



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS URUGUAIANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

MARIA FERNANDA DE MOURA LEÃO

**“AVALIAÇÃO GENOTÓXICA E MUTAGÊNICA DE ANTI-HIPERTENSIVOS
DISTRIBUÍDOS PELA FARMÁCIA POPULAR EM CÉLULAS DO SISTEMA
IMUNOLÓGICO HUMANO”**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

URUGUAIANA

2016

MARIA FERNANDA DE MOURA LEÃO

**“AVALIAÇÃO GENOTÓXICA E MUTAGÊNICA DE ANTI-HIPERTENSIVOS
DISTRIBUÍDOS PELA FARMÁCIA POPULAR EM CÉLULAS DO SISTEMA
IMUNOLÓGICO HUMANO”**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Michel Mansur Machado

Coorientador: Prof. Dr. Luís Flávio Souza de Oliveira

URUGUAIANA

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS URUGUAIANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**AVALIAÇÃO GENOTÓXICA E MUTAGÊNICA DE ANTI-HIPERTENSIVOS
DISTRIBUÍDOS PELA FARMÁCIA POPULAR EM CÉLULAS DO SISTEMA
IMUNOLÓGICO HUMANO**

elaborada por

Maria Fernanda de Moura Leão

como requisito parcial para a obtenção do grau de

Mestre em Ciências Farmacêuticas

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr. Michel Mansur Machado (UNIPAMPA)

Orientador/Presidente

Prof^ª. Dr^ª. Jaqueline Escobar da Costa Piccoli (UNIPAMPA)

Prof. Dr. Rodrigo José Freddo (UNIPAMPA)

Dedico este trabalho aos meus pais, por todo amor, carinho e dedicação durante todo esse tempo e pelo apoio incondicional que me faz ir mais longe! Dedico também ao Romeu, a criatura mais amada e companheira do mundo!

AGRADECIMENTOS

À Deus! Por me proteger sempre, por me mostrar o quanto sou abençoada, por me permitir concluir mais essa etapa e principalmente, pelas pessoas especiais que caminham ao meu lado.

Aos professores do PPGCF, pelos ensinamentos, pelas experiências compartilhadas e por tudo novo que foi acrescentado à minha vida, tanto pessoal como acadêmica.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao “Meu Malvado Favorito”, também conhecido como orientador ou professor Michel. Obrigado pela orientação desde a graduação, por tudo o que acrescentou a minha vida acadêmica e pelos ensinamentos que levarei para a minha vida profissional.

Ao professor Luís Flávio, que é um professor “legal”. Obrigado por sempre ter uma palavra de apoio, um conselho e por estar sempre na mesa ao lado pra me ajudar.

A professora Fabiane Farias, ou simplesmente Fabi, por ter me acolhido no seu laboratório, pelo carinho, pelos conselhos e pela amizade! E obrigado também a todo o pessoal do 409, vocês são um sucesso!

Aos voluntários saudáveis que doaram sangue para a preparação das culturas, sejam eles os amigos queridos que foram perseguidos por mim, sejam os desconhecidos que eu abordei no corredor: o meu eterno MUITO OBRIGADO! Sem vocês nada disso seria possível!!

Aos meus colegas do Grupo de Pesquisas NUBIOTOXIM! Pessoal, obrigado pelo carinho, pelo auxílio nos infindáveis experimentos, pela torcida e pela parceria. Um obrigado mais que especial à minha amiga Jonathaline! Jona, MUITO OBRIGADA POR TUDO, por ter me ajudado nos experimentos, por ter estado comigo sempre, seja para colar/descolar etiquetas, pra dobrar folders, pra fazer mudanças, por ter vivido comigo os choros e as risadas da pós ou simplesmente pra um chazinho ou uma tortinha! Valeu mesmo, esse trabalho também é teu!

Aos amigos que o curso de Farmácia me deu. Vocês são presentes que Deus colocou na minha vida. Obrigado por terem me acompanhado também nessa viagem louca chamada pós-graduação, por terem me ouvido desabafar, por terem me visto chorar e por terem me apoiado sempre! Obrigado Anelena, Luana, Thiane, JP, Jéssica (que continua me amando apesar de tudo!) e Willian (que apareceu bem antes da Farmácia, afinal, já são 11 anos!)

Aos amigos que estão na minha vida desde sempre, aos que vieram “de brinde” e aos que apareceram no caminho, e que mesmo de longe, torceram e acreditaram em mim.

Às minhas tias queridas que sempre torceram e me apoiaram muito.

Aos meus pais amados, que sempre e desde sempre me incentivaram muito, independente das minhas escolhas. Obrigado não só pelo incentivo e pela torcida, mas por terem sempre acreditado em mim e “dado corda” para os meus sonhos. Obrigado por terem sido meus primeiros professores, por terem me transformado na pessoa que eu sou e por terem lutado para fazer o melhor por mim sempre! Obrigado pela família maravilhosa que eu tenho, obrigado pelos abraços e pela força nos momentos em que eu mais precisei, obrigado por acordarem cedo e dormirem tarde só pra me fazer companhia! Obrigado, obrigado e obrigado!

Aos meus irmãos Eduardo e Alice, por serem tão parecidos mas tão diferentes de mim. Obrigado pelo carinho, pelos abraços, pelo incentivo de sempre. Por estarem sempre dispostos a me ouvir e por todas as vezes que disseram “Mana, não viaja!”. E muito obrigado por acreditarem e desejarem tanto quanto eu o meu sucesso.

Por último, mas não menos importante: ao Romeu, o cachorro mais amado e mais companheiro do mundo! Sei que jamais ele vai ler estas linhas, mas todas as vezes que eu chorei, que eu sorri, que eu simplesmente precisei descansar ou quando estava escrevendo este trabalho, ele estava lá pra mim, pronto pra ficar ao meu lado, me fazer um carinho e me dar o amor incondicional que só os cães tem. E por ter sido parte fundamental do meu tratamento. Rô, tu é o melhor!

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação.”

(Simone de Beauvoir)

RESUMO

AVALIAÇÃO GENOTÓXICA E MUTAGÊNICA DE ANTI-HIPERTENSIVOS DISTRIBUÍDOS PELA FARMÁCIA POPULAR EM CÉLULAS DO SISTEMA IMUNOLÓGICO HUMANO

A hipertensão arterial é uma condição clínica de ocorrência multifatorial, sendo a mais frequente entre as doenças crônicas não transmissíveis no Brasil. É caracterizada pelo aumento e manutenção dos níveis pressóricos acima de 140mmHg (pressão sistólica) e 90mmHg (pressão diastólica). É também o maior agravante nas complicações cardiovasculares e está associada ao surgimento de outras co-morbidades. A OMS estima que 40% da população mundial acima dos 25 anos seja hipertensa, estando localizada majoritariamente em países onde a renda e o nível de escolaridade são menores. Depois de diagnosticada, a hipertensão arterial deve ser tratada com mudanças no estilo de vida e medicamentos que mantenham os níveis pressóricos controlados, sendo assim, várias classes de anti-hipertensivos são usados nesse tratamento. Visando ampliar o acesso a medicamentos básicos e permitir uma melhor adesão ao tratamento, o Governo Federal criou em 2004 o *Programa Farmácia Popular do Brasil*, uma parceria entre governo e instituições públicas e privadas para fornecer a população medicamentos para o controle da hipertensão, diabetes, asma, dislipidemias, anticoncepcionais, entre outros; de forma gratuita ou subsidiada em até 90% do valor. Para tratar a hipertensão, o *Programa Farmácia Popular do Brasil* distribui de forma gratuita os anti-hipertensivos – atenolol, captopril, cloridrato de propranolol, hidroclorotiazida, losartana e maleato de enalapril, todos estes sendo lançados no mercado anterior ao ano de 2004, quando testes de segurança genética ainda não eram obrigatórios, de acordo com a Resolução nº 90/2004 da ANVISA. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial genotóxico de anti-hipertensivos distribuídos pela Farmácia Popular em células leucocitárias humanas, haja vista que são fármacos amplamente utilizados e se faz necessários maiores estudos que garantam a segurança genotoxicológica dos mesmos. Os testes foram desenvolvidos a partir de culturas celulares tratadas com cinco diferentes concentrações dos anti-hipertensivos, sendo avaliados parâmetros genotoxicológicos – viabilidade celular e índice de dano ao DNA (teste Cometa), e parâmetros mutagênicos – teste de micronúcleo e instabilidade cromossômica numérica. Os resultados mostram que captopril e maleato de enalapril foram capazes de diminuir a viabilidade celular e causar danos ao DNA conforme o aumento da dose, e que, o atenolol foi capaz de também diminuir a viabilidade celular de acordo com o aumento da dose. A hidroclorotiazida também mostrou causar dano ao DNA, porém esse dano ocorreu de forma igual para as cinco doses. Quanto aos parâmetros mutagênicos, nenhum dos seis anti-hipertensivos testados e, em nenhuma das cinco concentrações foi capaz de causar alterações mutagênicas.

Palavras-chave: hipertensão arterial, anti-hipertensivos, genotoxicidade, mutagenicidade.

ABSTRACT

Genotoxic and mutagenic evaluation of antihypertensive distributed for “Farmácia Popular” in human system immunological cells

Hypertension is an clinical condition of the multifactorial occurrence, the most frequent among chronic diseases not transferable in Brazil. It is characterized by increase and maintenance blood pressure levels above 140mmHg (systolic pressure) and 90mmHg (diastolic pressure). It is also the most aggravating in the cardiovascular complications and it is associated with the appearance of others comorbidities. The WHO estimates that 40% of the world population over 25 years old is hypertensive, being located mostly in countries where income and educations levels are lower. After the diagnosed, hypertension must be treated with changes in the life style and drugs that maintain pressure levels controlled, therefore, several classes of antihypertensive are used in this treatment. Aiming to expand access to basic drugs and allow a better adhesion to treatment, the federal government created in 2004 the “*Farmácia Popular do Brasil*” Program, an association among government and public and private institutions to provide the people medications for control of the hypertension, diabetes, asthma, dyslipidemia, contraceptives, etc, free or subsidized form by up to 90% of the value. To treat hypertension, the “*Farmácia Popular do Brasil*” Program distributes of free form antihypertensive – atenolol, captopril, propranolol hydrochloride, hydrochlorothiazide, losartan and enalapril maleate, all these being released before the year 2004, when genetic safety tests still not required, according to Resolution nº 90/2004 of ANVISA. Thus, the objective this work was to evaluate the genotoxic potencial of the antihypertensives distributed by “Farmácia Popular” in human leukocytes cells, considering that they are widely used drugs and it is necessary larger studies that ensure the genotoxicology their safety. The tests are desenvolved from cell cultures treated with five different concentrations of the antihypertensives, being evaluated genotoxicological parameters – cell viability and DNA damage index, and mutagenic parameters – micronucleus test and numerical chromosomal aberrations. The results showed that captopril and enalapril maleate were able to reduce cell viability and cause damage to DNA with increasing dose. The hydrochlorothiazide also showed to cause DNA damage, but, this damage occurred equality for five doses. As for mutagenic parameters, none of the six antihypertensives tested and, none of the five concentrations were capable to cause mutagenic changes.

