

**Eduardo Abib Junior**

**Estudos de Bioequivalência de duas  
formulações comerciais de Nimodipina e  
Amlodipina**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Mestre em Ciências na área de Farmacologia

Orientador: Gilberto de Nucci  
Departamento de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

**Campinas**

**1997**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
UNICAMP

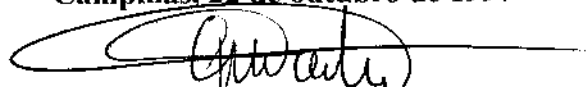
Ab55e Abib Junior, Eduardo  
Estudos de bioequivalência de duas formulações comerciais de  
Nimodipina e Amlodipina / Eduardo Abib Junior. Campinas, SP :  
[s.n.], 1997.

Orientador : Gilberto de Nucci  
Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de  
Ciências Médicas.

I. Farmacocinética. I. Gilberto de Nucci. II. Universidade  
Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

**Este exemplar corresponde à versão final da  
Dissertação de Mestrado, apresentada ao Curso de  
Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas -  
UNICAMP, para obtenção do título de Mestre em  
Ciências, na Área de Farmacologia do Médico  
Eduardo Abib Júnior.**

**Campinas, 22 de outubro de 1997**



**Prof. Dr. Gilberto de Nucci**

**- Orientador -**

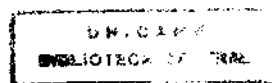
**Eduardo Abib Junior**

**Estudos de Bioequivalência de  
duas formulações comerciais de  
Nimodipina e Amlodipina**

**Orientador: Prof. Dr. Gilberto de Nucci**

Campinas

1997





---

**Banca examinadora da Dissertação de Mestrado**

---

---

**Orientador:**

---

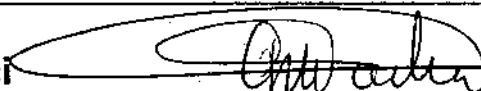
**Prof. Dr. Gilberto de Nucci**

---

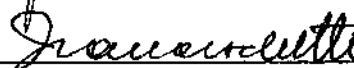
---

**Membros:**

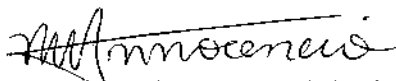
---

**1. Prof. Dr. Gilberto de Nucci**Handwritten signature of Prof. Dr. Gilberto de Nucci in black ink, written over a horizontal line.

---

**2. Prof. Dr. Emílio Antonio Francischetti**Handwritten signature of Prof. Dr. Emílio Antonio Francischetti in black ink, written over a horizontal line.

---

**3. Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Regina Maria Innocência**Handwritten signature of Prof. Dr. Regina Maria Innocência in black ink, written over a horizontal line.

**Curso de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas  
da Universidade Estadual de Campinas.**

---

**DATA: 22/10/1997**

---

Dedico este trabalho a Gilberto de Nucci, que além de estar envolvido em meu aprimoramento científico, também está no aperfeiçoamento do relacionamento humano. Não só o admiro como professor mas como um amigo.

A minha mulher, Silvia, que com seu amor e com compreensão foi capaz de superar minha ausência neste período de estudo.

A Eduardo e Lúcia, meus pais que dedicaram sua vida e seu amor para que eu pudesse atingir hoje este momento acadêmico e profissional.



Ao longo dos séculos, o homem está em busca de respostas para os mais diversos questionamentos. Ele não se satisfaz somente em descobrir, tenta provar a si mesmo que é capaz de ir além. Demonstra capacidade de criar e de anunciar novas hipóteses que, muitas vezes, tem sua comprovação.

## **Agradecimentos**

A todos os docentes do Departamento de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, pela atenção dedicada, em especial às Prof<sup>as</sup> Dr<sup>as</sup> Gum Birgitta Mendes, Julia Franceschi e aos Dr Nadim Farah Heluany Sobrinho, Prof Dr Marcos Dias Fontana.

Aos colegas, Wellington Ribeiro e Leonardo Augusto Moraes, que participaram diretamente da realização deste estudo exposto nesta tese.

Ao colega que dedicou sua amizade: Ronilson Aguinaldo Moreno.

A minha irmã que muito contribuiu para o meu desenvolvimento profissional e onde me espelhei para atingir objetivos: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Elisabete Abib P. de Souza.

À Maria das Dores M. Ponciano pela participação constante e para o desenvolvimento deste trabalho.

Às secretárias do Departamento de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, Solange Aparecida dos Santos Basso, Gislaine Elias Alípio, pela atenção e eficiência habitual.

Aos colegas, Flávio do Rego do Araújo Faro, Renato do Rego de Araújo Faro, Luciana Piovisan Nathan, Elen Cristina Teizen Landucci, que me proporcionaram momentos agradáveis.

## Índice

<b>Assunto</b>	<b>Página</b>
Resumo	10
Lista de Abreviações	12
Lista de Figuras	13
Lista de Tabelas	15
1. - Introdução	17
1.1.- Histórico	18
1.2.- Cálcio e Fluxo Celular	23
1.3.- Participação do Ca <sup>+2</sup> no Acoplamento	
Excitação-Contração em tecidos	
vasculares e cardíacos	29
1.3.1 .- Ação Vascular	29
1.3.2 .- Ação cardíaca	32
1.3.3 .- Regulação do Cálcio	
intracelular pós atividade	
contrátil	33
2 - Antagonista de Cálcio	34
2.1 .- Introdução	35
2.2 .- Estrutura Molecular	38
2.3 .- Parâmetros Farmacocinéticos	40
2.4 .- Classificação dos A.C.	42

<b>Assunto</b>	<b>Página</b>
3 - Objetivo	47
4 - Material e Métodos	49
4.1 .- Critérios de seleção	50
4.2 .- Método de Desenvolvimento	51
4.3 .- Método de procedimento de análise das amostras sanguíneas	54
4.4 .- Método estatístico	55
5 - Resultados	60
6 - Discussão	91
7 - Conclusão	96
8 - Summary	98
9 - Referências Bibliográficas	101
10 - Apêndices (Aprovação Comissão de Ética e Tabela de valores individuais)	110
11 - Trabalhos submetidos	158

## Resumo

*Objetivo:* Esta tese tem por objetivo avaliar a bioequivalência através da farmacocinética e farmacodinâmica de duas preparações comerciais de dois Antagonistas de Cálcio, Amlodipina (Cordarene<sup>R</sup> Biosintética comprimido 5 mg vs Norvasc<sup>R</sup> Pfizer comprimido 5 mg) e Nimodipina (Oxigen<sup>R</sup> Biosintética comprimido 90 mg vs Nimotop<sup>R</sup> Bayer comprimido 90 mg). Foram selecionados trinta e sete (37) voluntários do sexo masculino, entre 18 a 45 anos, saudáveis, para estudo randomizado, não cego e divididos em dois grupos (Grupo Amlodipina [19 vol.] e Grupo Nimodipina [18 vol.]).

Amostras de sangue dos voluntários foram coletadas de acordo com horários pré-estabelecidos.

Após determinação dos níveis plasmáticos das drogas em questão, foi realizada análise farmacocinética, com isso obteve-se assim a concentração plasmática máxima ( $C_{max}$ ) e o tempo necessário para atingir este nível máximo ( $T_{max}$ ). As áreas sob a curva tempo vs concentração de Amlodipina ( $AUC_{[0-144h]}$ ) e Nimodipina ( $AUC_{[0-24h]}$ ), em separado, foram calculadas utilizando o método trapezoidal.

As constantes de eliminação terminal de primeira ordem ( $K_e$ ) das substâncias Amlodipina e Nimodipina foram obtidas a partir da equação de regressão linear entre o logaritmo da concentração e o tempo. As meias vida ( $T_{1/2}$ ) foram calculadas empregando a equação  $T_{1/2} = (\ln 2 / K_e)$ .

*Resultados:* Não houve variação significativa da PA e FC com administração de uma única dose das formulações das drogas estudadas.

As áreas sob as curvas da droga Amlodipina ( $AUC_{[0-144h]}$ ) foram comparadas. AUC média aritmética de Amlodipina Biosintética foi 94.23% da Amlodipina Pfizer (Intervalo de confiança de 90% de Westlake foi de 90.1 - 109.9%). A AUC média geométrica Amlodipina Biosintética foi 93.69% da Amlodipina Pfizer (Intervalo de confiança de 90% de Westlake foi de 89.8 - 110.2%).

O máximo de concentração ( $C_{max}$ ) de cada uma também foi comparada. A  $C_{max}$  média aritmética de Amlodipina Biosintética foi 93.58% da Amlodipina Pfizer (Intervalo de confiança de 90% de Westlake foi de 88.4 - 111.6%). A  $C_{max}$  média

geométrica Amlodipina Biosintética foi 93.49% da Amlodipina Pfizer (Intervalo de confiança de 90% de Westlake foi de 88.7 - 111.3%).

Os cálculos realizados seguiram de transformação logarítmica e a probabilidade da taxa ser inclusa dentro do intervalo 0.8 - 1.25% foi de 1.0 e 1.0 respectivamente para  $AUC_{[0-144]}$  e  $C_{max}$  (t-Test duas vias).

As áreas sob as curvas da droga Nimodipina ( $AUC_{[0-24]}$ ) foram comparadas. A AUC média aritmética de Nimodipina Biosintética foi 94.5% da Nimodipina Bayer (Intervalo de confiança de 90% de Westlake foi de 74.0 - 126.0). A AUC média geométrica Nimodipina Biosintética foi 98.8% da Nimodipina Bayer (Intervalo de confiança de 90% de Westlake foi de 76.2 - 124.7%).

O máximo de concentração ( $C_{max}$ ) de cada uma também foi comparada. A  $C_{max}$  média aritmética de Nimodipina Biosintética foi 95.3% da Nimodipina Bayer (Intervalo de confiança de 90% de Westlake foi de 70.7 - 129.3%). A  $C_{max}$  média geométrica Nimodipina Biosintética foi 107.8% da Nimodipina Bayer (Intervalo de confiança de 90% de Westlake foi de 62.9 - 137.0%).

Os cálculos feitos seguiram de transformação logarítmica e a probabilidade da taxa ser inclusa dentro do intervalo 0.8 - 1.25% foi de 0.91 e 0.92 respectivamente para  $AUC_{[0-24]}$  e  $C_{max}$  (t-Test duas vias).

Através dos parâmetros médios de  $K_e$  e  $T_{1/2}$  da Amlodipina e Nimodipina notamos apresentar diferenças significativas entre elas. O  $K_e$  e  $T_{1/2}$  da Amlodipina foi de  $0.01\text{ h}^{-1}$  e 38.6 h respectivamente e da Nimodipina  $0.54\text{ h}^{-1}$  e 1.29 h respectivamente.

*Conclusão:* Concluimos que a substituição da Nimodipina Bayer (Nimotop<sup>®</sup>) e Amlodipina Pfizer (Norvasc<sup>®</sup>) pelo seu equivalente Nimodipina Biosintética (Oxigen<sup>®</sup>) e Amlodipina Biosintética (Cordarene<sup>®</sup>) respectivamente é perfeitamente possível, uma vez que sua velocidade de absorção e extensão de absorção estão dentro dos parâmetros requeridos pela F.D.A..

Em relação a comparação cinética das substâncias Amlodipina e Nimodipina que são originários do protótipo da Nifedipina, da Classe Dihidropiridinico, concluimos que a introdução de radicais diferentes na sua molécula básica é capaz de promover alteração em sua propriedades fisico-químicas tornando-a início de ação lenta, extensa distribuição e metabolização lenta.

## Lista de Abreviações

- H.A. Hipertensão Arterial
- I.A.M. Infarto agudo do miocárdio
- I.C. Insuficiência cardíaca
- A.V.C. Acidente vascular cerebral
- P.A. Pressão arterial
- A.C. Antagonista de cálcio
- D.I.C Doença isquêmica cardíaca
- WHO World Health Organization
- FDA Federal Drug Administration



## Lista de Figuras

### Introdução

- Figura 1 Representação esquemática da regulação do  $\text{Ca}^{++}$  celular  
página 25
- Figura 2 Subunidades e formação do poro de entrada do cálcio através da subunidade alfa.  
página 26
- Figura 3 Ativação da quinase de cadeia leve da miosina e fosforilação da miosina através do complexo  $\text{Ca}^{++}$ -Calmodulina  
página 30
- Figura 4 Processos de atuação do AMPc na regulação da fosforilação da miosina sobre o Complexo  $\text{Ca}^{++}$ -Calmodulina  
página 32
- Figura 5 Interação actina-miosina após liberação do efeito inibitório da troponina através da ligação com Cálcio  
página 33

### Antagonista de Cálcio

- Figura 6 Fórmula estrutural para atividade antagonista e agonista da 1,4 dihidropiridina.  
página 39
- Figura 7 Diferenciação dos antagonistas do canal de cálcio, específicos e não, com base no critério funcional e sua capacidade de interação ao sítio de ligação  $\{^3\text{H}\}$ -dihidropiridina  
página 45

**Resultados**

- Figura 8      Dados da Concentração Média vs Tempo das duas formulações  
Teste/Padrão (Cordarene<sup>R</sup> vs Norvasc<sup>R</sup>)      página 64
- Figura 9      Dados do Tempo Meia Vida das duas Formulações Teste/Padrão  
(Cordarene<sup>R</sup> vs Norvasc<sup>R</sup>)      página 66
- Figura 10     Dados da Concentração Média vs Tempo das duas formulações  
Teste/Padrão (Oxigen<sup>R</sup> vs Nimotop<sup>R</sup>)      página 77
- Figura 11     Dados do Tempo Meia Vida das duas Formulações Teste/Padrão  
(Oxigen<sup>R</sup> vs Nimotop<sup>R</sup>)      página 79
- Figura 12     Dados do Tempo Meia Vida média das Formulações Amlodipina vs  
Nimodipina      página 89

## Lista de Tabelas

### Introdução

- Tabela 1      Classificação dos canais de cálcio voltagem-operado  
página 27
- Tabela 2      Características das subunidades dos canais voltagem-operado  
página 27

### Antagonista de Cálcio

- Tabela 3      Classificação dos antagonistas de cálcio em relação ao canal  
voltagem-operado      página 37
- Tabela 4      Classificação química dos antagonistas de cálcio  
página 42
- Tabela 5      Classificação química e seletividade dos antagonistas de cálcio  
segundo Fleckenstein      página 44

### Material e Métodos

- Tabela 06      Randomização Amlodipina      página 58
- Tabela 07      Randomização Nimodipina      página 59

**Resultados**

Tabela 09	Parâmetros médios de $AUC_{[0-144h]}$ , $C_{max}$ , $T_{max}$ da Amlodipina Biosintética vs Amlodipina Pfizer	página 69
Tabela 10	Parâmetros médios de $K_e$ , $T_{1/2}$ da Amlodipina Biosintética vs Amlodipina Pfizer	página 70
Tabela 11	Parâmetros médios de $AUC_{[0-144h]}$ , $C_{max}$ , $T_{max}$ da Nimodipina Biosintética vs Nimodipina Bayer	página 82
Tabela 12	Parâmetros médios de $K_e$ , $T_{1/2}$ da Nimodipina Biosintética vs Nimodipina Bayer	página 83
Tabela 13	Parâmetro médios de $K_e$ e $T_{1/2}$ das Formulações Amlodipina vs Nimodipina	página 90

## **1. Introdução**

## 1.1 Histórico

O distúrbio cardiocirculatório mais frequente na prática médica é a hipertensão arterial (H.A.) (STAMLER, 1962), atingindo 10% dos adultos na faixa dos quarenta anos e 25% na faixa dos sessenta anos (STAMLER, 1960). Além disso, a ela associam-se aumentos da mortalidade (U.S. DEPT OF HEALTH, 1966; KANNEL et alli, 1972; KANNEL, 1976; KREGER & KANNEL, 1982) e da morbidade cardiovasculares, com maior incidência de infarto do miocárdio (I.M.), angina de peito, insuficiência cardíaca (I.C.), acidentes vasculares cerebrais (A.V.C.), ataques isquêmicos transitórios e arteriopatias periféricas (U.S. DEPT OF HEALTH, 1966; KANNEL & STOKES, 1985). Por outro lado, existe uma estreita associação entre níveis elevados de pressão arterial (P.A.) e mortalidade por outras causas gerais, assim como também com mortalidade súbita cardíaca (GORDON et alli, 1971; KANNEL, 1986).

É de conhecimento que na H.A. há alterações na resistência do leito vascular periférico, encontrando assim aumento na resistência total. Está estabelecido que além de fatores estruturais como hipertrofia da camada média, pode ser adicionado a este conjuntamente, fatores neurogênicos indiretos, hormonais e físicos (MORGAN, 1987). A terapia farmacológica inibiria a atividade miogênica e com isso teríamos uma inversão das mudanças estruturais.

Há autores que discutem esta resposta alterada dos vasos periféricos como sendo dependente do acúmulo de cálcio ( $Ca^{++}$ ) citoplasmático vindo do extracelular, promovendo aumento do estado contrátil (THOMPSON et alli, 1987)

e levando às alterações morfo-funcionais dos leitos vasculares na H.A., uma vez que este íon é responsável pela manutenção da tonicidade da musculatura lisa (MORGAN, 1987).

Thompson et alli, 1987, investigaram o papel do influxo de  $Ca^{++}$  através da membrana celular em músculo vascular liso de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) sob estímulos despolarizantes. Estes autores demonstraram aumento na reatividade vascular ao estímulo de despolarização e que este era devido a uma alteração do fluxo de  $Ca^{++}$  através dos canais da membrana celular (THOMPSON et alli, 1987). Isto apóia a hipótese de que a H.A. está relacionada a movimento transmembrana de  $Ca^{++}$ . Há estudos, porém, que contestam esta afirmativa através de modelos experimentais. Postulam que a sensibilidade alterada do  $Ca^{++}$  não é o fator primário na patogênese da H.A..

Uma das sugestões é que os canais que conduzem o  $Ca^{++}$  estejam funcionalmente alterados e têm uma probabilidade maior de abertura ou uma grande afinidade por este íon (CASSIE et alli, 1990).

A terapia farmacológica teria a propriedade de corrigir estes estados funcionais alterados, haveria inibição da atividade miogênica e com isso obteríamos uma inversão das mudanças estruturais.

A descoberta dos antagonistas do cálcio (A.C.) (GODFRAIND & KABA, 1969; GRUN & FLECKENSTEIN, 1971) e, nos últimos anos, com novas modificações nas fórmulas estruturais (ABERNETHY, 1991), tem possibilitado o controle da H.A. (FLECKENSTEIN et alli, 1989; ABERNETHY, 1989; PETIRCONE et alli, 1994); da doença isquêmica cardíaca (D.I.C.) (TAYLOR, 1989) promovendo redução do consumo de oxigênio pelo miocárdio e melhora de sua

função (TAYLOR, 1991; ABERNETHY, 1989); de determinadas arritmias cardíacas inibindo o processo de excitação dos nódulos sinoatrial e atrioventricular; e promovendo dilatação de vasos cerebrais (VAGHY et alli, 1987) em patologias cerebrovasculares. Estudos utilizando A.C. possibilitaram demonstrar muitas outras aplicações no tratamento de doenças não-cardiovasculares (RIBEIRO, 1995) como inibir a agregação plaquetária, no tratamento de indivíduos asmáticos e no alívio da cefaléia tipo cefaléia pulsátil (VAGHY et alli, 1987). Dados recentes da literatura mostram também possuir efeito inibitório e/ou retardatório no desenvolvimento da aterosclerose (WATERS et alli, 1990) permitindo assim maior controle sobre as patologias isquêmicas. Recentes desenvolvimentos dos A.C. (VANHOUTTE, 1987) têm proporcionado sua utilização com posologia única diária e baixíssimos efeitos colaterais (EZEKOWITZ et alli, 1995). Tal é a sua aplicabilidade que atualmente é uma das maiores classes de drogas cardiovasculares em estudos clínicos (KELLY & O'MALLEY, 1992). Com estes efeitos benéficos na prática clínica, o conhecimento dos aspectos farmacocinéticos dos A.C. e da bioequivalência destes produtos são de relevante importância.

Nos últimos anos, quantidades maiores de substâncias, novas ou não, foram colocadas no mercado farmacêutico para atender as necessidades da indústria farmacêutica. Trouxe para a população que dela faz uso uma quantidade muito grande de opções em relação ao seu custo e, para o médico, uma variedade, levando-se em conta eficácia, eficiência terapêutica e custo. Estando estas indústrias coligadas ou não, colocam para comercialização os princípios



ativos próprios ou adquiridos. Algumas delas têm a permissão para isso, outros, porém, não detêm a patente do princípio ativo.

Diante disso, o Brasil, entretanto, além de não dispor de lei que regula a patente de medicamentos, não exige o controle de qualidade ideal para o registro do produto tido como "genéricus". Isto coloca em risco a população e o médico por estar utilizando medicamentos que podem eventualmente não atingirem a mesma concentração sanguínea da droga original e conseqüentemente perda da eficácia terapêutica. O próprio Ministério da Saúde não sabe precisamente o número de especialidades farmacêuticas disponíveis no Brasil, muito menos sua qualidade e segurança.

Portanto para aliviar esta tensão na classe médica, os estudos de bioequivalência tornaram-se obrigatórios e exigida por decreto lei nº 793/93 M.S., principalmente em relação aos genéricos, avaliando a qualidade das diferentes especialidades farmacêuticas e suas formulações de princípios ativos básicos iguais.

Em Farmacologia é fato perfeitamente conhecido que para obter efeito terapêutico adequado é necessário que uma determinada quantidade da droga esteja na circulação sanguínea para que suas moléculas venham ocupar seus receptores farmacológicos específicos.

Entretanto, a relação dose-efeito dos fármacos é muito variável entre os indivíduos e há outros fatores que interferem nesta relação como fatores farmacocinéticos e farmacêuticos.

O fator farmacêutico inclui a desintegração e dissolução do fármaco onde só poderá então haver a absorção.

A farmacocinética compreende a absorção, distribuição, biotransformação e excreção no organismo humano. A relação da intensidade do efeito é diretamente proporcional a concentração do fármaco na corrente sanguínea e este serve de parâmetro para indicar o grau de ocupação de receptores envolvidos no seu efeito.

Portanto, diante do exposto e da alta incidência dos distúrbios cardiocirculatórios, por atingir indivíduos em faixas etárias socialmente produtivas, pela gravidade de suas conseqüências sobre os portadores desta doença e pela necessidade de utilização de medicamentos crônicamente para seu controle, justifica-se o empenho crescente das instituições de saúde pública e/ou privada no controle das formulações apresentadas à população. O controle de qualidade ideal para assegurar que as formulações de um mesmo princípio ativo possam ser intercambiáveis é através de Bioequivalência realizados em voluntários sadios.

## 1.2 Cálcio e Fluxo Celular

O  $\text{Ca}^{++}$  é um dos elementos mais abundantes no corpo humano (HAYNES, 1991) e tem papel importante em muitos processos biológicos nas células (BRAUNWALD, 1987) sendo essencial para a integridade funcional dos nervos, ossos, músculos e tecido cardíaco (AMA, 1994), exercendo influência sobre a excitabilidade e a liberação de neurotransmissores (HAYNES, 1991; MURAD, 1991).

No ano de 1882 Sidney Ringer estabeleceu que a manutenção da contratilidade cardíaca era dependente de íons  $\text{Ca}^{++}$  (BRAUNWALD et alli, 1987) e anunciou assim seu papel como intermediário no acoplamento excitação-contracção e estímulo-secreção (TRIGLLE, 1990). Heilbrunn em 1943 descreveu, anos mais tarde, a relação entre o  $\text{Ca}^{++}$  com integridade da membrana e permeabilidade celular. Ele também clarificou a suposição de Ringer (TRIGLLE, 1990) que este íon não se apresenta como simples mensageiro celular.

No sistema cardiovascular, o  $\text{Ca}^{++}$  está envolvido no acoplamento excitação-contracção das células cardíacas e na constricção da musculatura vascular lisa (BRAUNWALD, 1987).

Para elevação do  $\text{Ca}^{++}$  citoplasmático é disparado um sinal através da superfície da membrana podendo ser originado de um potencial de ação e/ou despolarização localizada (ligação eletromecânica) ou através de uma ligação farmacomecânica. Esta última possibilidade pode ocorrer independente ou até

conjuntamente com as mudanças no potencial da superfície da membrana (SOMLYO, 1985).

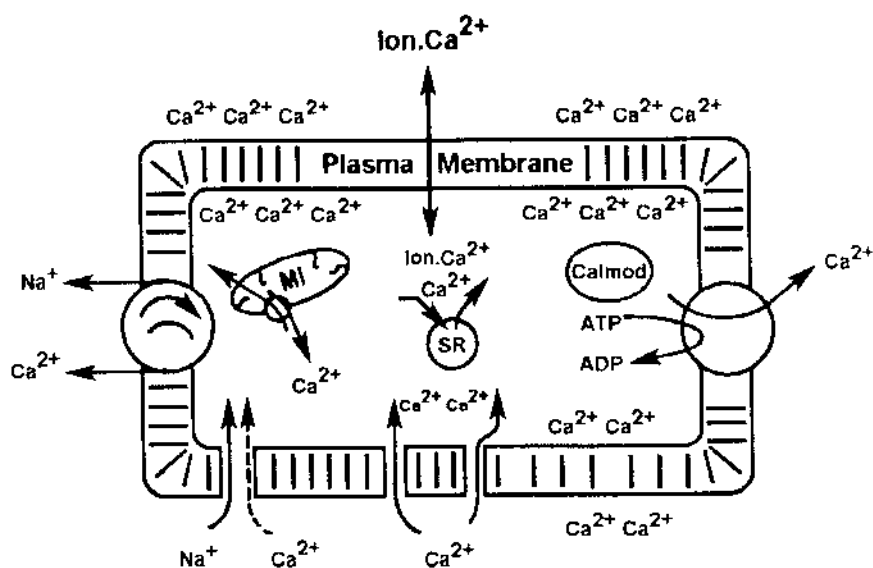
A concentração extracelular de  $\text{Ca}^{++}$  é muito superior comparado à intracelular que é  $5 \times 10^{-8}$  M em estado de repouso (MURAD, 1991). A manutenção fisiológica do  $\text{Ca}^{++}$  no interior celular da musculatura lisa depende dos estoques no retículo sarcoplasmático, mitocôndria e do meio extracelular que supre através da superfície da membrana plasmática (SOMLYO, 1985) (Figura 1).

O retículo sarcoplasmático é a organela primariamente responsável por esta manutenção celular (SOMLYO, 1985), sendo posteriormente confirmado por outros pesquisadores (ADELSTEIN & SELLERS, 1987; JONHS et alli, 1987).

