



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

FACULDADE DE MEDICINA

INSTITUTO DO CORAÇÃO EDSON SAAD

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA – CARDIOLOGIA



**O PAPEL DA INTERAÇÃO FÁRMACO-NUTRIENTE NA ABSORÇÃO DE MEDICAMENTOS:
AVALIAÇÃO *IN VITRO* E *IN SILICO* DE INTERAÇÕES ENTRE FÁRMACOS
ANTI-HIPERTENSIVOS E FIBRAS DIETÉTICAS SOLÚVEIS**

EDLAINE RIJO COSTA

RIO DE JANEIRO

2022

EDLAINE RIJO COSTA

**O PAPEL DA INTERAÇÃO FÁRMACO-NUTRIENTE NA ABSORÇÃO DE MEDICAMENTOS:
AVALIAÇÃO *IN VITRO* E *IN SILICO* DE INTERAÇÕES ENTRE FÁRMACOS
ANTI-HIPERTENSIVOS E FIBRAS DIETÉTICAS SOLÚVEIS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Cardiologia) do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina e do Instituto do Coração Edson Saad da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários a obtenção do título de Doutor em Ciências - Área de concentração Cardiologia.

Orientadora:

Profa. Dra. Glorimar Rosa – Instituto de Nutrição Josué de Castro – UFRJ

Co-orientadores:

Prof. Dr. José Carlos Saraiva Gonçalves – Faculdade de Farmácia – UFRJ

Profa. Dra. Rita de Cássia Elias Estrela – Faculdade de Farmácia – UFRJ

Rio de Janeiro

2022

CIP - Catalogação na Publicação

C837p Costa, Edlaine Rijo
O papel da interação fármaco-nutriente na absorção de medicamentos: avaliação in vitro e in silico de interações entre fármacos anti-hipertensivos e fibras dietéticas solúveis. / Edlaine Rijo Costa. -- Rio de Janeiro, 2022.
168 f.

Orientadora: Glorimar Rosa.
Coorientador: José Carlos Saraiva Gonçalves.
Tese (doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Programa de Pós Graduação em Medicina (Cardiologia), 2022.

1. Interação fármaco-nutriente. 2. Fármacos anti hipertensivos. 3. Fibras dietéticas. 4. Absorção. I. Rosa, Glorimar, orient. II. Gonçalves, José Carlos Saraiva, coorient. III. Título.

**O PAPEL DA INTERAÇÃO FÁRMACO-NUTRIENTE NA ABSORÇÃO DE MEDICAMENTOS:
AVALIAÇÃO *IN VITRO* E *IN SILICO* DE INTERAÇÕES ENTRE FÁRMACOS
ANTI-HIPERTENSIVOS E FIBRAS DIETÉTICAS SOLÚVEIS**

Edlaine Rijo Costa

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Cardiologia) do Instituto do Coração Edson Saad da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários a obtenção do título de Doutor em Ciências Cardiovasculares.

Aprovada em _____ de _____ de 2022.

Orientadora: _____

Profa. Dra. Glorimar Rosa
Programa de Pós-Graduação em Medicina – Cardiologia - UFRJ
Instituto de Nutrição Josué de Castro – UFRJ

Banca Examinadora: _____

Profa. Dra. Lucia Helena Alvares Salis
Programa de Pós-Graduação em Medicina – Cardiologia - UFRJ
Faculdade de Medicina – Instituto do Coração Edson Saad – UFRJ

Prof. Dra. Jaqueline Soares da Silva
Programa de Pós-Graduação em Medicina – Cardiologia - UFRJ
Instituto de Ciências Biomédicas – UFRJ

Profa. Dra. Claudia Teresa Bento
Instituto de Nutrição Josué de Castro – UFRJ

Profa. Dra. Mirian Ribeiro Leite Moura
Faculdade de Farmácia – UFRJ

Prof. Dr. Janilson José da Silva Júnior
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Rio de Janeiro
2022

Dedico este trabalho...

Aos meus pais, Rosângela e Egidio, que com todo amor, me apoiaram para que eu concluísse mais esta etapa.

Ao meu filho, Gustavo Luís, por ser a razão de tudo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que é a luz e a força motriz que nos conduz.

Aos meus pais, Egidio e Rosângela, pelo exemplo e por mostrar a importância de sempre buscar novos conhecimentos.

Ao meu filho, Gustavo Luís, que mesmo sendo tão pequeno, compreendia minhas ausências e dava um sorriso todas as vezes que eu falava que precisava trabalhar.

Aos meus irmãos, Elaine, Eduardo e Elan, e meus sobrinhos, Maria Eduarda, Pedro, Lucas e Eva, por encherem minha vida de alegria e por todo incentivo.

À minha orientadora, Profa. Dra. Glorimar Rosa, por ter confiado em mim e por toda ajuda e orientação durante a execução deste trabalho.

Ao meu chefe e co-orientador, Prof. Dr. José Carlos Saraiva Gonçalves, por ser meu maior incentivador nesses 17 anos, por acreditar em mim e me apoiar em todas as etapas da minha vida acadêmica e profissional.

À Profa. Dra. Rita Estrela, minha co-orientadora, por cada conselho, conversa, ensinamento, orientação, abraço... Não tenho palavras para agradecer tudo que você tem feito por mim.

Ao Prof. Dr. Murilo Lamim Bello, pela cooperação, disponibilidade e ensinamentos sobre modelagem molecular tão essenciais para a discussão deste trabalho.