Keywords: hypertension, antihypertensives, genotoxicity, mutagenicity

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Título	Página
Figura 1: Estrutura química do Atenolol	21
Figura 2: Estrutura química do Captopril	22
Figura 3: Estrutura química do Cloridrato de Propranolol	23
Figura 4: Estrutura química da Hidroclorotiazida	23
Figura 5: Estrutura química da Losartana	24
Figura 6: Estrutura química do Maleato de Enalapril	25
Figura 07: Interpretação do teste de viabilidade celular (400X)	27
Figura 08: Interpretação do teste do teste cometa (400X)	27
Figura 09: Interpretação do teste de micronúcleos (400X)	28
Figura 10: Interpretação do teste de instabilidade cromossômica (1000X)	29
Figura 11: teste de viabilidade celular em leucócitos humanos expostos a cinco diferentes concentrações de anti-hipertensivo	31
Figura 12: índice de dano ao DNA obtido a partir do teste Cometa em linfócitos humanos expostos a cinco diferentes concentrações de anti-hipertensivos	32
Figura 13: Formação dos Dímeros de Timina-Ciclobutano que lesam o DNA	32
Figura 14: contagem de micronúcleos em linfócitos humanos expostos a cinco diferentes concentrações de anti-hipertensivos	34
Figura 15: avaliação de índice mitótico numérico em linfócitos humanos expostos a cinco diferentes concentrações de anti-hipertensivos	35

LISTA DE TABELAS

Título	Página
Tabela 1: Concentração dos seis anti-hipertensivos que foram usadas no tratamento das culturas de leucócitos humanos	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de variância

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CN – Controle Negativo

CP – Controle Positivo

DBH IV – Diretrizes Brasileiras de Hipertensão

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

HA – Hipertensão Arterial

IECA – Inibidor da Enzima Conversora de Angiotensina

mL - Militros

MN – Micronúcleo

ng – Nanogramas

OMS – Organização Mundial da Saúde

PFPPB – Programa Farmácia Popular do Brasil

PP – Pico Plasmático

SBC – Sociedade Brasileira de Cardiologia

SUS – Sistema Único de Saúde

µL - Microlitros

SUMÁRIO

Título	Página
1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
<i>3.1 Hipertensão Arterial.....</i>	<i>18</i>
<i>3.2 Farmácia Popular.....</i>	<i>19</i>
<i>3.3 Anti-hipertensivos</i>	<i>20</i>
4 MATERIAIS E MÉTODOS	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
6 CONCLUSÕES	36
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXOS	42

1 INTRODUÇÃO

A Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) é definida como a manutenção de níveis pressóricos acima de 140 mmHg para a pressão sistólica e 90 mmHg para a pressão diastólica (CESARINO *et al.* 2008). A HAS é diagnosticada a partir da elevação e manutenção dos níveis pressóricos, e pode estar ligada a fatores intrínsecos como hereditariedade, gênero, etnia e idade, como também pode relacionar-se à fatores extrínsecos como tabagismo, sedentarismo, abuso de álcool, estresse e dislipidemias (GIROTTO *et al.* 2009; DBH VI - SBC 2010).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que cerca de 40% da população mundial acima dos 25 anos seja hipertensa (OMS, 2013). No Brasil, a Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) e o Ministério da Saúde estimam que cerca de 32,5% da população brasileira seja afetada pela doença (SBC – DBH, 2010; BRASIL, 2014).

Por se tratar de um importante problema de saúde pública e que afeta uma grande parte da população brasileira, o governo federal criou em 2004 o *Programa Farmácia Popular do Brasil*, com o intuito de ampliar o acesso da população aos medicamentos básicos e essenciais, por meio de ações articuladas entre os setores público e privado. Em 2006 foi criada outra modalidade do programa: “*Aqui tem Farmácia Popular*”, que se dá a partir da parceria com farmácias da rede privada, visando oferecer aos seus clientes alguns dos medicamentos distribuídos pelo programa *Farmácia Popular* utilizados para o controle da hipertensão, diabetes e anticoncepcionais subsidiados em até 90% pelo governo federal (de OLIVEIRA *et al.* 2013).

Estudos comprovam a redução dos níveis pressóricos através do tratamento medicamentoso, que pode se dar por diferentes classes de medicamentos como por exemplo, diuréticos tiazídicos, betabloqueadores e inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) (MOCHEL *et al.* 2007), desse modo, o programa *Farmácia Popular* disponibiliza anti-hipertensivos de diferentes classes, visando abranger diferentes necessidades terapêuticas. Os anti-hipertensivos distribuídos pelo programa *Farmácia Popular* são: Atenolol, Captopril, Cloridrato de Propranolol, Hidroclorotiazida, Losartana e Maleato de Enalapril (BRASIL, 2010).

No ano de 2004 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária alterou as normas de registro de medicamentos, seguindo o proposto pela Comunidade Europeia e pela

agência FDA (*Food and Drug Administration*) dos Estados Unidos, impondo critérios mais rígidos para o registro de novos fármacos ou alteração do registro dos já utilizados. Em relação aos medicamentos registrados antes de 2004, os mesmos adequam-se as normas anteriores da ANVISA, o que exclui a obrigatoriedade dos testes de toxicidade genética (GAVA *et al.* 2010). Muitos dos medicamentos empregados para o controle da hipertensão obtiveram seus registros em data anterior a essa nova normativa da ANVISA, ficando assim sem a comprovação dos riscos genotoxicológicos (PÓVOA *et al.* 2014).

Tendo em vista a melhoria na saúde, o grande uso no tratamento da população, o alto índice de pessoas hipertensas e o fato de que os anti-hipertensivos distribuídos pelo *Programa Farmácia Popular* foram todos registrados antes de 2004, torna-se indispensável a avaliação da segurança genotoxicológica de fármacos amplamente difundidos na terapêutica.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os possíveis efeitos genotóxicos dos medicamentos anti-hipertensivos Atenolol, Captopril, Cloridrato de Propranolol, Hidroclorotiazida, Losartana e Maleato de Enalapril distribuídos pelo *programa Farmácia Popular* .

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os possíveis efeitos genotóxicos dos fármacos em culturas de linfócitos humanos, através dos testes de dano de DNA cometa e viabilidade.
- Avaliar os possíveis efeitos mutagênicos dos fármacos em culturas de linfócitos humanos, pelos testes de micronúcleos e instabilidade cromossômica.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 HIPERTENSÃO ARTERIAL

A hipertensão arterial (HA) é uma condição clínica composta por múltiplos fatores e caracterizada principalmente pelo aumento e manutenção dos níveis pressóricos sistólico e diastólico acima de 140mmHg e 90mmHg respectivamente (SBC – DBH, 2010). Essa é a condição clínica mais frequente entre as doenças crônicas não-transmissíveis no Brasil e o fator de risco mais importante nas complicações cardiovasculares pois está associada ao surgimento e ao risco aumentado de co-morbidades como infarto agudo do miocárdio, nefropatias, acidente vascular encefálico e cerebral, gerando anualmente, aumento nos custos do seu tratamento (BORIM *et al.* 2011; GONTIJO *et al.* 2012; SCHMIDT, DUNCAN* *et al.*, 2006). De acordo com a OMS, ocorrem cerca de 9,4 milhões de mortes anuais em decorrência da hipertensão (OMS, 2013).

A HA constitui atualmente, um dos maiores problemas globais de saúde, onde, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) cerca de 40% da população mundial maior de 25 anos é afetada, tendo esse número saltado de 600 milhões de pessoas na década de 80, para 1 bilhão em 2008; fato agravado pelo aumento no consumo de álcool e tabaco, além do aumento no consumo de alimentos menos saudáveis. Os países que mais apresentam casos diagnosticados de HA são países onde a renda da população é menor (OMS, 2013). No Brasil, estima-se que a hipertensão afete, em média 32,5% da população, onde a metade desse total seja de pessoas acima dos 60 anos (SBC – DBH, 2010; BRASIL, 2014). Dados do DATASUS apontam que em novembro de 2009, ocorreram 91.970 internações decorrentes de doenças cardiovasculares agravadas pela HA, gerando um gasto de R\$ 165.461.644,33 (BRASIL, 2010).

O surgimento da HA está associado a fatores intrínsecos como hereditariedade, sexo, idade e etnia, onde a Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) estima que mulheres, a partir dos 50 anos estão mais propensas a desenvolver HA (SBC – DBH, 2010). Os fatores extrínsecos relacionados ao surgimento da HA são o excesso de peso e a obesidade, sedentarismo, ingestão em excesso de sal e bebidas alcoólicas, tabagismo além de fatores sócioeconômicos, pois a HA afeta em maior número pessoas em países com renda *per capita* menor, bem como a população de menor escolaridade, pois geralmente

essa é a população tem menos acesso à informação e menor acesso aos atendimentos de saúde (SBC – DBH, 2010; GIROTTO *et al.* 2009; OMS, 2013).

Como medidas para tratamento e prevenção primária da HA, a SBC preconiza inicialmente um tratamento não-medicamentoso, como mudanças no estilo de vida, pois uma dieta equilibrada, exercícios físicos e hábitos mais saudáveis são fundamentais na prevenção e controle da HA bem como de outras co-morbidades associadas a mesma. Quando o tratamento não-medicamentoso é ineficaz, segue-se o tratamento medicamentoso, onde a SBC recomenda a avaliação e consideração do risco cardiovascular apresentado pelo paciente. Estudos mostram uma melhora nos níveis pressóricos após o início do tratamento medicamentoso. No Brasil, o tratamento da HA é feito com diferentes classes de medicamentos, sendo as classes disponibilizadas pelo SUS: diuréticos tiazídicos, betabloqueadores, bloqueadores dos receptores da angiotensina II (BRA II), inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) (SBC – DBH, 2010; MOCHEL, *et al.* 2007; BUENO *et al.* 2012; SANTOS-PINTO *et al.* 2011).

3.2 FARMÁCIA POPULAR

O programa *Farmácia Popular* foi criado em 2004, a partir da intenção do governo federal em ampliar o acesso da população a medicamentos básicos, visando dessa forma, não só o aumento no acesso, mas também a adesão ao tratamento. O programa foi implementado pela Lei nº 10.585 e pelo decreto nº 5.090, e, desde sua criação até o ano de 2007, o PFPB atendeu aproximadamente 93 milhões de usuários (SANTOS-PINTO, *et al.* 2011; BRASIL, 2015*).

O programa *Farmácia Popular* possui três modelos de funcionamento: Modelo 1, onde as unidades estão sob gestão da Fiocruz; Modelo 2, onde as unidades estão estabelecidas através de parcerias entre a Fiocruz e estados, municípios, órgãos, organizações sem fins lucrativos; e por fim, o Modelo 3, estabelecido pelo modelo de copagamento, entre o Ministério da Saúde e farmácias privadas; onde estas passam a oferecer aos seus clientes alguns dos medicamentos utilizados para o controle da hipertensão, diabetes e anticoncepcionais subsidiados em até 90% pelo governo federal. (SANTOS-PINTO *et al.* 2011; de OLIVEIRA *et al.* 2013).

Dados do Ministério da Saúde apontam que, aproximadamente 4.500 dos 5.570 municípios brasileiros possuem acesso ao modelo 3 do PFPB, já para o modelo 2, há cerca de 400 unidades distribuídas pelo Brasil, onde estima-se que no ano de 2012, mais de 11 milhões de usuários foram atendidos; as unidades do modelo 2 estão localizadas, em sua maioria, nos estados das regiões sudeste e nordeste (SILVA *et al.* 2015; BRASIL, 2015).

Dentre os medicamentos disponibilizados gratuitamente pelo programa estão os medicamentos usados no tratamento da hipertensão; além desses também estão medicamentos usados no tratamento da diabetes e asma. Dentre os medicamentos com subsídio de até 90% estão medicamentos para o tratamento de glaucoma, dislipidemias, osteoporose, mal de Parkinson, além de contraceptivos e fraldas geriátricas (BRASIL, 2015). No ano de 2009, o Governo Federal destinou um montante de 21,2 milhões de reais para o PFPB, tendo esse valor aumentado para mais de 437 milhões de reais no ano de 2013, estando os medicamentos usados no tratamento da HA na lista dos dez medicamentos mais dispensados (VIEIRA *et al.* 2013; SANTOS-PINTO *et al.* 2011).

3.3 ANTI-HIPERTENSIVOS

A SBC preconiza que o objetivo primordial do tratamento da HA com medicamentos anti-hipertensivos seja a redução da morbimortalidade cardiovascular, dessa forma, os anti-hipertensivos devem, não só reduzir os níveis pressóricos, como também reduzir os eventos cardiovasculares fatais e não-fatais (SBC – DBH, 2010).

Os princípios gerais no tratamento da HA preconizam que o medicamento anti-hipertensivo deve possuir alta tolerabilidade e eficácia por via oral, permita um menor número de doses diárias e deve ser iniciado pelas menores doses clínicas para cada paciente (MOCHEL *et al.* 2007; SBC – DBH, 2010),

Atualmente, estão disponíveis para uso no tratamento da HA as seguintes classes de anti-hipertensivos: diuréticos, inibidores adrenérgicos (de ação central, alfa e betabloqueadores), vasodilatadores diretos, bloqueadores dos canais de cálcio, inibidores da enzima conversora de angiotensina, bloqueadores do receptor AT₁ da angiotensina II e inibidor direto da renina. No Brasil, os anti-hipertensivos distribuídos gratuitamente pelo *Programa Farmácia Popular do Brasil* (PFPB) são: diuréticos tiazídicos,

betabloqueadores, bloqueadores dos receptores da angiotensina II (BRA II), inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) (BRASIL, 2015).

