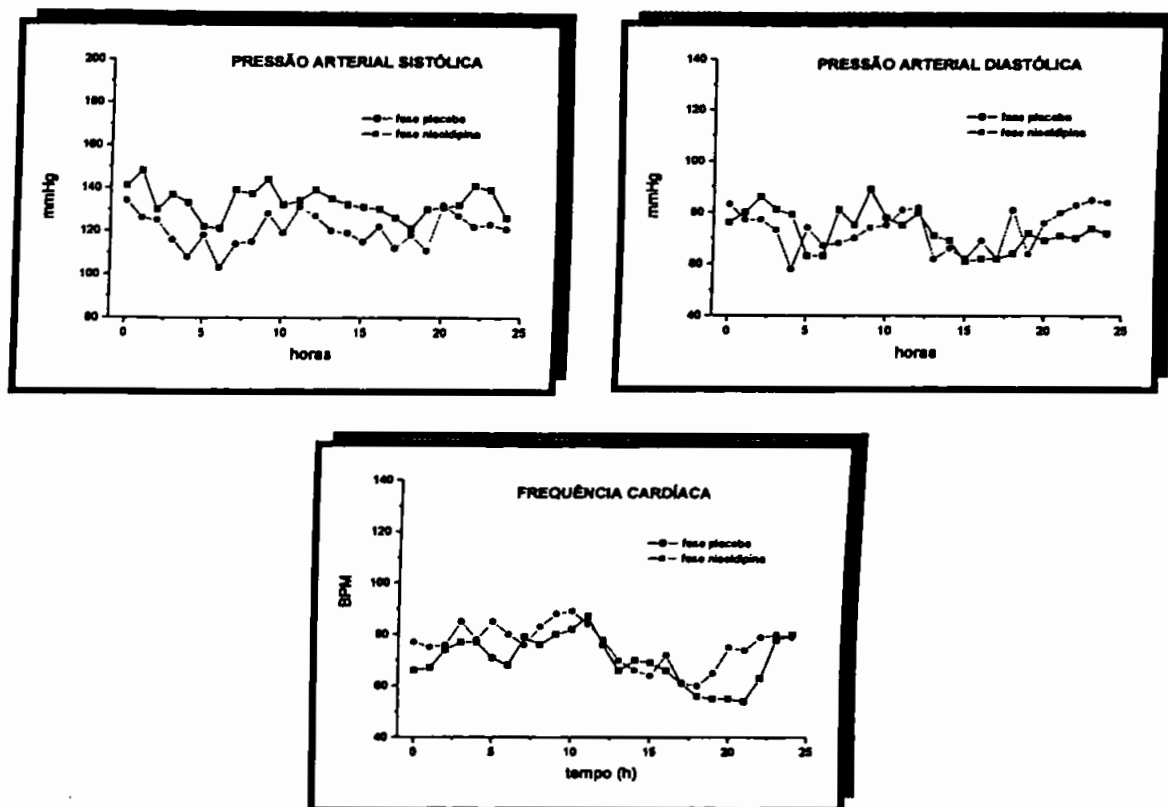


Figura xxix - Curvas de pressão arterial e frequência cardíaca vs tempo nos períodos placebo e após dose múltipla de 20 mg de nisoldipina. Paciente D.I.T. Grupo Diabético

TABELA xivi - Dados de pressão arterial e frequência cardíaca nos períodos placebo e após dose múltipla da 20mg de nisoldipina. Paciente D.I.T. Grupo Diabético

	Placebo				Nisoldipina			
	PAS	PAD	PAM	FC	PAS	PAD	PAM	FC
Diurno	135	75	99	74	121	74	92	79
Noturno	129	65	93	59	119	69	89	66
24h	133	73	98	70	120	72	91	76

PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média $[2/3 \times (PAS + PAD)]$; FC = frequência cardíaca.

PACIENTE: H.S.J.

