

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

EDUARDO GOMES

ANÁLISE COMPARATIVA DA FARMACOCINÉTICA DO ENALAPRIL E DA HIDROCLOROTIAZIDA QUANDO UTILIZADOS EM FORMULAÇÃO ISOLADA E EM ASSOCIAÇÃO

FLORIANÓPOLIS
2011

EDUARDO GOMES

ANÁLISE COMPARATIVA DA FARMACOCINÉTICA DO ENALAPRIL E DA HIDROCLOROTIAZIDA QUANDO UTILIZADOS EM FORMULAÇÃO ISOLADA E EM ASSOCIAÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Modalidade Profissional em Farmacologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção de título de Mestre em Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Jamil Assreuy

FLORIANÓPOLIS
2011

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária
da
Universidade Federal de Santa Catarina

G633a Gomes, Eduardo

Análise comparativa da farmacocinética do enalapril e da hidroclorotiazida quando utilizados em formulação isolada e em associação [dissertação] / Eduardo Gomes ; orientador, Jamil Assreuy. - Florianópolis, SC, 2011.
87 p.: il., grafs., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

Inclui referências

1. Farmacologia. 2. Hipertensão. 3. Farmacocinética.
4. Associação. 5. Enalapril. 6. Hidroclorotiazida. I. Assreuy, Jamil. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. III. Título.

CDU 615

À Cenira, minha esposa, e minhas filhas Helena e Maria Clara, sem as quais nada teria sentido. Amo vocês.

A Antonio Gomes e Aparecida Verri Gomes, pelo orgulho de ser seu filho.

Aos membros de minha família, pilares das minhas conquistas.

Abraço especial a Helena Maria, Laís e Renan.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Jamil Assreuy, pela orientação, paciência, sabedoria, educação e oportunidade de conhecê-lo.

A Naura Tonin Angonese, pelos livros, conselhos, apoio, por até trabalhar por mim e pelas incansáveis correções de texto.

A Josélia Larger Manfio, pela oportunidade, orientação e parceria sempre agregadora.

Aos meus sócios, Katsuyoshi Sumi e Rafael Patino Cruzatti, pela parceria, compreensão e apoio em todas as minhas faltas.

A Maurício Bedin dos Santos, pela amizade, dedicação e apoio estatístico.

A todos os colaboradores da Biocinese, sem os quais este trabalho não seria possível.

Ao casal Luís e Carmen Donaduzzi, pela oportunidade gerada pelo empreendedorismo e preocupação constante com a evolução de seus colaboradores e da cidade de Toledo.

Ao Professor Dr. Euclides Lara Cardozo Junior, pela paciência e sabedoria na condução de nosso curso.

A todos os professores e colegas de turma, por terem transformado esses 2 anos em um período curto, harmônico e tão saudoso.

À UNIPAR, por propiciar um excepcional ambiente de estudo durante o curso.

À empresa BIOCINESE – Centro de Estudos Biofarmaceuticos Ltda., que gentilmente cedeu todos os dados utilizados neste estudo.

RESUMO

A associação de medicamentos no tratamento da hipertensão arterial pode, através de efeitos sinérgicos e aditivos, atingir mais rapidamente o ajuste pressórico. Este estudo objetiva analisar a interação farmacocinética e o comportamento farmacodinâmico do maleato de enalapril e da hidroclorotiazida, administrados em associação fixa, para indivíduos saudáveis, em comparação à sua administração isolada. Selecionou-se dados dos medicamentos de referência no Brasil para os fármacos maleato de enalapril (20 mg), hidroclorotiazida (50 mg) e sua associação (10 mg/25 mg, respectivamente), obtidos em 8 estudos de bioequivalência farmacêutica, realizados entre janeiro de 2006 e setembro de 2009. Formaram-se 3 grupos: o do enalapril isolado (n=69); o da hidroclorotiazida isolada (n=68); e da associação (n=49). Calculou-se, para cada fármaco, os parâmetros farmacocinéticos, e registrou-se os sinais vitais dos indivíduos – pressão sistólica, diastólica e pulso – 1 hora antes da administração, e nos tempos relacionados à concentração máxima de cada medicamento, neste caso, tempo de 1 hora para o enalapril e de 5 horas para seu metabólito ativo (enalaprilato), e tempo de 3 horas para a hidroclorotiazida. Realizou-se curva de monitoramento plasmático das medicações, nos 3 grupos, a fim de comprovar o comportamento farmacocinético linear, e permitir comparação de diferentes dosagens dos fármacos. Os parâmetros de C_{max}, T_{max} e ASC 0-t foram comparados entre os grupos, para cada fármaco. Os dados clínicos foram analisados entre os grupos e também dentro de cada grupo. Em todas as análises se utilizou nível de significância de 5% ($\alpha=0,05$). O enalapril não apresentou diferença farmacocinética entre o uso isolado ou associado. A hidroclorotiazida apresentou ASC 0-t significativamente maior quando associada (p=0,0077), mas não se alterou quanto a C_{max} e T_{max}. Todos os indivíduos apresentaram elevação significativa do pulso após a tomada das medicações. No T_{max} do enalapril, não houve alteração na pressão arterial, porém, no T_{max} do enalaprilato, seu metabólito ativo, houve queda significativa, tanto isolado quanto associado. A queda de pressão sistólica no grupo relacionado ao enalaprilato associado foi significativamente maior (p<0,002) do que quando isolado, mesmo sob efeito de metade da dosagem do enalapril. Apenas a hidroclorotiazida associada apresentou impacto de queda significativa nos níveis tensionais. Concluiu-se que a hidroclorotiazida sofreu interferência na sua farmacocinética na presença do enalapril, com aumento da ASC 0-t, ampliando seu potencial de ação. Os valores de pressão arterial sofreram redução nos tempos correspondentes ao efeito máximo do enalaprilato isolado e

associado, e da hidroclorotiazida associada. Os efeitos sinérgicos encontrados incentivam a utilização desta associação fixa no tratamento da hipertensão, principalmente por manter a ação hipotensora, mesmo com redução de dose e riscos.

Palavras-chave: hipertensão arterial, farmacocinética, associação, enalapril, hidroclorotiazida.

ABSTRACT

The combination of drugs for the treatment of arterial hypertension can achieve, through synergistic and additive effects, faster the pressoric adjustment. This study aims at analyzing the pharmacokinetics interaction and the pharmacodynamic behavior of enalapril maleate and hydrochlorothiazide, administered in fixed combination, for healthy individuals, compared to their isolated administration. Data of the reference products in Brazil for the drugs: enalapril maleate (20 mg), hydrochlorothiazide (50 mg) and the combination (10 mg / 25 mg, respectively), obtained in eight pharmaceutical bioequivalence studies carried out between January 2006 and September 2009 were selected. Three groups were formed: isolated enalapril (n=69), isolated hydrochlorothiazide (n=68), and the combination (n=49). The pharmacokinetic parameters for each drug were calculated, and the vital signs of individuals – systolic and diastolic pressure and pulse were registered - 1 hour before administration, and in times related to the maximum concentration of each drug, in this case, 1 hour for enalapril and 5 hours for its active metabolite (enalaprilat), and 3 hours for hydrochlorothiazide. Plasmatic monitoring curve of the medication was carried out in the 3 groups, in order to prove the linear pharmacokinetic behavior, and allow comparison of different dosages of drugs. The C_{max}, T_{max} and ASC(0-t) parameters were compared between the groups, for each drug. Clinical data were analyzed between the groups and also within each group. In all the analysis a significance level of 5% ($\alpha = 0.05$) was applied. Enalapril has shown no difference between its isolated or combined use. Hydrochlorothiazide has shown ASC(0-t) significantly higher when associated (p=0.0077), but it has not changed in the C_{max} and T_{max}. All subjects have shown significant pulse elevation after taking the medication. In the T_{max} of enalapril, there has been no change in blood pressure, yet, in the T_{max} of enalaprilat, its active metabolite, there has been a significantly drop, either isolated or combined. The systolic pressure drop in the group related to the combined enalaprilat has been significantly higher (p < 0.002) than when isolated, even under effect of half the enalapril dosage. Only the combined hydrochlorothiazide has shown significantly drop impact in tensional levels. It was concluded that hydrochlorothiazide suffered interference in its pharmacokinetics in the presence of enalapril, with the increase of ASC(0-t), enlarging its action potential. The blood pressure values have reduced in times corresponding to the isolated and combined enalaprilat maximum effect, and combined hydrochlorothiazide. Synergistic effects found encourage the use of this

fixed combination in the hypertension treatment, mainly by keeping the hypotensive action, even with reduction of dose and risks.

Keywords: hypertension, pharmacokinetics, association, enalapril, hydrochlorothiazide

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1** - CURVAS DAS MÉDIAS DE CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DO ENALAPRIL ISOLADO, 20 MG (N=69) E ASSOCIADO À HIDROCLOROTIAZIDA (10MG +25MG) (N=49) 49
- FIGURA 2** - CURVAS DAS MÉDIAS DE CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DA HIDROCLOROTIAZIDA ISOLADA, NA DOSE DE 50 MG (N=68) E ASSOCIADA AO ENALAPRIL (25 MG+10 MG) (N=49) 52
- FIGURA 3** – VALORES COMPARATIVOS DE CONCENTRAÇÃO MÁXIMA DO ENALAPRIL ADMINISTRADO ISOLADO (20 MG; N=69) E ASSOCIADO (10 MG; N=49)..... 54
- FIGURA 4** - VALORES COMPARATIVOS DE ASC 0-T DO ENALAPRIL ADMINISTRADO ISOLADO (20 MG; N=69) E ASSOCIADO (10 MG; N=49)..... 55
- FIGURA 5** – VALORES COMPARATIVOS DE CONCENTRAÇÃO MÁXIMA DA HIDROCLOROTIAZIDA ADMINISTRADA ISOLADA (50 MG; N=68) E ASSOCIADA (25MG; N=49)..... 57
- FIGURA 6** - VALORES COMPARATIVOS DE ASC 0-T DA HIDROCLOROTIAZIDA ADMINISTRADA ISOLADA (50 MG; N=68) E ASSOCIADA (25 MG; N=49)..... 58
- FIGURA 7** – COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS ANTES E 1 HORA APÓS ADMINISTRAÇÃO DE 20 MG DE ENALAPRIL A 69 VOLUNTÁRIOS 59
- FIGURA 8** - COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS ANTES E 5 HORAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DE 20 MG DE ENALAPRIL A 69 VOLUNTÁRIOS 60
- FIGURA 9** - COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS ANTES E 3 HORAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DE 50 MG DE HIDROCLOROTIAZIDA A 68 VOLUNTÁRIOS 61
- FIGURA 10** - COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS ANTES E 1 HORA APÓS ADMINISTRAÇÃO (TMAX DO ENALAPRIL) DA

ASSOCIAÇÃO ENALAPRIL 10 MG E HIDROCLOROTIAZIDA 25 MG A 49 VOLUNTÁRIOS.....62

FIGURA 11 - COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS ANTES E 3 HORAS APÓS ADMINISTRAÇÃO (TMAX DA HIDROCLOROTIAZIDA) DA ASSOCIAÇÃO DE ENALAPRIL 10 MG E HIDROCLOROTIAZIDA 25 MG A 49 VOLUNTÁRIOS.....63

FIGURA 12 - COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS ANTES E 5 HORAS APÓS ADMINISTRAÇÃO (TMAX DO ENALAPRILATO) DA ASSOCIAÇÃO ENALAPRIL 10 MG E HIDROCLOROTIAZIDA 25 MG A 49 VOLUNTÁRIOS.....64

FIGURA 13 – COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS ENTRE OS GRUPOS QUE RECEBERAM ENALAPRIL ISOLADO (DOSE DE 20 MG; N=69) E ASSOCIADO (DOSE DE 10 MG + 25 MG DE HTZ; N=49) NO TMAX DO ENALAPRILATO.....66

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - MÉDIAS DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DO ENALAPRIL ADMINISTRADO ISOLADAMENTE NA DOSE DE 20 MG, POR VIA ORAL, A 69 VOLUNTÁRIOS 47

TABELA 2 – MÉDIAS DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DO ENALAPRIL ADMINISTRADO NA DOSE DE 10 MG, ASSOCIADO A 25 MG DE HIDROCLOROTIAZIDA, POR VIA ORAL, A 49 VOLUNTÁRIOS..... 48

TABELA 3 – MÉDIAS DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DA HIDROCLOROTIAZIDA ADMINISTRADA ISOLADAMENTE, NA DOSE DE 50 MG, POR VIA ORAL, A 68 VOLUNTÁRIOS 50

TABELA 4 – MÉDIAS DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DA HIDROCLOROTIAZIDA ADMINISTRADA NA DOSE DE 25 MG, ASSOCIADA A 10 MG DE ENALAPRIL, POR VIA ORAL, A 49 VOLUNTÁRIOS. 51

TABELA 5 – RESUMO DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DO ENALAPRIL ADMINISTRADO ISOLADAMENTE, NA DOSE DE 20 MG, POR VIA ORAL, A 69 VOLUNTÁRIOS, E ASSOCIADO, NA DOSE DE 10 MG + 25 MG HTZ, POR VIA ORAL, A 49 VOLUNTÁRIOS 53

TABELA 6 – RESUMO DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DA HIDROCLOROTIAZIDA ADMINISTRADA ISOLADAMENTE, NA DOSE DE 50 MG, POR VIA ORAL, A 68 VOLUNTÁRIOS, E ASSOCIADA, NA DOSE DE 25 MG + 10 MG DE ENALAPRIL, POR VIA ORAL, A 49 VOLUNTÁRIOS 55

TABELA 7 – COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS NO TMAX DO ENALAPRIL ENTRE AS ADMINISTRAÇÕES DO FÁRMACO ISOLADO (DOSE 20 MG; N=69) E ASSOCIADO (DOSE 10 MG + 25 MG HTZ; N=49)..... 65

TABELA 8 – COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS NO TMAX DA HIDROCLOROTIAZIDA ENTRE AS ADMINISTRAÇÕES DO

FÁRMACO ISOLADO (DOSE DE 50 MG; N= 68) E ASSOCIADO
(DOSE DE 25 MG + 10 MG ENALAPRIL; N=49).....65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	– Análise de Variância
ANVISA	– Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASC 0-inf	– Área Sob a Curva do tempo zero ao infinito
ASC 0-t	– Área Sob a Curva do tempo 0 até a última quantificação do fármaco
bpm	– batimentos por minuto
BPF	– Fator Potenciador da Bradicininina
β -HCG	– gonadotrofina coriônica beta
CEP	– Comitê de Ética em Pesquisa
Cl	– Clearance
Cmax	– Concentração máxima
CV	– Coeficiente de Variação
ECA	– Enzima Conversora de Angiotensina
FDA	– Food and Drug Administration
h	– hora
hx*ng/ml	– hora versus nanograma por mililitro
HTZ	– hidroclorotiazida
IC	– Intervalo de Confiança
Kel	– coeficiente de eliminação
Kg	– quilograma
LC	– Cromatografia Líquida
mg	– miligramas
ml/min	– mililitro por minuto
mmHg	– milímetros de mercúrio
MS	– Espectrometria de Massas
n	– número de indivíduos
ng/ml	– nanograma por mililitro
RE	– resolução
T1/2	– Tempo de meia-vida
Tmax	– Tempo para concentração máxima
UI/ml	– unidades internacionais por mililitro
V	– Volume de distribuição

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
1.1 HIPERTENSÃO ARTERIAL	21
1.2 ASSOCIAÇÕES FIXAS DE ANTI-HIPERTENSIVOS	25
1.3 ENALAPRIL	27
1.4 HIDROCLOROTIAZIDA	29
1.5 CONCEITOS E PRINCÍPIOS FARMACOCINÉTICOS	31
2 OBJETIVOS	34
2.1 OBJETIVOS GERAIS	34
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
3.1 METODOLOGIA DE ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA FARMACÊUTICA	37
3.1.1 Elaboração e aprovação de protocolo.....	37
3.1.2 Delineamento do estudo	38
3.1.3 Etapa clínica	38
3.1.4 Etapa analítica	41
3.1.5 Etapa estatística	41
3.2 CURVAS DE MONITORAMENTO PLASMÁTICO	43
3.3 CÁLCULO DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS	43
3.3.1 Enalapril administrado de modo isolado	43
3.3.2 Hidroclorotiazida administrada de modo isolado.....	44
3.3.3 Enalapril e hidroclorotiazida em associação	44
3.4 OBTENÇÃO DOS PARÂMETROS FARMACODINÂMICOS ...	45
3.5 TRATAMENTO ESTATÍSTICO	46
4 RESULTADOS.....	46
4.1 CURVAS DE MONITORAMENTO PLASMÁTICO	46
4.1.1 Curvas do maleato de enalapril	47
4.1.2 Curvas da hidroclorotiazida.....	49
4.2 PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS	52
4.2.1 Enalapril	53
4.2.2 Hidroclorotiazida.....	55
4.3 PARÂMETROS FARMACODINÂMICOS	58
4.3.1 Grupo Enalapril	58
4.3.2 Grupo Hidroclorotiazida	60
4.3.3 Grupo Associação	61
4.3.4 Comparação entre os grupos	64

5 DISCUSSÃO.....	67
6 CONCLUSÕES.....	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

1 INTRODUÇÃO

O governo brasileiro instituiu em 1999, através da Lei 9.787, a regulamentação do Programa de Medicamentos Genéricos no País.

O medicamento genérico caracteriza-se por ter a mesma biodisponibilidade de um medicamento referência sendo, portanto, intercambiável (BARRA, 2010; LOPES; NEVES, 2010).

O objetivo principal do Programa de Genéricos é de promover o acesso da população a medicamentos que aliem qualidade a baixo custo (LOPES; NEVES, 2010). Paralelamente, a realização dos testes de biodisponibilidade e equivalência farmacêutica, necessários para a certificação dos genéricos, promoveu a habilitação e desenvolvimento técnico de centros de pesquisa no Brasil.

No início do Programa, a demanda de estudos era suprida principalmente por centros estrangeiros, correspondendo a 72,7% no ano de 2002. Em 2010, 87,6% dos estudos de bioequivalência já foram realizados por centros nacionais, inversão nominada como processo de internacionalização (BARRA, 2010).

Atualmente, a ANVISA dispõe de registros de 350 substâncias pertencentes a 107 classes terapêuticas diferentes (BARRA, 2010). As informações referentes a estes produtos disponibilizam um valioso banco de dados à comunidade científica, principalmente quanto à farmacocinética.

Neste universo, considerando o impacto na saúde da população e a alta frequência da hipertensão arterial, o entendimento do perfil farmacológico dos medicamentos que atuam no tratamento desta condição é primordial para o controle da doença e aderência ao tratamento.

Assim, este estudo objetivou avaliar a interação farmacocinética e o comportamento farmacodinâmico dos medicamentos maleato de enalapril e hidroclorotiazida, administrados em indivíduos sadios, por serem representantes de duas fundamentais classes terapêuticas para tratamento da hipertensão arterial e constituírem importante opção para uso em associação.