3.3.1 Atenolol

O atenolol (**Figura 01**) (1976), (R,S)-2-[4-[2-hidróxi-3-(1-isopropilamino)propoxi]fenil] acetamida, é um fármaco pertencente à classe dos inibidores adrenérgicos, agindo especificamente como um beta bloqueador seletivo (β_1). Seu mecanismo de ação geral se dá pelo antagonismo adrenérgico no estímulo aos beta receptores, devido a sua estrutura semelhante a das catecolaminas; possui um efeito maior nos receptores adrenérgicos cardíacos, levando a diminuição da pressão arterial através da diminuição do débito cardíaco, além de agir na diminuição da secreção de renina, através da diminuição do estímulo aos beta receptores (DBH VI - SBC 2010; GORRÉ e VANDEKERCKHOVE, 2010, TABACOVA e KIMMEL, 2002). É um fármaco com características hidrofílicas, passando por uma pequena metabolização hepática (TABACOVA e KIMMEL, 2002). Estima-se que menos de 5% da dose que chega à circulação liga-se às proteínas plasmáticas e possui uma grande fração excretada de forma inalterada pelos rins (KIRCH e GÖRG, 1981; TABACOVA e KIMMEL, 2002).

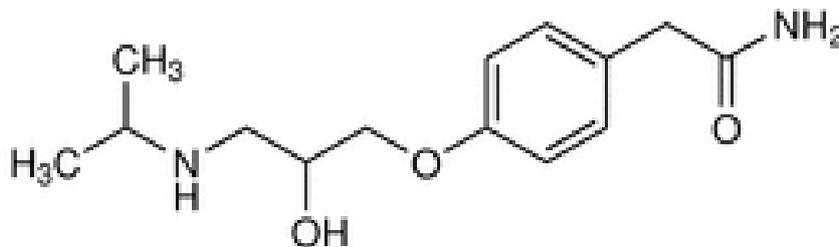


Figura 1: Estrutura do Atenolol (fonte: MARTINDALE, 2009).

3.3.2 Captopril

O captopril (1982) (**Figura 02**), 1-[2S-3-mercaptopropionil]-L-prolina, é um fármaco pertencente à classe dos inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA), foi o primeiro IECA de administração oral usado no tratamento da hipertensão (NATESH, SHWAGER *et al.*, 2004) ; exercendo efeito no sistema renina-angiotensina-aldosterona, através do bloqueio da formação de angiotensina I em angiotensina II, tanto

no sangue quanto nos tecidos, levando à normalização dos níveis pressóricos, sendo o primeiro IECA a ser usado também no tratamento da insuficiência cardíaca, na redução da morbimortalidade cardiovascular e na prevenção secundária do acidente vascular encefálico. Juntamente com outros IECAs, é administrado a longo prazo para retardar o declínio da função renal em pacientes com nefropatias. (DBH VI - SBC 2010; CHIK, DERIL *et al.*, 2014; NATESH, SHWAGER *et al.*, 2004). Após a ingestão oral, mais de 70% do fármaco é absorvido, sofrendo extenso metabolismo e posteriormente uma eliminação renal, onde aproximadamente 24% é excretado de forma inalterada (NUR e ZHANG, 1999).

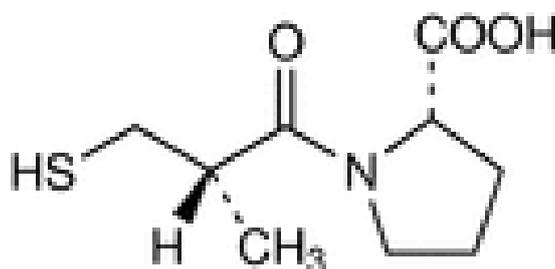


Figura 2: Estrutura química do Captopril (Fonte: MARTINDALE, 2009).

3.3.3 Cloridrato de Propranolol

O cloridrato de propranolol (**Figura 03**) (1960) 1-(isopropilamino)-3-(1-naftíloxi)-2-propanol é um fármaco da classe dos inibidores adrenérgicos, atuando como um betabloqueador não seletivo, tendo seu uso amplamente difundido no tratamento da hipertensão arterial e da angina. Devido a sua característica não seletiva, também é usado no tratamento de arritmias cardíacas, além disso, sua característica lipofílica também apresenta uma ação central, sendo usado também no tratamento da enxaqueca e transtornos menores de ansiedade (DBH VI - SBC 2010; ZHANG, DING *et al.*, 2009, FISCHER, 2002). Por administração oral, o propranolol possui uma biodisponibilidade de até 22%, devido ao extenso metabolismo de primeira passagem ao qual é submetido, dessa forma, grande parte do que é administrado sofre excreção biliar (MEHVAR e BROCKS, 2001; FISCHER, 2002).

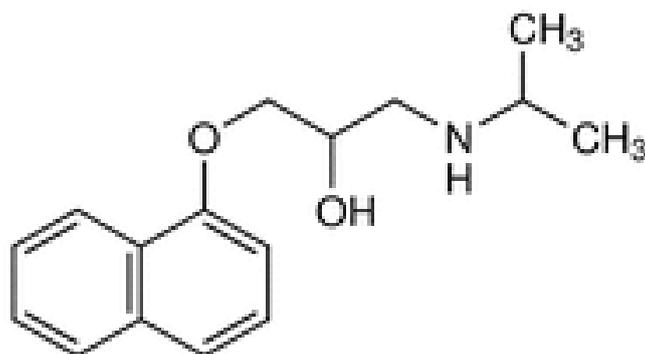


Figura 3: Estrutura química do Cloridrato de Propranolol (Fonte: MARTINDALE, 2009).

3.3.4 Hidroclorotiazida

A hidroclorotiazida (1958) (**Figura 04**), 6-cloro-3,4-dihidro-2H-1,2,4-benzotiazina-7-sulfonamida-1,2-dióxido, é um fármaco da classe dos diuréticos tiazídicos, agindo no transporte dos íons sódio (Na^+) e cálcio (Ca^{2+}) na membrana do túbulo contorcido distal, levando a uma diminuição do volume plasmático e do volume extracelular, podendo também acarretar em uma resistência vascular periférica; são eficazes quando administrados por via oral e em baixas doses, devido a isso, são muito utilizados no tratamento da HA e suas comorbidades, são utilizados na monoterapia ou em associação com outros anti-hipertensivos (DBH VI - SBC 2010; PIMENTA, 2008; MAHLE, GOELZER *et al.*, 2008). A hidroclorotiazida possui absorção intestinal, onde entre 60 a 80% do que é administrado por via oral é absorvido, sendo 95% do que foi absorvido excretado de forma inalterada por via renal (WELLING, 1986).

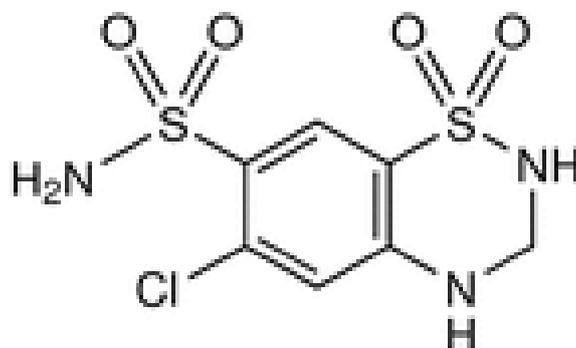


Figura 4: Estrutura química da Hidroclorotiazida (Fonte: MARTINDALE, 2009).

3.3.5 Losartana

A losartana (**Figura 05**) (1995), 2-butil-4-cloro-1-[[2-(2H-tetrazol-5-il)[1,1-bifenil]-4-il]metil]-1H-imidazol-5-metanol foi o primeiro fármaco anti-hipertensivo não-peptídico oral, usado na terapêutica (McINTYRE, CAFFE, *et al.*, 1997); pertence à classe dos bloqueadores dos receptores AT₁ da angiotensina II (BRA II), age no sistema renina-angiotensina-aldosterona, bloqueando a ligação da angiotensina II com os receptores AT₁, diminuindo o efeito vasoconstritor e regularizando a pressão arterial. É o fármaco de escolha no tratamento de pacientes que, além de hipertensos, apresentam alto risco cardiovascular e outras comorbidades (DBH VI - SBC 2010; JOHNSTON, 1995; PRASAJA, SASONGKO *et al.*, 2009). A losartana é rapidamente absorvida, sendo metabolizada pelas enzimas do CYP450, aproximadamente 14% da dose oral após a administração é convertida em um dos metabólitos mais ativos (EXP3174) e ambos apresentam alta taxa de ligação às proteínas plasmáticas (entre 98,7 e 99,8%). Cerca de 65% da dose oral de losartana sofre eliminação biliar, o restante é eliminado por via renal, em sua maioria o metabólito EXP3174 (ISRAILI, 2000).

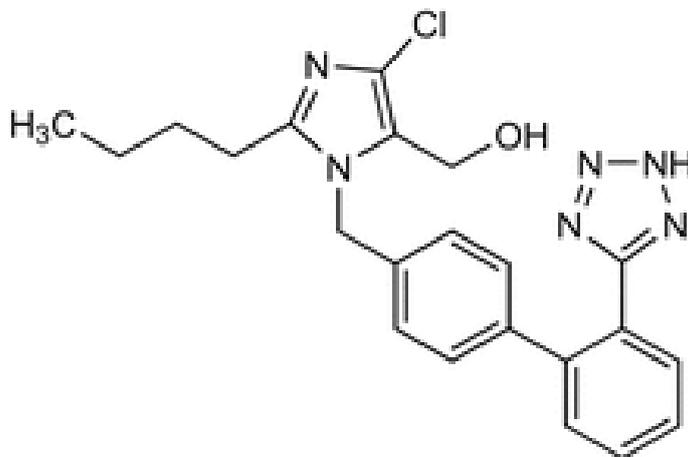


Figura 5: Estrutura química da Losartana (Fonte: MARTINDALE, 2009).

3.3.6 Maleato de Enalapril

O maleato de enalapril (**Figura 06**) (1984), *N*-[(1*S*)-1-(etoxicarbonil)-3-fenilpropil]-L-alanina-L-prolina é um pró-fármaco anti-hipertensivo da classe dos inibidores da enzima conversora d angiotensina (IECA), necessitando ser hidrolisado em enalaprilato depois da sua absorção. O maleato de enalapril age no sistema renina-

angiotensina-aldosterona, inibindo a formação de angiotensina I em angiotensina II e diminuindo a formação de aldosterona, dessa forma, diminui a resistência vascular e os níveis pressóricos; o enalapril difere do captopril em um grupo sulfidril e na função mercapto, que se acreditam ser os responsáveis pelos efeitos adversos mais comuns no captopril (DBH VI - SBC 2010; THONGNOPNUA e POEAKNAPO, 2005; TABACOVA e KIMMEL, 2001). Após a administração da dose oral, cerca de 60% do fármaco é absorvido, rapidamente metabolizado e transformado o seu metabólito ativo; o maleato de enalapril possui excreção primariamente renal, aproximadamente 61%; o restante pode ser eliminado de forma inalterada ou por via biliar (TABACOVA e KIMMEL, 2001; RIBEIRO, MUSCARÁ *et al.*, 1995).

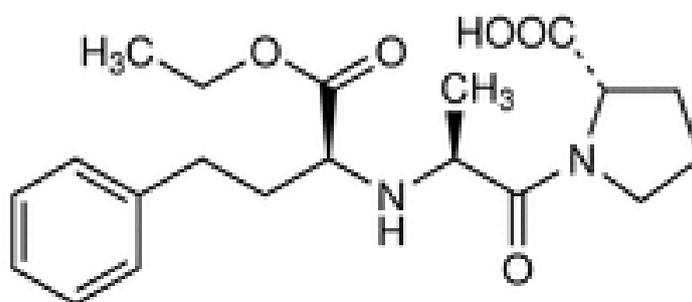


Figura 6: Estrutura química do maleato de enalapril (Fonte: MARTINDALE, 2009).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Obtenção dos fármacos realizados nos testes:

As amostras dos seis fármacos anti-hipertensivos utilizados no testes foram adquiridas a partir de uma farmácia de manipulação no município de Uruguaiana, RS. Todos os seis fármacos possuem os laudos de análise de controle de qualidade (**ANEXO I**).

4.2 Preparação da cultura celular de Linfócitos:

As culturas de linfócitos foram preparadas utilizando 1 mL de sangue venoso (coletado por venopunção de voluntário, aprovação no CEP/UFMS 0089.0.243.000-07) e imediatamente transferido para o meio de cultura contendo 9 mL de RPMI 1640, suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de estreptomicina / penicilina, conforme descrito em trabalho prévio do nosso grupo (MONTAGNER *et al.*, 2010). As células foram acondicionadas em frascos de culturas e colocadas em estufa a 37°C em ambiente de 5% de CO₂ por 72 horas.