Ao amigo Thales Castro, por tornar a execução deste trabalho muito mais fácil, pela companhia, risadas, conversas, disponibilidade em me ajudar, pelos ensinamentos de informática, epidemiologia, estatística...

Aos amigos do LabFarma, Profa. Fernanda, Vitória, Thainá, Gabriel, João, Bruna, Debora e Arianne pela maravilhosa convivência e discussões científicas.

A todos os professores da banca examinadora por terem aceitado o convite para melhoria deste trabalho.

A todos os professores, alunos e servidores do Programa de Pós-Graduação em Medicina (Cardiologia) pelos anos de convivência e aprendizagem.

À Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, pelo incentivo à qualificação dos seus servidores e por permitir o uso das suas instalações para execução desse trabalho.

*É melhor tentar e falhar, que preocupar-se e ver a vida passar.
É melhor tentar, ainda que em vão, que sentar-se fazendo nada até o final.
Eu prefiro na chuva caminhar, que em dias frios em casa me esconder.
Prefiro ser feliz, embora louco, que em conformidade viver...*

Martin Luther King

RESUMO

COSTA, Edlaine Rijo. **O papel da interação fármaco-nutriente na absorção de medicamentos: Avaliação *in vitro* e *in silico* de interações entre fármacos anti-hipertensivos e fibras dietéticas solúveis.** Rio de Janeiro, 2022. Tese (Doutorado em Ciências Cardiovasculares) – Faculdade de Medicina, Instituto do Coração Edson Saad. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

Introdução: As interações fármaco-nutriente podem inadvertidamente aumentar ou reduzir o efeito dos fármacos, sendo capazes de torná-lo tóxico ou inefetivo, alterando assim, sua segurança e eficácia terapêutica. Especialmente nas doenças crônicas não transmissíveis, como a hipertensão arterial, onde os medicamentos são administrados, preferencialmente pela via oral, em tratamentos prolongados, aumenta o risco destas interações ocorrerem. A avaliação de interações causadas pela adsorção, quelação, complexação ou ligação dos fármacos com componentes específicos dos alimentos, como as fibras dietéticas, é de fundamental importância pois estas podem diminuir a quantidade de fármaco disponível para ser absorvido, provavelmente, reduzindo também a biodisponibilidade do mesmo. **Objetivo geral:** Avaliar, por meio de métodos *in vitro* e *in silico*, as possíveis interações biofarmacêuticas entre fármacos anti-hipertensivos, distribuídos gratuitamente pelo SUS e pertencentes ao Programa “Aqui tem Farmácia Popular”, e fibras solúveis frequentemente consumidas pela população brasileira. **Métodos:** No ensaio *in vitro* de dissolução, os fármacos anti-hipertensivos, atenolol, hidroclorotiazida e losartana potássica, foram dissolvidos em fluidos gastrointestinais simulados em diversos pHs e incubados na presença das fibras dietéticas solúveis, β -glucana do farelo de aveia, Fiber mais® (mistura de goma guar e inulina) e pectina por 30 minutos, a 25 °C, em constante agitação. A porcentagem de fármaco livre, que é aquele que atravessou a membrana do dispositivo de ultrafiltração, foi quantificada por meio de método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de ultravioleta desenvolvido e validado seguindo os parâmetros preconizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). A modelagem molecular e a simulação de dinâmica molecular do sistema molecular β -glucana/fármaco foi realizada com o intuito de identificar as interações intermoleculares envolvidas no complexo fibra dietética – fármaco. **Resultados:** Dentre

todos os fármacos e fibras dietéticas testados, apenas ocorreu diminuição das porcentagens de fármaco livre entre losartana e β -glucana do farelo de aveia, nos pHs 3,1; 4,1; 5,1; 6,1 e 6,8 com % de fármaco livre \pm desvio padrão de $72,71 \pm 2,62$; $63,16 \pm 0,77$; $67,57 \pm 5,76$; $84,80 \pm 5,34$ e $81,46 \pm 6,54$, respectivamente. A única interação estatisticamente significativa ocorreu no pH 4,1 que corresponde ao pKa da losartana potássica. Após a simulação de dinâmica molecular, observou-se que os três fármacos estudados podem realizar interações intermoleculares com as cadeias do polissacarídeo β -glucana. Enquanto no sistema molecular β -glucana/losartana, as moléculas do fármaco fazem preferencialmente interações hidrofóbicas com as cadeias do polissacarídeo, nos sistemas moleculares β -glucana/atenolol e β -glucana/hidroclorotiazida, as moléculas dos fármacos realizam de forma mais favorável interações por ligação hidrogênio com as cadeias de β -glucana. **Conclusão:** A interação entre os fármacos anti-hipertensivos e fibras dietéticas solúveis é dependente da estrutura molecular do fármaco e da fibra e também do pH do meio. Na interação entre losartana e β -glucana da aveia, o perfil mais hidrofóbico deste fármaco faz com que suas moléculas tenham mais afinidade pelas cadeias da β -glucana do que pelo ambiente aquoso corporal. Portanto, devemos orientar aos pacientes que estejam em uso de losartana potássica que deve haver um afastamento entre o tempo de administração do fármaco e de uso de alimentos contendo este cereal.