1.1 HIPERTENSÃO ARTERIAL

Hipertensão arterial é uma condição definida por elevação do valor da pressão arterial sistólica acima de 140 mmHg ou da pressão diastólica acima de 90 mmHg, ou ambos, desde que realizadas aferições em pelo menos duas ocasiões (CARRETERO; OPARIL, 2000; CHOBANIAN *et al*, 2003).

A importância da hipertensão arterial não reside exclusivamente no fato de sua frequente ocorrência, mas também por ser um fator modificável no que tange a risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e renais (KEARNEY *et al*, 2005; CHOBANIAN, 2009).

É considerada um desafio mundial de Saúde Pública. Alta prevalência e grande número de complicações cardiovasculares tornam-na líder como fator de risco em causa de mortalidade, responsável por cerca de 30% das mortes ocorridas no mundo, e terceira colocada no *ranking* quanto à causa de incapacidade relacionada ao ajuste de idade (KEARNEY *et al*, 2005).

Sua contribuição como fator de risco influencia diretamente cerca de metade dos casos de coronariopatia e dois terços dos eventos vasculares cerebrais (CUTLER *et al*, 2008). Nos indivíduos acima de 50 anos é a doença cardiovascular mais importante. Tem sua incidência diretamente proporcional à ocorrência de infarto agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca, acidente vascular cerebral e insuficiência renal crônica.

A relação entre a hipertensão arterial e a ocorrência de eventos clínicos relacionados a doenças cardiovasculares é contínua, consistente e independente de outros fatores de risco. Em indivíduos na faixa etária de 40 a 70 anos, a cada elevação de 20 mmHg na pressão sistólica e 10 mm Hg na pressão diastólica, dobra-se o risco de complicações cardiovasculares (CHOBANIAN *et al*, 2003).

O tratamento efetivo da hipertensão arterial reduz significativamente o risco de eventos clínicos. Estudos clínicos demonstram redução de 35 a 40% de acidentes vasculares cerebrais, 20 a 25% de infartos do miocárdio e 50% de falência cardíaca (NEAL, 2000).

Em hipertensão estágio 1, a redução de 12 mmHg na pressão sistólica, sustentada por dez anos, preveniria uma morte a cada onze pacientes tratados. Em pacientes com algum órgão alvo (coração, rins, sistema vascular arterial, cérebro e retina) já afetado, este controle preveniria uma morte a cada nove pacientes (CHOBANIAN *et al*, 2003).

Estimativa mundial, no ano de 2000, apontou que mais de um quarto da população adulta - cerca de um bilhão de pessoas - apresentava níveis elevados de pressão arterial, com projeção de aumento de 50 % neste número para o ano de 2025 (KEARNEY *et al*, 2005; CHOBANIAN, 2009). Indivíduos normotensos, ao atingirem a idade de 55 anos, passam a ter a probabilidade de 90% de desenvolver hipertensão nos 20 anos seguintes (VASAN *et al*, 2002; CHOBANIAN *et al*, 2003;).

A tendência de crescimento dos casos de hipertensão é global, mas é mais acentuada nos países desenvolvidos, onde há maior risco de morte por doença cardiovascular em idade mais precoce: 46% em indi-

vídus abaixo dos 70 anos, comparado com 26% nos países em desenvolvimento (KEARNEY *et al*, 2005). Nos Estados Unidos, a prevalência de hipertensão arterial passou de 50 milhões de adultos até 1994 para 65 milhões até 2004 (CUTLER *et al*, 2008). Surpreendentemente, nas duas últimas décadas, o número total de hipertensos norte-americanos com doença não controlada aumentou de 37 para 42 milhões. Este dado vai contra o conhecimento de que, nos últimos 50 anos, a hipertensão arterial foi uma das enfermidades que mais obtiveram avanços no arsenal terapêutico, possibilitando a redução de níveis de pressão arterial de quase todos os tipos de pacientes (CUTLER *et al*, 2008; CHOBANIAN, 2009).

O aumento na incidência acompanha os dados relacionados a aumento de sobrepeso e obesidade. A população norte-americana classificada em sobrepeso partiu de 56% no período 1988 – 1994, para 65% no período 1994 – 2000 (CUTLER *et al*, 2008).

Um dos possíveis fatores que impedem os pacientes de manterem sua pressão arterial sob controle é a baixa aderência ao uso contínuo e correto das medicações prescritas. Além disso, há clara resistência dos pacientes, principalmente quanto à mudança de hábitos de vida: alimentares, tabagismo, combate ao desgaste físico-mental e sedentarismo.

Quanto à etiologia, a hipertensão arterial é classificada em: Hipertensão Essencial ou Idiopática – sem causa identificável, excluídas causas primárias conhecidas; Hipertensão Secundária – quando definida a doença primária causadora (feocromocitoma; doença renovascular; hiperaldosteronismo; insuficiência renal); Hipertensão Monogênica – origem genética definida.

A definição de hipertensão essencial como elevação da pressão arterial sem causa identificável, responsável por 95% dos casos, passa a não ser tão apropriada, já que um grande número de causas definidas está relacionado ao desenvolvimento da patologia. Obesidade, resistência a insulina, alcoolismo, envelhecimento, sedentarismo, *stress*, baixa ingestão de potássio, baixa ingestão de cálcio, excesso de ingestão de sal, elevação do colesterol de baixa densidade, baixo nível de colesterol de alta densidade são fatores hipertensogênicos que, se controlados, poderiam propiciar redução da pressão arterial, além de aumentar a efetividade das medicações e reduzir o risco cardiovascular. Na verdade, a hipertensão essencial comporta-se como uma desordem heterogênea, com cada indivíduo tendo fatores causais diversos, os quais podem ter efeito aditivo (BEILIN, 1988; CARRETERO; OPARIL, 2000; OPARIL, 2003; KEARNEY *et al*, 2005; CUTLER *et al*, 2008).

A hipertensão secundária corresponde a casos em que a elevação da pressão arterial é uma consequência cuja origem é bem estabelecida, como nas doenças renovascular, insuficiência renal crônica, feocromocitoma e hiperaldosteronismo. As formas monogênicas de hipertensão, ou formas mendelianas, Síndrome de Liddle, aldosteronismo tratável com corticóide, excesso aparente de mineralocorticóides e hipertensão autossômica dominante com braquidactilia são consideradas hereditárias (CARRETERO; OPARIL, 2000; OPARIL, 2003).

A determinação genética que contribuiria para o desenvolvimento da hipertensão essencial é muito complexa de ser identificada, já que os dois fenótipos principais que determinam a pressão arterial, resistência periférica total e débito cardíaco, são controlados por fenótipos intermediários (sistema nervoso autonômico, hormônios vasopressores, volume líquido corporal, função renal, estrutura do sistema cardiovascular, sistema renina-angiotensina-aldosterona, fatores endoteliais, sistema caliceína-cinina, excreção de sódio, contratilidade cardíaca e outros).

Fatores hipertensogênicos como a obesidade, alcoolismo e resistência à insulina respondem, além do componente genético, à influência de fatores ambientais, aumentando a gama de variáveis que pode interferir no surgimento da hipertensão.

A abordagem terapêutica baseada na farmacogenética proporcionaria uma revolução no tratamento da hipertensão, substituindo tratamentos atualmente empíricos por opções mais efetivas baseadas no genótipo de cada paciente (CARRETERO; OPARIL, 2000).

Classifica-se a hipertensão arterial em estágios 1 e 2. Estágio 1 compreende pacientes com níveis de pressão arterial na faixa de 140-159/90-99 mmHg. Estágio 2 são aqueles com nível igual ou superior a 160/100 mmHg (CHOBANIAN *et al*, 2003; CHOBANIAN, 2009). Pacientes portadores de insuficiência cardíaca, *angina pectoris*, insuficiência renal crônica, coronariopatia, diabetes e pós-infartados recebem uma atenção especial na escolha do fármaco para tratamento.

O algoritmo básico de tratamento, descartada a hipertensão secundária, para qualquer dos estágios, baseia-se na modificação de hábitos, dietas ricas em frutas e vegetais, consumo de alimentos com pouca gordura saturada, atividade física, controle do peso corpóreo, restrição da ingestão de sal, álcool e do tabagismo. O impacto de queda pressórica de cada um desses itens varia de 2 a 15 mm Hg na pressão sistólica (HE, 2000). A cada redução de 10 kg no peso corpóreo, a queda de pressão sistólica pode alcançar 20 mmHg, sendo adequada a manutenção do Índice de Massa Corpórea abaixo de 25 (HE, 2000).

O objetivo do tratamento é atingir nível de pressão arterial igual ou inferior a 140/90 mmHg, sendo que para diabéticos e renais crônicos o índice ideal é de 130/80 mmHg.

Nos pacientes em estágio 1, em que as medidas de alteração de estilo de vida não forem suficientes para manutenção de níveis pressóricos normais, inicia-se tratamento medicamentoso com um fármaco, sendo na maioria das vezes um diurético tiazídico ou um inibidor da enzima conversora de angiotensina, adicionando um segundo ou terceiro fármaco de acordo com a necessidade do caso. Sempre se deve verificar a aderência ao tratamento e otimização de doses antes de acrescentar outro medicamento.

Nos pacientes em estágio 2, inicia-se tratamento com regime de associação de dois fármacos, também acrescentando outros em caso de dificuldade no controle pressórico.

1.2 ASSOCIAÇÕES FIXAS DE ANTI-HIPERTENSIVOS

São definidas como associações fixas de medicamentos, aquelas compostas por dois ou mais fármacos utilizados em uma mesma formulação farmacêutica (NOBRE *et al* , 2003).

O princípio fundamental no tratamento da hipertensão arterial baseia-se na relação de quanto maior a queda do nível pressórico excedido melhor o resultado do tratamento.

A associação de medicamentos pode, através de efeitos sinérgicos e aditivos, atingir mais rapidamente este objetivo. Ressaltando a heterogeneidade de causas da hipertensão, a combinação de ações eleva a probabilidade de ajuste pressórico (PROGRESS, 2001; MOTWANI, 2002; DAHLOF *et al* , 2002).

No estudo HOT (*Hypertension Optimal Treatment*), que determinou a pressão diastólica mais adequada para minimizar os eventos cardiovasculares como sendo de 86,5 mmHg e para redução de mortalidade cardiovascular de 82,6 mmHg, 68% dos indivíduos que atingiram os níveis desejados de controle pressórico necessitaram uso de combinação de medicamentos. Para atingirem níveis de pressão diastólica de 80 mmHg, 74% dos indivíduos tratados necessitaram de associação (HANSSON *et al* , 1998; MOTWANI, 2002).

Em revisão sistemática publicada por LAW *et al* em 2003, foram analisados 354 estudos clínicos randomizados, duplo-cegos e controlados por placebo, envolvendo cerca de 40 mil pacientes tratados com anti-hipertensivos das cinco principais classes (diuréticos tiazídicos, betabloqueadores, bloqueadores de canais de cálcio, inibidores da enzi-

ma conversora de angiotensina e bloqueadores de receptores da angiotensina II). Os medicamentos administrados isoladamente tiveram resultados semelhantes no controle pressórico. Quando associados, e com redução de 50% da dose padrão, a perda de potencial hipotensor foi de 20%. Os eventos adversos dos anti-hipertensivos se mostraram doses dependentes. Nas associações estudadas houve queda dos índices de eventos adversos, sendo a mais significativa a ocorrida com os diuréticos tiazídicos de 9,9% para 2% (LAW *et al*, 2003; NOBRE *et al*, 2003).

Além da redução de eventos adversos dose relacionada, a associação com determinada medicação pode reverter distúrbio de homeostase causado por outra. Um importante exemplo está na associação de inibidor de enzima conversora de angiotensina com diurético tiazídico (MUGELLINI *et al*, 2004).

O efeito natriurético dos tiazídicos provoca uma ação contra-regulatória no túbulo renal distal que gera perda de potássio. O uso de inibidor de enzima conversora é responsável por elevação de até 3% da caemia, portanto retentor de potássio, provocando redirecionamento do balanço eletrolítico (MOTWANI, 2002; NOBRE *et al*, 2003). Também por mecanismo contra-regulatório, o aumento de angiotensina II causado pelo uso de diurético tiazídico é bloqueado pelo inibidor da enzima conversora de angiotensina (POOL *et al*, 1997).

A multiplicidade de mecanismos atingidos que envolvem esta associação (inibidor do sistema renina angiotensina e diurético tiazídico), agindo na angiotensina II circulante, no tecido do sistema renina angiotensina, no sistema nervoso simpático, na vasculatura renal e néfron, no sistema de cininas, na reabsorção de sódio no túbulo renal distal, torna-a muito eficiente e atrativa.

Vários estudos exemplificam o benefício da combinação destes fármacos. A adição do efeito tiazídico melhora a ação hipotensora do inibidor da enzima em pacientes com baixo índice de renina circulante (geralmente indivíduos de raça negra) que necessitam seu uso para redução de hipertrofia de ventrículo esquerdo. A capacidade de redução da pressão arterial dos tiazídicos, quando usados em monoterapia, é limitada em pacientes com alta reatividade do sistema renina angiotensina, a associação com fármacos que reduzem esta reatividade, potencializa o efeito natriurético e melhora o efeito anti-hipertensivo (MOTWANI, 2002). O efeito ideal do diurético tiazídico é atingido de seis a doze semanas após início da administração, a associação promoveria uma melhor cobertura hipotensora nesta fase do tratamento.

A associação de dois fármacos, mesmo que em menores doses, tem certas desvantagens. Um dos fatores importantes na falta de contro-

le da hipertensão arterial é a aderência ao tratamento. ANDREJAK *et al*, em 2000, comparando aderência ao tratamento com uma ou duas doses diárias, conclui que o número de tomadas diárias é inversamente proporcional à adesão ao tratamento, influenciando o número de atrasos de doses e falhas de tomada da medicação (ANDREJAK *et al*, 2000). Neste sentido, a associação fixa de medicações em uma só forma farmacêutica, e em uma só tomada diária, seria fundamental na efetividade do tratamento (MOTWANI, 2002).

O uso de associações pode provocar hipotensão ortostática no início do tratamento, mais frequentemente em pacientes portadores de falência cardíaca. A administração concomitante de antiinflamatórios não hormonais potencializa o risco de insuficiência renal naqueles indivíduos em uso de inibidores da enzima conversora e diurético. Orientação quanto

à adequada hidratação destes pacientes pode prevenir estas complicações (MOTWANI, 2002).

O avanço na pesquisa clínica trazido por estudos multicêntricos como o LIFE (*Losartan Intervention For Endpoint reduction of hypertension study*) e o PROGRESS, comprovando redução de morbi e mortalidade de associações medicamentosas no tratamento da hipertensão, conduzem a uma tendência a mudar o conceito de que diuréticos tiazídicos e betabloqueadores seriam os fármacos de primeira escolha, considerando o bloqueio ao sistema renina angiotensina como mais eficaz e, conseqüentemente, quanto melhor o resultado maior a aderência ao tratamento. Algumas questões importantes precisam de melhor análise: se o efeito é de classe ou de um fármaco específico, qual a melhor dose para associar aos tiazídicos e qual a diferença de eficácia entre um inibidor da enzima conversora e um bloqueador do receptor de angiotensina (PROGRESS, 2001; DAHLOF *et al*, 2002; MOTWANI, 2002).

A combinação fixa de anti-hipertensivos, através de sinergismo, gera maior efetividade, possibilita menor dose e menor índice de eventos adversos podendo levar a maior adesão ao tratamento. As escolhas para associação deveriam conter fármacos com meia vida proporcional e com dose única diária (NOBRE *et al*, 2003).

1.3 ENALAPRIL

Com base em sua estrutura química, o enalapril é classificado como um dos representantes dos inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA) que contém dicarboxila. Derivado de dois aminoácidos, a L-alanina e a L-prolina, é um monoéster, precisando ser

hidrolisado no fígado para a produção do ácido dicarboxílico ativo, o enalaprilato (BONAZZI *et al* , 1997;PORTOLÉS *et al* , 2004; LIMA; JACKSON, 2005; SANTOS; LIMA, 2008). Portanto, é uma pró-droga, com potencial de ação muito inferior ao metabólito ativo, e escolhido pela sua rápida absorção e boa biodisponibilidade. A taxa de absorção encontra-se entre 55 e 75%, comprovada por recuperação na urina, e não sofre interferência de alimentos. Em contrapartida, o enalaprilato apresenta entre 3 e 12% de absorção oral (PORTOLÉS *et al*, 2004). O tempo para concentração máxima do enalapril é de 1 hora e do enalaprilato de 3 a 4 horas. O tempo de meia vida do enalapril é de 1,3 horas e do enalaprilato, devido à forte interação com a enzima conversora, é de 11 horas. (PORTOLÉS *et al*, 2004; SIERRA *et al*, 2004; GU *et al* , 2004; JACKSON, 2005; ARAFAT *et al*, 2005; LIMA;SANTOS; LIMA, 2008;).

A concentração máxima deste medicamento encontrada nos estudos de biodisponibilidade varia de acordo com as doses de 10 ou 20 mg de enalapril, atingindo de 110 até 315 ng/ml para o enalapril e de 60 até 101 ng/ml para o enalaprilato. O comportamento farmacocinético do enalapril é linear, aumentando sua concentração sérica proporcionalmente ao aumento da dose administrada (PORTOLÉS *et al*, 2004; ARAFAT *et al* , 2005; WANG, 2007). A depuração do enalapril é renal, sendo uma fração de 40% da dose recuperada como enalaprilato na urina, e o restante como enalapril intacto. Em estudo de estabilidade o enalapril mostrou-se altamente susceptível a degradação quanto à influência do aumento de temperatura e umidade, sofrendo degradação por hidrólise a enalaprilato e por ciclização intramolecular a diquetopiperazina (DKP). Apenas 4 de 9 produtos contendo enalapril estavam dentro das especificações de quantidade num período de análise de 180 dias (LIMA; SANTOS; LIMA, 2008). Devido à ausência de um pico farmacocinético bem distinguível, o enalapril gera dificuldade no desenvolvimento de método de detecção para análise de biodisponibilidade (TAJERZADEH; HAMIDI, 2001; YOON *et al*, 2004). A utilização de métodos enzimáticos imunológicos específicos para o enalapril e enalaprilato chega a aumentar em até 10 vezes o nível de detecção, comparados àqueles que associam a hidrólise alcalina do enalapril e testes imunológicos para a enzima conversora (ARAFAT *et al*, 2005).

Com destaque histórico para a pesquisa científica no Brasil, a descoberta dos inibidores da ECA se deveu à pesquisa básica da bradicinina. Em 1949, o pesquisador Maurício Rocha e Silva e seus colaboradores descobriram que o plasma humano, incubado com veneno da cobra jararaca, continha um fator hipotensor e espasmogênico da mus-

culatura lisa, denominado então de bradicinina. Na década de 60, Sérgio Ferreira descobriu que pequenos peptídeos no veneno da jararaca, potencializavam a ação da bradicinina, correlacionando à inibição das suas enzimas inativadoras, esses peptídeos foram nominados de fatores potenciadores da bradicinina (BPF). Experimentos posteriores estimularam a idéia de que os BPF pudessem inibir uma mesma entidade enzimática que degradasse a bradicinina (cininase II) e convertesse a angiotensina I em angiotensina II (ECA). As pesquisas, iniciadas no Brasil, culminaram com a síntese do Captopril, o primeiro inibidor não peptídico da cininase II ou ECA (FERREIRA, 1998).