4.3 Tratamento das culturas

Todas as culturas receberam a adição do fármaco anti-hipertensivo, no volume final de 1000µL. Todos foram diluídos em tampão fosfato pH 7.4. Os grupos testados foram: Controle Negativo (CN) com tampão fosfato pH 7.4, Controle Positivo (CP) com Bleomicina 3µM, Grupo Atenolol, Grupo Captopril, Grupo Cloridrato de Propranolol, Grupo Hidroclorotizida, Grupo Losartana e Grupo Maleato de Enalapril, todos nas concentrações mostradas na **Tabela 01** - Pico Plasmático, 2xPP, 10xPP, PP/2 e PP/10. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Tabela 1: Concentrações dos seis anti-hipertensivos que foram usadas no tratamento das culturas de leucócitos humanos.

Fármaco	Pico Plasmático – PP * (ng/mL)	2xPP (ng/mL)	10xPP (ng/mL)	PP/2 (ng/mL)	PP/10 (ng/mL)	Referências
Atenolol	248,7	497,4	2.487	124,35	24,87	Rouge <i>et al.</i> 1998
Captopril	225	450	2.250	112,5	22,5	Chik <i>et al.</i> , 2014.
Cloridrato de Propranolol	14,5	29	145	7,25	1,45	Zhang <i>et al.</i> , 2009.
Hidroclorotiazida	142	284	1.420	71	14,2	Beerman e Grind, 1977.
Losartana	252,6	505,2	2.526	126,3	25,26	Tamini <i>et al.</i> 2005.
Maleato de Enalapril	71,5	143	715	35,75	7,15	Pisarev <i>et al.</i> 2005

* Os picos plasmáticos foram escolhidos com base nas medicações fornecidas pelo *Programa Farmácia Popular*, a saber: Atenolol 25mg, Captopril 25 mg, Cloridrato de Propranolol 40mg, Hidroclorotiazida 25mg, Losartana 50mg e Maleato de Enalapril 10mg.

4.4 Avaliação dos parâmetros genotoxicológicos

4.4.1 Viabilidade Celular

A viabilidade foi avaliada através da perda da integridade da membrana, utilizando o método do Azul de Tripam, descrito por BUROW *et al.*, 1998. Nesta técnica uma alíquota celular proveniente das culturas de linfócitos foi misturada ao corante Azul de Tripam, colocada em câmara de Neubauer e visualizada no microscópio em aumento de 400x. A diferenciação entre células viáveis e inviáveis se deu pela observação da cor azul nas células inviáveis (**Figura 7**).

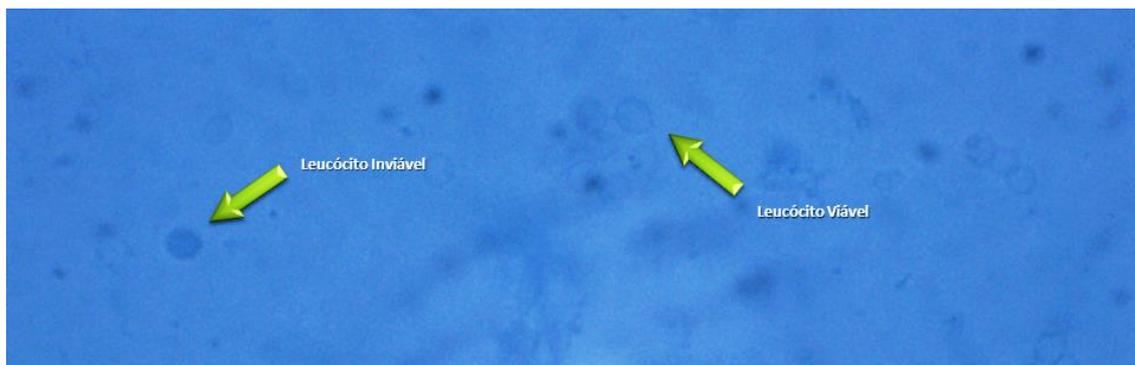


Figura 07: Interpretação do teste de viabilidade celular (400X). Observamos o linfócito inviável com coloração azulada e o viável transparente (Fonte: Autor).

4.4.2 Teste Cometa

Este teste foi realizado a partir da técnica descrita por SINGH, 1995. Após a incubação e homogeneização das amostras celulares com agarose de baixo ponto de fusão, as mesmas foram colocadas sobre lâminas pré-cobertas com agarose 1,5% e incubadas em solução de lise. Depois desse processo, as lâminas foram submetidas a corrida eletroforética – 20min, 300mA, 25V; em tampão NaOH 300mM e pH >13. Posterior ao processo de eletroforese, as lâminas foram neutralizadas e secas em temperatura ambiente. Após a secagem, as lâminas foram fixadas, secas novamente, reidratadas e coradas com solução de nitrato de prata. Os danos ao DNA foram classificados de acordo com o índice de dano, avaliado a partir da migração das proteínas do DNA, que pode variar de 0 – onde não há dano, até 4 – onde há o máximo de dano. Danos de DNA foram determinados como índice de dano ao DNA (ID). O dano ao DNA foi calculado a partir das células com diferentes classificações de danos (**Figura 08**); o índice de dano varia de 0 (100 células x 0 quando não ocorreu dano) a 400 (100 células x 4, quando ocorreu o máximo de dano).

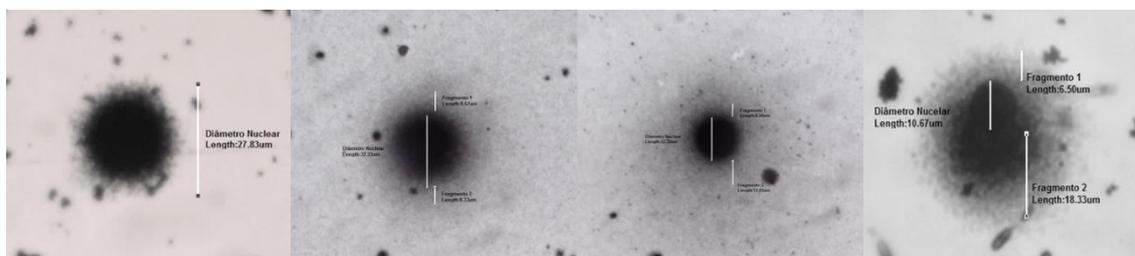


Figura 08: Interpretação do teste cometa (400X). Observamos, da esquerda para a direita, danos progressivos de Zero até três (Fonte: Autor).

4.5 Avaliação dos parâmetros mutagênicos

4.5.1 Teste de Micronúcleo

Um dos parâmetros mutagênicos foi avaliado através do teste de Micronúcleo, de acordo com a técnica descrita por SCHMID (1975). Por meio desta técnica, as lâminas foram analisadas em microscópio em um aumento de 1000x e classificadas de acordo com a presença de: células mononucleadas com a presença de um, dois ou três micronúcleos, além de células em necrose ou apoptose (**Figura 09**). Os resultados são apresentados como Índice de Divisão Nuclear (IDN), calculado de acordo com Fenech, 2000.

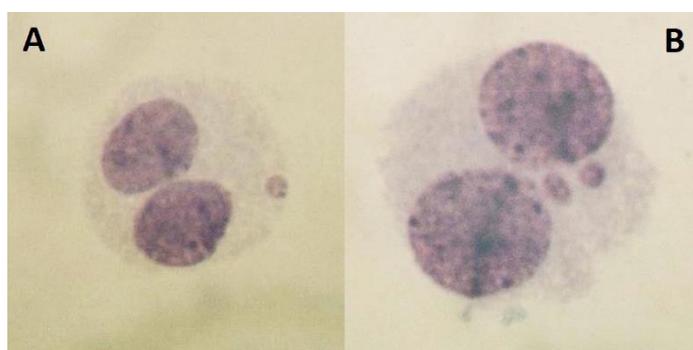


Figura 09: Interpretação do teste de micronúcleos (400X). Observamos em “A” uma célula binucleada com UM micronúcleo, e em “B” outra célula binucleada três micrnúcleos (Fonte: Autor).

4.5.2 Instabilidade Cromossômica

A instabilidade cromossômica foi avaliada a partir da técnica de Citogenética da Banda G descrita por YUNIS (1976), que prevê a adição de 10 μ L/mL de Colchicina em cada cultura celular. Após a adição, segue-se a incubação por 1 hora, a 37°C. Depois de incubadas, as amostras foram centrifugadas por 10 min a 1800 RPM. Posterior a centrifugação, o sedimento celular foi ressuscitado em solução hipotônica de KCl e incubados a 37°C por 16 min. Após outra centrifugação, o sedimento foi ressuscitado em ácido acético/metanol (1:3) e submetido a sucessivas centrifugações. Por último os sedimentos obtidos foram colocados em lâminas e a secagem foi feita a temperatura ambiente. A coloração foi feita com corante Giemsa e a análise das lâminas em microscópio no aumento de 1000x (**Figura 10**).

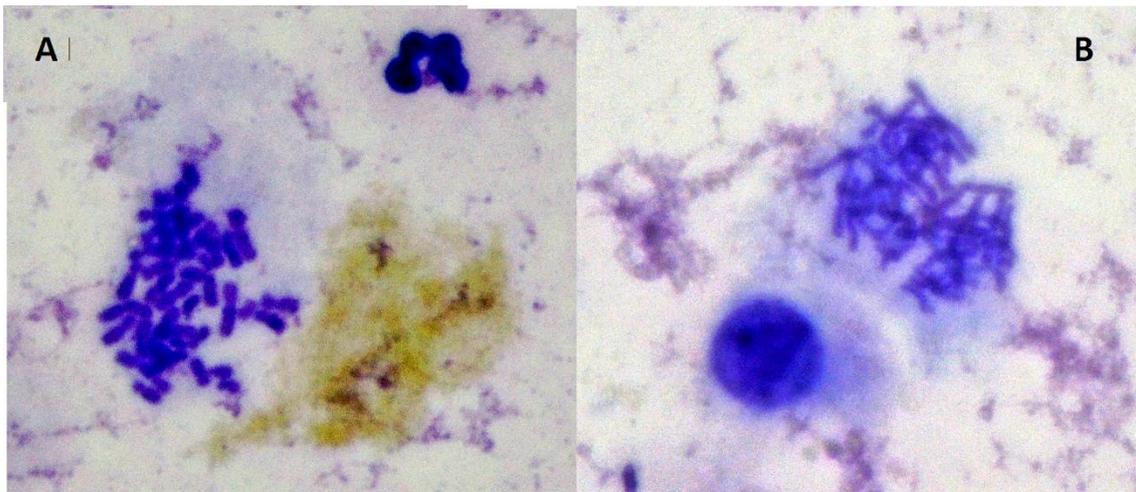


Figura 10: Interpretação do teste de instabilidade cromossômica (1000X). As duas figuras mostram células com número normal de cromossomos. Em “A” observamos uma célula em metáfase e em “B” uma célula em anáfase (Fonte: Autor).

4.6 Análise Estatística

Todas as análises foram realizadas em software estatístico específico. As análises foram avaliadas por análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida de teste Post-Hoc de Dunnet's. Foram considerados significativos os resultados com valor de $p < 0,05$. Os controles negativos (Tampão fosfato pH 7,4) e positivos (Solução de Bleomicina 3 μ g/mL) apresentam uma diferença estatística com $p < 0,0001$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Parâmetros genotxicológicos

5.1.1 Viabilidade celular

Os resultados obtidos na técnica de viabilidade celular (**Figura 11**) em leucócitos humanos expostos a cinco diferentes concentrações de diferentes anti-hipertensivos demonstram que, quando comparados ao controle negativo (CN), apenas o cloridrato de propranolol e a hidroclorotiazida não apresentaram diferença estatística entre as doses testadas. O cloridrato de propranolol apresentou uma viabilidade celular de $98,7 \pm 0,70\%$; já a hidroclorotiazida de $92,6 \pm 3,02\%$; o controle positivo apresentou uma viabilidade de $74,3 \pm 2,49\%$. Em relação aos demais fármacos testados, o atenolol mostrou uma diminuição na viabilidade celular de acordo com o aumento da concentração a partir do pico plasmático, apresentando uma viabilidade de aproximadamente $85 \pm 1,47\%$ para as três maiores concentrações. Para o captopril e o maleato de enalapril, ambos pertencentes à mesma classe, concentrações maiores indicaram menos do que $84 \pm 2,40\%$ de células viáveis, ressaltando que o maleato de enalapril mostrou essa diminuição de células viáveis tanto para 2xPP quanto para 10xPP. Para a losartana, os testes indicaram um percentual menor de células viáveis nas menores concentrações, $73 \pm 6,53\%$ para a concentração PP/10 e $81 \pm 2,94\%$ para a concentração PP/2.