Postula-se que a entrada do  $\text{Ca}^{++}$  através da membrana citoplasmática (Figura 1) ocorra por três mecanismos: a fenda do cálcio, canal de cálcio receptor-operado e canal de cálcio voltagem-operado (JONHS et alli, 1987).

Bevam e colaboradores propuseram a existência em alguns vasos, principalmente artérias cerebrais, de canais sensíveis a estiramento sendo portanto chamado de canal operado por estiramento (BEVAM et alli, 1982; GODFRAIND, 1987).

Figura 1 Representação esquemática da regulação do cálcio celular (APUD, Triggler, D.J., 1990).



MI mitocôndria; SR Reticulo sarcoplasmático; Calmod Calmodulina

Neuro-hormônios como por exemplo alfa adrenérgico (WOOD, 1989; Murad, 1991) agem sobre o canal receptor-operado e promovem aumento do  $\text{Ca}^{++}$  citoplasmático. Já o canal voltagem-operado, depende da presença de concentrações elevadas de potássio ( $\text{K}^+$ ) e estímulos elétricos despolarizantes para alterar a concentração intracelular deste íon.

A diferença entre estes canais é que no primeiro há menor seletividade ao íon podendo carrear, conjuntamente, quando ativado, o íon sódio ( $\text{Na}^+$ ) e  $\text{K}^+$  (JONHS et alli, 1987)

O canal de  $\text{Ca}^{++}$  voltagem-operado pertence a uma família de proteínas homólogas que também inclui canais de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ . Esses canais contêm domínios de sequência homóloga com múltiplas subunidades menores e sendo ativado definem o poro interno. As subunidades (Figura 2), que são regiões hidrofóbicas,

podem ser alfa, beta, gama e epsolon (tabela 1). A principal formadora do poro para o Ion  $Ca^{++}$  é a subunidade alfa (MURAD, 1991).

Estes canais foram divididos em três subtipos e são diferenciados por uma variedade de critérios incluindo permeabilidade seletiva, característica eletrofisiológica e sensibilidade farmacológica. Eles, então, foram chamados de L (Long lasting), N (Neuronal), T (Transient) (tabela 2) (Johns et alli, 1987; TRIGLLE, 1990) de acordo com a diferenciação descrita acima.

Figura 2 Subunidades e formação do poro de entrada do cálcio através da subunidade alfa (APUD , Korolkovas, A. & França, F .F .A. C., 1993).

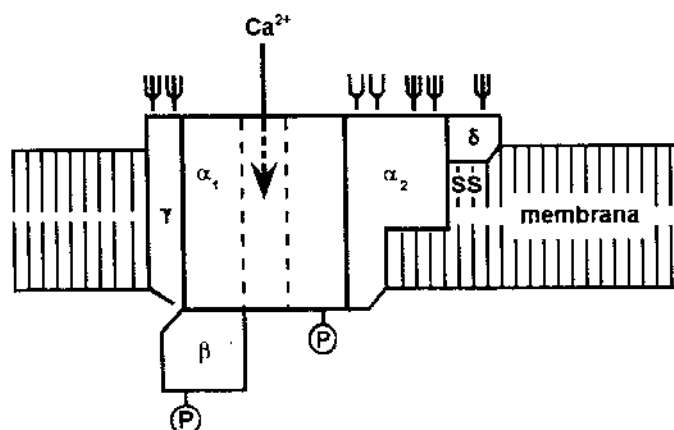


Tabela 1

## Características das subunidades do canal voltagem-operado

Subunidade	Peso molecular	Característica
Alfa 1	175kDa	polipeptídeo não-glicosídeo; sítio de fosforilação; de ligação as Dihidropiridina
alfa 2	145kDa	polipeptídeo não-glicosídeo
beta	54kDa	glicopeptídeo
gama	30kDa	glicopeptídeo
epsolon	24 - 27 kDa	glicopeptídeo unido a alfa 2 através de pontes de dissulfeto

**Korolkovas, A. & França, F.F.A.C., 1993**

Tabela 2

## Classificação dos canais de cálcio voltagem-operado

Propriedade	L	T	N
Intervalo de ativação(mV)	>-10	>-70	>-30
Intervalo de Inativação(mV)	-60 a -10	-100 a -60	-120 a -30
Condutância (pS)	25	8	12 - 20
Limiar de ativação	Alta	Baixa	Alta
Velocidade de Inativação	Baixa	Rápida	Moderada
Permeabilidade	Ba <sup>2+</sup> > Ca <sup>2+</sup>	Ba <sup>2+</sup> = Ca <sup>2+</sup>	Ba <sup>2+</sup> > Ca <sup>2+</sup>
Função	E-Ligação atividade em musculatura lisa cardiovas- vascular, celu- las endócrinas	Nó Sino-atrial do coração: bloqueio repe- titivo em neu- rônios e celu- las endócrinas	Somente neuronal: sistemas, descarga de neurotransmis- sores

**Triggle, D.J., 1990**

**Korolkovas, A. & França, F.F.A.C., 1993**

Através do uso de drogas moduladoras do canal de  $\text{Ca}^{++}$  puderam ser identificados e caracterizados os sítios receptores de ligação. Estas drogas são quimicamente heterogêneas, interagem seletivamente com os canais de  $\text{Ca}^{++}$  voltagem-operado, e como resultado quantidade deste íon flui através do canal alterado, mudando assim sua concentração intracelular e muitas funções celulares. Estas drogas que ativam os canais são os ativadores de canal do  $\text{Ca}^{++}$  e o efeito farmacológico predominante é vasoconstrição e em tecido cardíaco isolado produz efeito inotrópico positivo. A partir do uso destas substâncias, que não possuem qualquer utilidade clínica, pôde-se identificar e estabelecer a ação predominante, a função e o papel deste canal em diferentes tecidos (VAGHY et alli, 1987).

A partir da possibilidade de ligação em sítio específico com definida relação estrutura-atividade, interação com droga agonista e antagonista e promovendo ações nos tecidos, com toda esta sensibilidade farmacológica, o canal de cálcio "L" sugere ser um receptor farmacológico pois apresenta todas as propriedades gerais para tal (TRIGLLE, 1990).



### **1.3 Participação do $\text{Ca}^{++}$ no Acoplamento Excitação-Contração em tecidos vasculares e cardíacos**

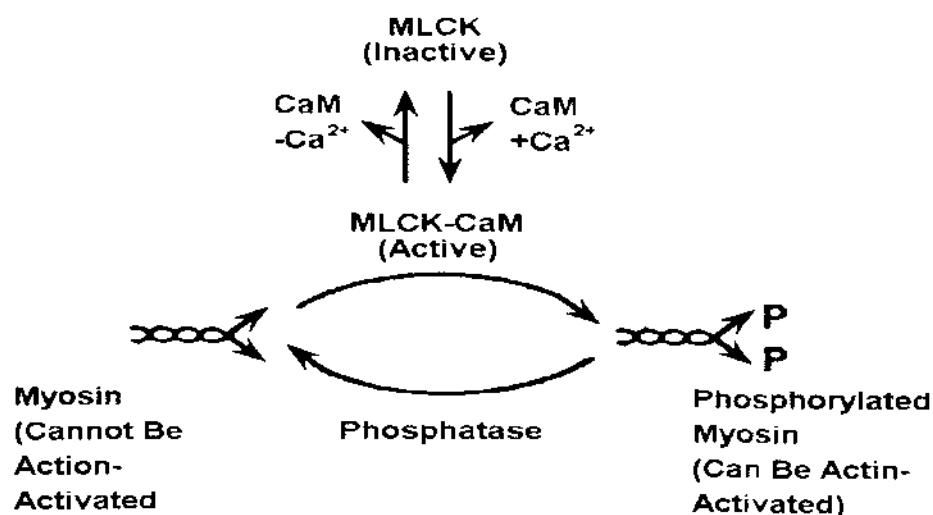
A teoria largamente aceita que o aumento de  $\text{Ca}^{++}$  livre no citoplasma celular (SOMLYO, 1985; JOHNS et alli, 1987) está relacionado com a atividade contrátil em células musculares lisas (ALDESTEIN & SELLERS, 1987).

#### **1.3.1 Ação vascular**

Em músculo liso, o  $\text{Ca}^{++}$  age ligando-se à calmodulina, uma proteína que mantém semelhança com a troponina C em sua propriedade estrutural e física (ALDESTEIN & SELLERS, 1987). O resultado desta ligação é a formação do complexo  $\text{Ca}^{++}$ -Calmodulina (JOHNS et alli, 1987). Este complexo ativa uma variedades de enzimas, incluindo as quinases e pelo menos uma fosfatase (ALDESTEIN & SELLERS, 1987).

Um alvo de importância pelo complexo  $\text{Ca}^{++}$ -Calmodulina, nas células musculares lisas, é a ativação da quinase de cadeia leve da miosina (Figura 03) (ALDESTEIN & SELLERS, 1987; JOHNS et alli, 1987). Estando ativada, isto resulta na fosforilação da cadeia leve da miosina e na ativação da atividade  $\text{MgATPase}$  pela actina. Na presença da hidrólise da adenosina trifosfato (ATP), há deslizamento

Figura 3 Ativação da quinase de cadeia leve da miosina e fosforilação da miosina através do complexo  $\text{Ca}^{++}$ -Calmodulina (APUD, Adelstein, R.S. & Sellers, J.M., 1987).

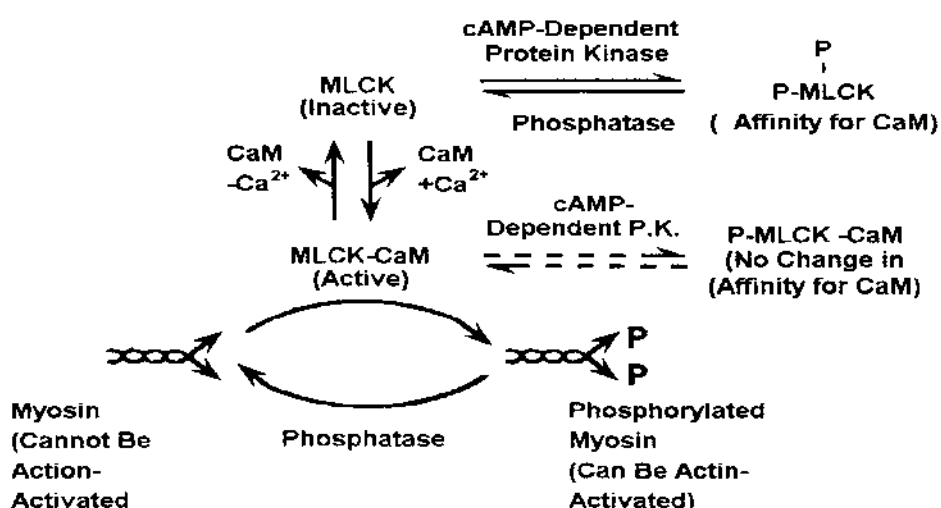


MLCK: quinase de cadeia leve de miosina; CaM: Calmodulina. P: grupo fosforil.

da miosina sobre a actina, ocorrendo assim o processo contrátil (SOMLYO, 1985; VAGHY et alli, 1987; JOHNS et alli, 1987). O processo inverso ocorre quando há desfosforilação da miosina e portanto há interrupção do movimento de deslizamento. A atividade contrátil pode ser disparada mesmo sem a miosina não fosforilada estar ativada e, estas situações ocorrem, eventualmente, quando a concentração de actina ativada for mais alta (ALDESTEIN & SELLERS, 1987). Considera-se que mudanças da concentração de  $\text{Ca}^{++}$  livre citoplasmático afetam a velocidade de encurtamento da fibra sem que haja qualquer mudança na fosforilação da cadeia leve da miosina e também o aumento da afinidade do  $\text{Ca}^{++}$  à miosina alterando a atividade da adenosina trifosfatase (ATPase) (SOMLYO, 1985). A quinase de cadeia leve da miosina pode também ser desativada pela dependente de quinase -Monofosfato 3',5'-cíclico de adenosina (AMPc) (figura 04)

e assim evitando a fosforilação da miosina e o deslizamento da miosina sobre a actina. Este processo é reversível podendo o complexo  $\text{Ca}^{++}$ -Calmodulina interagir e promover sua ação. Há estudos que com o uso de  $\beta$  Agonista adrenérgico resulta no relaxamento das fibras da musculatura lisa. Acredita-se que o AMPc tenha papel duplo, podendo levar também a relaxamento muscular por diminuição da afinidade do complexo  $\text{Ca}^{++}$ -Calmodulina a quinase de cadeia leve da miosina (Figura 4). Já a proteína quinase C age diretamente na fosforilação da miosina. É uma enzima  $\text{Ca}^{++}$ -dependente e ativada pelos fosfolípidos tais como fosfatidilserina da membrana celular. Todo este processo se desenvolve na presença da interação de um agonista ao receptor da membrana celular (SOMLYO, 1985; ALDESTEIN & SELLERS, 1987). Todos estes possíveis agentes envolvidos no processo da atividade contrátil independentes do complexo  $\text{Ca}^{++}$ -calmodulina, teriam papel responsável na modulação da atividade contrátil vascular (BRAUNWALD, 1987; BRAUNWALD et alli, 1987) e independente do aumento do  $\text{Ca}^{++}$  intracelular (MORGAN, 1987)

Figura 4 Processos de atuação do AMPc na regulação da fosforilação da miosina sobre o complexo  $\text{Ca}^{++}$ -Calmodulina (APUD, Adelstein, R.S. & Sellers, J.M., 1987)



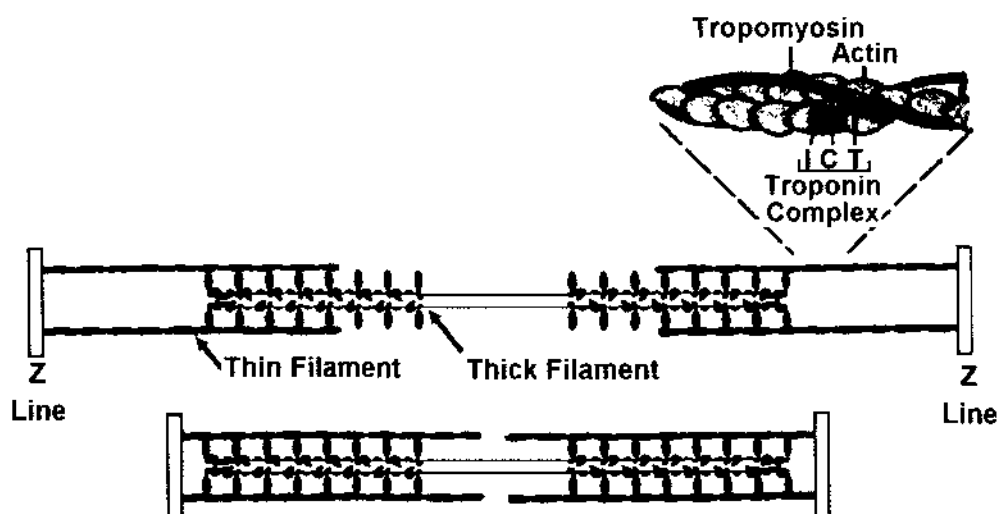
MLCK: quinase de cadeia leve de miosina; CaM: Calmodulina; P: grupo fosforil; P.K.: proteína quinase; cAMP: AMPc.

### 1.3.2 Ação cardíaca

A despolarização da membrana do tecido de condução atrial e ventricular e nos miócitos dos átrios e ventrículos ocorre como consequência de duas correntes de entrada, uma carregada pelo  $\text{Na}^+$  através de canal rápido e a segunda pelo  $\text{Ca}^{++}$  através de canal lento. No interior do miócito cardíaco, o  $\text{Ca}^{++}$  liga-se à Troponina (Figura 5) aliviando assim o efeito inibitório sobre a actina e promove a interação com a miosina causando contração. Nos nódulos sinoatrial e atrioventricular, a despolarização é largamente dependente do movimento do  $\text{Ca}^{++}$

através do canal lento porém o preciso mecanismo iônico que medeia o potencial do marcapasso neste tecido não está bem esclarecido (AMA, 1994).

Figura 5 Interação actina-miosina após liberação do efeito inibitório da troponina através da ligação com cálcio (APUD, Adelstein, R.S. & Sellers, J.M., 1987).



Thin filament: actina; Thick filament: miosina; I, C e T: 3 subunidades da Troponina que formam o complexo troponina; Tropomyosin: tropomiosina; Actin: actina.

### 1.3.3 Regulação do Cálcio intracelular pós atividade contrátil

Para ambos os casos terminada a ação, o  $\text{Ca}^{++}$  é retirado do interior por meio de dois mecanismos: bomba de  $\text{Ca}^{++}$  que utiliza a energia da hidrólise do ATP e outra através da troca  $\text{Na}^+$  por  $\text{Ca}^{++}$  na qual ele é bombeado para o extracelular (KOROLKOVAS & FRANÇA, 1993).

## **2. Antagonista de Cálcio**

## 2.1 Introdução

A descoberta destas drogas, capazes de antagonizar a ação do  $\text{Ca}^{++}$ , contribuiu para finalizar o entendimento do papel deste no acoplamento estímulo-resposta, integridade celular em geral e os meios de mobilização (retículo sarcoplasmático ou meio extracelular) em resposta ao estímulo celular (TRIGLLE, 1990). Estas substâncias no sistema cardiovascular impedem o influxo de  $\text{Ca}^{++}$  para o interior das células da musculatura lisa tanto das células dos vasos quanto das do tecido miocárdico através do bloqueio do canal de cálcio e assim interrompem o processo de excitação-contração (VAGHY et alli, 1987; YAMADA et alli, 1994). Como resposta há redução da frequência cardíaca, diminuição da contratilidade cardíaca, lentificação da condução AV e redução da resistência vascular periférica. Nas artérias coronarianas previne o aumento de sua tonicidade. Outras ações podem ocorrer em musculatura lisa não vascular como trato gastrointestinal, brônquio, útero, bexiga e ureter. (AMA, 1994)

Eles são chamados de antagonistas de cálcio mas outras denominações como bloqueadores de canais de cálcio, bloqueadores da entrada de cálcio (VAGHY et alli, 1987, VANHOUTTE, 1987), bloqueadores dos canais lentos de cálcio também são dadas (RIBEIRO, 1995).

Na década de 60, os primeiros estudos com antagonistas de  $\text{Ca}^{++}$  foram realizados por Fleckenstein, na Alemanha, e Godfraind, na Bélgica (MOURA, 1995).

Fleckenstein avaliou resposta de fibras musculares expostas ao verapamil em presença ou não de  $\text{Ca}^{++}$  extracelular e obteve resposta mimética à ausência deste íon (FLECKENSTEIN et alli, 1989). Godfraind por sua vez demonstrou que era possível bloquear o influxo de  $\text{Ca}^{++}$  com cinarizina e flunarizina (FLECKENSTEIN et alli, 1987; GODFRAIND et alli, 1989) competitivamente em preparações isoladas de vasos despolarizados com  $\text{K}^+$ . Obteve como resposta a não vasoconstrição (POWELL & SLATER, 1958).

O que contrapõe ao estudo de Fleckenstein é que as substâncias utilizadas não eram específicas (FLECKENSTEIN et alli, 1989) pois apresentavam em outros locais, ações farmacológicas e terapêuticas distintas do bloqueio de  $\text{Ca}^{++}$ .

Portanto são drogas com estruturas quimicamente heterogênicas com correspondente heterogeneidade de atividade farmacológica e terapêutica. (TRIGLLE, 1990)

Após realização de vários procedimentos utilizando técnicas eletrofisiológicas e radiomarcadores ligados, pôde-se evidenciar que a ação dos A.C. ocorre no canal voltagem-operado (VAGHY et alli, 1987; TRIGLLE, 1990; WOOD, 1989; YAMADA et alli, 1994), sendo mais claramente no canal "L" (TRIGLLE, 1990; MURAD, 1991), embora existam drogas que atuam sobre canal receptor-operado conforme estudos demonstrados com a droga verapamil (GODFRAIND & KABA, 1969; WOOD, 1989).

Tendo esta interação droga-canal realizada, demonstrada através das técnicas descritas acima, descobriu-se utilizando células polarizadas ou não que a afinidade dos A.C. era aumentada em estados de despolarização do canal. Observa assim que esta interação é favorecida nos tecidos que apresentam



despolarização e independentemente do potencial de membrana, exercendo apenas papel modulador do tipo qualitativo e quantitativo (TRIGLLE, 1990).

Tabela 3

Classificação dos antagonistas de cálcio em relação ao canal voltagem-operado

Propriedade	L	T	N
1,4 dihidropiridina (ativadores/antagonistas)	Sensível	Insensível	Insensível
Fenilalquilamina	Sensível	Sensível	Insensível
Benzotiazepina	Sensível	Sensível	Insensível

Triggle, D.J., 1990

Atualmente é de conhecimento que o canal voltagem-operado é um receptor de múltiplas drogas que inibem a entrada de  $Ca^{++}$  e que seu sítio específico permite que seis ou mais estruturas de substâncias A.C. com diferenças alostéricas ocupe o local. As afinidades de muitos compostos como da classe Dihidropiridina foram determinadas por técnicas de ligação *in vitro* (YAMADA et alli, 1994). Avanços nos estudos moleculares possibilitaram reconhecer no canal "L", a subunidade alfa 1 como a que possui maior propriedade do canal.

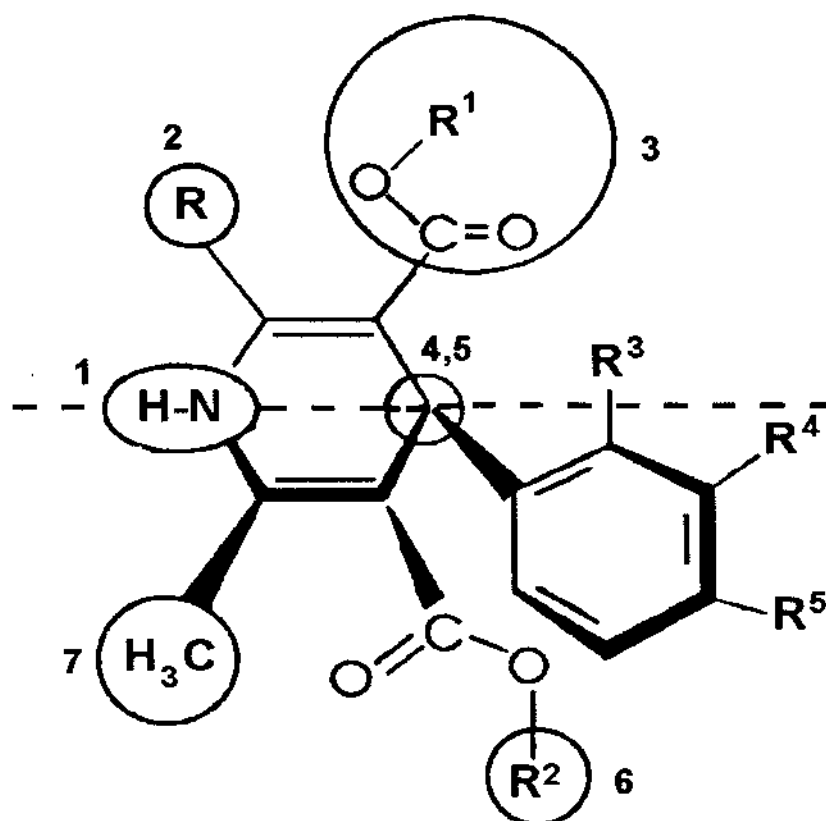
A seletividade dos efeitos farmacológicos dos A.C. no sistema cardiovascular se deve a abundância dos canais "L" no músculo liso e cardíaco (TRIGLLE, 1990; MURAD, 1991), mas sua afinidade está relacionada a uma variedades de causas, incluindo, fatores farmacocinéticos como a absorção, distribuição e metabolismo (TRIGLLE, 1990) e a fatores farmacodinâmicos (YAMADA et alli, 1994).

## 2.2 Estrutura Molecular

A interação dos A.C. ao receptor é dependente da sua fórmula estrutural que lhe fornece características farmacocinéticas (TRIGLLE, 1990). A fórmula estrutural da 1,4 dihidropiridina (Figura 6) e o papel dos radicais é o fator determinante na relação estrutura-atividade. Os principais fatores moleculares que determinam atividade biológica são os seguintes:

- O núcleo 1,4 dihidropiridina oxidado e reduzido origina derivados inativos. Substituição do N1-H está associada a perda de atividade.
- A presença de um 4-núcleo fenil com pequenos elétrons retirando substituintes na posição orto e meta. Substituintes na posição para são prejudiciais a atividade.
- Grupos éster C-3 e C-5 do anel 1,4 dihidropiridina conferem atividade antagonista ótima. Quando o padrão de substituição é diferente ao C-3 e C-5, C-4 torna-se quiral e a estereoseletividade de interação é observada. A presença de substituinte Nitro ao C-5 está associada com propriedades ativadoras

Figura 6 Fórmula estrutural para atividade antagonista e agonista da 1,4 dihidropiridina (APUD, Korolkovas, A. & França, F.F.A.C., 1993).



- 1- É necessária sua presença
- 2- Podem ser grupos volumosos
- 3- A função do éster é ótima como antagonista:  $-\text{COOR} > \text{COMe} > \text{CN} > \text{H}$ ; e  $\text{NO}_2$  como ativador
- 4- Centro estereogênico (estereosseletividade)
- 5- a) Ângulo de torção determinado do anel aromático  
b) Substituintes  $\text{o} \geq \text{m} \geq \text{p}$  (o orto; m meta; p para)  
doadores de elétrons < aceptores de elétrons
- 6- Pode apresentar grupos volumosos
- 7- Ótimo com grupos alquílicos pequenos

### 2.3 Parâmetros Farmacocinéticos

Em geral, absorção destas drogas é completa após administração oral porém a sua biodisponibilidade é baixa em razão do metabolismo de primeira passagem pelo fígado. Efeitos são evidentes depois de 30 a 60 minutos da dose oral e em casos de administração intravenosa como por exemplo utilizando verapamil, os efeitos máximos ocorrem em 15 minutos.

Não há exceção destas drogas quanto à ligação as proteínas plasmáticas a qual são de proporções significativas (70 a 99%). Apresentam meias vidas de eliminação de 1.3 a 5 horas podendo variar tanto a meia vida quanto a biodisponibilidade se houver alteração na saturação hepática. Sabe-se que algumas dos A.C. produzem metabólitos com razoável atividade farmacológica mas no caso das drogas da classe da Dihidropiridina, eles são inativos ou fracamente ativos. Trabalhos mostram que a biodisponibilidade e meia vida maiores são observadas nos indivíduos com cirrose hepática e nos idosos (MURAD, 1991).