A ação hipotensora do enalapril baseia-se no bloqueio da enzima conversora de angiotensina, uma peptidildipeptidase que catalisa a conversão de angiotensina 1 em angiotensina 2, substância vasoconstritora, que estimula a secreção de aldosterona pelo córtex adrenal (YOON *et al*, 2004).

Devido ao fato de a enzima conversora de angiotensina e a cininase II serem a mesma entidade protéica e enzimática, o enalapril bloqueia também a degradação de bradicinina, um potente hipotensor peptídico. Este fato pode explicar um significativo efeito do enalapril, mesmo em indivíduos com baixos níveis séricos de renina.

Clinicamente, a atividade hipotensora do enalapril inicia-se uma hora após a administração, atingindo seu efeito máximo entre quatro a seis horas, fato que coincide com o tempo para concentrações máximas detectadas do enalaprilato.

Em indivíduos jovens e normotensos não se espera alteração significativa dos níveis pressóricos após uma única dose de enalapril, já que os mecanismos compensatórios encontram-se íntegros e a depuração do enalaprilato pode encontrar-se acelerada (TODD; HEEL, 1986). Em indivíduos saudáveis, mas com depleção de sódio, pode ocorrer queda da pressão arterial. No caso de administração de doses repetidas, a hipotensão é esperada (ATLAS; NIARCHOS; CASE, 1983).

1.4 HIDROCLOROTIAZIDA

Diurético da classe dos tiazídicos, assim nomeada devido a muitos representantes serem derivados da benzotiadiazina. É uma sulfonamida, de estrutura química 6-cloro-3,4-dihidro-2H-1,2,4-benzotiadiazina-7-sulfonamida 1,1-dióxido (OATES; BROWN, 2005; BEBAWY *et al* , 2005).

A hidroclorotiazida apresenta disponibilidade oral de 70%, sendo que em presença de alimentos sofre uma redução no tempo e na

concentração máxima plasmática na ordem de 20% (MELIAN; JARVIS, 2002). O tempo para concentração máxima varia de 1 a 5 horas, sendo mais comumente referido como de 3 horas (REMON, 1998; MELIAN; JARVIS, 2002; CORVELEYN; NDINDAYINO *et al*, 2002; DICKSON *et al*, 2003; LIU *et al*, 2007;). Em pacientes portadores de insuficiência renal ocorre alargamento de meia vida e aumento de concentração plasmática máxima, mas o tempo para tal permanece inalterado. DICKSON encontrou, em dose de 12,5 mg de hidroclorotiazida, concentração máxima de 74,3 ng/ml em indivíduos normais e 147 ng/ml em indivíduos com insuficiência renal (clearance de creatinina <30 ml/min.). A concentração máxima varia entre 70 e 490 ng/ml, nos estudos de biodisponibilidade utilizando doses de 12,5 a 50 mg/dia (CORVELEYN; REMON, 1998; MELIAN; JARVIS, 2002; NDINDAYINO *et al*, 2002; DICKSON *et al*, 2003; KOYTCHEV *et al*, 2004). Não sofre metabolização, sendo rapidamente eliminada pelos rins, em quase sua totalidade. Eliminação renal de 95%, sendo 61% nas primeiras 24 horas. O tempo de meia vida encontra-se entre 6 e 15 horas (CORVELEYN; REMON, 1998; MELIAN; JARVIS, 2002; OATES; BROWN, 2005). O comportamento farmacocinético da hidroclorotiazida é linear (MELIAN; JARVIS, 2002; DICKSON *et al*, 2003; LIU *et al*, 2007), sua molécula não apresenta fenômeno de polimorfismo e tem grande estabilidade (ACEVEZ-HERNÁNDEZ *et al*, 2006).

A ação farmacológica da hidroclorotiazida ocorre através da inibição de reabsorção de sódio e cloro no túbulo contorcido distal renal. O transporte iônico no túbulo distal é impulsionado por uma bomba de sódio, que através de co-transporte também reabsorve cloro do lúmen tubular, sendo sua expressão regulada pela aldosterona. O diurético tiazídico inibe o co-transporte na membrana apical das células epiteliais do túbulo distal, portanto, aumentando a excreção renal de sódio e cloro. Este segmento tubular distal é responsável por apenas 5% da reabsorção de sódio, sendo que mais de 90% é reabsorvido antes do túbulo proximal.

Devido a essa limitação do potencial de natriurese, o efeito dos tiazídicos é considerado moderado. Uma possível ação dos tiazídicos no túbulo proximal é cogitada, mas considerada como secundária (OATES; BROWN, 2005). Não provoca alteração do fluxo sanguíneo renal.

Na prática clínica, em grupos de pacientes hipertensos tratados com hidroclorotiazida, além dos efeitos hemodinâmicos iniciais com redução de pressão arterial média, ocorridos após a primeira semana de tratamento, observa-se uma redução significativa na resistência vascular periférica ao longo do uso crônico (CONWAY; LAUWERS, 1960;

SICA, 2004). Sugere-se um efeito vascular direto, vasodilatador, após uso do diurético por 24 a 36 semanas (SHAH *et al*, 1978; MELIAN; JARVIS, 2002). Através de injeção direta de diurético no antebraço de humanos observou-se efeito de vasodilatação, possivelmente em decorrência da ação inibitória sobre a anidrase carbônica da célula muscular lisa, levando a elevação do pH intracelular, ativação de canais de potássio e vaso relaxamento (PICKERS *et al*, 1999).

Um grupo de pacientes que teria melhor ação da hidroclorotiazida é o de origem negra. A patofisiologia da hipertensão nestes indivíduos tende a se relacionar à expansão plasmática, sendo, portanto, mais responsiva a diuréticos. Estudo de análise farmacocinética da hidroclorotiazida, comparando negros e brancos, não encontrou diferença significativa nos parâmetros de concentração máxima, tempo de concentração máxima, meia vida plasmática e área sob a curva (RYPLEY; KING; SICA, 2000).

O uso crônico de hidroclorotiazida se relaciona a hipocalemia, hipomagnesemia, redução da tolerância à glicose, elevação da taxa de colesterol LDL e triglicerídeos, redução da excreção de uratos e também de cálcio. Este último efeito, associado à maior reabsorção de cálcio no túbulo distal e, devido à depleção hídrica, estímulo reabsortivo em túbulo proximal, torna a hidroclorotiazida uma opção terapêutica na nefrolitíase.

Indicados no tratamento do edema, hipertensão arterial e *diabetes insipidus* nefrogênica, os tiazídicos são uma opção terapêutica econômica, eficaz, bem tolerada, sem necessidade de titulação de dose, com poucas contra-indicações, de uma única tomada diária e com efeitos aditivos e sinérgicos quando associados a outros agentes anti-hipertensivos (YONG *et al*, 2000).

1.5 CONCEITOS E PRINCÍPIOS FARMACOCINÉTICOS

- **BIODISPONIBILIDADE** - corresponde à fração de determinada substância que, após a administração, atinge a circulação geral. Determina diretamente o valor das concentrações plasmáticas, em particular o das taxas máximas, e o tempo necessário para sua obtenção. Normalmente é expressa em porcentagem.
- **CONCENTRAÇÃO MÁXIMA** – pico de concentração máxima plasmática atingida pelo fármaco.

- **TEMPO DE CONCENTRAÇÃO MÁXIMA** – intervalo de tempo para o fármaco atingir a sua concentração máxima plasmática.
- **DISTRIBUIÇÃO** – processo de repartição do fármaco no conjunto de tecidos e órgãos. A quantidade distribuída depende da biodisponibilidade. Sofre influência da fixação protéica da molécula, das características físico-químicas do composto, da irrigação dos órgãos e da afinidade particular do fármaco com os tecidos.
- **VOLUME DE DISTRIBUIÇÃO** - é o volume fictício no qual se repartiria o fármaco para resultar nas concentrações plasmáticas observadas. Exprime-se em medida de volume (Litros). Origina a interpretação de que, quanto maior o seu valor, mais elevada é a distribuição do fármaco no organismo, porém, sem calcular sua repartição nos diferentes órgãos.
- **CLEARANCE** – volume sanguíneo plasmático que fica totalmente livre de determinado fármaco, por unidade de tempo. Refere-se à eliminação do fármaco do organismo, após ter atingido a circulação geral. Esta eliminação ocorre de forma direta em nível de órgão (rins, fígado, pulmão, intestino) ou através de transformação do fármaco em metabólitos, mais hidrossolúveis e, portanto mais facilmente eliminados. O *clearance* total corresponde ao conjunto de *clearances* parciais, ou seja, de cada órgão.
- **TEMPO DE MEIA VIDA** – é o intervalo de tempo suficiente para que o valor máximo da concentração plasmática de determinada substância seja reduzido em 50%. Depende de suas características de distribuição e de eliminação, ou seja, volume de distribuição e *clearance* total.
- **ÁREA SOB A CURVA** – expressa a extensão da absorção e a biodisponibilidade. É um parâmetro farmacocinético utilizado para determinar a quantidade total de um fármaco que atingiu o plasma após a administração de uma única dose. Em um gráfico que relaciona a concentração plasmática do fármaco versus o

tempo decorrido após a administração, é a área total sob essa curva. Esta quantidade total que passou pelo plasma dividida pela quantidade administrada dá o valor da biodisponibilidade, em porcentagem.

- **PRÓ-DROGA** – fármaco que, após ser prontamente absorvido e distribuído, sofre transformação à sua forma ativa por processo biológico, dentro do organismo.
- **EQUIVALÊNCIA FARMACEUTICA** – dois produtos são equivalentes farmacêuticos quando apresentarem o mesmo princípio ativo e concentração, posologia e forma de administração.
- **BIOEQUIVALÊNCIA** – dois produtos são bioequivalentes se apresentarem taxa e extensão de biodisponibilidade do princípio ativo, sem diferença significativa, em condições de teste padronizadas. (LABAUNE, 1993; WILKINSON, 2005)

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

- Avaliar o comportamento dos parâmetros farmacocinéticos do fármaco enalapril, administrado na mesma formulação com o diurético tiazídico hidroclorotiazida, comparando com a sua administração isolada.
- Avaliar o comportamento dos parâmetros farmacocinéticos do fármaco hidroclorotiazida, administrado na mesma formulação com o inibidor de enzima de conversão de angiotensina enalapril, comparando com a sua administração isolada.
- Avaliar os níveis de pressão arterial e pulso de voluntários sadios, aferidos no período de concentração máxima sérica, após administração dos compostos: hidroclorotiazida 50 mg, enalapril 20 mg e associação de enalapril 10 mg com hidroclorotiazida 25 mg, comparando com os registros feitos imediatamente prévios à administração.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar os parâmetros farmacocinéticos: área sob a curva de concentração zero até a última coleta, área sob a curva de concentração zero ao infinito, concentração máxima, tempo para concentração máxima, tempo de meia vida, volume de distribuição e *clearance* do fármaco enalapril quando administrado na dose de 20 mg para um grupo de 69 voluntários sadios, do fármaco hidroclorotiazida na dose de 50 mg administrado para um grupo de 68 voluntários sadios e para os fármacos administrados em associação, em um único comprimido, nas doses de 10 mg de enalapril e 25 mg de hidroclorotiazida para um grupo de 49 voluntários sadios.
- Comparar através de testes estatísticos se há diferença significativa nos referidos parâmetros farmacocinéticos dos fármacos quando isoladamente administrados e quando em associação.

- Determinar e comparar os níveis de pressão arterial e pulso dos voluntários sadios participantes dos 3 grupos antes e após a administração dos fármacos.
- Concluir, após análise de resultados, qual a melhor estratégia de administração dos fármacos enalapril e hidroclorotiazida quando utilizados em associação.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizando-se de informações obtidas pela Biocinese, Centro de Estudos de Bioequivalência Farmacêutica situado na cidade de Toledo – PR, e certificado pela ANVISA a executar as etapas clínica, analítica e estatística desde 2005, selecionou-se dados de um número de 8 estudos de bioequivalência, realizados entre os meses de janeiro de 2006 e setembro de 2009, envolvendo os fármacos hidroclorotiazida e maleato de enalapril.

Três estudos foram realizados analisando administração de um comprimido de 50 mg de hidroclorotiazida, correspondendo a um total de 68 voluntários sadios de ambos os sexos, 34 homens e 34 mulheres, compondo um grupo nominado como de administração isolada da HI-DROCLOROTIAZIDA. Outros três estudos analisaram a administração de um comprimido de 20 mg de maleato de enalapril, correspondendo a um número de 69 voluntários sadios de ambos os sexos, 36 homens e 33 mulheres, compondo um grupo nominado de administração isolada do ENALAPRIL. Dois estudos analisaram a administração de um comprimido com a associação de 10 mg de maleato de enalapril com 25 mg de hidroclorotiazida, perfazendo um número de 49 voluntários sadios de ambos os sexos, 24 homens e 25 mulheres, compondo um grupo nominado de ASSOCIAÇÃO. Assim sendo, o número total de indivíduos de pesquisa foi de 186.

Os dados selecionados dos oito estudos corresponderam exclusivamente aos medicamentos de referência desses fármacos para o mercado brasileiro, não sendo utilizados os dados dos medicamentos em teste. Os referidos medicamentos são: CLORANA (hidroclorotiazida 50 mg comprimido simples, produzido por Sanofi-Aventis Farmacêutica Ltda); RENITEC (enalapril 20 mg comprimido simples, produzido por Merck, Sharp and Dohme Farmacêutica Ltda); CO-RENITEC (enalapril 10 mg / hidroclorotiazida 25 mg comprimido simples, produzido por Merck, Sharp and Dohme Farmacêutica Ltda).

O protocolo e o termo de consentimento livre e esclarecido de cada um dos estudos foram submetidos e aprovados por Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, credenciado pela CONEP (Conselho Nacional de Saúde/MS). Segue relação dos pareceres:

- Enalapril, protocolo P0708, parecer nº 248/2008, CEP/FUNDAÇÃO ASSIS GURGAZ, aprovado em 30/07/08.

- Enalapril, protocolo P43/08, parecer n° 527/2008, COPEP/UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ, aprovado em 03/10/08.
- Enalapril, protocolo P45/08, parecer n° 566/2008, COPEP/UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ, aprovado em 17/10/08.
- Hidroclorotiazida, protocolo P20/06, parecer n° 185ext036/2006-10, CEP/HC/UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, aprovado em 02/10/06.
- Hidroclorotiazida, protocolo P27/08, parecer n° 271/2008, CEP/FUNDAÇÃO ASSIS GURGAZ, aprovado em 30/07/08.
- Hidroclorotiazida, protocolo P09/09, parecer n° 186/2009, COPEP/UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ, aprovado em 08/05/09.
- Associação enalapril/hidroclorotiazida, protocolo P27/06, parecer n° 400/2007, CEP/FUNDAÇÃO ASSIS GURGAZ, aprovado em 25/07/07.
- Associação enalapril/hidroclorotiazida, protocolo P60/08, parecer n° 708/2008, COPEP/UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ, aprovado em 12/12/08.

3.1 METODOLOGIA DE ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA FARMACÊUTICA

Neste item, descreve-se o procedimento executado em cada um dos 8 estudos de bioequivalência utilizados como base para a presente pesquisa.

3.1.1 Elaboração e aprovação de protocolo

O protocolo do estudo foi elaborado de acordo com o normatizado pela Legislação Brasileira referente à Pesquisa Clínica: Resoluções n° 196/96 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, de acordo com a Declaração de Helsinque (1964) e as revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983), Hong Kong (1989), Sommerset Oeste (1996) e Edinburgh (2000) e com os padrões estabelecidos pelo ICH *Harmonized Tripartite Guideline for Good Clinical Practice* (1996) – ICH Topic E6 - *Including post step 4 errata*

Sept/1997. (BRASIL, RE 196/1996; BRASIL, RE 1170/2006; ANVISA, 2002).

O protocolo e o termo de consentimento livre e esclarecido foram submetidos e aprovados em Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, credenciado pela CONEP (Conselho Nacional de Saúde/MS) e todos os voluntários participantes das pesquisas candidataram-se espontaneamente para participar do Estudo de Bioequivalência, mesmo não lhes sendo oferecido nenhum benefício terapêutico.

3.1.2 Delineamento do estudo

Estudo aberto, randomizado, cruzado, com 2 (duas) administrações, 2 (dois) períodos (2 sequências), nos quais os voluntários receberam, em cada período distinto, a formulação teste ou a formulação referência, havendo por conseguinte dois períodos de estudo.

As formulações foram administradas em dose única por via oral seguidas de coletas de sangue durante pelo menos 3 meias-vidas do fármaco. Os períodos de tratamento obedeceram a um intervalo mínimo de 7 meias-vidas entre eles - período de eliminação do fármaco pelo organismo-. Considerando-se que a meia-vida do Maleato de Enalapril é de aproximadamente 3,5 (três horas e trinta minutos) e da Hidroclorotiazida é de aproximadamente 8 (oito) horas, planejou-se um intervalo mínimo de 3 (três) dias entre as internações.

Os voluntários foram aleatoriamente designados a uma sequência de tratamento (T/R ou R/T, onde: T -Teste e R –Referência).

3.1.3 Etapa clínica

Iniciou-se com o recrutamento de um grupo de voluntários, utilizando seleção por critérios definidos.

Critérios de inclusão:

- Voluntários de ambos os sexos com idade entre 18 e 50 anos. As mulheres não poderiam estar grávidas e nem em regime de amamentação;
- Voluntários tinham seu índice de massa corpórea maior ou igual a 19 e menor ou igual a 27;

- Capazes de compreender a natureza e objetivo do estudo, inclusive os riscos e eventos adversos, com intenção de cooperar com o Pesquisador e agir de acordo com os requerimentos de todo o ensaio, o que veio a ser confirmado mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Critérios de exclusão:

- Voluntários com hipersensibilidade aos fármacos estudados (Maleato de Enalapril + Hidroclorotiazida) ou a compostos quimicamente relacionados: história de reações adversas sérias ou hipersensibilidade a qualquer medicamento;
- História ou presença de doenças hepáticas ou gastrointestinais ou outra condição que interfeririam na absorção, distribuição, excreção ou no metabolismo do medicamento;
- Uso de terapia de manutenção com qualquer fármaco, excetuando-se anticoncepcionais por via oral.
- História de doença hepática, renal, pulmonar, gastrointestinal, epilética, hematológica ou psiquiátrica; hipo ou hipertensão de qualquer etiologia que necessitassem de tratamento farmacológico; história de infarto do miocárdio, angina e/ou insuficiência cardíaca;
- Serem fumantes;
- Ingerirem mais que 5 (cinco) xícaras de café, chá ou chimarrão por dia;
- Hábitos alimentares diferentes, por exemplo, vegetarianos;
- História de abuso de álcool, drogas ou consumo expressivo de álcool (maior que 35 g/dia).
- Perda de 450 mL ou mais de sangue dentre os três meses que antecederam ao estudo (doação ou hemorragia);
- Terem qualquer condição que o impedissem de participar do estudo pelo julgamento do investigador.