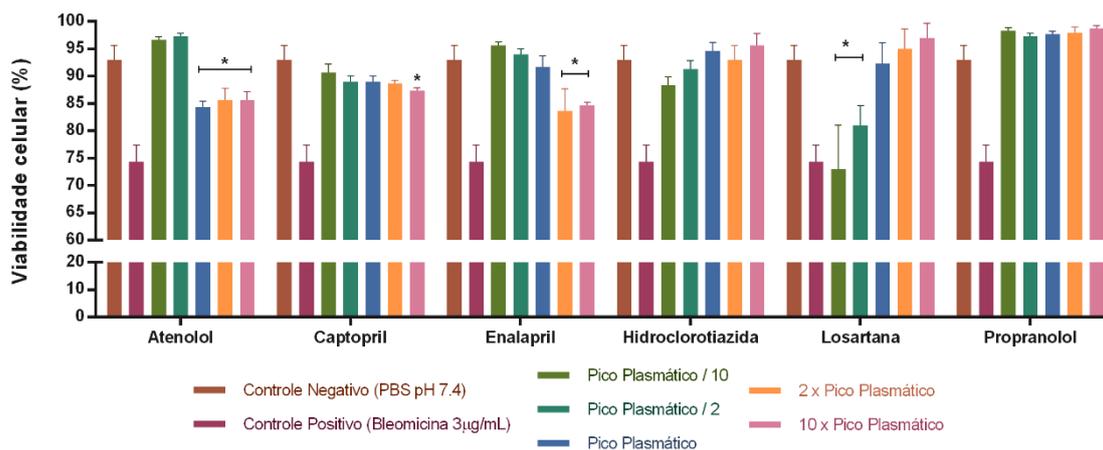


Figura 11: Teste de viabilidade celular em linfócitos humanos expostos a cinco diferentes concentrações de anti-hipertensivos distribuídos pelo PFPB. Os dados são expressos em média \pm desvio padrão, realizados em triplicatas. Foram considerados significativos resultados com $p < 0,05$ para as amostras, para os controles negativo e positivo foram considerados significativos resultados com $p < 0,001$.

A partir dos resultados obtidos, é possível observar que, à exceção do atenolol, todos os outros fármacos não apresentaram alterações na viabilidade celular quando testados em nível plasmático, apenas em altas concentrações, como o captopril e o maleato de enalapril, ou em baixas concentrações, como é o caso da losartana. Deve-se chamar atenção para esses dados, pois, quando há uma doença renal estabelecida ou erros de administração, sabe-se que há um aumento nos níveis plasmáticos dos fármacos (KIRCH e GÖRG, 1981; TABACOVA e KIMMEL, 2001).

Estes resultados são corroborados os relatos de Parolini e colaboradores (2011), que demonstraram uma pequena redução da viabilidade celular em células da glia e da glândula digestiva de peixes mesmo em concentrações baixas de Atenolol, na ordem de 10 $\mu\text{g/mL}$. O mecanismo não é esclarecido, porém as hipóteses estão relacionadas com a geração de radicais livres, pelo atenolol. Estes radicais livres são altamente tóxicos as células, levando a morte celular por apoptose (CAMINADA *et al*, 2006).

Em relação a citotoxicidade causada pelo Captopril e o Enalapril em altas concentrações, também foi relatada por Jurima-Romet e Huang (1993) para células de hepatócitos humanos. Neste trabalho, as citotoxicidade para esta linhagem foram na ordem de 430 $\mu\text{g/mL}$ para o Captopril e de 752 $\mu\text{g/mL}$ para o Enalapril. Em nossos

resultados com Linfócitos, o Captopril mostrou-se tóxico em doses próximas a 2000ng/mL (10 vezes o pico plasmático) e o Enalapril em doses superiores a 143ng/mL. A toxicidade destes compostos, assim como da Hidroclorotiazida, está relacionado com a produção de radicais livres (JURIMA-ROMET e HUANG, 1991). Como no hepatócito estes compostos sofrem ação do citocromo P450 e a ação tamponante da Glutathione, os limites tóxicos são mais altos (PURCLUTEPE *et al*, 2011).

5.1.2 Teste Cometa

A partir do teste Cometa, obtiveram-se resultados (**Figura 12**) que demonstram que alguns anti-hipertensivos induzem dano no DNA. Atenolol, propranolol e losartana, mostraram índices muito semelhantes ao CN, não apresentando diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

Já para os fármacos inibidores da ECA, captopril e maleato de enalapril, o dano de DNA mostrou-se como concentração dependente, ou seja, conforme há o aumento da dose testada, há também o aumento nos níveis de dano; observou-se também que o aumento no dano ao DNA tem início a partir da concentração Pico Plasmático (PP), em ambos os casos 5X maior que o controle, chegando até 15X nas maiores doses.

A hidroclorotiazida apresentou dano ao DNA para todas as cinco concentrações testadas, demonstrando que o fármaco causou danos ao DNA, quando comparado ao controle negativo e que este dano independe da dose testada em níveis plasmáticos. A média de dano observado alcançou até 5X o valor do dano do controle negativo.

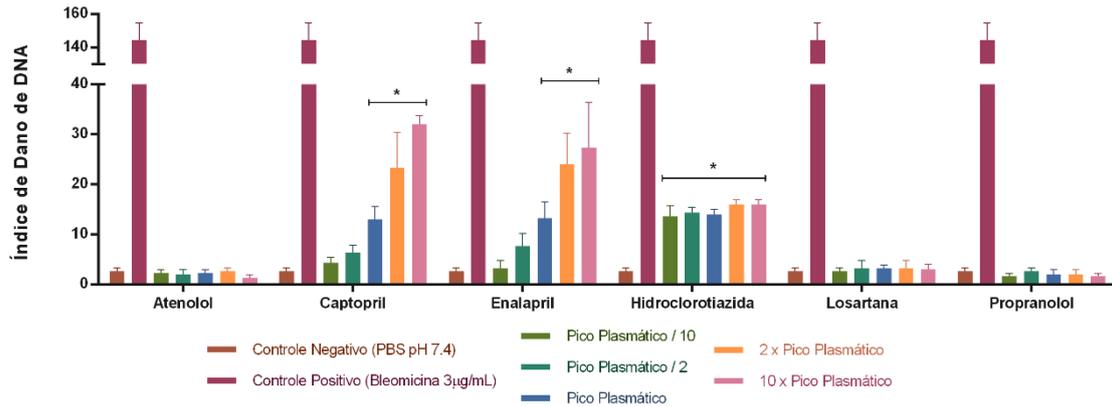


Figura 12: Índice de dano ao DNA obtido pelo teste Cometa em linfócitos humanos expostos a cinco diferentes concentrações de anti-hipertensivos distribuídos pelo PFPB. Os dados são expressos em média \pm desvio padrão, realizados em triplicatas. Foram considerados significativos resultados com $p < 0,05$ para as amostras, para os controles negativo e positivo foram considerados significativos resultados com $p < 0,001$.

A toxicidade genética observada para o Captopril e Maleato de Enalapril, Bartosz e colaboradores (1997) demonstraram que estes fármacos podem atuar como antioxidantes ou prooxidantes dependendo do sistema onde estão envolvidos. Nos sistemas como plasma celular, onde a concentração de tióis não é elevada, predomina a ação prooxidante. Kunisada *et al* (2013) demonstrou que a hidroclorotiazida pode reagir com os radicais livres presentes na célula por ocasião de seu próprio metabolismo, criando dímeros de timina. Estes dímeros podem reagir formando dímeros de timina-ciclobutano (**Figura 13**), que lesam severamente o DNA por mecanismo semelhante a radiação UV.



Figura 13: Formação dos Dímeros de Timina-Ciclobutano que lesam o DNA (Fonte: Disponível em fbio.uh.cu. Acesso em 22/01/2016).

5.2 Parâmetros mutagênicos

5.2.1 Teste de Micronúcleo

O micronúcleo é caracterizado no momento da divisão celular, podendo decorrer a partir da quebra de cromossomos com fragmentos acêntricos ou de cromossomos inteiros, que não são capazes de migrar para os polos celulares durante o processo mitótico (FENECH, 200).

A contagem de micronúcleos (**Figura 14**) para os seis anti-hipertensivos testados não apresentou um resultado significativo, pois quando comparados ao controle negativo, não houve diferença significativa entre os grupos, bem como não houve diferença entre as concentrações testadas; a diferença entre os controles negativo e positivo mostrou-se estatisticamente diferente ($p < 0,001$), tendo CN apresentado um resultado de $2 \pm 0,81$ células com micronúcleo e CP apresentado um resultado de $32,6 \pm 2,5$ células com micronúcleo; o que nos permite sugerir que os anti-hipertensivos atenolol, captopril, cloridrato de propranolol, hidroclorotiazida, losartana e maleato de enalapril não interfiram no processo mitótico a ponto de causar mutações.

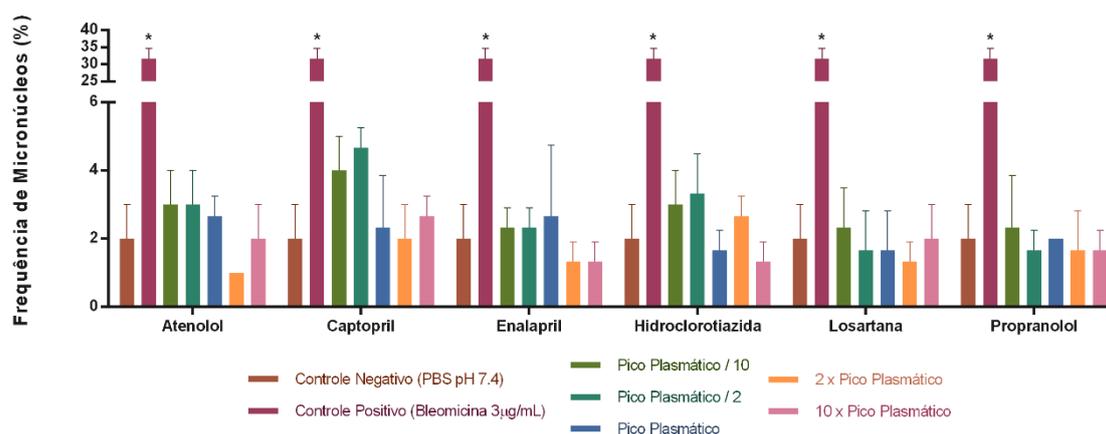


Figura 14: Contagem de micronúcleos em leucócitos humanos expostos a cinco diferentes concentrações de anti-hipertensivos distribuídos pelo PFPB. Os dados são expressos em média \pm desvio padrão, realizados em triplicatas. Foram considerados significativos resultados com $p < 0,05$ para as amostras, para os controles negativo e positivo foram considerados significativos resultados com $p < 0,001$.

5.2.2 Instabilidade Cromossômica

Assim como na contagem de micronúcleos, os resultados para a instabilidade cromossômica numérica (**Figura 15**) não apresentou resultados significativos, pois não houve diferença estatística entre CN e os seis fármacos testados, assim como também não houve diferença entre as doses testadas destes seis fármacos. Novamente, a diferença estatística entre os controles negativo e positivo apresentou-se como $p < 0,001$; onde o controle positivo apresentou um percentual de instabilidade cromossômica numérica de 18,4%, enquanto o controle negativo apresentou um percentual de 2%.

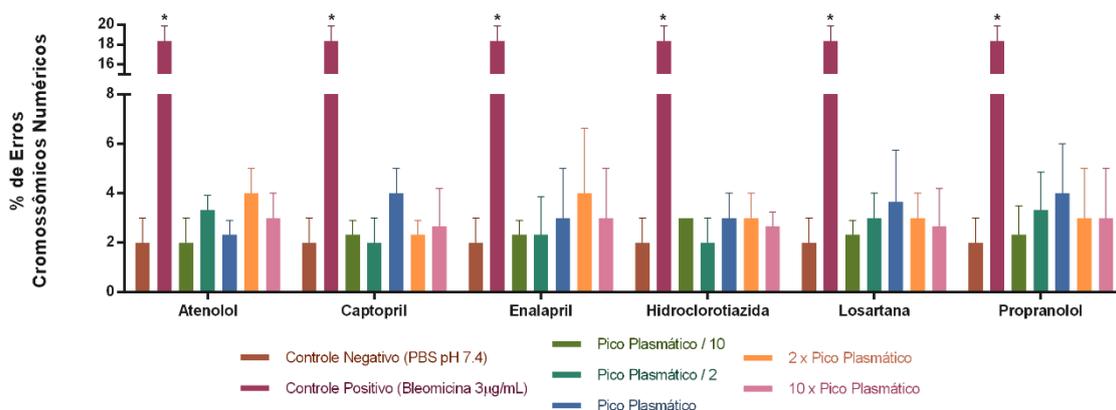


Figura 15: Instabilidade cromossômica numérica em leucócitos humanos expostos a cinco diferentes concentrações de anti-hipertensivos distribuídos pelo PFPB. Os dados são expressos em média \pm desvio padrão, realizados em triplicatas. Foram considerados significativos resultados com $p < 0,05$ para as amostras, para os controles negativo e positivo foram considerados significativos resultados com $p < 0,001$.