Palavras-chave: interação fármaco-nutriente, fármacos anti-hipertensivos, fibras dietéticas, absorção

ABSTRACT

COSTA, Edlaine Rijo. **The role of food-drug interaction in drug absorption: *In vitro* and *in silico* evaluation of interactions between antihypertensive drugs and soluble dietary fibers.** Rio de Janeiro, 2022. Thesis (PhD in Cardiovascular Sciences) – Faculty of Medicine, Edson Saad Heart Institute. Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

Introduction: Food-drug interactions can inadvertently increase or reduce the effect of drugs, and can make it toxic or ineffective, thus altering its safety and therapeutic efficacy. Especially in non-communicable chronic diseases, such as arterial hypertension, where drugs are administered, preferably orally, in prolonged treatments, the risk of these interactions occurring increases. The evaluation of interactions caused by adsorption, chelation, complexation or binding of drugs with specific food components, such as dietary fiber, is of fundamental importance because these can decrease the amount of drug available to be absorbed, probably also decreasing the bioavailability of the drug. **General objective:** Evaluate, by *in vitro* and *in silico* methods, the possible biopharmaceutical interactions between antihypertensive drugs, distributed free of charge by SUS and belonging to the “Aqui tem Farmácia Popular” Program, and soluble fibers frequently consumed by the Brazilian population. **Methods:** In the *in vitro* dissolution assay, the antihypertensive drugs, atenolol, hydrochlorothiazide and losartan potassium, were dissolved in simulated gastrointestinal fluids at various pHs and incubated in the presence of soluble dietary fiber, β -glucan from oat bran, Fiber mais[®] (mixture of guar gum and inulin) and pectin for 30 minutes at 25 °C, under constant agitation. The percentage of free drug, which is the drug that crossed the membrane of the ultrafiltration device, was quantified by an analytical method by high-performance liquid chromatography coupled with an ultraviolet detector developed and validated following the parameters recommended by the National Health Surveillance Agency (Anvisa). Molecular modeling and molecular dynamics simulation of the β -glucan/drug molecular system was performed in order to identify the intermolecular interactions involved in the dietary fiber - drug complex. **Results:** Among all drugs and dietary fibers tested, only decreased percentages of free drug occurred between losartan and β -glucan from oat bran at pHs 3.1; 4.1; 5.1; 6.1 and 6.8 with % free drug \pm

standard deviation of 72.71 ± 2.62 ; 63.16 ± 0.77 ; 67.57 ± 5.76 ; 84.80 ± 5.34 and 81.46 ± 6.54 , respectively. The only statistically significant interaction occurred at pH 4.1, which corresponds to the pKa of losartan potassium. After molecular dynamics simulation, it was observed that the three studied drugs can perform intermolecular interactions with the β -glucan polysaccharide chains. While in the β -glucan/losartan molecular system, the drug molecules preferentially perform hydrophobic interactions with the polysaccharide chains, in the β -glucan/atenolol and β -glucan/hydrochlorothiazide molecular systems, the drug molecules more favorably perform hydrogen bonding interactions with the β -glucan chains. **Conclusion:** The interaction between anti-hypertensive drugs and soluble dietary fiber is dependent on the molecular structure of the drug and fiber, and also on the pH of the medium. In the interaction between losartan and oat β -glucan, the more hydrophobic profile of this drug causes its molecules to have more affinity for the β -glucan chains than for the body aqueous environment. Therefore, we should advise patients who are taking losartan potassium that there should be a gap between the time of drug administration and the use of food containing this cereal.

Keywords: food-drug interaction, antihypertensive drugs, dietary fiber, absorption

QUADROS E TABELAS

Quadro 1.	Classificação das interações fármaco-nutriente.....	41
Quadro 2.	Etapas da eluição em gradiente.....	74
Quadro 3.	Estratégia PICO.....	81
Tabela 1.	Parâmetros descrevendo a linearidade das curvas de calibração para cada analito em FGS e FIS.....	90
Tabela 2.	Valores de F calculado e t calculado para as curvas de cada analito em FGS e FIS em comparação com a curva analítica em ACN.....	91
Tabela 3.	Repetibilidade, precisão intermediária e exatidão de ATL em FGS e FIS.....	92
Tabela 4.	Repetibilidade, precisão intermediária e exatidão de HCTZ em FGS e FIS.....	93
Tabela 5.	Repetibilidade, precisão intermediária e exatidão de LST em FGS e FIS.....	94
Tabela 6.	Porcentagens de ATL livre em diferentes FGIs.....	95
Tabela 7.	Porcentagens de HCTZ livre em diferentes FGIs.....	96
Tabela 8.	Porcentagens de LST livre em diferentes FGIs.....	96
Tabela 9.	Porcentagens de LST livre em FGS e FIS em diversos pHs próximos ao seu pka.....	97