Os voluntários selecionados, após comprovação do seu estado de higidez utilizando história médica, exame físico e exames complementares: eletrocardiograma, glicemia em jejum, uréia, creatinina, transaminase oxalacética, transaminase pirúvica, fosfatase alcalina, bilirrubina total, albumina, proteínas totais, triglicérides, colesterol total, hemograma completo, exame parcial de urina, exames sorológicos para HIV, hepatite B (Anti-HBs, HBsAg, HBc IgG, HBc IgM), hepatite C (Anti-HBc) e β -HCG nas mulheres, foram convidados a participar do estudo.

A autorização formal dessa participação foi concedida pelo voluntário antes do início do estudo, depois de sanar todas as suas dúvidas com o médico responsável pela Etapa Clínica. O termo de consentimento contemplou explicações sobre os princípios de confidencialidade, proposta do estudo, procedimentos realizados, autonomia do voluntário, valor e tipo de ressarcimento, seguro de vida em grupo e riscos de desconfortos, relacionados ao medicamento e aos procedimentos realizados.

Nos dias de confinamento, desde o internamento, que ocorreu na noite anterior, até 3 horas após a administração do medicamento, o voluntário teve as suas atividades físicas reduzidas ao máximo e seguiu dieta padronizada, elaborada por nutricionista, em consonância com o protocolo.

Não foi permitido o consumo de bebidas alcoólicas, alimentos ou bebidas estimulantes ou que continham xantinas, como café, chá e chocolate no período de 48 horas que antecederam o estudo.

Cada formulação foi administrada em dose única, com um copo com 200 ml de água às sete horas da manhã, com jejum mínimo de 10 horas antes e de 3 horas após.

Os dados vitais dos voluntários foram coletados 1 hora antes da administração dos fármacos e posteriormente até o final das coletas sanguíneas, tempo de até 5 meias-vidas dos fármacos em estudo.

As coletas sanguíneas iniciaram com um *pool* de 20 ml para controle antes das administrações e sequencialmente depois de 20 minutos após a ingestão do fármaco, intercalando intervalos mais curtos nos períodos mais prováveis de tempo para concentração máxima referido nos protocolos, sendo de 1 hora para o enalapril e de 3 horas para a hidroclorotiazida.

As retiradas das amostras foram realizadas através de um cateter de silicone (ABOCATH n°20) introduzido em veia superficial de membro superior do voluntário. Após a coleta de cada amostra, o cateter foi lavado com 1 ml de heparina diluída (50 UI/ml) para impedir a formação de coágulo no mesmo.

As amostras de sangue foram então centrifugadas a 3000 RPM, por 10 minutos, à temperatura de 4 °C e o plasma transferido para tubos criogênicos, armazenados em freezer a -20 °C até sua utilização no ensaio de quantificação do fármaco.

Os voluntários foram reavaliados clínica e laboratorialmente após o término dos dois períodos de estudo a fim de serem liberados em pleno estado de saúde. (BRASIL, RE 196/1996; BRASIL, RE 1170/2006; ANVISA, 2002).

3.1.4 Etapa analítica

O método analítico foi baseado na identificação e quantificação de Maleato de Enalapril em plasma humano. O padrão interno utilizado foi o Cetoconazol. O analito e o padrão interno foram extraídos do plasma humano através de extração líquido-líquido utilizando acetona. Após a extração, as amostras foram agitadas, centrifugadas e evaporadas, o resíduo foi reconstituído com acetonitrila (ácido acético glacial 0,2%; 85:15 v/v), e posteriormente analisado por Cromatografia Líquida, Acoplada à Espectrometria de Massas no modo MS/MS (LC-MS/MS).

O método analítico foi baseado na identificação e quantificação de Hidroclorotiazida em plasma humano. O padrão interno utilizado foi a Clortalidona. O analito e o padrão interno foram extraídos do plasma humano através de extração líquido-líquido utilizando acetato de etila. Após a extração, as amostras foram agitadas, centrifugadas e evaporadas, o resíduo foi reconstituído com acetonitrila (ácido acético glacial 0,1%; 90:10 v/v), e posteriormente analisado por Cromatografia Líquida, Acoplada à Espectrometria de Massas no modo MS/MS (LC-MS/MS).

A mensuração das amostras foi controlada através de curvas de calibração e amostras de controle de qualidade. (BRASIL, RE 899/2003; ABNT, 2005)

3.1.5 Etapa estatística

O cálculo e o tratamento estatístico dos parâmetros farmacocinéticos incluíram:

1 - A área sob a curva de concentração sanguínea versus tempo, foi calculada pelo método dos trapezóides, do tempo zero ao tempo t (ASC_{0-t}), onde t é o tempo relativo à última concentração do fármaco determinada experimentalmente (acima do limite de quantificação); a área sob a curva de concentração sanguínea versus tempo, foi calculada do tempo zero ao tempo infinito (ASC_{0-inf}), onde $ASC_{0-inf} = ASC_{0-t}$

+ $\frac{C_t}{K_{el}}$, onde C_t é a última concentração do fármaco determinada experimentalmente (acima do limite de quantificação) e K_{el} é a constante de eliminação da fase terminal;

2 - O parâmetro $C_{m\acute{a}x}$ - pico de concentração máxima atingida pelo fármaco - foi obtido experimentalmente através da curva de concentração versus tempo;

3 - O parâmetro $T_{m\acute{a}x}$ - tempo para atingir $C_{m\acute{a}x}$ - foi obtido experimentalmente através da curva de concentração versus tempo.

4 - $T_{1/2}$ - o tempo gasto para que a concentração plasmática ou para que a quantidade do mesmo no organismo diminua em 50% - foi obtido através da equação: $T_{1/2} = \frac{\log(2)}{K_{el}}$.

As análises estatísticas foram conduzidas baseadas nos seguintes parâmetros farmacocinéticos: $C_{m\acute{a}x}$, ASC_{0-t} e ASC_{0-inf} . Os valores $T_{m\acute{a}x}$, $T_{1/2}$ e K_{el} não foram considerados estatisticamente para cálculo da bioequivalência.

Foi empregada análise de variância (ANOVA) apropriada para o desenho cruzado com 2 períodos e 2 formulações, sob os dados de ASC e $C_{m\acute{a}x}$ transformados logaritmicamente, a qual se levou em conta em seu modelo os efeitos de sequência, voluntário dentro da sequência, tratamento e período.

Foram calculadas estimativas dos intervalos da razão $\frac{T}{R}$ (Formulação Teste/Formulação Referência) para valores ASC e $C_{m\acute{a}x}$. A biodisponibilidade relativa da formulação Teste *versus* Referência foi avaliada pelas razões das médias geométricas.

Foi construído um intervalo de confiança (IC) de 90% para as diferenças das médias dos dados transformados (logaritmo natural) dos medicamentos teste e referência, para os parâmetros ASC_{0-t} , ASC_{0-inf} e $C_{m\acute{a}x}$. O antilogaritmo do IC obtido constituiu o IC de 90% para a razão das médias geométricas dos parâmetros:

$$\left(\frac{ASC_{0-t} \text{ Teste}}{ASC_{0-t} \text{ Referência}} \right), \left(\frac{ASC_{0-inf} \text{ Teste}}{ASC_{0-inf} \text{ Referência}} \right) \left(\frac{C_{m\acute{a}x} \text{ Teste}}{C_{m\acute{a}x} \text{ Referência}} \right)$$

A construção desse IC foi baseada no quadrado médio residual da ANOVA. Dois medicamentos foram considerados bioequivalentes se os valores extremos do intervalo de confiança de 90% da razão das médias geométricas das fórmulas acima citadas forem maiores que 80% e menores que 125%.

A análise foi realizada com o emprego dos seguintes softwares: Microsoft Excel versão 2000 Small Business, Equiv Test versão 2.0, Graph Pad Prism versão 4.0 e WinNonlin versão 5.3 (BRASIL, RE 898/2003).

3.2 CURVAS DE MONITORAMENTO PLASMÁTICO

Com objetivo de demonstrar o comportamento farmacocinético linear dos fármacos em estudo, utilizaram-se os dados da média da concentração plasmática de cada um dos fármacos versus tempo (momento das coletas sanguíneas após a administração) obtendo curvas de monitoramento plasmático nos 3 grupos: para o grupo ENALAPRIL, dosagem de 20 mg, uma curva do maleato de enalapril; para o grupo HIDROCLOROTIAZIDA, dosagem de 50 mg, uma curva da hidroclorotiazida; para o grupo ASSOCIAÇÃO, com administração de metade da dosagem de cada fármaco, uma curva da hidroclorotiazida e uma do maleato de enalapril.

As curvas de cada fármaco isolado e associado foram comparadas e, com a farmacocinética linear certificada, os valores obtidos nos parâmetros farmacocinéticos dos fármacos associados foram multiplicados por dois, permitindo estudo estatístico comparativo com dose equivalente.

3.3 CÁLCULO DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS

Descreve-se a seguir como foram obtidos os parâmetros farmacocinéticos utilizados na pesquisa, baseados no banco de dados dos 8 estudos de bioequivalência.

3.3.1 Enalapril administrado de modo isolado

A obtenção dos dados baseou-se em 3 estudos de bioequivalência farmacêutica, realizados em grupos de voluntários sadios, que comparavam formulações em teste, de maleato de enalapril, com o medicamento referência para o mercado brasileiro para este fármaco, o RENITEC® (MERCK, SHARP and DOHME), na dosagem de 20 mg.

Sessenta e nove destes indivíduos ingeriram um comprimido do medicamento RENITEC® e completaram sua participação nos estudos, disponibilizando, através das coletas sanguíneas sequenciais, dados farmacocinéticos que permitiam definir curva de biodisponibilidade do maleato de enalapril.

Os dados destes indivíduos foram agrupados, como se participassem de um mesmo estudo, e os parâmetros de concentração máxima, tempo para concentração máxima, tempo de meia vida plasmática, área sob a curva do tempo zero à última quantificação do fármaco, área sob a curva do tempo zero ao infinito, volume de distribuição, coeficiente de eliminação e *clearance* foram recalculados.

Os resultados obtidos foram considerados para os testes estatísticos comparativos com os da forma associada.

3.3.2 Hidroclorotiazida administrada de modo isolado

A obtenção dos dados baseou-se em 3 estudos de bioequivalência farmacêutica, realizados em grupos de voluntários sadios, que comparavam formulações em teste, de hidroclorotiazida, com o medicamento referência para o mercado brasileiro para este fármaco, o CLORANA® (SANOFI-AVENTIS), na dosagem de 50 mg.

Sessenta e oito destes indivíduos ingeriram um comprimido do medicamento CLORANA® e completaram sua participação nos estudos, disponibilizando, através das coletas sanguíneas sequenciais, dados farmacocinéticos que permitiam definir curva de biodisponibilidade da hidroclorotiazida.

Os dados destes indivíduos foram agrupados, como se participassem de um mesmo estudo, e os parâmetros de concentração máxima, tempo para concentração máxima, tempo de meia vida plasmática, área sob a curva do tempo zero à última quantificação do fármaco, área sob a curva do tempo zero ao infinito, volume de distribuição, coeficiente de eliminação e *clearance* foram recalculados.

Os resultados obtidos foram considerados para os testes estatísticos comparativos com os da forma associada.

3.3.3 Enalapril e hidroclorotiazida em associação

A obtenção dos dados baseou-se em 2 estudos de bioequivalência farmacêutica, realizados em grupos de voluntários sadios, que comparavam formulações em teste, de maleato de enalapril 10 mg associado à hidroclorotiazida 25 mg, com o medicamento referência para o mercado brasileiro para este fármaco, o CO-RENITEC® (MERCK, SHARP and DOHME).

Quarenta e nove destes indivíduos ingeriram um comprimido do medicamento CO-RENITEC® e completaram sua participação nos estudos, disponibilizando, através das coletas sanguíneas sequenciais,

dados farmacocinéticos que permitiam definir curva de biodisponibilidade do maleato de enalapril e da hidroclorotiazida.

Os dados destes indivíduos foram agrupados, como se participassem de um mesmo estudo, e os parâmetros de concentração máxima, tempo para concentração máxima, tempo de meia vida plasmática, área sob a curva do tempo zero à última quantificação do fármaco, área sob a curva do tempo zero ao infinito, volume de distribuição, coeficiente de eliminação e clearance foram recalculados para ambos os fármacos. Estes valores, para fins de ajuste de dose em relação aos grupos de administração isolada dos fármacos que receberam o dobro da dose, baseando-se em farmacocinética linear, foram multiplicados por dois.

Os resultados obtidos de cada fármaco foram considerados para os testes estatísticos comparativos com os das formas administradas isoladas.

3.4 OBTENÇÃO DOS PARÂMETROS FARMACODINÂMICOS

Os estudos de bioequivalência farmacêutica foram desenvolvidos para obter dados farmacocinéticos dos medicamentos em análise.

Determinados fármacos, como os que interferem no equilíbrio hemodinâmico dos indivíduos, podem provocar modificações nos valores dos dados vitais coletados durante o estudo e permitir avaliação farmacodinâmica.

Nos estudos realizados, os dados vitais dos voluntários foram aferidos periodicamente desde 1 hora antes da administração do medicamento até durante o tempo de 5 meias-vidas do fármaco.

Selecionaram-se os valores de pressão arterial e frequência cardíaca (pulso) registrados 1 hora antes das administrações e os valores que coincidiam com o tempo de concentração máxima de cada fármaco e metabólito ativo obtidos no estudo.

Para avaliar a ação do maleato de enalapril calculou-se a média dos valores de pressão arterial e frequência cardíaca dos tempos de 1 hora antes da administração, de 1 hora após administração (T_{max} do enalapril) e de 5 horas após administração (T_{max} previsto do enalaprilato), tanto para o grupo ENALAPRIL, de administração isolada, quanto para o grupo ASSOCIAÇÃO, de administração associada.

Para avaliar a ação da hidroclorotiazida calculou-se a média dos valores de pressão arterial e frequência cardíaca dos tempos de 1 hora antes da administração e de 3 horas após administração (T_{max} da hidroclorotiazida), tanto para o grupo HIDROCLOROTIAZIDA, de adminis-

tração isolada, quanto para o grupo ASSOCIAÇÃO, de administração associada.

Os referidos dados selecionados foram considerados para os cálculos estatísticos comparativos entre as medidas prévias à administração e as medidas coincidentes com o Tempo de concentração máxima dos fármacos administrados.

3.5 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Os parâmetros farmacocinéticos de Concentração máxima atingida, Área sob a Curva (0-t) e o Tempo para concentração máxima foram utilizados para comparar os grupos de fármacos administrados isoladamente e em associação.

Após a obtenção dos dados farmacocinéticos, os resultados dos grupos foram submetidos a teste F para análise de variância, a fim de certificar sua homogeneidade.

Para a Concentração máxima e Área sob a curva, através das médias obtidas, realizou-se a análise de variância (ANOVA) e para o Tempo de concentração máxima, utilizou-se teste não paramétrico de Mann-Whitney a fim de comparar as medianas.

A média dos parâmetros farmacodinâmicos, pressão arterial sistólica, pressão diastólica e frequência cardíaca, nos tempos de 1 hora antes da administração dos fármacos e no tempo correspondente ao T_{max}, foram comparadas utilizando o teste t pareado.

Estes mesmos parâmetros clínicos foram comparados entre os grupos, através do teste t, considerando a droga isolada e associada nos tempos de concentração máxima (enalapril 1 h; enalaprilato 5 h; hidrocloreotiazida 3 h).

Em todas as análises, utilizou-se nível de significância de 5 % ($\alpha = 0,05$).

4 RESULTADOS

4.1 CURVAS DE MONITORAMENTO PLASMÁTICO

As curvas de monitoramento plasmático, em ambos os fármacos, comparadas entre o grupo isolado e o grupo associado - com metade da dosagem - demonstraram comportamento farmacocinético linear.

4.1.1 Curvas do maleato de enalapril

Na comparação das curvas de monitoramento plasmático que envolveu o fármaco maleato de enalapril, pôde-se observar que houve coincidência do tempo de concentração máxima e que a concentração máxima na administração de 10 mg correspondeu à metade da concentração máxima da dose de 20 mg, delineando um comportamento farmacocinético linear (FIGURA 1).

Na TABELA 1, apresentam-se as médias de concentração máxima do maleato de enalapril, em administração isolada, na dose de 20 mg, em relação aos tempos de 0 a 10 horas dos 69 indivíduos do grupo ENALAPRIL.

TABELA 1 - MÉDIAS DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DO ENALAPRIL ADMINISTRADO ISOLADAMENTE NA DOSE DE 20 MG, POR VIA ORAL, A 69 VOLUNTÁRIOS

Tempo(h)	Media(ng/ml)	Desv. Pad.	Mínimo	Máximo
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,50	39,19	36,82	2,86	140,71
1,00	98,63	50,91	9,78	226,90
1,33	82,51	40,32	18,99	190,16
1,67	62,39	26,53	13,72	135,43
2,00	45,25	18,93	12,43	85,93
2,50	29,34	14,48	7,95	68,25
3,00	19,47	12,99	4,54	73,75
3,50	12,55	8,48	1,32	42,24

4,00	8,22	5,49	2,29	30,85
5,00	3,15	1,89	0,91	11,81
6,00	1,72	1,18	0,00	8,33
8,00	0,62	1,07	0,00	8,32
10,00	0,45	1,17	0,00	9,37

FONTE: BIOCINESE

Na TABELA 2, apresentam-se as médias de concentração máxima do maleato de enalapril, na dose de 10 mg, em uso associado à hidroclorotiazida 25 mg, em relação aos tempos de 0 a 10 horas dos 49 indivíduos do grupo ASSOCIAÇÃO/enalapril.

TABELA 2 – MÉDIAS DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DO ENALAPRIL ADMINISTRADO NA DOSE DE 10 MG, ASSOCIADO A 25 MG DE HIDROCLOROTIAZIDA, POR VIA ORAL, A 49 VOLUNTÁRIOS

Tempo(h)	Media(ng/ml)	Desv. Pad.	Mínimo	Máximo
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,50	17,46	12,39	0,83	44,41
1,00	43,52	20,99	7,42	87,77
1,33	37,23	14,53	12,14	81,76
1,67	29,89	12,69	7,43	80,15
2,00	22,73	11,49	7,55	70,07
2,50	14,77	8,81	5,27	54,51
3,00	9,52	5,96	2,25	28,94
3,50	6,16	4,27	1,39	19,25

4,00	3,71	2,57	0,87	11,52
5,00	1,53	1,05	0,00	4,70
6,00	0,76	0,59	0,00	2,25
8,00	0,13	0,26	0,00	0,84
10,00	0,04	0,15	0,00	0,56

FONTE: BIOCINESE

A FIGURA 1 ilustra os perfis das curvas das médias de concentração plasmática em função do tempo para o fármaco enalapril.