Revisões nas farmacocinéticas de algumas destas substâncias têm sido realizadas e baseando-se nos três protótipos dos A.C. (nifedipina, diltiazem e verapamil) são comparados com os novos. Estes em relação aos protótipos apresentam baixa biodisponibilidade e são bem absorvidos com efeito hepático de primeira passagem e também sofrem alterações de seu clearance em patologias hepáticas e em processos de senilidade o que são comuns a todos. Considerando concentração plasmática e efeito, eles necessitam apenas de administração da

dose uma ou duas vezes ao dia quando comparado, pois os outros necessitam, muitas vezes, administração de tres a quatro vezes ao dia.

Nimodipina requer administração muitas vezes ao dia enquanto Amlodipina é o único com características farmacocinéticas diferentes dos outros da classe das Dihidropiridina. Apresenta baixo clearance e um  $T_{1/2}$  maior permitindo assim administração uma vez ao dia. (KELLY & O'MALLEY, 1992) Esta droga tem o átomo de cloro inserido no grupo nitro do anel fenílico e nas posições 2 e 3 do anel dihidropiridínico torna-se alongado com incorporação de grupos volumosos e altamente lipofílicos. (KOROLKOVAS & FRANÇA, 1993) Na posição 2 do anel 1,4-dihidropiridina está a molécula 2-aminoetilmetil e devido a estas alterações estruturais quando comparadas ao protótipo nifedipina, confere uma cinética muito lenta de início e de eliminação, muito alta estereoseletividade e uma redução no impacto da substituição do anel fenil (TRIGLLE, 1990) pela ação do citocromo P 450 (KOROLKOVAS & FRANÇA, 1993).

Os novos A.C. mostram características farmacocinéticas que incluem administração conveniente, aparecimento de efeitos colaterais mínimos (KELLY & O'MALLEY, 1992) e ação prolongada (AMA, 1994).

## 2.4 Classificação dos AC

Os AC foram classificados em três grupos de acordo com sua estrutura química (VAGHY et alli, 1987; WOOD, 1989): dihidropiridina, benzotiazepina e fenilalquilamina (tabela 2); e dentro de cada grupo contém substâncias com comprovada ação terapêutica.

Tabela 4 Classificação química dos Antagonistas de Cálcio

Dihidropiridina	Fenilalquilamina	Benzotiazepina
Nifedipina	Verapamil	Diltiazem
Nicardipina	Galopamil	
Nimodipina	Tiapamil	
Nitrendipina		
Felodipina		
Nisoldipina		
Amlodipina		

Wood, A.J.J., 1989

De fato, o primeiro a organizar uma classificação dos A.C. foi Fleckenstein de acordo com a especificidade (tabela 3) (TRIGLLE, 1990) enquanto Godfraind classificou quanto a capacidade de inibir ou facilitar o fluxo de  $Ca^{++}$  para o interior celular independente da família química dos agentes que agem sobre o canal de  $Ca^{++}$ , tentando racionalizá-lo para uso clínico (GODFRAIND, 1987). Godfraind propôs outra abordagem benéfica a fim de classificar os antagonistas que são

seletivos ao canal de cálcio com base nos seguintes critérios: 1- efeitos cardíacos resultando principalmente da inibição da corrente lenta de passagem - ação antiarrítmica, lentificando condução e efeito inotrópico negativo; 2- efeitos vasculares - inibição da contração miogênica; 3- proteção ao tecido - contra necrose miocárdica devido a sobrecarga de  $Ca^{++}$  resultante de anóxia, isquemia e contra isquemia do tecido cerebral e 4- efeitos hemorrágicos - restauração da deformidade da hemácia sanguínea induzida pelo cálcio. Tomando estes efeitos as drogas pode ser divididas em três categorias e a esta foi associado o grupo difenilpiperazina (e.g.; Flunarizine) (Figura 7). Esta classificação é muito similar àquela proposta por Spedding mas aqui também se faz uma referência a ação destas drogas a nível molecular, sua capacidade de interação ao sítios de ligação  $\{^3H\}$ -dihidropiridine (GODFRAIND, 1987). Em 1985, The World Health Organization (WHO), através de seus representantes propuseram uma revisão para organizar o esquema proposto por Fleckenstein, Godfraind e do perfil farmacológico qualitativo, resultando assim em uma tabela de resposta de ação dos vários A.C. diretamente relacionada à condição clínica. Foram classificados de acordo com o seu grau de especificidade ao tecido cardiovascular (VANHOUTTE, 1987) de tal modo a simplificá-la (OPIE et alli, 1987). Em 1987, The International Society and Federation of Cardiology reuniram-se para propor um novo modelo incluindo as propostas do WHO, classificação original de Fleckenstein e muitos outros inclusive aqueles baseados em marcadores de ligação. Este grupo concluiu por uma classificação com ênfase na propriedade dos três maiores A.C. (verapamil, nifedipina e diltiazem), todos altamente específicos com similaridades ou não (OPIE et alli, 1987). Outras propostas

vieram depois desta para complementar a desenvolvida por Godfraind em 1990 (KELLY & O'MALLEY, 1992)

tabela 5

Classificação química e seletividade dos antagonistas de cálcio segundo Fleckenstein

---

***Seletivos para os canais de cálcio***

Dihidropiridina

Fenilalquilamina

Benzotiazepina

***Não seletivo para os canais de cálcio***

Difenilpiperazina (cinarezina, flunarezina)

Derivados de Prenilamina (prenilamina, fendilina)

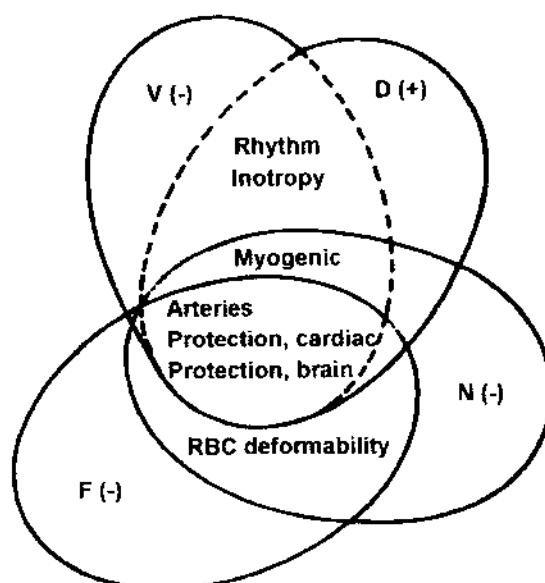
Outros (bepridil, caoverini)

---

Vanhoutte, P.M., 1987



Figura 7 Diferenciação dos antagonistas do canal de cálcio, específicos e não, com base no critério funcional e sua capacidade de interação ao sítio de ligação  $\{^3\text{H}\}$ -dihidropiridina ( APUD, Godfraind, T. , 1987).



D= diiltiazem-like; N= nifedipina-like; V= verapamil-like; F=flunarizine-like. (+) e (-) refere-se a estimulação e inibição do sítio de ligação no canal de cálcio

Com o crescente surgimento de novas drogas, a presença destas revisões nas classificações veio contribuir para o entendimento dos efeitos farmacológicos, terapêuticos e de aplicação clínica dos estabelecidos e dos novos AC.

Não há dúvida que muitos trabalhos realizados são sobre os derivados da Dihidropiridina por ser a maior classe de drogas que mostra como principal atuação para uso antihipertensivo. Portanto reafirmando os A.C. tem efeito farmacológico sob os vasos coronarianos, periféricos, cerebrais e ao nível cardíaco promovendo efeito inotrópico negativo e inibidor da excitação sinoatrial e atrioventricular.

Na prática clínica seu interesse é no controle da H.A., angina pectoris (VAGHY et alli, 1987), prevenção contra dano isquêmico neuronal por trauma craniano ou não e hemorragia subaracnoidiana (FLEISHAKER et alli, 1994; HYNYNEN, 1995) e nas arritmias cardíacas (VAGHY et alli, 1987).

### **3. Objetivo**

A proposta deste estudo é avaliar:

- Bioequivalência de duas preparações comerciais de Amlodipina (Cordarene<sup>R</sup> comprimido 5 mg vs Norvasc<sup>R</sup> comprimido 5 mg), avaliando-se parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos.
- Bioequivalência de duas preparações comerciais de Nimodipina (Oxigen<sup>R</sup> comprimido 90 mg vs Nimotop<sup>R</sup> comprimido 90 mg), avaliando-se parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos.
- Comparação das características farmacocinéticas de ambas as drogas, Nimodipina e Amlodipina, uma vez que elas pertencem a mesma classe dos Antagonistas de Calcio; classe Dihidropiridina.

## **4. Material e Métodos**

#### 4.1 Critérios de seleção

No Ambulatório de Farmacologia Clínica do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP foram selecionados trinta e sete (37) voluntários do sexo masculino, entre 18 a 45 anos, saudáveis para estudo randomizado, não cego de bioequivalência de duas preparações comerciais de Nimodipina e Amlodipina.

A seleção constou de exame clínico completo (Anamnese, exame físico, exame psiquiátrico), exame diagnóstico (Eletrocardiograma (ECG)) e exames laboratoriais.

Os exames laboratoriais foram os seguintes:

- Hemograma.
- Proteína Total.
- Cloretos.
- Transaminase oxalacética.
- Bilirrubina total.
- Gama GT.
- Protoparasitológico.
- Glicemia jejum.
- Albumina.
- Ácido Úrico.
- Transaminase pirúvica.
- Bilirrubina Frações.
- Fosfatase Alcalina.
- Urina tipo I.

Foram admitidos aqueles sujeitos que não apresentavam patologias cardíacas, gastrointestinal, hepática, renal, pulmonar, neurológica, hematológica e psiquiátrica ao exame clínico e tinham ECG e exames laboratoriais normais.

Os critérios de exclusão foram aqueles que tivessem participado como voluntário em outro estudo nos últimos três (3) meses que antecedeu a este estudo, estivessem em uso de medicação regular durante quatro (4) semanas que antecederam este estudo, apresentassem história de alcoolismo e/ou uso de drogas, ingerissem bebida alcoólica regularmente maior que quatro (4) doses por dia (1 dose= ½ caneca de cerveja/ 1 copo de vinho/ 1 cálice de pinga), apresentassem peso superior a 100 Kg ou acima de 15% do peso ideal como descrito em "The Metropolitan Life Insurance Tables", fumassem quinze (15) ou mais cigarros por dia

#### **4.2 Método de desenvolvimento**

Os protocolos dos estudos foram submetidos à Comissão de Ética da Faculdade de Ciências Médicas para aprovação de acordo com determinação da Resolução 01/88 do Ministério da Saúde e do Conselho Federal de Medicina (Apêndice 01). Tendo sido aprovados, foram conduzidos de acordo com as provisões da Declaração de Helsinki (1965) e de Tóquio (1975) e da revisão em Veneza (1983).

Todos os voluntários foram comunicados dos possíveis efeitos adversos do uso das medicações e aqueles que expressaram desejo de continuar, assinaram o termo de consentimento.

Os sujeitos foram divididos em dois grupos sendo de dezoito voluntários para o Grupo Nimodipina e dezenove voluntários para o Grupo Amlodipina. Foram

submetidos a um período de quatro semanas de "wash-out" e cada grupo foi internado por dois (2) períodos de aproximadamente de trinta e seis (36) horas com intervalo de duas (2) semanas na enfermaria da Farmacologia Clínica da Unicamp.

As medicações utilizadas para o Grupo Amlodipina foram Amlodipina Biosintética e Amlodipina Pfizer comprimidos com concentração de 5mg de Amlodipina cada e suas apresentações comerciais são Cordarene<sup>R</sup> e Norvasc<sup>R</sup>, respectivamente; e para o Grupo de Nimodipina - Nimodipina Biosintética e Nimodipina Bayer comprimidos com concentração de 30mg de Nimodipina cada, vendidas comercialmente com os nomes de Oxigen<sup>R</sup> e Nimotop<sup>R</sup>, respectivamente. Estas formulações foram gentilmente fornecidas pelo Laboratório Biosintética.

Eles foram internados aproximadamente as 20:00 horas no dia anterior a administração de cada dose do medicamento e a administração da medicação ocorreu as 7:00 horas sendo prescrito no grupo da Amlodipina dose de 5mg de Amlodipina via oral com 200 ml de água conforme randomização (vide tabela) e no grupo Nimodipina a dose foi de 90mg de Nimodipina (tres comprimidos de 30mg) por via oral (vide tabela).

Durante o período de internação, permaneceram em jejum por um período de seis (6) horas após administração da dose inicial sendo posteriormente permitida ingestão de dieta geral fornecida pela cozinha central do hospital, não havendo restrição quanto a ingestão de líquidos com exceção de produtos que continham xantinas.



Critérios de eliminação durante o estudo foram aqueles que expressaram desejo de retirar-se do estudo por outras razões que não por efeitos indesejáveis da medicação em estudo, por efeitos indesejáveis da medicação em estudo, por doença intercorrente que requereu medicação.

No período de estudo foram retiradas amostras sanguíneas para análises da concentração plasmática da medicação em tempos pré determinados. Foram os seguintes horários de coleta:

Grupo Amlodipina: pré dose; 1; 2; 4; 6; 8; 10; 12; 14; 24; 48; 96; 120 e 144 horas após dose.

Grupo Nimodipina: pré dose; 0.5; 1; 1.5; 2; 3; 4; 5; 6; 8; 10; 12; 18 e 24 horas após dose.

Em cada ocasião, amostras de 10 ml de sangue eram retiradas via "butterfly" e colocadas em tubos identificados contendo heparina. Os tubos de amostras que continham a droga Amlodipina foram protegidos da luz.

As medidas da pressão arterial e frequência cardíaca foram tomadas nos horários correspondentes a coletas sanguíneas através do aparelho esfigmomanômetro de mercúrio Tycos.

Os dois Grupos receberam alta hospitalar ao completar vinte quatro (24) horas após dose inicial, somente o Grupo da Amlodipina retornou ao Ambulatório de Farmacologia para complementação das coletas sanguíneas de 48, 96 e 144 horas conforme protocolo de coletas de amostras sanguíneas estabelecido acima.

Ao final do estudo marcou-se retôrno no Ambulatório de Farmacologia, que ocorreu uma semana depois da última coleta de sangue, para realização de

exame clínico completo, eletrocardiograma e exames laboratoriais, conforme descrição acima, para avaliação do estado de higidez dos voluntários.

### **4.3 Método de procedimento de análise das amostras sanguíneas**

As amostras foram imediatamente centrifugadas a 4.000g por dez (10) minutos e o plasma removido e acondicionado a -20°C até a droga ser analisada.

Amostras de Amlodipina foram extraídas de plasma alcalinizado com n-butyl-cholide. A fase orgânica foi sedimentada e a fase móvel foi reconstituída e injetada dentro da LC/MS/MS.

Para condição Cromatografica a fase móvel (10 Mm acetato de amonia / metanol / acetonitrilo = 15 / 32 / 53) foi introduzida através da coluna (Keystone Hypersil, C<sub>18</sub>, 3 $\mu$ , 50 × 3.0 mm, USA) a uma velocidade de fluxo 0.9 ml/min. Amostras foram analisadas usando um detector PE Sciex API III mais MS/MS e o ion monitorizado foi amlodipina m/z 238.2 → 137.

As concentrações plasmáticas da Nimodipina foram realizadas através de fase reversa "ion-pair" HPLC com detecção ultra violeta.

Para análise das amostras da Nimodipina foi preciso que para 1 ml de plasma (curva standard e amostras de voluntários) fossem sucessivamente adicionadas 200  $\mu$ l do standard interno (solução aquosa de nitrendipina 300 ng/ml) e 1 ml de tampão borato (decaidratadotetra borato sódico 38 g/l, pH 9). Depois de uma breve agitação, a mistura foi extraída com 5 ml de dicloromethano (agitado por 1

minuto). Depois da centrifugação (10 min at 2000 g) a fase orgânica foi lavada com 1 ml de solução de ácido fosfórico 10% (agitada por 1 minuto). A mistura foi então centrifugada (5 min at 2000 g) e a fase orgânica foi separada e evaporada para secagem sob um fluxo de  $N_2$  à 37 °C. O resíduo foi reconstituído com 200  $\mu$ l da fase móvel e 50  $\mu$ l foi injetado dentro do cromatógrafo líquido.

Para condição cromatográfica a fase móvel (0.2 M  $KH_2PO_4$  tampão mais 0.02 M sulfato dodecyl sódico, pH 2.5 / acetonitrila: 50/50) foi despejada através da coluna (Merck Lichrosorb, C<sub>8</sub>, 5 $\mu$ ) a uma velocidade de fluxo de 1 ml/min, e o eluente foi continuamente monitorizado a 248 nm. Sob estas condições, o tempo de retenção para nimodipina e nitrendipina foram 13.1 e 11.6 min, respectivamente.

#### 4.4 Método estatístico

As análises de farmacocinética foram realizadas, obtendo a concentração plasmática máxima ( $C_{max}$ ) e o tempo obtido para aceitar este nível máximo ( $T_{max}$ ). As áreas sob a curva tempo vs concentração de Amlodipina ( $AUC_{[0-144h]}$ ) e Nimodipina ( $AUC_{[0-24h]}$ ), em separado, foram calculadas utilizando o método trapezoidal.

O software usado para acessar bioequivalência foi "Bioequivalence Program for Two-Period Crasrossover Studies - Version 3.4" por Herman P.

Wijand, empregando testes paramétricos (Teste ANOVA) e não paramétrico (Teste Wilcoxon).

As constantes de eliminação terminal de primeira ordem ( $K_e$ ) das substâncias Amlodipina e Nimodipina foram determinadas a partir da equação de regressão linear entre o logaritmo da concentração e o tempo. As meias vida ( $T_{1/2}$ ) foram calculadas empregando a equação  $T_{1/2} = (\ln 2 / K_e)$  (Kinetics-Pharmakit Program-Version 2.0).

## **Tabelas de Randomização**

**Tabela 06 Randomização Amlodipina**

Vol. nº.	Sequencia da Administração	
	Periodo I	Periodo II
01	<b>Cordarene</b>	Norvasc
02	<b>Cordarene</b>	Norvasc
03	<b>Cordarene</b>	Norvasc
04	Norvasc	<b>Cordarene</b>
05	Norvasc	<b>Cordarene</b>
06	<b>Cordarene</b>	Norvasc
07	Norvasc	<b>Cordarene</b>
08	<b>Cordarene</b>	Norvasc
09	Norvasc	<b>Cordarene</b>
10	Norvasc	<b>Cordarene</b>
11	<b>Cordarene</b>	Norvasc
12	Norvasc	<b>Cordarene</b>
13	<b>Cordarene</b>	Norvasc
14	Norvasc	<b>Cordarene</b>
15	Norvasc	<b>Cordarene</b>
16	Norvasc	<b>Cordarene</b>
17	<b>Cordarene</b>	Norvasc
18	<b>Cordarene</b>	Norvasc
19	<b>Cordarene</b>	Norvasc

**Tabela 07 Randomização Nimodipina**

Vol. n°.	Sequencia da Administração	
	Periodo I	Periodo II
01	<b>Oxigen</b>	Nimotop
02	<b>Oxigen</b>	Nimotop
03	<b>Oxigen</b>	Nimotop
04	Nimotop	<b>Oxigen</b>
05	Nimotop	<b>Oxigen</b>
06	<b>Oxigen</b>	Nimotop
07	Nimotop	<b>Oxigen</b>
08	Nimotop	<b>Oxigen</b>
09	<b>Oxigen</b>	Nimotop
10	Nimotop	<b>Oxigen</b>
11	<b>Oxigen</b>	Nimotop
12	Nimotop	<b>Oxigen</b>
13	<b>Oxigen</b>	Nimotop
14	<b>Oxigen</b>	Nimotop
15	<b>Oxigen</b>	Nimotop
16	Nimotop	<b>Oxigen</b>
17	Nimotop	<b>Oxigen</b>
18	Nimotop	<b>Oxigen</b>

## **5. Resultados**



Não foram observados no decorrer do estudo clínico, para ambos os grupos, efeitos colaterais ou reações adversas. Variação na pressão arterial ou frequência cardíaca não foi significativa portanto não sendo relatado. Os exames laboratoriais de ambos os grupos não apresentaram alterações de seus limites de normalidade tanto nas fases pré quanto pós estudos. As figuras 9 e 11 mostram as médias das concentrações plasmáticas em função do tempo para Amlodipina e Nimodipina respectivamente. No grupo Amlodipina foram administradas as formulações contendo comprimido 5 mg de Amlodipina e no grupo Nimodipina administrou-se formulação com 90 mg de comprimido de Nimodipina.

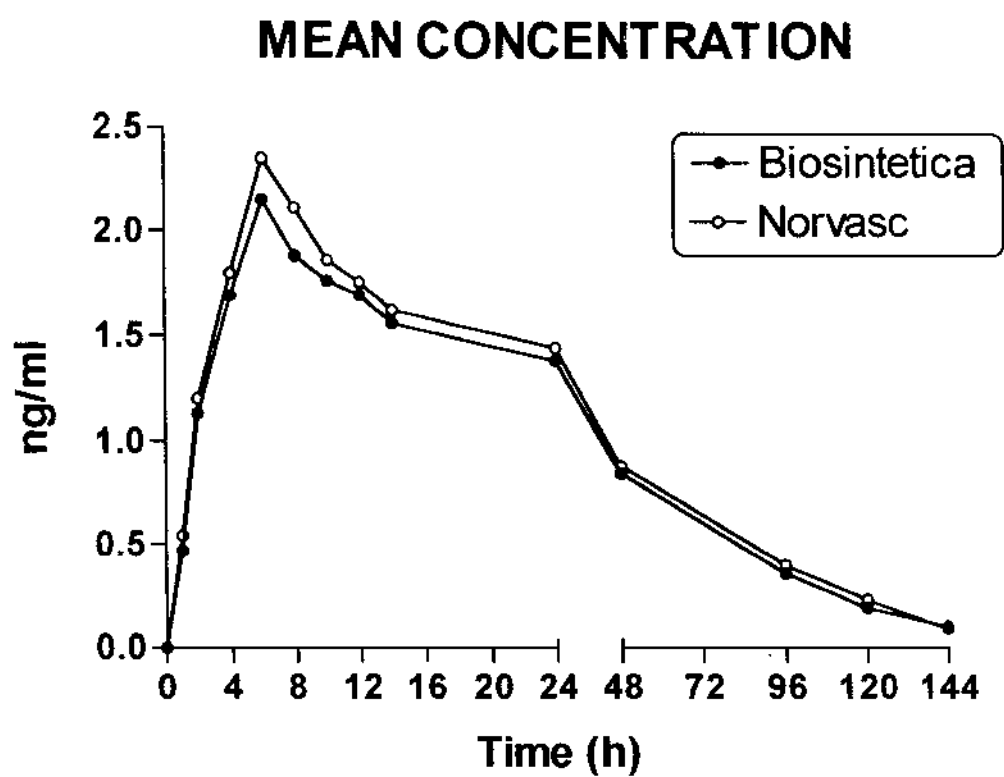
Os parâmetros farmacocinéticos calculados estão apresentados adiante e constam de  $AUC_{[0-24\text{ h}]}$ ,  $C_{\max}$ ,  $T_{\max}$ ,  $K_e$  e  $T_{1/2}$  para as formulações Amlodipina (Norvasc<sup>R</sup> e Cordarene<sup>R</sup>) e  $AUC_{[0-144\text{h}]}$ ,  $C_{\max}$ ,  $T_{\max}$ ,  $K_e$  e  $T_{1/2}$  para as formulações Nimodipina (Oxigen<sup>R</sup> e Nimotop<sup>R</sup>) (tabelas 09/10 e 11/12 respectivamente) e suas respectivas razões Teste/Padrão e intervalo de confiança de 90% e 95% respectivamente.

As médias  $K_e$  e  $T_{1/2}$  das substâncias Amlodipina e Nimodipina foram calculadas obtendo-se uma média geral de ambas e comparadas entre si e estão representadas adiante na tabela 13 e na figura 13.