Os resultados deste trabalho para os parâmetros mutagênicos (instabilidade cromossômica numérica e teste de micronúcleos) se assemelham aos resultados descritos por Snyder *et al.* (2001) e Bambrilla *et al.* (2009), que também demonstraram não haver mutagenicidade dos anti-hipertensivos atenolol, captopril, cloridrato de propranolol, hidroclorotiazida, losartana e maleato de enalapril, através dos testes de instabilidade cromossômica (*in vitro* e *in vivo*) e do teste de micronúcleo em ratos ou camundongos. O teste de Ames, com diferentes cepas de *S.typhimurium* também apresentou resultados negativos.

6 CONCLUSÕES

A partir deste trabalho foi possível verificar que fármacos anti-hipertensivos que são amplamente distribuídos e usados pela população, através do *Programa Farmácia Popular do Brasil*, além de eficazes, também são seguros no que tende à possíveis efeitos mutagênicos, tendo essa segurança comprovada neste trabalho e sustentada por trabalhos na literatura.

Por outro lado, quanto aos parâmetros genotoxicológicos, cabe uma atenção maior no que tende a situações que possam levar a um aumento de níveis plasmáticos de alguns anti-hipertensivos, como os inibidores da ECA captopril e maleato de enalapril, que mostraram diminuir a viabilidade celular e causar danos em nível de DNA conforme o aumento do pico plasmático, e da hidroclorotiazida que mostrou pode gerar dano ao DNA independente dos níveis plasmáticos.

Cabe ressaltar que testes para avaliação do mecanismo de ação genotoxicológica devem ser realizados para a complementação dos resultados obtidos neste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAMBRILLA, G. MARTELLI, A. Genotoxicity and carcinogenicity studies of antihypertensives. **Mutation Research**. v.612: 115-149; 2005.

BAMBRILLA, G. MARTELLI, A. Update on genotoxicity and carcinogenicity testing of 472 marketed pharmaceuticals. **Mutation Research**. v.681(2-3): 209-229; 2009.

BARTOSZ, Malgorzata; KEDZIORA, Józef; BARTOSZ, Grzegorz. Antioxidant and prooxidant properties of captopril and enalapril. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 23, n. 5, p. 729-735, 1997.

BEERMANN, B., GROSCHINSKY-GRIND, M. Pharmacokinetics of hydrochlorothiazide in man. **European Journal of Clinical Pharmacology**. v.12: 297-303; 1977.

BORIM, F. S. A., GUARIENTO M. E., ALMEIDA E. Perfil de adultos e idosos hipertensos em unidade básica de saúde. **Revista Brasileira de Clínica Médica**. v.9(2): 107-111; 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/sctie/farmacia-popular>. Acesso em: agosto de 2015.

BRASIL. Sala de Apoio a Gestão Estratégica – SUS. Disponível em: <http://sage.saude.gov.br/#>. Acesso em janeiro de 2016.

BUENO, C.S., MOREIRA, A.C., OLIVEIRA K.R.. Preço dos medicamentos utilizados nas doenças cardiovasculares no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Publica**. 2012; 31(1): 62-7.

BUROW, M.E, WELDON, C.B, TANG, Y, NAVAR, G.L., KRAJEWSKI, S., REED, J.C., et al. Differences in Susceptibility to Tumor Necrosis Factor α -induced Apoptosis among MCF-7 Breast Cancer Cell Variants. **Cancer Research**. 1998; (58): 4940-4946.

CAMINADA, Daniel; ESCHER, Claudia; FENT, Karl. Cytotoxicity of pharmaceuticals found in aquatic systems: comparison of PLHC-1 and RTG-2 fish cell lines. *Aquatic Toxicology*, v. 79, n. 2, p. 114-123, 2006.

CESARINO, C. B., CIPULLO, J. P., MARTIN J. F. V., CIORLIA, L. A., GODOY, M. R. P. D., CORDEIRO, J. A., RODRIGUES, I. C. Prevalência e fatores sociodemográficos em hipertensos de São José do Rio Preto-SP. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. 2008; 91(1): 31-35.

CHIK, Z., DERIL, E.M.H., DIDI, E.M.H. BASU, R.C., RATNASINGAM, J. MOHAMED, Z., A bioequivalence comparison of two captopril formulations (25mg tablets): an open-label randomized, two-treatment, two-way, crossover study in healthy volunteers. **Bioequivalence & Bioavailability**. v.6(3): 80-85; 2014.

DA SILVA, R.M, CAETANO, R. Programa “Farmácia Popular do Brasil”: caracterização e evolução entre 2004-2012. **Ciência & Saúde Coletiva**. v.20(10): 2943-2956; 2015.

DATASUS. Ministério da Saúde. Acesso em 28 de Outubro de 2015. Disponível em <http://w3.datasus.gov.br/datasus/index.php?area=0203>.

DE OLIVEIRA, K. R., BÁRTA, R. L. Medicamentos dispensados pelo programa “Aqui tem Farmácia Popular” em uma drogaria no município de Panambi-RS. **Revista Contexto & Saúde**. 2013; 10(19): 132-136.

FENECH, M. The *in vitro* micronucleus technique. **Mutation Research**. v.455, (1-2): 81-95, 2000.

FISCHER, W. Anticonvulsivant profile and mechanism of action of propranolol and its two enantiomers. **Seizure**. v.11: 285-302; 2002.

GAVA, C. M., BERMUDEZ, J. A. Z., PEPE, V. L. E., REIS, A. L. A. D. Novos medicamentos registrados no Brasil: podem ser considerados como avanço terapêutico? **Ciência & Saúde Coletiva**. 2010; 15: 3403-3412.

GIROTTI, E., de ANDRADE, S. M., CABRERA, M. A. S., RIDÃO, E. d. G. Prevalência de fatores de risco para doenças cardiovasculares em hipertensos cadastrados em unidade de saúde da família-DOI: 10.4025/actascihealthsci. v31i1. 4492. *Acta Scientiarum. Health Science*. 2009; 31(1): 77-82.

JURIMA-ROMET, Malle et al. Enalapril cytotoxicity in primary cultures of rat hepatocytes. I. Effects of cytochrome P450 inducers and inhibitors. *Toxicology letters*, v. 58, n. 3, p. 257-267, 1991.

JURIMA-ROMET, Malle; HUANG, Hide S. Comparative cytotoxicity of angiotensin-converting enzyme inhibitors in cultured rat hepatocytes. *Biochemical pharmacology*, v. 46, n. 12, p. 2163-2170, 1993.

GORRE, F., VANDEKERCKHOVE. H. Beta-blockers: focus on mechanism of action. Wich beta-blocker, when and why? **Acta Cardiologica**. v.65(5): 565-570; 2010.

HOSSEINIMEHR, S.J., MAHMOUDZADEH, A., AKHLAGPOUR, S. Captopril protects mice bone marrow cells against genotoxicity induced by gamma irradiation. **Cell Biochemistry and Function**. v.25: 389-394; 2007.

HOSSEINIMEHR, S.J., KARAMI, M. Chemoprotective effects of captopril against cyclophosphamide-induced genotoxicity in mouse bone marrow cells. **Archives of Toxicology**. v.79(8): 482-486; 2005.

ISRAILI, Z.H. Clinical pharmacokinetics of angiotensin II (AT₁) receptor blockers in hypertension. **Journal of Human Hypertension**. v.14(1): 73-86; 2000.

- JOHNSTON, C.I. Angiotensin receptor antagonists: focus on losartan. **Lancet**. v. 346: 1403-1407; 1995.
- KIRCH, W., GÖRG, K.G. Clinical pharmacokinetics of atenolol. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**. v.7(2):81-91; 1982.
- KUNISADA, M., MASAKI, T., ONO, R., MORINAGA, H., NAKANO, E., YOGIANTI, F., ... & NISHIGORI, C. (2013). Hydrochlorothiazide Enhances UVA-Induced DNA Damage. *Photochemistry and photobiology*, 89(3), 649-654.
- KUSHWAHA, S., VIKRAM, A., JENA, G.B. Protective effects of enalapril in streptozotocin-induced diabetic rat: studies of DNA damage, apoptosis, and expression of CCN2 in heart, kidney and liver. **Journal of Applied Toxicology**. v. 32; 662-672; 2012.
- MAHLE, F., GOELZER, F., ADRIANO, J., FELIPPE, M., VIER, N., CARLI, R.B.G., ROSA, T. COUTO, A.G., LUCINDA-SILVA, R.M. Avaliação do perfil de dissolução de comprimidos de hidroclorotiazida comercializados no Brasil. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.28(3): 265-271; 2007.
- McINTYRE, M., CAFFE, S.E., MICHALAK, R.A, REID, J.L. Losartan, an orally active angiotensin (AT₁) receptor antagonist: a review of its efficacy and safety in essential hypertension. **Pharmacology & Therapeutics**. v.74(2): 181-194; 1997.
- MEHVAR, R., BROCKS, D.R. Stereospecific pharmacokinetics and pharmacodynamics of beta-adrenergic blockers in humans. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. v.4(2): 185-200; 2001.
- MOCHEL, E. G.; de ANDRADE, C. F.; de ALMEIDA, D. S.; TOBIAS, A. F.; CABRAL, R.; COSSETI, R. D. Avaliação do tratamento e controle da hipertensão arterial sistêmica em pacientes da rede pública em São Luís (MA). **Revista Baiana de Saúde Pública**. 2007; v. 31(1): 90-101.
- NATESH, R., SCHWAGER, S.L.U., EVANS, H.R., STURROCK, E.D., ACHARYA, K.R. Structural details on the binding of antihypertensive drugs captopril and enalaprilat to human testicular angiotensin I-converting enzyme. **Biochemistry**. v.46(27): 8718-8724; 2004.
- NIKOLOVA, T., DVORAK, M., JUNG, F., ADAM, I., KRÄMER, E., GERHOLD-AY, A., KAINA, B. The γ H2AX assay for genotoxic and nongenotoxic agents: comparison of H2AX phosphorylation with cell death response. **Toxicological Sciences**. v.140(1): 130-117; 2014.
- NUR, A.O., ZHANG, J.S. Recent progress in sustained/controlled oral delivery of captopril: an overview. **International Journal of Pharmaceutics**. v.194: 139-146; 2000.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Informação geral sobre a hipertensão no mundo. Genebra, OMS; 2013.

PAROLINI, Marco et al. Cytotoxicity assessment of four pharmaceutical compounds on the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) haemocytes, gill and digestive gland primary cell cultures. **Chemosphere**, v. 84, n. 1, p. 91-100, 2011.

PIMENTA, E. Hidroclorotiazida x Clortalidona: os diuréticos tiazídicos são todos iguais? **Revista Brasileira de Hipertensão**. v.15(3): 166-167; 2008.

PISAREV, V.V., MOSKALEVA, N.E, ZVERKOV, Y.B., SMIRNOVA, L.B., BELOLIPETSKAYA, V.G., SUKHANOV. HPLC/MS determination of enalapril and enalaprilat in the blood plasma. **Pharmaceutical Chemistry Journal**. 2005; v.39(2); 49-52.

PÓVOA, R., BARROSO, W., BRANDÃO, A., JARDIM, P., BARROSO, O., PASSARELLI Jr., O., S. B. d. Cardiologia. I Posicionamento Brasileiro sobre combinação de fármacos anti-hipertensivos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. 2014; 102(3): 203-210.

PRASAJA, B., SASONGKO, L., HARAHAP, Y., HARDIYANTI, LUSTHOM, W., GRIGG, M. Simultaneous quantification of losartan and active metabolite in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using irbesartan as internal standart. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 49: 862-867; 2009.