FIGURAS

Figura 1.	Fermentação bacteriana das FDs.....	25
Figura 2.	Mecanismos pelos quais diferentes FDs afetam o TGI.....	25
Figura 3.	Espectro das características físico-químicas e propriedades funcionais das FDs.....	26
Figura 4.	Mecanismo proposto para a associação inversa entre ingestão de FDs e risco de DCVs.....	27
Figura 5.	Estrutura química do fármaco ATL.....	29
Figura 6.	Estrutura química do fármaco HCTZ.....	30
Figura 7.	Estrutura química do fármaco LST.....	31
Figura 8.	Estrutura química da β -glucana da aveia.....	36
Figura 9.	Estrutura química da goma guar.....	37
Figura 10.	Estrutura química da inulina.....	38
Figura 11.	Estrutura química da pectina.....	39
Figura 12.	Cadeia péptica.....	40
Figura 13.	Classificação dos efeitos alimentares na absorção oral de fármacos...	42
Figura 14.	Modelo de interação fármaco-nutriente.....	45
Figura 15.	Sistema de Classificação Biofarmacêutico.....	50
Figura 16.	Efeitos alimentares de uma refeição rica em gorduras segundo o SCB	53
Figura 17.	Representação de uma molécula em mecânica molecular.....	58
Figura 18.	Ilustração dos efeitos estereoquímicos.....	62
Figura 19.	Ilustração de estruturas complexas de carboidratos destacando os desafios computacionais na simulação de carboidratos.....	64
Figura 20.	Perfil cromatográfico de ATL (20 μ g/mL), HCTZ (20 μ g/mL) e LST (40 μ g/mL) em FGS (a) e FIS (b).....	84
Figura 21.	Sobreposição de cromatogramas de FGS filtrado e não filtrado (a) e FIS filtrado e não filtrado.....	85
Figura 22.	Cromatogramas de (a) farelo de aveia em FGS; (b) farelo de aveia em FIS; (c) Fiber mais [®] em FGS; (d) Fiber mais [®] em FIS; (e) pectina em FGS e, (f) pectina em FIS.....	87-89
Figura 23.	Porcentagens de LST livre quando incubada com β -glucana da aveia em diversos pHs.....	97
Figura 24.	Estrutura molecular 3D otimizada do fármaco ATL.....	98
Figura 25.	Estrutura molecular 3D otimizada do fármaco HCTZ.....	99
Figura 26.	Estrutura molecular 3D otimizada do fármaco LST.....	99
Figura 27.	Estrutura molecular 3D otimizada do resíduo β -D-glicose vista de ângulos distintos.....	100
Figura 28.	Estrutura molecular 3D otimizada da ATL mostrando as cargas parciais atômicas empregadas na parametrização dos modelos moleculares	100
Figura 29.	Estrutura molecular 3D otimizada da HCTZ mostrando as cargas parciais atômicas empregadas na parametrização dos modelos moleculares	101
Figura 30.	Estrutura molecular 3D otimizada da LST mostrando as cargas parciais atômicas empregadas na parametrização dos modelos moleculares	101

LISTAS

Figura 31.	Estrutura molecular 3D otimizada do resíduo β -D-glicose mostrando as cargas parciais atômicas empregadas na parametrização dos modelos moleculares.....	102
Figura 32.	Estrutura molecular 3D otimizada e parametrizada da cadeia polimérica da β -glucana contendo 16 resíduos.....	103
Figura 33.	Sistema molecular amorfo contendo 4 moléculas de ATL e 8 cadeias poliméricas de β -glucana (1:16).....	104
Figura 34.	Sistema molecular amorfo contendo 4 moléculas de HCTZ e 8 cadeias poliméricas de β -glucana (1:16).....	105
Figura 35.	Sistema molecular amorfo contendo 6 moléculas de LST e 8 cadeias poliméricas de β -glucana (1:8).....	106
Figura 36.	Sistema molecular amorfo contendo 4 moléculas de ATL e 8 cadeias poliméricas de β -glucana (1:16), realizando interações por ligação hidrogênio.....	107
Figura 37.	Sistemas molecular amorfo contendo 4 moléculas de HCTZ e 8 cadeias poliméricas de β -glucana (1:16), realizando interações por ligação hidrogênio.....	108
Figura 38.	Sistema molecular amorfo contendo 6 moléculas de LST e 8 cadeias poliméricas de β -glucana (1:8), realizando interações hidrofóbicas....	108
Figura 39.	Número de artigos publicados no Scopus (http://www.scopus.com) e Web of Science (https://clarivate.com/products/web-of-science/) de 1950-2018 usando o termo “ β -glucan” nos títulos, resumos e palavras-chave de artigos.....	114

ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN	Acetonitrila
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
AM	Alta metoxilação
AMBER	Do inglês, <i>Assisted Model Building with Energy Refinement</i>)
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASC	Área sob a curva
ASC0-∞	Área sob a curva de concentração-tempo extrapolada para o infinito
ASC0-t	Área sob a curva de concentração-tempo até a última concentração medida
ATL	Atenolol
BB	Betabloqueador
BCC	Bloqueador dos canais de cálcio
BM	Baixa metoxilação
BRA	Bloqueador dos receptores da angiotensina II
CHARMM	Do inglês, <i>Chemistry at HARvard using Molecular Mechanics</i>
CLAE-UV	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de ultravioleta
C _{máx}	Concentração plasmática máxima
CMD	Concentração média determinada experimentalmente
CQ	Controle de qualidade
CQA	Controle de qualidade alto
CQB	Controle de qualidade baixo
CQM	Controle de qualidade médio
CYP	Citocromo P450
Da	Dalton
DASH	Do inglês, <i>Dietary Approaches to Stop Hypertension</i>
DCNT	Doença crônica não transmissível
DCV	Doença cardiovascular
DeCS	Descritores em Ciências da Saúde
DIU	Diurético
DP	Desvio padrão
DPR	Desvio padrão relativo
EMA	Do inglês, <i>European Medicines Agency</i>
FAO	Do inglês, <i>Food and Agriculture Organization of United Nations</i>
FD	Fibra dietética
FDA	Do inglês, <i>Food and Drug Administration</i>
FE	Fase estacionária
FGI	Fluido gastrointestinal
FGS	Fluido gástrico simulado
FIS	Fluido intestinal simulado
FM	Fase móvel
GGPH	Goma guar parcialmente hidrolisada

