

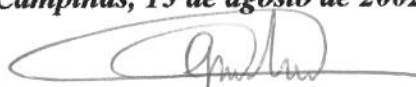
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

ROGÉRIO DA SILVA VEIGA

**“ BIOEQUIVALÊNCIA DE DUAS FORMULAÇÕES
DE FENTOLAMINA EM VOLUNTARIOS SADIOS “**

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado, apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP, para obtenção do Título de Mestre em Farmacologia do Farmacêutico – Rogério da Silva Veiga.

Campinas, 15 de agosto de 2002.



Prof. Dr. Gilberto de Nucci
- Orientador -

Orientador: Prof. Dr. Gilberto de Nucci

Campinas

2002

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

200307333

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

ROGÉRIO DA SILVA VEIGA

**“ BIOEQUIVALÊNCIA DE DUAS FORMULAÇÕES
DE FENTOLAMINA EM VOLUNTARIOS SADIOS “**

*Dissertação de Mestrado, apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre
em Farmacologia.*

Orientador: Prof. Dr. Gilberto de Nucci

Campinas

2002

UNIDADE BC
Nº CHAMADA UNICAMP
V533b
V EX
TOMBO SCI 52710
PROC 16-124/03
C D X
PREÇO R\$ 11,00
DATA 15/03/03
Nº CPD

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

CM00180998-7

118 10 284948

V533b Veiga, Rogério da Silva
 "Bioequivalência de duas formulações de fentolamina em voluntários
 sadios" / Rogério da Silva Veiga. Campinas, SP : [s.n.], 2002.

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

 1. *Biodisponibilidade de medicamentos. 2. Farmacocinética. I.
 Rogério da Silva Veiga. II. Universidade Estadual de Campinas.
 Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.



Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador:

Prof. Dr. Gilberto De Nucci

Membros:

Prof. Dr. Gilberto De Nucci

Prof. Dr. Alexandre Pinto Corrado

Profa. Dra. Léa Rodriguez Simioni

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

Data: 15/08/02

A Deus, pela luz divina.

A minha noiva Fabiana, pelo amor, apoio e fé incondicionais.

A minha avó, pelo eterno amor, força e apoio.

Aos meus pais e filha pelo amor e paciência.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Gilberto De Nucci, pela orientação e oportunidade concedida.

A Maria Carla Petrellis, pelo otimismo.

Ao Vanderley do Depto de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, pela força.

Ao pessoal do Cartesius Analitica, pela colaboração.

ÍNDICE

1	RESUMO	PÁG. XIX
2	INTRODUÇÃO	PÁG. 24
2.1	ANTAGONISTAS DOS RECEPTORES	
	α -ADRENÉRGICOS	PÁG. 25
2.1.1	Propriedades farmacológicas	PÁG. 25
2.1.1.1	Sistema cardiovascular	PÁG. 25
2.1.2	Antagonistas α 1-adrenérgicos	PÁG. 26
2.1.3	Antagonistas α 2-adrenérgicos	PÁG. 27
2.1.4	Outras ações dos antagonistas	
	α -adrenérgicos	PÁG. 28
2.2	FENTOLAMINA E TOLAZOLINA	PÁG. 28
2.2.1	Química	PÁG. 29
2.2.2	Descrição	PÁG. 29
2.2.3	Farmacologia clínica	PÁG. 30
2.2.4	Farmacocinética	PÁG. 30
2.2.5	Indicações e usos	PÁG. 30
2.2.6	Contra-indicações	PÁG. 31
2.2.7	Precauções	PÁG. 31
2.2.7.1	Gerais	PÁG. 31
2.2.8	Perigos	PÁG. 31
2.2.9	Reações adversas	PÁG. 32
2.2.10	Superdosagem	PÁG. 32
2.2.10.1	Curta toxicidade	PÁG. 32
2.2.11	Sinais e sintomas	PÁG. 32
2.2.12	Tratamento	PÁG. 33
2.3	ASPECTOS FISIO-FARMACOLÓGICOS	
	DA EREÇÃO PENIANA	PÁG. 33
2.3.1	Introdução	PÁG. 33
2.3.2	Mediadores envolvidas na modulação da	
	função erétil	PÁG. 34
2.3.3	Prospectos futuros	PÁG. 38

2.4	TRATAMENTO DA DISFUNÇÃO PENIANA	PÁG. 38
2.5	BIODISPONIBILIDADE E BIOEQUIVALÊNCIA	PÁG. 39
2.5.1	Biodisponibilidade	PÁG. 40
2.5.1.1	Fatores que podem interferir com a biodisponibilidade	PÁG. 41
2.5.1.1.1	Características do indivíduo	PÁG. 42
2.5.1.1.2	Características do fármaco	PÁG. 43
2.5.1.1.3	Fatores fisiológicos e farmacológicos	PÁG. 44
2.5.2	Bioequivalência	PÁG. 45
2.5.2.1	Critérios de avaliação de bioequivalência	PÁG. 46
2.6	MONITORIZAÇÃO TERAPÊUTICA DA DROGA	PÁG. 49
3	CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS	PÁG. 52
3.1	PROTOCOLO CLÍNICO	PÁG. 53
3.2	INSCRIÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS	PÁG. 54
3.2.1	Condições do estudo	PÁG. 54
3.3	SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS	PÁG. 54
3.3.1	Critérios de inclusão	PÁG. 54
3.3.2	Critérios de exclusão	PÁG. 55
3.3.3	Critérios de dispensa de voluntários inscritos	PÁG. 55
3.4	EFEITOS ADVERSOS DECORRENTES	PÁG. 56
3.5	COLETA DE SANGUE	PÁG. 57
3.6	EQUIPAMENTOS DE LABORATÓRIO	PÁG. 57
3.7	EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS	PÁG. 58
3.8	CONDICÕES CROMATOGRÁFICAS	PÁG. 59
3.9	CONDICÕES DE ESPECTROMETRIA DE MASSA	PÁG. 60
3.10	ANÁLISE FARMACOCINÉTICA	PÁG. 61
3.11	LISTA DE RANDOMIZAÇÃO	PÁG. 62
4	RESULTADOS	PÁG. 63

4.1	ANÁLISE ESTATÍSTICA DA “REGITINA” (REGITINA® 40MG COMPRIMIDOS) VS. “VASOMAX 1” (VASOMAX® 40 MG COMPRIMIDOS) VS. “VASOMAX 2”	PÁG. 71
5.	CONCLUSÃO	PÁG. 80
6.	SUMÁRIO	PÁG. 85
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	PÁG. 88
8.	ANEXOS	PÁG. 95
8.1	DADOS DA CONCENTRAÇÃO INDIVIDUAL DE FENTOLAMINA VS TEMPO (FIGURA) E PARÂ- METROS FARMACOCINÉTICOS (TABELA)	PÁG. 96

1-RESUMO

Este estudo teve como objetivo a avaliação da bioequivalência de duas formulações de comprimidos de fentolamina (teste x referência), considerando-se a Regitina (Novartis Biociência, Brasil) como formulação teste e o Vasomax® (Schering Plough, Brasil) como formulação referência.

O estudo foi aberto, aleatório, cruzado, de três períodos com um intervalo de sete dias entre eles, para o "wash out" necessário.

Trinta e quatro voluntários masculinos com idades entre 18 e 45 anos foram avaliados através de exames clínicos e laboratoriais. Todos os voluntários foram hospitalizados e ingeriram em jejum, 40 mg de fentolamina (teste ou referência). A coleta de sangue iniciou-se às 7:00 hs, logo após a administração, e terminou às 19:00 hs.

A droga foi extraída do plasma e analisada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplada ao espectrômetro de massa. A partir dos dados obtidos calculou-se: a concentração máxima atingida no sangue (C_{max}), o tempo em que esta ocorre (T_{max}), o tempo de meia-vida ($T_{1/2}$), área sob a curva da concentração da droga no sangue de zero a infinito ($ASC_{0-\infty}$), de zero a 720 minutos (ASC_{0-720}), e a razão da área sob a curva de zero a 720 minutos por zero a infinito ($ASC_{0-720} / ASC_{0-\infty}$).

Alguns efeitos adversos ocorreram durante o estudo, tais como: episódios hipotensivos e hipertensivos agudos e crônicos, congestão nasal e diarreia leve. Os dados referentes as razões percentuais (teste/referência 1, teste/ referência 2, referência 1/ referência 2, respectivamente) das médias geométricas foram: 98.6, 104.5 e 106% para C_{max} ; 91.9%, 101.4% e 114.2 % para T_{max} ; 105.3%, 103.9 e 98.6% para $ASC_{0-\infty}$, a variabilidade do parâmetro C_{max} expresso como coeficiente de variação foi maior que 25%. O intervalo de confiança (IC) 90% da média aritmética das diferenças individuais de T_{max} inclui o valor zero e os IC das médias geométricas foram: 92.6, 82.5 e 93.9% para C_{max} ; 97.2, 89.1 e 94.3 para $ASC_{0-\infty}$.

A partir dos dados acima mencionados conclui-se que as drogas estudadas são bioequivalentes segundo normas e regras estabelecidas pela Comunidade Européia para estudos de bioequivalência em humanos, tanto com relação à velocidade quanto à extensão de absorção .

2. INTRODUÇÃO

2.1 ANTAGONISTAS DOS RECEPTORES α -ADRENÉRGICOS

Muitas das ações importantes das catecolaminas endógenas são mediadas por receptores α -adrenérgicos. A resposta de particular relevância consiste na contração do músculo liso arterial e venoso mediada por receptores α_1 . Os receptores α_2 -adrenérgicos atuam na supressão da descarga simpática, aumentando nitidamente o tônus vagal, na agregação plaquetária, na inibição da liberação de noradrenalina e acetilcolina respectivamente nas terminações nervosas adrenérgicas e colinérgicas muscarínicas e na regulação de efeitos metabólicos, como a supressão da secreção da insulina e inibição da lipólise; os receptores α_2 também medeiam a contração de algumas artérias e veias.

Os antagonistas α -adrenérgicos possuem amplo espectro de especificidades farmacológicas e são heterogêneos do ponto de vista químico. Algumas dessas drogas exibem afinidades notadamente diferentes pelos receptores α_1 e α_2 . Por exemplo, o prazosin é muito mais potente bloqueador dos receptores α_1 do que dos receptores α_2 (sendo por isso considerado α_1 -seletivo), enquanto a ioimbina é considerada α_2 -seletivo; a fentolamina possui afinidade semelhante por ambos os subtipos de receptores. Além disso, algumas dessas drogas (por exemplo, fenoxibenzamina) podem ter ações adicionais que não estão relacionadas ao bloqueio dos receptores adrenérgicos (Goodman & Gilman, 1994).

2.1.1 Propriedades farmacológicas

2.1.1.1 Sistema cardiovascular

Clinicamente, os efeitos mais importantes dos antagonistas α -adrenérgicos são observados no aparelho cardiovascular. Eles atuam tanto no sistema nervoso central

(SNC) quanto na periferia e o resultado observado irá depender do estado cardiovascular do paciente no momento de sua administração e da relativa seletividade da droga pelos receptores α_1 ou α_2 (Goodman & Gilman, 1994).

2.1.2 Antagonistas α_1 -Adrenérgicos

O bloqueio dos receptores α_1 -adrenérgicos que modulam a vasoconstrição fisiológica induzida pelas catecolaminas endógenas pode provocar vasodilatação em vasos de resistência arteriais e em veias. Como resultado teremos a queda da pressão arterial, resultante da menor resistência vascular periférica. A magnitude desses efeitos depende da atividade do sistema nervoso simpático (SNP) no momento em que se administra o antagonista, sendo portanto menor nos indivíduos em posição supina do que em posição ortostática e particularmente pronunciada se houver hipovolemia. Para a maioria dos antagonistas α -adrenérgicos, a queda da pressão arterial é contrabalançada por reflexos barorreceptores que causam aumento da frequência e do débito cardíacos, bem como retenção de líquidos. Tais reflexos serão exagerados se o antagonista também bloquear os receptores α_2 nas terminações nervosas simpáticas periféricas, resultando em maior liberação de noradrenalina e estimulação aumentada dos receptores α_1 pós-sinápticos no coração e nas células justaglomerulares (Langer, 1981; Starke 1981). Embora a estimulação dos receptores α -adrenérgicos possa aumentar o isotropismo e a força de contração da musculatura cardiovascular, a importância desse bloqueio nesse local é incerta.

O bloqueio dos receptores α_1 -adrenérgicos também inibe a vasoconstrição e a elevação da pressão arterial produzida pela administração de uma amina simpaticomimética. O padrão destes efeitos depende do agonista adrenérgico administrado: Assim as respostas pressoras à fenilefrina podem ser totalmente suprimidas, enquanto que as respostas observadas à noradrenalina deverão ser apenas parcialmente bloqueadas, como resultado da estimulação residual dos

receptores α_1 cardíacos e as respostas pressoras à adrenalina podem ser transformadas em efeitos vasodepressores ("inversão" da adrenalina), em decorrência da estimulação residual dos receptores α_2 na vasculatura, com conseqüente vasodilatação.

2.1.3 Antagonistas α_2 -adrenérgicos

Os receptores α_2 -adrenérgicos desempenham importante papel na regulação da atividade do SNS, tanto em nível periférico quanto em nível central. Como foi assinalado anteriormente, a ativação dos receptores α_2 -adrenérgicos pré-sinápticos inibe a liberação de noradrenalina das terminações nervosas simpáticas periféricas. A ativação dos receptores α_2 na região ponto lobular do SNC inibe a atividade do sistema nervoso simpático e provoca queda da pressão arterial; esses receptores constituem um dos locais de ação de drogas como a clonidina. Por conseguinte, o bloqueio dos receptores α_2 -adrenérgicos por antagonistas seletivos, como ioimbina, pode aumentar a descarga simpática e potencializar a liberação de noradrenalina das terminações nervosas resultando em ativação dos receptores α_1 e α_2 no coração e na vasculatura periférica com conseqüente elevação da pressão arterial (Goldberg e Robertson, 1983). Os antagonistas α_1 que também bloqueiam os receptores α_2 produzem efeitos semelhantes sobre a descarga simpática facilitando a liberação da noradrenalina, porém a elevação da pressão arterial é evitada através da inibição da vasoconstrição.

Apesar de certos leitos vasculares conterem receptores α_2 -adrenérgicos que promovem a contração da musculatura lisa, acredita-se que esses receptores sejam estimulados preferencialmente pelas catecolaminas circulantes enquanto os receptores α_1 são ativados pela noradrenalina liberada das fibras nervosas simpáticas (Davey, 1987; Van Zwieten, 1988). Em outros leitos vasculares, os receptores α_2 promovem a vasodilatação ao proporcionar a liberação de fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF) (Miller e Vanhoutte, 1985). Todavia o papel fisiológico

dos receptores α_2 -adrenérgicos vasculares na regulação do fluxo sanguíneo em vários leitos vasculares continua incerta (Cubeddu, 1988) e os efeitos dos antagonistas α_2 -adrenérgicos sobre o sistema cardiovascular são dominados por ações no SNC e nas terminações nervosas simpáticas.

2.1.4 Outras ações dos antagonistas α -adrenérgicos

Os antagonistas α -adrenérgicos podem bloquear os receptores α que medeiam a contração do músculo liso não vascular. Por exemplo, a contração do trígono e dos músculos esfíncterianos na base da bexiga pode ser inibida, com conseqüente diminuição da resistência ao fluxo urinário. Embora a ativação dos receptores α_1 e α_2 possam promover a contração do músculo liso brônquico, a importância desse efeito é mínima. As catecolaminas aumentam o débito de glicose no fígado; no ser humano esse efeito é mediado predominantemente por receptores β -adrenérgicos, embora os receptores α também possam atuar (Rosen et.al., 1983). Os receptores α_2 -adrenérgicos facilitam a agregação plaquetária; o efeito do bloqueio desses receptores *in vivo* não está bem definido. A ativação dos receptores α_2 nas ilhotas pancreáticas suprime acentuadamente a secreção de insulina; o bloqueio destes receptores pode facilitar a liberação do hormônio (Kashiwagi et al., 1986).

2.2 FENTOLAMINA E TOLAZOLINA

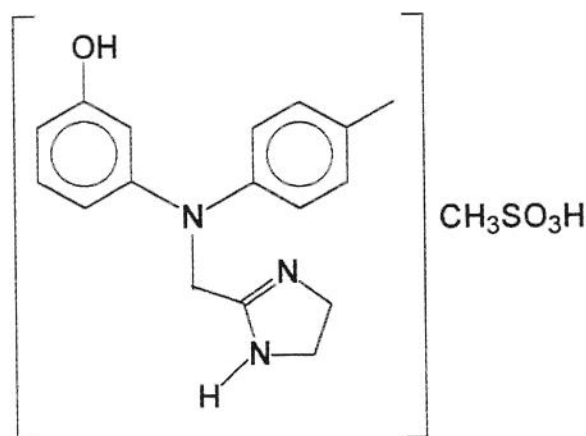
A fentolamina, uma imidazolina, é um antagonista α -adrenérgico competitivo que possui afinidade semelhante pelos receptores α_1 e α_2 . Assim, o seu efeito sobre o sistema cardiovascular assemelha-se muito aos da fenoxibenzamina. A fentolamina pode outrossim bloquear os receptores 5-HT, além de liberar histamina dos mastócitos.

A tolazolina é um composto correlato, porém de menor importância. A tolazolina e a fentolamina estimulam o músculo liso gastrointestinal, efeito este antagonizado pela atropina. Além disso, aumentam a secreção de ácido gástrico. A tolazolina aumenta a secreção das glândulas salivares, lacrimais e sudoríparas (Goodman & Gilman, 1994).

2.2.1 Química

Apesar de estruturalmente diferentes, essas drogas podem ser divididas em quatro grupos: **agentes alquilantes α - etilamínicos, análogos da imidazolina, quinazolinas piperazílicas e derivados indólicos** (Goodman & Gilman, 1994)

O mesilato de fentolamina é o metanossulfonato de 4,5-dihidro-2-[N-(m-hidroxifenil)-N-(p-metilfenil)aminometil]-1-imidazol e a sua fórmula estrutural está abaixo descrita (Figura 1):



2.2.2 Descrição

O mesilato de fentolamina - USP é um pó branco ou quase branco, inodoro e cristalino com peso molecular de 377.46. Sua solução é ácida. Ele é facilmente solúvel

em água e em álcool, e levemente solúvel em clorofórmio. Ele funde a aproximadamente 178 °C (Andrejus Korolkovas, 1993).

2.2.3 Farmacologia clínica

A fentolamina produz um bloqueio α -adrenérgico de duração relativamente curta. Ele também tem diretos, mas pouco marcantes, efeitos inotrópico e cronotrópico positivo cardíaco e efeitos vasodilatadores no músculo liso vascular.

2.2.4 Farmacocinética

A fentolamina é rápida e completamente absorvida por via oral. Após a administração oral de 40 mg de fentolamina, o pico da concentração plasmática de fentolamina inalterada é atingido após 0.5-1 hora, correspondendo a 22-46 ng/ml. A meia-vida de eliminação após a administração de uma dose única é de 1.7 horas. Dentro de um período de 24 horas, 90% da dose oral de 40 mg é eliminada inalterada ou na forma de metabólitos, sendo que 70% é encontrada na urina e 20% nas fezes. A eliminação total completa-se após um período de 4 dias. A fentolamina inalterada na urina corresponde a 2-11% da dose oral. Os principais metabólitos presentes na urina são: o glicuronídeo da droga-mãe e um metabólito carreador de um grupo carboxílico, ao invés de um grupo metila no anel aromático que corresponde a 40% da dose após administração oral.

2.2.5 Indicações e Usos

A fentolamina oral tem demonstrado a alta incidência de ereções penianas em pacientes impotentes durante estudos clínicos (Becker, 1998).

A fentolamina intravenosa é indicada para prevenção e controle de episódios de hipertensão que devem ocorrer em pacientes com feocromocitoma como resultados de estresse ou preparação pré-cirúrgica para a extirpação.

A fentolamina intravenosa é indicada para a prevenção ou tratamento da necrose dérmica ou necrose por administração intravenosa ou extravazamento de norepinefrina. A fentolamina intravenosa é também indicada para diagnóstico de feocromocitoma por teste de bloqueio da fentolamina.

2.2.6 Contra-indicações

Enfarte do miocárdio, história de enfarte do miocárdio, insuficiência coronariana, angina, ou outra evidência que sugira doença das artérias coronárias; hipersensibilidade à fentolamina ou compostos correlatos.

2.2.7 Precauções

2.2.7.1 Gerais

Taquicardia e arritmias cardíacas podem ocorrer com o uso da fentolamina ou agentes bloqueadores alfa-adrenérgicos. Quando possível, a administração de glicosídeos cardíacos deve ser suspensa até o ritmo cardíaco voltar ao normal.

2.2.8 Perigos

Enfarte do miocárdio, espasmo vascular cerebral e oclusão cérebro-vascular tem ocorrido em seguida à administração de fentolamina, usualmente em associação com episódios de hipertensão marcante.

Por testes em pacientes com hipertensão e ensaios de catecolaminas em urina e ensaios bioquímicos, tem-se substituído amplamente os testes da fentolamina e outros por razões de precisão e segurança embora nenhum dos testes químicos ou farmacológicos conhecidos são infalíveis no diagnóstico do feocromocitoma.

O teste de bloqueio por fentolamina não é o procedimento de escolha e deve ser reservado para casos em que a evidência confirmante adicional é necessária e os riscos relacionados envolvidos na condução do teste tenham sido considerados.

2.2.9 Reações adversas

Episódios hipotensivos agudos e crônicos, taquicardia e arritmias cardíacas tem sido registrados. Em adição, vertigens, hipotensão ortostática, rubor, congestão nasal, náuseas, vômitos e diarreia podem também ocorrer (Goodman & Gilman, 1994).

2.2.10 Superdosagem

2.2.10.1 Curta Toxicidade

Nenhuma morte por envenenamento agudo com fentolamina tem sido reportado.

A DL50 oral (mg/kg) : cobaias: 1000; ratos: 1250;

2.2.11 Sinais e sintomas

A superdosagem com fentolamina é caracterizada por distúrbios cardiovasculares como em arritmias, taquicardias, hipotensão e a possibilidade de choque. Em adição podem ocorrer excitação, dor de cabeça, miose, distúrbios visuais, náuseas, sudorese, vômitos e hipoglicemia.

2.2.12. Tratamento

Não há nenhum antídoto específico. Uma diminuição na pressão sangüínea a níveis perigosos ou outras evidências sugestivas de imediata instância de choque cardiovascular devem ser tratadas imediatamente. Nestas os membros inferiores do paciente devem ficar elevadas e um expansor de plasma deve ser administrado. Se necessário, a infusão de norepinefrina dosada para manter a pressão sangüínea em níveis normais deve ser efetuada e todas as avaliações de medidas suporte devem ser incluídas. A epinefrina não deve ser usada, em condições em que ela pode causar uma redução paradoxal na pressão sangüínea.

2.3 ASPECTOS FISIO-FARMACOLÓGICOS DA EREÇÃO PENIANA

2.3.1 Introdução

A disfunção erétil é definida como a “incapacidade de alcançar ou manter uma ereção peniana adequada para satisfação sexual” (National Institutes of Health Consensus Statement, 1993). A disfunção erétil ocorre em graus variáveis e apresenta-se associada a efeitos adversos sobre a qualidade de vida, particularmente sobre o bem estar pessoal e inter-relações familiares e sociais (Johannes et al., 2000). Estima-se que a prevalência mundial de disfunção erétil acometa mais de 152 milhões de homens e as projeções para 2025 sugerem uma prevalência de aproximadamente 322 milhões.

Durante uma década, foi observado um grande avanço no tratamento da disfunção erétil, o qual estende-se desde técnicas cirúrgicas (próteses penianas ou revascularização) e agentes administrados por vias intracavernosa e intrauretral (prostaglandina E₁, PGE₁; papaverina; fentolamina), até o desenvolvimento recente de uma terapia oral eficaz (citrato de sildenafil). A eficácia de agentes administrados por

via oral como o sildenafil, apomorfina, fentolamina e vardenafil, representa o início de terapias farmacológicas não-invasivas no tratamento da disfunção erétil.

Durante os últimos 25 anos, a pesquisa sobre disfunção erétil esteve enfocada nos mecanismos de relaxamento do músculo liso dos corpos cavernosos, obtendo-se assim os conhecimentos atuais sobre a fisiologia da ereção.

2.3.2 Mediadores Envolvidos na Modulação da Função Erétil

Nervos simpáticos, parassimpáticos e somáticos controlam o *tonus* do músculo liso dos corpos cavernosos e de seu sistema vascular através de conexões neuroanatômicas que são parte integral da inervação do trato urogenital (Andersson & Wagner, 1995).

O pênis é composto de três segmentos cilíndricos contendo tecido erétil: o corpo esponjoso, o qual circunda a uretra e forma a glândula peniana na porção distal, e os dois corpos cavernosos que funcionam como capacitores por acumular sangue sob pressão, promovendo assim a estrutura do órgão ereto (Lue & Tanagho, 1987; Andersson & Wagner, 1995). O corpo cavernoso compreende uma extensa rede vascular, consistindo de sinusóides (trabéculas) cujo suprimento arterial é dado pelas artérias de resistência helicinais que, por sua vez, originam-se da artéria cavernosa profunda. As trabéculas são drenadas pelas vênulas emissárias que se comunicam com as veias cavernosas, e apresentam PO_2 de 20 a 40 mmHg quando o pênis encontra-se no estado flácido (Kim et al., 1993).

O *tonus* do músculo liso dos corpos cavernosos regula a flacidez e a ereção peniana. Durante o estado flácido, as arteríolas de resistência helicinais apresentam-se contraídas, principalmente através de mecanismos α -adrenérgicos (Krane et al., 1989; Traish et al., 1999). Eferentes simpáticos promovem um *tonus* contrátil no corpo cavernoso através da liberação de noradrenalina levando à flacidez. Adrenoceptores dos subtipos 1a, 1d, 2a e 2c são expressos no músculo liso dos corpos cavernosos,

enquanto receptores 1b e 2b são encontrados no endotélio e/ou nos nervos (Traish et al., 1999). A endotelina sintetizada pelo músculo liso ou endotélio também pode ser responsável pela manutenção do *tonus* do músculo liso. Observa-se a ocorrência dos subtipos de receptores de endotelina ETA e ETB no tecido cavernoso (Andersson & Wagner, 1995). Dentre outros vasoconstritores neste tecido, pode-se citar a prostaglandina F2 (PGF_{2α}) e o tromboxano A2 (TXA₂), sintetizados pelo músculo liso e pelo endotélio, onde ambos apresentam potente atividade constritora em segmentos de corpo cavernoso *in vitro*. Demonstrou-se recentemente a presença de receptores muscarínicos funcionais M₂ e M₄ no músculo liso do corpo cavernoso humano e em células de músculo liso em cultura (Nehra et al., 1999). O carbacol e a acetilcolina relaxam segmentos de corpo cavernoso humano pré-contraídos com fenilefrina, através da ativação de receptores M₃ presentes no endotélio. A ativação destes receptores leva ao aumento intracelular de [Ca²⁺] que, por sua vez, ativa a óxido nítrico sintase (NOS) endotelial, levando à liberação de óxido nítrico (NO; Andersson & Wagner, 1995). A ativação de receptores B₂ pelas cininas também leva à estimulação da NOS, com conseqüente produção de NO que se difunde para o músculo liso causando o relaxamento dos corpos cavernosos (Teixeira et al., 1998a).

A ereção peniana é o resultado final do relaxamento do músculo liso dos corpos cavernosos; esta resposta pode ser iniciada por estimulação sensorial, a qual ativa as vias do SNC (Andersson & Wagner, 1995). Estes processos ativam nervos periféricos que inervam o pênis, os quais são representados por terminações colinérgicas, não-adrenérgicas não-colinérgicas (NANC; exemplo, NO) e nervos contendo o peptídeo intestinal vasoativo (VIP), a substância P e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP).

Estudos funcionais envolvendo tecido cavernoso de várias espécies, incluindo o humano, apontaram o NO como o principal mediador do relaxamento do músculo liso do corpo cavernoso (Andersson & Wagner, 1995). A estimulação elétrica ou química (princípios ativos do escorpião) das fibras NANC que inervam os corpos cavernosos

leva à liberação de NO, a qual é abolida por inibidores da NOS ou por bloqueio da condução axonal (Ignarro et al., 1990; Bush et al., 1992; Teixeira et al., 1998b; Teixeira et al., 2001a; Teixeira et al., 2001b). Adicionalmente, doadores de NO relaxam preparações de tecido erétil de humanos e coelhos e causam tumescência em cães, gatos, macacos e humanos. O NO proveniente das terminações NANC, medeia a dilatação das arteríolas helicinais bem como do músculo liso trabecular através da ativação da guanilato ciclase solúvel com conseqüente aumento nos níveis intracelulares de GMP cíclico (Andersson & Wagner, 1995).

O influxo de sangue arterial está associado com aumento na PO₂ sangüínea (90-100 mmHg), o qual incrementa a ativação da NOS e da prostaglandina G/H sintase, pois ambas as enzimas utilizam oxigênio molecular como substrato (Kim et al., 1993). A força de arraste do sangue “*shear stress*” e os receptores muscarínicos presentes no endotélio dos corpos cavernosos atuam por estimular a NOS endotelial, amplificando o relaxamento deste tecido.