PURCLUTEPE, O., ISKENDER, G., KIPER, H. D., TEZCANLI, B., SELVI, N., AVCI, C. B., ... & SAYDAM, G. (2012). Enalapril-induced apoptosis of acute promyelocytic leukaemia cells involves STAT5A. *Anticancer research*, 32(7), 2885-2893.

RIBEIRO, W. MUSCARÁ, M.N., MARTINS, A.R., Jr. MORENO, H., MENDES, G.B., de NUCCI, G. Bioequivalence study of two enalapril maleate tablet formulation in healthy male volunteers. **European Journal of Clinical Pharmacology**. v.50(5): 399-405; 1996.

ROUGE, N., ALLÉMANN, E., GEX-FABRY, M., BALANT, L., COLE, E.T., BURI, P., DOELKER, E. Comparative pharmacokinetics study of a floating multiple-unit capsule, a high-density multiple-unit capsule and an immediate-release tablet containing 25mg atenolol. **Pharmaceutica Acta Helveticae**. v.72; 81-87; 1998.

SANTOS-MONTAGNER, G.F.F., SAGRILLO, M., MACHADO, M.M., ALMEIDA, R.C., MASTARDEIRO, C.P., DUARTE, M.M.M.F, CRUZ, I.B.M. Toxicological effects of ultraviolet radiation on lymphocyte cells with different manganese superoxide dismutase Ala16Val polymorphism genotypes. **Toxicology In Vitro**. v.24: 1410-1416; 2010.

SANTOS-PINTO, C. Du B., COSTA, N. do R., OSORIO-de-CASTRO, C. G. S., Quem acessa o Programa Farmácia Popular do Brasil? Aspectos do fornecimento público de medicamentos. **Ciência e Saúde Coletiva**. 16(6): 2963-2973, 2011.

SCHMID, W. The Micronucleus Test. **Mutation Research**. v.31:09-15, 1975.

SINGH, N., MCCOY, M., TICE, R., SCHNEIDER, E., A simple technique for quantification of low levels of DNA damage in individuals cells. *Exp. Cell Res.* 175, 184–191, 1995.

SNYDER, R.D., GREEN, J.W. A review of the genotoxicity of marketed pharmaceuticals. ***Mutation Research.*** v.488: 151-169; 2001.

TABACOVA, S.A., KIMMEL, C.A. Enalapril: pharmacokinetics/dynamic inferences for comparative developmental toxicity. ***Reproductive Toxicology.*** v.15: 467-478; 2001.

TABACOVA, S.A., KIMMEL, C.A., Atenolol: pharmacokinetics/dynamic aspects of comparative developmental toxicity. ***Reproductive Toxicology.*** v.16: 1-7; 2002.

TAMIMI, J.J.I., SALEM, I.I., ALAM, S.M., ZAMAN, Q., DHAM, R., Comparative pharmacokinetics of two tablet formulations of losartan: bioequivalence assessment. ***Biopharmaceutics & Drug Disposition.*** v.26: 205-215; 2005.

THONGNOPNUA, P., POEAKNAPO, C. High-performance liquid chromatographic determination of enalapril in human plasma by enzyme kinetic analytical method. ***Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.*** v.37: 763-769; 2005.

VI DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO ARTERIAL, 2010. Disponível em <http://bvsmms.saude.gov.br>. Acesso 01 de setembro de 2015

VIEIRA, F.S., ZUCCHI, P. Financiamento da assistência farmacêutica no Sistema Único de Saúde. ***Saúde e Sociedade.*** v.22(1): 73-84; 2013.

YUNIS, J.J., High resolution of human chromosomes. ***Science.*** 1976, 1268–1270, 1996.

WELLING, P.G. Pharmacokinetics of the thiazide diuretics. ***Biopharmaceutics & Drug Disposition.*** v.7: 501-535; 1986.

ZHANG, J., DING, L. WEN, A. WU, F. SUN, L., YANG, L., An HPLC-ESI-MS method for the determination of propranolol in human plasma and its application to pharmacokinetic studies. ***Asian Journal of Pharmaceutical Sciences.*** v.4(3): 169-177; 2009.

ANEXOS

LAUDOS DOS FÁRMACOS UTILIZADOS



Certificado de Análise
Nr. Ctr.: 039312.00-037184.00G0018/3721

ATENOLOL

C.A.S.: 29122-68-7

D.C.B.: 00911

Seq. 1/7 Página: 1/2

115

Data de Fabricação: 1/7/2012

Lote de Fabricação: 1207080

Produto encontra-se nos seguintes volumes

Data de Validade: 28/6/2017

País de Origem: INDIA

2

Lote Galena (CIQ): 1308018806

Nota Fiscal: 0194115

Ordem Fracionamento (OF): 341976

Dados do Requisitante

Requisitante: GALENA QUIMICA E FARMACEUTICA LTDA.
Endereço: RUA PEDRO STANCATO, 860 - CAMPO AMARAI

CNPJ: 57.442.774/0001-90
Cidade: CAMPINAS/SP

Fone: 0800 7714 270
CEP: 13 082-050

Fórmula Molecular: C₁₄H₂₂N₂O₃

Peso Molecular: 266,34

Classe Terapêutica: Antihipertensivo, Antiarrítmico, Antianginoso

ARMAZENAMENTO: Armaz. Temp. Ambiente, em recipiente fechado protegido da luz e umidade.

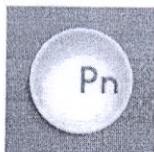
Análises/Componentes	Especificações	Incerteza de Medição (U)	Resultados das análises
IDENTIFICAÇÃO			
Infravermelho (0)	Positivo		Positivo
Ultravioleta (0)	Positivo		Positivo
SOLUBILIDADE			
Água (0)	Pouco solúvel		Pouco solúvel
Etanol (0)	Ligeiramente solúvel		Ligeiramente solúvel
Metanol (0)	Facilmente solúvel		Facilmente solúvel
Isopropanol (0)	Pouco solúvel		Pouco solúvel
PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS			
Descrição (0)	Pó branco ou praticamente branco, inodoro		Pó branco, inodoro
Doseamento (substância seca) (0)	98,0% a 102,0%	1,4%	100,05%
Perda por dessecação (0)	Não mais que 1%	0,17%	0,50%
Ponto de fusão (0)	152,0°C a 156,5°C	3,29	154,0°C
Resíduo de ignição (0)	Não mais que 0,2%	0,08%	0,0%
Cloreto (0)	Não mais que 0,1%		< 0,1%
Impurezas Orgânicas (0)	Impureza individual: Não mais que 0,25% Total impuridades: Não mais que 0,5%		Conforme

OBSERVAÇÕES

Os resultados presentes neste Certificado de Análise, tem seus valores restritos a este lote.

As análises foram realizadas no Laboratório de Controle da Qualidade Galena.
Referências: (0) Farmacopéia Americana, 34ª Edição.

A incerteza expandida da medição relatada é declarada como a incerteza padrão da medição multiplicada pelo fator de abrangência k.
Para o ensaio Água por Karl Fisher: K= 2,52; pH K=2,37; Ponto de Fusão K=2,65; Perda por Dessecação K=2,10 para os demais testes do escopo K=2 que para uma distribuição normal corresponde a uma probabilidade de abrangência de aproximadamente 95%.
A incerteza padrão de medição foi determinada de acordo com a publicação EA-4/02.



Pharma Nostra®

CERTIFICADO DE ANÁLISE

INSUMO:	CAPTOPRIL		Pág 1
ORIGEM/PROCEDÊNCIA:	CHINA/ALEMANHA	DATA DE ANÁLISE:	19/09/2014
LOTE PHARMA NOSTRA:	11124861B	LOTE FABRICANTE:	5103-11-320
DATA DE FABRICAÇÃO:	Outubro/2011	DATA DE VALIDADE:	Setembro/2015
DCB:	01699	CAS:	62571-86-2

CONDIÇÕES DE ARMAZENAGEM:	TEMPERATURA 23°C A 27°C		
OBS 1:	FM: C ₉ H ₁₅ NO ₂ S		
OBS 2:	PM: 217,29		
DATA DE EMISSÃO:	06/10/2014	NF:	5-098.521
ORDEM FRACIONAMENTO:	7034-14	DATA ENC:	19/09/2014

TESTES	ESPECIFICAÇÕES	RESULTADOS	REFERÊNCIAS
Descrição*	Pó cristalino branco ou quase branco, com um odor característico de sulfito	Pó cristalino quase branco com um odor característico de sulfito	USP - 36
Identificação*	IV - O espectro da amostra está de acordo com o do padrão	Conforme	USP - 36
Solubilidade*	Facilmente solúvel em água, em metanol, em álcool e em clorofórmio	Conforme	USP - 36
Rotação específica*	- 125° a - 134°	-131,50°	USP - 36
Perda por dessecação*	≤ 1,0 % (3horas/60°C à vácuo)	0,87%	USP - 36
Resíduo por ignição*	≤ 0,2%	0,16%	USP - 36
Ponto de fusão*	104 - 110°C	109,93°C	USP - 36
Substâncias relacionadas*	Captopril disulfeto ≤ 1,0% Outras impureza ≤ 0,2% Impurezas totais ≤ 0,5%	0,057% 0,159% 0,216%	USP - 36
Solventes residuais*	Acetato de etila ≤ 500 ppm Acetona ≤ 500 ppm	1,01 ppm 2,41 ppm	USP - 36
Metais pesados*	≤ 0,003%	< 0,003%	USP - 36
Teor (Base Anídria) *	97,5 - 102,0%	100,29%	USP - 36
TESTE ADICIONAL			
Densidade aparente*	Informativo (sem compactação)	0,48 g/mL	Mét. Geral FB V

*Resultados obtidos em análises realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade Pharma Nostra (UNIDADE ANAPOLIS). E os demais foram transcritos conforme certificado de análise do fabricante.
LEGENDA DAS REFERÊNCIAS: FB (Farmacopeia Brasileira) / USP (United States Pharmacopoeia) / EP (European Pharmacopoeia) / BP (British Pharmacopoeia) / JP (Japanese Pharmacopoeia) / MG (Método Geral farmacopeico) / Fabricante (especificação e metodologia conforme o fabricante do insumo) / Informativo (resultado fornecido como informativo pelo LCQ SM EMPREENDIMENTOS FARMACÉUTICOS LTDA).

CONCLUSÃO: (X) Aprovado () Reprovado


Responsável pelo Lab. Controle de Qualidade
João Paulo Sartin Mendes - CRF - GO: 7355


Responsável Técnico
Rodrigo Molinari Elias - CRF-GO Nº 3234

ENALAPRIL MALEATO - 0,250 KG

C.A.S.: 76095-16-4

D.C.B.: 03370

Página: 01

Data de Fabricação: 07/09/2013

Lote de Fabricação: 5112-13-196

Data de Validade: 28/08/2017

País de Origem: CHINA

Lote Galena (CIQ): 1407005006

Ordem Fracionamento (OF): 00340902002

Dados do Requisitante
Requisitante: Galena Quimica e Farmaceutica Ltda
Endereço: Rua Pedro Stancato, 860

CNPJ: 57.442.774/0001-90
Cidade: Campinas/SP

Fone: 0800 7714 270
CEP: 13.082/050

Fórmula Molecular: C₂₀H₂₈N₂O₅.C₄H₄O₄
Peso Molecular: 492,52

Classe Terapêutica: Anti-hipertensivo

Informações Complementares:
Nome Químico:

 N-[(1S)-1-(Ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]-L-alanyl-L-proline
 e ; 1-[N-[(S)-1-carboxy-3-phenylpropyl]-L-alanyl]-L-proline
 1-ethyl ester

Armazenamento: ARMAZ.TEMP.AMB.CONTROLADA, FECHADO, PROTEGIDO DA LUZ E UMIDADE

Análises/Componentes	Especificações	Incerteza de Medição (U)	Resultados das Análises
LABORATORIO FISICO-QUIMICO			
- DESCRICAO (3)	Po cristalino branco ou quase branco		Po cristalino branco
- PERDA POR DESSECACAO (3)	Não mais que 1,00 %	0,17 %	0,74 %
- IDENTIFICACAO POR INFRAVERMELHO (3)	Positivo		Positivo
- CINZAS SULFATADAS (3)	Não mais que 0,20 %	0,08 %	0,03 %
- pH (3)	2,4 a 2,9	0,09	2,6
- METAIS PESADOS (3)	Nao mais que 10 ppm		Nao mais que 10 ppm
- IDENTIFICACAO POR HPLC (3)	Positivo		Positivo
- DOSEAMENTO (SUBSTANCIA SECA) (3)	98,00 % a 102,00 %	1,40 %	99.0533 %
- SUBST. REL. IMPUREZAS TOTAIS (3)	Não mais que 2,00 %		0 %
- DENSIDADE APARENTE (7)	Informativo		0,4947 g/mL

Observações

- Os resultados presentes neste Certificado de Análise tem seus valores restritos a este lote.