## **Amlodipina**

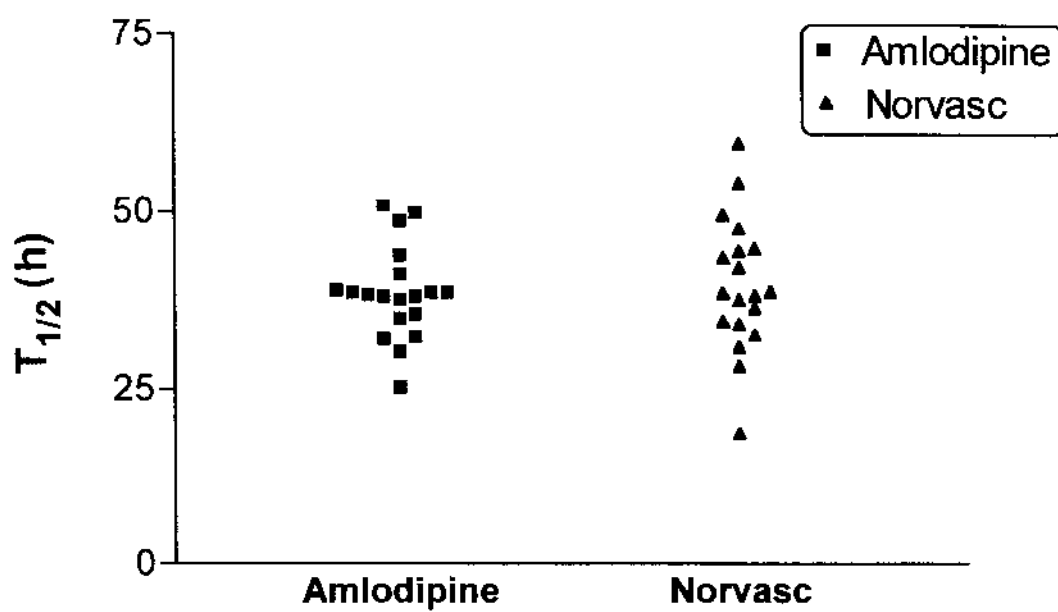
**Dados da concentração média vs Tempo (Figura)**

Figura 8. Dados da Concentração Média vs Tempo das duas formulações Teste/Padrão (Cordarene<sup>R</sup> vs Norvasc<sup>R</sup>)

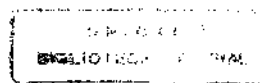


**Dados do Tempo Meia Vida (Figura)**

Figura 9. Dados do Tempo Meia Vida das duas Formulações Teste/Padrão (Coradrene<sup>R</sup> vs Norvasc<sup>R</sup>)



## Análises Estatísticas



**Parametros médios de Farmacocinética (Tabela)**



Tabela 9. Parametros médios de  $AUC_{[0-144h]}$ ,  $C_{max}$ ,  $T_{max}$  da Amlodipina Biosintética vs Amlodipina Pfizer

	<b>Amlodipina Biosintética</b>	<b>Amlodipina Pfizer</b>
<b>AUC [0-144h] ng/ml*h</b>		
[média arit.]	<b>102</b>	<b>109</b>
<b>I.C. 90%</b>	<b>90.1-109.9%</b>	
[média geom.]	<b>98</b>	<b>105</b>
<b>I.C. 90%</b>	<b>89.8-110.2%</b>	
<b>C<sub>max</sub> ng/ml</b>		
[média arit.]	<b>2.21</b>	<b>2.37</b>
<b>I.C. 90%</b>	<b>88.4-111.6%</b>	
[média geom. (SD)]	<b>2.17</b>	<b>2.33</b>
<b>I.C. 90%</b>	<b>88.7-111.3%</b>	
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>		
[mediana (variação)]	<b>6 (2-12)</b>	<b>6 (4-8)</b>

Tabela 10. Parametros médios de  $K_e$ ,  $T_{1/2}$  da Amlodipina Biosintética vs Amlodipina Pfizer

	<b>Amlodipina Biosintética</b>	<b>Amlodipina Pfizer</b>
<b><math>K_e</math> (<math>h^{-1}</math>)</b>		
<b>Média Geom.</b>	<b>0.018</b>	<b>0.018</b>
<b>Variação</b>	<b>0.016 - 0.019</b>	<b>0.016 - 0.020</b>
<b><math>T_{1/2}</math> (h)</b>		
<b>Média Geom.</b>	<b>37.8</b>	<b>38.2</b>
<b>Variação</b>	<b>35.3 - 40.5</b>	<b>34.3 - 42.5</b>

## Análise de Bioequivalência

---

### Amlodipina Biosintética vs Amlodipina Pfizer comprimidos

#### Análise Paramétrica

**AUC<sub>[0-144h]</sub>: Arithmetic Mean Ratio = 94.23% of Amlodipina Pfizer mean**

90% confidence interval

Approx. (from diff.):	88.6 - 99.9%
Mandallaz & Mau:	88.9 - 99.9%
Westlake:	90.1 - 109.9%

95% confidence interval

Approx. (from diff.):	87.4 - 101.1%
Mandallaz & Mau:	87.8 - 101.2%
Westlake:	88.9 - 111.1%

Two one-sided t-Test for untransformed values

P [0.8<r<1.25]:	1.0
P [r<0.8]:	0.0
P [r>1.25]:	0.0

ANOVA for difference between treatments

P:	0.1
power:	1.0

## Análise de Bioequivalência

---

### Amlodipina Biosintética vs Amlodipina Pfizer comprimidos

**AUC<sub>[0-144h]</sub>: Geometric Mean Ratio = 93.69% of Amlodipina Pfizer mean**

90% confidence interval

Classical:	88.8-98.3%
Westlake:	89.8-110.2%

95% confidence interval

Classical:	87.7-100.1%
Westlake:	88.7-111.3%

Two one-sided t-Test for ln-transformed values

P [0.8<r<1.25]:	1.0
P [r<0.8]:	0.0
P [r>1.25]:	0.0

ANOVA for difference between treatments after LN-transformation

P:	0.06
power:	1.0

#### Análise não paramétrica

**AUC<sub>[0-144h]</sub> Geometric mean of individual ratios: 93.5%**

90% confidence interval:	87.8 - 98.2%
Point estimate:	93.0

## Análise de Bioequivalência

---

### Amlodipina Biosintética vs Amlodipina Pfizer comprimidos

#### Análise Paramétrica Cmax

**Cmax: Arithmetic Mean Ratio = 93.58% of Amlodipina Pfizer**

90% confidence interval

Approx. (from diff.): 86.5 - 100.7%

Mandallaz & Mau: 86.9 - 100.7%

Westlake: 88.4 - 111.6%

95% confidence interval

Approx. (from diff.): 85.0 - 102.2%

Mandallaz & Mau: 85.6 - 102.3%

Westlake: 86.9 - 113.1%

Two one-sided t-Test for untransformed values

P [0.8<r<1.25]: 1.0

P [r<0.8]: 0.0

P [r>1.25]: 0.0

ANOVA for difference between treatments

P: 0.13

power: 1.0

## Análise de Bioequivalência

---

### Amlodipina Biosintética vs Amlodipina Pfizer comprimidos

**Cmax: Geometric Mean Ratio = 93.49% of Amlodipina Pfizer mean**

90% confidence interval

Classical: 87.2-100.2%

Westlake: 88.7-111.3%

95% confidence interval

Classical: 85.9-101.7%

Westlake: 87.2-112.8%

Two one-sided t-Test for ln-transformed values

P [0.8<r<1.25]: 1.0

P [r<0.8]: 0.0

P [r>1.25]: 0.0

ANOVA for difference between treatments after LN-transformation

P: 0.11

power: 1.0

### Non-parametric analysis

**Cmax: Geometric mean of individual ratios: 0.93**

90% confidence interval: 86.4 - 100.2%

Point estimate: 93.1%

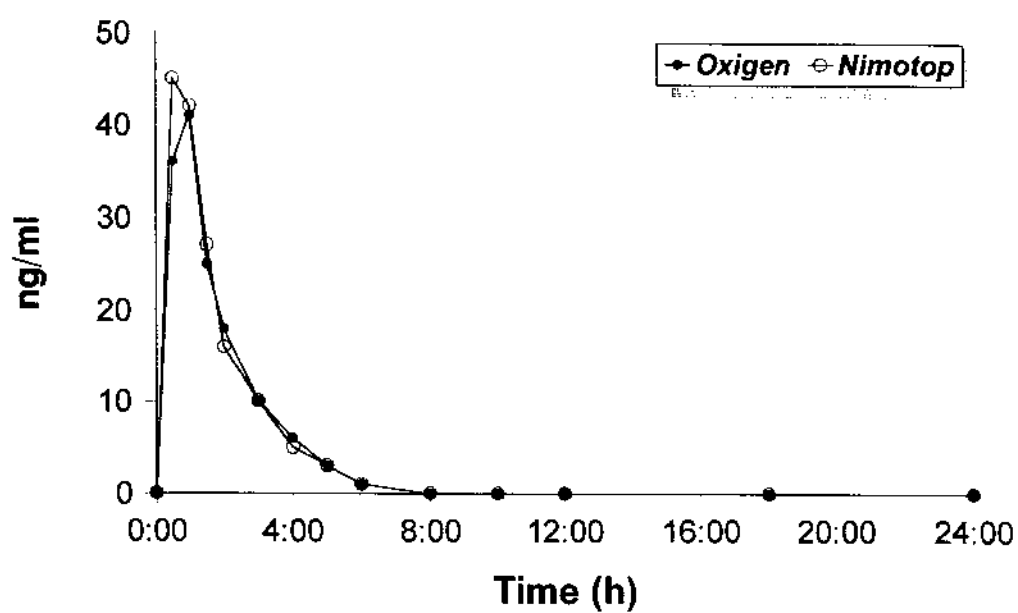
## **Nimodipina**

**Dados da concentração média vs Tempo (Figura)**



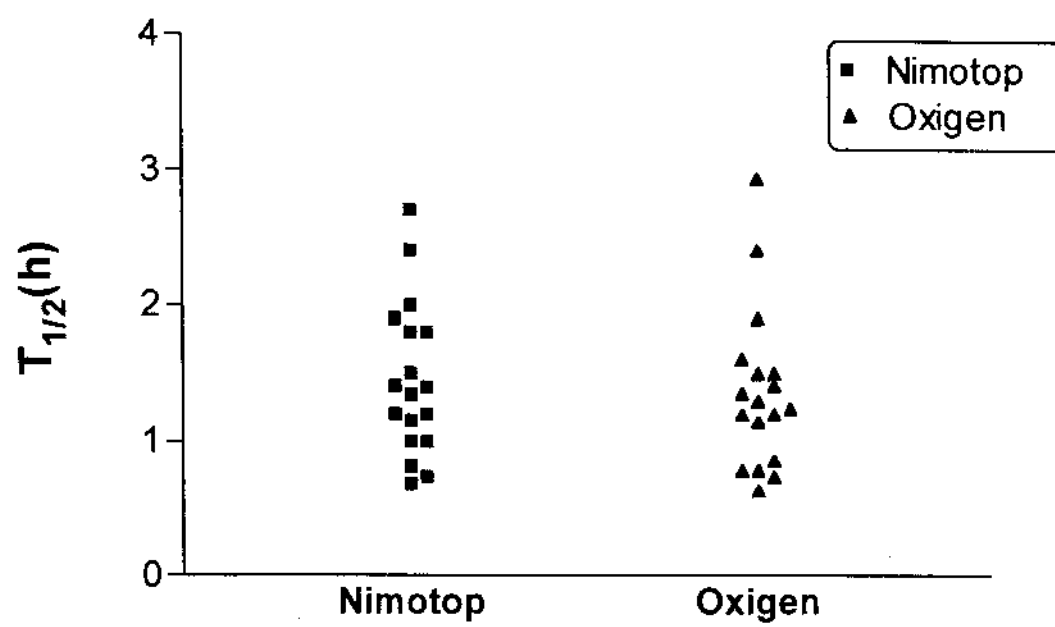
Figura 10. Dados da Concentração Média vs Tempo das duas formulações Teste/Padrão (Oxigen<sup>R</sup> vs Nimotop<sup>R</sup>)

## Mean Concentration



**Dados do Tempo Meia Vida (Figura)**

Figura 11. Dados do Tempo Meia Vida das duas Formulações Teste/Padrão (Oxigen<sup>R</sup> vs Nimotop<sup>R</sup>)



## **Análises Estatísticas**

**Parametros médios de Farmacocinética (Tabela)**

Tabela 11. Parametros médios de  $AUC_{[0-144h]}$ ,  $C_{max}$ ,  $T_{max}$  da Nimodipina Biosintética vs Nimodipina Bayer

	<b>Nimodipina Biosintética</b>	<b>Nimodipina Bayer</b>
<b>AUC [0-144h] ng/ml*h</b>		
[média arit.]	<b>84.4</b>	<b>89.4</b>
<b>I.C. 90%</b>	<b>74.0-126.0%</b>	
[média geom.]	<b>74.2</b>	<b>75.1</b>
<b>I.C. 90%</b>	<b>76.2-124.7%</b>	
<b>C<sub>max</sub> ng/ml</b>		
[média arit.]	<b>51.8</b>	<b>54.4</b>
<b>I.C. 90%</b>	<b>70.7-129.3%</b>	
[média geom.]	<b>45.2</b>	<b>41.5</b>
<b>I.C. 90%</b>	<b>62.9-137.0%</b>	
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>		
[mediana (variação)]	<b>0.75 (0.5-1.5)</b>	<b>1 (0.5-1.5)</b>

Tabela 12. Parâmetros médios de  $K_e$ ,  $T_{1/2}$  da Nimodipina Biosintética vs Nimodipina Bayer

	<b>Nimodipina Biosintética</b>	<b>Nimodipina Bayer</b>
$K_e$ ( $h^{-1}$ )		
<b>Média Geom.</b>	<b>0.54</b>	<b>0.50</b>
<b>Variação</b>	<b>0.44 - 0.65</b>	<b>0.42 - 0.59</b>
$T_{1/2}$ (h)		
<b>Média Geom.</b>	<b>1.25</b>	<b>1.34</b>
<b>Variação</b>	<b>1.05 - 1.48</b>	<b>1.14 - 1.58</b>

## Análise de Bioequivalência

---

### Nimodipina Biosintética vs Nimodipina Bayer comprimidos

#### Análise Paramétrica

**AUC<sub>[0-24h]</sub>: Arithmetic Mean Ratio = 94.5% of Nimodipina Bayer mean**

90% confidence interval

Approx. (from diff.): 69.2 - 119.7

Mandallaz & Mau: 72.4 - 122.7

Westlake modified according to Mandallaz & Mau: 74.0 - 126.0

95% confidence interval

Approx. (from diff.): 63.8 - 125.1

Mandallaz & Mau: 68.2 - 130.0

Westlake modified according to Mandallaz & Mau: 68.8 - 131.2

Two one-sided t-Test for untransformed values

P [0.8 < r < 1.25] = 0.88

P [r < 0.8] = 0.10

P [r > 1.25] = 0.03

ANOVA for difference between treatments

P > 0.30

power = 0.24

Fluehler's posterior probabilities

P [0.8 < r < 1.25] = 0.89

P [r < 0.8] = 0.07

P [r > 1.25] = 0.04



## Análise de Bioequivalência

---

### Nimodipina Biosintética vs Nimodipina Bayer comprimidos

**AUC<sub>[0-24h]</sub>: Geometric Mean Ratio = 98.8 of Nimodipina Bayer mean**

90% confidence interval for mean treatment ratio: 77.2 - 126.3

90% confidence interval for mean period ratio: 76.2 - 124.7

95% confidence interval for mean treatment ratio: 73.3 - 133.2

95% confidence interval for mean period ratio: 72.3 - 131.4

Two one-sided t-Test for ln-transformed values

P [0.8 < r < 1.25] = 0.91

P [r < 0.8] = 0.03

P [r > 1.25] = 0.06

ANOVA for difference between treatments after ln-transformation

P > 0.30

power = 0.21

Westlake's intervals calculated iteratively after ln-transformation

90%: 75.7 - 124.3

95%: 70.3 - 129.7

Non-parametric analysis

**AUC<sub>[0-24h]</sub> Geometric mean of individual ratios:**

90% confidence interval : 75.1 - 124.2

Point estimate : 99.3

## Análise de Bioequivalência

---

### Nimodipina Biosintética vs Nimodipina Bayer comprimidos

#### Análise Paramétrica Cmax

**Cmax: Arithmetic Mean Ratio** = 95.3% of Nimodipina Bayer mean

90% confidence interval

Approx. (from diff.): 66.4 - 124.2%

Mandallaz & Mau: 70.3 - 128.6%

Westlake: 70.7 - 129.3%

#### Two one-sided t-Test for untransformed values

P [0.8<r<1.25]: 0.92

P [r<0.8]: 0.072

P [r>1.25]: 0.005

#### ANOVA for difference between treatments

P: 0.30

power: 0.19

## Análise de Bioequivalência

---

### Nimodipina Biosintética vs Nimodipina Bayer comprimidos

**Cmax: Geometric Mean Ratio = 107.8% of Nimodipina Bayer mean**

90% confidence interval

Classical: 79.3 - 146.6%

Westlake: 62.9 - 137.0%

Two one-sided t-Test for ln-transformed values

P [0.8<r<1.25]: 0.92

P [r<0.8]: 0.013

P [r>1.25]: 0.064

ANOVA for difference between treatments after LN-transformation

P: 0.30

power: 0.15/0.20

### Non-parametric analysis

**Cmax: Geometric mean of individual ratios**

90% confidence interval: 86.8 - 145.3%

Point estimate: 115.9%

**Dados do Tempo Meia Vida média  
Amlodipina vs Nimodipina (Figura)**

Figura 12. Dados do Tempo Meia Vida média das Formulações Amlodipina vs Nimodipina

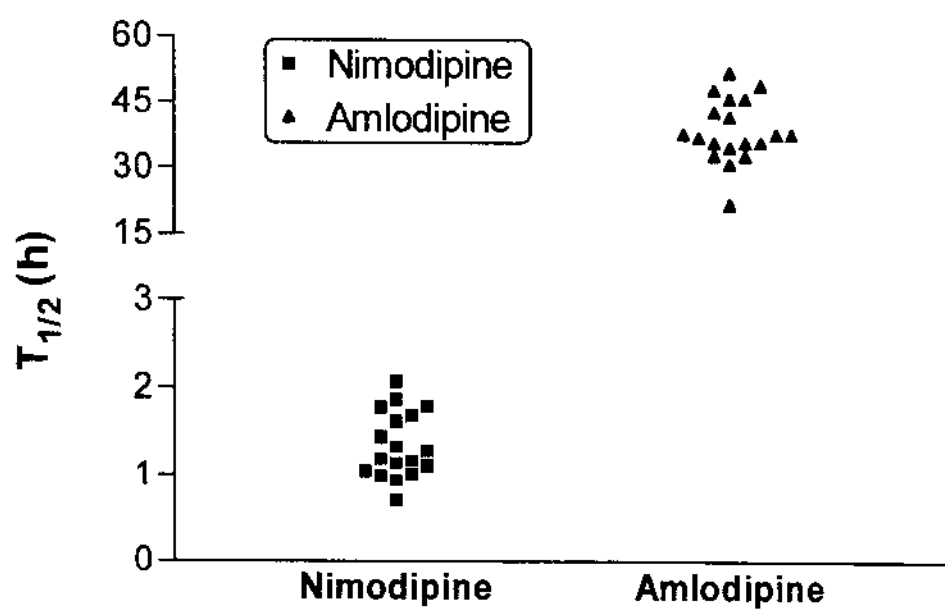


Tabela 13. Parametro médio de  $K_e$  e  $T_{1/2}$  das Formulações Amlodipina vs Nimodipina

	<b>Amlodipina</b>	<b>Nimodipina</b>
<b><math>K_e</math> (<math>h^{-1}</math>)</b>		
<b>Média Geom.</b>	<b>0.01</b>	<b>0.54</b>
<b>Variação</b>	<b>0.01 - 0.02</b>	<b>0.43 - 0.62</b>
<b><math>T_{1/2}</math> (h)</b>		
<b>Média Geom.</b>	<b>38.6</b>	<b>1.29</b>
<b>Variação</b>	<b>34.9 - 41.5</b>	<b>1.09 - 1.53</b>

## **6. Discussão**

O intuito deste trabalho foi avaliar a bioequivalência de duas formulações comerciais de cada uma das substâncias AC: Nimodipina, Amlodipina; e comparar a cinética entre estas substâncias de mesma classe farmacológica, classe Dihidropiridinico.

O US Food and Drug Administration (US FDA) estabelece que a biodisponibilidade *in vivo* de uma dada formulação farmacêutica pode ser determinada pela medida dos níveis plasmáticos da molécula da droga, do ingrediente ativo ou metabólitos ativos em função do tempo, ou através da quantificação do efeito farmacológico agudo (BIOAVAILABILITY & BIOEQUIVALENCE REQUIREMENTS, 1985).

Para análise da farmacocinética de uma determinada droga teste e referência emprega-se análise estatística. São testes desenvolvidos que na sua maioria além de levar em consideração a variabilidade inter-individuos, leva-se em conta a variabilidade biológica não controlável de cada indivíduo (*In vivo* BIOEQUIVALENCE GUIDANCES, 1993).

Empregando-se a curva da concentração plasmática versus tempo que reflete a extensão da absorção para ambas as formulações, tanto para Nimodipina quanto para Amlodipina, pode-se com este dado concluir a bioequivalência e a equivalência farmacêutica das formulações.

Conclui-se que as razões entre as respectivas formulações Teste/Referência estão dentro do intervalo de bioequivalência 0.8 - 1.25%. O mesmo ocorreu em relação a velocidade de absorção; os intervalos de confiança também se encontravam dentro dos limites propostos pela FDA.



Utilizou-se neste estudo para ambas formulações doses consideradas terapêuticas no entanto as avaliações do efeito farmacodinâmico não pode ser avaliado pois não houve por parte dos pesquisadores interesse nesta forma de avaliação. As medidas de PA e FC foram tomadas em todas as fases de coletas sanguíneas. Nem tão pouco foi realizado qualquer método direto ou indireto para avaliação do comportamento vascular cerebral durante o estudo da droga Nimodipina.

A impressão geral, sem a realização de análises estatísticas pertinentes, não houve variação significativa da PA e FC com administração de uma única dose das formulações das drogas estudadas.

Atualmente a Comunidade Européia está propondo modificações no intervalo de confiança tornado-a mais ampla com uma faixa de 70 a 143%.

Mesmo utilizando esta nova variação, as duas formulações testadas tanto da Amlodipina quanto da Nimodipina continuam dentro do intervalo de confiança de 90%.

Outro dado de importância que deve ser levado em consideração embora muitas vezes não é lido o valor que se deve é a análise do C<sub>max</sub>. Embora ele seja considerado como parâmetro de bioequivalência, preconiza-se a extensão da absorção em função do tempo conforme orientação da FDA. A análise dos valores C<sub>max</sub> de cada droga é de importância para informação clínica. Havendo uma absorção importante de droga em um curto período de tempo que sabidamente apresentam índices terapêuticos pequenos, estes poderiam provocar reações indesejáveis ao indivíduo mesmo naqueles que tivessem feito supostamente uma única dose. Drogas com índice terapêutico

amplo ou drogas com índices pequenos mas que apresentam lentificação na absorção em relação ao tempo, não trariam problemas agudos.

Temos de uma única dose administrada de cada formulação (Amlodipina [Biosintética e Pfizer] e Nimodipina [Biosintética e Bayer]) os seguintes valores: o Amlodipina  $C_{max}$ : 2,21ng/ml e 2,37ng/ml e Nimodipina  $C_{max}$ : 51,8ng/ml e 54,4 ng/ml respectivamente ; e Amlodipina  $T_{max}$ : 6 h e 6 h e Nimodipina  $T_{max}$ : 0.75 h e 1 h respectivamente. Se fosse a partir daí retirar alguma conclusão sabendo do índice terapêutico de cada droga, diríamos que teríamos mais probabilidade de intervenção no indivíduo que tivesse ingerido Amlodipina pois seu tempo para absorção máxima está em 6 horas quando comparado com Nimodipina que é de  $\pm$  1 hora, mas como o objetivo do estudo não é e não foi este, não podemos tirar conclusão mas apenas uma suposição hipotética.

A outra parte deste trabalho foi avaliar se estas duas substâncias mesmo sendo da mesma classe, apresentavam cinéticas semelhantes uma vez que elas são derivadas do protótipo da Classe Dihidropiridina dos AC que é a Nifedipina.

Pudemos constatar que a  $K_e$  e  $T_{1/2}$  da Amlodipina e Nimodipina apresentam diferenças significativas. O  $K_e$  e  $T_{1/2}$  da Amlodipina foi de 0.01 h e 38.6 h respectivamente e da Nimodipina 0.54 h e 1.29 h respectivamente.

A diferença observada deve-se a alterações em seus radicais que adicionando grupos volumosos e/ou radicais mais lipofílicos faz com que estas substâncias mudem sua cinética tendo portanto uma distribuição maior, tempo para ação terapêutica lenta e metabolização lentificada.

Esta alteração é marcadamente vista na Amlodipina como sendo uma droga desenvolvida recentemente e com propriedades físico-químicas diferentes.

Isto deve-se ao fato das posições 2 e 3 do anel dihidropiridínico ser alongado com incorporação de grupos volumosos e altamente lipofílicos (KOROLKOVAS & FRANÇA, 1992) e na posição 2 do anel 1,4-dihydropyridina está a molécula 2-aminoethylthiomethyl. Devido a estas alterações estruturais quando comparadas ao protótipo nifedipina, confere uma cinética muito lenta de início (ação terapêutica) e de eliminação, alta estereoseletividade e uma redução no impacto da substituição do anel fenil (TRIGLLE, 1990; KOROLKOVAS & FRANÇA, 1992) pela ação da citocromo P 450 (KOROLKOVAS & FRANÇA, 1992).

Neste trabalho concluímos que a substituição da Nimodipina Bayer (Nimotop<sup>®</sup>) e Amlodipina Pfizer (Norvasc<sup>®</sup>) pelo seu equivalente Nimodipina Biosintética (Oxigen<sup>®</sup>) e Amlodipina (Cordarene<sup>®</sup>) Biosintética respectivamente é perfeitamente possível, uma vez que sua velocidade de absorção e extensão de absorção estão dentro dos parâmetros requeridos pela FDA.

Em relação a comparação cinética das substâncias Amlodipina e Nimodipina que são originários do protótipo da Nifedipina, da Classe Dihidropiridínico, concluímos que a introdução de radicais diferentes na sua molécula básica é capaz de promover alteração em suas propriedades físico-químicas.

Amlodipina, então, por sua vez tem início de ação lenta, extensa distribuição e metabolização lenta quando comparada com a Nimodipina.

## **7. Conclusão**

1. Amlodipina Biosintética é bioequivalente a Amlodipina Pfizer.
2. Nimodipina Biosintética é bioequivalente a Nimodipina Bayer.
3. Amlodipina apresenta farmacocinética diferente quando comparada com a Nimodipina.
4. Substâncias originárias a partir do protótipo da nifedipina e que apresentam mudanças no radical nas posições 2 e 3 do anel dihidropidínico com incorporação de grupos volumosos e altamente lipofílico produz modificação na sua farmacocinética.
5. Aspectos farmacodinâmicos não forneceram subsídios suficientes para análise fidedigna de bioequivalência.

## **8. Summary**

*Objective:* This thesis had as objective to evaluate the bioequivalence through the pharmacokinetic and pharmacodynamic of two commercial formulations of two Calcium Blockers, Amlodipine (Biosintética Cordarene<sup>R</sup> tablets 5 mg vs Pfizer Norvasc<sup>R</sup> tablets 5 mg) and Nimodipine (Biosintética Oxigen<sup>R</sup> tablets 90 mg vs Bayer Nimotop<sup>R</sup> tablets 90 mg). It was selected thirty seven (37) volunteers, male, between 18 and 45 years old, healthy, to randomized study, not blind, and divided in two groups (Group Amlodipine [19 vol.] and Group Nimodipine [18 vol.]).

Blood samples of volunteers were collected according to pre established time.

After determination of the plasmatic levels of the medicine in question, it was realized pharmacokinetic analysis obtaining the maximum plasmatic concentration ( $C_{max}$ ) and the time obtained to reach this maximum level ( $T_{max}$ ). The areas under the time curves vs concentration of Amlodipine ( $AUC_{[0-144h]}$ ) e Nimodipine ( $AUC_{[0-24h]}$ ), in separate, they were calculated utilizing the trapezoidal method.

The constant of terminal elimination of first order ( $K_e$ ) of the drugs Amlodipine and Nimodipine were determined from of the equation of linear regression between the logarithmic of concentration and the time. The half lives ( $T_{1/2}$ ) were calculated applying the equation  $T_{1/2} = (\ln 2 / K_e)$ .

*Results:* In this study there wasn't significant variation of the blood pressure and heart rate with administration of a single dose of the formulations of the studied drugs.