Devido aos sinusóides do corpo cavernoso relaxarem e se preencherem com sangue, a pressão intracavernosa e o volume peniano aumentam. O mecanismo de veno-oclusão se desenvolve a partir de forças de compressão do tecido cavernoso contra a túnica albugínea, tecido bastante fibroso e compacto que reveste os corpos cavernosos (Andersson & Wagner, 1995). O mecanismo de relaxamento induzido por VIP e CGRP é dependente da ativação da adenilato ciclase, com conseqüente aumento nos níveis intracelulares de AMP cíclico, contribuindo para o relaxamento do músculo liso dos corpos cavernosos. Entretanto, os receptores para VIP e CGRP ainda não foram completamente caracterizados neste tecido (Andersson & Wagner, 1995). A presença de nervos contendo substância P em corpo cavernoso é bastante esparsa e testes de imunorreatividade à substância P mostram que estas fibras nervosas estão localizadas principalmente abaixo do epitélio da glândula peniana (Gu et al., 1983). Os relaxamentos evocados por substância P são potencializados pela indometacina e bloqueados por inibidores da NOS (Azadzoi et al., 1992). Entretanto, a substância P contrai o músculo retrator do pênis bovino e, em segmentos de corpo cavernoso huma-

no, observam-se efeitos contráteis sob tensão basal (Andersson & Wagner, 1995).

A PGE é sintetizada pelo endotélio e por células do músculo liso cavernoso e se liga a receptores específicos (receptores EP) no músculo liso que, quando ativados, também aumentam os níveis intracelulares de AMP cíclico. A PGE pode se ligar a 4 subtipos de receptores cuja expressão já foi demonstrada no pênis (Moreland et al., 2000). Tanto EP₂ quanto EP₄ estão acoplados à Gs e são, provavelmente, responsáveis pelo aumento na síntese de AMP cíclico em tecidos ou células de músculo liso quando estas são tratadas com PGE₁ exógena (Narumiya et al., 1999).

Enquanto as vias envolvidas na fosforilação e defosforilação da miosina do músculo liso que são fundamentais para o *tonus* do músculo liso dos corpos cavernosos ainda não estão devidamente elucidadas, sabe-se que os níveis intracelulares de Ca²⁺ bem como canais iônicos desempenham papel essencial no controle do *tonus*. Várias classes de canais iônicos já foram identificadas no músculo liso dos corpos cavernosos, incluindo canais de K⁺ ATP-dependentes (K_{ATP}) e ativados por Ca²⁺ (Maxi K⁺), assim como canais de Ca²⁺ tipo L e Na⁺/K⁺ ATPase. Agonistas de K_{ATP} como a cromacalina relaxam o músculo liso do corpo cavernoso (Teixeira et al., 1998b), ao passo que o nicorandil pode relaxar esta preparação por um mecanismo que inclui abertura de K_{ATP} e ativação de guanilato ciclase (Hsieh et al., 2000). Demonstrou-se recentemente que Maxi K⁺ transfectados em corpo cavernoso de ratos adultos levam à facilitação da função erétil (Christ et al., 1998).

Em estudos recentes observou-se que camundongos que não apresentam a proteína quinase I dependente de GMP cíclico (PKG-I), não são capazes de se reproduzirem (Hedlund et al., 2000). Segmentos de corpo cavernoso destes camundongos não relaxam durante ativação da cascata do NO-GMP cíclico. Nestes animais, a ativação direta da adenilato ciclase pelo forskolin relaxa tecidos pré-contraídos por fenilefrina, embora com menor intensidade que nos animais controles. Estes dados demonstraram que a via do AMP cíclico não é capaz de compensar a via do GMP cíclico.

2.3.3 Prospectos Futuros

Linhas de pesquisa que definem as vias periféricas da fisiologia erétil e investigam a patogênese da sua disfunção erétil levaram ao conhecimento da base vascular para a disfunção sexual orgânica, enquanto o papel do SNC ainda está por emergir. Tais avanços científicos, na pesquisa da disfunção erétil, indicam que doenças vasculares são responsáveis pelas alterações funcionais observadas na estrutura dos corpos cavernosos durante o envelhecimento. Recentemente, a disponibilidade de novos medicamentos para o tratamento da disfunção erétil por via oral oferece a possibilidade de múltiplas intervenções farmacológicas para o tratamento da impotência. Entretanto, agentes administrados por via oral como o sildenafil apresentam a vantagem da conveniência, tem como desvantagem a ocorrência de efeitos adversos sistêmicos. Sendo o pênis um órgão vascular, muitos destes efeitos adversos estão centralizados em problemas vasculares como hipotensão e incidência de infarto do miocárdio. Portanto, pesquisas envolvendo o campo da regulação central da ereção peniana, podem levar a farmacoterapias mais seguras e eficazes no tratamento da disfunção erétil.

2.4 TRATAMENTO DA DISFUNÇÃO DA EREÇÃO PENIANA

Para a maioria dos pacientes com disfunção organogênica na ereção peniana, o implante de prótese peniana e a aplicação de vácuo representam opções terapêuticas de importância considerável. No entanto, muitos pacientes recusam estas terapias por diversas razões, tal como a falta de espontaneidade e desconforto. Além disso, observações a longo prazo demonstraram uma significativa taxa de insatisfação e uma importante porcentagem de pacientes insatisfeitos quiseram desistir do tratamento. Somente um número limitado de pacientes pode ser oferecida a cirurgia reconstrutiva, tal como uma revascularização arterial ou peniana venosa, que permite a ereção espontânea.

Para a maioria dos pacientes com disfunção na ereção peniana uma droga oral seria a terapia mais indicada. Em adição ao vasto uso da ioimbina e o recente resultado promissor com os ensaios de sildenafil e apomorfina, o bloqueador α -adrenérgico, fentolamina, tem sido avaliado como uma possível opção para este tratamento. Zorngiotti notou uma taxa de 42% de ereções espontâneas com 50 mg de fentolamina em pacientes com disfunção na ereção peniana e um estudo semelhante respondeu de forma parecida por Gwinup (BECKER, 1998).

2.5 BIODISPONIBILIDADE E BIOEQUIVALÊNCIA

Na década de 30 do século XX, a Indústria Farmacêutica deu início ao aumento na produção de medicamentos, devido a descoberta de novas substâncias ativas. Até hoje este processo persiste e impulsiona a adaptação legislativa, o desenvolvimento de novas formulações e a oferta de medicamentos disponíveis.

O custo desde o desenvolvimento e síntese da molécula até o desenvolvimento da formulação, ensaios e venda é, em média, de 100 milhões de dólares por 10 anos (DUKES, 1993).

As pesquisas sistemáticas têm sido o meio pelo qual a maioria das indústrias farmacêuticas têm buscado novos medicamentos. Estas pesquisas consistem em avaliação natural, triagem empírica, modificação no grupo farmacofórico, síntese e planejamento racional e outros. As propriedades farmacodinâmicas, farmacotécnicas e toxicológicas devem ser avaliadas em estudos pré-clínicos antes da administração em humanos, "in vitro" e principalmente in vivo. (ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD - OMS, 1992).

A incorporação da garantia de qualidade junto aos departamentos da indústria farmacêutica favoreceu a produção de medicamentos com qualidade comprovada por

métodos de validação de processos de produção e controle de qualidade de matérias-primas e produtos acabados, onde estão incluídos também estudos de biodisponibilidade, muito importantes para a comprovação das condições farmacológicas e farmacotécnicas desejadas (SHARGEL & YU, 1993).

2.5.1 Biodisponibilidade

Muitos medicamentos são produzidos e comercializados por mais de uma indústria farmacêutica. O método de fabricação e a formulação final podem afetar a concentração do fármaco que atinge o local de ação e conseqüentemente oferecer riscos das doses se tornarem subterapêuticas ou tóxicas (ZANINE & OGA, 1994). A fim de avaliar a segurança e a eficácia destes medicamentos, são propostos os estudos de biodisponibilidade. Estes são indicados também para avaliação de medicamentos com novos princípios ativos e para aqueles com novas formulações, forma farmacêutica ou química que contenham substância(s) ativa(s) ou porção(ões) terapêutica(s) já aprovados para comercialização.

O termo biodisponibilidade foi introduzido na literatura científica no início dos anos 70 e, desde então, contou com várias definições. As seguintes podem ser citadas:

* Segundo a nota do guia da União Européia sobre investigação de biodisponibilidade e bioequivalência (COMMITTEE FOR PROPRIETARY MEDICINAL PRODUCTS - CPMP, 1991):

Biodisponibilidade é a velocidade e a extensão na qual a substância ativa ou porção terapêutica é absorvida a partir de uma forma farmacêutica e se torna disponível no local de ação. Já que na maioria dos casos pretende-se que as substâncias exibam efeitos terapêuticos sistêmicos, uma definição mais prática pode ser dada, levando em consideração o intercâmbio da substância entre a circulação geral e o local de ação:

biodisponibilidade é a extensão e a velocidade com que uma substância ou porção terapêutica é liberada a partir de uma forma farmacêutica para a circulação geral.

Deve-se distinguir biodisponibilidade absoluta de uma dada forma farmacêutica comparada com aquela após administração intravenosa (100%), e a biodisponibilidade relativa comparada com outra fora, com uma via de administração diferente da intravenosa (ex: comprimido X cápsula).

* Segundo o FDA (Food and Drugs Administration, 1998):

Biodisponibilidade é a velocidade e a extensão com que o ingrediente ativo, ou porção terapêutica, é absorvido a partir de um produto farmacêutico e se torna disponível no local de ação.

O termo " porção ativa " gera certa discussão, já que iguala o ingrediente ativo inalterado aos metabólitos ativos presentes no plasma, ao menos com aqueles com importância terapêutica.

2.5.1.1 Fatores que podem interferir com a biodisponibilidade

A biodisponibilidade após ser afetada por vários fatores, sendo os mais importantes as características da formulação e físico-químicas do fármaco. Outros fatores incluem: idade, ingestão de alimento, história genética, capacidade de metabolização do fígado, doenças, interações com outros fármacos, função renal e outros.

De modo esquematizado, SPILKER (1991) cita os fatores que podem influenciar a absorção:

2.5.1.1.1. Características do Indivíduo:

A. Características inerentes e gerais:

- a) condição geral (p. ex: nutrição, acamado ou não);
- b) presença de doenças (p. ex: doença que pode reduzir ou aumentar o esvaziamento gástrico);
- c) Idade;
- d) Peso ou índice ponderal (p. ex: grau de obesidade);

B. Funções fisiológicas:

- a) Função renal;
- b) Função hepática;
- c) Função cardiovascular;
- d) Função e motilidade gastrintestinal;
- e) pH dos líquidos gástricos (p. ex: afetado por jejum, doença, ingestão de alimentos, fármacos);
- f) Fluxo sanguíneo gastrintestinal na área de absorção;
- g) Fluxo sanguíneo nas áreas de absorção (via de administração com absorção em local diferente do trato gastrintestinal);

C. Características adquiridas:

- a) Anatomia do paciente (p. ex: cirurgia prévia);
- b) Flora intestinal;
- c) Tempo entre a administração do fármaco e alimentação;
- d) Posição corporal (p. ex: deitar do lado esquerdo retarda o esvaziamento gástrico enquanto do lado direito acelera);

- e) Estado emocional (p. ex: estresse acelera o esvaziamento gástrico e a depressão retarda);
- f) Exercício físico (pode retardar o esvaziamento gástrico);

2.5.1.1.2 Características do fármaco:

A. Administração e trânsito no organismo:

- a) Características de dissolução (formas sólidas) que dependem dos excipientes, além das características do fármaco (p. ex: excipientes podem diminuir a solubilidade do comprimido ou cápsula na água, e retardar a dissolução e difusão);
- b) Velocidade de dissolução nos líquidos gastrintestinais. Os fármacos que são inadequadamente dissolvidos podem ser inadequadamente absorvidos.
- c) Os fármacos absorvidos com alimentos podem ter uma absorção retardada;
- d) Os fármacos transportados por carregadores, provavelmente são absorvidos no intestino delgado;
- e) Via de administração;
- f) Os fármacos que sofrem metabolismo no trato gastrintestinal;

B. Propriedades físico-químicas:

- a) Capacidade de formar quelatos (complexos insolúveis) com íons metálicos de alimentos, o que leva a absorção insuficiente;
- b) pH, p. ex.: os fármacos que são bases fracas são mais absorvidos no intestino delgado;
- c) Sais de fármacos utilizados;
- d) Hidratos ou solvatos;
- e) Forma cristalina (p. ex.: insulina);
- f) Forma farmacêutica (p. ex.: líquida, sólida, suspensão);
- g) Revestimento entérico;

- h) Absorção de compostos quartenários (p.ex.: hexametônio) é diminuída por presença de alimento;
- i) Peso molecular do fármaco (p. ex.: quando é maior de 1000, a absorção é bastante diminuída);
- j) pKa (constante de ionização);
- k) Solubilidade lipídica (p. ex.: propriedade hidrofóbica relaciona-se com difusão passiva através de membranas);
- l) Tamanho da partícula do fármaco na forma farmacêutica sólida. Partículas menores aumentam a velocidade ou grau de absorção, se a dissolução do fármaco for um fator limitante da velocidade. A forma micronizada aumenta a velocidade. A forma micronizada aumenta a velocidade de dissolução de fármacos que apresentem baixa velocidade;
- m) Tamanho da partícula da fase dispersa na emulsão;
- n) Tipo de agente de desintegração na formulação;
- o) Dureza do comprimido (p. ex.: relaciona-se à compressão na manufatura) ou cápsula, o que leva à desintegração inadequada;
- p) Outras propriedades físico-químicas (p. ex.: pH, pontes de hidrogênios, coeficientes de partição, solubilidade);
- q) Fármacos sujeitos ao metabolismo de primeira passagem no fígado.

2.5.1.1.3 Fatores Fisiológicos e Farmacológicos

- a) A presença de alimento aumenta o fluxo sanguíneo gástrico, o que teoricamente, aumentaria a velocidade de absorção;
- b) A presença de alimento retarda a velocidade de esvaziamento gástrico, o que teoricamente, retardaria a velocidade de passagem para o intestino, onde ocorre uma grande proporção de absorção, retardando-a . No entanto, se o fármaco é absorvido em maior proporção no estômago, haverá um tempo de absorção maior.
- c) fluxo biliar e a secreção são estimulados pelas gorduras e por certos alimentos. Os sais biliares podem aumentar ou retardar a absorção, dependendo se aumentam a

solubilidade ou formam complexos insolúveis com o fármaco;

d) Dependendo do alimento ingerido, podem ocorrer alterações no fluxo sanguíneo esplâncnico;

e) A presença de transporte ativo saturável, que limita a quantidade de fármaco absorvido.

2.5.2 Bioequivalência

A nota do Guia da União Européia sobre estudos de biodisponibilidade e bioequivalência (CPMP, 1998), dá a seguinte definição de bioequivalência:

Dois produtos medicinais são bioequivalentes se alternativas ou equivalentes farmacêuticos e se suas biodisponibilidade (velocidade e extensão de absorção), após administração na mesma dose molar, são semelhantes num grau em que seus efeitos com relação à eficácia e segurança sejam essencialmente os mesmos.

As alternativas farmacêuticas são produtos medicinais que contenham a mesma porção terapêutica, mas que diferem na forma química desta ou na forma farmacêutica. A " porção terapêutica " pode ser usada na forma de sais, ésteres e outros (CPMP, 1998). Já equivalentes farmacêuticos são produtos medicinais com o mesmo princípio ativo (mesmo sal, éster ou forma química), concentração, forma farmacêutica e via de administração. Devem apresentar padrões idênticos (potência, qualidade, pureza e identificação), mas podem se diferenciar em termos de determinadas características, tais como: cor, sabor, forma, empacotamento, conservantes, validade e rotulagem (dentro de certos limites) (SHARGEL & YU, 1993). A equivalência farmacêutica não implica, necessariamente, em bioequivalência já que diferenças nos excipientes e/ou processos de fabricação podem levar a uma dissolução e/ou absorção mais rápida ou mais lenta.

Equivalentes terapêuticos (REGITINA®) são produtos medicinais que contêm a mesma substância ativa ou " porção terapêutica " e que clinicamente exibam a mesma eficácia e segurança do produto de referência (VASOMAX®), com eficácia e segurança já estabelecidas. Neste estudo ambas estão na forma de comprimidos.

Na prática, a demonstração de bioequivalência é geralmente o método mais apropriado para constatação de equivalência terapêutica entre produtos medicinais que sejam alternativas ou equivalentes farmacêuticos, desde que eles contenham excipientes reconhecidos como não influentes na segurança e eficácia. Em alguns casos, em que as velocidades de absorção observadas são diferentes, os produtos analisados então são considerados não equivalentes. Este dados serão irrelevantes desde que as diferenças na velocidade de absorção não sejam de relevância terapêutica (CPMP, 1998).

Entretanto, é importante salientar que a bioequivalência não pode, necessariamente, ditar a equivalência terapêutica, já que os excipientes podem levantar questões de segurança, portanto, os excipientes devem ser bem conhecidos e seguros (MARZO & BALANT, 1995).

2.5.2.1 Critérios de avaliação de bioequivalência

Quando um medicamento contendo um único fármaco é administrado intravenosamente, ele atinge de modo quase imediato o máximo de concentração, sendo progressivamente eliminado.

Todavia, após a administração oral de um fármaco, ocorre um aumento progressivo de sua concentração sanguínea, ao mesmo tempo em que se inicia a sua eliminação. Se após a administração oral forem coletadas amostras de sangue para determinação da concentração em tempos diferentes, obter-se-á uma curva de nível sanguíneo (sérico ou plasmático) do fármaco.

A concentração da droga no sangue, em determinado momento, é função das seguintes constantes farmacocinéticas: absorção, distribuição, biotransformação e excreção. O nível sanguíneo reflete, portanto a dinâmica da droga nos diversos compartimentos orgânicos. Assim, numa primeira fase em que ocorre a ascensão do teor sanguíneo da droga, há predomínio da absorção do fármaco, enquanto que nas fases seguintes (distribuição, biotransformação e a excreção), esse teor entra em declínio.

Na curva de nível sanguíneo existem três parâmetros considerados de maior importância para o estudo comparativo de bioequivalência de duas formulações diferentes que contêm o mesmo princípio ativo:

- * Pico de concentração máxima (C_{max});
- * Tempo em que ocorre o pico de concentração máxima (T_{max});
- * Área sob a curva de nível sanguíneo em função do tempo (ASC);

O pico de concentração máxima (C_{max}); representa a concentração mais elevada alcançada dentro do compartimento intravascular após administração do fármaco. O tempo em que ocorre o pico de concentração máxima (T_{max}), está nitidamente relacionado com a velocidade de absorção. Para que o fármaco seja terapeuticamente eficiente, é importante que atinja, por tempo suficiente, o nível plasmático efetivo, que é o nível mínimo para que atue eficientemente. E, para evitar riscos de reações tóxicas, não deve ultrapassar a concentração máxima tolerada (ZANINE & OGA, 1994).

A área sob a curva das concentrações sanguíneas em função do tempo (ASC) reflete a quantidade de medicamento que alcança a circulação sistêmica. Alterações no volume aparente de distribuição não influenciam o valor da ASC. A ASC é necessária para estimar outros parâmetros cinéticos, tais como a fração da dose do medicamento que alcança a circulação sistêmica, o volume aparente de distribuição, o "clearance" e o fluxo sanguíneo hepático. Emprega-se, também, para avaliar se a cinética do fármaco é de primeira ordem (ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD - OMS, 1992).

O método estatístico para avaliar a bioequivalência é baseado no intervalo de confiança de 90% para a razão das médias (teste/referência ou referência/teste/referência) para os parâmetros considerados, que deve estar dentro do intervalo de variação de 80-125%. Este método é equivalente ao procedimento do teste t bicaudal com a hipótese nula da bioinequivalência no nível de significância de 5%. A análise de estatística (p.ex.: ANOVA) deve levar em consideração as fontes de variação que podem ser responsáveis por algum efeito sobre a resposta.

A validade das hipóteses subjacentes à análise estatística (p.ex.: aditividade, normalidade) pode, freqüentemente, ser melhorada pela transformação dos dados antes da análise, preferivelmente usando a transformação logarítmica. Isto é sugerido para os parâmetros farmacocinéticos que derivam de medidas de concentração, p.ex.: ASC, C_{max} , e outras. Os métodos estatísticos para a análise de valores de T_{max} devem ser paramétricos.

Em casos específicos, como por exemplo para fármacos altamente variáveis, normalmente para C_{max} , o critério acima pode ser ajustado para um intervalo maior que 80-125%, de 70-143% (MARZO & BALANT, 1995; CPMP, 1998).

Outros parâmetros farmacocinéticos que podem ser avaliados para fornecer informações adicionais (ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD - OMS, 1992):

$T_{1/2}$: O tempo de meia-vida de eliminação indica o tempo necessário para que 50% do fármaco seja eliminado do organismo. Este depende do volume aparente de distribuição e do "clearance". A vida média tem várias aplicações práticas:

- * Para calcular o intervalo entre as doses e determinar a fração que deve ser administrada em cada intervalo;
- * Para prever o tempo necessário para alcançar o estado de equilíbrio;
- * Para prever o tempo necessário para eliminar totalmente o fármaco do organismo, e;
- * Para calcular o fator de acumulação de um fármaco depois da administração de doses múltiplas.

K_e : é a constante de eliminação, que indica a fração de fármaco eliminado por unidade de tempo e reflete a somatória das constantes de velocidade de excreção (renal, hepática e outras).

2.6 MONITORIZAÇÃO TERAPÊUTICA DA DROGA

É preciso ter em mente determinados detalhes práticos e armadilhas relacionadas à monitorização terapêutica da droga. O primeiro deles é o momento da coleta de material para determinação da concentração do fármaco. Quando se usa o esquema posológico intermitente, quando as amostras devem ser colhidas. É preciso diferenciar dois possíveis usos das medidas das concentrações dos fármacos para compreender a resposta possível. A concentração do fármaco medida em uma amostra colhida em qualquer momento durante intervalo posológico fornecerá informações que ajudam na avaliação da toxicidade do fármaco. Este é um tipo de monitorização. É preciso enfatizar, entretanto, que este uso é repleto de dificuldades por causa da variação individual na sensibilidade à substância. Quando existe a dúvida da toxicidade, a concentração do fármaco não pode ser mais que os muitos itens que servem para informar o monitor.

As alterações nos efeitos farmacológicos podem estar retardadas em relação às concentrações plasmáticas por causa de distribuição lenta ou de fatores farmacodinâmicos. Por conseguinte, as concentrações de substâncias em amostras colhidas logo após a administração da dose não são informativas e podem até levar a erros.

Quando se solicita a concentração de fármacos por ajustes posológicos, as amostras colhidas logo após a administração de uma dose quase sempre conduzem a erros. O objetivo da coleta durante o suposto equilíbrio dinâmico é modificar a estimativa de CL/F (depuração/ biodisponibilidade fracional da dose) e mudar a esco-

lha posológica. As concentrações pós-absortivas precoces não refletem a depuração e são determinadas basicamente pela taxa de absorção, pelo volume central de distribuição e não pelo equilíbrio dinâmico e pela taxa de distribuição, todos os quais são aspectos farmacocinéticos e virtualmente sem importância na escolha das doses de manutenção a longo prazo. Quando o objetivo do exame é o ajuste posológico, as amostras devem ser colhidas bem depois da dose anterior - como regra prática, pouco antes da próxima dose programada, quando a concentração está em seu mínimo. Existe uma exceção a esta regra : algumas substâncias são quase totalmente eliminadas entre as doses e atuam apenas durante a fase inicial de cada intervalo posológico. Se, no caso destas substâncias, é questionável que as concentrações eficazes estão sendo obtidas, uma amostra colhida logo após uma dose seria útil. Contudo, se a preocupação é em relação a depuração baixa (como insuficiência renal) que possa provocar acúmulo do fármaco, as concentrações medidas pouco antes das doses seguintes revelam este acúmulo e são bem mais valiosas do que o conhecimento da concentração máxima.

Um segundo aspecto importante do momento da coleta é a sua relação com início do esquema posológico de manutenção. Quando se administra uma dose constante, o equilíbrio dinâmico é atingido logo após quatro meias-vidas. Se a amostra for colhida muito cedo, após o início do esquema ela não refletirá com precisão a depuração. Contudo no caso de substâncias tóxicas, se espera até ser atingido o equilíbrio dinâmico, a lesão já pode ter ocorrido. Alguns parâmetros simples podem ser oferecidos. Quando é importante manter um controle cuidadoso das concentrações, pode-se colher a primeira amostra após terem passado duas meias-vidas (de acordo com o cálculo e expectativa para o paciente) desde que não tenha sido administrada qualquer dose de ataque. Se a concentração já ultrapassa 90% da concentração em equilíbrio dinâmico esperada final, a dose deve ser reduzida à metade, outra amostra obtida em mais duas meias-vidas (supostas) e a dose mais uma vez reduzida à metade se esta amostra exceder o alvo. Se a primeira concentração não for muito alta, procede-se com a posologia inicial. Mesmo que a concentração seja inferior que a esperada, em

geral pode-se esperar o equilíbrio dinâmico após mais duas meias-vidas calculadas e depois proceder ao ajuste posológico como já foi descrito.

Se as doses forem intermitentes, existe uma terceira preocupação com o momento da coleta das amostras para a determinação das concentrações dos fármacos. Se a amostra for colhida pouco antes da dose seguinte, como recomendado, a concentração terá valor mínimo, e não o valor médio (GOODMAN & GILMAN, 1994).

Se a substância tem uma cinética de primeira ordem, as concentrações média, mínima e máxima no equilíbrio dinâmico estão relacionadas de forma linear com a dose e taxa de administração. Por conseguinte, a relação entre a concentração medida e a desejada pode ser usada para ajustar a dose (GOODMAN & GILMAN, 1994):

$$\frac{\text{Css (medida)}}{\text{Css (desejada)}} = \frac{\text{Dose (anterior)}}{\text{Dose (nova)}}$$

3-CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 PROTOCOLO CLÍNICO

Trinta e quatro voluntários masculinos com idades entre 18 e 45 anos (24 ± 3.39 anos de idade) com altura entre 161 e 188 cm (174 ± 6.7 cm), pesando entre 56 kg e 91.5 kg (74.7 ± 9.3 kg), e dentro dos 15% do peso corpóreo ideal, participaram deste estudo. Todos foram esclarecidos, informados e assinaram o termo de consentimento para a participação como voluntários neste estudo e o protocolo clínico foi aprovado pelo Comitê de Ética para investigação clínica do Hospital Universitário (Universidade de São Paulo).

Os voluntários estavam isentos de insuficiência cardíaca, hepática, renal, pulmonar, neurológica, gastrointestinal e doenças hematológicas. Foram avaliados física e psicologicamente através de exames clínicos. Fez-se o ECG e os seguintes testes laboratoriais: glicose em jejum, uréia, creatinina, bilirrubina total, proteína total, fosfatase alcalina, transaminases, colesterol total, triglicérides, ácido úrico, (GT, hemoglobina, hematócrito, contagem de leucócitos total e diferencial, contagem de plaquetas, velocidade de sedimentação de eritrócitos, sorologia - AIDS, hepatite B e C, teste de gravidez nas mulheres (HCG), urina de rotina e parasitológico de fezes.

O estudo foi aberto, aleatório, cruzado, de três períodos com um intervalo de sete dias entre eles, para o "wash out" necessário. Durante o período do estudo os voluntários foram hospitalizados às 21:30 hs, já tendo jantado. Todos os voluntários permaneceram no quarto em jejum até três horas após a administração de uma das formulações de fentolamina às 7:00 hs da manhã seguinte: Regitina® (lotes 49691, 48753, 49690, 48754 e 49459, datas de vencimento: 02/2000, 02/2000, 03/2000, 02/2000 e 03/2000 respectivamente) como a formulação teste (Novartis S.A., Brasil) e Vasomax® (lotes 901, 904 and 906, data de vencimento: 05/2000) como a formulação referência (por Schering-Plough S/A, Brasil) com 200 ml de água.. Três horas após a administração do medicamento foi providenciado um leve café da manhã; um almoço e um jantar foram dados 5 e 12 horas após a administração do medicamento, respectiva-

mente. Nenhum outro alimento foi permitido durante a internação. A ingestão de líquidos à vontade (água e suco de laranja) foi permitida após o almoço, mas bebidas contendo xantina incluindo chá, café e cola foram evitadas. Em adição, não foi permitido fumar durante o período de internação. Outros medicamentos foram evitados durante o período de internação. Em todas as coletas, foram medidas a pressão arterial sistólica /diastólica e a frequência cardíaca.

3.2 INSCRIÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS

Somente indivíduos em boa forma física e psíquica participaram deste estudo, avaliados em exames clínicos e laboratoriais quatro semanas antes do início do mesmo.

3.2.1 Condições do estudo

Os voluntários permaneceram na Casa de Saúde Santa Rita, onde foram internados às 22:00 hs aproximadamente. A administração de 40mg da droga teste ou referência efetuou-se às 7:00 hs da manhã seguinte, permanecendo internados por mais 12 horas após a administração.

3.3 SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS

3.3.1 Critérios de inclusão

- a) Voluntários masculinos saudáveis;
- b) Idade entre 18 e 45 anos;

- c).Isenção de insuficiência cardíaca, hepática, renal, pulmonar, neurológica, gastrointestinal, histórico de doenças hematológicas e psíquicas, exames físicos, psíquicos e laboratoriais;
- d) Disponível para completar o estudo;

3.3.2 Critérios de exclusão

- a) Os que já participaram de estudos desta natureza, que não tenham no mínimo três meses entre o último e o seguinte estudo;
- b).Voluntários que tenham utilizado regularmente qualquer medicamento num período de até quatro semanas antes do início do estudo ou qualquer fármaco dentro de uma semana antes do estudo;
- c)Voluntários que tenham o histórico de alcoolismo ou utilização de drogas de abuso;
- d).Voluntários que ingerem regularmente mais do que duas unidades de álcool por dia (1 unidade = 1/2 copo de cerveja / 1 copo de vinho / 1 dose de destilado);
- e).Voluntários que pesem acima de 100 kg ou 15% acima do peso ideal;
- f) .Voluntários que fumam 15 ou mais cigarros por dia.