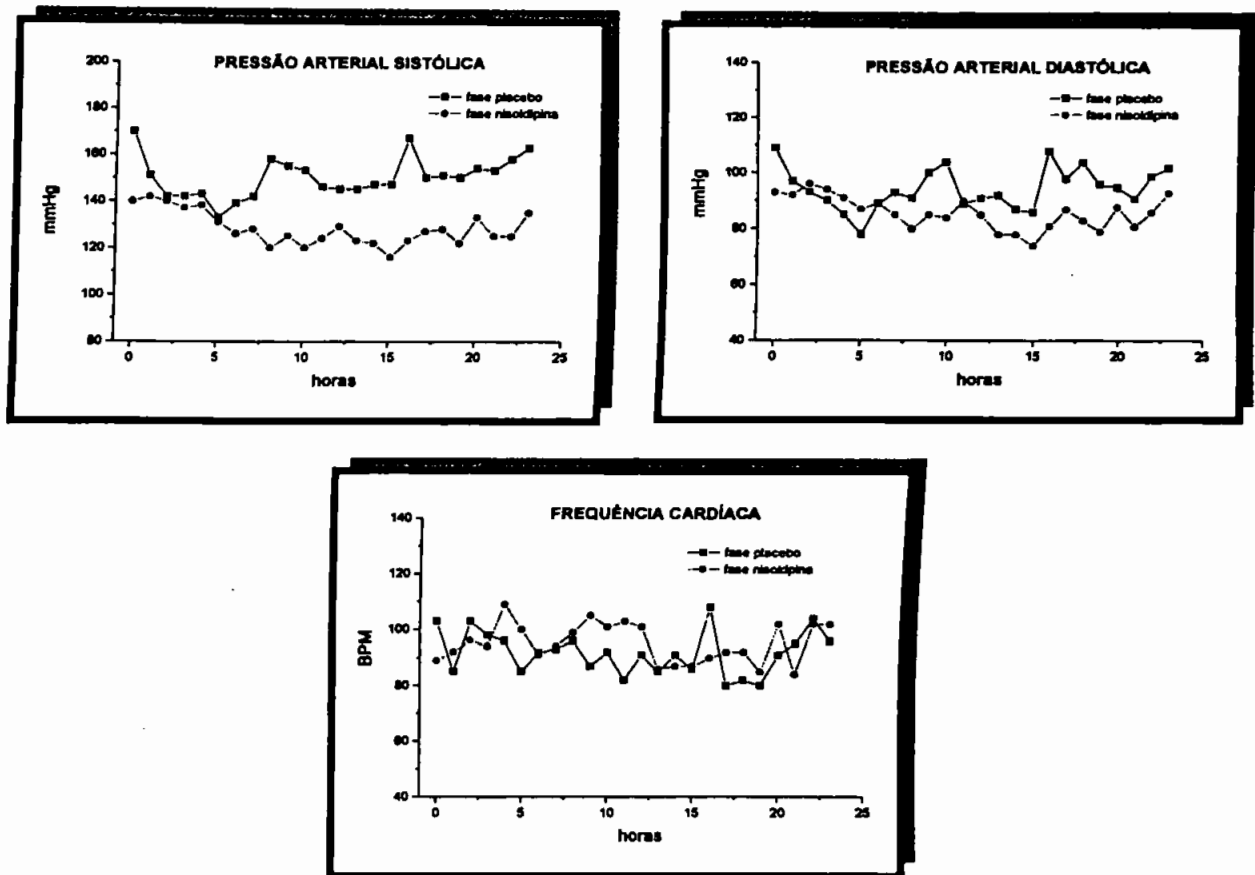


Figura xxx - Curvas de pressão arterial e frequência cardíaca vs tempo nos períodos placebo e após dose múltipla de 20 mg de nisoldipina. Paciente H.S.J. Grupo Diabético

TABELA xvii - Dados de pressão arterial e frequência cardíaca nos períodos placebo e após dose múltipla da 20mg de nisoldipina. Paciente H.S.J. Grupo Diabético.

	Placebo				Nisoldipina			
	PAS	PAD	PAM	FC	PAS	PAD	PAM	FC
Diurno	150	93	113	93	129	87	101	96
Noturno	151	96	115	88	125	82	97	91
24h	150	94	114	92	128	86	100	95

PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média $[2/3 \times (PAS + PAD)]$; FC = frequência cardíaca.

PACIENTE: I.L.S.