The Areas Under the Curve of Amlodipine drugs ( $AUC_{[0-144h]}$ ) were compared. Biosintética Amlodipine  $AUC_{[0-144h]}$  arithmetic mean ratio was 94.23% of Pfizer Amlodipine (Westlake's 90% confidence interval 90.1-109.9%). Biosintética Amlodipine  $AUC_{[0-144h]}$  geometric mean ratio was 93.69% of Pfizer Amlodipine (Westlake's 90% confidence interval 89.8-110.2%)

The maximum concentrations reached ( $C_{max}$ ) were also compared. Biosintética Amlodipine  $C_{max}$  arithmetic mean ratio was 93.58% of Pfizer Amlodipine (Westlake's 90% confidence interval 88.1-111.9%). Biosintética Amlodipine  $C_{max}$  geometric mean ratio was 93.49% of Pfizer Amlodipine (Westlake's 90% confidence interval 88.6-111.3%).

The calculation were done following the logarithmic transformation and the ratio probability to be including within of the interval 0.8 - 1.25% was 1.0 and 1.0 respectively to  $AUC_{[0-144]}$  and  $C_{max}$  (two one sided t-Test).

The Areas Under the Curve of Nimodipine drugs ( $AUC_{[0-24h]}$ ) were compared. Biosintética Nimodipine  $AUC_{[0-24h]}$  arithmetic mean ratio was 94.5% of Bayer Nimodipine (Westlake's 90% confidence interval 74.0 - 126.0%). Biosintética Nimodipine  $AUC_{[0-24h]}$  geometric mean ratio was 98.8% of. Bayer Nimodipine (Westlake's 90% confidence interval 76.2 - 124.7%)

The maximum concentrations reached ( $C_{max}$ ) were also compared. Biosintética Nimodipine  $C_{max}$  arithmetic mean ratio was 95.3% of Bayer Nimodipine (Westlake's 90% confidence interval 70.7 - 129.3%). Biosintética Nimodipine  $C_{max}$  geometric mean ratio was 107% of. Bayer Nimodipine (Westlake's 90% confidence interval 62.9 - 137.0%).

The calculation were done following the logarithmic transformation and the ratio probability to be including within of the interval 0.8 - 1.25% was 0.91 and 0.92 respectively to  $AUC_{[0-24]}$  and  $C_{max}$  (two one sided t-Test).

Through of the mean ratio parameters of  $K_e$  and  $T_{1/2}$  from Amlodipine e Nimodipine, they showed significant differences. The  $K_e$  and  $T_{1/2}$  of Amlodipine were 0.01 h and 38.6 h respectively and Nimodipine 0.54 h and 1.29 h respectively.

*Conclusion:* We concluded that the substitution of Bayer Nimodipine (Nimotop<sup>®</sup>) and Pfizer Amlodipine (Norvasc<sup>®</sup>) for their equivalents Biosintética Nimodipine (Oxigen<sup>®</sup>) and Biosintética Amlodipine (Cordarene<sup>®</sup>) respectively is perfectly possible, once their absorption velocity and extension are within of the parameters required by FDA.

In relation to kinetic comparetion of the Amlodipine and Nimodipine drugs that are originated from prototype of Nefidipine, Dihydropyridinic class, we conclude what the introduction of differents radicals in the its basic molecule is able to promote alteration in its phisical-chimistry property.

In this way, the Amlodipine drug has a slow action begining, distribution extensive and low metabolization when compared to Nimodipine drug.



## **9. Referências Bibliográficas**

- Abernethy, D.R.. Amlodipine: pharmacokinetic profile of a low-clearance calcium antagonist. *J. Cardiol. Pharmacol.* 1991; 17 (suppl. 1): S4 - S7.
  
- Abernethy, D.R.. The pharmacokinetic profile of amlodipine. *Am. Heart J.* 1989; 118: 1100 - 1103.
  
- Adelstein, R.S.;Sellers, J.R.. Effects of calcium on vascular smooth muscle contraction. *Am. J. Cardiol.* 1987; 59: 4B - 10B.
  
- American Medical Association. Calcium channel blocking. In: *Drug Evaluations Annual 1994.* AMA 1994: 551 - 567.
  
- Bevam, J.A.; Bevam, R.D.; Hwa, J.J.; Owen, M.P.; Tayo, F.M.; Winqvist, R.J.. Calcium extrinsic and intrinsic (myogenic) vascular tone. In: Godfraind T., Albertini A., Paoletti R., eds *Calcium Modulators.* Amsterdam: Elsevier Biomedical 1982; 125 - 132.
  
- Braunwald, E.. A symposium: calcium antagonists - Emerging clinical opportunities. Introduction. *Am. J. Cardiol.* 1987; 59; 3: 1B - 3B.
  
- Braunwald, E.; Sonnenblick, E.H.; Ross Jr, J.. Contratilidade do coração normal. In: Braunwald, E. *Tratado de Medicina Cardiovascular*, 2<sup>a</sup> ed., Livraria Rocca Ltda - S.P., 1987; 403 - 440.

- Boobis, A.R.; Bruley, D.; Davies, D.M.; Davies, D.S.; Harrison, P.I.; Orme, M.L'E.; Park, B.K.; Goldberg, L.I. *Therapeutic Drugs*. Churchill Livingstone, New York, N.Y.; 1991: A101 - A104, N94 - N97.
  
- Cassie, N.J.; Cross, M.A.; Phelan, E.L.; Millar, J.A.. Sensitivity to  $Ca^{2+}$  and the effects of a calcium channel antagonist in resistance vessels from two strains of genetically hypertensive rat. *J. Cardiol. Pharmacol.* 1990; 16 (suppl. 7): S12 - S13.
  
- Ezekowitz, M.D.; Hossack, K.; Metha, J.L.; Thadani, U.; Weidler, D.J.; Kostuk, W.; Awan, N.; Grossman, W.; Bommer, W.. Amlodipine in chronic stable angina: Results of a multicenter double-blind crossover trial. *Am. Heart J.* 1995; 129, 527 - 35.
  
- Fleckenstein, A.; Frey, M.; Zorn, J.; Fleckenstein-Grün, G.. Amlodipine, a new 1,4-dihydropyridine calcium antagonist with a particularly strong antihypertensive profile. *Am. J. Cardiol.* 1989; 64: 211 - 341.
  
- Fleishaker, J.C.; Hulst, L.K.; Peters, G.R.. Lack of a pharmacokinetic - pharmacodynamic interaction between nimodipine and tirilazad mesylate in health volunteers. *J. Clin. Pharmacol.* 1994; 34: 837 - 841.

- Food and Drug Administration. Bioavailability and bioequivalence requirements. *Food and Drug Administration*, 4 - 1 - 1985 Edition. Federal Register. Part. 320, pp154 - 173.
  
- Food and Drug Administration. *In vivo* bioequivalence guidances. *Pharmacopeial Forum* 1993;19: 6501 - 6508.
  
- Godfraind, T.. Classification of calcium antagonists. *Am. J. Cardiol.* 1987; 59: 11B - 23B.
  
- Godfraind, T.; Kaba, A.. Blockade or reversal of the contraction induced by calcium and adrenaline in depolarized arterial smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* 1969; 36: 549 - 560.
  
- Gordon, T.; Sorlie,P.; Kanell, W.B.. Framingham Study: An epidemiological investigation of cardiovascular disease. In Kanell W.B., Gardon T. (eds): Bethesda Sec 27, U.S. Dept. Health, *Education and Welfare*, 1971, National Institutes of Health.
  
- Grun, G.; Fleckenstein, A.. Ca-antagonist, a new principle of vasodilation. *Naunyn-Scheiemedeborgs Arc. Exp. Path. Pharmacol.* 1971; 270 (suppl): R48.

- Hauschke, D.; Steinijans, V.W.; Diletti, E. A distribution-free procedure for the statistical analyses of bioequivalence studies. *J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* 1990; 28: 72 - 78.
  
- Haynes, R.C.. Substâncias que afetam a calcificação: cálcio, hormônio paratireóide, calcitonina, vitamina D e outros compostos. In: Gilman, A.G.; Rall, T.W.; Nies, A.S.; Taylor, P.. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica* Edit. Koogan 8a ed. 1991; capit. 62; 995 - 1012.
  
- Hynynen, M.; Siltanen, T.; Sahlman, A.; Pohjasvaara, T.; Mück, W.; Kaste, M.. Continuous infusion of nimodipine during coronary artery surgery: haemodynamic and pharmacokinetic study. *Br. J. Anaesth.* 1995; 74: 526 - 533.
  
- Johns, A.; Leijten, P.; Yamamoto, H.; Hwang, K.; van Breemen, C.. Calcium regulation in vascular smooth muscle contractility. *Am J. Cardiol.* 1987; 59: 18A - 23A.
  
- Kannel, W.B.; Castelli, W.P.; Mcnamara, P.M. Role of blood pressure in the development of congestive heart failure. *N. England Med.* 1972; 287: 781 - 787.
  
- Kannel, W.B.. Some lessons in cardiovascular epidemiology from Framingham. *Am. J. Cardiol.* 1976; 37: 269 - 282.

- Kannel, W.B.; Stokes J. III: Hypertension as cardiovascular risk factor, in Bulpitt C.J. (ed.): *Handbook of Hypertension*, vol. 6 : Epidemiology of Hypertension. Amsterdam, Elsevier Science Publishers, 1985; pp 15 - 34.
- Kannel, W.B.. Hypertension relationship to other risk factors. *Drugs* 1986; 31 (suppl I) : 1 - 11.
- Kelly, J.G.; O'Malley, K.. Clinical pharmacokinetics of calcium antagonists. An update. *Clin Pharmacokinet.* 1992; 22 (6), 416 - 433.
- Korolkovas, A.; França, F. F. A. C. Amlodipina, novo bloqueador dos canais de cálcio. *Rev. Bras. Med.* 1993; 50 (8): 1031 - 1048.
- Kreger, R.E.; Kannel, W.B.. Influence of hypertension on mortality in Amery A, Fagard R, Lijnen P, Staessen J. ( eds ): Hypertensive cardiovascular disease: pathophysiology and treatment. *The Hague*, Martinus Nijhoff Publishers, 1982; pp 451 - 463.
- Morgan, K.G.. Role of calcium ion in maintenance of vascular smooth muscle tone. *Am. J. Cardiol.* 1987; 59: 24A - 28A.
- Moura, R.S.. Breve histórico sobre as descobertas dos anti-hipertensivos. *HiperAtivo* 1995; 2 (4): 7 - 15.

- Murad, F.. Drogas usadas no tratamento da angina: nitratos orgânicos, bloqueadores dos canais de cálcio e antagonistas beta-adrenérgicos. In: Gilman, A.G.; Rall, T.W.; Nies, A.S.; Taylor, P.. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica* Edit. Koogan 8a ed. 1996; capit. 32; 503 - 515.
  
- Opie, L.H.; Buhler, F.R.; Fleckenstein, A.; Hansson, L.; Harrison, D.C.; Poole-Wilson, P.A.; Schwartz, A.; Vanhoutte, P.M. and col.. International society and federation of cardiology: working group on classification of calcium antagonists for cardiovascular disease. *Am. J. Cardiol.* 1987; 60; 1: 630 - 632.
  
- Petircone, F.; Pugliese, F.; Ceravolo, R.; Mattioli, P.L.. Amlodipine versus Ramipril in the treatment of mild to moderate hypertension: evaluation by 24-hour ambulatory blood pressure monitoring. *Clin. Pharmacol. Cardiol.* 1994; 85: 36 - 46.
  
- Powell, C.E.; Slater, I.H.. Blocking of inhibitory adrenergic receptors by a dichloro analog of isoproterenol. *J. Pharmac. Exp. Ther.* 1958; 122: 480 - 488.
  
- Ribeiro, J.M.. Farmacologia dos antagonistas do cálcio. *HiperAtivo* 1995; vol 2, nº 4, 41 - 51.
  
- Stamler, J. Epidemiologic studies on cardiovascular - Renal diseases. *J. Chronic Dis.* 1960; 12: 440 - 475.

- Stamler, J.. Cardiovascular diseases in the United States. *Am. J. Cardiol.* 1962; 10:319 - 340.
- Somlyo, A.P.. Excitation - Contraction coupling and the ultrastructure of smooth muscle. *Circulation Research* 1985; 57 (4): 497 - 507.
- Taylor, S.H.. The efficacy of amlodipine in myocardial ischemia. *Am. Heart J.* 1989; 118, 1123 - 1126.
- Taylor, S.H.. A review of amlodipine in myocardial ischaemia. *Postgrad. Med. J.* 1991; 67 (suppl 5), S48 - S51.
- Thompson, L.P.; Bruner, C.A.; Lamb, F.S.; King, C.M.; Webb, R.C.. Calcium influx and vascular reactivity in systemic hypertension. *Am. J. Cardiol.* 1987; 59: 29A - 34A.
- Triggle, D.J.. Calcium antagonists - history and perspective. *Stroke* 1990; 21, 12 (Suppl IV): IV 49 - IV 58.
- U.S. Department Of Health, Education and Welfare national Survey: Hypertension and hypertensive heart diseases in adults. United States 1960 - 1962 National Center for Health Statistics, U.S. *Public Health Service Publication*, 1966 No. 1000 series II, No. 13 Washington, D.C.: Superintendent of Documents.



- Vaghy, P.L.; Williams, J.S.; Schwartz, A.. Receptor pharmacology of calcium entry blocking agents. *Am. J. Cardiol.* 1987; 59, 9A - 17A.
  
- Vanhoutte, P.M.. The Expert Committee of the World Health Organization on classification of calcium antagonists: The Viewpoint of the Rapporteur. *The Am. J. Cardiol.* 1987; 59, 3A - 7A.
  
- Waters, D.; Lespérance, J.; Francetich, M.; Causey, D.; Thérooux, P.; Chiang, Yu-K.; Hudon, G.; Lemarbre, L.; Reitman, M.; Joyal, M.; Gosselin, G.; Dyrda, I.; Macer, J.; Havel, R.J.. A controlled clinical trial to assess the effect of a calcium channel blocker on the progression of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1990; 82, 1940 - 1953.
  
- Yamada, S.; Sugimoto, N.; Uchida, S.; Deguchi, Y. Kimura, R.. Pharmacokinetics of amlodipine and its occupancy of calcium antagonist receptors. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1994; 23: 466 - 472.
  
- Wood, A.J.J.. Calcium antagonists - pharmacologic differences and similarities. *Circulation* 1989; 80; 6 (suppl IV): IV184 - IV188.

## **10. Apêndices**

## **Apêndice 01**

**Térmo de Aprovação pelo Conselho de Ética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP do Estudo de Bioequivalência de duas Formulações Comerciais da Amlodipina em voluntários jovens e saudáveis.**

Cidade Universitária "Zeferino Vaz"  
18 de janeiro de 1995

COMISSÃO DE ÉTICA MÉDICA DO HC/UNICAMP

CONSULTA No. 248/95-C.Ética

ASSUNTO: Projeto de Pesquisa - "Estudo de bioequivalência de duas preparações comerciais de comprimidos de besilato de Amlodipina em voluntários sadios".

INTERESSADO: Prof. Dr. Gilberto de Nucci  
Disciplina de Farmacologia FCM - UNICAMP

RELATOR: Prof. Dr. Fernando Lopes Gonçalves Junior

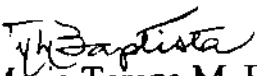
P A R E C E R

Trata-se de projeto de pesquisa para avaliar a eficácia de duas preparações comerciais de comprimidos de besilato de Amlodipina.

O trabalho está claro e obedece aos preceitos éticos necessários para este tipo de estudo. Entendemos que o pagamento dos voluntários visa somente cobertura de despesas e prejuízos financeiros dos participantes, não constituindo remuneração pela participação.

A comissão de ética médica é favorável á realização do projeto.

  
Prof. Dr. Fernando Lopes Gonçalves Jr.  
MEMBRO RELATOR

  
Prof. Dra. Maria Tereza M. Baptista  
PRESIDENTE DA COMISSÃO DE ÉTICA MÉDICA  
HC/UNICAMP

Parecer aprovado por unanimidade na reunião do dia 05.01.95

## **Apêndice 02**

**Térmo de Aprovação pelo Conselho de Ética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP do Estudo de Bioequivalência de duas Formulações Comerciais da Nimodipina em voluntários jovens e saudáveis.**



UNICAMP

Em, 17 de agosto de 1993

CONSULTA Nº 179/93-C.Ética

ASSUNTO: Projeto de Pesquisa: "Estudo de Bioequivalência de 2 preparações Comerciais de Comprimidos de Nimodipina em Voluntários Sadios"

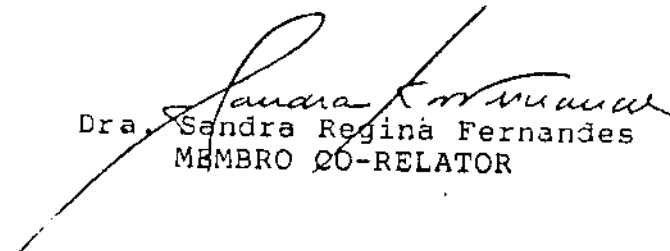
INTERESSADOS: Dr. Gilberto de Nucci, Dr. Heitor Moreno Jr e Dra. Gumercindo B. Mendes / Depto. de Farmacologia/FCM

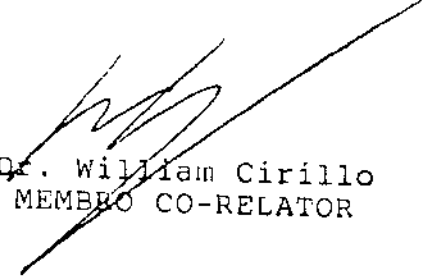
RELATOR: Prof. Dr. Sigisfredo Luís Brenelli

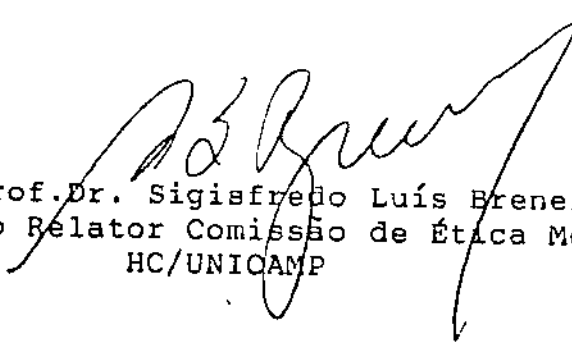
P A R E C E R

Trata-se de Projeto de Pesquisa bem estruturado, acompanhado de termo de consentimento completo e de acordo com as normas estipuladas por esta Comissão.

A bibliografia é ampla e todos os riscos controláveis. , não existe portanto, sob o ponto de vista ético, restrição à sua execução.

  
Dra. Sandra Regina Fernandes  
MEMBRO CO-RELATOR

  
Dr. William Cirillo  
MEMBRO CO-RELATOR

  
Prof. Dr. Sigisfredo Luís Brenelli  
Membro Relator Comissão de Ética Médica  
HC/UNICAMP

Parecer aprovado por unanimidade na reunião do dia 24.08.93

## **Apêndice 03**

**Resultados Individuais**

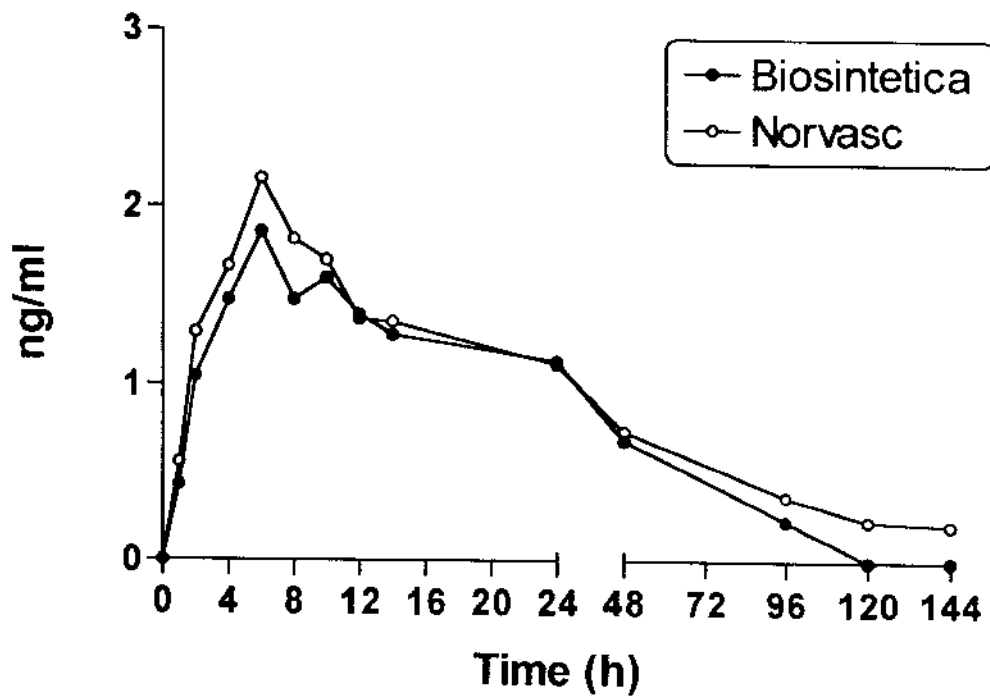
**da**

**Amlodipina**

**Dados da Concentração Individual vs Tempo (Figuras) e Parametros  
Farmacocinéticos (Tabelas)**

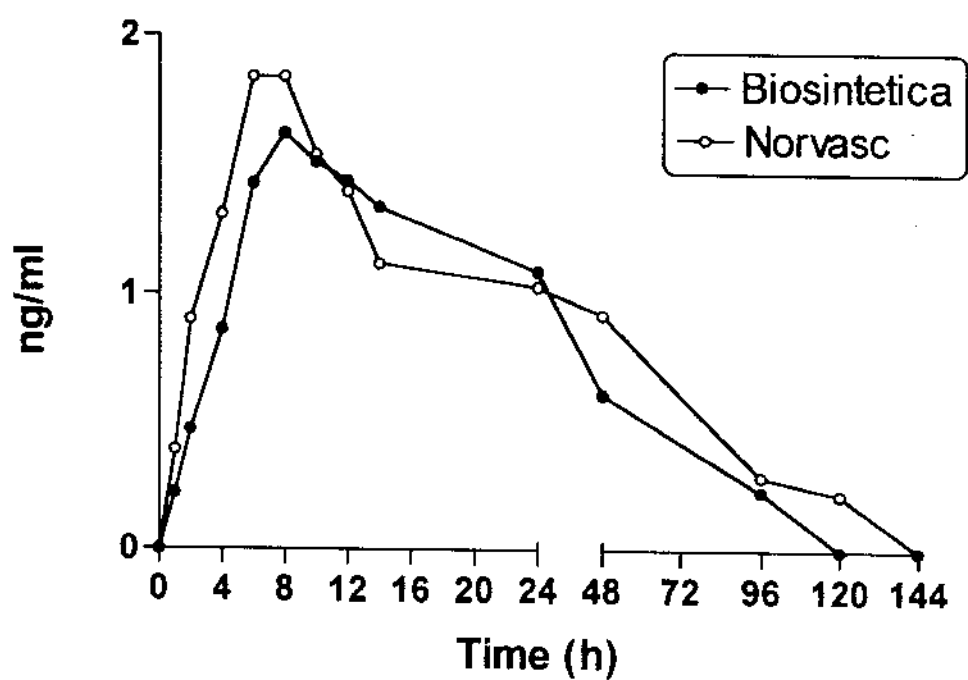


## Vol I - RMR



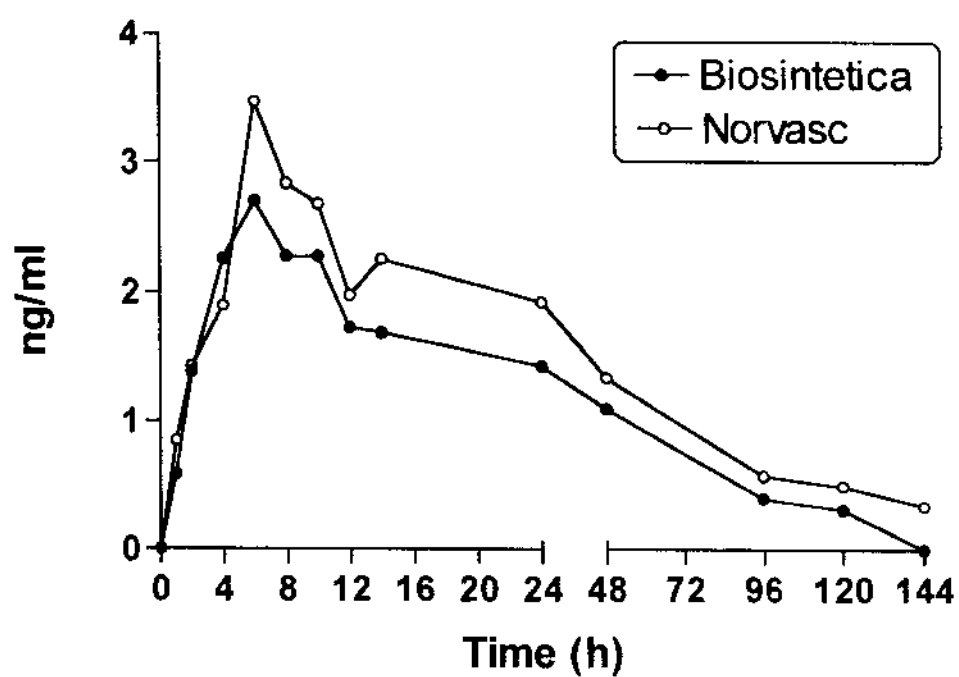
	Amlodipina Biosintética	Norvasc®
AUC [0-144h] ng/ml*h	78	95
$C_{max}$ ng/ml	1.8	2.1
$t_{max}$ h	6	6