3.3.3 Critérios de dispensa de voluntários inscritos

A seguir estão os critérios usados para a dispensa de voluntários inscritos:

- a) Voluntários que não desejassem continuar participando do estudo por outras razões

- b) que não fossem os efeitos indesejados da droga estudada, como indisposição e intolerância ao procedimento do estudo;
- c) Efeitos indesejados da droga estudada;
- d) Anormalidades consideradas importantes pela avaliação dos exames clínicos e laboratoriais;
- e) Doença intercorrente necessitando medicação.

3.4 EFEITOS ADVERSOS DECORRENTES

Foi solicitado aos voluntários que notificassem qualquer efeito adverso e quando ocorreram. Foi também oferecida medicação adicional caso eles quisessem.

Alguns efeitos adversos ocorreram durante o estudo e foram reportados detalhadamente por completo nos relatórios clínicos individuais. Os voluntários foram questionados à respeito de como se sentiam e se algum evento diferente havia ocorrido durante o estudo.

Alguns voluntários com efeitos adversos foram acompanhados e monitorados com exames clínicos e laboratoriais até eles deixassem de ocorrer e todos os parâmetros voltassem ao normal.

3.5 COLETA DE SANGUE

As coletas de sangue para a avaliação da droga no plasma foram feitas através de veias braquiais logo após a administração da droga e aos 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360, 480, 600 and 720 minutos após a administração via oral da mesma. Em todas as coletas foram coletadas 10 ml de sangue através de " butterfly " ou seringa e transferido para tubo de ensaio transparente contendo anti-coagulante e fechado. Os tempos de coletas foram acompanhados por um relógio.

As amostras de sangue foram centrifugadas a 4.000 rpm por 10 minutos tendo o plasma foi recolhido e acondicionado a -200C até ser analisado .

3.6 EQUIPAMENTOS DE LABORATÓRIO

Pipetas ajustáveis (100 μ L, 200 μ L, 1000 μ L), Gilson "Pipetman", França.

Agitador vórtex Fisher Vortex Genie 2 adquirido da Fisher Scientific Laboratory Equipment, EUA.

Coluna analítica C8 4 μ m Genesis (150 x 4.6mm i.d.), adquirida da Jones Chromatography (lote n° FM15962E), Inglaterra.

Coluna suporte C8 4 μ m Genesis (10 x 4mm i.d.), adquirida de Jones Chromatography (part n. FH1962-2) (Lot 9629702), Inglaterra.

Ponteiras plásticas para micropipetas, Tipos: Amarela (tamanho 5-200 μ l) lote n.94300120 e Azul (tamanho 200-1000 μ L) lote n. 94300220, adquiridas da Unilab, São Paulo.

Tubos de ensaio de vidro 120 x 11mm, adquirido da Unilab, São Paulo.

Pipetas Pasteur (5.75") ou Pipetas capilares Pasteur (9") de comprimento.

Tubos Eppendorf's, adquiridos da Unilab, Sao Paulo.

Vials de vidro p/ auto-amostragem (1.1 CTVG) e tampas, Chromacol, EUA.

pH metro Quims modelo Q400P lote n. 610874, Cingapura.

Centrífuga multi-velocidade refrigerada Beckman modelo GPS, lote n. 349702, EUA.

Sistema de HPLC, Hewlett-Packard 1100 cromatografia líquida:

Modelos	lotes nº	Componentes
G1316A	US72102831	Componentes de Coluna
G1329A	DF73300308	Auto-amostrador
G1330A	DE73300312	Termostato do auto-amostrador
G1322A	JP73007583	Desgasificador
G1312A	US72102050	Bomba binária

Espectrômetro de massa : Micromass Quattro II, lote n. 6418E.

Sistema de dados : MassLynx (v 2.3) funcionando com Windows NT (v 4.0) num PC Digital Celebris GL 6200.

3.7 EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS

- i. Foi colocado um número apropriado de tubos de ensaio de vidro (não-siliconizados) num suporte . Os tubos devem ser enumerados de acordo com a ordem de coleta.
- ii. As amostras de plasma (0.2 ml) foram colocadas em duplicatas nos devidos tubos;.

iii. Foi adicionado em cada tubo tampão carbonato (0.2mL; 0.25M, pH 9.4) contendo padrão interno (50 ng/mL) , os tubos foram brevemente agitados num vórtex e ficaram em repouso por 5 minutos a temperatura ambiente. Este procedimento foi realizado utilizando-se micropipeta ajustável (200 µl).

iv. Eter Etílico/Diclorometano (4mL; 70:30) foi adicionado utilizando uma pipeta de vidro calibrada e os tubos foram agitados num vórtex por 40 segundos. Este processo foi realizado numa bancada de laboratório. (A adição de éter/diclorometano foi realizada utilizando um dispenser "Zipette-type").

v. A fase orgânica superior contendo a droga foi transferida por pipetas Pasteur para tubos de ensaio de vidro. Este processo foi realizado numa bancada de laboratório , embora seja recomendado que o faça numa capela.

vi. O solvente foi evaporado utilizando-se nitrogênio a 37 °C. Este processo foi realizado numa capela.

vii. A fase móvel (60% acetonitrila; 40% água, 10mM ácido fórmico, 200µL) foi adicionada aos tubos e agitou-se por 15 segundos para reconstituir os resíduos.

viii. A solução foi transferida para vials através de micropipetas automáticas utilizando ponteiros plásticos.

ix. Os vials foram fechados e colocados no suporte de auto-amostragem HP1100.

3.8 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

A cromatografia foi realizada numa coluna Genesis 4mm C8 150 x 4.6mm ajustada com uma coluna suporte de mesmo material. A pressão do sistema deveria ser

de 60 - 70 bar com uma nova coluna suporte colocada.

A coluna foi mantida a uma temperatura de 40 °C e um ajuste da coluna é necessário para evitar desperdício de tempo e vazamentos.

A temperatura do auto-amostrador foi mantida a 10 °C e o volume de injeção foi de 40 µL. Um recipiente de lavagem contendo 2 mL de fase móvel recentemente preparada foi colocado na posição #100 do suporte de auto-amostragem.

Uma alíquota de fase móvel de aproximadamente 1:15 foi injetada, no entanto, somente 50µL/min aproximadamente entrou no espectrômetro de massa. O tempo total de corrida foi de 3.5 minutos.

O tempo de retenção típico para o propranolol (MRM of 260.0 > 115.9), e fentolamina(MRM of 282.2 > 111.8) foi de 1.61 and 1.62 min, respectivamente.3.9.

3.9 CONDIÇÕES DE ESPECTROMETRIA DE MASSA

O Quattro II correu num módulo de eletrospray de ionização positiva (ES+). Os íon seguintes foram monitorados (Monitoramento de Múltipla Reação; MMR):

Channel Mass	Daughter	Dwell(secs)	Coll. Energy (eV)	Cone (V)
1 : 260.0	115.9	0.08	20.0	30.0
2 : 282.2	211.6	0.08	20.0	35.0

Um atraso no solvente não foi empregado durante o experimento de validação mas é recomendado que um atraso de 1.5 minutos seja incluído na rotina dos estudos.

3.10 ANÁLISE FARMACOCINÉTICA

Foram obtidos a concentração máxima observada (C_{max}) e o tempo necessário para atingir este nível máximo (T_{max}) da fentolamina. As áreas sob a curvas (ASC) da concentração da fentolamina foram calculadas utilizando o método trapezoidal de cálculo de áreas. A descrição estatística também descreveu a bioavaliação da referência.

A bioequivalência entre as formulações foi avaliada pelo cálculo das razões individuais (teste / referência 1; teste / referência 2; referência 1 / referência 2) dos parâmetros: C_{max} , T_{max} , $ASC_{0-720min}$, $ASC_{0-\infty}$, $ASC_{0-720min} / ASC_{0-\infty}$ e $T_{1/2}$ pelas diferenças individuais, com suas respectivas médias e intervalo de confiança de 90% (IC 90%). Neste intervalo de confiança avaliou-se se as razões estavam dentro da variação de bioequivalência, e, para as diferenças, se o valor zero estava incluído neste intervalo, usando-se testes paramétricos (ANOVA, com transformação logarítmica dos dados) e não paramétricos.

O software descrito à seguir foi utilizado:

1. WinNonLin Professional Network Edition, Versão 3.2 adquirido da Scientific Consulting, Inc., registrado para Farmacologia Clínica - ICB-USP
(o número de série é disponível por pedido);
2. Programa de bioequivalência para estudos de três períodos cruzados, Versão 3.4, por Herman P. Wijnand;
3. Microsoft Excel Versão 7.0.

3.11 LISTA DE RANDOMIZAÇÃO

Voluntários		Sequência de administração		
Número	Iniciais	1	2	3
I	HHJ	R1	T	R2
II	MMPS	R1	T	R2
III	RPM	R1	T	R2
IV	WA	R1	T	R2
V	RJA	R2	T	R1
VI	VJO	R2	T	R1
VII	JSS	R2	T	R1
VIII	GSR	T	R1	R2
IX	AM	T	R1	R2
X	MS	T	R2	R1
XI	ABOJ	T	R2	R1
XII	JMPP	R1	R2	T
XIII	ECSA	T	R1	R2
XIV	RFF	T	R2	R1
XV	JCM	R1	T	R2
XVI	KNS	T	R1	R2
XVII	LAOV	T	R1	R2
XVIII	JASS	T	R2	R1
XIX	MLO	T	R2	R1
XX	FZ	R1	T	R2
XXI	PLFR	R2	T	R1
XXII	JB	T	R1	R2
XXIII	MF	R2	T	R1
XXIV	ECP	T	R2	R1
XXV	AJFS	R2	T	R1
XXVI	DOB	R1	R2	T
XXVII	GSB	R1	R2	T
XXVIII	JBC	R1	R2	T
XXIX	JGS	R1	R2	T
XXX	RPTF	R1	R2	T
XXXI	FGM	R2	R1	T
XXXII	WCS	R2	R1	T
XXXIII	MHS	R2	R1	T
XXXIV	LCM	R2	R1	T
XXXV	JBS	R2	R1	T
XXXVI	GYS	R2	R1	T

4.RESULTADOS

O ensaio clínico transcorreu normalmente, não sendo relatados quaisquer efeitos colaterais ou reações adversas, nem quaisquer alterações nos exames laboratoriais dos 34 voluntários que participaram do estudo, portanto, as formulações foram consideradas bem toleradas na dose administrada.

As figuras 2(A) e 2(B) mostram os cromatogramas do branco obtidos por monitoramento de reação múltipla (MRM) de propranolol (MRM of 260.0 > 115.9), e fentolamina (MRM of 282.2 > 211.8). Já a figura 3(A) mostra típico cromatograma de massas obtido de amostra contaminada com propranolol (50.0 ng/ml, tempo de retenção 1.70 min). E figura 3(B) representa a amostra de plasma coletada após administração de fentolamina 40.0 mg, via oral, com tempo de retenção de 1.67 min.

A figura 4 apresenta as médias das concentrações plasmáticas (média aritmética) em função do tempo para fentolamina, após a administração de 40.0 mg de cada uma das formulações teste (Regitina®) e referência (Vasomax®).

Os parâmetros farmacocinéticos obtidos para as duas formulações farmacêuticas de fentolamina (Regitina® e Vasomax®, comprimidos de 40 mg) são mostrados na análise estatística.

Análises paramétricas e não paramétrica das razões individuais e diferenças individuais dos parâmetros farmacocinéticos foram descritas na análise estatística também.

VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA DO ENSAIO CROMATOGRÁFICO

Precisão e exatidão

Três amostras de controle de qualidade QCA, QCB e QCC foram preparadas por contaminação do plasma humano para obtenção de concentrações finais: 1.00, 5.00 e 20.0 ng/ml de fentolamina. Exatidão e precisão foram calculadas à partir dos controles

entre as corridas. Os controles de qualidade foram preparados em quantidade suficiente para a monitorização contínua da precisão e exatidão do método analítico. Após o preparo, os controles foram aliquotados em tubos “ eppendorf “ e estocados a - 20°C até posterior análise.

Durante a realização do estudo cada uma das três concentrações, estocadas em tubo “ eppendorf “, é descongelada e analisada em duplicata conjuntamente com as demais amostras a intervalos adequados e dependendo do número total de amostras. A precisão e exatidão do inter-ensaio, realizado em dias sucessivos, foram determinadas através da análise de seis amostras de controle de qualidade (Duas QCA, duas QCB e duas QCC) juntamente com as demais amostras em estudo, a intervalo de dez em dez amostras e dependendo do número total de amostras (vide tabela 3 inter-ensaio).

A tabela 3 resume os resultados de precisão e exatidão para inter-ensaio dos controles de qualidade (1.00, 5.00 e 20.0 ng/ml).

Linearidade

A curva de calibração foi linear no intervalo de 0.1 – 40.0ng/ml, com coeficiente de regressão igual ou maior do que 0.995.

O limite de quantificação foi definido como o menor ponto da curva padrão para o qual a precisão e exatidão foram $\leq 20\%$ (KARNES, SHIU, SHAH, 1991; BRAGGIO *et al*, 1996). O limite de quantificação (LOQ) foi 0.1 ng/ml no plasma para a fentolamina, aliquotas de 0.2 ml.

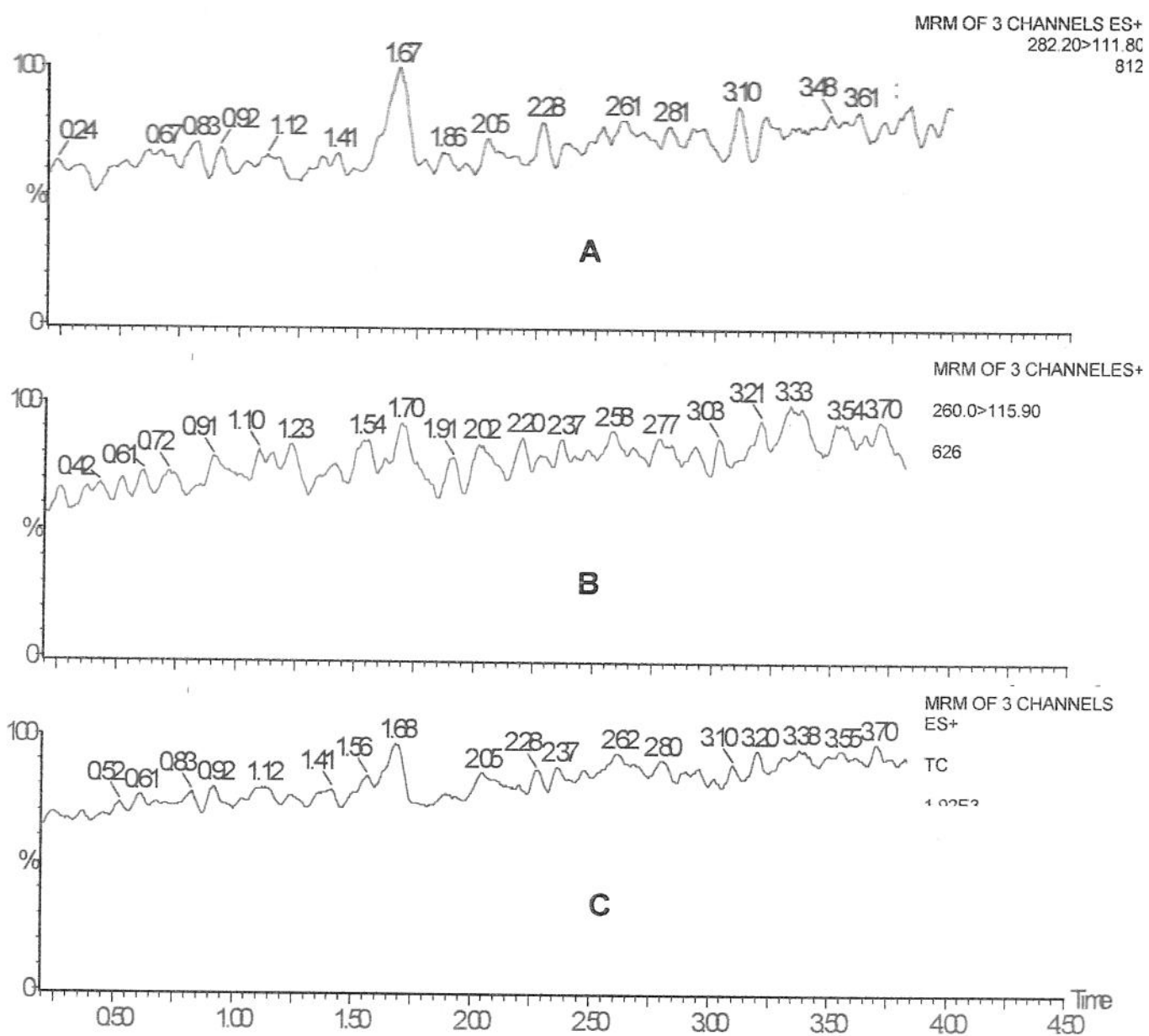


Figura 2: Cromatograma do plasma humano branco: (A) Fentolamina; (B) Propanolol ; (C) Fase Móvel.

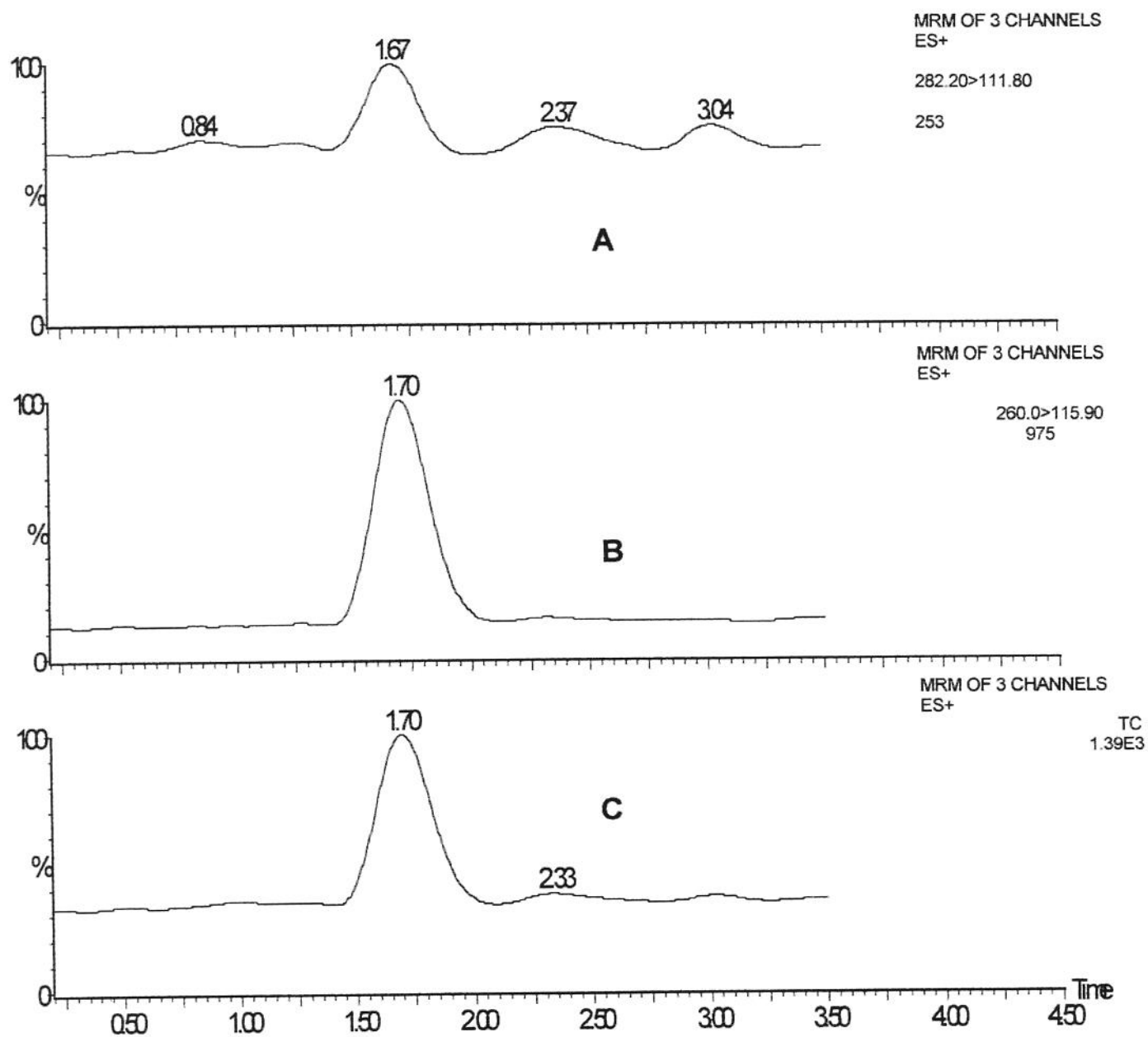


Figura 3: Cromatograma do LOQ: (A) Fentolamina; (B) Propanolol; (C) Fase Móvel

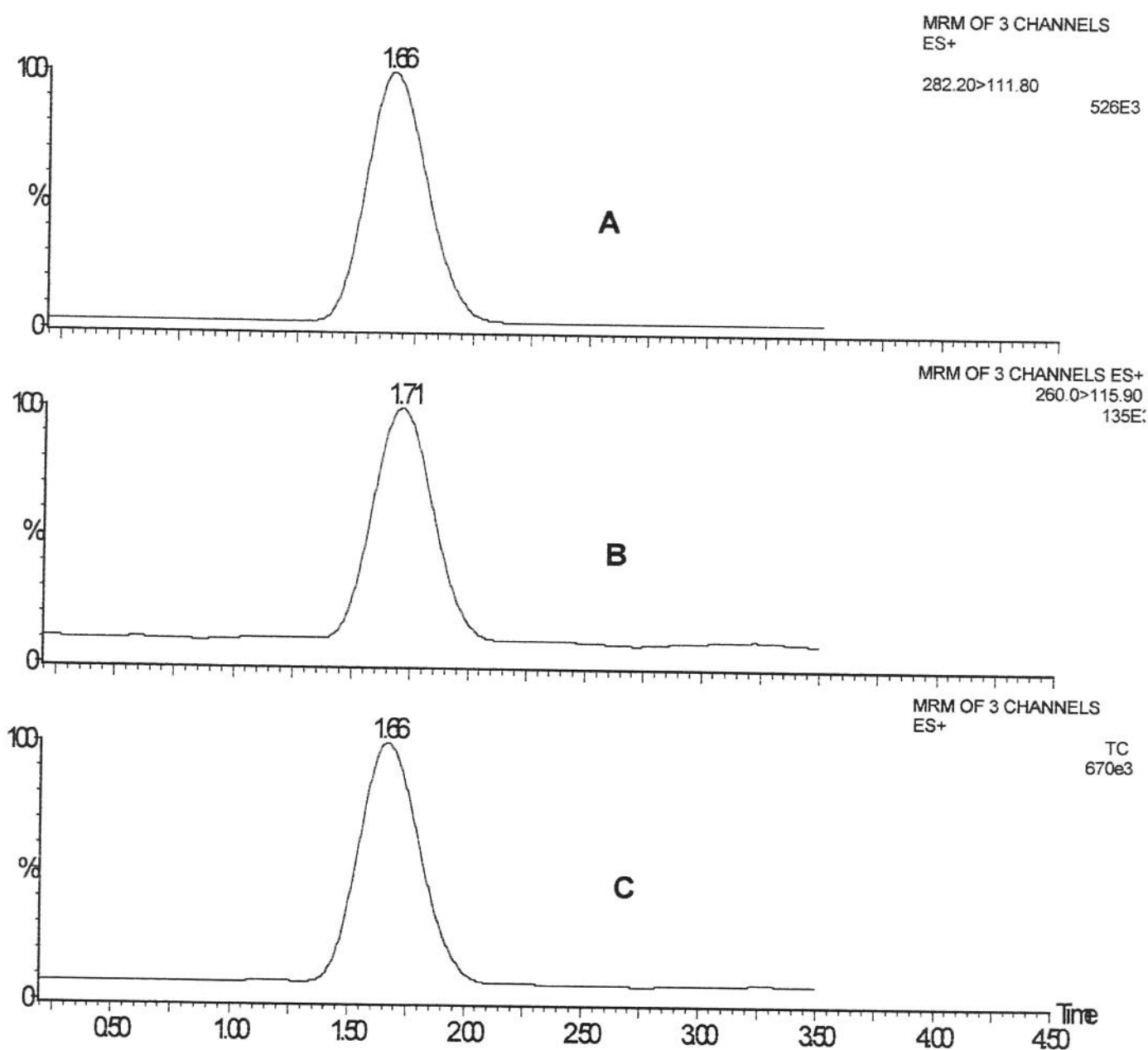


Figura 4: Cromatograma do Ponto Alto: (A) Fentolamina; (B) Propanolol; (C) Fase Móvel

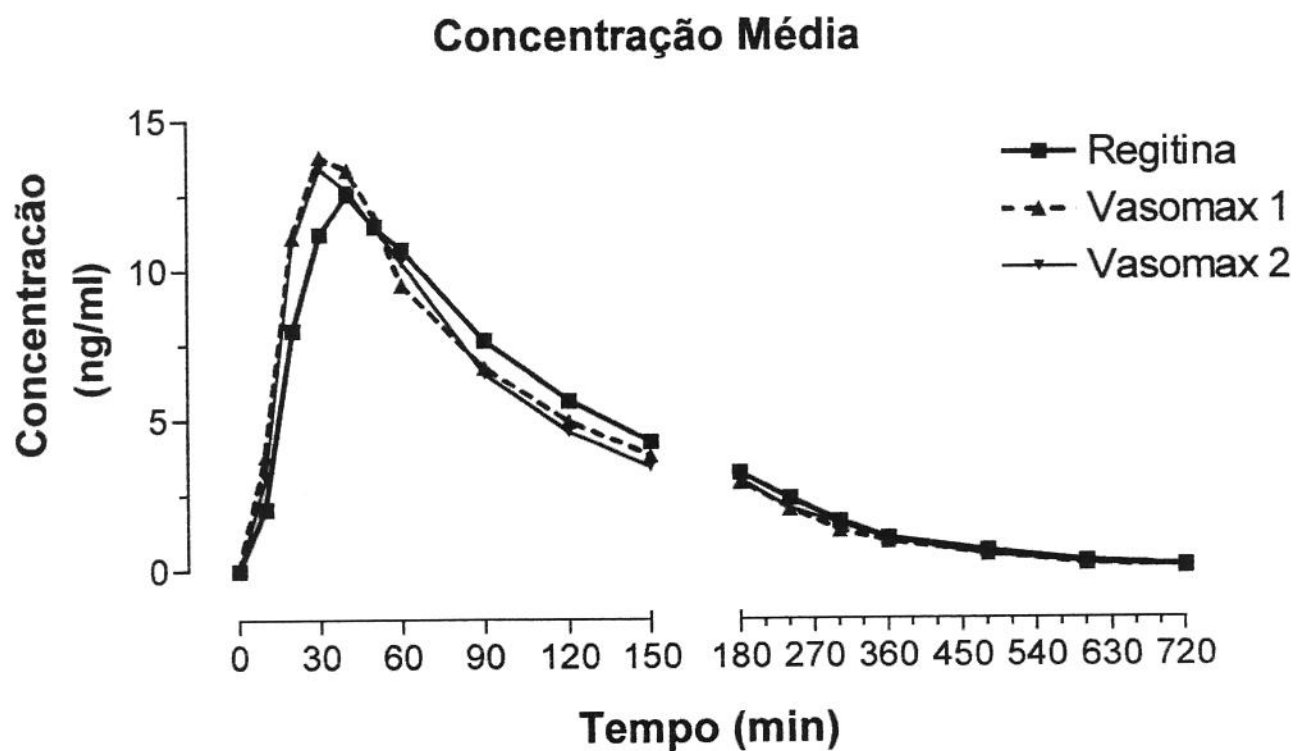


Figura 5: Médias das concentrações plasmáticas (média aritmética) da fentolamina em função do tempo, após administração da dose única (40 mg) de cada formulação de fentolamina (Regitina[®] , Vasomax[®] 1 e Vasomax[®] 2) a 34 voluntários sadios.

	Regitina® Média (DP)	Vasomax®1 Média (DP)	Vasomax®2 Média (DP)
AUC all (0-720min)	1612 (586)	1539 (572)	1545 (608)
AUC Inf	1688 (610)	1607 (585)	1622 (616)
AUCall (0-720min) / Inf (%)	95.5	95.7	95.3
C _{max} (ng/ml)	15.2 (6.8)	15.1 (6.3)	14.8 (7.2)
T _{max} (min)	40 (20-150)	35 (20-60)	30 (20-120)
T _{1/2} (min)	120 (51)	115 (48)	120 (54)

Tabela 1 : Parâmetros farmacocinéticos (média aritmética $\pm$ DP) da fentolamina após administração oral de dose única (40 mg) de duas formulações em três fases, exceto para T_{max} (média aritmética e intervalo de tempo). Onde DP é o desvio padrão.