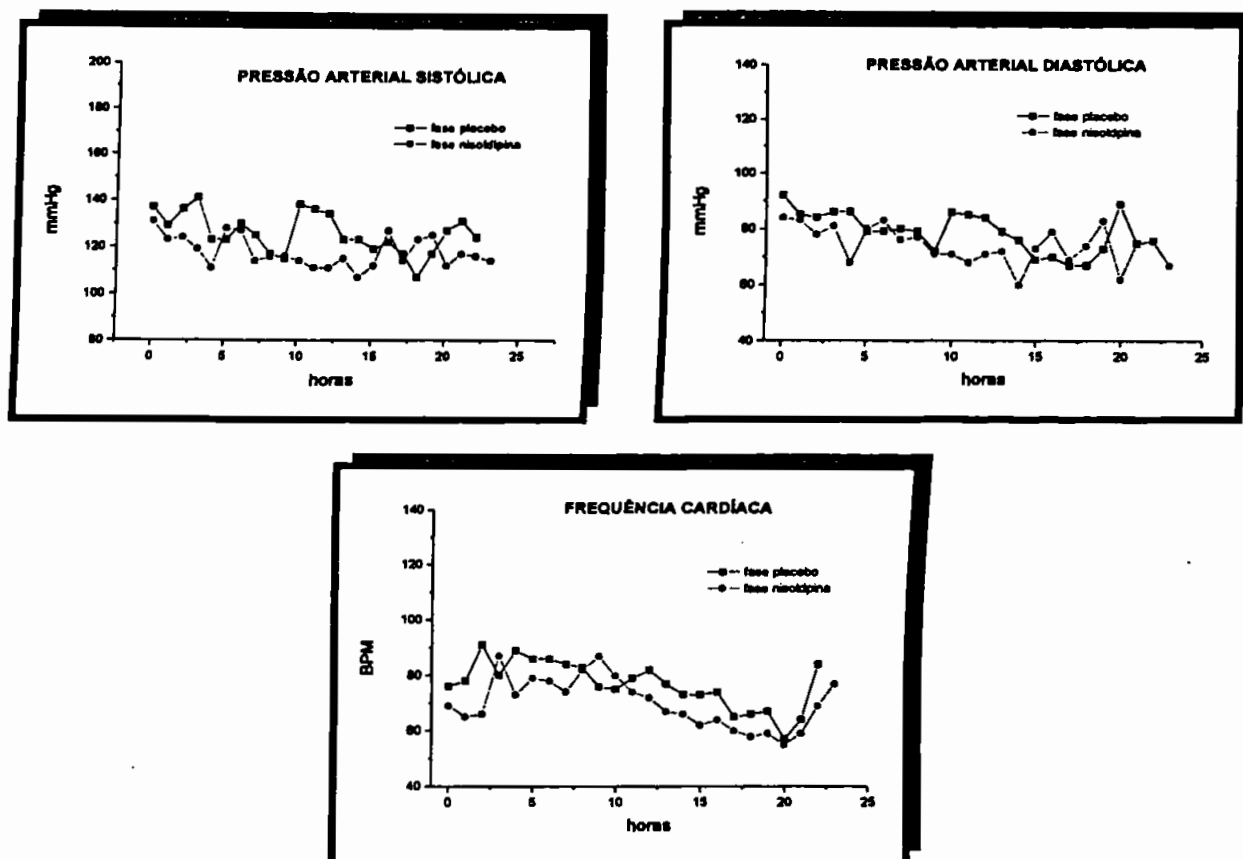


Figura xxxi - Curvas de pressão arterial e freqüência cardíaca vs tempo nos períodos placebo e após dose múltipla de 20 mg de nisoldipina. Paciente I.L.S. Grupo Diabético.

TABELA xlviii - Dados de pressão arterial e freqüência cardíaca nos períodos placebo e após dose múltipla da 20mg de nisoldipina. Paciente I.L.S. Grupo Diabético.

	Placebo				Nisoldipina			
	PAS	PAD	PAM	FC	PAS	PAD	PAM	FC
Diurno	128	81	100	81	117	74	91	73
Noturno	121	74	93	69	115	69	89	60
24h	126	79	98	77	118	74	91	70

PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média $[2/3 \times (PAS + PAD)]$; FC = freqüência cardíaca.

PACIENTE: M.A.F.