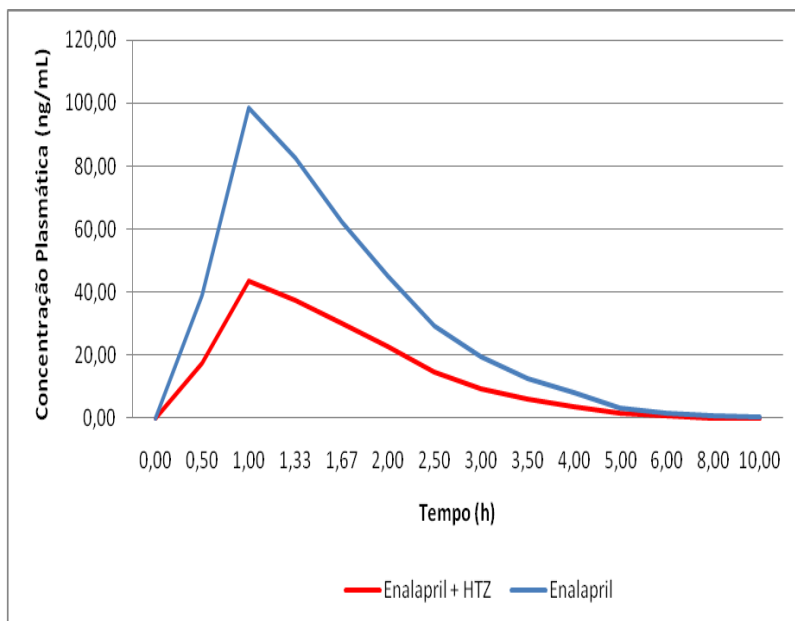


FIGURA 1 - CURVAS DAS MÉDIAS DE CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DO ENALAPRIL ISOLADO, 20 MG (N=69) E ASSOCIADO À HIDROCLOROTIAZIDA (10MG +25MG) (N=49)

FONTE : BIOCINESE

4.1.2 Curvas da hidroclorotiazida

Na comparação das curvas de monitoramento plasmático que envolveu o fármaco hidroclorotiazida, pôde-se observar que houve coincidência do tempo de concentração máxima e que a concentração máxima na administração de 25 mg corresponde à metade da concentração máxima da dose de 50 mg, delineando um comportamento farmacocinético linear (FIGURA 2).

Na TABELA 3, apresentam-se as médias de concentração máxima da hidroclorotiazida, em administração isolada, dose de 50 mg, em relação aos tempos de 0 a 12 horas dos 68 indivíduos do grupo HIDROCLOROTIAZIDA.

TABELA 3 – MÉDIAS DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DA HIDROCLOROTIAZIDA ADMINISTRADA ISOLADAMENTE, NA DOSE DE 50 MG, POR VIA ORAL, A 68 VOLUNTÁRIOS

Tempo(h)	Media(ng/ml)	Desv. Pad.	Mínimo	Máximo
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,50	20,83	40,30	0,00	233,10
1,00	102,50	104,53	0,00	531,27
1,50	154,48	104,28	0,00	489,33
2,00	183,07	86,94	0,00	484,63
2,50	209,00	81,68	29,03	386,81
3,00	221,80	79,00	47,37	472,61
3,50	225,11	75,85	92,49	464,66
4,00	215,31	75,33	94,49	412,97
4,50	185,21	69,77	86,68	435,47
5,00	166,22	65,18	72,13	381,25
6,00	117,59	40,57	51,44	221,33

8,00	78,50	27,50	38,19	148,43
10,00	55,21	18,72	27,81	127,79
12,00	40,16	12,53	17,81	72,40

FONTE: BIOCINESE

Na TABELA 4, apresentam-se as médias de concentração máxima da hidroclorotiazida, na dose de 25 mg, em uso associado ao maleato de enalapril 10 mg, em relação aos tempos de 0 a 12 horas dos 49 indivíduos do grupo ASSOCIAÇÃO/ hidroclorotiazida.

TABELA 4 – MÉDIAS DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DA HIDROCLOROTIAZIDA ADMINISTRADA NA DOSE DE 25 MG, ASSOCIADA A 10 MG DE ENALAPRIL, POR VIA ORAL, A 49 VOLUNTÁRIOS.

Tempo(h)	Media(ng/ml)	Desv. Pad.	Mínimo	Máximo
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,50	15,34	17,51	0,00	71,50
1,00	68,47	65,44	6,19	369,90
1,50	100,02	60,21	13,76	225,08
2,00	108,85	53,78	21,28	212,27
2,50	112,68	39,95	41,79	214,89
3,00	115,75	34,95	55,02	223,38
3,50	111,36	30,65	50,87	179,59
4,00	95,44	27,63	49,10	156,61
4,50	90,44	27,86	50,40	162,30
5,00	73,38	24,53	38,79	142,95

6,00	57,77	22,50	28,27	129,23
8,00	39,49	16,31	18,41	85,06
10,00	28,00	11,48	13,15	61,92
12,00	21,42	9,01	10,86	52,35

FONTE: BIOCINESE

A FIGURA 2 ilustra os perfis das curvas das médias de concentração plasmática em função do tempo para o fármaco hidroclorotiazida.

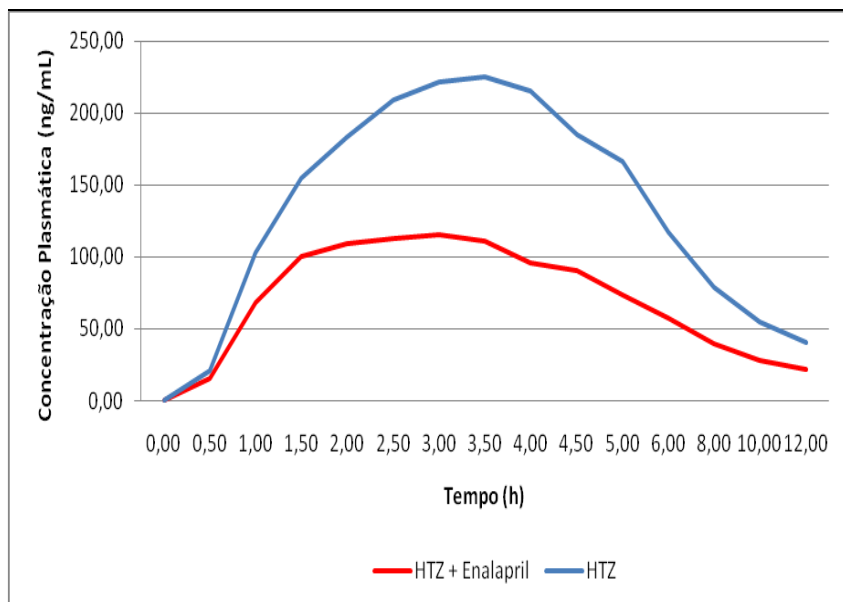


FIGURA 2 - CURVAS DAS MÉDIAS DE CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DA HIDROCLOROTIAZIDA ISOLADA, NA DOSE DE 50 MG (N=68) E ASSOCIADA AO ENALAPRIL (25 MG+10 MG) (N=49)

FONTE : BIOCINESE

4.2 PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS

Os resultados a serem apresentados referem-se à relação dos dados farmacocinéticos de cada fármaco e sua comparação entre grupos sendo que, a nominação isolado/a corresponde aos dados obtidos do grupo ENALAPRIL (n=69) e do grupo HIDROCLOROTIAZIDA (n=68), e a nominação associado/a aos dados obtidos de cada fármaco do grupo ASSOCIAÇÃO (n=49). A nominação DOSE CORRIGIDA corresponde aos valores do fármaco associado (n=49) , tanto da hidroclorotiazida quanto do enalapril, recalculados multiplicando por dois, a fim de realizar a comparação estatística com doses equivalentes.

4.2.1 Enalapril

Os principais parâmetros farmacocinéticos, Concentração máxima (Cmax), Área sob a curva do tempo 0 até a última quantificação do fármaco (ASC 0-t) e Tempo para concentração máxima (Tmax), na comparação dos grupos ENALAPRIL (n=69) e ASSOCIAÇÃO/enalapril (n=49), não apresentaram diferenças estatisticamente significativas (TABELA 5).

TABELA 5 – RESUMO DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DO ENALAPRIL ADMINISTRADO ISOLADAMENTE, NA DOSE DE 20 MG, POR VIA ORAL, A 69 VOLUNTÁRIOS, E ASSOCIADO, NA DOSE DE 10 MG + 25 MG HTZ, POR VIA ORAL, A 49 VOLUNTÁRIOS

Parâmetro	Unidade	Isolado (20 mg)	Associado(10 mg)	Dose corrigida
Cmax	ng/ml	109,7	47,8	95,7
Tmax	h	1,1	1,1	1,1
ASC 0-t	h*ng/ml	171,6	78,6	157,1
ASC 0-i	h*ng/ml	173,4	80	160
T1/2	h	1,2	1,3	1,3
Kel	1/h	0,69	0,78	0,78
V	L	220,2	256,9	128,7
Cl	ml/h	129387,3	138574,8	69285,2

FONTE: BIOCINESE

NOTA: K_{el} – coeficiente de eliminação; $T_{1/2}$ – meia vida; V – volume de distribuição;

Cl - *clearance*; ASC_{0-i} – área sob a curva de 0 a infinito; ASC_{0-t} – área sob a curva do tempo 0 até última quantificação; C_{max} – concentração máxima; T_{max} – tempo de concentração máxima; Dose corrigida – valor associado recalculado x2;

Na comparação do parâmetro Concentração máxima do enalapril, se encontrou valor de $p=0,1008$ (FIGURA 3).

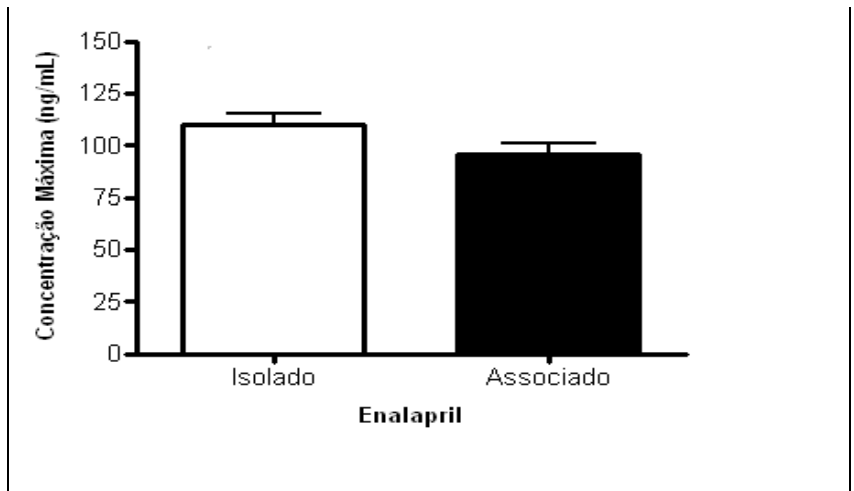


FIGURA 3 – VALORES COMPARATIVOS DE CONCENTRAÇÃO MÁXIMA DO ENALAPRIL ADMINISTRADO ISOLADO (20 MG; N=69) E ASSOCIADO (10 MG; N=49)

FONTE: BIOCINESE

NOTA: Associado – valor de C_{max} do enalapril 10 mg multiplicado por 2 (dose corrigida)

Para o parâmetro Área sob a curva (0-t) do enalapril, se encontrou valor de $p=0,1730$ (FIGURA 4).

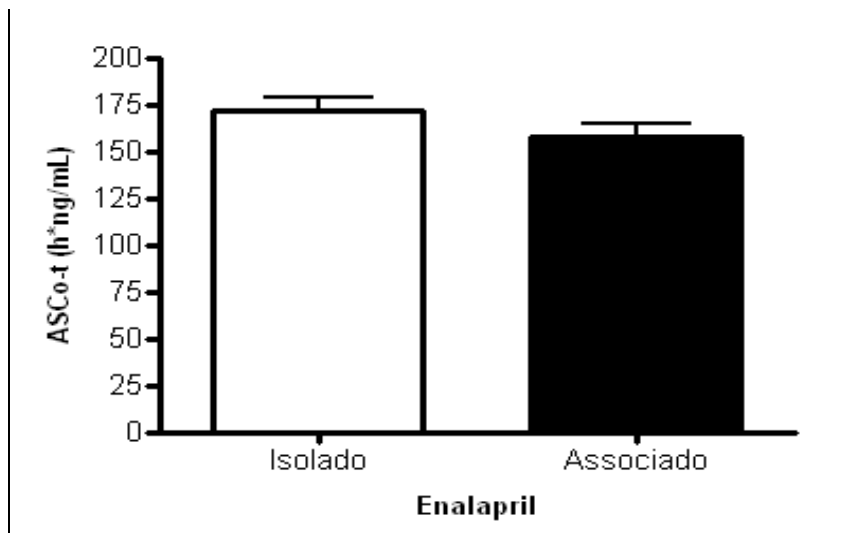


FIGURA 4 - VALORES COMPARATIVOS DE ASC 0-t DO ENALAPRIL ADMINISTRADO ISOLADO (20 MG; N=69) E ASSOCIADO (10 MG; N=49)

FONTE: BIOCINESE

NOTA: ASC 0-t – área sob a curva do tempo 0 até última quantificação do fármaco

Associado – valor da ASC 0-t enalapril 10 mg multiplicado por 2 (dose corrigida)

4.2.2 Hidroclorotiazida

Os parâmetros farmacocinéticos encontrados no grupo HIDROCLOROTIAZIDA (n=68), quando comparados com os obtidos do grupo ASSOCIAÇÃO/hidroclorotiazida (n=49) (TABELA 6), não demonstraram diferença estatisticamente significativa quanto à Concentração máxima (p=0,0749) (FIGURA 5) e Tempo para concentração máxima (p=0,0592). Sendo que para o Tempo, utilizou-se comparação das medianas por teste não paramétrico.

TABELA 6 – RESUMO DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DA HIDROCLOROTIAZIDA ADMINISTRADA ISOLADAMENTE, NA DOSE DE 50 MG, POR VIA ORAL, A 68 VOLUNTÁRIOS, E ASSOCIADA, NA DOSE DE 25 MG + 10 MG DE ENALAPRIL, POR VIA ORAL, A 49 VOLUNTÁRIOS

Parâmetro	Unidade	Isolada(50mg)	Associada (25mg)	Dose corrigida
Cmax	ng/ml	279	155,9	311
Tmax	h	3	2,7	2,7
ASC 0-t	h*ng/ml	1520	875,6	1751,3
ASC 0-i	h*ng/ml	1766,8	1007,5	2015
T1/2	h	6,3	8,2	8,2
Kel	1/h	0,1	0,1	0,1
V	L	277,9	305,7	152,3
Cl	ml/h	30376,4	27235,5	13617,5

FONTE: BIOCINESE

NOTA: Kel – coeficiente de eliminação; T1/2 – meia vida; V – volume de distribuição;

Cl - *clearance*; ASC 0-i – área sob a curva de 0 a infinito; ASC 0-t – área sob a curva do tempo 0 até última quantificação; Cmax – concentração máxima; Tmax – tempo de concentração máxima; Dose corrigida – valor associado recalculado x2;

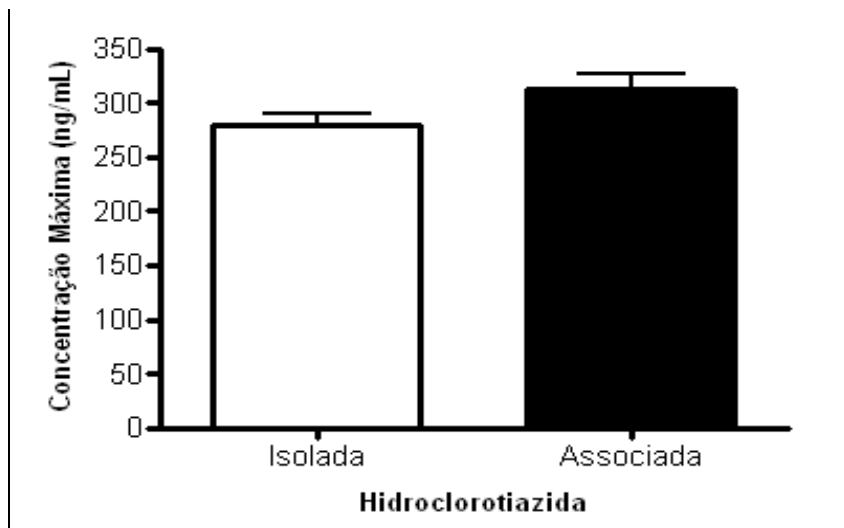


FIGURA 5 – VALORES COMPARATIVOS DE CONCENTRAÇÃO MÁXIMA DA HIDROCLOROTIAZIDA ADMINISTRADA ISOLADA (50 MG; N=68) E ASSOCIADA (25MG; N=49)

FONTE: BIOCINESE

NOTA: Associada – valor de Cmax HTZ 25 mg multiplicado por 2 (dose corrigida)

A Área sob a curva no grupo ASSOCIAÇÃO/hidroclorotiazida mostrou-se significativamente maior que no grupo HIDROCLOROTIAZIDA, $p=0,0077$ (FIGURA 6).

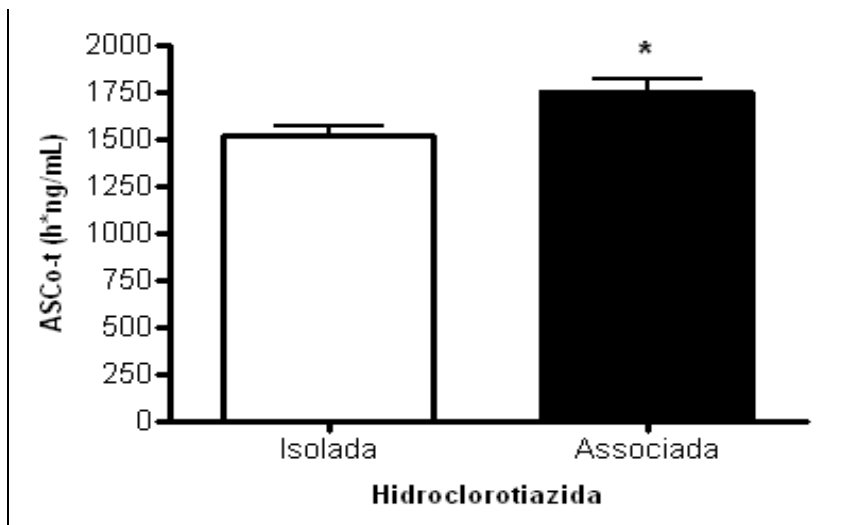


FIGURA 6 - VALORES COMPARATIVOS DE ASC 0-t DA HIDROCLOROTIAZIDA ADMINISTRADA ISOLADA (50 MG; N=68) E ASSOCIADA (25 MG; N=49)

FONTE: BIOCINESE

NOTA: ASC 0-t – área sob a curva do tempo 0 até última quantificação do fármaco;

* $p < 0,05$ – estatisticamente significativo

Associada – valor da ASC 0-t HTZ 25 mg multiplicado por 2 (dose corrigida)

4.3 PARÂMETROS FARMACODINÂMICOS

Durante os estudos de bioequivalência, foram realizadas medidas de pressão arterial e pulso por um período de 5 meias-vidas dos fármacos administrados. Selecionaram-se os parâmetros aferidos nos períodos da média de T_{max} de cada fármaco analisado (1 h para enalapril e 3 h para hidroclorotiazida) e do metabólito ativo do enalapril, enalaprilato (5 h). As médias obtidas foram comparadas dentro de cada grupo (teste estatístico t pareado), antes e depois da administração dos medicamentos, e também entre os grupos (teste estatístico t).