LISTAS

GI	Gastrointestinal
HA	Hipertensão arterial
HCTZ	Hidroclorotiazida
IECA	Inibidor da enzima conversora de angiotensina
LILACS	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
LDL	Do inglês, <i>low-density lipoprotein</i>
LST	Losartana potássica
MAO	Monoaminaoxidase
MeOH	Metanol
MeSH	Do inglês, <i>Medical Subject Headings</i>
MM	Mecânica molecular
MMFF	Do inglês, <i>Merck Molecular Force Field</i>
MQ	Mecânica quântica
NE	Nutrição enteral
NP	Nutrição parenteral
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAMPA	Do inglês, <i>parallel artificial membrane permeation assay</i>
PAS	Pressão arterial sistólica
PCFF	Do inglês, <i>Polymer Consistent Force Field</i>
Pgp	Glicoproteína P
pKa	Negativo do logaritmo da constante de dissociação ácida
QSAR	Do inglês, <i>quantitative structure-activity relationship</i>
SCB	Sistema de classificação biofarmacêutico
TGI	Trato gastrointestinal
T _{máx}	Tempo para atingir a concentração plasmática máxima
WOS	Do inglês, <i>Web of Science</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	20
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA	23
2.1 FIBRAS DIETÉTICAS – DEFINIÇÃO, CLASSIFICAÇÃO E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.....	23
2.2. HIPERTENSÃO ARTERIAL.....	27
2.2.1 Fármacos anti-hipertensivos no Programa “Aqui Tem Farmácia Popular”..	28
2.2.1.1 <i>Atenolol</i>	29
2.2.1.2 <i>Hidroclorotiazida</i>	30
2.2.1.3 <i>Losartana Potássica</i>	31
2.2.2 Quantificação de ATL, HCTZ e LST por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a detector de ultravioleta (CLAE-UV).....	32
2.2.2.1 <i>Validação de método analítico para quantificação de fármacos</i>	33
2.3 FIBRAS DIETÉTICAS NA HIPERTENSÃO ARTERIAL.....	34
2.3.1 β -glucana proveniente da aveia.....	35
2.3.2 <i>Fiber mais</i> [®]	37
2.3.3 <i>Pectina</i>	39
2.4 INTERAÇÃO FÁRMACO-NUTRIENTE.....	40
2.4.1 A interação fármaco-nutriente na absorção de medicamentos.....	48
2.4.1.1 <i>O efeito alimentar na absorção de fármacos segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutico</i>	50
2.4.2 Métodos para avaliação das interações fármaco-nutriente na etapa de absorção do fármaco.....	54
2.4.2.1 <i>Métodos in vitro para avaliação de interações fármaco-nutriente: teste de dissolução</i>	55
2.4.2.2 <i>Métodos in silico para avaliação de interações fármaco-nutriente: modelagem molecular e simulação computacional</i>	56
2.4.2.2.1 Métodos de cálculo utilizados em modelagem molecular	57
2.4.2.2.2 Modelagem molecular de carboidratos	60
3. JUSTIFICATIVA.....	67
4. OBJETIVOS.....	68
4.1 OBJETIVO PRINCIPAL.....	68
4.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS.....	68
5. HIPÓTESES.....	69
6. MATERIAIS E MÉTODOS.....	70
6.1 BUSCA BIBLIOGRÁFICA E REVISÃO SISTEMÁTICA (ARTIGO 1).....	70
6.1.1 Hipolipemiantes.....	70
6.1.2 Hipoglicemiantes.....	70
6.1.3 Anti-hipertensivos	71
6.2 ESCOLHA DOS FÁRMACOS PARA ESTUDOS DE INTERAÇÃO <i>IN VITRO</i> E <i>IN SILICO</i>	71