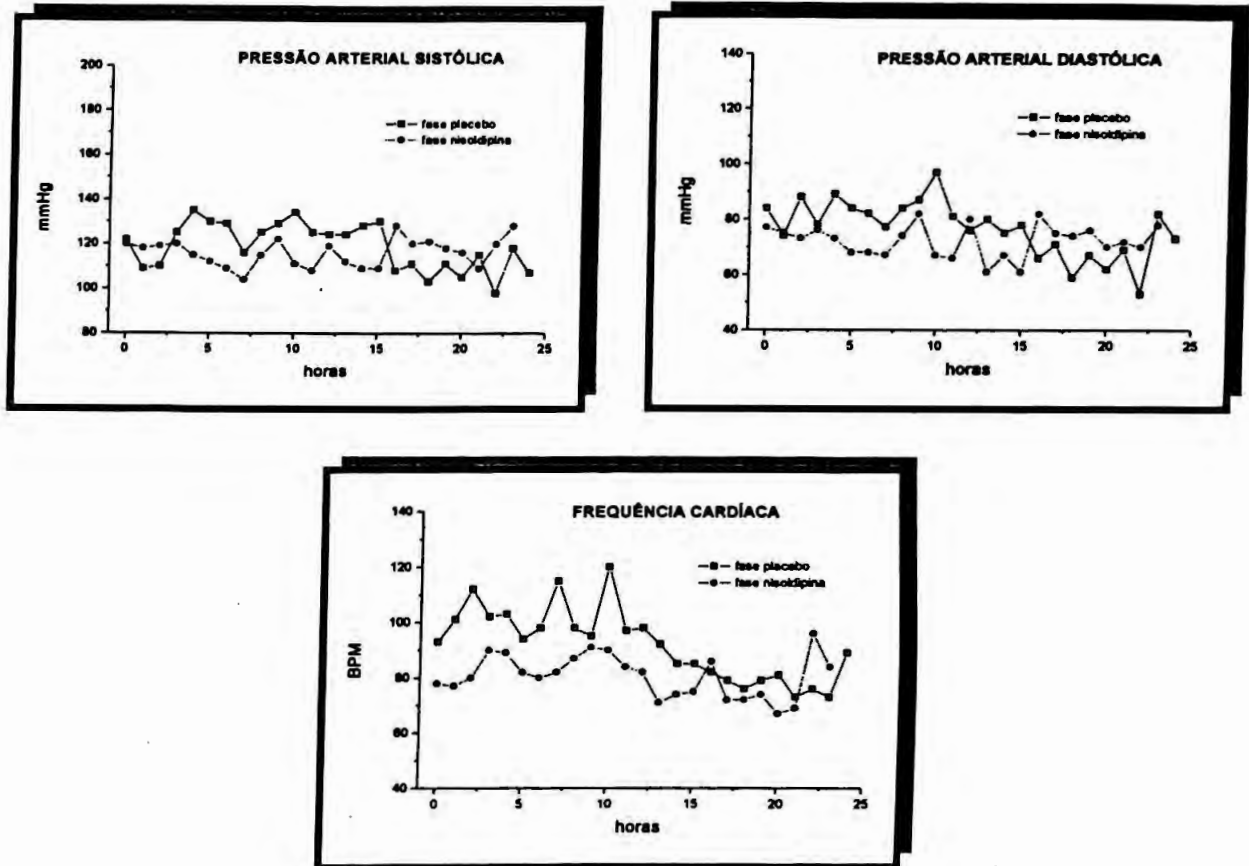


Figura xxxii - Curvas de pressão arterial e frequência cardíaca vs tempo nos períodos placebo e após dose múltipla de 20 mg de nisoldipina. Paciente M.A.F. Grupo Diabético.

TABELA. xlix - Dados de pressão arterial e frequência cardíaca nos períodos placebo e após dose múltipla da 20mg de nisoldipina. Paciente M.A.F. Grupo Diabético.

	Placebo				Nisoldipina			
	PAS	PAD	PAM	FC	PAS	PAD	PAM	FC
Diurno	130	87	102	84	120	80	95	94
Noturno	124	75	92	81	117	72	87	87
24h	128	65	80	83	119	77	91	92

PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média [$\frac{2}{3} \times (PAS + PAD)$]; FC = frequência cardíaca.