4.3.1 Grupo Enalapril

No grupo que recebeu a dose de 20 mg de enalapril, as médias das medidas de pulso 1 hora antes da tomada da medicação (62,7 bpm) e 1 hora após a tomada (66 bpm), apresentaram elevação significativa (* $p < 0,0001$). A pressão diastólica mostrou-se significativamente maior após a tomada da medicação (67 mmHg) do que previamente a ela (64,9 mmHg)(* $p = 0,0354$). Não houve diferença quanto às medidas da pressão sistólica (111,8 mmHg pré e 111,1 mmHg pós; $p = 0,5098$), conforme mostrado na FIGURA 7.

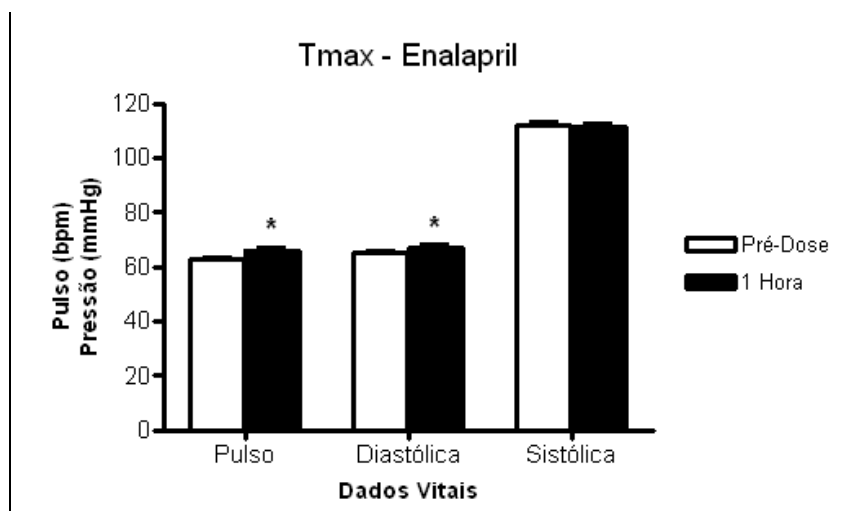


FIGURA 7 – COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS ANTES E 1 HORA APÓS ADMINISTRAÇÃO DE 20 mg DE ENALAPRIL A 69 VOLUNTÁRIOS

FONTE: BIOCINESE

NOTA: * $p < 0,05$ – estatisticamente significativo

Encontrou-se diferença significativa (* $p < 0,0001$) na avaliação de todos os parâmetros clínicos relacionados ao Tmax do enalaprilato (5 h), com aumento de frequência cardíaca e queda de pressão arterial (FIGURA 8). As medidas de pulso, pressão diastólica e sistólica foram respectivamente: 64,7 bpm, 67,9 mmHg e 110,9 mmHg antes da medicação e 67,3 bpm, 68,2 mmHg e 111,1 mmHg após.

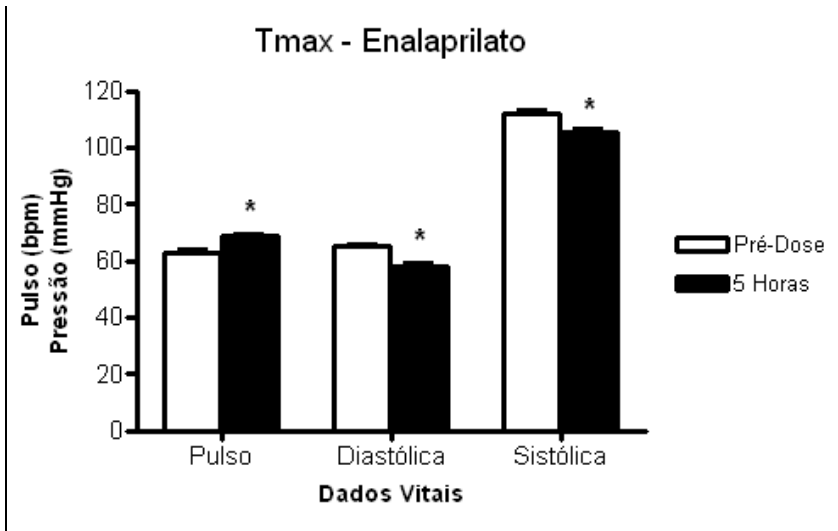


FIGURA 8 - COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS ANTES E 5 HORAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DE 20 mg DE ENALAPRIL A 69 VOLUNTÁRIOS

FONTE: BIOCINESE

NOTA: * $p < 0,05$ – estatisticamente significativo

4.3.2 Grupo Hidroclorotiazida

No grupo que recebeu a dose de 50 mg de hidroclorotiazida, houve elevação estatisticamente significativa da frequência cardíaca (* $p < 0,0001$) 3 horas após a administração (67,6 bpm), em comparação com a medida prévia à administração do medicamento (63,6 bpm). Nas medidas de pressão arterial, não se encontrou diferença estatística. Pressão diastólica prévia a administração: 64,9 mmHg, e 3 horas após: 66 mmHg ($p = 0,3419$). Pressão sistólica prévia: 108,5 mmHg, e 3 horas após: 110,7 mmHg (FIGURA 9).

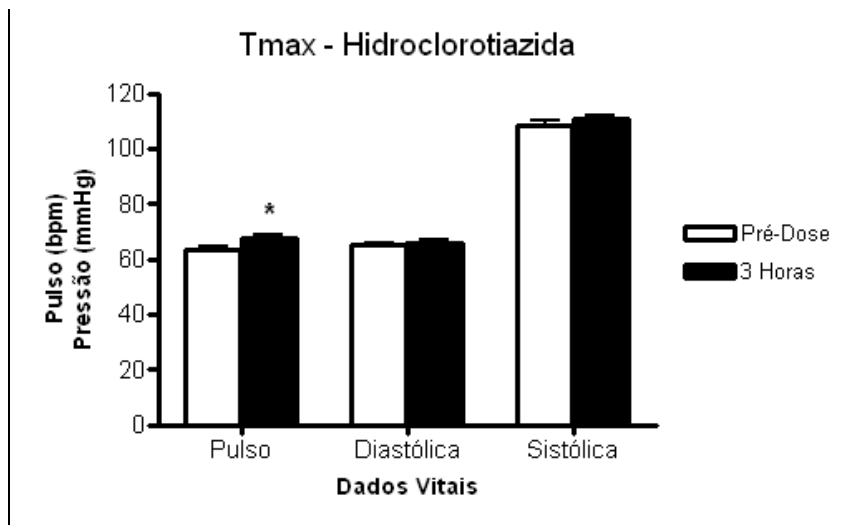


FIGURA 9 - COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS ANTES E 3 HORAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DE 50 mg DE HIDROCLOROTIAZIDA A 68 VOLUNTÁRIOS

FONTE: BIOCINESE

NOTA: * $p < 0,05$ – estatisticamente significativo

4.3.3 Grupo Associação

Neste grupo, como os indivíduos receberam uma dose de 10 mg de enalapril associado a 25 mg de hidroclorotiazida, a análise ocorreu em 3 momentos após a tomada da medicação: 1h – relação com enalapril; 3 h – relação com hidroclorotiazida; 5 h – relação com enalaprilato.

No tempo relacionado ao enalapril, houve elevação da frequência cardíaca (64,7 bpm/ 67,3 bpm) ($p=0,0004$), mas não houve diferenças estatísticas nas pressões arteriais diastólica (67,9 mmHg/68,2 mmHg) ($p=0,8155$) e sistólica (110,9 mmHg/111,1 mmHg) ($p=0,9140$), como demonstra a FIGURA 10.

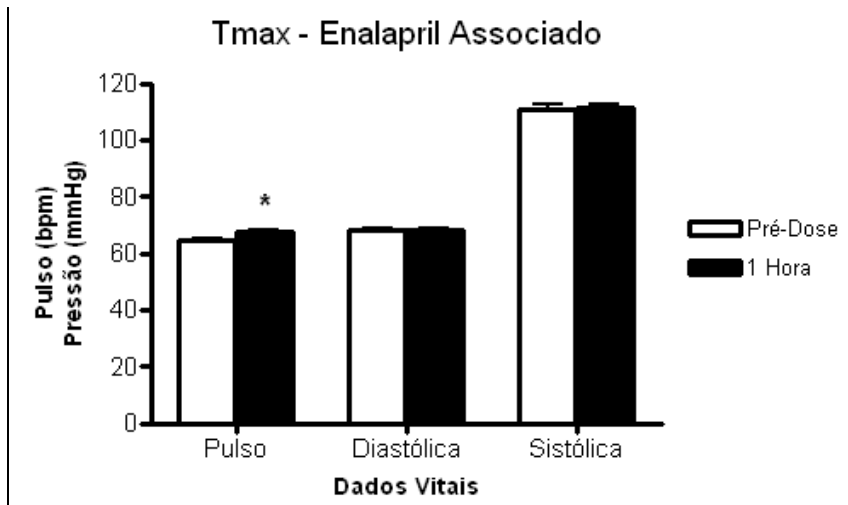


FIGURA 10 - COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS ANTES E 1 HORA APÓS ADMINISTRAÇÃO (T_{max} DO ENALAPRIL) DA ASSOCIAÇÃO ENALAPRIL 10 MG E HIDROCLOROTIAZIDA 25 MG A 49 VOLUNTÁRIOS

FONTE: BIOCINESE

NOTA: * $p < 0,05$ – estatisticamente significativo

No tempo relacionado à hidroclorotiazida, houve diferença estatisticamente significativa em todos os parâmetros. Elevação da frequência cardíaca: 64,7 bpm/ 67 bpm, valor de * $p < 0,0023$. Redução de pressão diastólica: 67,9 mmHg/ 63,4 mmHg, valor de * $p < 0,0030$. Redução de pressão sistólica: 110,9 mmHg/ 107 mmHg, valor de * $p < 0,0343$ (FIGURA 11).

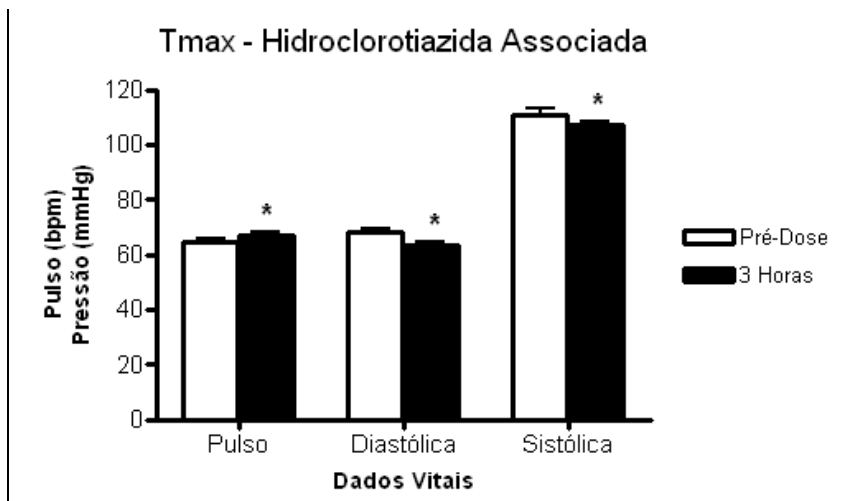


FIGURA 11 - COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS ANTES E 3 HORAS APÓS ADMINISTRAÇÃO (T_{max} DA HIDROCLOROTIAZIDA) DA ASSOCIAÇÃO DE ENALAPRIL 10 MG E HIDROCLOROTIAZIDA 25 MG A 49 VOLUNTÁRIOS

FONTES: BIOCINESE

NOTA: * $p < 0,05$ – estatisticamente significativo

No tempo relacionado ao enalaprilato, houve diferença estatisticamente significativa em todos os parâmetros. Elevação da frequência cardíaca: 64,7 bpm/ 70,1 bpm, valor de * $p < 0,0003$. Redução de pressão diastólica: 67,9 mmHg/ 60,1 mmHg, valor de * $p < 0,0009$. Redução de pressão sistólica: 110,9 mmHg/ 103 mmHg, valor de * $p < 0,0055$ (FIGURA 12).

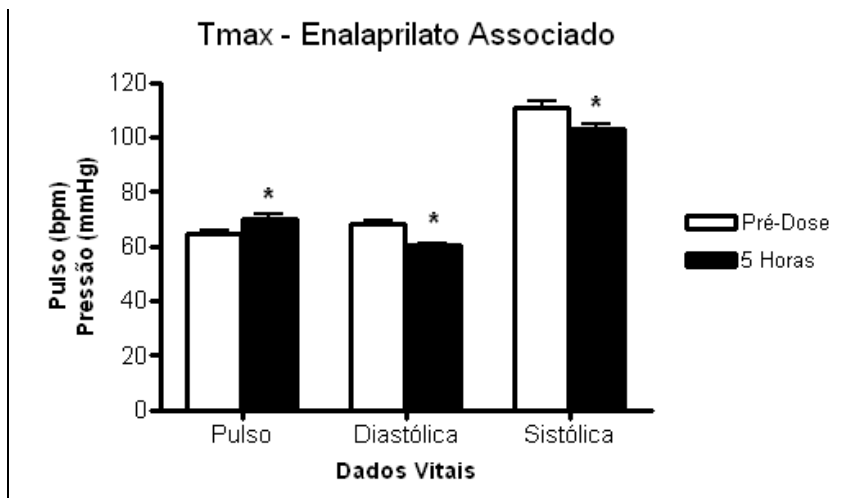


FIGURA 12 - COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS ANTES E 5 HORAS APÓS ADMINISTRAÇÃO (T_{max} DO ENALAPRILATO) DA ASSOCIAÇÃO ENALAPRIL 10 MG E HIDROCLOROTIAZIDA 25 MG A 49 VOLUNTÁRIOS

FONTE: BIOCINESE

NOTA: * $p < 0,05$ – estatisticamente significativo

4.3.4 Comparação entre os grupos

No intuito de avaliar se ocorreu diferença significativa no impacto farmacodinâmico de cada fármaco, quanto ao fato de estar isolado ou associado, utilizou-se teste estatístico t para comparar os valores dos sinais vitais entre os grupos, nos tempos de 1h – relação com enalapril, 3 h – relação com hidroclorotiazida, 5 h – relação com enalaprilato.

No tempo de 1 hora, não houve diferença entre os sinais vitais dos indivíduos, no período da concentração máxima do enalapril, quando comparada a administração isolada com a associada, conforme mostrado na TABELA 7.

TABELA 7 – COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS NO T_{max} DO ENALAPRIL ENTRE AS ADMINISTRAÇÕES DO FÁRMACO ISOLADO (DOSE 20 MG; N=69) E ASSOCIADO (DOSE 10 MG + 25 MG HTZ; N=49)

	Pulso (p=0,4088)		Diastólica (p=0,3926)		Sistólica (p=0,9903)	
	Enalapril	Enalapril Ass.	Enalapril	Enalapril Ass.	Enalapril	Enalapril Ass.
Média	66,04	67,36	67,03	68,24	111,11	111,14
Mediana	65,00	65,00	65,00	68,00	111,50	109,50
Desvio Padrão	8,96	8,29	8,29	11,67	11,67	10,94
C.V. %	13,56%	12,30%	12,37%	17,09%	10,50%	9,84%

FONTE: BIOCINESE

NOTA: Ass. – associado; Desv.Pad. – desvio padrão; C.V. – variabilidade

T_{max} – tempo para concentração máxima

No tempo de 3 horas, não houve diferença entre os sinais vitais dos indivíduos, no período da concentração máxima da hidroclorotiazida, quando comparada a administração isolada com a associada (TABELA 8).

TABELA 8 – COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS NO T_{max} DA HIDROCLOROTIAZIDA ENTRE AS ADMINISTRAÇÕES DO FÁRMACO ISOLADO (DOSE DE 50 MG; N= 68) E ASSOCIADO (DOSE DE 25 MG + 10 MG ENALAPRIL; N=49)

	Pulso (p=0,7256)		Diastólica (p=0,0691)		Sistólica (p=0,0824)	
	Hidroclor.	Hidroclor. Ass.	Hidroclor.	Hidroclor. Ass.	Hidroclor.	Hidroclor. Ass.
Média	67,62	67,08	66,08	63,48	110,76	107,02
Mediana	66,00	66,50	66,00	61,00	111,00	108,00
Desv. Pad.	9,02	7,17	8,48	6,40	11,97	10,96

C.V. %	13,35%	10,69%	12,83%	10,08%	10,81%	10,25%
---------------	--------	--------	--------	--------	--------	--------

FONTE: BIOCINESE

NOTA: Ass. – associada; Desv.Pad. – desvio padrão; C.V. – variabilidade

Tmax – tempo para concentração máxima

No tempo de 5 horas, encontrou-se uma maior média de frequência cardíaca nos indivíduos do grupo com enalaprilato associado (70,1 bpm), em relação à administração isolada (68,5 bpm), sendo o valor de $*p<0,001$. Não se encontrou diferença significativa quanto à pressão diastólica no grupo isolado (57,9 mmHg) e associado (60,1 mmHg), valor de $p=0,3024$. Encontrou-se pressão arterial sistólica significativamente menor no grupo de indivíduos que receberam o enalaprilato associado (103 mmHg), em relação aos do grupo isolado (105,3 mmHg), sendo o valor de $*p<0,002$ (FIGURA 13).

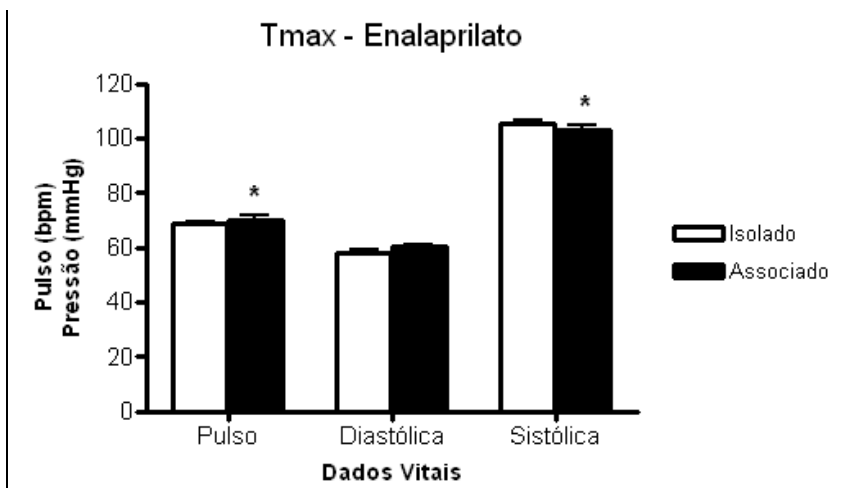


FIGURA 13 – COMPARAÇÃO DOS DADOS VITAIS ENTRE OS GRUPOS QUE RECEBERAM ENALAPRIL ISOLADO (DOSE DE 20 MG; N=69) E ASSOCIADO (DOSE DE 10 MG + 25 MG DE HTZ; N=49) NO Tmax DO ENALAPRILATO

FONTE: BIOCINESE

NOTA: $*p<0,05$ – estatisticamente significativo

5 DISCUSSÃO

A ideia inicial deste trabalho surgiu da observação de significativa variabilidade em dados farmacocinéticos obtidos de fármacos administrados a voluntários sadios, participantes de estudos de bioequivalência farmacêutica.