SUMÁRIO

6.3 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA POR CLAE-UV PARA QUANTIFICAÇÃO DOS FÁRMACOS NOS FLUIDOS GÁSTRICO E INTESTINAL SIMULADO (ARTIGO 2).....	72
6.3.1 Materiais.....	72
6.3.2 Instrumentação.....	73
6.3.3 Métodos.....	73
6.3.3.1 Condições cromatográficas.....	73
6.3.3.2 Preparo de soluções estoque, calibradores e controles de qualidade (CQ).....	74
6.3.3.3 Preparo dos fluidos gastrointestinais.....	74
6.3.3.3.1 Fluido gástrico simulado (FGS) sem enzimas pH 1,2	74
6.3.3.3.2 Fluido intestinal simulado (FIS) sem pancreatina pH 6,8.....	74
6.3.3.4 Validação da metodologia analítica.....	75
6.3.3.4.1 Seletividade.....	75
6.3.3.4.2 Linearidade.....	75
6.3.3.4.3 Efeito matriz.....	76
6.3.3.4.4 Precisão e Exatidão.....	76
6.4 ENSAIO <i>IN VITRO</i> PARA AVALIAÇÃO DA POSSÍVEL INTERAÇÃO ENTRE OS FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS, ATL, HCTZ E LST, COM AS FIBRAS β -GLUCANA DA AVEIA, FIBER MAIS® E PECTINA (ARTIGO 3).....	77
6.4.1 Materiais.....	77
6.4.2 Instrumentação.....	77
6.4.3 Métodos.....	77
6.4.3.1 Preparação dos fluidos gastrointestinais simulados.....	77
6.4.3.2 Preparação das misturas dos fármacos anti-hipertensivos com as fibras dietéticas.....	77
6.4.3.3 Cálculo da porcentagem de fármaco livre.....	78
6.4.3.4 Análise estatística.....	78
6.5 MODELAGEM MOLECULAR E SIMULAÇÃO DE DINÂMICA MOLECULAR DOS SISTEMAS MOLECULARES β -GLUCANA/FÁRMACO (ARTIGO 3).....	79
6.5.1 Programas utilizados.....	79
6.5.2 Dados utilizados para preparação dos sistemas moleculares β -glucana/fármaco.....	79
6.5.2.1 Preparação do sistema molecular β -glucana/ATL.....	79
6.5.2.2 Preparação do sistema molecular β -glucana/HCTZ.....	79
6.5.2.3 Preparação do sistema molecular β -glucana/LST.....	80
6.5.3 Metodologia.....	80
7. RESULTADOS.....	81
7.1 BUSCA BIBLIOGRÁFICA E REVISÃO SISTEMÁTICA (ARTIGO 1).....	81
7.2 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA POR CLAE-UV PARA QUANTIFICAÇÃO DOS FÁRMACOS NOS FLUIDOS GÁSTRICO E INTESTINAL SIMULADOS (ARTIGO 2).....	83
7.2.1 Validação do método analítico.....	85
7.2.1.1 Seletividade.....	85
7.2.1.2 Linearidade.....	90
7.2.1.3 Efeito matriz.....	90

SUMÁRIO

7.2.1.4. <i>Precisão e Exatidão</i>	91
7.3 ENSAIO <i>IN VITRO</i> PARA AVALIAÇÃO DA POSSÍVEL INTERAÇÃO ENTRE OS FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS, ATL, HCTZ E LST, COM AS FIBRAS β -GLUCANA DA AVEIA, FIBER MAIS® E PECTINA (ARTIGO 3).....	95
7.3.1 Efeito das FDs solúveis incubadas em diferentes fluidos gastrointestinais na porcentagem de ATL livre.....	95
7.3.2 Efeito das FDs solúveis incubadas em diferentes fluidos gastrointestinais na porcentagem de HCTZ livre.....	96
7.3.3 Efeito das FDs solúveis incubadas em diferentes fluidos gastrointestinais na porcentagem de LST livre.....	96
7.4 MODELAGEM MOLECULAR E SIMULAÇÃO DE DINÂMICA MOLECULAR DOS SISTEMAS MOLECULARES β -GLUCANA/FÁRMACO (ARTIGO 3).....	98
7.4.1 Otimização geométrica das estruturas moleculares 3D.....	98
7.4.2 Cargas atômicas parciais.....	100
7.4.3 Sistemas moleculares β -glucana/fármaco.....	102
7.4.4 Simulação de dinâmica molecular.....	106
8. DISCUSSÃO	109
8.1 BUSCA BIBLIOGRÁFICA E REVISÃO SISTEMÁTICA.....	109
8.2 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA POR CLAE-UV PARA QUANTIFICAÇÃO DOS FÁRMACOS NOS FLUIDOS GÁSTRICO E INTESTINAL SIMULADOS.....	109
8.3 ENSAIOS <i>IN VITRO</i> E <i>IN SILICO</i> PARA AVALIAÇÃO DA POSSÍVEL INTERAÇÃO ENTRE OS FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS, ATL, HCTZ E LST, COM AS FIBRAS β -GLUCANA DA AVEIA, FIBER MAIS® E PECTINA.....	110
8.4 RELEVÂNCIA DA INTERAÇÃO ENTRE LST E β -GLUCANA PARA A PRÁTICA CLÍNICA.....	116
8.5 LIMITAÇÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	120
9 CONCLUSÕES	122
10 APRESENTAÇÕES EM EVENTOS CIENTÍFICOS	123
10.1 IX SEMINÁRIO DE INTEGRAÇÃO DOS SERVIDORES TÉCNICOS-ADMINISTRATIVOS EM EDUCAÇÃO - SINTAE UFRJ.....	123
10.2 11ª SEMANA DE INTEGRAÇÃO ACADÊMICA – UFRJ.....	124
11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	125
12 ANEXOS	139
ANEXO A – ARTIGO 1.....	139
ANEXO B – ARTIGO 2	149

1 INTRODUÇÃO

*“Que seu remédio seja o seu alimento, e
que seu alimento seja o seu remédio”*

Hipócrates

O conhecimento de que os alimentos podem fornecer benefícios terapêuticos não é novo, porém, mais recentemente, observa-se o aumento do uso de alimentos naturais e saudáveis que está relacionado a um autocuidado do consumidor e a um rápido crescimento do mercado de produtos de saúde e bem-estar. Neste cenário, os alimentos funcionais, que são aqueles que além da sua função nutricional, fornecem benefícios fisiológicos adicionais e que podem reduzir o risco de doenças crônicas, ganham grande importância (HASLER, 2002; HIJOVÁ; BERTKOVÁ; ŠTOFILOVÁ, 2019; SARKAR, 2007).