PACIENTE: M.H.F.

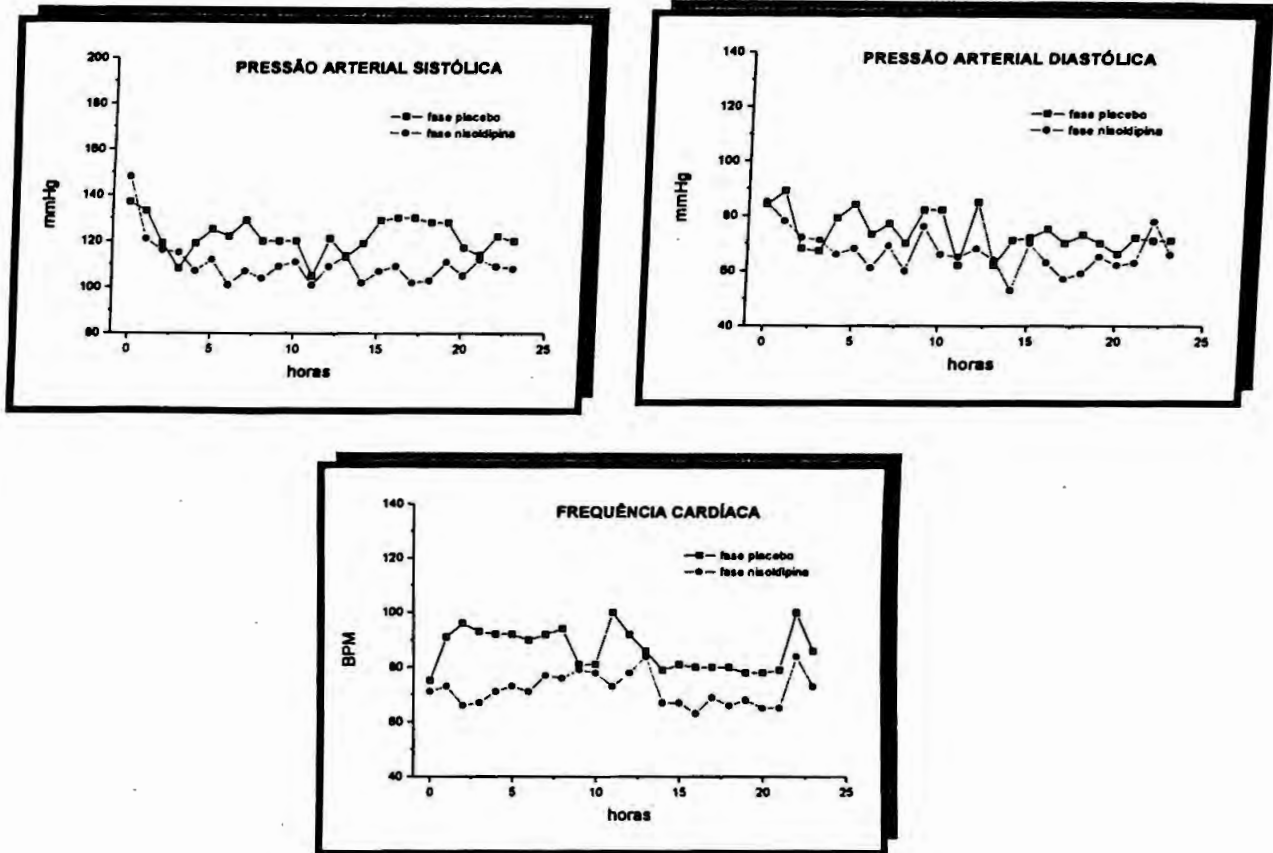


Figura xxxiii - Curvas de pressão arterial e frequência cardíaca vs tempo nos períodos placebo e após dose múltipla de 20 mg de nisoldipina. Paciente M.H.F. Grupo Diabético.

TABELA I - Dados de pressão arterial e frequência cardíaca nos períodos placebo e após dose múltipla da 20mg de nisoldipina. Paciente M.H.F. Grupo Diabético.