Controles	Média	CV	DP
QCA (1 ng/ml)	1.338	7.1	0.095
QCB (5 ng/ml)	5.959	3.1	0.185
QCC (20 ng/ml)	20.528	3.5	0.718

Tabela 2 : Controles p/ Validação do Método de Análise da Fentolamina

**4.1 ANÁLISE ESTATÍSTICA DA "REGITINA" (REGITINA® 40 mg COMPRIMIDOS)
vs. "VASOMAX 1" (VASOMAX® 40 mg COMPRIMIDOS) vs. "VASOMAX 2"
(VASOMAX® 40 mg COMPRIMIDOS)**

	Razão[%Ref]	CI_90_Mínimo	CI_90_Máximo	Prob<80.00	Prob>125.00	MaxProb
Ln(Tmax)	104.05	86.65	124.9	0.0000	0.0000	0.0000
Ln(Cmax)	99.20	89.70	109.71	0.0003	0.0001	0.0003
Ln(AUClast)	95.79	89.11	102.98	0.0000	0.0000	0.0000
Ln(AUCall)	96.00	89.41	103.07	0.0000	0.0000	0.0000
Ln(AUCINF)	96.06	89.57	103.02	0.0000	0.0000	0.0000

Tabela 3: Análise estatística inter-estudo: Regitina® vs Vasomax®1 vs Vasomax® 2.

4.2 DADOS INDIVIDUAIS DE CONCENTRAÇÃO.(ng/ml) PLASMÁTICA (Tabela)

Voluntário	1			2			3		
Minutos	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	Excluído	Excluído	Excluído
10	1.7	1.4	4.4	2.2	0.0	4.6	Excluído	Excluído	Excluído
20	11.3	3.7	22.6	5.9	13.5	6.4	Excluído	Excluído	Excluído
30	Não incluído	7.2	22.6	14.1	8.7	5.2	Excluído	Excluído	Excluído
40	6.8	19.8	15.6	14.6	8.8	4.7	Excluído	Excluído	Excluído
50	5.0	18.3	12.9	11.2	6.7	3.8	Excluído	Excluído	Excluído
60	5.1	9.4	11.1	8.6	5.7	3.5	Excluído	Excluído	Excluído
90	6.6	4.4	3.2	6.1	4.5	2.7	Excluído	Excluído	Excluído
120	4.8	2.7	1.7	3.5	4.0	2.9	Excluído	Excluído	Excluído
150	1.5	2.2	1.8	3.4	3.2	3.0	Excluído	Excluído	Excluído
180	1.1	2.1	1.7	3.2	2.6	2.3	Excluído	Excluído	Excluído
240	1.2	1.8	1.3	2.8	1.9	1.6	Excluído	Excluído	Excluído
300	0.4	0.9	0.9	2.0	1.4	1.4	Excluído	Excluído	Excluído
360	0.4	0.8	0.5	1.4	0.7	0.8	Excluído	Excluído	Excluído
480	0.0	0.6	0.0	0.4	0.4	0.4	Excluído	Excluído	Excluído
600	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	Excluído	Excluído	Excluído
720	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	Excluído	Excluído	Excluído
Voluntário	4			5			6		
Minutos	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10	3.0	1.2	0.4	0.0	2.3	0.0	3.9	4.9	6.9
20	9.6	5.3	0.6	0.0	5.1	2.1	7.5	16.2	11.7
30	10.9	17.7	0.4	0.4	7.9	2.5	6.9	17.6	12.3
40	10.0	18.4	0.5	1.3	7.9	4.7	5.2	15.8	10.5
50	7.4	19.0	0.0	2.3	7.2	3.7	5.1	13.6	7.1
60	7.0	12.6	0.0	2.8	5.9	3.6	Não incluído	10.8	5.0
90	6.0	8.1	5.5	3.2	4.2	2.7	2.6	7.1	3.9
120	4.8	6.0	5.9	3.5	3.5	1.9	1.6	2.7	2.4
150	3.4	4.1	4.2	3.7	3.4	2.9	1.5	2.6	2.2
180	3.3	3.8	4.6	3.0	2.9	2.9	1.0	2.5	2.0
240	2.5	2.7	2.9	2.3	1.8	1.8	0.8	1.2	1.8
300	2.0	1.3	2.5	2.4	0.9	1.5	0.6	1.7	1.0
360	1.5	1.2	2.0	1.7	1.0	1.3	0.3	1.2	0.9
480	1.1	0.7	0.9	0.9	1.4	1.0	0.3	0.3	0.4
600	0.5	0.6	0.7	0.6	0.4	0.3	0.0	0.0	0.2
720	0.4	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0

Voluntário	7			8			9		
Minutos	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2
0	Excluído	Excluído	Excluído	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10	Excluído	Excluído	Excluído	1.1	15.5	5.4	0.8	15.4	15.3
20	Excluído	Excluído	Excluído	1.6	22.8	Não incluído	26.6	22.5	21.0
30	Excluído	Excluído	Excluído	3.7	17.6	16.8	25.9	17.3	19.2
40	Excluído	Excluído	Excluído	11.2	13.8	13.4	17.5	11.2	15.9
50	Excluído	Excluído	Excluído	19.4	13.6	11.1	14.4	8.0	8.9
60	Excluído	Excluído	Excluído	17.5	12.5	10.6	10.5	6.3	8.1
90	Excluído	Excluído	Excluído	13.6	8.7	6.6	7.6	5.2	5.3
120	Excluído	Excluído	Excluído	11.1	7.7	4.9	4.6	4.9	3.9
150	Excluído	Excluído	Excluído	9.1	6.6	4.0	4.5	4.0	3.8
180	Excluído	Excluído	Excluído	5.1	4.5	4.1	3.9	3.4	3.2
240	Excluído	Excluído	Excluído	4.6	3.5	2.7	2.5	3.2	2.3
300	Excluído	Excluído	Excluído	2.0	1.9	2.1	1.9	1.8	1.5
360	Excluído	Excluído	Excluído	1.2	1.2	1.6	0.6	1.3	1.0
480	Excluído	Excluído	Excluído	0.9	0.7	0.0	0.4	0.4	0.5
600	Excluído	Excluído	Excluído	0.0	0.0	0.0	0.4	0.3	0.4
720	Excluído	Excluído	Excluído	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0
Voluntário	10			11			12		
Minutos	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10	2.0	3.9	6.1	1.0	0.3	0.7	0.4	1.5	0.3
20	21.4	11.7	16.3	6.5	4.2	5.2	4.0	10.1	5.8
30	18.6	20.1	18.8	7.3	5.2	6.3	12.5	13.5	13.3
40	17.3	16.7	11.8	7.3	8.8	5.0	14.2	16.1	14.7
50	12.3	12.9	8.6	9.4	7.3	4.3	13.2	10.2	14.7
60	11.2	11.6	7.7	8.3	6.8	5.2	10.8	12.5	11.2
90	6.6	9.9	4.9	7.1	4.5	4.3	7.0	7.6	6.9
120	4.9	4.8	3.8	6.1	3.2	2.7	4.1	5.7	5.2
150	4.0	2.7	3.3	3.9	3.1	2.6	2.9	3.1	2.6
180	3.0	1.5	2.5	3.4	2.7	1.7	2.6	1.8	1.8
240	2.3	1.4	1.7	2.6	2.2	1.0	1.0	0.9	0.9
300	1.3	1.1	1.0	1.5	1.5	0.8	0.7	0.0	0.5
360	0.9	0.8	0.7	1.1	0.6	0.2	0.0	0.0	0.4
480	0.4	0.0	0.4	1.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0
600	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
720	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Voluntário	13			14			15		
Minutos	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10	0.6	7.3	0.8	1.5	0.0	1.4	0.0	0.4	1.2
20	7.1	14.7	6.7	4.2	0.3	4.7	1.3	14.4	12.3
30	14.7	14.3	12.6	5.3	1.0	7.9	8.8	19.4	15.0
40	21.0	9.6	19.3	10.1	7.2	8.2	15.1	13.9	11.5
50	14.8	8.9	19.4	8.4	12.2	6.6	14.5	12.6	11.3
60	11.4	6.2	18.6	6.3	5.3	6.0	9.5	6.8	8.1
90	5.5	4.7	8.7	3.6	4.3	3.9	6.1	6.1	4.9
120	3.1	4.1	4.3	2.5	3.0	2.9	5.8	4.8	3.6
150	2.9	2.8	3.1	1.8	1.8	2.3	4.9	3.9	2.7
180	2.0	2.0	2.8	1.9	1.0	2.1	3.4	3.7	2.5
240	1.9	1.3	1.8	1.6	0.8	1.9	3.4	2.7	1.7
300	1.2	1.1	1.1	1.1	0.3	1.7	1.6	1.7	1.6
360	0.7	1.0	1.1	0.6	0.3	1.0	1.0	1.0	1.1
480	0.7	0.5	0.9	0.4	0.0	0.3	0.2	0.6	0.8
600	0.4	0.2	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.3
720	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Voluntário	16			17			18		
Minutos	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10	1.1	0.0	0.0	0.0	2.9	0.8	6.9	1.7	3.6
20	2.6	0.2	3.2	0.5	9.1	5.7	21.4	13.9	13.5
30	8.0	2.2	3.8	1.9	10.8	9.3	16.7	26.3	12.6
40	14.1	4.5	3.4	6.0	7.8	9.6	16.7	20.2	9.5
50	7.4	6.5	4.0	11.3	7.0	11.7	11.3	15.9	9.4
60	6.7	5.3	3.9	12.6	9.1	12.6	8.6	14.5	8.5
90	5.6	3.5	3.5	8.9	6.7	9.6	5.7	8.9	6.7
120	5.0	3.0	2.7	6.6	5.9	6.6	4.8	5.9	5.0
150	4.5	2.9	1.7	3.8	4.8	3.3	3.1	3.7	2.9
180	3.4	2.4	1.2	1.5	4.4	3.2	3.2	3.0	2.9
240	1.9	1.7	1.0	1.6	2.0	2.1	2.1	2.4	1.9
300	0.9	0.4	0.5	1.5	1.7	1.4	1.1	1.8	1.8
360	1.0	0.0	0.4	0.8	1.6	1.1	1.1	1.2	0.9
480	0.3	0.0	0.0	0.6	0.9	0.8	0.7	1.1	0.5
600	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0
720	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Voluntário	19			20			21		
Minutos	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10	0.9	0.0	0.0	0.0	9.8	2.3	0.7	0.5	4.2
20	12.5	0.0	2.4	0.2	27.4	22.2	3.8	3.7	16.5
30	30.7	3.8	9.4	1.3	24.8	30.5	9.6	9.2	21.6
40	21.6	13.5	21.8	6.4	21.0	30.0	11.7	9.3	18.6
50	16.7	9.6	23.3	20.1	14.9	29.7	10.4	6.9	13.9
60	11.2	7.3	17.5	27.6	12.8	27.9	7.7	5.6	10.9
90	6.9	4.7	9.5	16.8	9.3	13.3	4.2	3.5	6.7
120	5.1	3.2	4.6	9.7	6.6	7.4	3.7	3.0	5.5
150	3.9	2.1	2.8	5.5	5.1	4.8	3.3	2.8	4.8
180	3.8	1.9	2.6	4.7	3.6	3.9	3.1	2.4	3.6
240	1.8	1.7	1.6	2.5	3.3	3.2	1.9	1.3	1.9
300	1.3	1.4	1.6	2.0	1.4	2.3	1.4	0.9	1.5
360	1.3	0.9	0.8	0.7	0.7	1.5	1.1	0.5	1.1
480	1.3	0.5	0.5	0.0	0.0	0.2	0.7	0.5	0.7
600	1.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.2	0.2	0.3
720	0.8	0.3	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Voluntário	22			23			24		
Minutos	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10	13.4	3.5	1.8	6.1	0.8	0.0	0.0	3.9	1.5
20	16.8	7.2	11.3	14.5	3.7	3.6	0.0	16.0	7.3
30	13.1	7.5	15.1	17.8	9.1	13.6	0.3	14.2	15.0
40	13.4	8.5	12.6	15.5	15.2	21.2	3.8	12.5	11.0
50	11.9	10.5	12.5	12.7	13.8	24.0	9.1	11.6	9.9
60	11.4	11.5	11.8	10.3	13.5	22.7	12.5	9.6	8.5
90	8.3	8.9	7.0	5.7	9.7	13.4	15.9	9.3	7.6
120	5.8	7.6	4.6	5.0	6.0	10.6	14.2	6.4	5.7
150	4.8	5.6	3.7	4.2	3.9	4.1	10.3	5.9	4.9
180	3.8	4.2	2.9	3.6	3.0	4.4	4.5	3.8	4.4
240	3.3	2.8	1.9	1.9	1.8	3.0	2.7	2.0	2.8
300	2.2	2.4	1.3	1.6	1.2	2.5	1.8	1.6	1.8
360	2.2	1.6	0.7	1.1	1.3	1.8	0.0	0.8	0.8
480	1.3	1.4	0.6	0.7	0.5	0.8	0.0	0.2	0.0
600	0.7	0.6	0.4	0.3	0.4	0.4	0.0	0.0	0.0
720	0.3	0.3	0.0	0.2	0.3	0.4	0.0	0.0	0.0

Voluntário	25			26			27		
Minutos	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10	0.0	4.8	4.1	0.3	5.7	1.1	3.9	1.6	1.5
20	3.7	15.7	14.1	2.6	18.9	8.8	8.5	8.7	5.6
30	17.7	23.4	19.9	9.4	19.7	10.6	11.2	17.1	8.4
40	24.7	19.9	13.6	18.8	15.6	11.8	7.6	15.8	11.3
50	16.2	18.6	10.8	13.0	12.2	11.6	6.7	11.1	8.5
60	13.6	14.7	7.3	12.5	9.6	14.9	7.0	6.8	7.3
90	11.2	8.5	5.9	9.5	7.8	11.4	4.4	5.2	4.2
120	5.9	5.1	4.5	7.5	6.7	7.7	3.4	3.6	3.0
150	4.5	4.5	3.7	5.5	5.9	6.3	2.7	3.3	2.4
180	2.7	4.6	3.5	4.0	2.2	4.8	2.2	2.4	1.8
240	2.9	2.7	2.9	3.5	2.0	2.8	1.3	1.1	0.9
300	1.6	1.9	2.5	2.7	1.7	2.0	0.9	0.5	0.5
360	1.2	1.5	1.6	1.6	1.4	1.1	0.8	0.4	0.3
480	0.3	0.5	0.5	0.8	0.7	0.8	0.5	0.0	0.0
600	0.0	0.0	0.0	0.4	0.3	0.2	0.3	0.0	0.0
720	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Voluntário	28			29			30		
Minutos	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10	1.0	4.3	7.2	2.6	1.9	6.6	13.6	10.9	1.3
20	17.5	5.5	21.5	4.2	14.1	32.4	24.5	22.7	9.5
30	17.2	5.7	12.9	7.4	23.4	26.8	16.6	21.5	13.8
40	11.1	4.9	9.5	15.5	19.3	23.0	12.8	17.9	16.3
50	10.9	9.5	8.6	15.2	18.2	19.2	13.4	13.9	14.7
60	10.4	7.5	7.8	17.3	15.3	17.0	9.6	11.4	12.6
90	6.8	6.5	6.5	16.0	8.7	8.2	7.6	8.7	10.7
120	5.3	5.4	4.2	10.2	6.5	6.2	5.8	6.6	8.2
150	5.0	4.0	4.4	6.9	4.9	4.4	5.8	4.7	6.0
180	4.4	2.6	3.4	4.7	3.7	3.6	3.3	3.7	4.5
240	3.7	1.8	2.4	3.2	2.3	2.8	2.2	3.0	3.4
300	2.6	1.1	1.6	2.6	1.3	1.8	1.6	2.6	2.5
360	1.1	0.9	1.1	2.2	1.1	1.3	1.5	1.8	1.0
480	0.7	0.5	0.4	1.2	0.6	0.7	0.7	0.9	0.6
600	0.4	0.0	0.0	0.6	0.4	0.4	0.4	0.7	0.5
720	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.2	0.2	0.0

Voluntário	31			32			33		
Minutos	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10	1.7	0.0	1.1	0.7	1.1	0.7	7.3	0.4	3.7
20	4.6	0.7	6.8	3.7	4.3	3.4	9.0	0.5	8.2
30	5.7	2.3	10.3	7.6	5.1	2.7	7.6	2.8	6.5
40	7.4	3.6	13.5	4.8	6.8	3.3	6.0	7.0	4.9
50	7.4	6.3	11.4	4.6	8.0	4.2	4.8	9.3	4.5
60	7.4	9.8	9.7	4.4	7.3	6.6	4.5	11.4	4.0
90	4.7	7.1	5.7	3.2	6.3	5.8	2.3	6.8	3.4
120	4.2	4.2	3.8	2.5	4.8	3.7	2.0	4.8	2.5
150	3.7	3.3	2.8	2.0	2.7	3.0	1.4	3.3	2.0
180	2.0	2.3	2.3	1.2	1.8	1.5	1.4	2.0	2.0
240	1.5	1.7	1.5	0.7	1.0	1.4	0.8	0.9	1.1
300	1.0	1.3	0.9	0.5	0.4	1.0	0.5	0.6	0.5
360	0.8	0.7	0.4	0.2	0.0	0.5	0.5	0.3	0.4
480	0.3	0.5	0.4	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0
600	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
720	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Voluntário	34			35			36		
Minutos	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2	Regitina	Vasomax1	Vasomax2
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10	6.2	0.4	0.0	0.0	1.6	3.6	0.0	0.2	0.0
20	7.8	2.0	0.3	0.4	5.4	12.5	0.9	1.7	0.3
30	9.8	3.6	6.6	2.0	8.3	9.9	2.1	3.6	0.8
40	11.6	3.6	9.8	6.2	6.8	7.7	2.3	4.4	2.3
50	11.2	3.8	10.9	8.7	5.5	6.7	2.6	2.7	3.4
60	9.5	5.3	8.0	10.9	4.6	5.8	2.1	2.3	4.0
90	5.1	5.1	6.2	7.4	3.8	4.5	1.8	1.2	3.5
120	4.5	4.7	3.7	5.2	3.2	3.1	1.5	0.8	3.0
150	2.9	3.4	2.7	3.1	3.1	2.6	1.5	0.6	2.0
180	2.1	1.8	1.9	2.6	2.5	2.5	1.1	0.4	1.5
240	1.0	1.1	1.2	1.5	1.4	1.4	0.9	0.3	0.9
300	0.8	1.0	1.0	1.2	1.0	1.2	0.8	0.2	0.4
360	0.5	0.4	0.5	0.7	0.6	0.9	0.3	0.0	0.4
480	0.0	0.3	0.4	0.3	0.3	0.5	0.0	0.0	0.3
600	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
720	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

* Para a análise estatística todos os pontos estatísticos " não incluídos " foram interligados. Zeros são zeros verdadeiros ou quantidades " não quantificadas " ..

5. CONCLUSÕES

A implantação dos medicamentos genéricos no Brasil é fato recente e a importância desse mercado para a população começa a se revelar frente à promoção do uso racional de medicamentos. Assim, os estudos de bioequivalência vêm acrescentar novo conceito de qualidade para o medicamento, contribuindo para um maior controle de preço e qualidade do ponto de vista governamental e favorecendo a população o nos âmbitos econômico e da terapêutica.

Os métodos publicados para a quantificação de fentolamina empregaram tanto detecção U.V. quanto espectrometria de massa. Todos esses métodos requisitaram extração em fase sólida e são altamente sensíveis, porém o tempo utilizado na etapa de extração é relativamente “ longo “ (CARLIN , CRISTOFALO, VANDENHEUVEL, 1988; CONSTANZER, MATUSZEWSKI, BAYNE, 1991; CONSTANZER, CHAVEZ, MATUSZEWSKI, 1994).

Já o método proposto por MATUSZEWSKI, CONSTANZER, CHAVEZ (1998), que não utiliza extração em fase sólida, emprega extração com tampão seletivo apresentando baixa interferência da matriz biológica sobre os anallitos, porém, esse método requer um maior tempo de análise (6 minutos) ao comparar-se com o nosso método (4 minutos). Além disso a extração utilizada no presente estudo foi líquido-líquido (éter etílico / diclorometano).

Os resultados da validação indicaram que o método é preciso e exato análise rotineira da fentolamina em plasma humano, desta forma, possibilitando a análise de maior número de amostras em menor intervalo de tempo.

O método descrito neste estudo provou-se simples e confirmou que LC-MS/MS apresenta adequada sensibilidade e especificidade para determinação de fentolamina em plasma humano (HUANG *et al.*, 1990).

Com base neste método, avaliamos a bioequivalência de duas formulações empregando a medida das concentrações plasmáticas de fentolamina de acordo com as normas requeridas pelo FDA e Comunidade Européia.

Sendo assim a condução de um estudo de bioequivalência precisa considerar os vários fatores que interferem e contribuem para a obtenção dos resultados, como por exemplo: delineamento aberto e cruzado, dieta adotada, aspectos éticos, farmacocinética e tempo de coleta, método analítico empregado, análise estatística, variabilidade inter-individual, entre outros (FRIEDMAN, 1996).

A análise estatística dos parâmetros farmacocinéticos é realizada mediante o emprego de testes quase exclusivos para este tipo de estudo. Assim, os estudos farmacocinéticos têm demonstrado diferentes dados inter-individuais.

Quanto à absorção, distribuição, metabolismo eliminação de vários fármacos (MUNGAL, 1983). Por esse motivo, os parâmetros farmacocinéticos têm sido aplicáveis à clínica como base na escolha de doses, vias de administração, intervalos entre as doses, evitando dessa forma concentrações tóxicas ou subterapêuticas, bem como ajuste da dose em casos de distúrbios hepáticos e renais (FUCHS & WANNMACHER, 1998).

Segundo DILETTI (1991) há grande variabilidade inter-individual no "clearance", e por essa razão, o delineamento cruzado é recomendado para estudos de bioequivalência. Assumindo que o delineamento cruzado de 3 períodos, que compare formulação teste com referência, postula-se ausência de interação entre formulação e período,. Além disso, assume-se que as observações são obtidas da distribuição log-normal e que as variâncias de teste e referência são as mesmas na escala logarítmica.

Basicamente os testes estatísticos aplicados dividem-se em dois grupos: os paramétricos, que levam em consideração uma distribuição populacional log-normal (HAUSCHKE, 1994); não paramétricos, que independem do tipo de distribuição.

Ambos os métodos estatísticos apresentam o mesmo objetivo: obtidas as razões individuais entre as formulações teste / referência para ASC, C_{max} (ou outra variável farmacocinética diferente de T_{max}), calcula-se um valor médio (aritmético ou geométrico) contido no intervalo de confiança de 90% e analisa-se a inclusão destas razões individuais no intervalo de confiança requerido para bioequivalência (80-125%).

Um dos parâmetros importantes para se avaliar a velocidade de absorção é a concentração máxima atingida (C_{max}). De acordo com o FDA, a razão teste / referência do valor de C_{max} deve estar dentro do intervalo de 80 - 125%. Entretanto, a Comunidade Européia propôs um intervalo de 70 - 143% (diferença de 30%, em decorrência da grande variabilidade inter-individual da velocidade de absorção. Deste modo, o parâmetro C_{max} apresenta pelo menos duas possíveis razões para ser utilizado; assegura que as concentrações máximas do produto teste não são maiores (tóxicas) e nem menores (perda de eficácia) do que as concentrações do produto referência; a Segunda é óbvia, as autoridades regulatórias requerem bioequivalência com relação à velocidade de absorção.

Recentemente, SCHALL *et al* (1994) postula que há uma tendência para a razão C_{max} /ASC substituir C_{max} da velocidade da absorção. Trabalhos confirmaram que C_{max} /ASC é superior que o C_{max} enquanto indicativo da velocidade da absorção. Há um dilema na escolha da característica mais adequada para representar a velocidade da absorção: T_{max} é mais fácil de interpretar do que a razão C_{max} / ASC, mas, C_{max} /ASC pode ser observada com alta precisão, sendo mais para observar do ponto de vista estatístico do que de T_{max} . Entretanto, há uma relação próxima entre os dois parâmetros, que de maneira geral são equivalentes quanto à representividade da velocidade da absorção.

Em estudos de bioequivalência de formas farmacêuticas e uso oral (a forma mais usada), ASC é convencionalmente empregada para caracterizar a extensão da absorção e depuração do fármaco (SCHALL *et al* , 1994).

Quando a curva de concentração plasmática versus tempo (figura 5) foi empregada para mensurar bioequivalência, não houve diferença significativa quanto a extensão da absorção observada entre as duas formulações. As razões individuais de $ASC_{(0-720min)}$ para ambas as formulações estão inclusas no intervalo de confiança de 90% requerido para bioequivalência (80 – 125%).

Quanto a velocidade de absorção a bioequivalência pode ser concluídas, uma vez que as razões individuais de C_{max} estão inclusas no intervalo de 80 – 125% requerido para bioequivalência.

Em relação ao T_{max} , as diferenças individuais não foram significativamente diferentes de zero.

A fentolamina é extensivamente hidrolisada pelo metabolismo hepático via reação de oxidação (STEINER, 1996). Como consequência o metabolismo hepático e a excreção biliar desempenham importante papel na distribuição da droga. O que pode explicar a variabilidade inter-individual que acarreta a não inclusão das razões de $T_{1/2}$ e K_{eq} no IC 90% (80-125%), vide tabela .

6.SUMÁRIO

1. O objetivo deste estudo é avaliar em voluntários humanos, a eficácia de comprimidos de fentolamina (Regitina[®], fentolamina 40 mg comprimido, Novartis, Brasil) em relação a comprimidos padronizados (Vasomax[®], fentolamina 40 mg comprimido, Schering Plough, Brasil).
2. Os trinta e seis voluntários saudáveis, foram avaliados por testes clínicos, laboratoriais e foram inscritos no estudo. Dois voluntários (Vol. III – RPM e Vol. IV- JSS) não concluíram o estudo. O estudo procedeu-se em várias doses unitárias administradas aleatoriamente em três fases cruzadas (Regitina[®] vs Vasomax 1[®], Regitina[®] vs Vasomax[®] 2, Vasomax 1[®] vs Vasomax[®] 2) onde foram comparadas duas formulações de fentolamina(-Teste: Regitina[®], fentolamina 40 mg comprimido, Novartis, Brasil; - Referência: Vasomax[®], fentolamina 40 mg , Schering Plough, Brasil).
3. As amostras de plasma destinadas a determinação de fentolamina foram obtidas antes da administração e durante o período de 720 minutos após a administração de uma dose única a cada voluntário (10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360, 480, 600 e 720 min). As concentrações de fentolamina foram quantificadas por cromatografia líquida de alto desempenho com detecção por espectrometria de massa (LC-MS-MS).
4. Os voluntários foram monitorados durante o estudo. A pressões sistólica e diastólica, batimentos cardíacos foram medidos antes e durante o período de 720 minutos após a administração da droga.
5. A tolerância de ambas formulações (Regitina[®] e Vasomax[®]) foi boa, pois nenhuma reação adversa foi reportada.

6. A concentração máxima atingida (C_{max}), o tempo de concentração máxima atingida (T_{max}) e a área sob a curva de concentração x tempo (ASC) foram comparadas. A variações de dados de bioequivalência entre os voluntários da droga já padronizada (Vasomax[®]) foram avaliadas.
7. Concentração máxima atingida (C_{max}):
- A razão da média geométrica da C_{max} da "Regitina" (Regitina[®], fentolamina 40 mg comprimido) foi 99.2% (90% do IC= 89.7 – 109.71) do "Vasomax 1" e "Vasomax 2" (Vasomax[®], fentolamina 40 mg comprimido).
8. Área sob a curva (ASCall):
- A razão da média geométrica da ASC da "Regitina" (Regitina[®], fentolamina 40 mg comprimido) foi 96.0% (90% do IC= 89.41 – 103.07) do "Vasomax 1" e "Vasomax 2" (Vasomax[®], fentolamina 40 mg comprimido).
9. Tempo de concentração máxima atingida (T_{max}):
- A razão da média geométrica do T_{max} da "Regitina" (Regitina[®], fentolamina 40 mg comprimido) foi 104.05% (90% do IC= 86.65 – 124.9) do "Vasomax 1" e "Vasomax 2" (Vasomax[®], fentolamina 40 mg comprimido).
10. Desde que a razão dos 90% do IC da C_{max} e da ASC ficou entre 80-125% do intervalo proposto pela Food e Drugs Administration (FDA), considerando também a administração da formulação referência é concluído que a Regitina[®] 40 mg comprimido é bioequivalente ao Vasomax[®] 40 mg comprimido para ambas razões e extensões de absorção.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGGARD E. AND LARSSON,C.; The sequence of the early steps in the metabolism of prostaglandin E1. Eur. J. Pharmacol., 14: 66, 1971.

ASHRAF, J. BUTTERFIELD, D.A., JÄRNEFELT, J., AND LAINE, R.A. (1980) J.Lipid Res. 21, 1137-1141.

BASSON, R. P.; CERIMELE, B. J.; DESANTE, K. A.; HOWEY, D.C. - Tmax: An unconfoundmetric for rate of absorption in single dose bioequivalence studies". In: "Bio International: Bioavailability, Bioequivalence and Pharmacokinetics, "International Conference of F.I.P. "Bio-International 96" held in Tokyo, Japan, April 22-24 . K. K. Midha & T. Nagai pp.90-93, 1996

BELL, D. S.,CUTTER, G. R.,HAYNE, V. B. AND LOYD, L. K.: Factors predicting efficacy of phentolamine-papaverine intracorporeal injection for treatment of erectile dysfunction in diabetic male. Urology, 40: 36, 1992.

BOTHWELL, W., VERBUG, M., WYNALDA, M., DANIELS, E. G. AND FITZPATRICK, F. A.; A radioimmunoassay for the unstable pulmonary metabolites of prostaglandin E1 and E2 : an indirect index of their in vivo disposition and pharmacokinetics. J. Pharmacol. Exp. Ther., 220: 229, 1982.

CHANDECK MONTESA, K., CHEN JIMÉNEZ, J., TAMAYO, J.C., RODRIGUEZ ANTOLIN, A AND ALVAREZ GONZÁLEZ, E.: prospective study of the effectiveness and side effects of intracavernous prostaglandin E1 versus papaverine or papaverine phentolamine in diagnosis and treatment of erection dysfunction. Review of the literature. Actas Urol. Esp., 16: 208, 1992.