Dentre os alimentos funcionais, os prebióticos, ingredientes alimentares não digeríveis e nem absorvíveis, como algumas fibras dietéticas (FDs), têm despertado grande interesse dos profissionais de saúde pela forma que afetam benéficamente o paciente, estimulando seletivamente o crescimento e / ou atividade de uma ou um número limitado de bactérias benéficas no cólon (HASLER, 2002; HOLSCHER, 2017).

Embora, seja difícil medir o consumo de prebióticos, pois eles são encontrados em diversos grupos de alimentos e suplementos, além de não haver um teste analítico universalmente acordado para este fim (CARLSON; ERICKSON; LLOYD; SLAVIN, 2018), pode-se observar, principalmente nas duas últimas décadas, um aumento do mercado de alimentos funcionais, especialmente no que diz respeito aos alimentos que contêm prebióticos, cujo o mercado ultrapassou US\$ 4,95 bilhões em 2020 e estima-se que cresça ainda mais, com uma taxa de crescimento anual composta de 10,2% entre 2021 e 2027 (GMI, 2020).

A motivação para a realização deste trabalho veio justamente pelo crescimento do mercado de prebióticos e, conseqüentemente, pelo aumento do consumo das FDs, sobretudo por pessoas que buscam seus benefícios à saúde, principalmente relacionados ao controle das doenças cardiovasculares (DCVs) e seus fatores de risco, como as dislipidemias, *diabetes mellitus*, hipertensão arterial (HA) e obesidade.

1 INTRODUÇÃO

Embora esse aumento no consumo das FDs possa ter efeitos benéficos e esteja associado a efeitos adversos mínimos (NEPALI; SURESH; PIKALE; JHAVERI *et al.*, 2022), a ingestão simultânea desses nutrientes com os medicamentos pode levar a falha terapêutica ou toxicidade, devido a uma interação fármaco-nutriente.

A interação fármaco-nutriente ocorre quando há um desequilíbrio nos nutrientes corporais por ação de um fármaco ou quando o efeito farmacológico esperado é alterado pela ingestão de nutrientes ou pelo estado nutricional do paciente (BOULLATA; HUDSON, 2012). Sua importância cresce principalmente na prática terapêutica das doenças crônicas não-transmissíveis (DCNTs), onde o tratamento é constante e de longa duração, com administração dos medicamentos em diversas doses durante o dia, o que aumenta o risco de ocorrer uma interação deste tipo.

O número de trabalhos que examinam potenciais interações fármaco-nutriente é bastante limitado, sendo estas altamente negligenciadas e desvalorizadas em relação à sua relevância para a saúde pública (SULTAN; EL-SAHN; FETOHY; MOHAMED, 2021). Uma pesquisa no PubMed revelou que o número de estudos publicados que descrevem os potenciais efeitos das interações fármaco-fármaco excede em 100 vezes aqueles que descrevem interações entre medicamentos e nutrientes. Além disso, muitas vezes, os recursos sobre interações fármaco-nutriente que estão prontamente disponíveis para os profissionais de saúde simplesmente repetem as mesmas listas de exemplos obsoletos e raramente fornecem qualquer perspectiva sobre o grau ou a qualidade das evidências (MOHN; KERN; SALTZMAN; MITMESSER *et al.*, 2018).

O estudo das interações fármaco-nutriente é uma área multidisciplinar, onde farmacêuticos, nutricionistas, médicos e enfermeiros precisam estar vigilantes no monitoramento de potenciais interações para aconselhar pacientes sobre o risco de administrar certos medicamentos na presença de alimentos.

Já existem na literatura alguns ensaios *in vitro*, relatos de caso e ensaios clínicos mostrando a interação entre FDs e fármacos das mais diversas classes, como aqueles que agem no sistema nervoso, hipoglicemiantes, hipolipemiantes, antimicrobianos e hormônios (CANGA; MARTÍNEZ; PRIETO; VIEITEZ *et al.*, 2010). Algumas dessas interações são benéficas, porém a maioria, reduz parâmetros

1 INTRODUÇÃO

farmacocinéticos de absorção dos fármacos, como concentração máxima (C_{máx}) e área sob a curva (ASC) de absorção, sendo interações que podem levar a falha terapêutica.

Neste trabalho, inicialmente, realizou-se uma busca bibliográfica de ensaios clínicos que avaliassem a interação entre fármacos hipolipemiantes, hipoglicemiantes e anti-hipertensivos com FDs. Como não foi encontrada nenhuma publicação de ensaios clínicos com os fármacos anti-hipertensivos, objetivou-se avaliar a interação das FDs solúveis com esta classe de fármacos por meio de métodos *in vitro* e *in silico*, para que futuramente esses resultados possam subsidiar um ensaio clínico. Escolhemos os fármacos anti-hipertensivos pertencentes ao Programa “Aqui tem Farmácia Popular” já que são distribuídos gratuitamente e contemplam um grande número de pacientes, tornando uma possível interação mais relevante para a saúde pública.

Já a escolha das FDs está relacionada ao estudo realizado por Khan e colaboradores que mostraram que as fibras solúveis são as principais responsáveis pela diminuição da pressão arterial (PA) (KHAN; JOVANOVSKI; HO; MARQUES *et al.*, 2018). Dentre as fibras solúveis, escolhemos a β -glucana do farelo de aveia; Fiber mais[®], que é uma formulação comercial produzida pela Nestlé[®] e, pectina, que é encontrada naturalmente em frutas cítricas, pelo grande consumo dessas fibras pela população brasileira e por serem FDs que as nutricionistas costumam indicar em suas dietas.