A importância da associação entre diurético tiazídico e bloqueadores do sistema renina-angiotensina no tratamento da hipertensão arterial, e o impacto clínico desta condição, influenciaram diretamente na escolha dos fármacos a serem estudados, principalmente pela possibilidade de interferência farmacocinética das associações fixas, ou seja, administrados em uma só apresentação galênica. A concomitância de duas variáveis importantes, a saber: o metabolismo dos indivíduos de pesquisa e a administração de dois fármacos em uma só apresentação farmacêutica - tendo a depuração renal como principal via de eliminação - despertou a necessidade de investigar o comportamento dessa associação.

Os estudos relacionados à análise farmacocinética do maleato de enalapril e da hidroclorotiazida têm, em geral, tamanhos de amostra que variam de 5 a 40 indivíduos de pesquisa, sendo de 24 a população mais encontrada para estudos de bioequivalência (CORVELEYN; REMON, 1998; NDINDAYINO *et al* , 2002; DICKSON *et al* , 2003; PORTOLÉS *et al* , 2004; KOYTCHEV *et al* , 2004; SIERRA *et al* , 2004; ARAFAT *et al* , 2005).

O acesso a vários estudos de biodisponibilidade dos fármacos em análise permitiu o agrupamento de dados de um número significativo de indivíduos: 69 para o maleato de enalapril, 68 para a hidroclorotiazida e 49 para a associação deles, compondo um total de 186 indivíduos. Este número aumenta o poder de significância dos dados obtidos.

Uma crítica em relação a este tipo de agrupamento é que, quando se comparou a farmacocinética de cada grupo de uso isolado dos fármacos com o grupo de medicação associada, se estava analisando grupos com indivíduos diferentes. Esta situação não ocorre nos estudos de bioequivalência, já que, nesses estudos, o mesmo grupo de indivíduos recebe as duas formulações, chamadas de teste e referência, minimizando portanto possíveis variações interindividuais.

O fato da utilização, conforme metodologia de realização de estudo de bioequivalência, de indivíduos de características bem definidas, tais como: índice de massa corpórea entre 19 e 27, idade entre 18 e 50 anos, não utilização concomitante de outros medicamentos, exames laboratoriais dentro dos valores de referência e padronização de hábitos

físicos e alimentares antes e durante os períodos de participação nos estudos, deixou os grupos mais padronizados. Além disso, teste estatístico para comparação de variância (teste F), realizado nos dados farmacocinéticos obtidos, demonstrou que os grupos eram homogêneos, ou seja, comparáveis.

O princípio do uso de associações de medicamentos permite a utilização de menores doses de cada fármaco. Assim, os estudos destas apresentações disponíveis para análise apresentam, na sua maioria, administração de metade da dose padrão (NOBRE *et al*, 2003).

A comparação entre grupos que receberam doses diferentes foi fundamentada no comportamento farmacocinético linear referido na literatura, tanto do enalapril (PORTOLÉS *et al*, 2004) quanto da hidroclorotiazida (MELIAN; JARVIS, 2002; DICKSON *et al*, 2003).

Como esperado, a realização de curvas de monitoramento plasmático permitiu a certificação que os fármacos administrados com metade da dose, no grupo associado, apresentavam média de concentração máxima que correspondia aproximadamente à metade daquela encontrada no grupo de administração isolada, mas ocorrendo no mesmo período de tempo. Na análise do maleato de enalapril, a maior média de concentração plasmática da administração isolada foi de 98,6 ng/ml e na associada de 43,5 ng/ml, ambas obtidas no tempo de 1 hora após a administração. Nos parâmetros da hidroclorotiazida, encontraram-se os valores de maior média de concentração da forma isolada de 225,1 ng/ml e associada de 115,7 ng/ml, sendo nos tempos de 3 h e 3,5 h respectivamente. A comprovação da previsibilidade dos parâmetros, característica da farmacocinética linear, facilitou o ajuste de dose, realizado dobrando-se os valores obtidos no grupo associado, o que possibilitou a comparação estatística dos resultados farmacocinéticos.

Os resultados dos parâmetros farmacocinéticos relacionados aos grupos de indivíduos que receberam 20 mg de enalapril (isolado) e 10 mg de enalapril (associado) foram compatíveis com os dados disponíveis em literatura. No presente trabalho, a C_{\max} do enalapril isolado foi de 109,7 ng/ml (variando de 33 a 226,9 ng/ml), o T_{\max} foi de 1,1 h e o $T_{1/2}$ de 1,2 h. O valor encontrado de C_{\max} na forma associada foi de 47,8 ng/ml (variando de 12,1 a 87,7 ng/ml), o T_{\max} foi de 1,1 h e o $T_{1/2}$ de 1,3 h. As referências de literatura do enalapril para 20 mg suportam valores de C_{\max} na faixa de 110 a 315 ng/ml. PORTOLÉS *et al*, em 2004, em estudo de bioequivalência utilizando dose de 20 mg de enalapril em grupo de 24 voluntários, relataram valor médio de C_{\max} de 118 ng/ml, T_{\max} de 0,9 h e $T_{1/2}$ de 0,8 h. WANG, em 2007, relata valores de C_{\max} entre 270 e 280 ng/ml, também em doses de 20 mg de

enalapril, T_{max} de 0,85 h e T_{1/2} de 1,7 h. ARAFAT *et al* , em 2005, encontraram valores de C_{max} de 313 ng/ml para dose de 10 mg de enalapril, e de 481 ng/ml para dose de 20 mg, sendo o T_{max} de 1 h para ambas as doses e o T_{1/2} de 1,3 h para 10 mg e 0,9 h para 20 mg.

Utilizando um cálculo muito próximo do que se realiza nos estudos de bioequivalência, ou seja, analisando o potencial de absorção e biodisponibilidade para duas formulações através dos parâmetros C_{max}, T_{max} e ASC (0-t), comparou-se o comportamento farmacocinético da administração isolada do enalapril com a administração associada ao diurético com dose corrigida. Não se encontrou diferença significativa nos dados analisados, demonstrando que a presença da hidroclorotiazida no grupo associado não alterou o perfil farmacocinético do enalapril. Para comparação da C_{max} o valor foi de p=0,1008, para T_{max} p=0,8770 e para ASC (0-t) p=0,1730. Caso o objetivo da análise fosse avaliar bioequivalência, com estes resultados, estas formulações de enalapril poderiam ser consideradas intercambiáveis.

Os resultados da farmacocinética dos grupos que receberam a hidroclorotiazida nas doses de 50 mg (isolada) e 25 mg (associada a enalapril 10 mg) foram comparáveis aos relatados em literatura. A hidroclorotiazida 50 mg apresentou valor de C_{max} de 279,1 ng/ml, T_{max} de 3 h e T_{1/2} de 6,3 h. Na dose de 25 mg, a C_{max} foi de 155,9 ng/ml, T_{max} de 2,67 h e T_{1/2} de 8 h. Estudos de biodisponibilidade fazem referência de C_{max} na faixa de 70 a 490 ng/ml, considerando doses desde 12,5 até 50 mg. O T_{max} mais referido foi de 3 h e o T_{1/2} de 6 a 15 h. Em 2002, NDINDAYINO *et al* , realizaram estudo comparativo de uma nova formulação de hidroclorotiazida com dose de 50 mg, encontrando no medicamento padrão de referência, C_{max} de 350 ng/ml, T_{max} em 1,9 h e T_{1/2} de 8,9 h. CORVELEYN e REMON, em 1998, também comparando uma nova apresentação liofilizada da hidroclorotiazida na dose de 25 mg, encontraram dados do referência de C_{max} de 200 ng/ml, T_{max} de 3 h e T_{1/2} de 5,8 h.

Nos mesmos moldes do realizado para o maleato de enalapril, duplicando os valores dos resultados farmacocinéticos encontrados na associação, comparou-se C_{max}, T_{max} e ASC (0-t) entre os grupos de HIDROCLOROTIAZIDA e ASSOCIAÇÃO/hidroclorotiazida. Nos resultados de C_{max} (p=0,0749) e T_{max} (p=0,0592) não se encontrou diferença significativa entre as formas de administração. No parâmetro ASC 0-t (p=0,0077), houve diferença significativa, sendo maior a ASC 0-t da ASSOCIAÇÃO (1751,3 hx*ng/ml) em relação à da forma isolada (1520 hx*ng/ml).

Em contraste ao comportamento do maleato de enalapril, a hidrocloreotiazida apresentou modificação no seu comportamento farmacocinético quando associada ao enalapril, mantendo nível de concentração plasmática mais elevado e por maior período de tempo. Mesmo não atingindo o nível de significância estabelecido, o T_{max} da associação foi mais precoce ($2,67 < 3$ h) e a concentração máxima (dose corrigida) teve resultado absoluto superior ($311,9 > 279,1$ ng/ml).

GOMEZ, CIRILLO E IRVIN, em 1985, em trabalho de revisão da farmacologia do enalapril, afirmaram que não ocorre interação entre este fármaco e a hidrocloreotiazida. Estudos realizados com outros fármacos que atuam no bloqueio da angiotensina II associados à hidrocloreotiazida não demonstraram interferências farmacocinéticas. Em 1995, McCREA *et al.*, em um grupo de 12 hipertensos, conduziram estudo em 3 períodos de 7 dias, administrando 50 mg de losartana isoladamente, 12,5 mg de hidrocloreotiazida isoladamente e a associação na mesma dosagem 50/12,5 mg, não encontrando diferença significativa entre os parâmetros isolados e associados, relatando valor de ASC 0-24h 17% menor na hidrocloreotiazida associada. KOYTCHEV *et al* (2004), em 24 voluntários sadios, também não encontraram diferença na farmacocinética do losartana 50 mg quando associado a hidrocloreotiazida, em comparação a forma isolada. A associação entre candesartana e hidrocloreotiazida também não apresentou interferência nos parâmetros farmacocinéticos quando comparados com as administrações isoladas (MELIAN; JARVIS, 2002). YONG *et al* (2000), compararam a administração isolada e associada entre telmisartana e hidrocloreotiazida, concluindo que por não haver interferência na farmacocinética dos fármacos associados, não seria necessário ajuste de dose nessa formulação. Nas associações citadas, tanto losartana, como candesartana e telmisartana, apresentam a particularidade de ter como mecanismo principal de eliminação a via hepático-digestiva, cerca de 70 %, sendo o restante por depuração renal. A losartana não sofre impacto de elevação de C_{max} ou T_{1/2} em vigência de perda de função renal e sim quando ocorre insuficiência hepática, necessitando assim, ajuste de dose. O metabolismo da candesartana é afetado por insuficiência renal (McCREA *et al*, 1995; MELIAN; JARVIS, 2002; JACKSON, 2005;).

As características de eliminação dos fármacos enalapril e hidrocloreotiazida tornam plausível uma possível interferência farmacocinética. Apesar do maleato de enalapril sofrer inicialmente hidrólise no fígado, formando o metabólito ativo enalaprilato, apresenta rápida eliminação renal: cerca de 60% do enalapril é recuperado intacto na urina nas primeiras 24 horas após administração. A hidrocloreotiazida tem compor-

tamento parecido, sendo eliminada através de secreção tubular renal, com 60% recuperada na urina, intacta, em 24 horas. KELLY *et al* (1986), demonstraram uma relação inversamente proporcional entre o grau de filtração glomerular renal e as concentrações plasmáticas do enalapril em pacientes com patologias causando insuficiência renal, comparando com indivíduos saudáveis. NIEMEYER *et al* (1983), comprovaram a necessidade de redução da dose administrada de hidroclorotiazida acompanhando a queda do ritmo de filtração glomerular.

Quanto à variabilidade (CV), a maioria dos parâmetros, em todos os grupos, apresentou índices elevados. Na análise da hidroclorotiazida isolada encontramos apenas a ASC 0-t, ASC 0-inf e Clearance com valores abaixo de 30 % de variabilidade, e quando em associação apenas a ASC 0-t. Quanto ao enalapril, apenas o Tmax da forma associada apresentou CV = 25,38%. No restante dos dados, a variação permaneceu muito elevada, entre 30 e 60 %. Dados de T1/2 e volume de distribuição do enalapril associado chegaram a CV > 100%.

Estes achados corroboram a impressão prévia a este estudo, da grande variabilidade encontrada nos dados farmacocinéticos de indivíduos saudáveis. PORTOLÉS *et al* (2004), relataram em estudo com 24 voluntários saudáveis, analisando farmacocinética tanto do enalapril quanto do enalaprilato, CV na faixa entre 30 a 40 %. Vale ressaltar que no parâmetro de T1/2 do enalapril associado, a retirada de um indivíduo, com tempo de 8,31 h, reduziria o CV em 20%, e o recálculo sem 3 indivíduos (valores de 8,31h, 4,95 h e 4,30 h) levaria o CV do T1/2 do enalapril de 106 para 57%, em um grupo de 69 indivíduos no total, demonstrando o impacto de um indivíduo com metabolismo diferenciado no cálculo estatístico de determinado parâmetro.

Em contraste ao comportamento farmacocinético, quando se analisou os dados clínicos, aferidos nos períodos de estudo, de pulso, pressão diastólica e sistólica dos indivíduos, encontrou-se pouca variabilidade. Todos os valores avaliados, tanto antes quanto depois da administração das medicações apresentaram CV < 15%.

MANCIA *et al* (1983), conduziram estudo com intuito de determinar a variabilidade dos valores de pressão arterial média (PAM), pressão sistólica, diastólica e pulso, por um período de 24 horas. O grupo de 89 indivíduos era composto por 55 homens e 34 mulheres, sendo dividido em indivíduos normotensos (PAM < 100, n=22), moderadamente hipertensos (101 < PAM < 115, n=26) e hipertensos severos (PAM > 115, n=41). Em todos os parâmetros, o coeficiente de variabilidade das médias foi inferior a 15%. Nesta mesma pesquisa (MANCIA *et al*, 1983), se encontrou paralelismo entre o comportamento das médias de

pressão arterial e pulso durante o período de observação de 24 horas, e na análise individual, ocorreu uma correlação fortemente positiva entre pressão e pulso em 74 dos 89 indivíduos analisados. Caso considerássemos apenas os indivíduos normotensos do grupo ($n=22$), a média do pulso em período de sono (69,5 bpm) foi significativamente menor do que com o indivíduo acordado (81,1 bpm). O mesmo ocorreu para a PAM, com valores inferiores no período de sono (74 mmHg) em relação ao período alerta (94,2 mmHg). Esses valores inferiores no período de sono se repetiram, de forma significativa, em todos os parâmetros analisados, mesmo nos grupos de indivíduos hipertensos ($n=26$ e $n=41$).

No presente estudo, observou-se que dentro dos 3 grupos (hidroclorotiazida, enalapril e associação) em todos os tempos analisados, compatíveis com os Tmax dos fármacos (1h para o enalapril, 5 h para o enalaprilato e 3 h para a hidroclorotiazida), a medida de pulso dos indivíduos foi significativamente ($p<0,05$) superior ao valor obtido antes da administração. Considerando que a administração dos fármacos ocorreu no horário de 7 horas da manhã, e que a medida prévia ocorria 1 hora antes da administração - portanto, às 6 horas da manhã - é importante uma análise crítica em relação à real causa da diferença dos dados. YAMASAKI *et al* (1996), determinaram o perfil circadiano da frequência cardíaca de 105 indivíduos sadios (63 homens e 42 mulheres) através de Holter, por um período de 24 horas, e concluíram que no período noturno e no início da manhã (das 6 h até 8 h) ocorre um predomínio de estímulos de frequência parassimpática (controle vagal - redução de pulso), em ambos os sexos, e que durante o desenvolver do dia os estímulos simpáticos (aumento de pulso) vão ampliando sua ação. Assim, há indícios de que o aumento significativo da frequência cardíaca encontrado 1, 3 e 5 horas após a tomada do fármaco possa ter ocorrido por estímulos autonômicos nos indivíduos de pesquisa em relação ao estado de alerta e, não por efeito do fármaco.

Por princípio fisiológico, uma das respostas esperadas para manutenção do débito cardíaco, em presença de queda na resistência periférica e de pressão arterial sistólica, é a elevação da frequência cardíaca. SHAH *et al* (1978), afirmaram que pode ocorrer significativa elevação de frequência cardíaca em indivíduos normotensos, devido a ativa resposta dos baroreceptores, em presença de queda de pressão arterial e depleção de volume.

Quando, entre os grupos, se comparou as médias de pulso, pressão diastólica e pressão sistólica sob ação dos fármacos isolados e associados, para o enalapril (tempo de 1 h) e para a hidroclorotiazida (tempo de 3 h) não se encontrou diferença significativa, portanto não houve

alteração no comportamento farmacodinâmico, nos tempos de 1 h e 3 h, quanto ao fato destes medicamentos estarem associados.

O conhecimento de que o enalapril é uma pró-droga e que não é esperado que ocorra um máximo efeito hipotensor no seu T_{max} e sim no T_{max} de seu metabólito ativo, o enalaprilato (T_{max} de 4 a 5 horas), motivou a pesquisa dos dados clínicos no tempo de 5 horas, baseado no T_{max} previsto em literatura (PORTOLÉS *et al*, 2004; SIERRA *et al*, 2004; GU *et al*, 2004; JACKSON, 2005; ARAFAT *et al*, 2005; LIMA; SANTOS; LIMA, 2008;). Diz-se previsto, pois este metabólito não foi quantificado neste trabalho. Esta observação é feita, pois nos estudos de biodisponibilidade comparativa conduzidos no Brasil, por determinação da ANVISA, para o fármaco maleato de enalapril, o analito a ser quantificado é unicamente o fármaco inalterado, no caso, o enalapril (BRASIL, RE 1170/2006). Isto não ocorre nos Estados Unidos onde o FDA determina a quantificação de ambos (CLINICAL TRIALS, 2011; FDA, 2011).