COMMITTEE FOR PROPRIETARY MEDICINAL PRODUCTS (CPMP). Note for Guidance: Investigation of bioavailability and bioequivalence. London: EMEA, 1998. 17p.

- COOPE, J. R. - Multicentre trial of treatment of hypertension in the elderly in primary care. *Drugs* 25: 87-88, 1983
- DAY, J. L.; METCALFE, J; SIMPSON, C.N. - Adrenergic mechanisms in control of plasma lipid concentrations. *Br. Med. J.* 284: 1145-1148, 1982.
- DIECKMANN, J. M., JOBKE, A., PESKAR, B. A. AND HERTTING, G.: Angiotensin II-induced contractions of rabbit splenic capsular strips and release of prostaglandins. Use of radioimmunoassays for prostaglandins E1 and E2. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 297: 177, 1977.
- DUKES, M.N.G., ED. - Drug Utilization Studies. Filand, WHO Regional Publications, 1993. P. 5-22 (European Series, 45).
- EDRENYI, L.; FRITSCH, S.; YAN, W. - C_{max} /AUC is a clearer measure than C_{max} for absorption rates in investigations of bioequivalence. *Int J Clin Pharmacol Ther* 29: 394-399, 1991.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - In vivo bioequivalence guidance. *Pharmacopeial Forum* 19: 6501-6508. 1993.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (4-1-1985 Edition), Federal Register, part 320: Bioavailability and Bioequivalence Requirements, pp 154-173.
- HAKOMORI, S. (1981) *Annu. Rev. Biochem.* 50, 733-764.
- HAUSCHKE, D.; STEINIJANS, V.W.; DILETTI, E. - A distribution free procedure for the statistical analysis of bioequivalence studies. *Int J Clin Pharmacol ther toxicol* 28:72-78, 1990.

HAVERKAMP, J., SCHAUER, R., AND WEMBER, M. (1976) Hoppe- seyler's Z. Physiol. Chem. 357, s1699-s1705.

HESSE, W. H., RUDOFISKY, G. AND PESKAR, B. A.: Metabolism of intravenously administered prostaglandin E1 in patients with peripheral arterial occlusive disease. Wien klin. Wochenschr., 103: 554, 1991.

HUBBARD, W.C AND WATSON, J.T.: Determination of 15-keto-13,14-dihydro-metabolites of PGE2 and PGF2 alpha in plasma using HPLC and chromatography-mass spectroscopy. Prostaglandins., 12: 21, 1976.

KANFER, J. N., AND HAKOMORI, S. (1983) Sphingolipid Biochemistry in Handbook of Lipid Research, Vol.3 , Plenum Press, New York.

KAWANISHI, Y., KIMURA, K., FURUKAWA, A., MIYAMOTO, T., TAMURA, M., NUMATA , A., YUASA, M., IMAGAWA, A. AND KAGAWA, S.: The meanings of the papaverine test. Jap. J. Urol., 82:961,1991.

KRAUS, C., SHAAYA , A., ULMER, J., HUTCHINGS, D., MENON,A., SAKR, A. AND RITSCHER, W. A.: Pharmacokinetics and bioavailability of papaverine and phentolamine HCl following intravenous, peroral, rectal, vaginal, topical and buccal administration in beagle dogs. Biopharm. Drug Dispos., 12: 537, 1991.

MAHMOUD, K. Z., EL DADHLI, M. R., FAHMI, I. M. AND ABDEL-AZIZ, A.B.A.: Comparative value of prostaglandin E1 and papaverine in treatment of erectile failure: double blind crossover study among Egyptian patients. J. Urol., 147: 623, 1992.

MOLDERINGS, G. J., VAN AHLEN H. AND GÖTHERT, M.: Modulation of noradrenaline release in human corpus cavernosus by presynapticprostaglandin receptors. Int. J Impoten. Res., 4: 19, 1992.

- PESKAR, B. A., SIMMET, T. AND PESKAR, B. M., : Radioimmunoassay of prostaglandin and other cyclo-oxygenase products of arachidonate metabolism. In.: Radioimmunoassay in Basic and clinical Pharmacology. Edited by C. Patrono and B.A. Peskar. New york: Springer-Verlag, chapt. 82, pp 449-480, 1987.
- NELSON R. P. AND LUE, T.F.: Determination of erectile penile volume by ultrasonography. J. Urol., 141: 1123, 1989.
- PORST, H.: Prostaglandyn E1 in erectile dysfunction. Urologe A, 28:94,1989.
- PORST., H. AHLEN, H., BLOCK, T., HALBIG, W., HAUTMANN, R., LÖCHNER-ERNEST, D., RUDNICK, J., STAELE, G., WEBER, H. M. AND WEIDNER, W.: Intracavernosus self-injection of prostaglandin E1 in the therapy of erectile dysfunction . Vasa, suppl., 28: 50, 1989.
- PORST H. AND VAN AHLEN, H.: Pharmacon-induced priapism - a report on 101 cases. Urologe A., 28: 84, 1989.
- REUTTER, W., KOTTGEN, E.,BAUER, C., AND GEROK, W. (1982) in Cell Biology Monograph (Schauer, R., Ed.), Vol. 10, pp 263-305, Springer-verlag, Vienna /New York
- RITSCHKE, W. A., KRAUS, C., SHAAYA, A.,AND SAKR, A.: Pharmacokinetics of pavaverine HCl upon intravenous route of administration in old and young beagle dogs. Methods Find. Exp. Clin.Pharmacol., 13: 51, 1991.
- ROBOZ,J., SUZUKI, R., AND BEKESI, J. G. (1978) ANAL. BIOCHEM. 87, 195-205.
- ROSENBERG A., AND SCHENGRUND, C. L. (EDS.) (1976) Biological roles of sialic acid, pp. 201-227, Plenum Press, New York.

ROY, A. C., , ADAIKAN, P.G., SEN. D. K. AND RATNAM, S.S.; Prostaglandin 15-hydroxydehydrogenase activity in human penile corporea cavernosa and its significance in prostaglandin-mediated penile erection. Brit. J. Urol., 64;180,1989.

SAMUELSSON, B. AND GREEN, K.: Endogenous levels of 15-keto-dihydroprostaglandins in human plasma. Parameters for monitoring prostaglandin synthesis. Biochem.. med., 11: 298, 1974.

SILVER H. K. B. KARIM, K.A., GRAY, M.J., AND SALINAS, F. P. (1981) J. Chromatogr. 224, 381-388.

SIMMET, t., PESKAR, B.A. AND WOLF, H. R. D.: On metabolism of prostagladin E1 in pattients sufferingfrom arterial occlusive disease. In: prostaglandin E1 in Atherosclerosis. Edited by H. Sizinger and W. Rogatti. New York: Springer-verlag, p.8, 1986.

SIMMET , T., AND PESKAR, B. A.: Prostaglandin E1 and arterial occlusive disease: pharmacological considerations. Eur. J. Clin. Invest., 18: 549, 1988.

STACKL, W., HASUN, R. AND MARBERGER, M.: intravenous injection of prostaglandin E1 in impotent men. J. Urol. 140: 66, 1988.

STACKL, W., HASUN, R., AND MARBERGER, M.: the use of prostaglandin e1 for diagnosis and treatment of erectile dysfunction. World J. Urol., 8: 84, 1990.

SUGAWARA, Y., IWAMORI, M., PORTAUKALIAN, J., AND NAGAI, Y. (1983) analitical biochem. 132, 147-151.

SVENNERHOLM, L. (1957) Arkiv, Kemi. 10, 577-596.

SVENNERHOLM, L. (1957) Biochem. Biophys..Acta 24, 604-611.

TURNER L.A. ALTHOF, S. E., LEVINE, S. B., BODNER, D. R., KURSH, E. D., AND RESNICK, M. I.: Twelve-month comparison of two treatments for erectile dysfunction self-injection versus external vacuum devices. *Urology*, 39: 139, 1992.

WARREN, L. (1959) *J. Biol. Chem.* 234, 1971-1975.

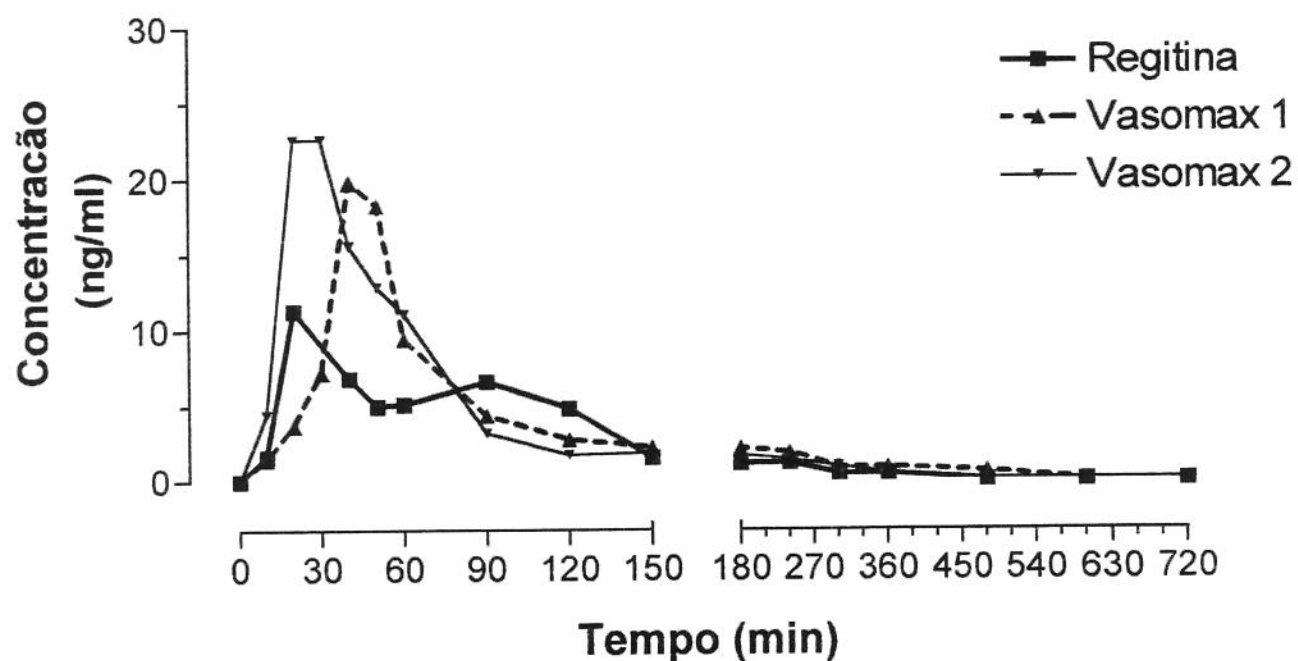
WICGANT, H. (ED.) 1985 *Glycolipids. New comprehensive biochemistry*, vol. 10, elsevier, Amsterdam.

YU, R. K., AND LEDEEN, R. W. (1970) *J. Lipid Res.* 11, 506-516.

8. ANEXOS

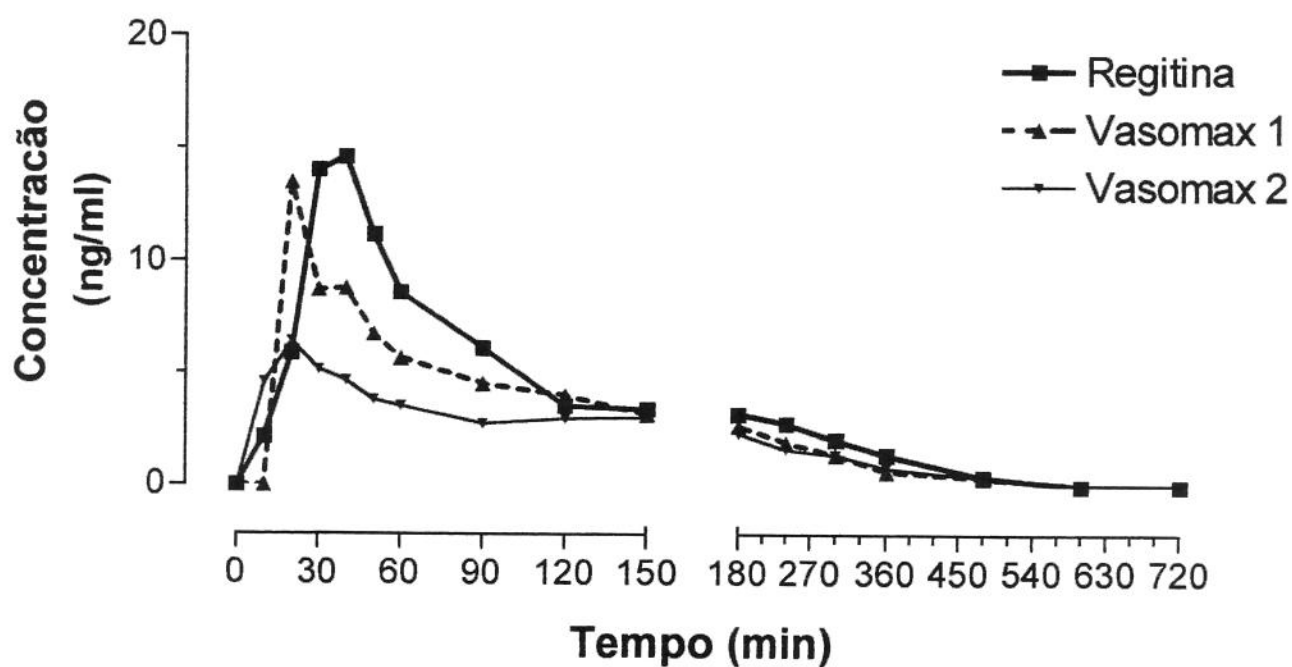
8.1 DADOS DA CONCENTRAÇÃO INDIVIDUAL DE FENTOLAMINA vs. TEMPO (FIGURA) E PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS (TABELA)

Vol. I - HHJ



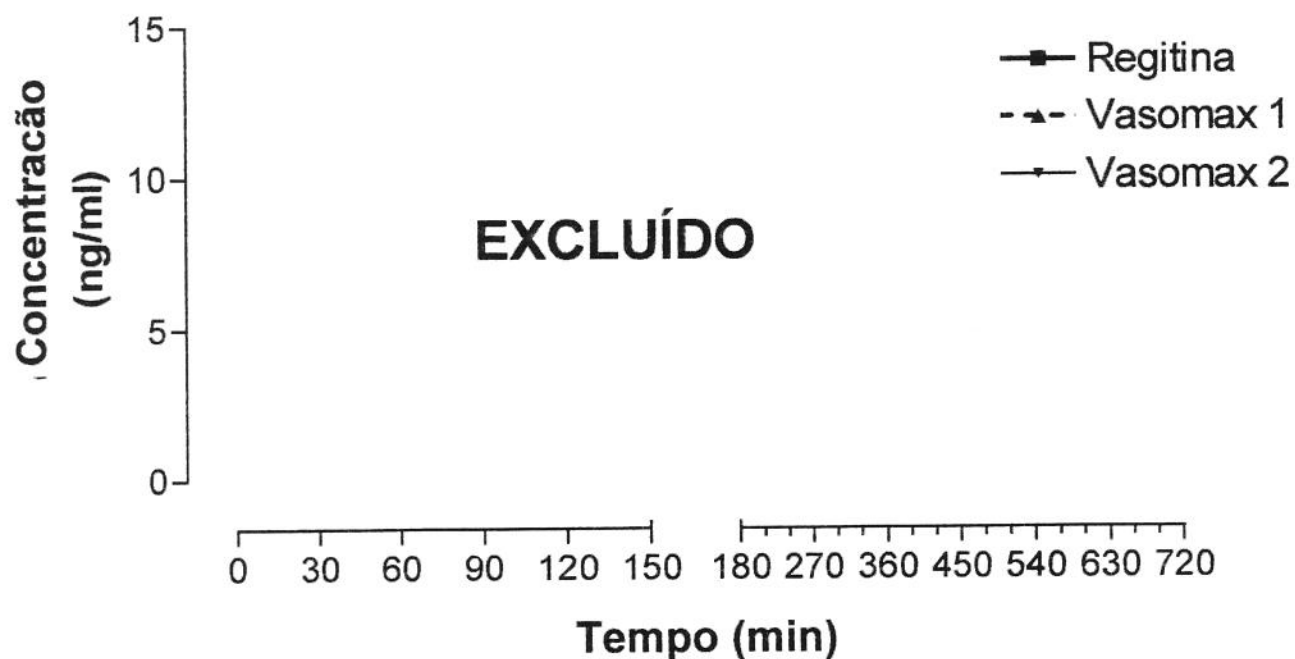
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1011	1369	1458
ASC Inf ([ng * min]/ml)	1029	1457	1485
ASC (0-720min) / Inf (%)	98.3%	93.9%	98.2%
C _{max} (ng/ml)	11.3	19.8	22.6
T _{max} (min)	20	40	30
T _{1/2} (min)	70	150	81

Vol. II - MMPS



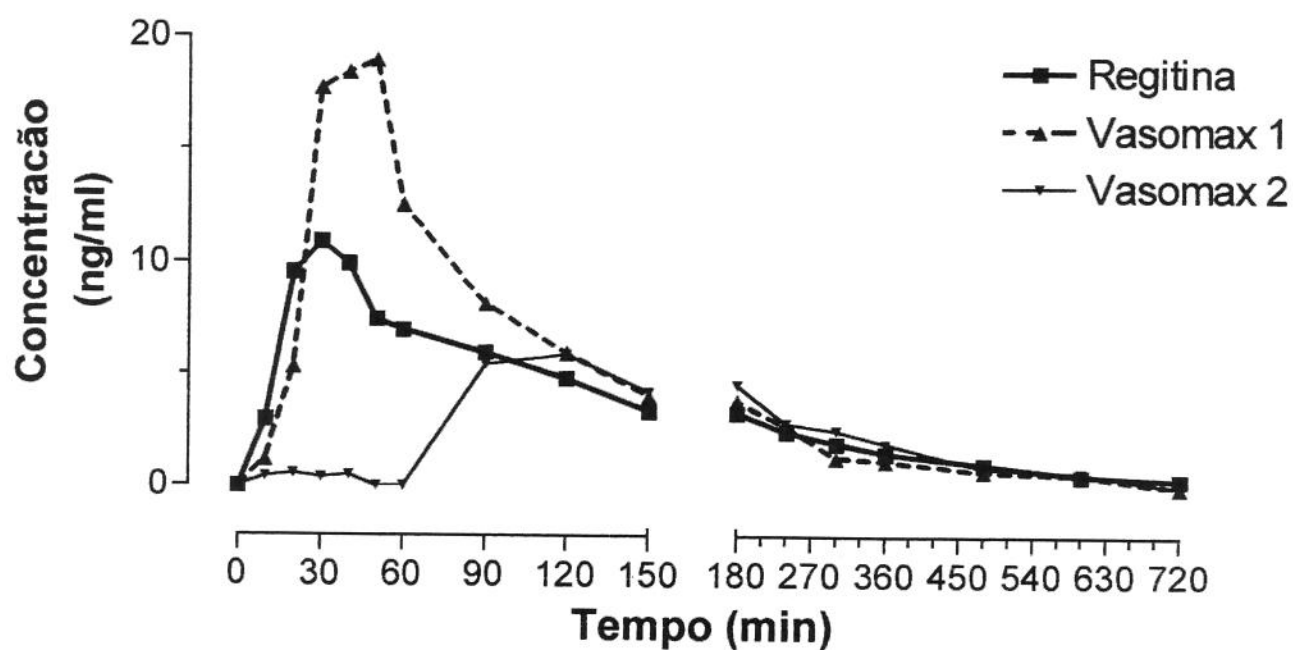
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1643	1260	977
ASC Inf ([ng * min]/ml)	1663	1292	1017
ASC (0-720min) / Inf (%)	98.8%	97.5%	96.1%
C _{max} (ng/ml)	14.6	13.5	6.4
T _{max} (min)	40	20	20
T _{1/2} (min)	75	103	113

Vol. III - RPM



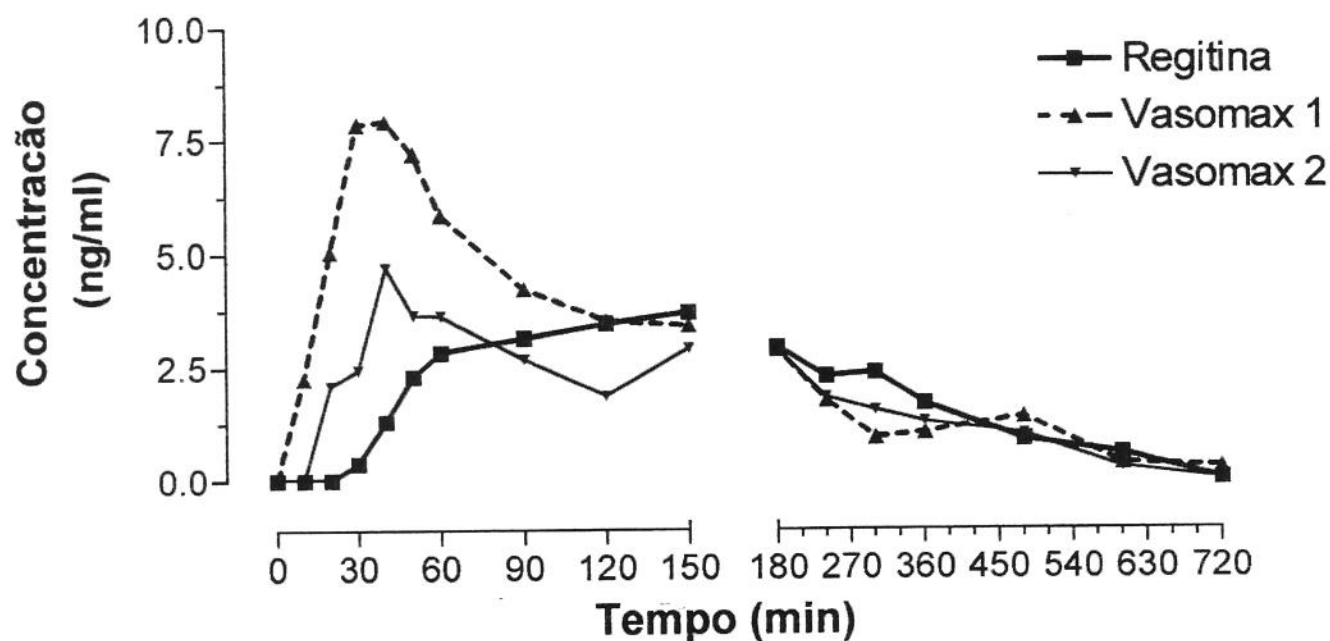
	Regitina	Fentolamine Vasomax1	Vasomax2
ASCI (0-720min) ([ng *min]/ml)	-	-	-
ASC Inf ([ng * min]/ml)	-	-	-
ASC (0-720min) / Inf (%)	-	-	-
C _{max} (ng/ml)	-	-	-
T _{max} (min)	-	-	-
T _{1/2} (min)	-	-	-

Vol. IV - WA



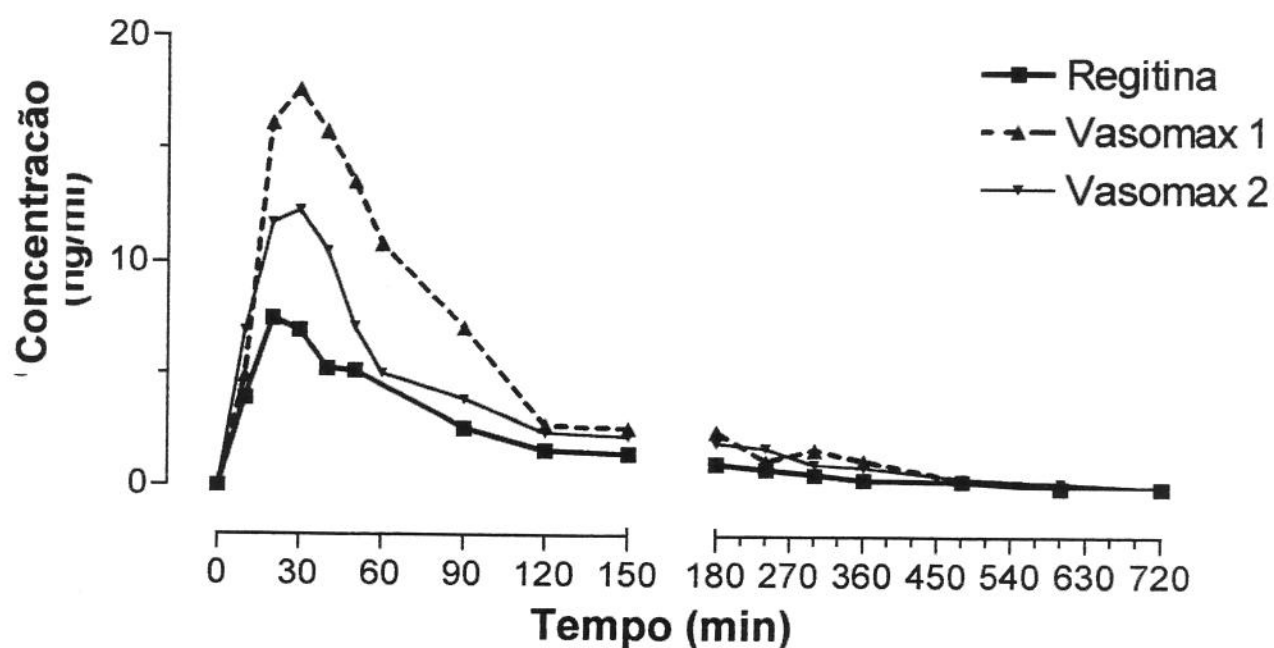
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1737	2091	1379
ASC Inf ([ng * min]/ml)	1821	2236	1491
ASC (0-720min) / Inf (%)	95.4%	93.5%	92.5%
C _{max} (ng/ml)	10.9	19.0	5.9
T _{max} (min)	30	50	120
T _{1/2} (min)	167	224	156

Vol. V - RJA



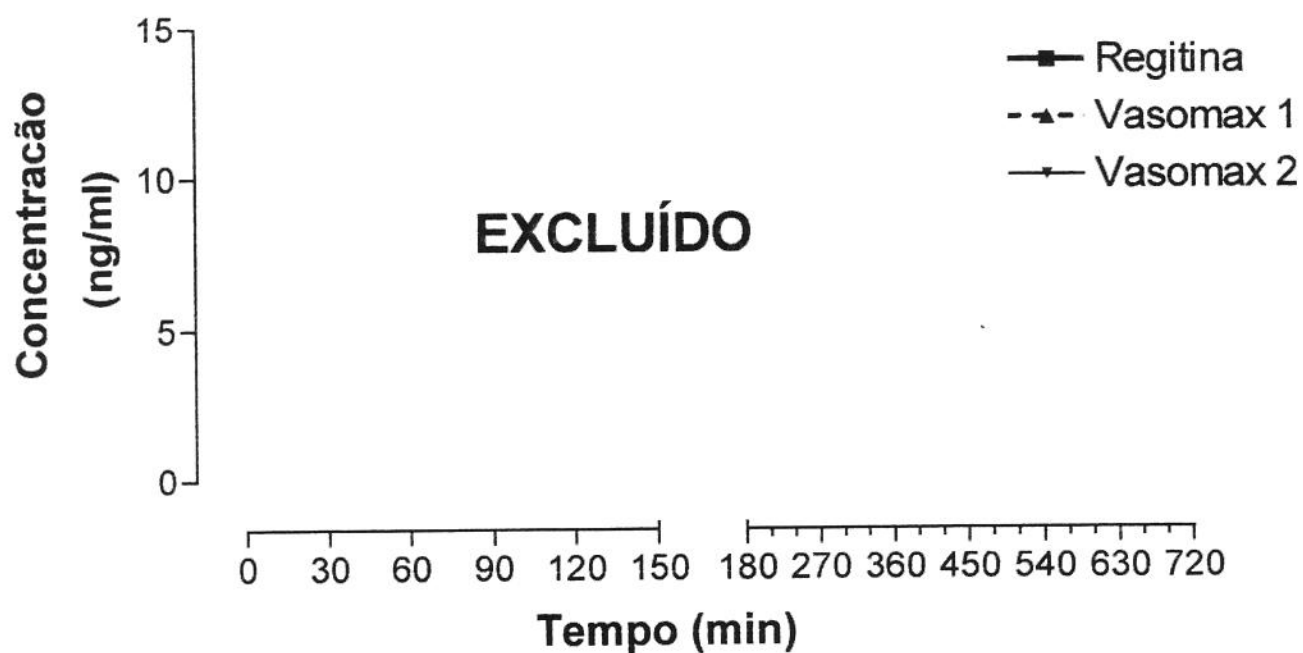
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1148	1366	1024
ASC Inf ([ng * min]/ml)	1235	1420	1060
ASC (0-720min) / Inf (%)	92.9%	96.2%	96.6%
C _{max} (ng/ml)	3.7	7.9	4.7
T _{max} (min)	150	40	40
T _{1/2} (min)	146	143	141