## Vol II - AIS



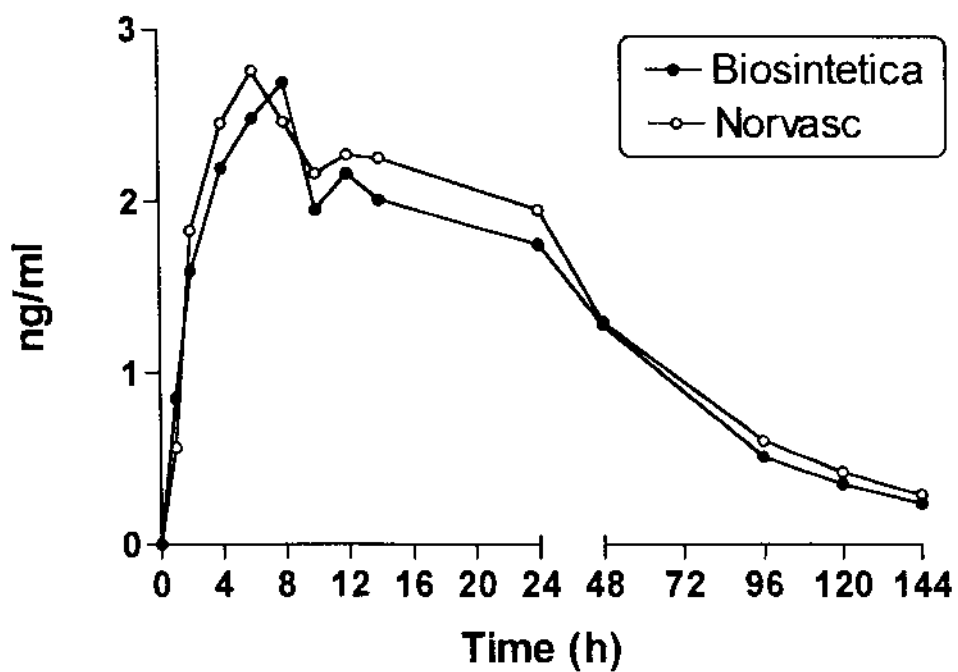
	Amlodipine Biosintética	Norvasc®
AUC [0-144h] ng/ml*h	71	91
C <sub>max</sub> ng/ml	1.6	1.8
t <sub>max</sub> h	8	6

## VOL III - GRS



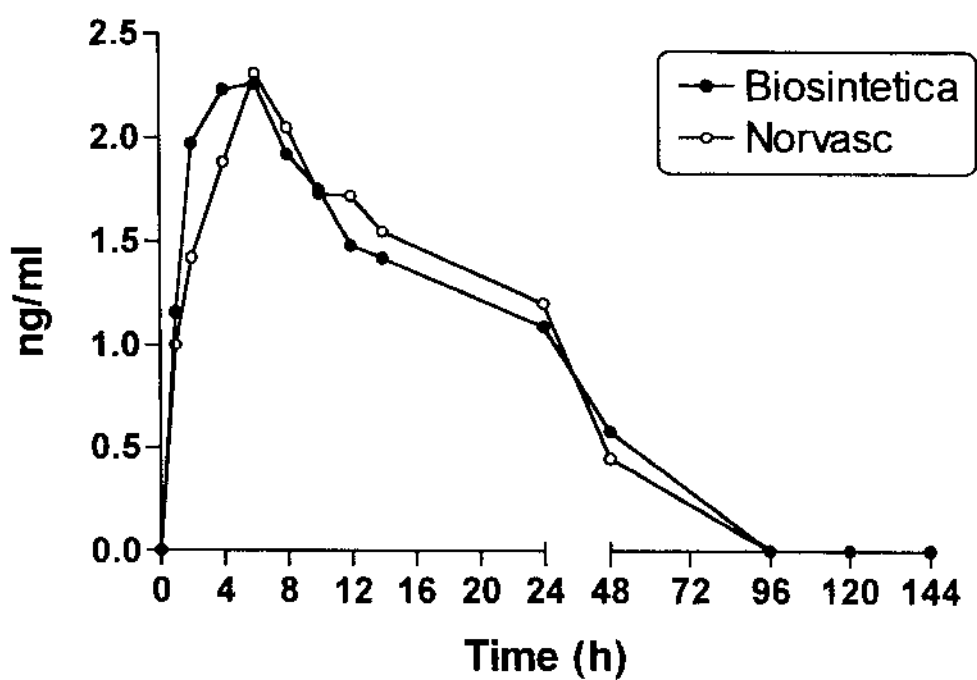
	Amlodipine Biosintética	Norvasc <sup>®</sup>
AUC [0-144h] ng/ml*h	121	160
C <sub>max</sub> ng/ml	2.7	3.4
t <sub>max</sub> h	6	6

## VOL IV - CJGM



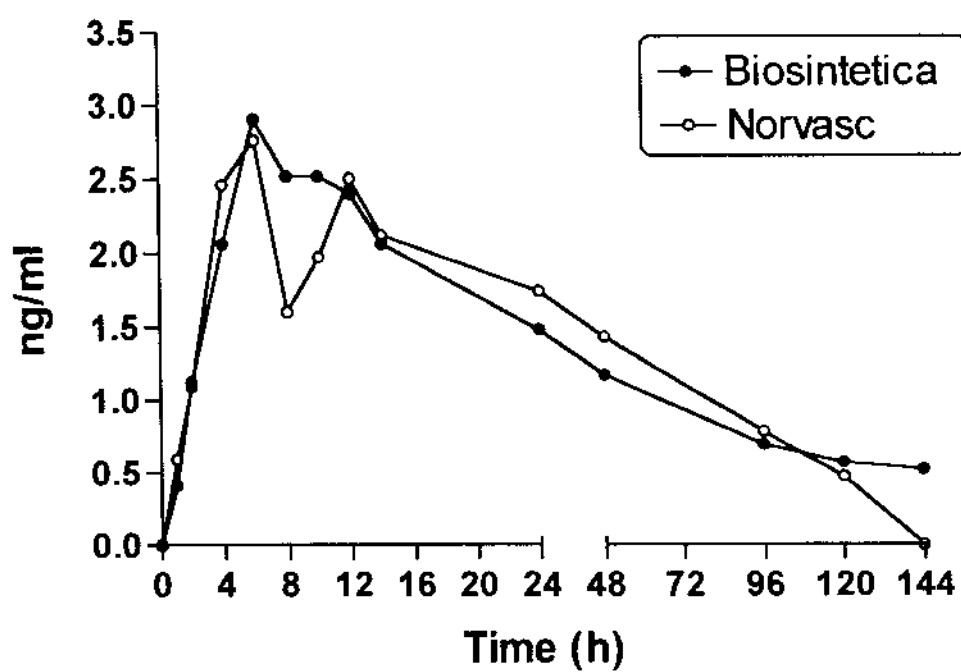
	Amlodipine Biosintética	Norvasc®
AUC [0-144h] ng/ml*h	144	156
C <sub>max</sub> ng/ml	2.6	2.7
t <sub>max</sub> h	8	6

## VOL V - PGBC



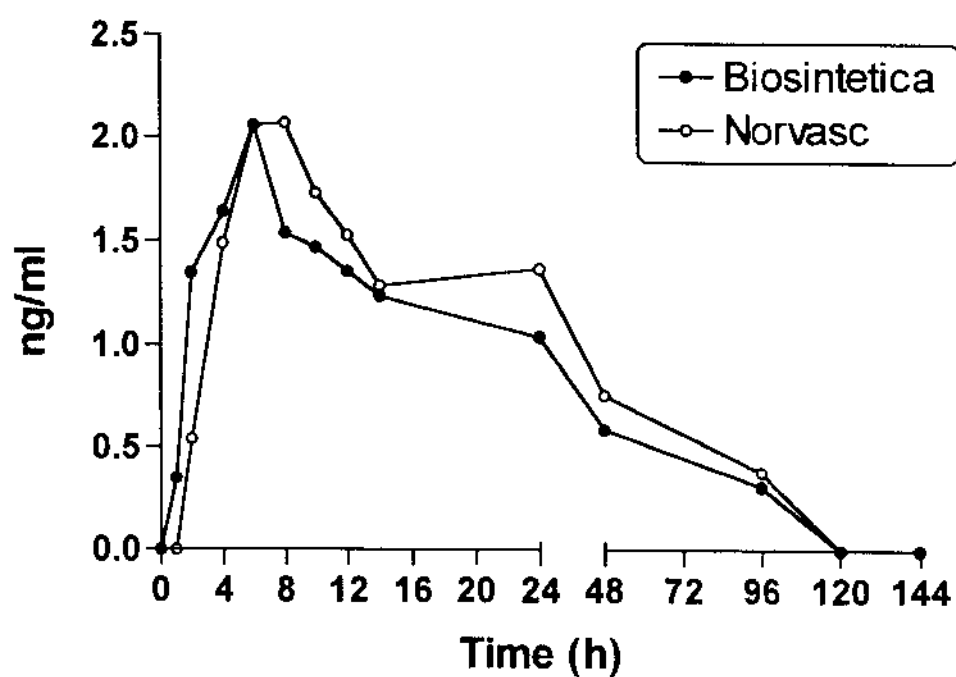
	Amlodipine Biosintética	Norvasc <sup>®</sup>
AUC [0-144h] ng/ml*h	68	71
C <sub>max</sub> ng/ml	2.2	2.3
t <sub>max</sub> h	6	6

## VOL VI - PBM



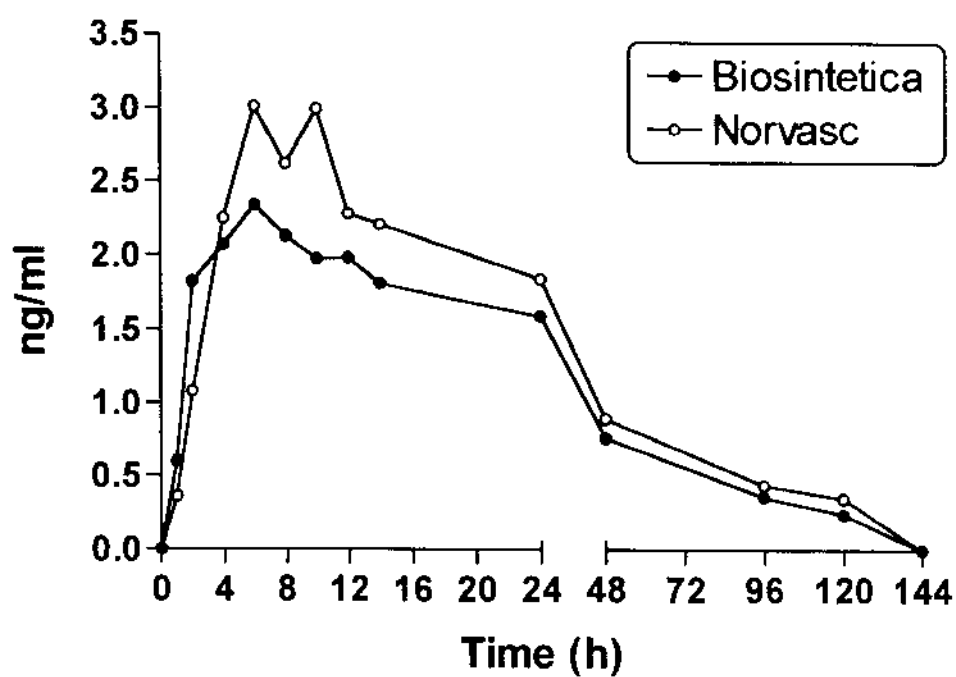
	Amlodipine Biosintética	Norvasc®
AUC [0-144h] ng/ml*h	151	158
C <sub>max</sub> ng/ml	2.9	2.7
t <sub>max</sub> h	6	6

## VOL VII - ALBC



	Amlodipine Biosintética	Norvasc®
AUC [0-144h] ng/ml*h	76	91
C <sub>max</sub> ng/ml	2.0	2.0
t <sub>max</sub> h	6	8

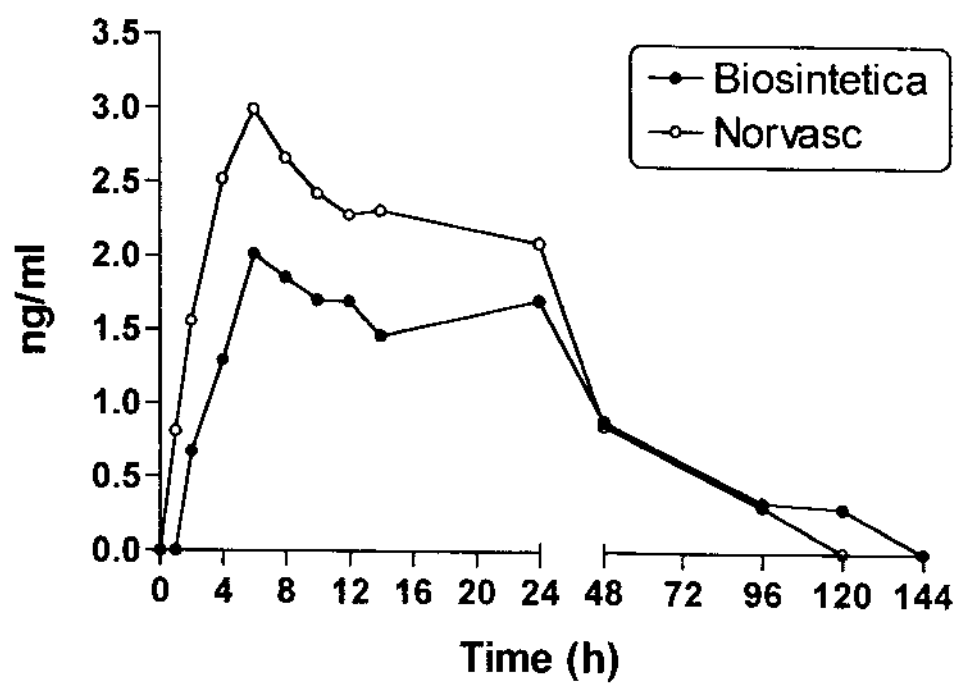
## VOL VIII - IABB



	Amlodipine Biosintética	Norvasc <sup>®</sup>
AUC [0-144h] ng/ml*h	108	129
C <sub>max</sub> ng/ml	2.3	3.0
t <sub>max</sub> h	6	6

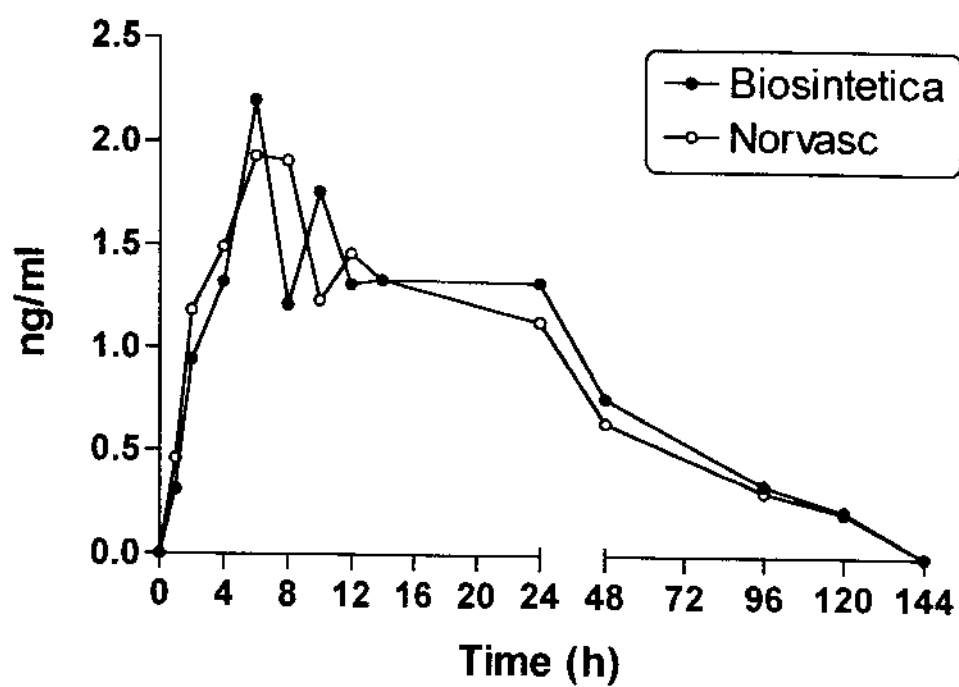


## VOL IX - CDN



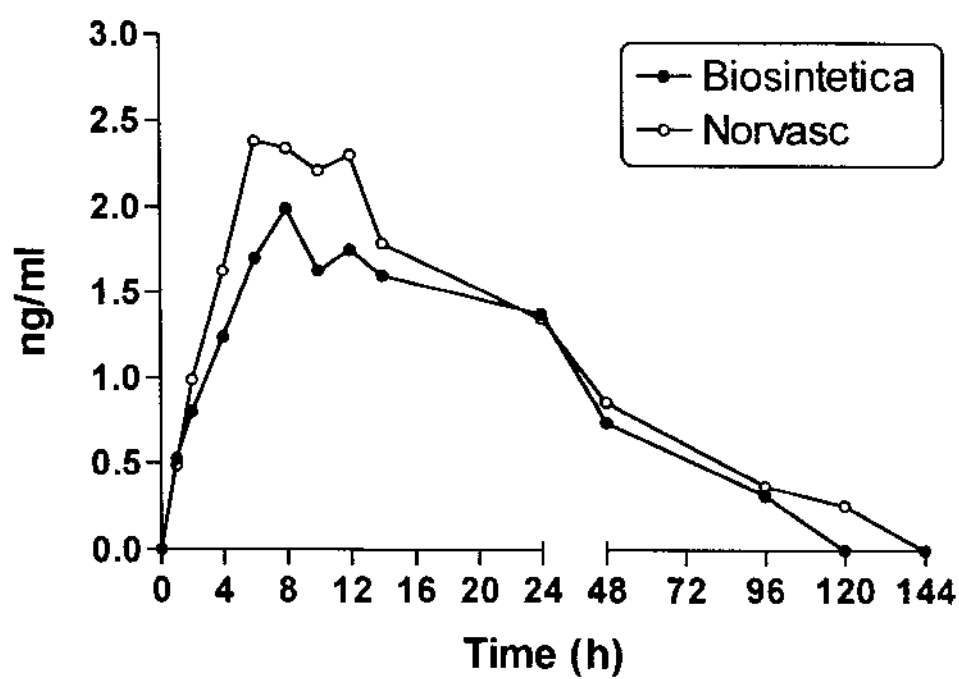
	Amlodipine Biosintética	Norvasc®
AUC [0-144h] ng/ml*h	107	120
C <sub>max</sub> ng/ml	2.0	2.9
t <sub>max</sub> h	6	6

## VOL X - ACM



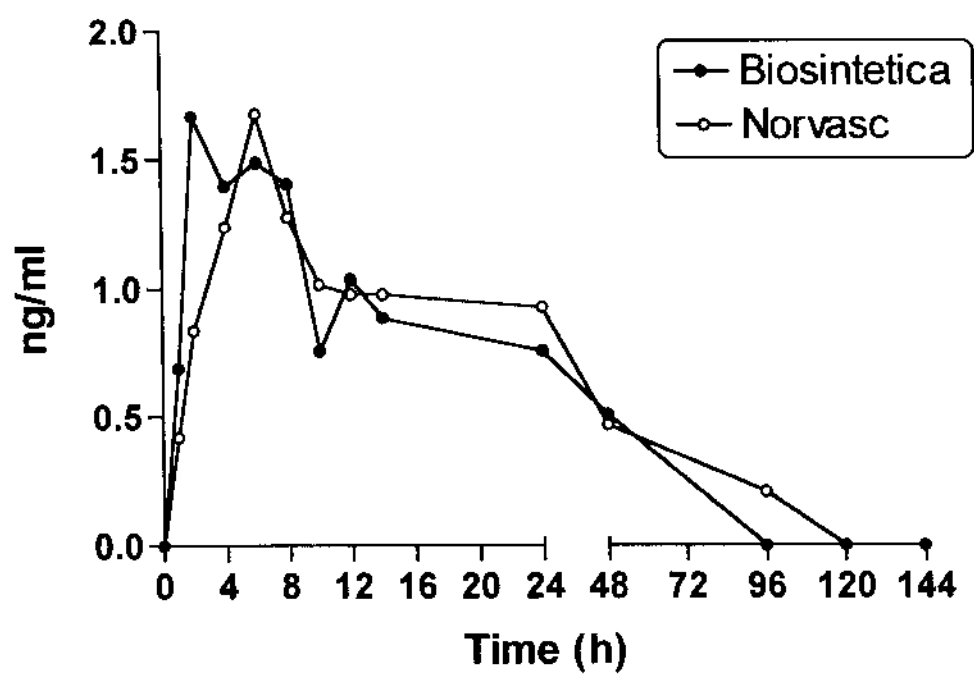
	Amlodipine Biosintética	Norvasc®
AUC [0-144h] ng/ml*h	93	85
C <sub>max</sub> ng/ml	2.2	1.9
t <sub>max</sub> h	6	6

## VOL XI - JAR



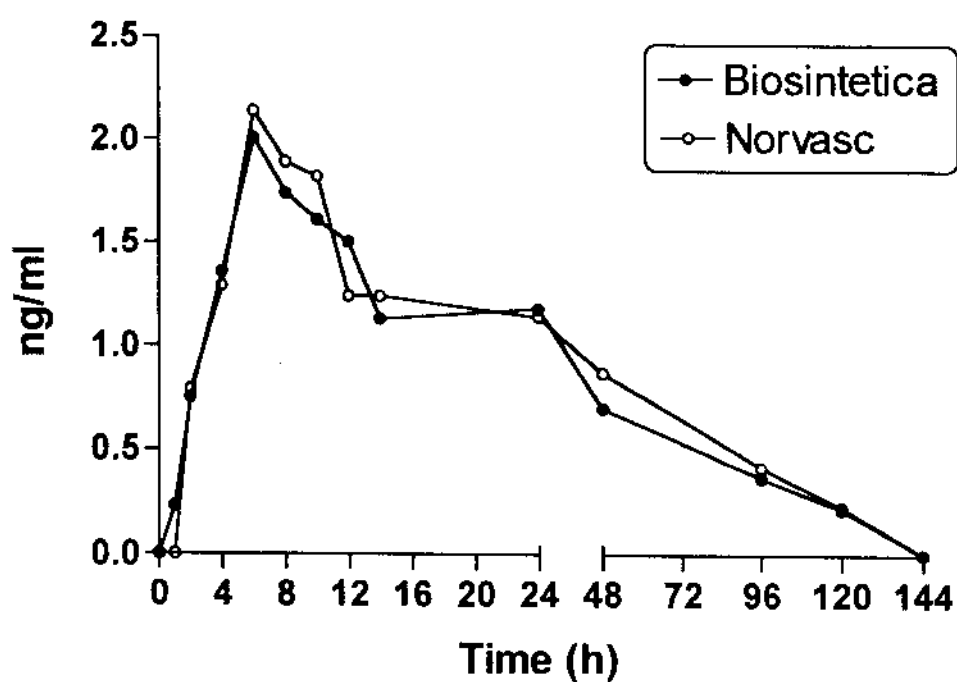
	Amlodipine Biosintética	Norvasc®
AUC [0-144h] ng/ml*h	90	107
C <sub>max</sub> ng/ml	1.9	2.3
t <sub>max</sub> h	8	6

## VOL XII - PCFS



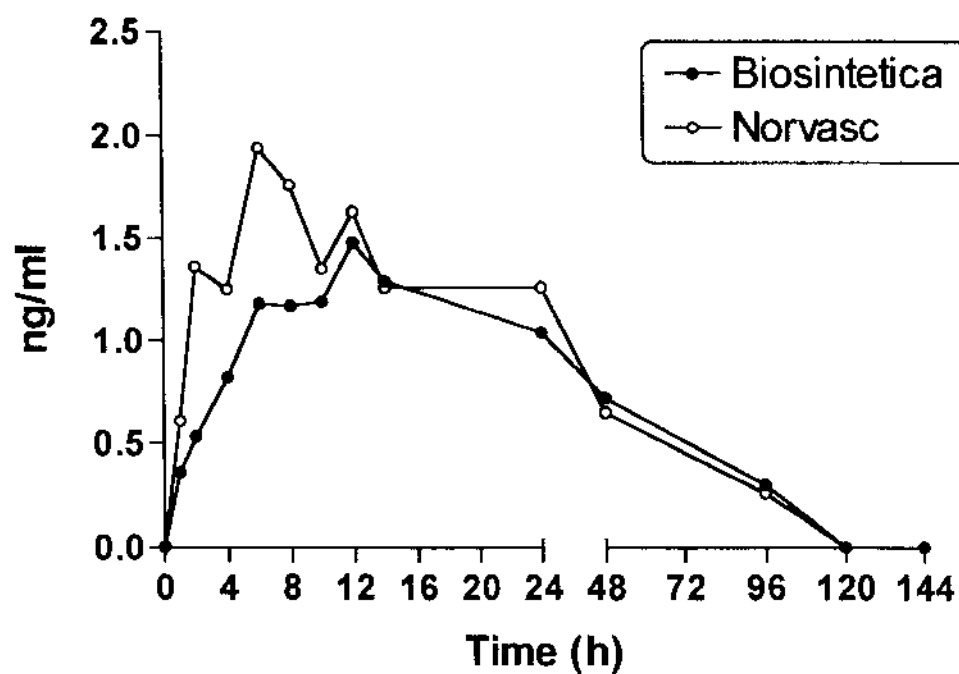
	Amlodipine Biosintética	Norvasc <sup>®</sup>
AUC [0-144h] ng/ml*h	52	60
C <sub>max</sub> ng/ml	1.6	1.6
t <sub>max</sub> h	2	6

## VOL XIII - CL



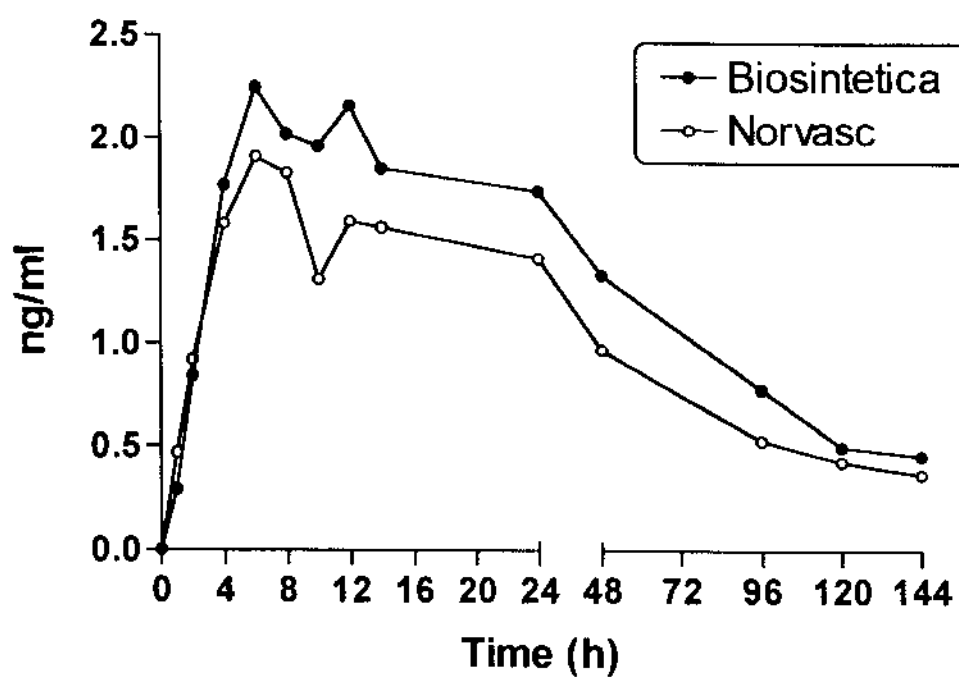
	Amlodipine Biosintética	Norvasc <sup>®</sup>
AUC [0-144h] ng/ml*h	88	97
C <sub>max</sub> ng/ml	2.0	2.1
t <sub>max</sub> h	6	6