	Placebo				Nisoldipina			
	PAS	PAD	PAM	FC	PAS	PAD	PAM	FC
Diurno	121	75	90	90	111	69	82	73
Noturno	124	71	87	79	107	64	78	70
24h	122	74	89	87	122	67	114	100

PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média $[2/3 \times (PAS + PAD)]$; FC = frequência cardíaca.

PACIENTE: M.H.M.S.

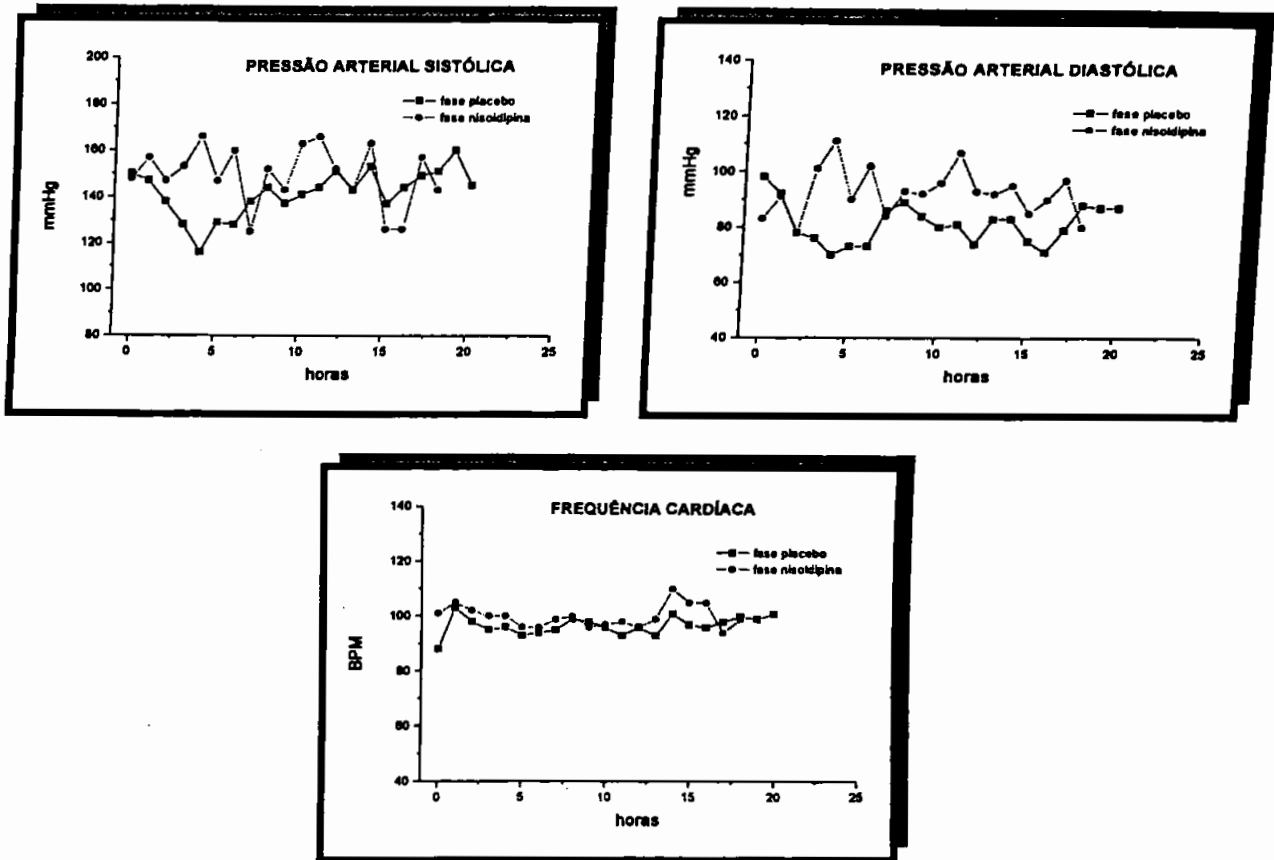


Figura xxxiv - Curvas de pressão arterial e frequência cardíaca vs tempo nos períodos placebo e após dose múltipla de 20 mg de nisoldipina. Paciente M.H.M.S. Grupo Diabético

TABELA li - Dados de pressão arterial e frequência cardíaca nos períodos placebo e após dose múltipla da 20mg de nisoldipina. Paciente M.H.M.S. Grupo Diabético

	Placebo				Nisoldipina			
	PAS	PAD	PAM	FC	PAS	PAD	PAM	FC
Diurno	144	86	107	96	155	92	114	100
Noturno	146	82	104	97	148	93	113	99
24h	142	82	103	97	151	93	114	100

PAS = pressão arterial sistólica; PAD = pressão arterial diastólica; PAM = pressão arterial média [2/3 x (PAS +PAD)]; FC = frequência cardíaca.