Vol. VI - VJO



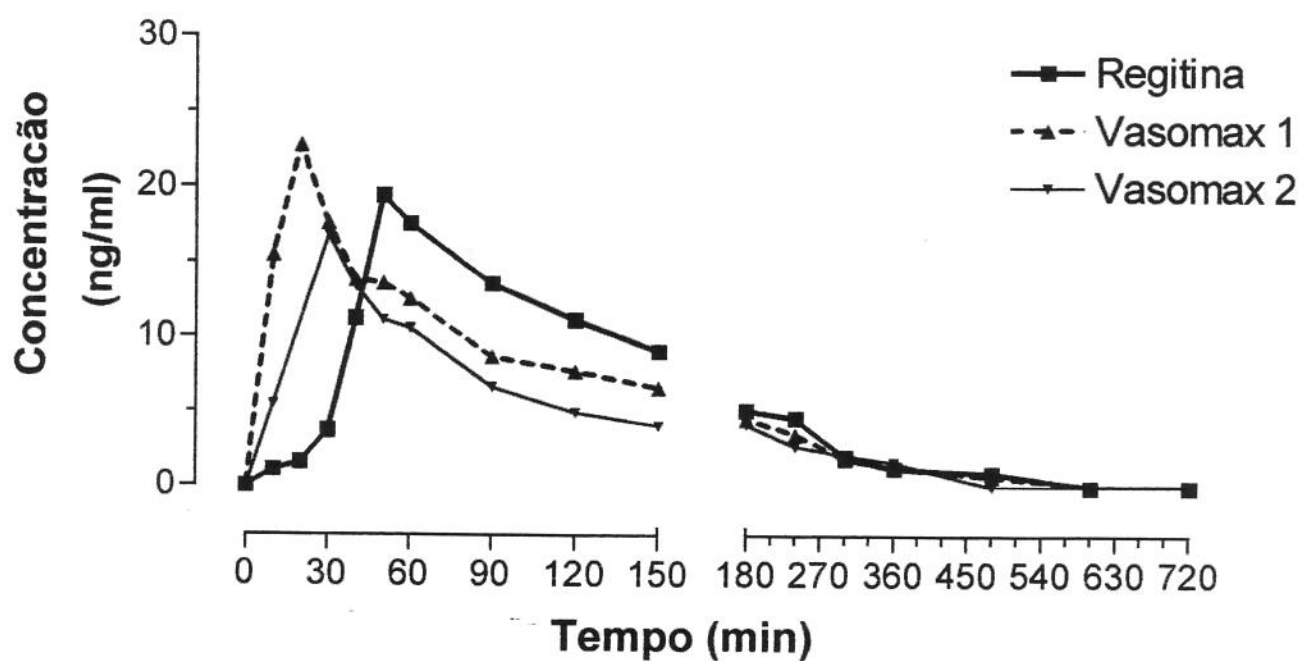
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	740	1697	1254
ASC Inf ([ng * min]/ml)	777	1714	1284
ASC (0-720min) / Inf (%)	95.2%	99.0%	97.6%
C _{max} (ng/ml)	7.5	17.6	12.3
T _{max} (min)	20	30	30
T _{1/2} (min)	133	76	134

Vol. VII - JSS



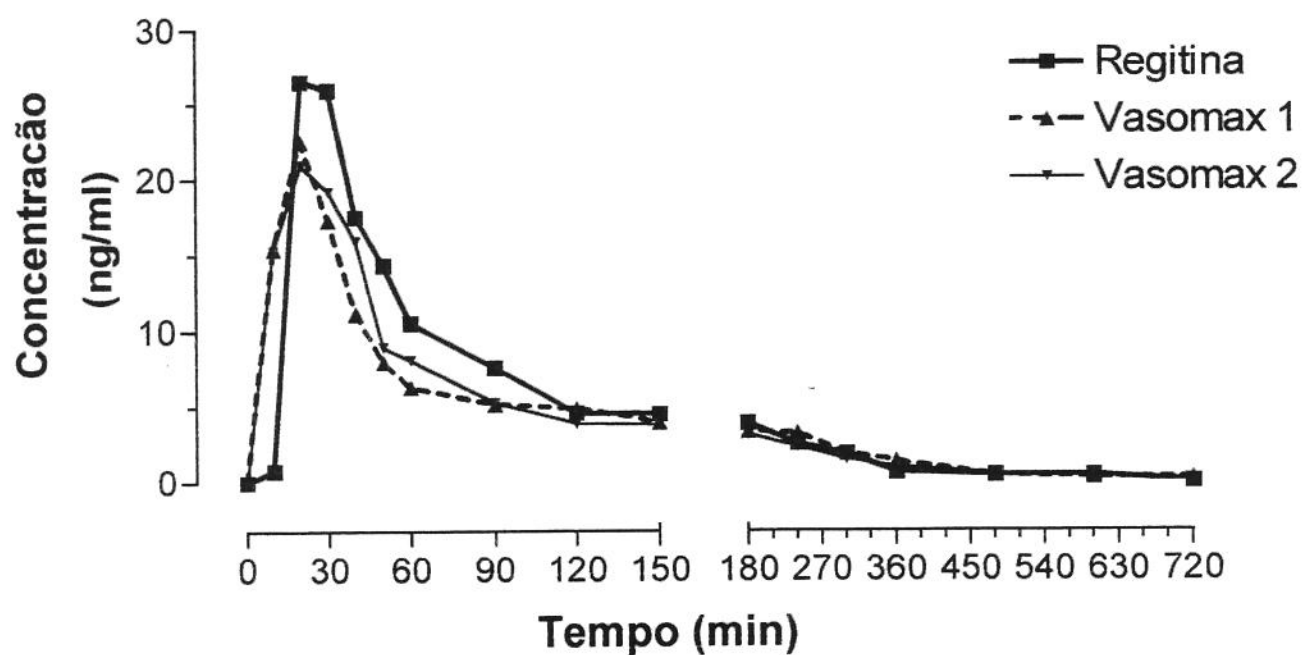
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	-	-	-
ASC Inf ([ng * min]/ml)	-	-	-
ASC (0-720min) / Inf (%)	-	-	-
C _{max} (ng/ml)	-	-	-
T _{max} (min)	-	-	-
T _{1/2} (min)	-	-	-

Vol. VIII - GSR



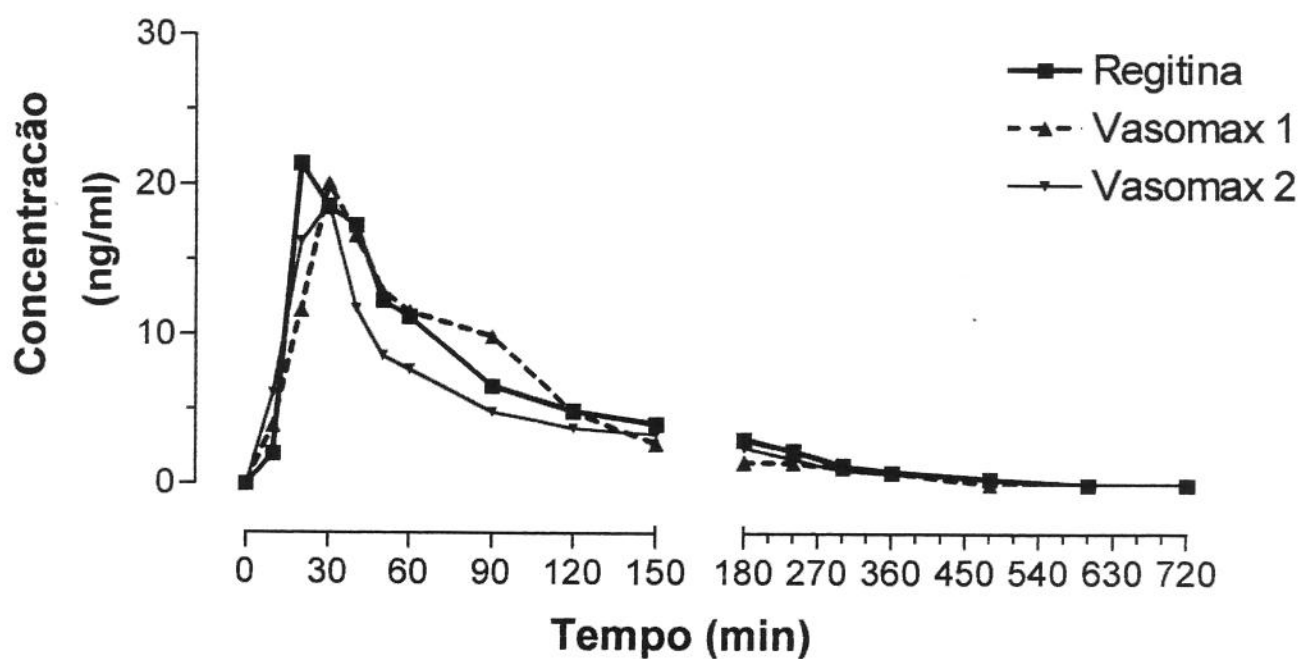
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	2575	2490	1878
ASC Inf ([ng * min]/ml)	2639	2547	2185
ASC (0-720min) / Inf (%)	97.6%	97.8%	85.9%
C _{max} (ng/ml)	19.4	22.8	16.8
T _{max} (min)	50	20	30
T _{1/2} (min)	90	98	171

Vol. IX - AM



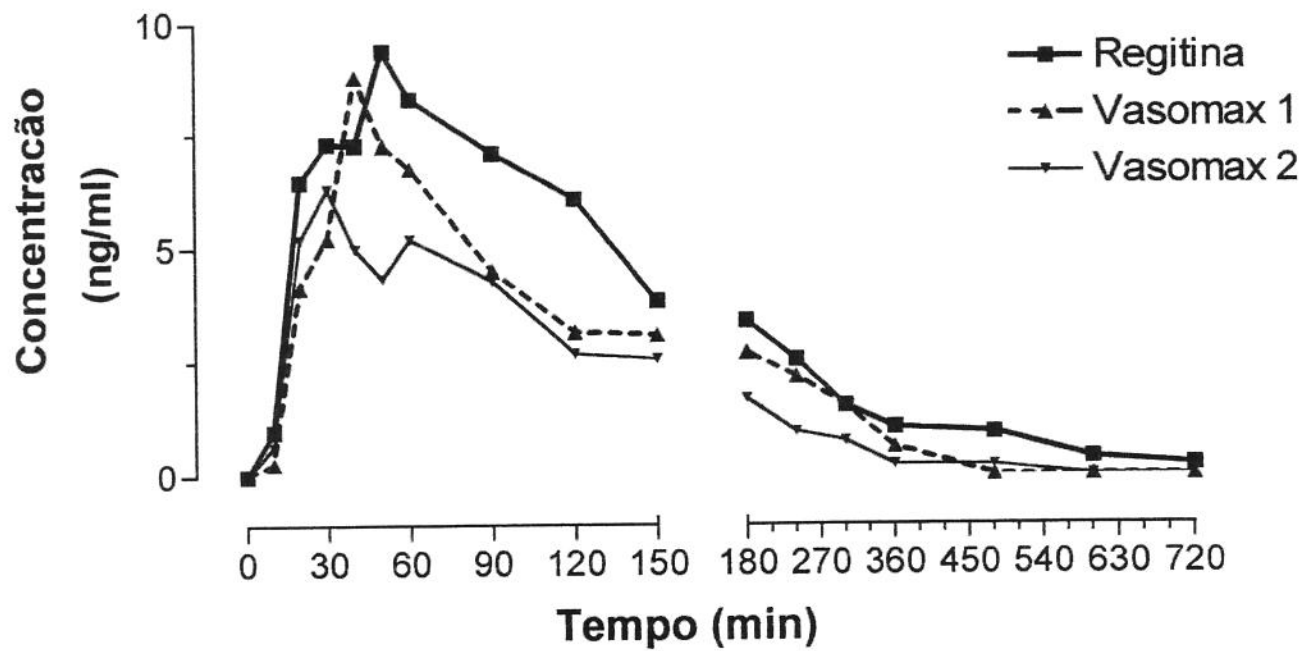
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	2152	1954	1918
ASC Inf ([ng * min]/ml)	2189	1988	1975
ASC (0-720min) / Inf (%)	98.3%	98.3%	97.1%
C _{max} (ng/ml)	26.6	22.5	21.0
T _{max} (min)	20	20	20
T _{1/2} (min)	107	120	133

Vol. X - MS



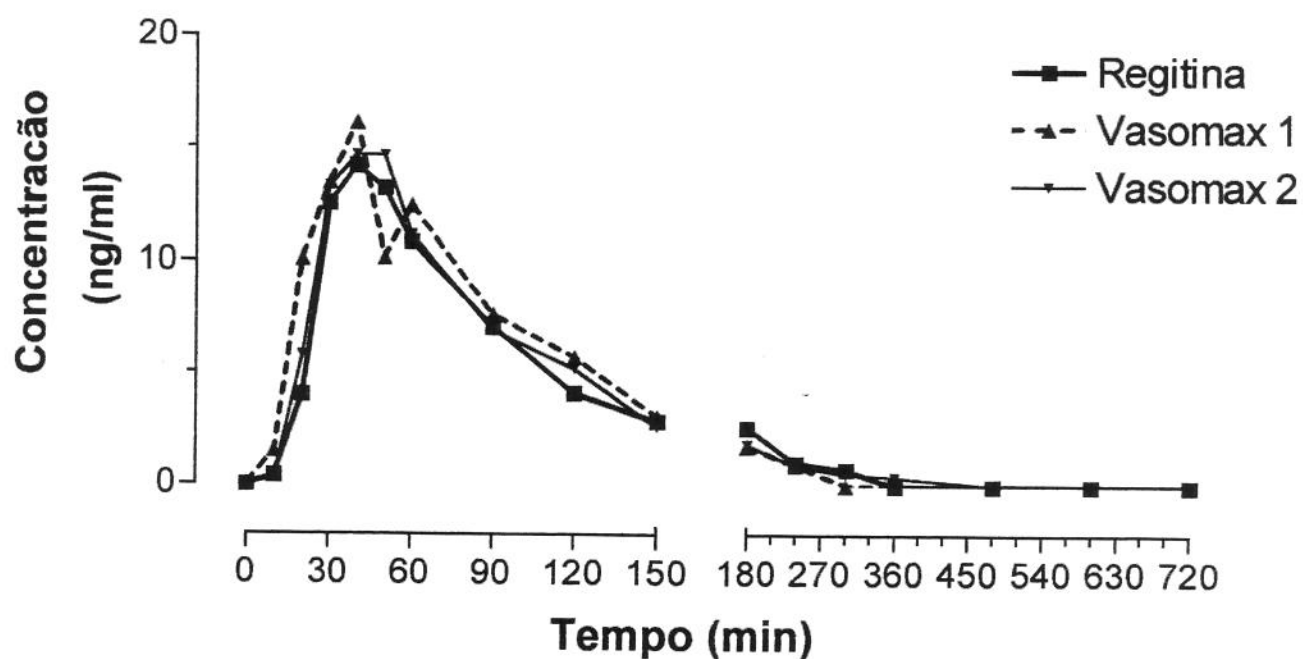
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1877	1699	1513
ASC Inf ([ng * min]/ml)	1910	1804	1553
ASC(0-720min) / Inf (%)	98.3%	94.2%	97.4%
C _{max} (ng/ml)	21.4	20.1	18.8
T _{max} (min)	20	30	30
T _{1/2} (min)	101	135	107

Vol. XI - ABOJ



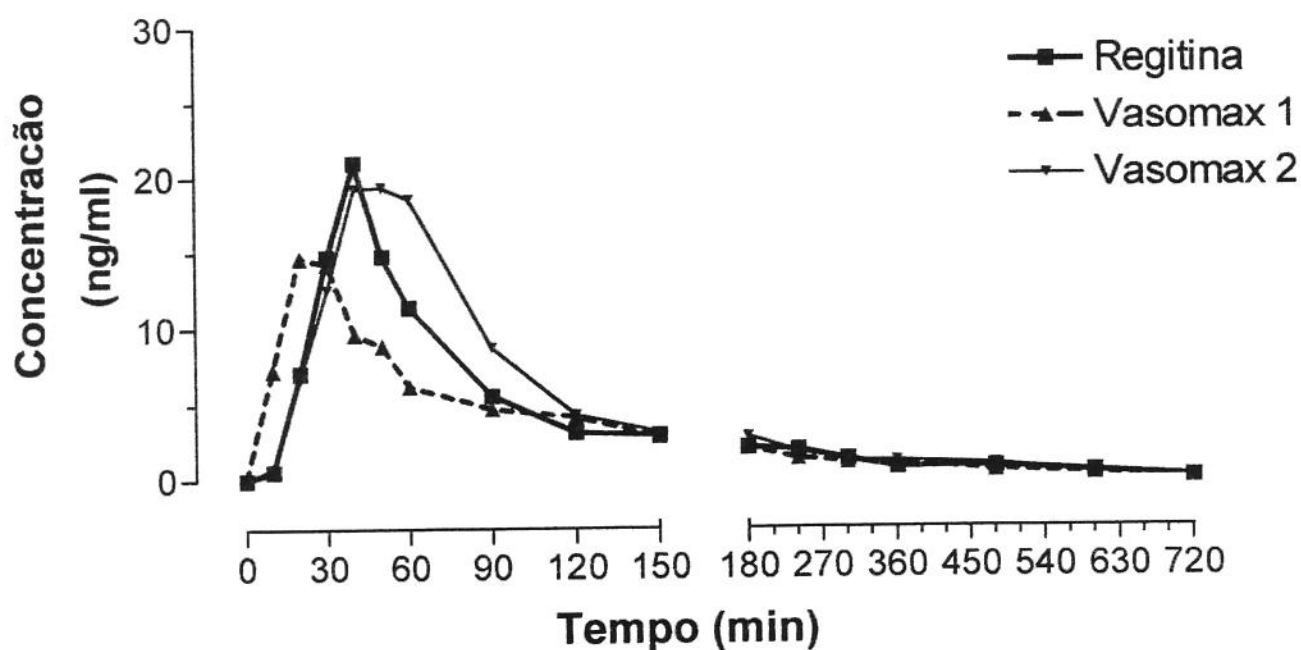
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1661	1116	833
ASC Inf ([ng * min]/ml)	1704	1167	847
ASC (0-720min) / Inf (%)	97.5%	95.7%	98.3%
C _{max} (ng/ml)	9.4	8.8	6.3
T _{max} (min)	50	40	30
T _{1/2} (min)	129	98	87

Vol. XII - JMPP



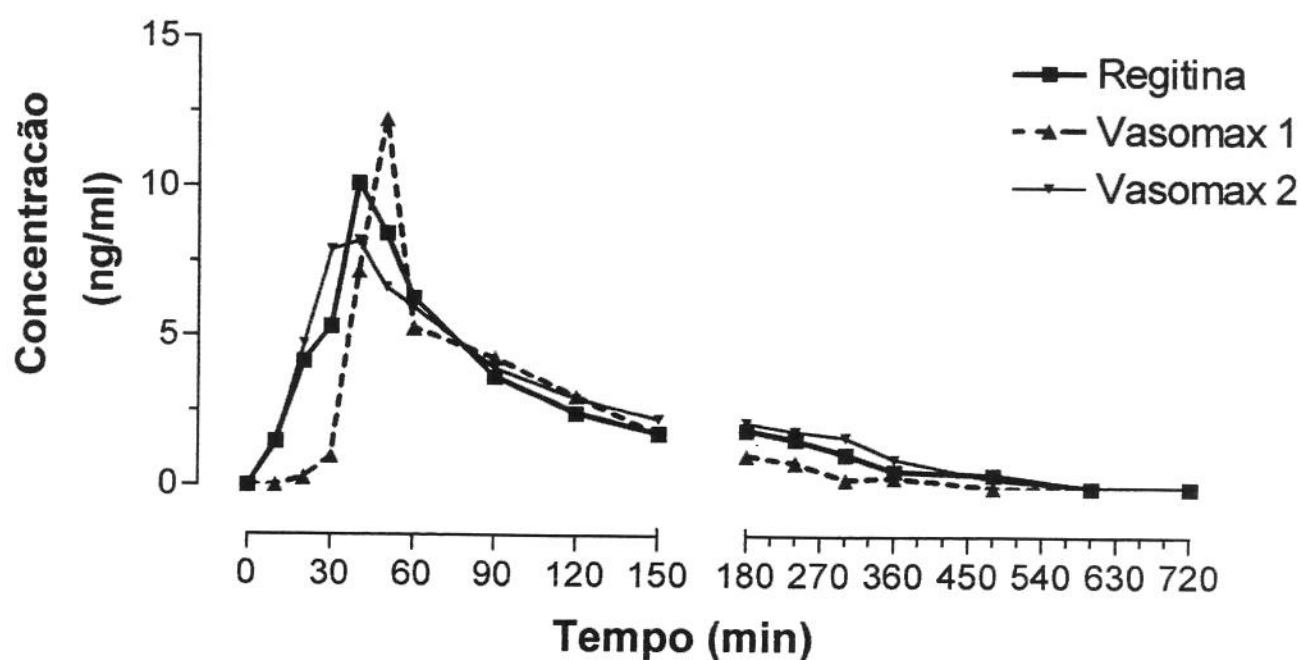
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1300	1387	1350
ASC Inf ([ng * min]/ml)	1340	1421	1359
ASC (0-720min) / Inf (%)	97.1%	97.6%	99.4%
C _{max} (ng/ml)	14.2	16.1	14.7
T _{max} (min)	40	40	40
T _{1/2} (min)	59	46	57

Vol. XIII - ECSA



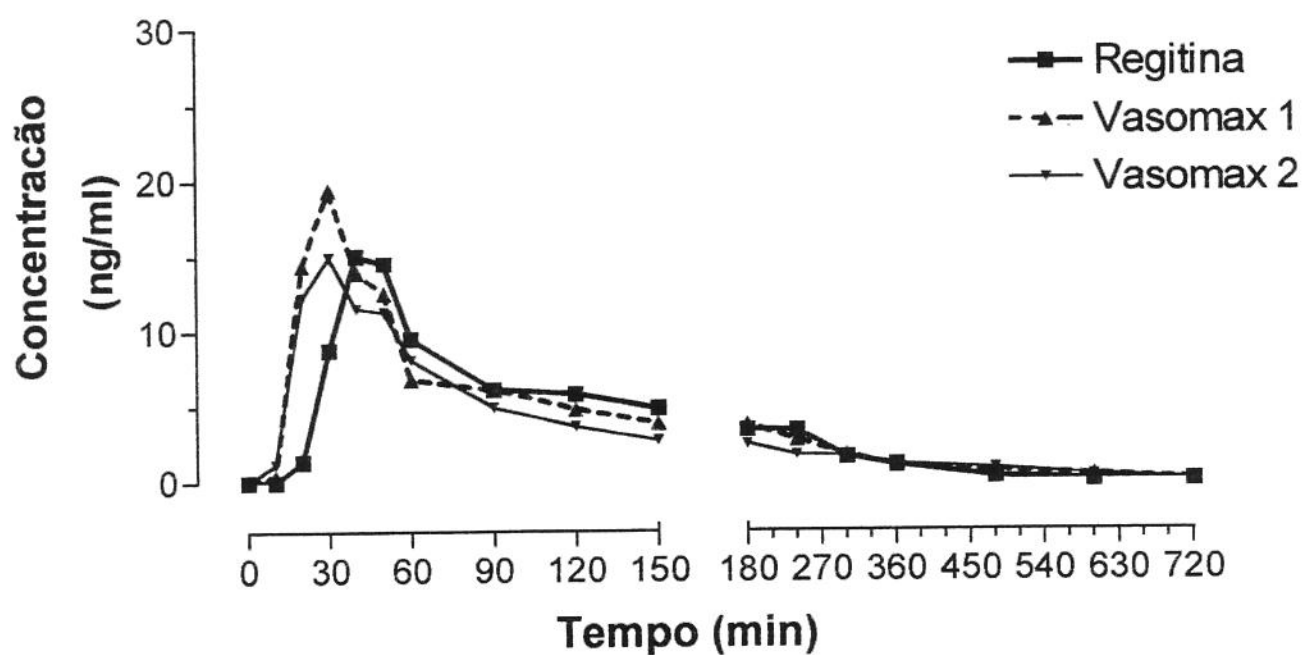
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1622	1418	1979
ASC Inf ([ng * min]/ml)	1684	1443	2012
ASC (0-720min) / Inf (%)	96.3%	98.3%	98.3%
C _{max} (ng/ml)	21.0	14.7	19.4
T _{max} (min)	40	20	50
T _{1/2} (min)	157	117	134

Vol. XIV - RFF



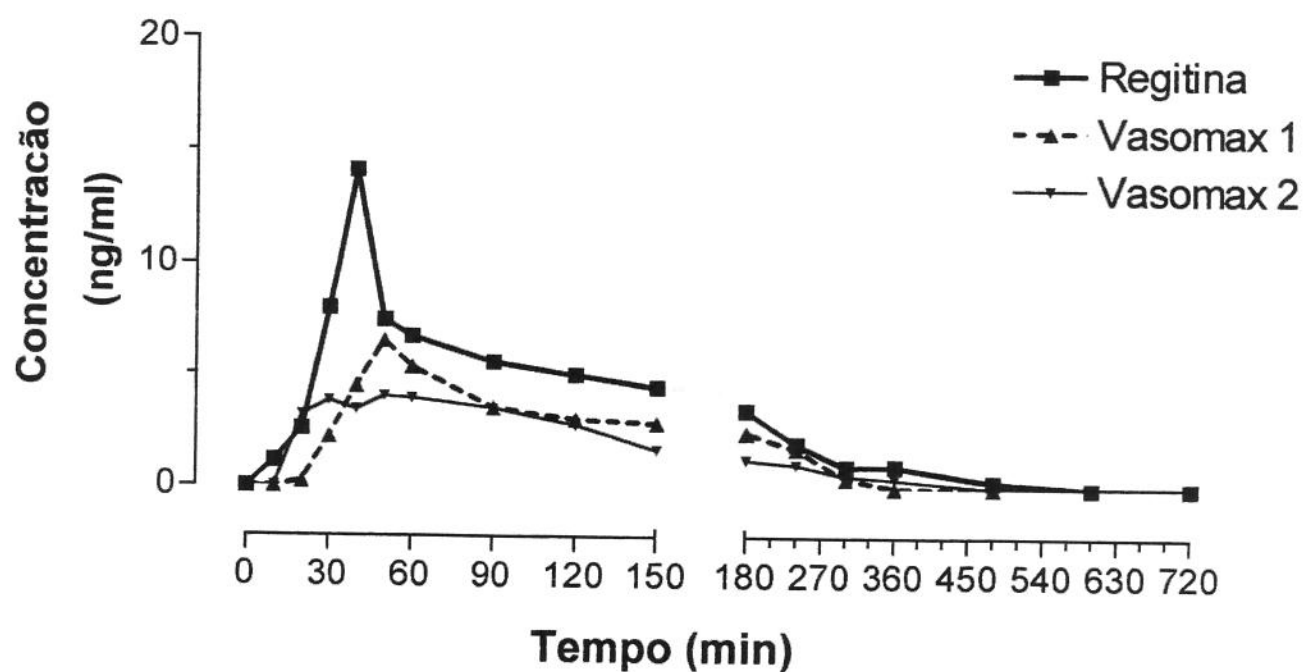
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1003	722	1106
ASC Inf([ng * min]/ml)	1056	733	1118
ASC (0-720min) / Inf (%)	95.0%	98.5%	99.0%
C _{max} (ng/ml)	10.1	12.2	8.2
T _{max} (min)	40	50	40
T _{1/2} (min)	129	66	70

Vol. XV - JCM



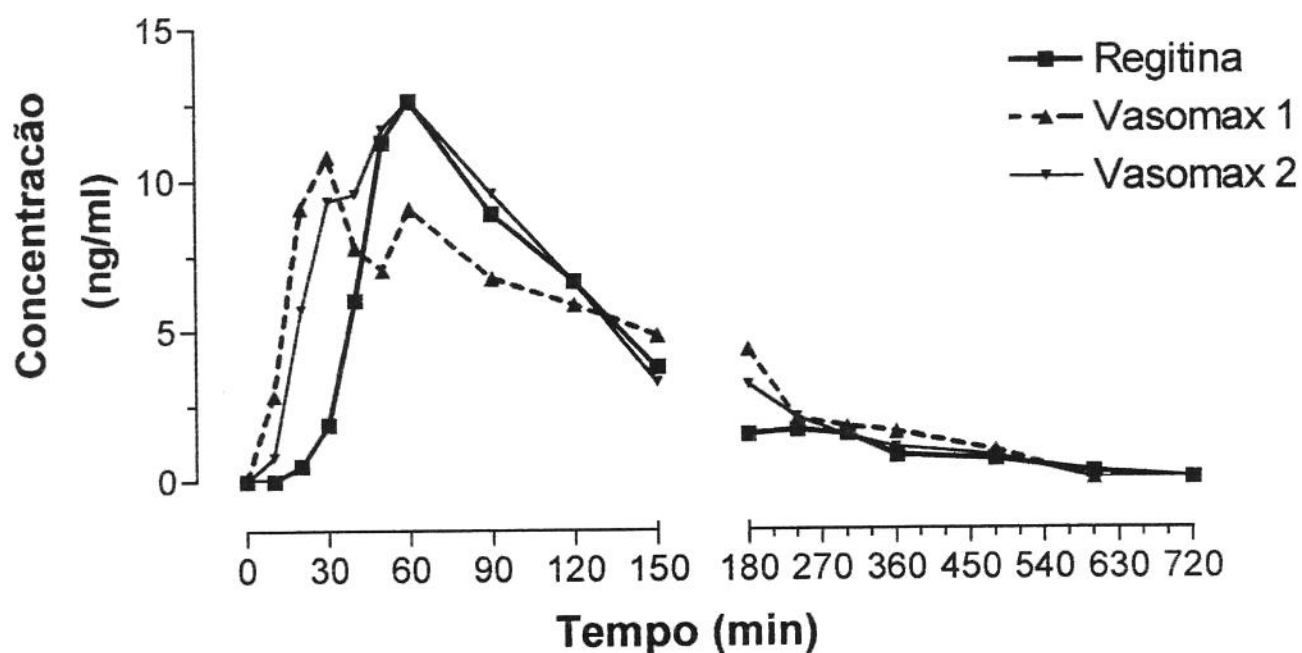
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng *min]/ml)	1654	1818	1545
ASC Inf ([ng * min]/ml)	1660	1854	1595
ASC (0-720min) / Inf (%)	99.6%	98.1%	96.9%
C _{max} (ng/ml)	15.1	19.4	15.0
T _{max} (min)	40	30	30
T _{1/2} (min)	61	120	150