## VOL XIV - MTS



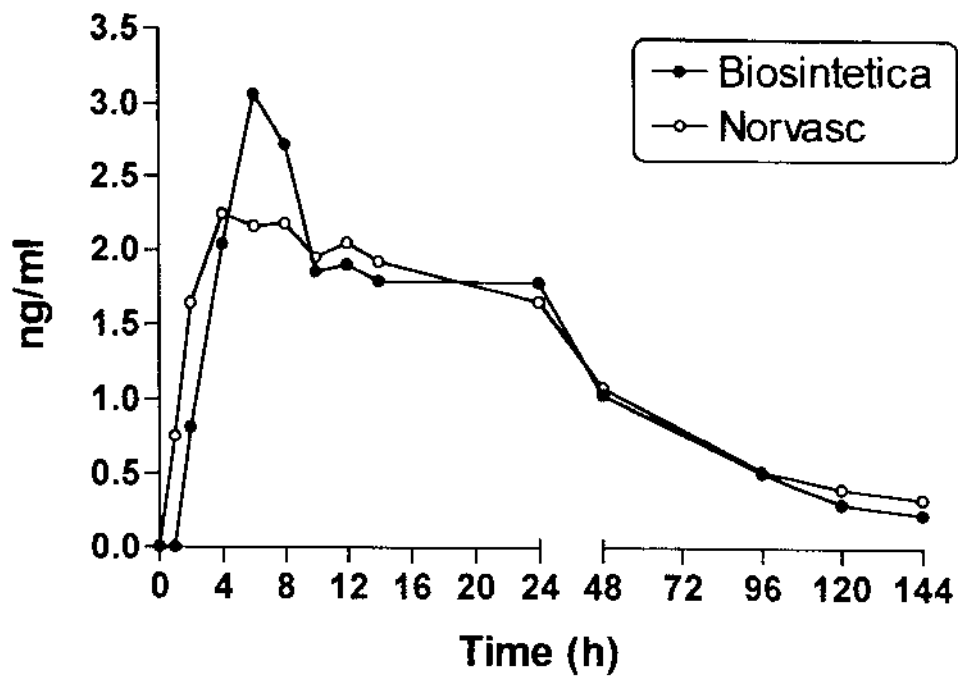
	Amlodipine Biosintética	Norvasc®
AUC [0-144h] ng/ml*h	75	80
C <sub>max</sub> ng/ml	1.5	1.9
t <sub>max</sub> h	12	6

## VOL XV - AEOR



	Amlodipine Biosintética	Norvasc®
AUC [0-144h] ng/ml*h	156	120
C <sub>max</sub> ng/ml	2.2	1.9
t <sub>max</sub> h	6	6

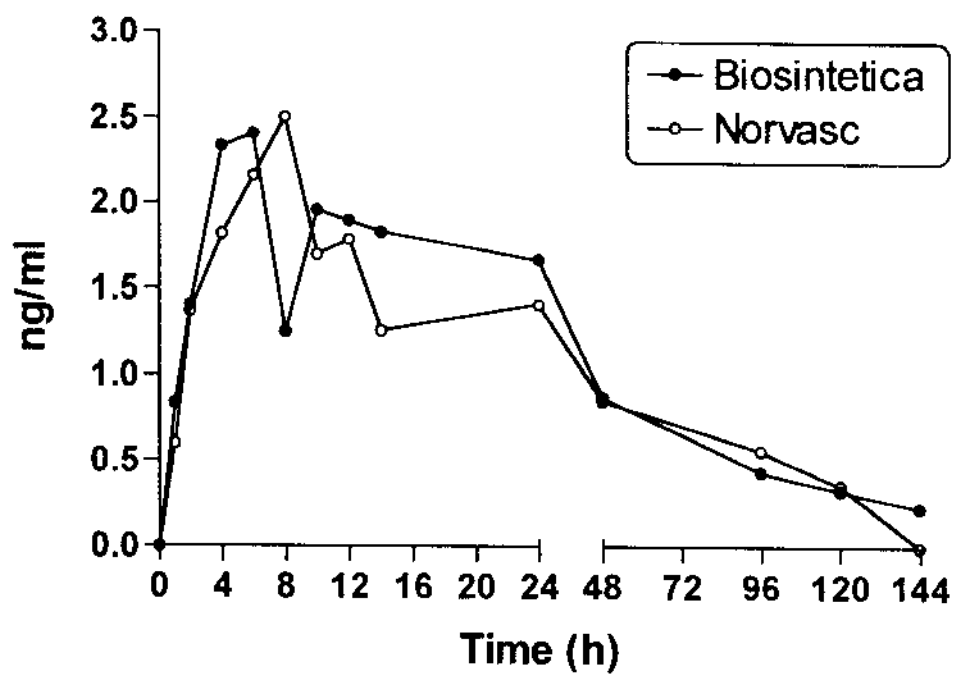
## VOL XVI - CCM



	Amlodipine Biosintética	Norvasc®
AUC [0-144h] ng/ml*h	131	135
C <sub>max</sub> ng/ml	3.0	2.2
t <sub>max</sub> h	6	4

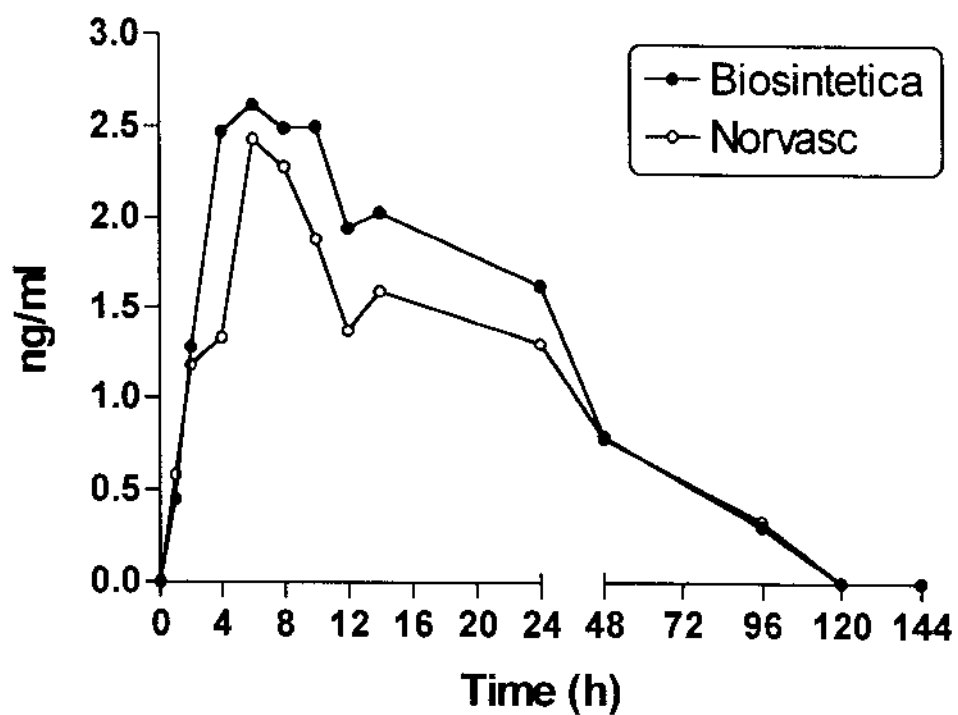


## VOL XVII - LCC



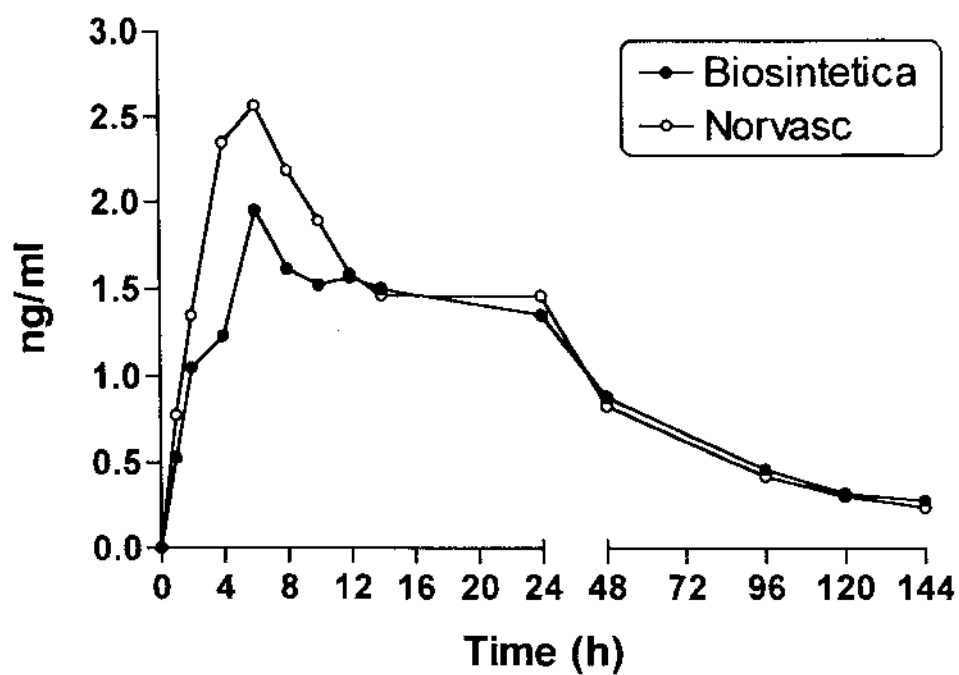
	Amlodipine Biosintética	Norvasc®
AUC [0-144h] ng/ml*h	120	113
C <sub>max</sub> ng/ml	2.4	2.5
t <sub>max</sub> h	6	8

## VOL XVIII - LPF



	Amlodipine Biosintética	Norvasc®
AUC [0-144h] ng/ml*h	105	92
C <sub>max</sub> ng/ml	2.6	2.4
t <sub>max</sub> h	6	6

## VOL XIX - AHS



	Amlodipine Biosintética	Norvasc <sup>®</sup>
AUC [0-144h] ng/ml*h	109	112
C <sub>max</sub> ng/ml	1.9	2.5
t <sub>max</sub> h	6	6

**Biosintética  
AMLODIPINE**

<b>TIME (h)</b>	<b>MEAN (ng/ml)</b>	<b>S.D.</b>
0	n.d.	n.d.
1	0.46	0.28
2	1.13	0.43
4	1.68	0.51
6	2.15	0.49
8	1.87	0.49
10	1.76	0.41
12	1.69	0.34
14	1.55	0.33
24	1.37	0.29
48	0.84	0.23
96	0.36	0.19
120	1.19	0.18
144	0.10	0.17

**Pfizer  
NORVASC**

<b>TIME (h)</b>	<b>MEAN (ng/ml)</b>	<b>S.D.</b>
0	n.d.	n.d.
1	0.54	0.25
2	1.19	0.32
4	1.79	0.45
6	2.35	0.47
8	2.11	0.39
10	1.85	0.49
12	1.75	0.42
14	1.62	0.43
24	1.43	0.33
48	0.87	0.26
96	0.40	0.17
120	0.23	0.18
144	0.09	0.14

## **Apêndice 04**

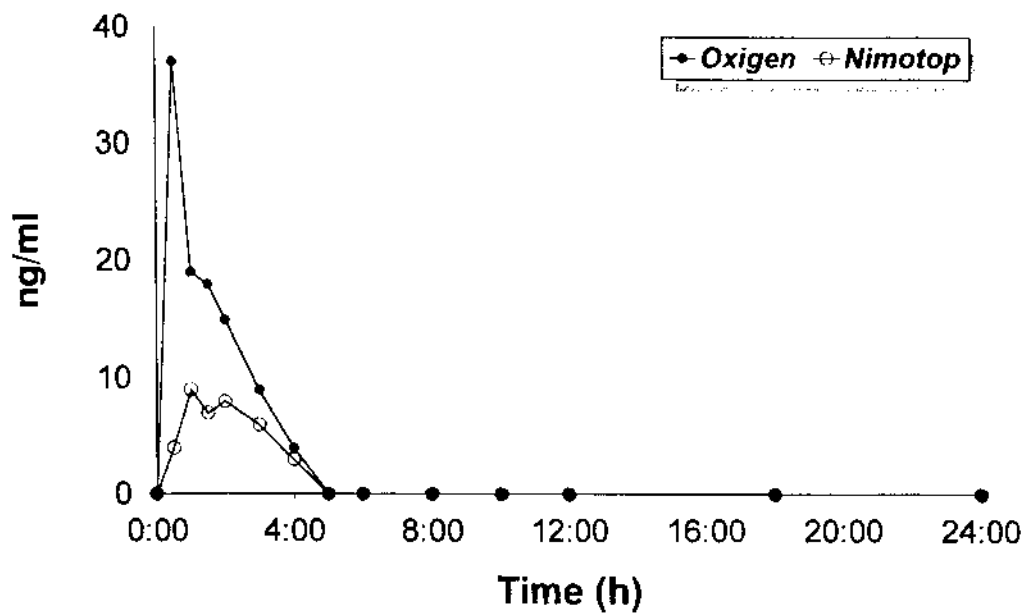
**Resultados Individuais**

**da**

**Nimodipina**

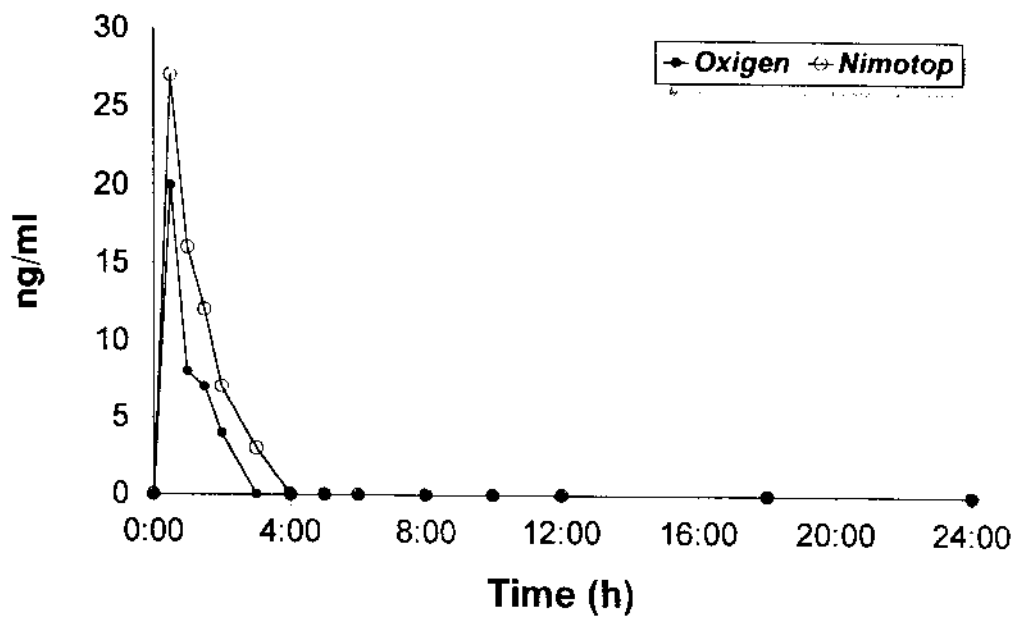
**Dados da Concentração Individual vs Tempo (Figuras) e Parametros  
Farmacocinéticos (Tabelas)**

# Vol. I - MCAS



	Oxigen	Nimotop
$AUC_{[0-24h]}$ (ng/ml*h)	61	26
$C_{max}$ (ng/ml)	37	9
$T_{max}$ (h)	0.5	1

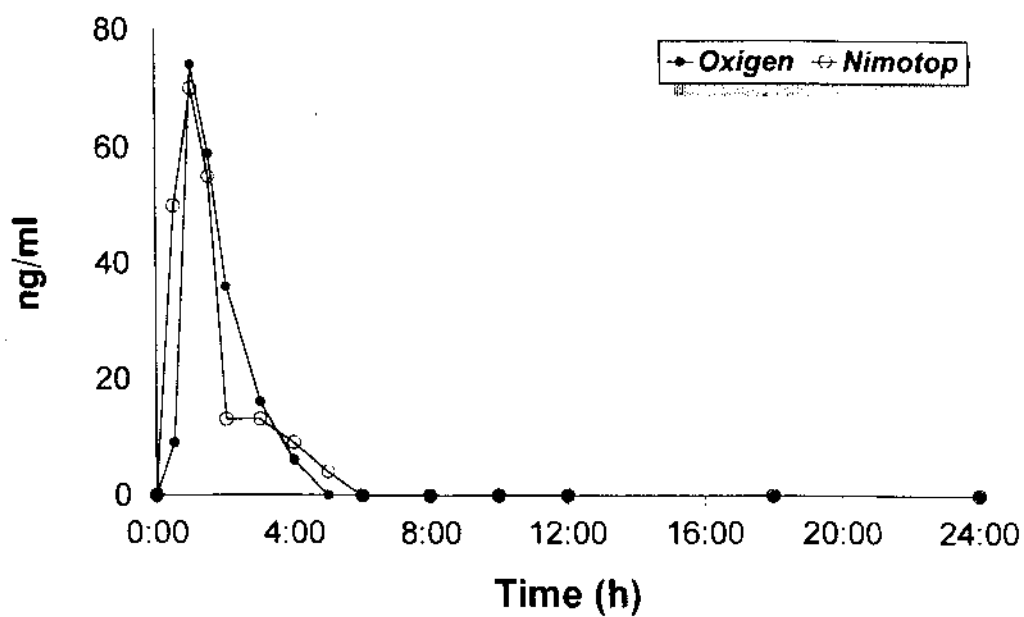
## Vol. II - JMP



	Oxigen	Nimotop
AUC <sub>[0-24h]</sub> (ng/ml*h)	20	36
C <sub>max</sub> (ng/ml)	20	27
T <sub>max</sub> (h)	0.5	0.5

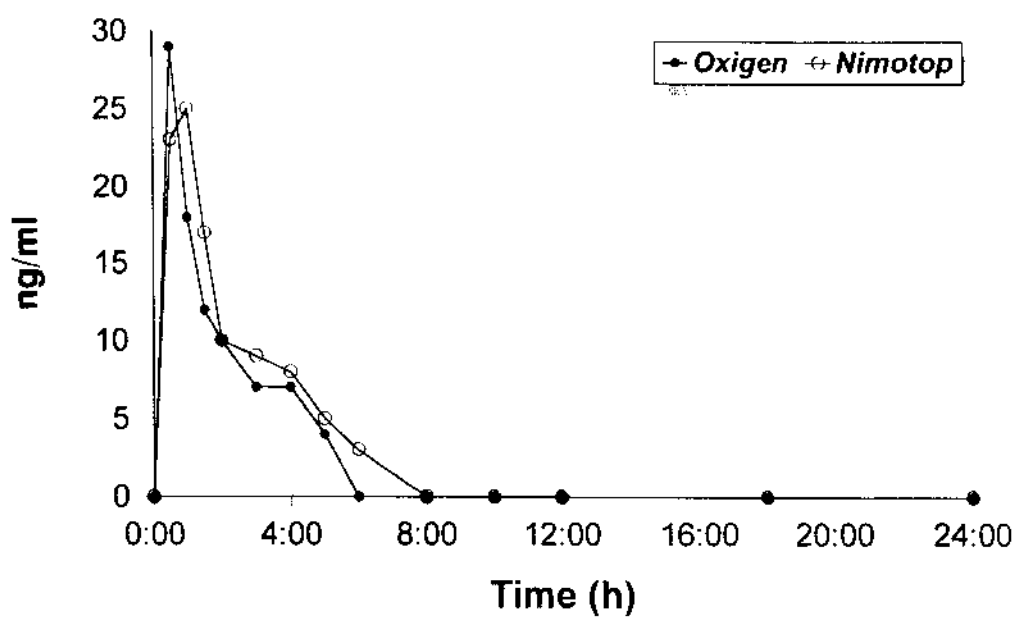


## Vol. III - LCC



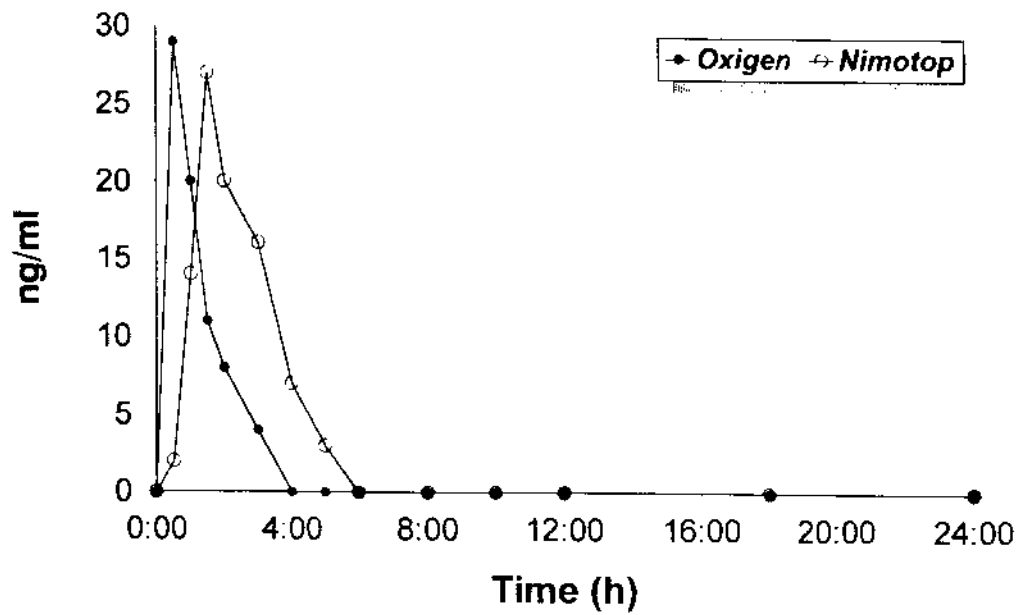
	Oxigen	Nimotop
AUC <sub>[0-24h]</sub> (ng/ml*h)	120	123
C <sub>max</sub> (ng/ml)	74	70
T <sub>max</sub> (h)	1	1

## Vol. IV - SAP



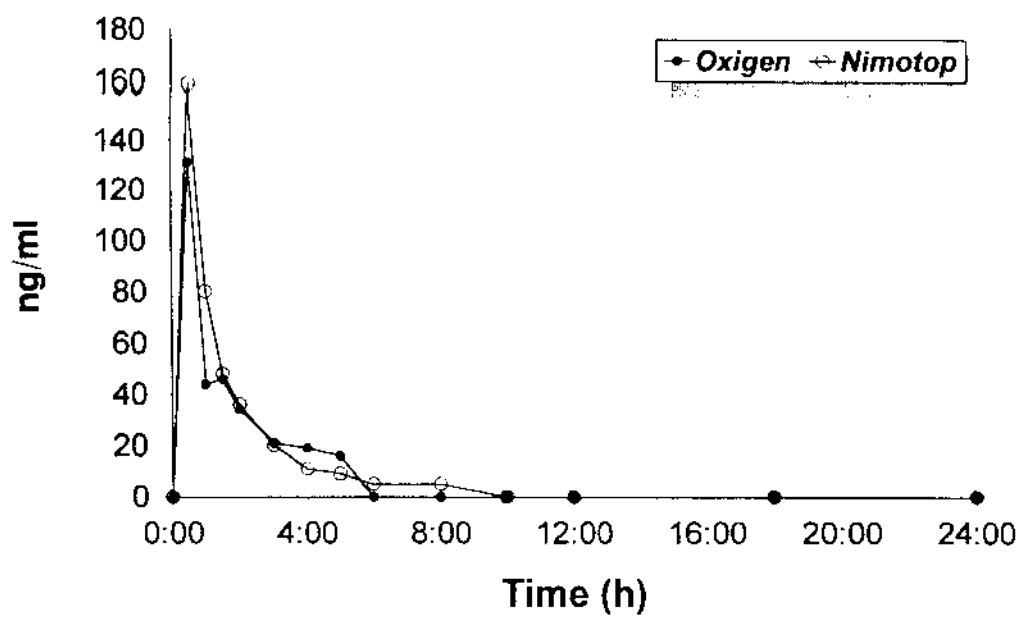
	Oxigen	Nimotop
$AUC_{[0-24h]}$ (ng/ml <sup>h</sup> )	56	67
$C_{max}$ (ng/ml)	29	25
$T_{max}$ (h)	0.5	1

# Vol. V - MACP



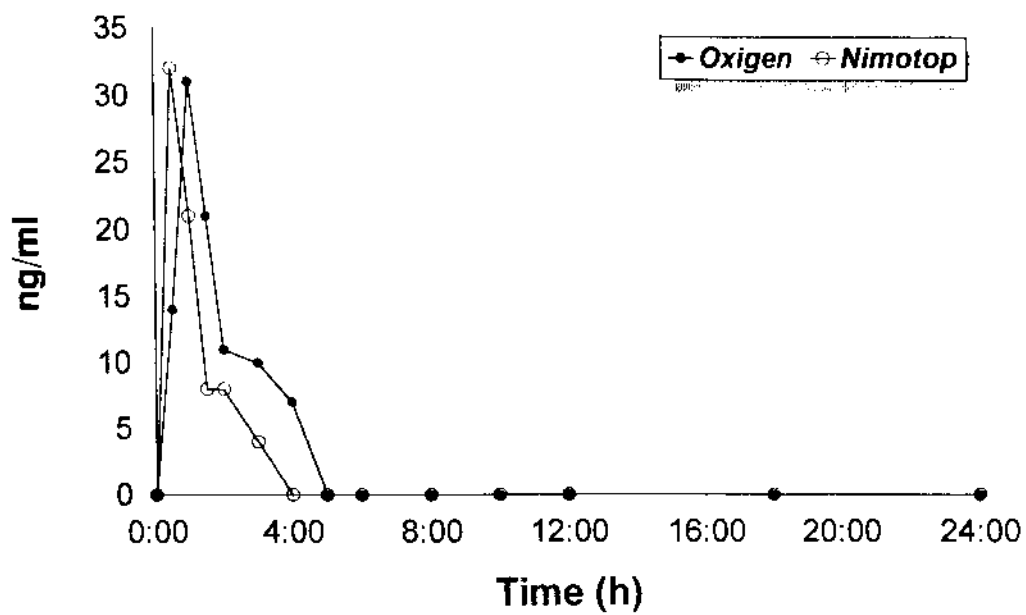
	Oxigen	Nimotop
AUC <sub>[0-24h]</sub> (ng/ml*h)	40	63
C <sub>max</sub> (ng/ml)	29	27
T <sub>max</sub> (h)	0.5	1.5