Ainda em relação à comparação de farmacodinâmica entre os grupos associado e isolado, quanto ao tempo de 5 horas (T_{max} previsto do enalaprilato), houve diferença significativa nos parâmetros de pulso (elevação) e pressão sistólica (queda) no grupo ASSOCIAÇÃO. Nesta situação, pode-se considerar que, devido à significativa queda da pressão sistólica, o aumento da frequência cardíaca possa estar relacionado ao efeito hipotensor do enalaprilato, e que a presença da hidroclorotiazida, através de efeito hipotensor sinérgico, pode ter interferido na farmacodinâmica do enalapril, potencializando a ação do seu metabólito ativo, o enalaprilato.

Nas comparações da pressão sistólica e diastólica realizadas dentro de cada grupo, ou seja, correlacionando a medida prévia à administração com a do T_{max} do fármaco analisado, observou-se que para os indivíduos que receberam enalapril, tanto isolado quanto associado, no tempo de 5 horas (T_{max} previsto para o metabólito ativo enalaprilato) houve significativa queda dos valores das pressões. Em contrapartida, no tempo de 1 hora (T_{max} do enalapril inalterado), excetuando uma elevação da pressão diastólica quando isolado, a pressão sistólica no isolado e a sistólica e diastólica no associado a hidroclorotiazida não apresentaram variação significativa. Estes resultados corroboram a característica do fármaco como pró-droga, tendo seu máximo efeito relacionado ao enalaprilato (BONAZZI *et al*, 1997; PORTOLÉS *et al*, 2004; JACKSON, 2005; LIMA; SANTOS; LIMA, 2008). O impacto do uso de inibidores da enzima conversora, no caso o enalapril, causando queda dos níveis pressóricos em indivíduos saudáveis, recebendo uma só

dose, não é esperado. ATLAS; NIARCHOS; CASE (1983), afirmaram que em indivíduos saudáveis, com níveis normais de sódio, uma só dose de medicamento inibidor da enzima conversora de angiotensina exerce pouco efeito na pressão arterial sistêmica. A queda de pressão ocorreria em doses repetidas por vários dias e em indivíduos com depleção de sódio (JACKSON, 2005). TODD; HEEL (1986), em artigo de revisão farmacocinética e farmacodinâmica do enalapril, defenderam que não se espera significativa queda de pressão em indivíduos jovens após uso desta medicação e que eventos como as hipotensões posturais são raros.

Dentro dos grupos de indivíduos que receberam a hidroclorotiazida, a análise farmacodinâmica foi concentrada no tempo de 3 horas após administração. Quando administrada na forma isolada, dose de 50 mg, não houve variação significativa nas pressões sistólica e diastólica. Este resultado vai ao encontro de que a ação natriurética da hidroclorotiazida ocorre no túbulo contorcido distal, e que é limitada, pois apenas 5% do sódio tubular são reabsorvidos neste segmento, sendo seu poder de redução dos níveis de pressão arterial considerado moderado (OATES; BROWN, 2005).

SHAH *et al* (1978), afirmaram que o uso de hidroclorotiazida em indivíduos saudáveis jovens não produz efeito de queda da pressão arterial, embora possa ocorrer aumento de frequência cardíaca como resposta ativada nos baroreceptores devido à depleção de volume, sendo esta compensação baseada na boa complacência das artérias aorta e carótidas.

No grupo em que a hidroclorotiazida foi administrada em associação ao enalapril, mesmo com metade da dose da forma isolada, houve queda significativa das pressões sistólica e diastólica no tempo de 3 horas. Considerando sua limitação de ação quando isolada, pode-se concluir que no T_{max} da hidroclorotiazida tenha ocorrido efeito sinérgico com o enalapril/enalaprilato. Esta ação aditiva decorre do fato de que uma consequência endócrina do uso de inibidor da enzima conversora de angiotensina é a redução da resposta normal da aldosterona à perda de sódio, portanto seu papel contrário à natriurese fica prejudicado, potencializando o efeito hipotensor (JACKSON, 2005). Este fato vem também justificar a utilização de baixas doses de hidroclorotiazida nas associações com medicamentos de efeitos sinérgicos.

A utilização de menor dosagem nas associações objetiva também a redução de eventos adversos, como referida na metanálise feita por LAW (2003), avaliando que, em estudos controlados com uso de metade da dose padrão de hidroclorotiazida, observou-se queda da taxa de eventos adversos de 9% para 2%.

Os estudos de bioequivalência utilizados na análise do presente trabalho têm como padrão a utilização de um formulário, para preenchimento do médico assistente, em caso de eventos adversos. Neste formulário há uma definição se o evento apresentado pelo voluntário é relacionado ou não ao fármaco em questão. No grupo HIDROCLOROTIAZIDA (n=68), dose de 50 mg, não ocorreram eventos clínicos significativos relacionados ao fármaco. No grupo do ENALAPRIL (n=69), dose de 20 mg, ocorreu uma hipotensão (pressão arterial abaixo de 90/60 mmHg, palidez, sudorese, tontura e escurecimento da visão), 4 h 25 min. após a administração, dentro da faixa de Tmax previsto para enalaprilato (4 a 5 h). No grupo ASSOCIAÇÃO (n=49), com metade da dose dos fármacos, houve relato de 4 eventos de hipotensão, 4 h 18 min; 4 h 28 min; 4 h 40 min e 7 h após a administração, demonstrando que, mesmo com redução da dose, a potencialização do efeito hipotensor é significativa na associação fixa dos fármacos. Todos os eventos clínicos foram conduzidos e controlados apenas com repouso no leito.

Estes achados clínicos corroboram a importância de também analisar aspectos farmacodinâmicos, sempre que possível, nos estudos de bioequivalência. Especificamente, quando analisado o fármaco enalapril, é fundamental a quantificação do metabólito ativo enalaprilato, já que os eventos clínicos estarão relacionados ao seu Tmáx.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que:

- Os fármacos apresentaram comportamento farmacocinético linear.
- A farmacocinética do enalapril não se alterou na presença da hidroclorotiazida.
- A hidroclorotiazida apresentou aumento de ASC 0-t em presença do enalapril.
- Indivíduos sadios que receberam Enalapril tiveram queda significativa de PA no T_{max} relacionado ao enalaprilato (5 h), principalmente quando associado ao diurético (sinergia).
- Indivíduos sadios que receberam Hidroclorotiazida, só tiveram redução significativa de PA no T_{max} (3h), quando a tomaram associada ao enalapril (sinergia).
- Mesmo com alta variabilidade farmacocinética entre indivíduos sadios, a interferência nos níveis de pressão arterial ocorreu de forma significativa e no momento previsto para a indicação clínica dos fármacos.
- Assim, esse resultado incentiva o uso da associação fixa de enalapril e hidroclorotiazida, pelas seguintes vantagens: i) ação efetiva no tratamento da hipertensão arterial; ii) redução significativa das dosagens administradas, especialmente quanto à hidroclorotiazida; iii) redução de eventos adversos; iv) maior aderência ao tratamento e v) baixo custo.
- Como recomendação, assinalamos que a liberação pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária como é feito pelo FDA norte-americano, do livre acesso aos resultados de Estudos de Bioequivalência Farmacêutica de que dispõe e realizados em todos os centros de pesquisa por ela certificados, ampliaria o potencial de pesquisa relacionada a fármacos em nosso País.

- Nos Estudos de Bioequivalência envolvendo o fármaco enalapril, é de fundamental importância, quantificar o seu metabólito ativo - e-nalaprilato.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. **ISO/IEC 17025**. Requisitos Gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração, 2005.

ACEVEZ-HERNÁNDEZ, J.M. *et al.* Experimental and theoretical study of the conformational analysis of hydrochlorothiazide. **Journal of Molecular Structure**, 786: 1–8, 2006.

ANDREJAK, M. *et al.* Electronic pill-boxes in the evaluation of antihypertensive treatment compliance: comparison of once daily versus twice daily regimen. **American Journal of Hypertension**, 13: 184-190, 2000.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade e Bioequivalência, 2002**. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em 10 de nov. 2004.

ARAFAT, T. *et al.* Pharmacokinetics and pharmacodynamics profiles of enalapril maleate in healthy volunteers following determination of enalapril and enalaprilat by two specific enzyme immunoassays. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, 30: 319-328, 2005.

ATLAS, S.A; NIARCHOS, A.P; CASE, D.B. Inhibitors of renin-angiotensin system. Effects on blood pressure, aldosterone secretion and renal function. **American Journal of Nephrology**, 3: 118-127, 1983.

BARRA, A. ANVISA - Panorama regulatório no Brasil para estudos BD/BE e EQUIFAR. **III WORKSHOP de bioequivalência e biodisponibilidade**, 2010, ACBIO.< <http://www.acbio.com.br>>

BEBAWY, L.I. *et al.* Application of first-derivative, ratio derivative spectrophotometry, TLC-densitometry and spectrofluorimetry for the simultaneous determination of telmisartan and hydrochlorothiazide in

pharmaceutical dosage forms and plasma. **II Farmaco**, 60: 859–867, 2005.

BEILIN, L.J. The fifth Sir George Pickering memorial lecture. Epitaph to essential hypertension: a preventable disorder of known etiology? **Journal of Hypertension**, 6: 85-94, 1988.

BONAZZI, D. *et al.* Analysis of ACE inhibitors in pharmaceutical dosage forms by derivative UV spectroscopy and liquid chromatography (HPLC). **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 16: 431-438, 1997.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE nº 196 de 10 de outubro de 1996. “Estabelece os requisitos para realização de pesquisa clínica de produtos para saúde utilizando seres humanos”. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 de outubro de 1996.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE nº 899 de 29 de maio de 2003. “Determina a publicação do “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos””. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 02 de junho de 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE 898 de 29 de maio de 2003. “Determina a publicação do "Guia para planejamento e realização da etapa estatística de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência" anexo.” **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 02 de junho de 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE 1170, de 19 de abril de 2006. “Determina a publicação do “Guia Para Provas de Biodisponibilidade Relativa/Bioequivalência de Medicamentos””. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 de abril de 2006.

CARRETERO, O.A.; OPARIL, S. Essential hypertension: part I – definition and etiology. **Circulation**, 101: 329-335, 2000.

CHOBANIAN, A.V. The hypertension paradox – more uncontrolled disease despite improved therapy. **The New England Journal of Medicine**, 361: 878-887, 2009.

CHOBANIAN, A.V. *et al.* The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure. **The Journal of the American Medical Association**, 289: 2560-2572; 2003.

CLINICAL TRIALS.GOV. U.S. National Institutes of Health. Disponível em: <<http://www.clinicaltrials.gov/ct2/results?term=enalapril>>. Acesso em: 20/03/2011.

CONWAY, J; LAUWERS, P. Hemodynamic and hypotensive effects of long term therapy with chlorothiazide. **Circulation**, 21: 2-27, 1960.

CORVELEYN, S; REMON, J.P. Bioavailability of hydrochlorothiazide: conventional versus freeze-dried tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, 173: 149–155, 1998.

CUTLER, J.A. *et al.* Trends in hypertension prevalence, awareness, treatment and control rates in U.S. adults between 1988 – 1994 and 1999 – 2004. **Hypertension**, 52: 818-827, 2008.

DAHLOF, B. *et al.* Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. **The Lancet**, 359: 995-1003, 2002.

DICKSON, T.Z. *et al.* Pharmacokinetics, safety and antihypertensive efficacy of Losartan in combination with Hydrochlorothiazide in hypertensive patients with renal impairment. **Journal of Clinical Pharmacology**, 43: 591-603, 2003.

FDA. U.S. Food and Drug Administration – Draft Guidance on Enalapril Maleate. Disponível em: <
<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm086242.pdf>>. Acesso em: 20/03/2011.

FERREIRA, S.H. Aspectos históricos da hipertensão – dos fatores de potenciação da bradicinina aos inibidores da ECA. **HiperAtivo**, 5: 6-8, 1998.

GOMEZ, H.J; CIRILLO, V.J; IRVIN, J.D. Enalapril: a review of human pharmacology. **Drugs**, 30: 13-24, 1985.

GU, Q. *et al.* Simultaneous determination of enalapril and enalaprilat in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, 813: 337–342, 2004.

HANSSON, L. *et al.* Effects of intensive blood-pressure lowering and low-dose aspirin in patients with hypertension: principal results of the Hypertension Optimal Treatment (HOT) randomized trial. **The Lancet**, 351: 1755-1762, 1998.

HE, J. Long-Term Effects of Weight Loss and Dietary Sodium Reduction on Incidence of Hypertension. **Hypertension**, 35: 544-549, 2000.

JACKSON, E.K. Renina e Angiotensina. In: GOODMAN and GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 10ª Ed., Rio de Janeiro, McGraw-Hill, 2005. p. 609-628.

KEARNEY, P.M. *et al.* Global burden of hypertension analysis of worldwide data. **The Lancet**, 365: 217-23, 2005.

KELLY, J.G. *et al.* Pharmacokinetics of enalapril in normal subjects and patients with renal impairment. **British Journal of Clinical Pharmacology**, 21: 63-69, 1986.

KOYTCHEV, R. *et al.* Combination of losartan and hydrochlorothiazide: *in vivo* bioequivalence. **Arzneimittelforschung**, 54: 611-617, 2004.

LABAUNE, J.P. Princípios gerais de farmacocinética. In: **Farmacocinética**. 1ª Ed., São Paulo, Editora Andrei, 1993. p. 16–58.

LAW, M.R. *et al.* Value of low dose combination treatment with blood pressure lowering drugs: analysis of 354 randomised trials. **British Medical Journal**, 326: 1427-1434, 2003.

LIMA, D.M; SANTOS, L.D; LIMA, E.M. Stability and *in vitro* release profile of enalapril maleate from different commercially available tablets: Possible therapeutic implications. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 47: 934–937, 2008.

LIU, F. *et al.* Determination of hydrochlorothiazide in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 44: 1187–1191, 2007.

LOPES, R.A; NEVES, F.A.R. Metanálise de estudos de bioequivalência: a intercambialidade de genéricos e similares que contêm hidroclorotiazida, mas não àqueles com maleato de enalapril. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, 32: 173-181, 2010.

MANCIA, G. *et al.* Blood pressure and heart rate variabilities in normotensive and hypertensive human beings. **Circulation Research**, 53: 96-104, 1983.

McCREA, J.B. *et al.* Absence of a pharmacokinetic interaction between losartan and hydrochlorothiazide. **Journal of Clinical Pharmacology**, 35: 1200-1206, 1995.

MELIAN, E.B; JARVIS, E.B. Candesartan Cilexetil plus Hydrochlorothiazide combination: a review of its use in hypertension. **Drugs**, 62: 787-816, 2002.

MOTWANI, J.G. Review: Combining renin-angiotensin-aldosterone system blockade with diuretic therapy for treatment of hypertension. **Journal of Renin-angiotensin-aldosterone system**, 3: 72-78, 2002.

MUGELLINI, A. *et al.* Efficacy and safety of delapril plus manidipine compared with enalapril plus hydrochlorothiazide in mild to moderate essential hypertension: results of a randomized trial. **Clinical Therapeutics**, 26: 1419-1426, 2004.

NDINDAYINO, F. *et al.* Bioavailability of hydrochlorothiazide from isomalt-based moulded tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, 246: 199-202, 2002.

NEAL, B. Effects of ACE inhibitors, calcium antagonists, and other blood-pressure-lowering drugs: results of prospectively designed overviews of randomised trials. Blood Pressure Lowering Treatment Trialists Collaboration. **The Lancet**, 356:1955-1964, 2000.

NIEMEYER, C. *et al.* Pharmacokinetics of hydrochlorothiazide in relation to renal function. **European Journal of Clinical Pharmacology**, 24: 661-665, 1983.

NOBRE, F. *et al.* Associações fixas de drogas anti-hipertensivas: vantagens e desvantagens na prática clínica. **Revista Brasileira de Hipertensão**, 10: 270-276, 2003.

OATES, J.A.; BROWN, N.J. Anti-hipertensivos e terapia farmacológica da hipertensão. In: GOODMAN and GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 10ª Ed., Rio de Janeiro, McGraw-Hill, 2005. p. 657-661.

OPARIL, S. Pathogenesis of hypertension. **Annals of Internal Medicine**, 139: 761-776, 2003.

PICKERS, P. *et al.* Inhibition of carbonic anhydrase accounts for the direct vascular effects of hydrochlorothiazide. **Hypertension**, 33: 1043-1048, 1999.

POOL, J.L. *et al.* Use of the Factorial Design and Quadratic Response Surface Models to Evaluate the Fosinopril and Hydrochlorothiazide Combination Therapy in Hypertension. **American Journal of Hypertension**, 10: 117-23, 1997.

PORTOLÉS, A. *et al.* Bioequivalence study of two formulations of enalapril, at a single oral dose of 20mg (Tablets): a randomized, two-way, open-label, crossover study in healthy volunteers. **Current Therapeutic Research**, 65: 34-46, 2004.

PROGRESS Collaborative Group. Randomised trial of a perindopril-based blood-pressure-lowering regimen among 6105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack. **The Lancet**, 358: 1033-1041, 2001.

RYPLEY, E; KING, K; SICA, D.A. Racial differences in response to acute dosing with hydrochlorothiazide. **American Journal of Hypertension**, 13: 157–164, 2000.

SHAH, S; KHATRI, I; FREIS, E.D. Mechanism of antihypertensive effect of thiazide diuretics. **American Heart Journal**, 95: 611-618, 1978.

SICA, D.A. Thiazide-type diuretics: ongoing considerations on mechanism of action. **The Journal of Clinical Hypertension**, 6: 661-614, 2004.

SIERRA, A. de la, *et al.* Comparison of the antihypertensive effects of the fixed dose combination enalapril 10 mg/nitrendipine 20mg vs. losartan 50 mg/hydrochlorothiazide 12.5 mg, assessed by 24-h ambulatory blood pressure monitoring, in essential hypertensive patients. **Journal of Human Hypertension**, 18: 215–222, 2004.

TAJERZADEH, H; HAMIDI, M. A simple HPLC method of quantitation of enalaprilat. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 24: 675-680, 2001.

TODD, P.A; HEEL, R.C. Enalapril. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in hypertension and congestive heart failure. **Drugs**, 31: 198-248, 1986.

VASAN, R.S. *et al.* Residual lifetime risk for developing hypertension in middle-aged women and men: The Framingham Heart Study. **The Journal of the American Medical Association**, 287: 1003-1010, 2002.

WANG, P. Simultaneous Determination of Enalapril and Enalaprilat in Human Plasma by LC-MS: Application to a Bioequivalence Study. **Chromatographia**, 65: 209-215, 2007.

WILKINSON, G.R. Farmacocinética: dinâmica da absorção, da distribuição e da eliminação dos fármacos. In: GOODMAN and GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 10ª Ed., Rio de Janeiro, McGraw-Hill, 2005. p.3-23.

YAMASAKI, Y. *et al.* Diurnal heart rate variability in healthy subjects: effects of aging and sex difference. **American Journal of Physiology**, 271: H303-H310, 1996.

YONG, C-L. *et al.* Multiple-dose pharmacokinetics of telmisartan and of hydrochlorothiazide following concurrent administration in healthy subjects. **Journal of Clinical Pharmacology**, 40: 1323-1330, 2000.

YOON, K-H. *et al.* Determination of Enalapril in Human Plasma by High Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Mass Spectrometry. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, 25: 878-880, 2004.