Vol. XVI - KNS



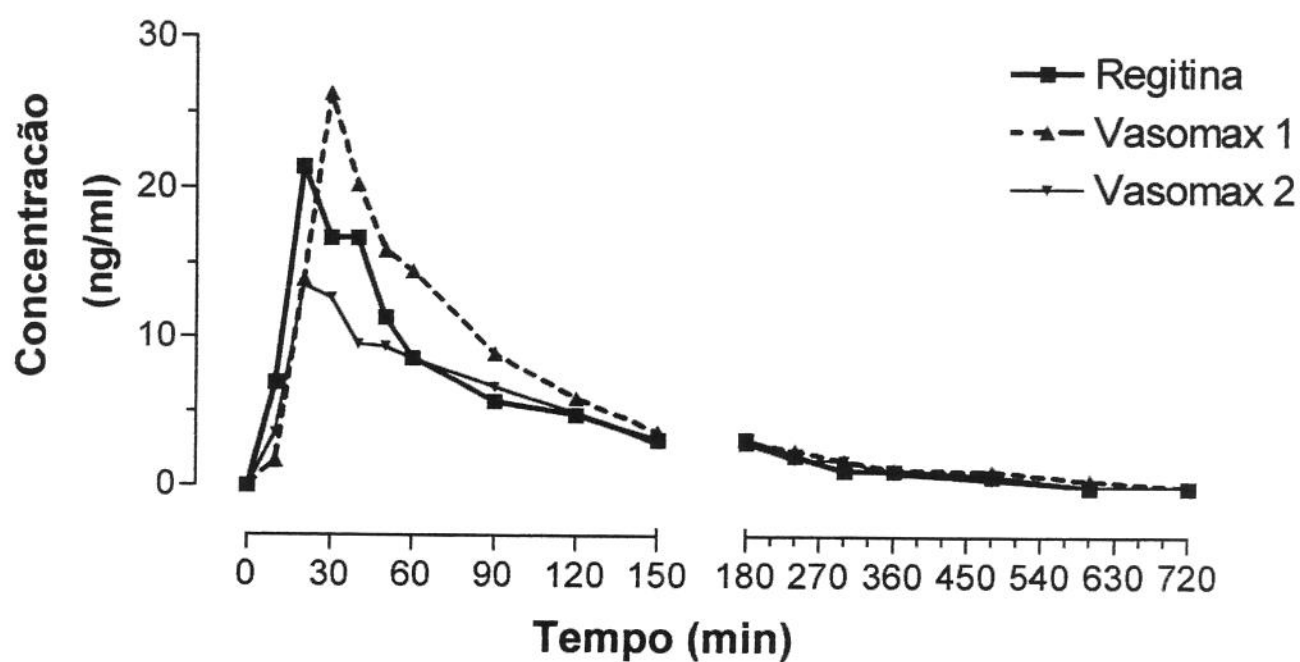
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1364	759	643
ASC Inf ([ng * min]/ml)	1386	792	669
ASC (0-720min) / Inf (%)	98.5%	95.8%	96.2%
C _{max} (ng/ml)	14.1	6.5	4.0
T _{max} (min)	40	50	50
T _{1/2} (min)	92	76	87

Vol. XVII - LAOV



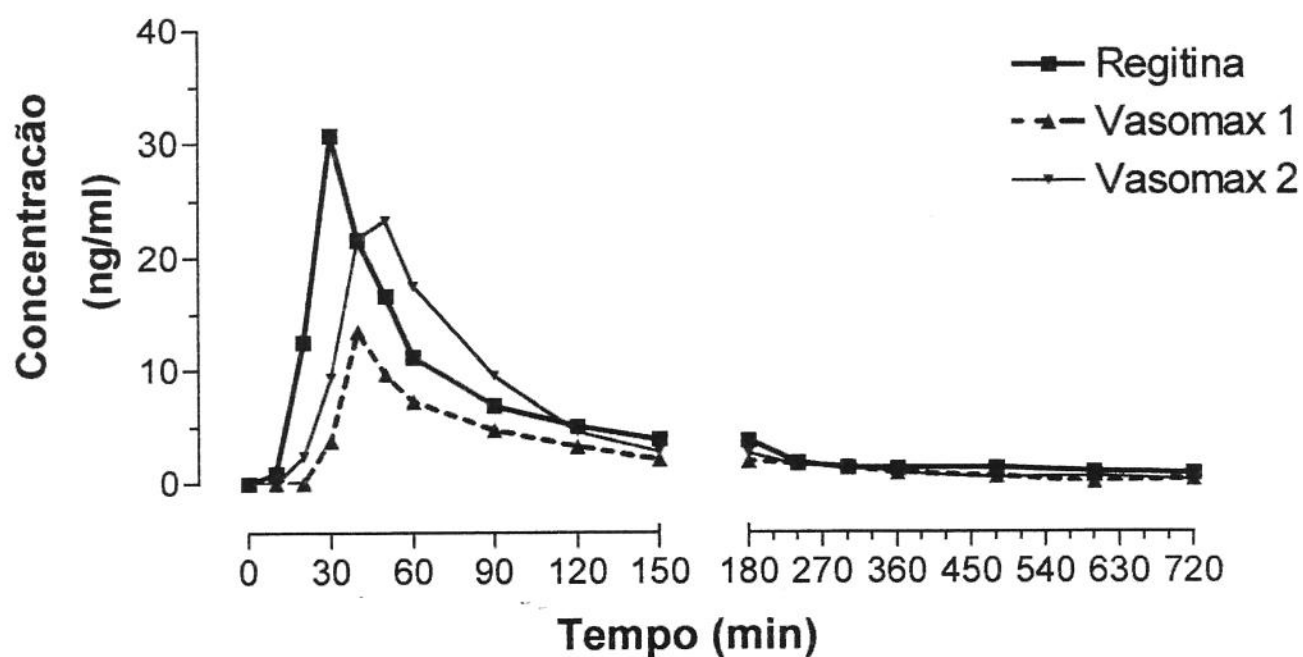
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1454	1752	1745
ASC Inf ([ng * min]/ml)	1481	1866	1856
ASC (0-720min) / Inf (%)	98.1%	93.9%	94.0%
C _{max} (ng/ml)	12.6	10.8	12.6
T _{max} (min)	60	30	60
T _{1/2} (min)	128	127	144

Vol. XVIII - JASS



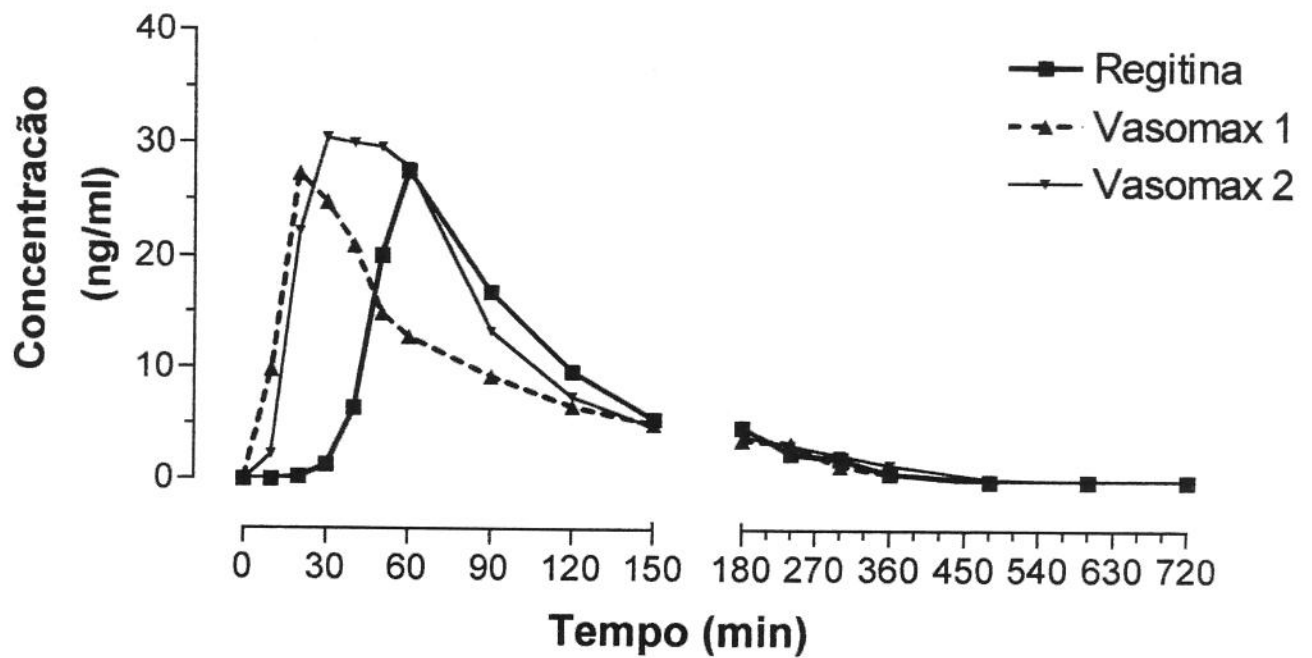
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1831	2298	1579
ASC ([ng * min]/ml)	1921	2373	1617
ASC (0-720min) / Inf (%)	95.3%	96.8%	97.6%
C _{max} (ng/ml)	21.4	26.3	13.5
T _{max} (min)	20	30	20
T _{1/2} (min)	127	159	100

Vol. XIX - MLO



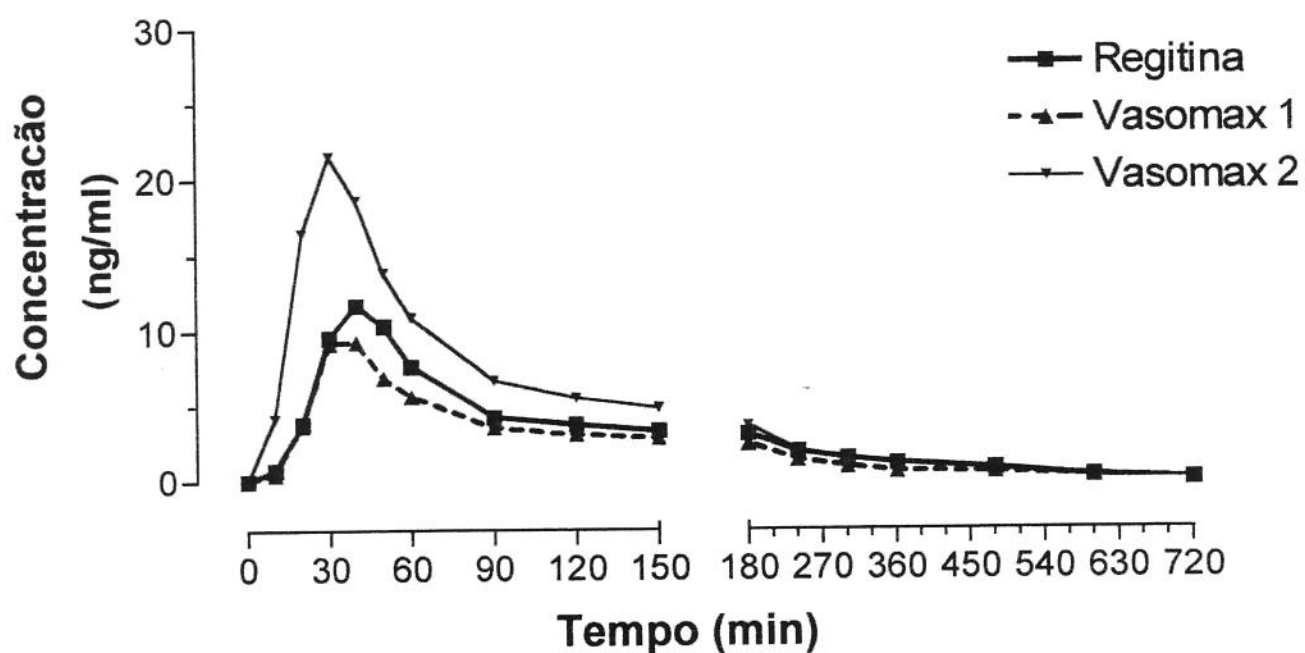
	Fentolamina		
	Regitina	Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	2311	1146	1937
ASC Inf ([ng * min]/ml)	2696	1242	1993
ASC (0-720min) / Inf (%)	85.7%	92.3%	97.2%
C _{max} (ng/ml)	30.7	13.5	23.3
T _{max} (min)	30	40	50
T _{1/2} (min)	340	200	165

Vol. XX - FZ



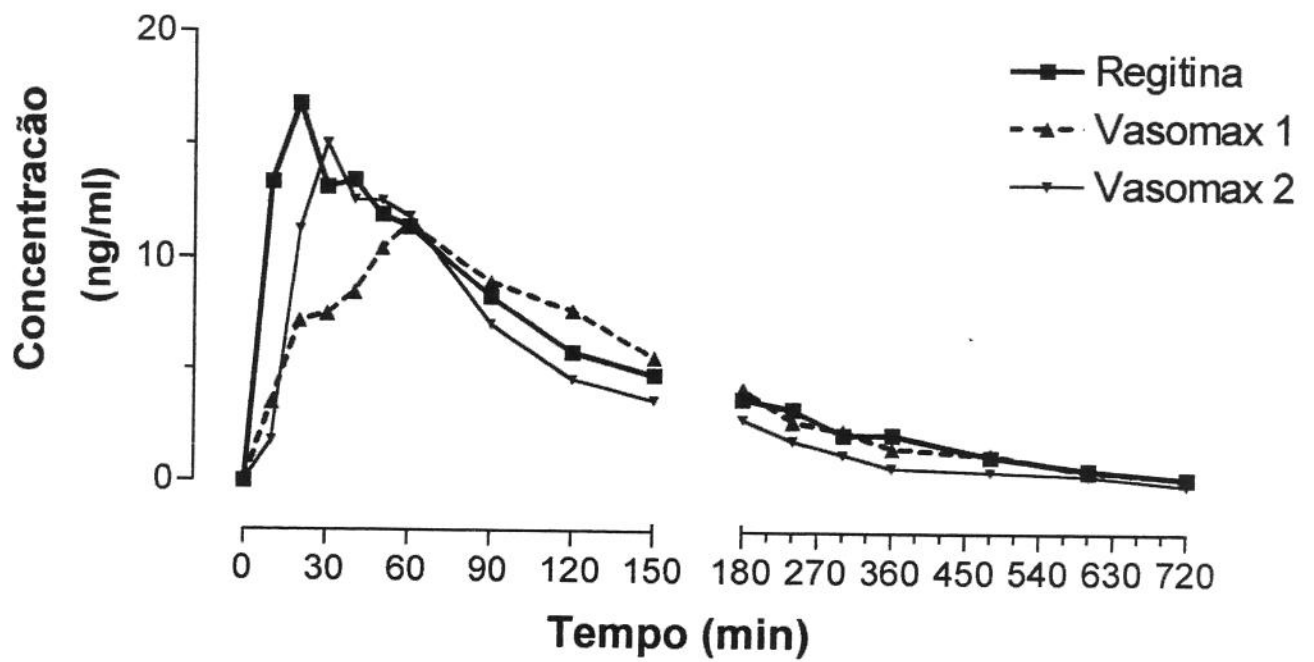
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	2332	2364	3135
ASC Inf ([ng * min]/ml)	2352	2373	3138
ASC(0-720min) / Inf (%)	99.2%	99.6%	99.9%
C _{max} (ng/ml)	27.6	27.4	30.5
T _{max} (min)	60	20	30
T _{1/2} (min)	62	51	51

Vol. XXI - PLFR



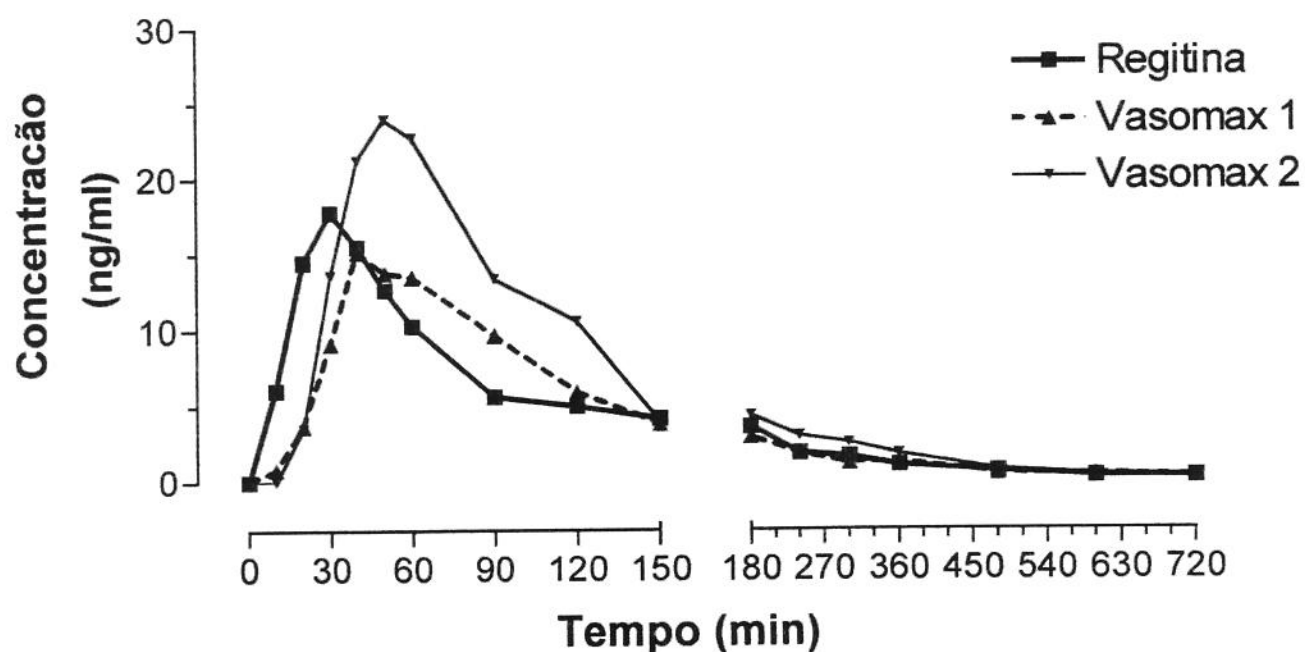
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1399	1060	2066
ASC Inf ([ng * min]/ml)	1423	1083	2113
ASC (0-720min) / Inf (%)	98.3%	97.9%	97.8%
C _{max} (ng/ml)	11.7	9.3	21.6
T _{max} (min)	40	40	30
T _{1/2} (min)	124	118	141

Vol. XXII - JBI



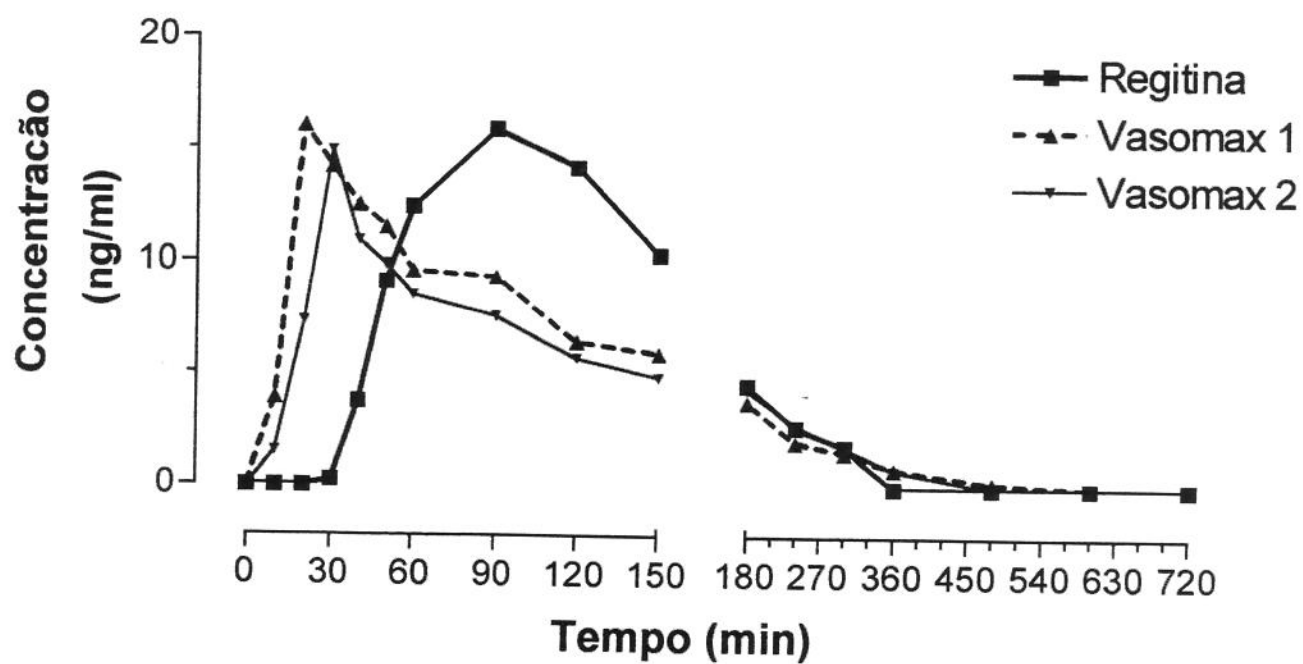
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	2438	2164	1734
ASC Inf ([ng * min]/ml)	2494	2213	1877
ASC (0-720min) / Inf (%)	97.8%	97.8%	92.4%
C _{max} (ng/ml)	16.8	11.5	15.1
T _{max} (min)	20	60	30
T _{1/2} (min)	126	112	286

Vol. XXIII - MF



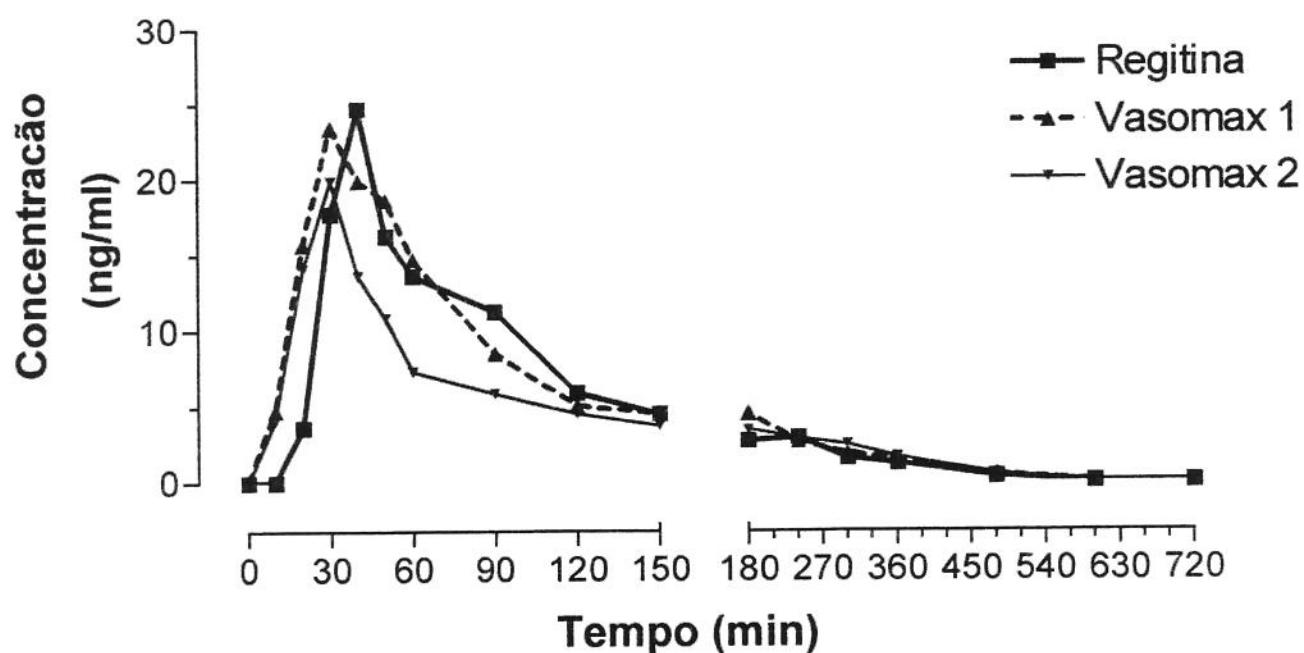
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1913	1834	2777
ASC Inf ([ng * min]/ml)	1959	1920	2852
ASC (0-720min) / Inf (%)	97.6%	95.5%	97.4%
C _{max} (ng/ml)	17.8	15.2	24.0
T _{max} (min)	30	40	50
T _{1/2} (min)	131	233	144

Vol. XXIV - ECP



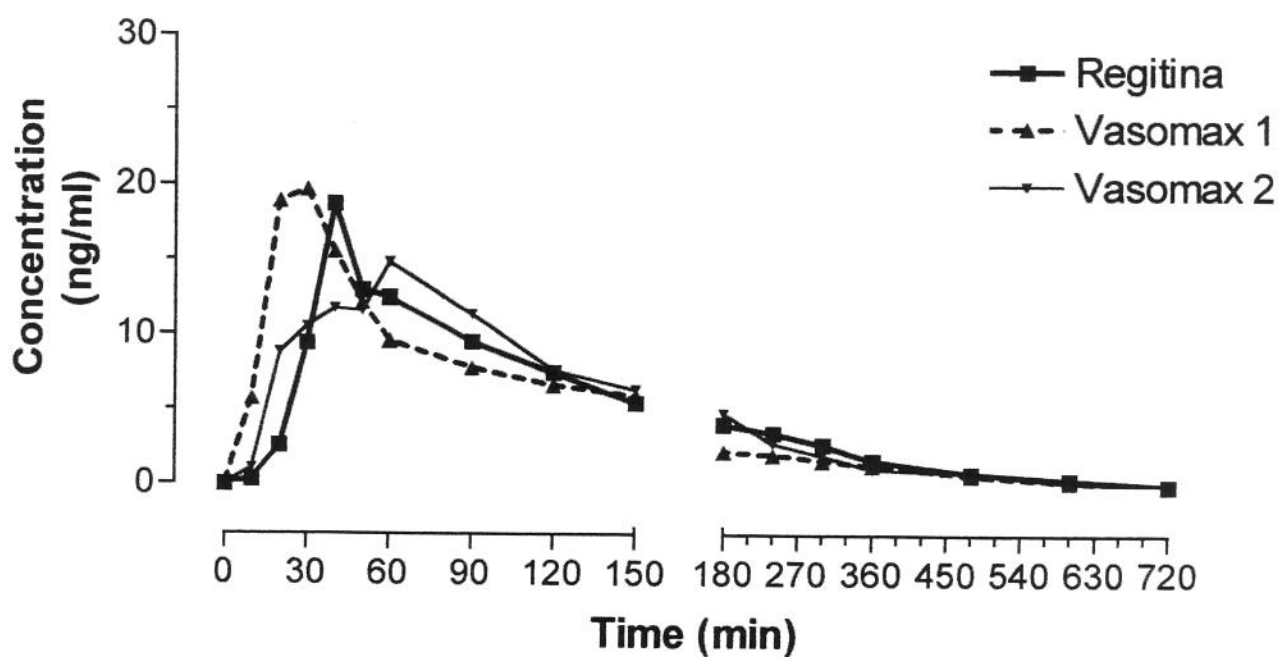
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	2069	1911	1703
ASC Inf ([ng * min]/ml)	2255	1918	1762
ASC(0-720min) / Inf (%)	91.7%	99.6%	96.7%
C _{max} (ng/ml)	15.9	16.0	15.0
T _{max} (min)	90	20	30
T _{1/2} (min)	92	64	93

Vol. XXV - AJFS



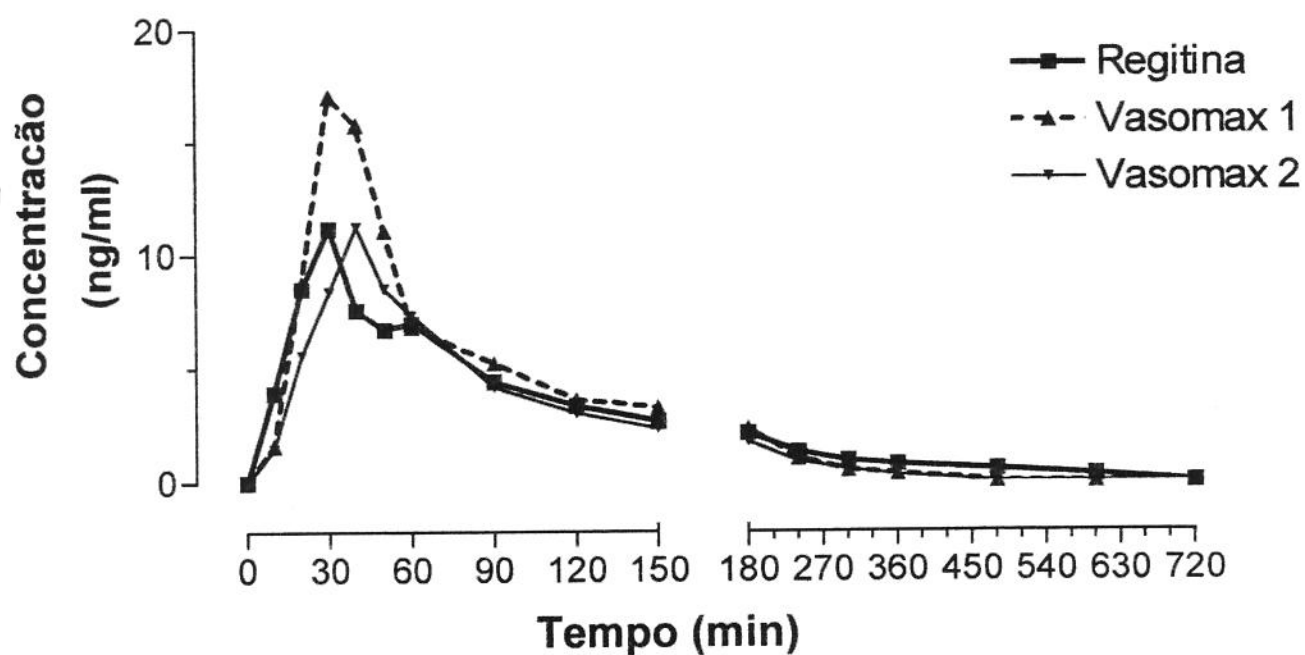
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	2085	2326	1882
ASC ([ng * min]/ml)	2102	2361	1908
ASC (0-720min) / Inf (%)	99.2%	98.5%	98.6%
C _{max} (ng/ml)	24.7	23.4	19.9
T _{max} (min)	40	30	30
T _{1/2} (min)	78	94	77