## Vol. VI - JDB



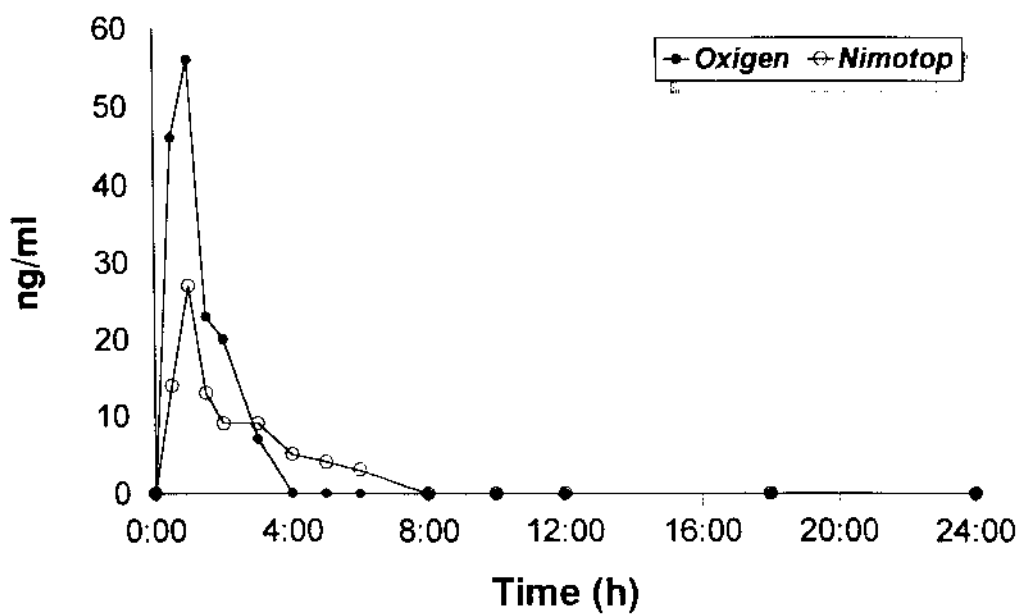
	Oxigen	Nimotop
AUC <sub>[0-24h]</sub> (ng/ml*h)	192	229
C <sub>max</sub> (ng/ml)	131	159
T <sub>max</sub> (h)	0.5	0.5

## Vol. VII - AQC



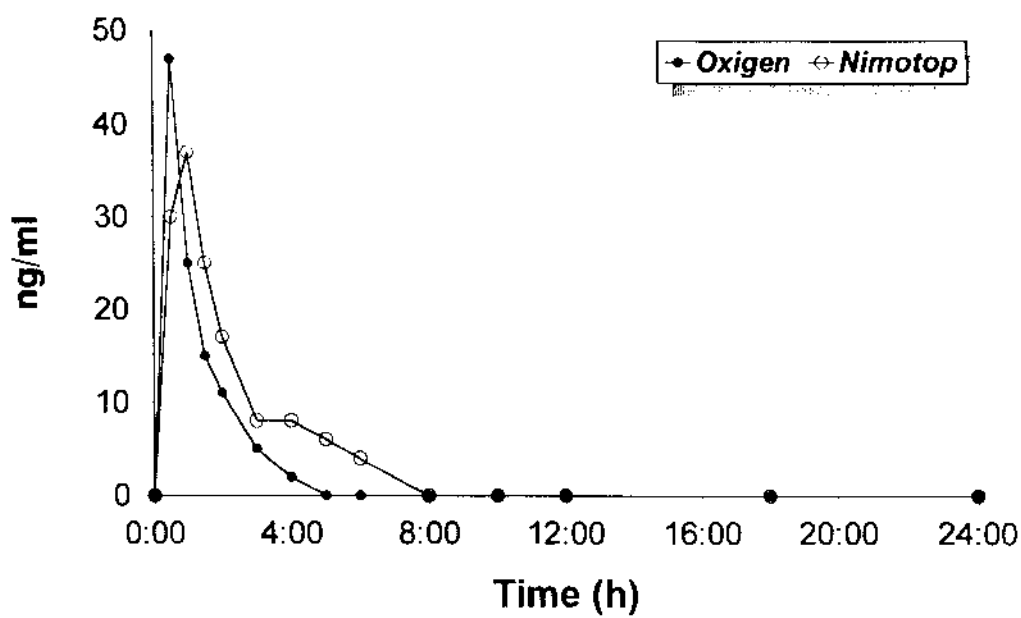
	Oxigen	Nimotop
AUC <sub>[0-24h]</sub> (ng/ml*h)	58	40
C <sub>max</sub> (ng/ml)	31	32
T <sub>max</sub> (h)	1	0.5

# Vol. VIII - RLS



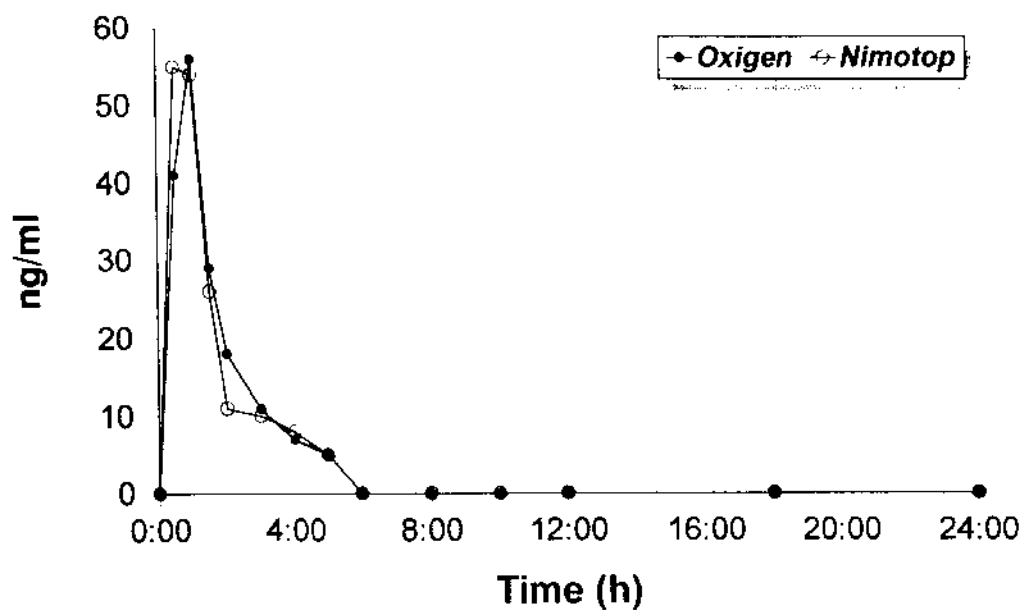
	Oxigen	Nimotop
$AUC_{[0-24h]}$ (ng/ml*h)	85	57
$C_{max}$ (ng/ml)	56	27
$T_{max}$ (h)	1	1

# Vol. IX - MIAS



	Oxigen	Nimotop
$AUC_{[0-24h]}$ (ng/ml $\cdot$ h)	58	87
$C_{max}$ (ng/ml)	47	37
$T_{max}$ (h)	0.5	1

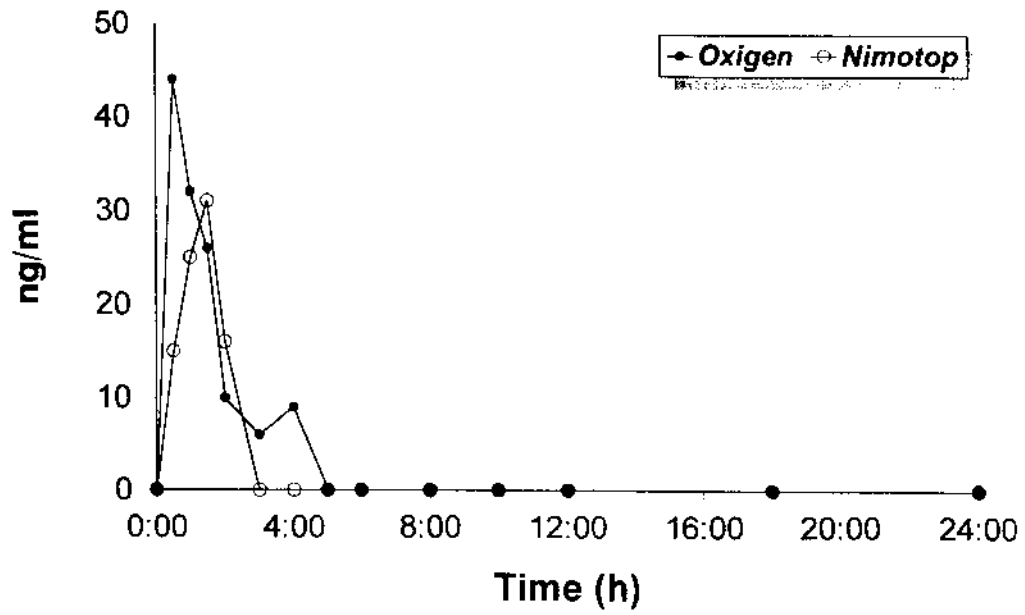
# Vol. X - EM



	Oxigen	Nimotop
<b>AUC<sub>[0-24h]</sub> (ng/ml*h)</b>	<b>99</b>	<b>98</b>
<b>C<sub>max</sub> (ng/ml)</b>	<b>56</b>	<b>55</b>
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	<b>1</b>	<b>0.5</b>

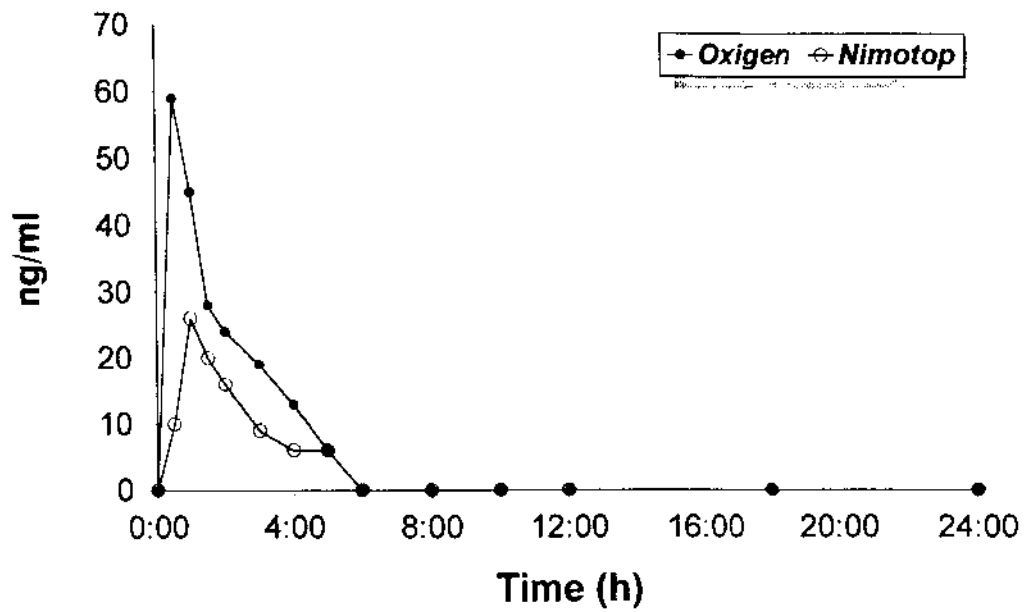


# Vol. XI - DRC



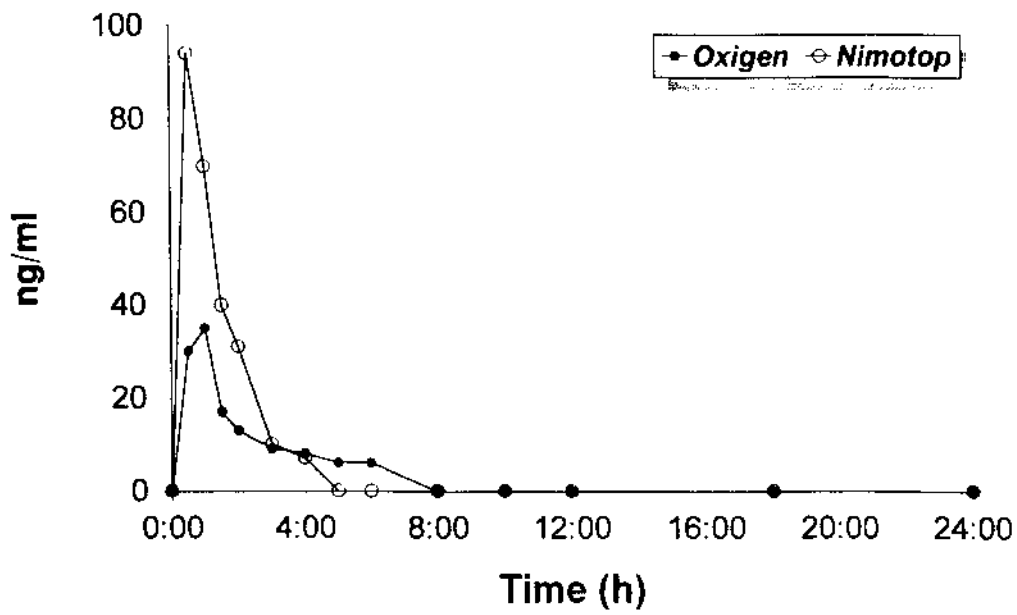
	Oxigen	Nimotop
$AUC_{[0-24h]}$ (ng/ml*h)	73	48
$C_{max}$ (ng/ml)	44	31
$T_{max}$ (h)	0.5	1.5

## Vol. XII - RRC



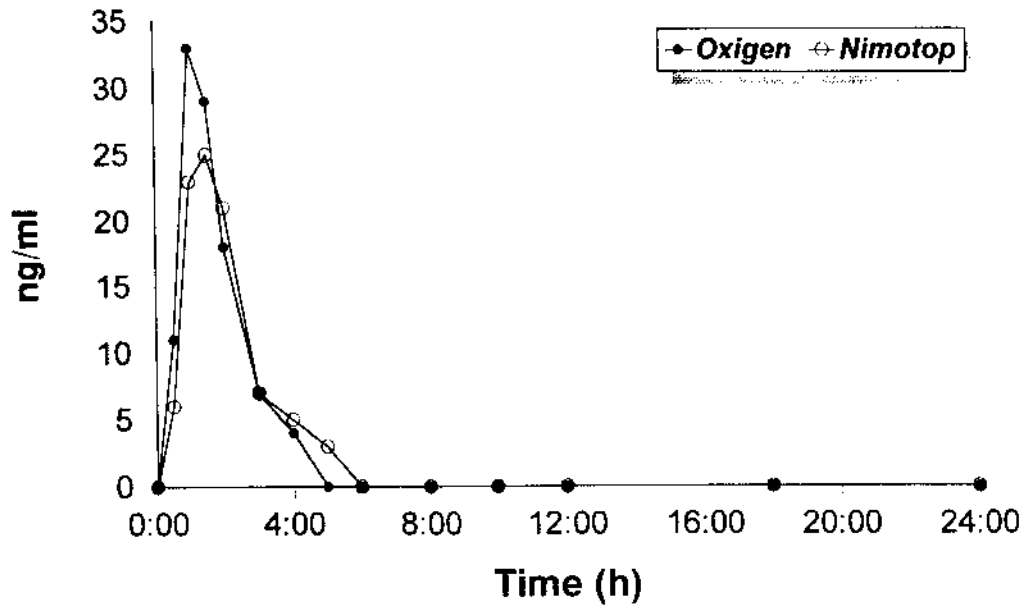
	Oxigen	Nimotop
AUC <sub>[0-24h]</sub> (ng/ml*h)	122	61
C <sub>max</sub> (ng/ml)	59	26
T <sub>max</sub> (h)	0.5	1

## Vol. XIII - PMF



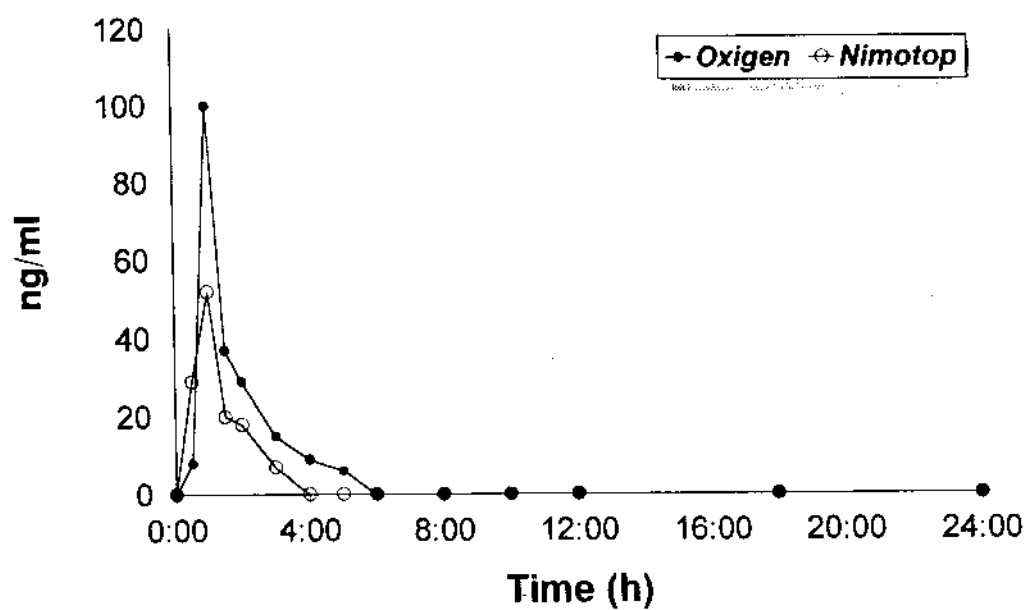
	Oxigen	Nimotop
AUC <sub>[0-24h]</sub> (ng/ml*h)	82	143
C <sub>max</sub> (ng/ml)	35	94
T <sub>max</sub> (h)	1	0.5

# Vol. XIV - ASE



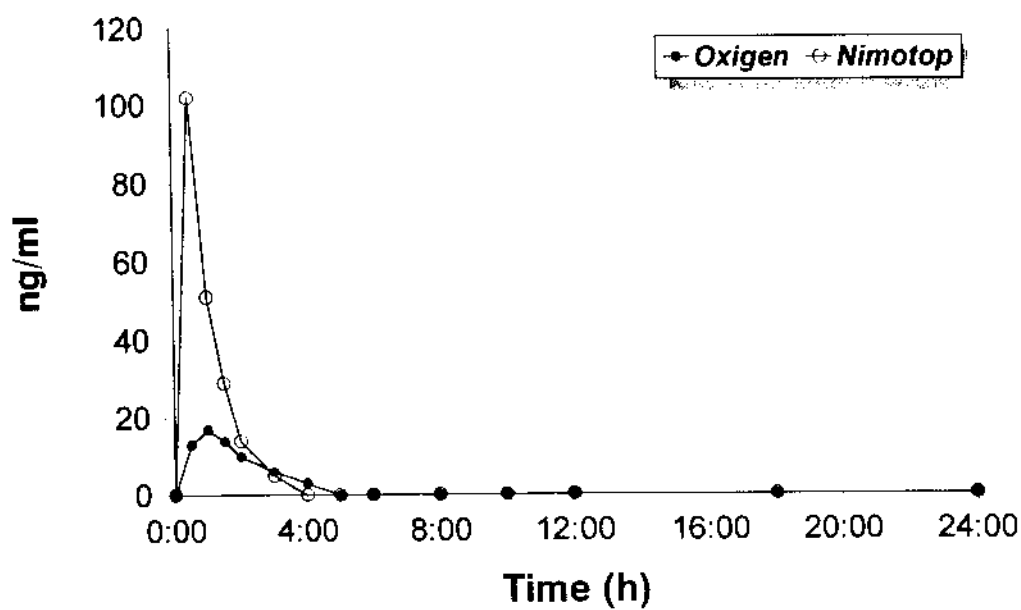
	Oxigen	Nimotop
AUC <sub>[0-24h]</sub> (ng/ml·h)	60	58
C <sub>max</sub> (ng/ml)	33	25
T <sub>max</sub> (h)	1	1.5

# Vol. XV - OHA



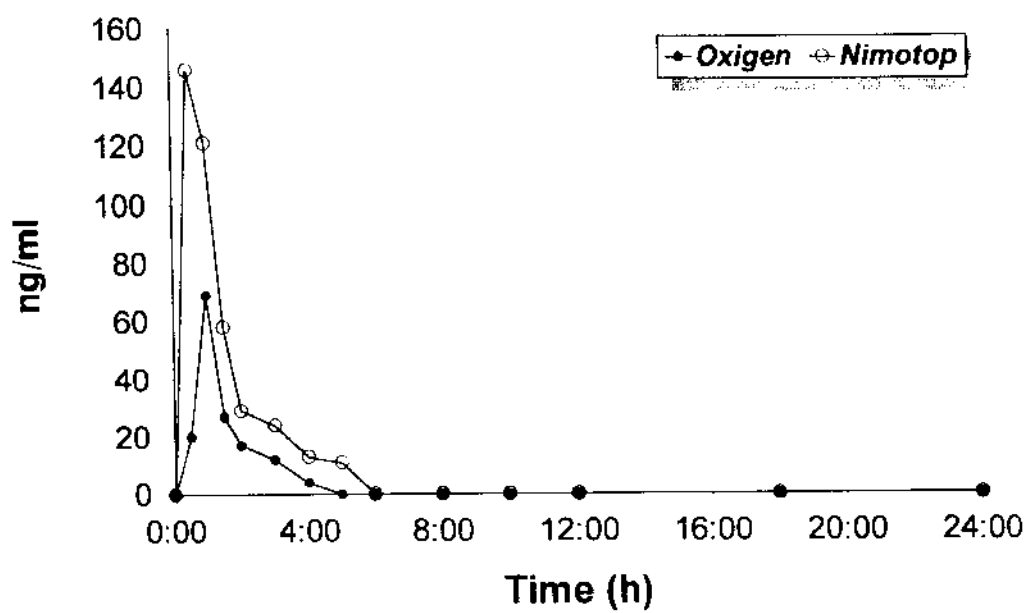
	Oxigen	Nimotop
AUC <sub>[0-24h]</sub> (ng/ml*h)	125	71
C <sub>max</sub> (ng/ml)	100	52
T <sub>max</sub> (h)	1	1

## Vol. XVI - LFW



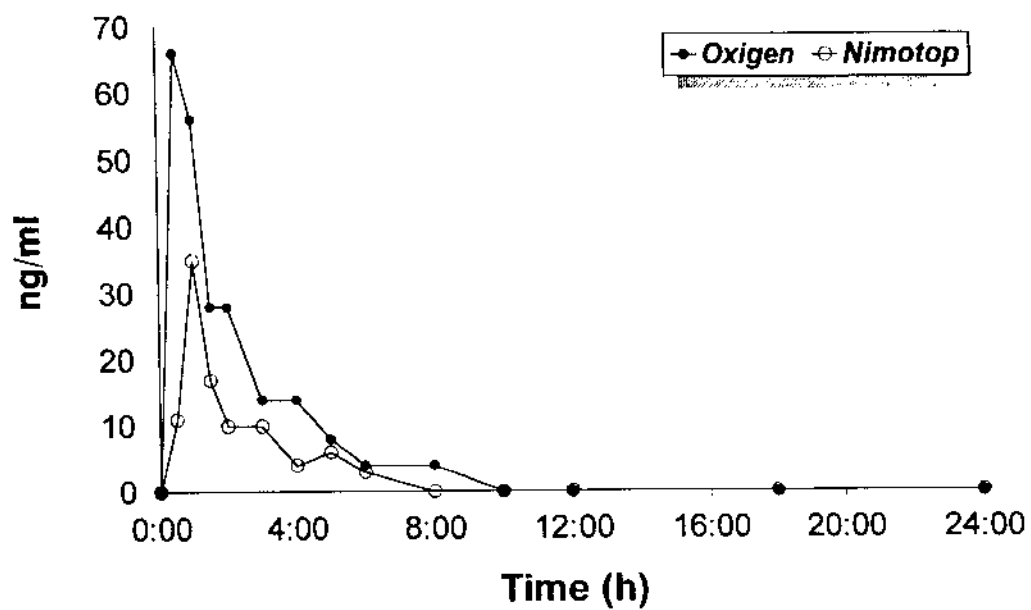
	Oxigen	Nimotop
AUC <sub>[0-24h]</sub> (ng/ml*h)	39	106
C <sub>max</sub> (ng/ml)	17	102
T <sub>max</sub> (h)	1	0.5

## Vol. XVII - VPS



	Oxigen	Nimotop
AUC <sub>[0-24h]</sub> (ng/ml*h)	86	232
C <sub>max</sub> (ng/ml)	69	146
T <sub>max</sub> (h)	1	0.5

## Vol. XVIII - AGSE



	Oxigen	Nimotop
$AUC_{[0-24h]}$ (ng/ml*h)	144	64
$C_{max}$ (ng/ml)	66	35
$T_{max}$ (h)	0.5	1



	<b>Biosintética OXIGEN</b>	
<b>TIME (h)</b>	<b>MEAN (ng/ml)</b>	<b>S.D.</b>
0	n.d.	n.a.
0.5	36.4	29.3
1	40.9	23.9
1.5	24.8	12.9
2	17.5	9.2
3	9.9	5.4
4	6.5	5.2
5	2.9	4.4
6	0.5	1.5
8	0.2	0.9
10	n.d.	n.a.
12	n.d.	n.a.
18	n.d.	n.a.
24	n.d.	n.a.

	<b>Bayer NIMOTOP</b>	
<b>TIME (h)</b>	<b>MEAN (ng/ml)</b>	<b>S.D.</b>
0	n.d.	n.a.
0.5	45.1	48.3
1	42.0	28.7
1.5	26.6	15.1
2	16.3	8.5
3	9.5	6.0
4	5.2	4.0
5	3.4	3.3
6	1.0	1.7
8	0.3	1.2
10	n.d.	n.a.
12	n.d.	n.a.
18	n.d.	n.a.
24	n.d.	n.a.

## **11. Trabalhos submetidos**