- As análises foram realizadas no Laboratório de Controle da Qualidade Galena.

Referências: (3)FB5; (7)GALENA

- A incerteza expandida de medição relatada é declarada como a incerteza padrão da medição multiplicada pelo fator de abrangência K. Para o ensaio Água por Karl Fisher K=2,52; pH K=2,37; Ponto de Fusão K=2,65; Perda por Dessecação K=2,10; para os demais testes do escopo, K=2, que, para uma distribuição normal, corresponde a uma probabilidade de 95%. A incerteza padrão de medição foi determinada de acordo com a publicação EA-4/02.

Resultado: (X) Aprovado

Data Início: 15/07/2014

Data Término: 15/07/2014


Lúcia Eli Scareli
 Farmacêutica Responsável
 CRF-SP: 16.148


Renata Timm
 Gerente da Qualidade
 CRF-SP: 24.404



CERTIFICADO DE ANÁLISES DO CONTROLE DE QUALIDADE

Autorização de Funcionamento M.S:1.01284-7
Aut.Especial de Funcionamento M.S:1.20182-2Pagina 13/19
Impressão 10/05/13 10:55
NF. 327.794 de 10/05/2013Insumo: **HIDROCLOROTIAZIDA**

Lote : 120605 #2 Origem : China Fabric : 05/06/2012
Lote Fab: 120605 Procedencia : Hong Kong Validade : 04/06/2015
Formula : C7 H8 Cl N3 O4 S2 PM : 297.7 Frac : 614537 30/01/2013
DCB : 04652 DCI : 0841 CAS : 58-93-5 Analise : 119032 30/01/2013

Categoria Terapeutica : DIURETICO

Ensaio	Especificação	Resultado
* DESCRIÇÃO	PÓ CRISTALINO BRANCO OU QUASE BRANCO.	DE ACORDO
* SOLUBILIDADE	MUITO POUCO SOLÚVEL EM ÁGUA	DE ACORDO
* SOLUBILIDADE	SOLÚVEL EM ACETONA	DE ACORDO
* SOLUBILIDADE	LIGEIRAMENTE SOLÚVEL EM ETANOL 96%	DE ACORDO
* SOLUBILIDADE	DISSOLVE-SE EM SOLUÇÕES DE HIDRÓXIDOS ALCALINOS	DE ACORDO
* IDENTIFICAÇÃO	UV-VISÍVEL: ENTRE 250 A 350 nm APRESENTA MÁXIMAS EM 273 E 323 nm	DE ACORDO
* IDENTIFICAÇÃO	UV-VISÍVEL: RAZÃO ENTRE 273 E 323 ENTRE 5,4 E 5,7	5,59
* IDENTIFICAÇÃO	ESPECTOFOTOMETRIA INFRAVERMELHO	DE ACORDO
* ACIDEZ OU	ALCALINIDADE: MÁXIMO 0,4 mL DE HCL 0,01N	0,3mL HCL 0,01M
* CLORETO	MÁXIMO: 100 ppm	< 100 ppm
* DENSIDADE	APARENTE	0,5241 g/mL
* PERDA P/SECAGEM	MÁXIMO: 0,5%	0,11%
* CINZA SULFATADA	MÁXIMO 0,1%.	0,08%
* DOSEAMENTO	POTENCIOMETRIA: 98,0% - 102,0% SUBSTÂNCIA SECA	98,68%
	ENSAIOS ADICIONAIS REALIZADOS PELO FABRICANTE	
SUBS. RELATADAS	IMPUREZA A,B,C: MÁXIMO 0,5%	0,12%
SUBS. RELATADAS	TOTAL DE OUTRAS IMPUREZAS: MÁXIMO 1,0%	0,51%

MONOGRAFIA : BP 2011 PÁG. 1072, 1073 E 1074
LAUDO ORIGINAL DO FABRICANTE CUMPRE COM BP 2009
NOMENCLATURA : HIDROCLOROTIAZIDA

Ficha de Segurança

SEGURANÇA : ACONDICIONAR EM RECIPIENTES HERMÉTICOS, AO ABRIGO DO CALOR E UMIDADE

Parecer Técnico : DENTRO DOS ITENS PESQUISADOS, O LOTE CUMPRE COM AS ESPECIFICAÇÕES

OBS: (*)Os ensaios assinalados foram realizados no Laboratório de Controle de Qualidade FAGRON e os demais estão em conformidade com o Certif.de Análise do Fabricant

*Juiano*Dra. Kely Cristina de Lima Oliveira
Farmacêutica Responsável Técnica
CRF-SP:52.472

Rua Juiano, 775/770/802 Id. Oriental Fone 11 5033-3700



CERTIFICADO DE ANÁLISES DO CONTROLE DE QUALIDADE

Autorização de Funcionamento M.S:1.01284-7
Aut.Especial de Funcionamento M.S:1.10238-0Pagina 6/9
Impressão 10/12/14 13:00
NF. 033.200 de 10/12/2014Insumo: **LOSARTAN POTÁSSICO**Lote : 14031669B Origem : Índia Fabric : 31/12/2013
Lote Fab: LTP/1312011 Procedencia : Índia Validade : 01/11/2017
Formula : C22H22CIKN6 O PM : 461,00 Frac : 344014 08/05/2014
DCB : 05432 DCI : 6913 CAS : 124750-99-8

Ensaio	Especificação	Resultado	Referencia
* DESCRIÇÃO	PÓ BRANCO A QUASE BRANCO	PÓ QUASE BRANCO	USP - 36
* IDENTIFICAÇÃO	IV - O ESPECTRO DA AMOSRA ESTÁ DE ACORDO COM O PADRÃO	CONFORME	USP - 36
* IDENTIFICAÇÃO	UV - O ESPECTRO DA AMOSTRA DA AMOSTRA É SIMILAR AO DO PADRÃO	CONFORME	USP - 36
* IDENTIFICAÇÃO	POSITIVO PARA POTASSIO	CONFORME	USP - 36
* SOLUBILIDADE	FACILMENTE SOLUVEL EM ÁGUA	CONFORME	USP - 36
* SOLUBILIDADE	LIGEIRAMENTE SOLUVEL EM ALCOOOL ISOPROPILICO	CONFORME	USP - 36
* SOLUBILIDADE	POUCO SOLUVEL EM ACETONITRILA	CONFORME	USP - 36
UMIDADE	MÁXIMO: 0,5%	0,38%	USP - 36
METAIS PESADOS	MAXIMO: 10 ppm	< 10 ppm	USP - 36
* PUREZA CROMATOGRÁFICA	IMPUREZA INDIVIDUAL MAXIMO 0,2%	0,170%	USP - 36
* PUREZA CROMATOGRÁFICA	TOTAL DE IMPUREZAS MAXIMO 0,5%	0,170%	USP - 36
* DOSEAMENTO	98,5 - 101,0% (BASE ANIDRA E LIVRE DE SOLVENTES)	98,91%	USP - 36
* SOLVENTES RESIDUAIS	ACETATO DE ETILA: MAXIMO 1000 ppm	278,68 ppm	USP - 36
* SOLVENTES RESIDUAIS	METANOL: MAXIMO 500 ppm	NÃO DETECTADO	USP - 36
* SOLVENTES RESIDUAIS	TOLUENO: MAXIMO 100 ppm	85,88 ppm	USP - 36
* SOLVENTES RESIDUAIS	TRITILAMINA: MAXIMO 100 ppm	NÃO DETECTADO	USP - 36
* SOLVENTES RESIDUAIS	METIL ISOBUTIL CETONA: MÁXIMO 500 ppm	NÃO DETECTADO	USP - 36
* SOLVENTES RESIDUAIS	ISOPROPANOL: MÁXIMO 5000 ppm	NÃO DETECTADO	USP - 36
* SOLVENTES RESIDUAIS	CLOROFÓRMIO: MÁXIMO 60 ppm	NÃO DETECTADO	USP - 36
* DENSIDADE	APARENTE: INFORMATIVO (SEM COMPACTAÇÃO)	0,46 g/mL	MÉT. GERAL FB V

NOMENCLATURA : LOSARTAN POTÁSSICO

Ficha de Segurança

SEGURANÇA : ACONDICIONAR EM RECIPIENTES HERMÉTICOS, AO ABRIGO DO CALOR E UMIDADE

OBS: (*) Os ensaios assinalados foram realizados no Laboratorio de Controle de Qualidade SM Empreendimentos Farmacêuticos LTDA CNPJ: 44.015.477/0006-20 e os demais ensaios foram transcritos conforme o Certificado de Análise do Fabricante


Dra. Shirlei Conti Teruya de Sales
Farmacêutica Responsável Técnica
CRF-SP:65.711

SM EMPREENDIMENTOS FARMACEUTICOS LTDA

R Jose Semiao Rodrigues Agosti,1370
Cep 06833-300 Centro Log. Embu - SPFone 11 4785-5600
www.fagron.com.br



Qualidade Pharma
Toda segurança e confiabilidade para o seu medicamento.

Níveis de solventes residuais comprovadamente seguros à saúde dentro dos limites estabelecidos pelo ICH.



CERTIFICADO DE ANÁLISE

Pág 1

INSUMO:	PROPRANOLOL HCL	DATA DE ANÁLISE:	29/04/2015
ORIGEM/PROCEDÊNCIA:	CHINA/HONG KONG	LOTE FABRICANTE:	M140802
LOTE PHARMA NOSTRA:	15041991A	DATA DE VALIDADE:	Julho/2017
DATA DE FABRICAÇÃO:	Julho/2014	CAS:	318-98-9
DCB:	07482		
CONDIÇÕES DE ARMAZENAGEM: TEMPERATURA AMBIENTE			
OBS 1: FM: C ₁₆ H ₁₉ NO·HCl			
OBS 2: PM: 295,8			
DATA DE EMISSÃO:	04/05/2015	NF: 6-062.720	ORDEM FRACIONAMENTO: 4891-15
		DATA ENC:	29/04/2015

TESTES	ESPECIFICAÇÕES	RESULTADOS	REFERÊNCIAS
Descrição*	Pó cristalino branco a quase branco, inodoro	Pó cristalino quase branco, inodoro	USP - 37
Identificação*	A: IV - O espectro da amostra esta de acordo com o padrão B: HPLC - O tempo de retenção da amostra corresponde ao tempo de retenção do padrão C: Positivo para clorato	Conforme Conforme Conforme	USP - 37
Solubilidade*	Solúvel em água e em álcool; Pouco solúvel em clorofórmio; Praticamente insolúvel em éter	Conforme	USP - 37
Perda por dessecação	≤ 0,5% (4 horas/105°C/1g)	0,31%	USP - 37
Ponto de Fusão*	Em torno de 164°C	165°C	USP - 37
Rotação específica*	-1,0° a +1,0°	- 0,13°	USP - 37
Resíduo por ignição*	≤ 0,1%	0,04%	USP - 37
Conteúdo residual	Xileno ≤ 2170 ppm	59,39 ppm	USP - 37
Teor (base anidra) *	98,0 - 101,5%	98,73%	USP - 37
TESTES ADICIONAIS	Informativo (sem especificação)	0,40 g/mL	Met. Geral FB V

* Resultados obtidos em análises realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade SM EMPREENDIMENTOS FARMACÊUTICOS LTDA. E os demais foram transcritos deste certificado de análise do fabricante.
 LEGENDA DAS SIGLAS: FB (Farmacopeia Brasileira) / USP (United States Pharmacopoeia) / EP (European Pharmacopoeia) / BP (British Pharmacopoeia) / JAP (Japanese Pharmacopoeia) / MG (Método Geral farmacopeico) / Fabricante (especificação e metodologia conforme o fabricante do insumo) / Informativo (resultado fornecido como informativo pelo LCQ SM EMPREENDIMENTOS FARMACÊUTICOS LTDA)

CONCLUSÃO: (X) Aprovado () Reprovado

Responsável pelo Lab. Controle de Qualidade
João Paulo Bastin Mendes - CRF - GO: 7355

Responsável Técnico
Rodrigo Molinari Elias - CRF-GO Nº 3234

Paula Fidélis
Farmacêutica - Responsável
Ana Paula Fidélis - CRF - SP: 29.578
Disponível informações Complementares:
favor contatar: 0300 727 4855