Vol. XXVI - DOB



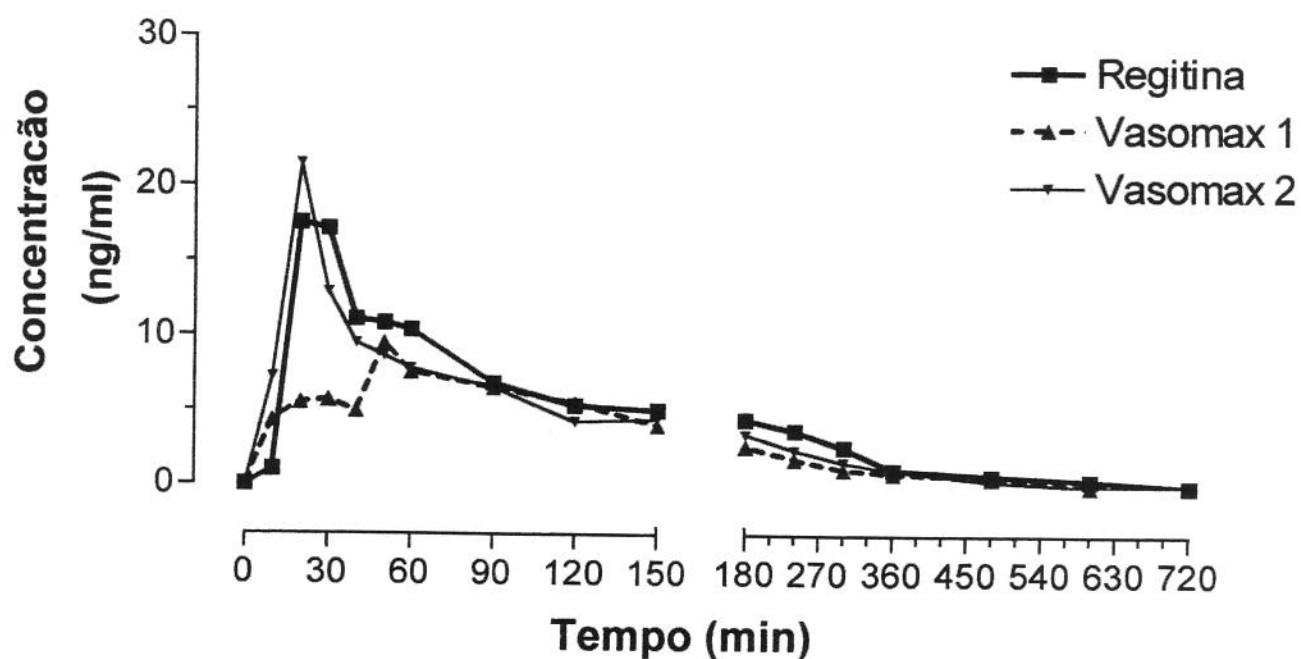
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	2214	2079	2222
ASC Inf ([ng * min]/ml)	2262	2102	2237
ASC (0-720min) / Inf (%)	97.9%	98.9%	99.3%
C _{max} (ng/ml)	18.8	19.7	14.9
T _{max} (min)	40	30	60
T _{1/2} (min)	121	102	95

Vol. XXVII - GSB



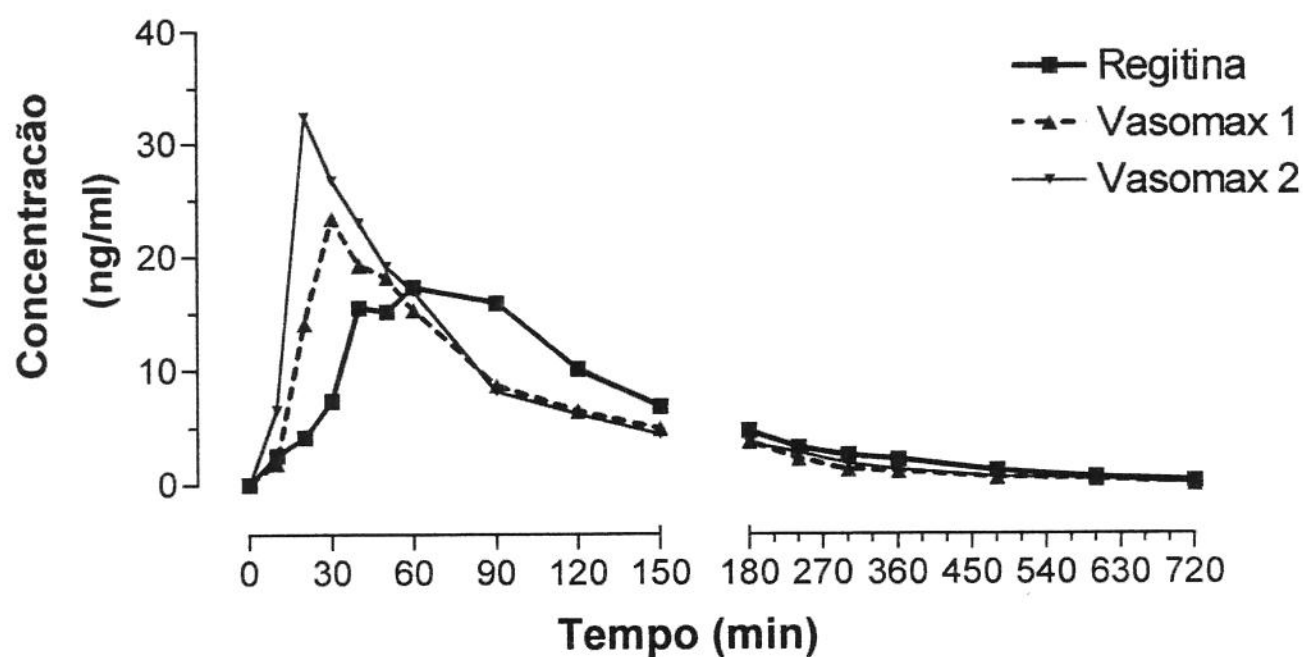
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1235	1277	982
ASC Inf ([ng * min]/ml)	1297	1291	997
ASC (0-720min) / Inf (%)	95.3%	99.0%	98.5%
C _{max} (ng/ml)	11.2	17.1	11.3
T _{max} (min)	30	30	40
T _{1/2} (min)	181	67	76

Vol. XXVIII - JBC



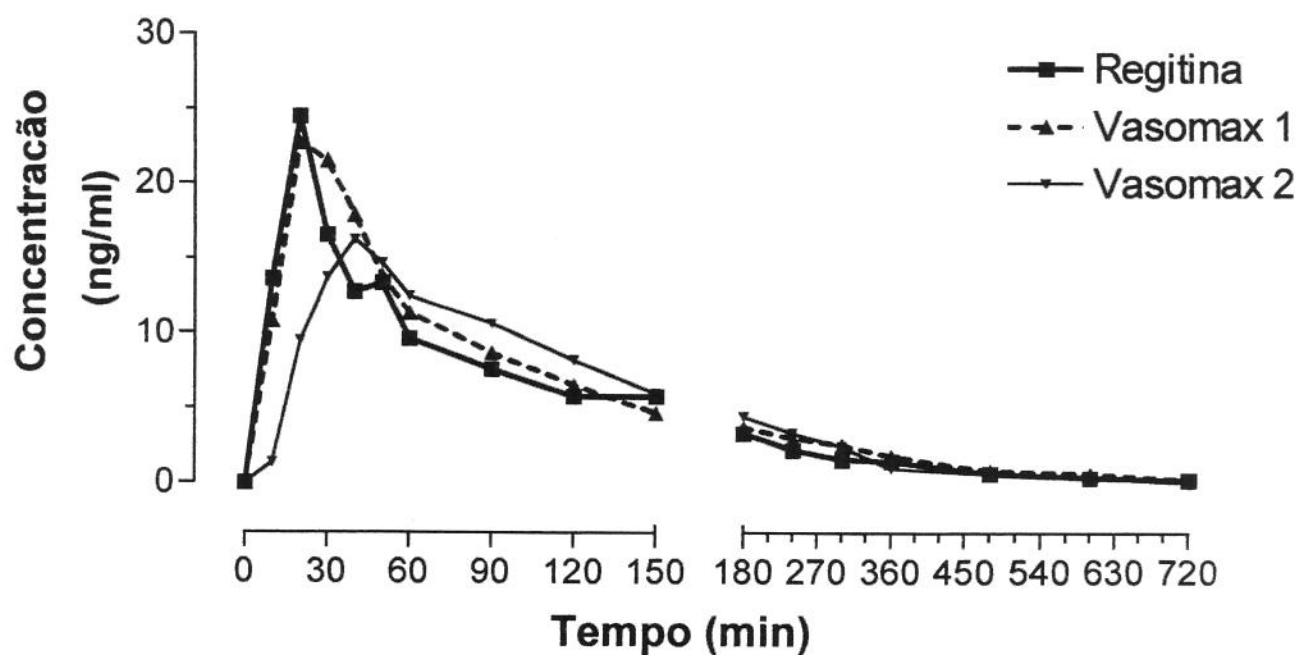
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	2103	1360	1736
ASC Inf ([ng * min]/ml)	2172	1466	1756
ASC(0-720min) / Inf (%)	96.8%	92.8%	98.9%
C _{max} (ng/ml)	17.5	9.5	21.5
T _{max} (min)	20	50	20
T _{1/2} (min)	162	176	81

Vol. XXIX - JGS



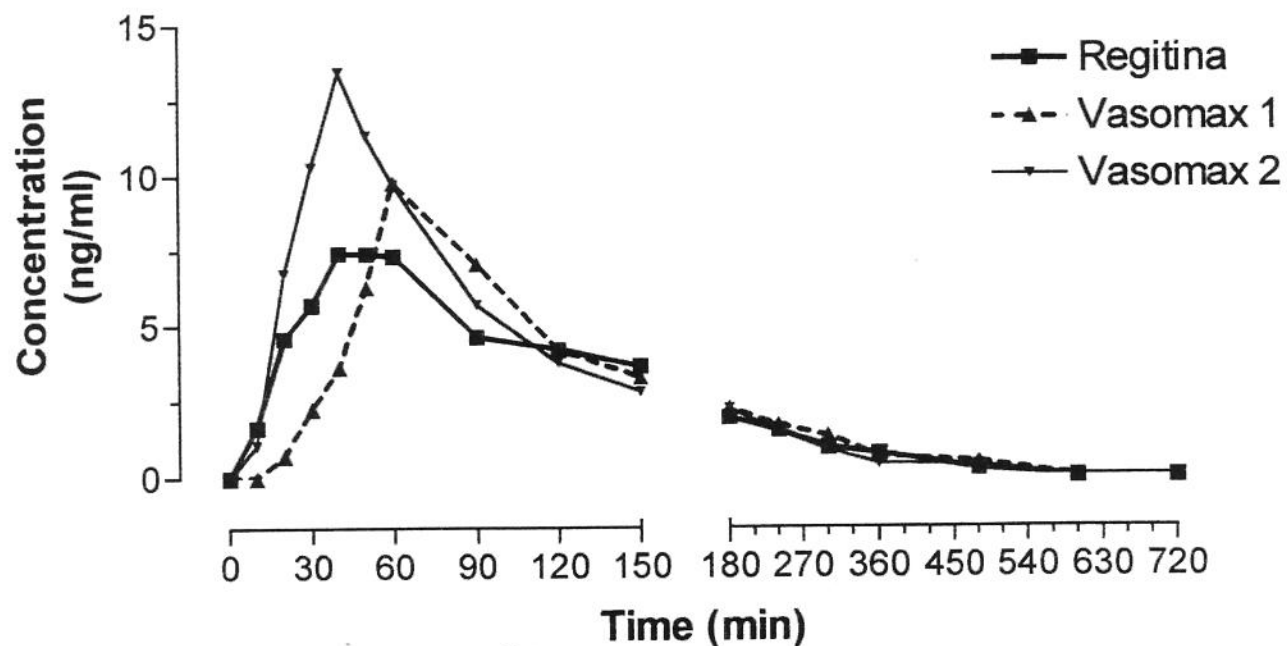
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	2780	2287	2663
ASC Inf ([ng * min]/ml)	2840	2375	2718
ASC(0-720min) / Inf (%)	97.9%	96.3%	98.0%
C _{max} (ng/ml)	17.3	23.4	32.4
T _{max} (min)	60	30	20
T _{1/2} (min)	129	179	130

Vol. XXX - RPTF



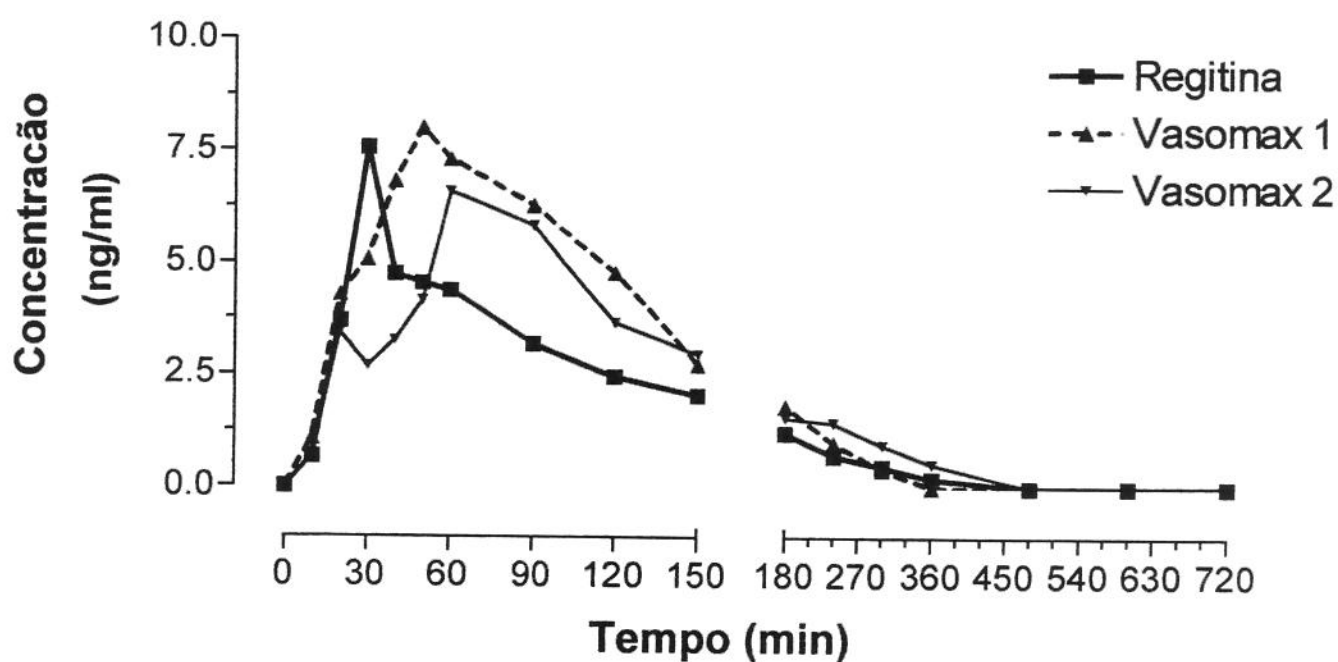
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	2235	2556	2325
ASC Inf ([ng * min]/ml)	2289	2604	2365
ASC (0-720min) / Inf (%)	97.6%	98.2%	98.3%
C _{max} (ng/ml)	24.5	22.7	16.3
T _{max} (min)	20	20	40
T _{1/2} (min)	158	137	103

Vol. XXXI - FGM



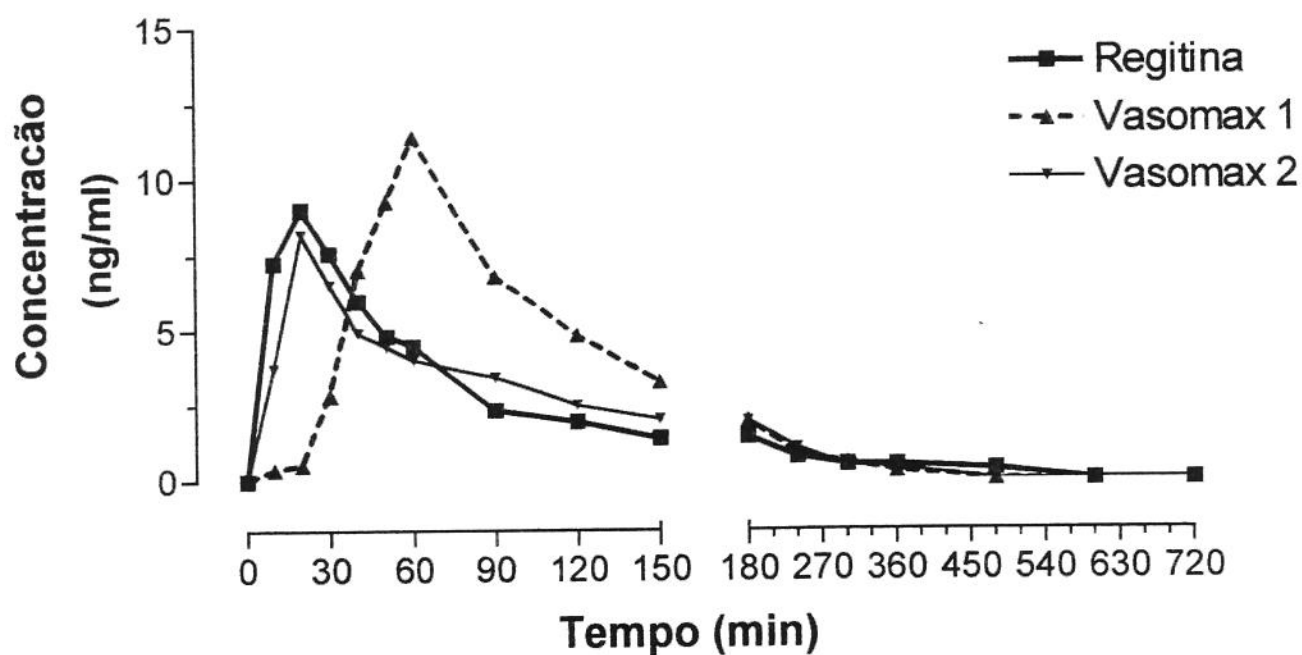
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1127	1162	1321
ASC ([ng * min]/ml)	1144	1211	1343
ASC (0-720min) / Inf (%)	98.5%	96.0%	98.4%
C _{max} (ng/ml)	7.4	9.8	13.5
T _{max} (min)	40	60	40
T _{1/2} (min)	90	112	81

Vol. XXXII - WCS



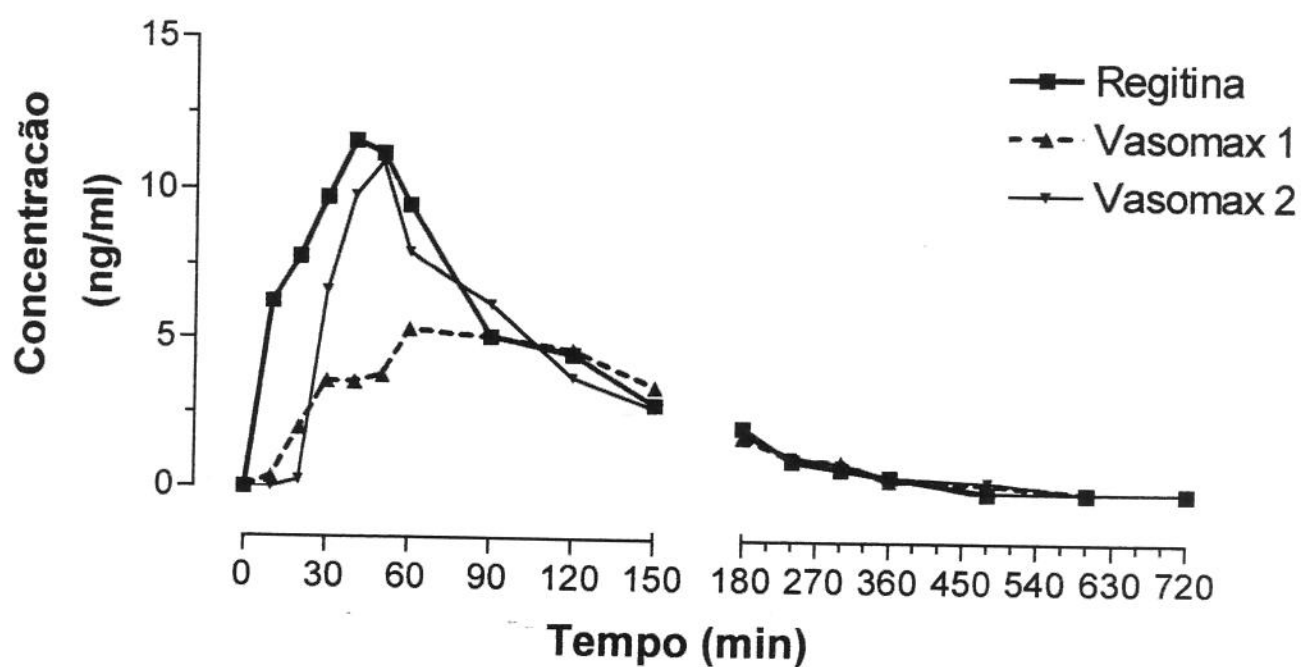
	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	675	978	908
ASC Inf ([ng * min]/ml)	683	997	939
ASC (0-720min) / Inf (%)	98.7%	98.1%	96.7%
C _{max} (ng/ml)	7.6	8.0	6.6
T _{max} (min)	30	50	60
T _{1/2} (min)	71	53	82

Vol. XXXIII - MHS

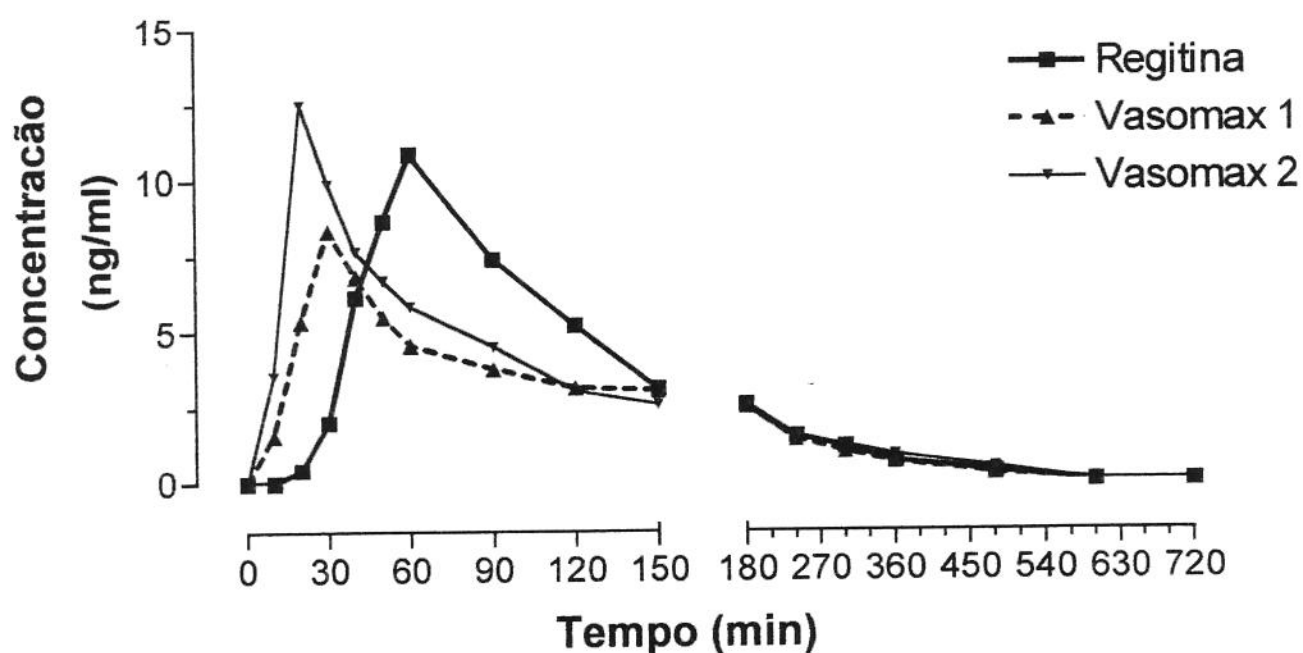


	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	832	1078	813
ASC Inf ([ng * min]/ml)	878	1085	837
ASC (0-720min) / Inf (%)	94.9%	99.3%	97.2%
C _{max} (ng/ml)	9.0	11.4	8.2
T _{max} (min)	20	60	20
T _{1/2} (min)	134	58	83

Vol. XXXIV - LCM

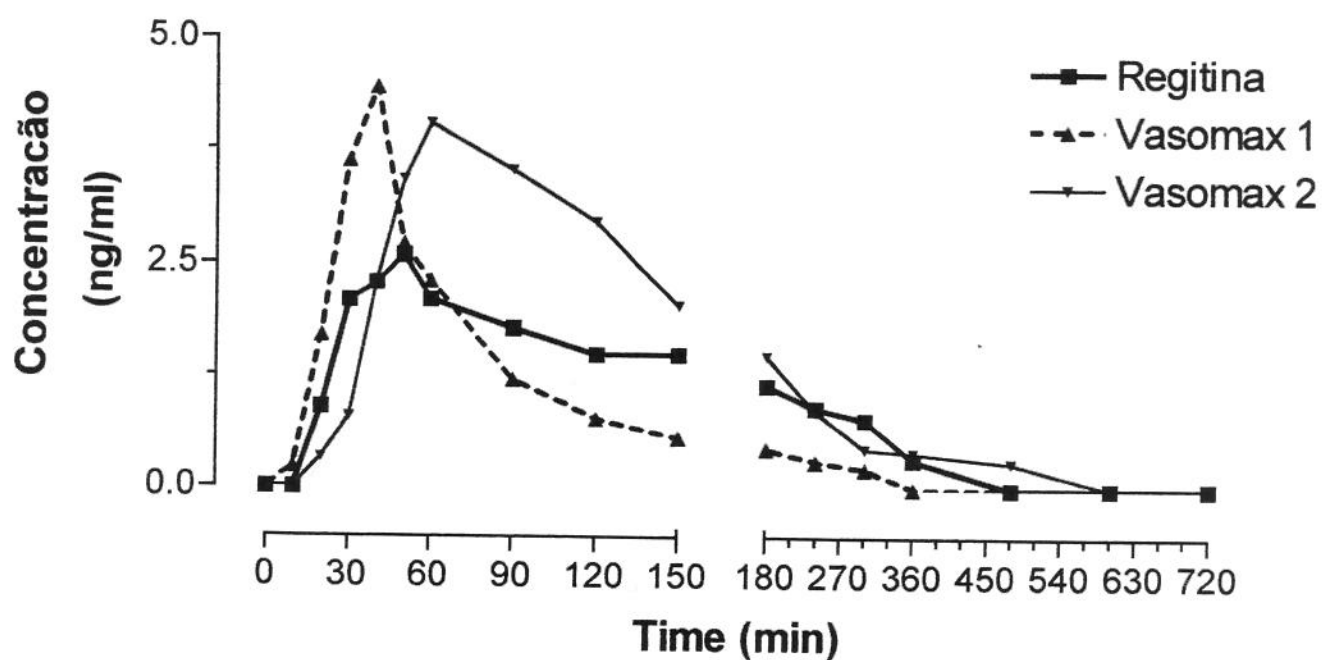


	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1282	914	1120
ASC Inf ([ng * min]/ml)	1303	935	1156
ASC (0-720min) / Inf (%)	98.3%	97.8%	96.9%
C _{max} (ng/ml)	11.6	5.3	10.9
T _{max} (min)	40	60	50
T _{1/2} (min)	70	90	108



	Regitina	Fentolamina Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	1239	1014	1233
ASC Inf ([ng * min]/ml)	1265	1034	1289
ASC (0-720min) / Inf (%)	97.9%	98.1%	95.6%
C _{max} (ng/ml)	10.9	8.3	12.5
T _{max} (min)	60	30	20
T _{1/2} (min)	99	94	127

Vol. XXXVI - GYS



	Regitina	Fentolamine Vasomax1	Vasomax2
ASC (0-720min) ([ng * min]/ml)	444	300	620
ASC Inf ([ng * min]/ml)	482	332	728
ASC (0-720min) / Inf (%)	92.0%	90.3%	85.2%
C _{max} (ng/ml)	2.6	4.4	4.0
T _{max} (min)	50	40	60
T _{1/2} (min)	125	122	300