**7. CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS
DE LIDOCAÍNA E MEGX:
DADOS INDIVIDUAIS**

TABELA Iii - Concentrações plasmáticas de lidocaína e MEGX em 15 e 30 min após infusão de 1 mg/kg de lidocaína. Grupo Controle

	Lidocaína 15 min (µg/ml)	MEGX 15 min (ng/ml)	Lidocaína/ MEGX 15 min	Lidocaína 30 min (µg/ml)	MEGX 30 min (ng/ml)	Lidocaína/ MEGX 30 min
C.M.C.	1,7	61,9	27,5	0,8	75,9	10,5
D.A.P.	0,8	59,9	13,3	0,4	58,3	6,9
D.S.B.	2,6	81,9	31,7	1,1	108,2	10,2
L.K.K.B.	1,7	19,6	86,7	0,7	41,9	16,7
M.R.N.B.	2,5	63,6	39,3	1,3	69,3	18,8
R.A.P.A.O.	1,2	49,0	25,0	0,5	45,6	11,0
R.M.F.S.	2,8	63,2	24,5	0,6	74,6	8,0
V.S.S.	1,8	133,2	13,5	0,6	133,9	4,5

TABELA Iiii - Concentrações plasmáticas de lidocaína e MEGX em 15 e 30 min após infusão de 1 mg/kg de lidocaína. Grupo Diabético

	Lidocaína 15 min (µg/ml)	MEGX 15 min (ng/ml)	Lidocaína/ MEGX 15 min	Lidocaína 30 min (µg/ml)	MEGX 30 min (ng/ml)	Lidocaína/ MEGX 30 min
A.F.S.	2,7	43,0	62,7	1,1	53,7	20,1
A.G.S.	2,7	73,8	36,5	0,4	54,7	7,3
A.L.B.	1,8	52,0	34,6	0,7	34,9	20,6
D.I.T.	2,7	23,4	115,4	0,9	81,5	11,0
H.S.J.	1,6	28,6	55,9	0,6	30,6	19,6
I.L.S.	2,7	40,0	67,5	1,1	42,9	25,6
M.H.F.	2,3	51,3	44,8	1,4	65,6	21,3
M.H.M.S.	2,1	28,6	73,4	0,7	30,2	23,2

**8. CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS
DE NORADRENALINA:
DADOS INDIVIDUAIS**

TABELA liv - Concentrações plasmáticas de noradrenalina. Grupo Controle.

	Basal (pmol/ml plasma)	Placebo (pmol/ml plasma)	Nisoldipina (pmol/ml plasma)
C.M.C.	4,2	4,4	7,0
D.A.P.	4,1	-	2,7
D.S.B	2,2	1,7	1,7
L.K.K.B.	1,3	1,3	6,1
M.R.N.B	1,9	4,4	5,9
R.A.P.A.O.	3,5	3,5	5,3
R.M.F.S.	2,1	2,5	5,0
V.S.S.	2,3	1,3	2,6

TABELA. Iv - Concentrações plasmáticas de noradrenalina. Grupo Diabético.

	Basal (pmol/ml plasma)	Placebo (pmol/ml plasma)	Nisoldipina (pmol/ml plasma)
A.F.S.	0,9	1,3	2,0
A.G.S.	2,4	0,6	2,4
A.L.B.	1,3	1,1	1,7
D.I.T.	2,3	1,3	4,4
H.S.J.	3,6	3,0	4,3
I.L.S.	1,1	3,3	3,7
M.A.F.	1,3	0,9	2,8
M.H.F.	2,1	2,1	2,4
M.H.M.S	1,5	1,5	2,0