Para a quantificação dos fármacos anti-hipertensivos nos ensaios *in vitro*, foi necessário desenvolver e validar um método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de ultravioleta (CLAE-UV). Embora existam metodologias simultâneas para determinação desses fármacos descritas na literatura, nenhuma delas utilizou como matriz fluidos gastrointestinais simulados e apresentou as FDs como possíveis interferentes da análise.

Após o ensaio *in vitro* e a análise das possíveis interações, sucedeu-se os experimentos *in silico*, com modelagem e simulações de dinâmica molecular para avaliar as interações intermoleculares envolvidas nos sistemas β -glucana/fármacos. Esses experimentos têm particular importância devido à dificuldade de se modelar as FDs e pela inovadora aplicação da modelagem de carboidratos para avaliar uma interação fármaco-nutriente.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

2.1 FIBRAS DIETÉTICAS – DEFINIÇÃO, CLASSIFICAÇÃO E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Várias definições para o termo FD são usadas pelos órgãos competentes em todo o mundo. Inicialmente, a definição era puramente fisiológica e botânica, descrevendo-as como componentes não digeríveis que compõem a parede celular das plantas. Mais tarde, critérios químicos e relacionados à saúde foram incluídos para aprimorar as definições já publicadas e gradualmente expandir a natureza das substâncias incluídas (LUNN; BUTTRISS, 2007).

Em 2009, o CODEX/FAO (*Food and Agriculture Organization of United Nations*) publicou sua definição resultante de quase duas décadas de discussão entre cientistas e delegados das nações membros. A missão CODEX foi promover a harmonização internacional, buscando uma definição com aceitação mundial. Desde sua publicação, muitos países adotaram definições alinhadas e passaram a utilizá-las como base para qualquer reclamação relacionada a teor de fibras (JONES, 2014).

Assim, segundo o Codex Alimentarius (2017), as FDs são polímeros de carboidratos com 10 ou mais unidades monoméricas, que não são hidrolisados pelas enzimas endógenas no intestino delgado de humanos e pertencem a uma das seguintes categorias:

- Polímeros de carboidratos que ocorrem naturalmente nos alimentos consumidos;
- Polímeros de carboidratos, obtidos a partir de matérias-primas alimentares por meios químicos, físicos ou enzimáticos e, que demonstram ter um efeito fisiológico benéfico à saúde, conforme demonstrado por evidências científicas geralmente aceitas pelas autoridades competentes;
- Polímeros de carboidratos sintéticos que têm um efeito fisiológico benéfico à saúde, conforme demonstrado por evidências científicas geralmente aceitas pelas autoridades competentes (CODEX ALIMENTARIUS, 2017).

Existe uma certa flexibilidade na definição de fibra, segundo a qual, as autoridades nacionais podem tomar a decisão de incluir carboidratos com três a nove unidades monoméricas, em vez de restringir a apenas dez (GILL; ROSSI; BAJKA;

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

WHELAN, 2021). O Brasil inclui na sua definição, carboidratos não digeríveis com mais de três unidades monoméricas (JONES, 2014).

As propriedades químicas, físicas e funcionais das FDs são usadas para classificá-las em dois tipos: solúveis e insolúveis. FDs solúveis são aquelas que se dissolvem em água e formam uma substância gelatinosa que é fermentada no intestino grosso. FDs insolúveis são aquelas que não formam géis viscosos. Elas absorvem água e se movem de maneira inerte através do trato gastrointestinal (TGI), sofrendo pouca fermentação (SATIJA; HU, 2012).

A classificação solúvel normalmente inclui FDs como as hemiceluloses, pectinas, gomas e mucilagens, enquanto, celulose, lignina e amido resistente são considerados exemplos de FDs insolúveis. Entretanto, dependendo da fonte vegetal e grau de processamento pós-colheita, muitas dessas fibras podem variar entre solúveis e insolúveis (WILLIAMS; MIKKELSEN; FLANAGAN; GIDLEY, 2019).

As principais fontes de fibras solúveis são as frutas e vegetais, enquanto de fibras insolúveis são os cereais e grãos integrais. No entanto, a maioria dos alimentos naturalmente ricos em FDs contém quantidades variáveis de fibras solúveis e insolúveis (BARBER; KABISCH; PFEIFFER; WEICKERT, 2020).

As FDs podem exercer efeitos locais, ou seja, no próprio TGI, ou sistêmicos. Os efeitos locais ocorrem devido a formação de géis no estômago e intestino. Acredita-se que esse seja o mecanismo pelo qual as fibras solúveis retardam o esvaziamento gástrico, e aceleram o trânsito intestinal, o que leva a absorção lenta de nutrientes, como a glicose (JAMES; MUIR; CURTIS; GIBSON, 2003).

Os efeitos sistêmicos ocorrem devido a formação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), principalmente acetato, butirato e propionato, que são os produtos finais da fermentação no cólon, juntamente com dióxido de carbono (CO₂) e hidrogênio (H₂) (Figura 1). Os AGCC, especialmente butirato, são metabolizados pelo epitélio colônico e são seu principal substrato de energia. O butirato tem vários efeitos na promoção da saúde, incluindo indução da diferenciação de células epiteliais do cólon, supressão da proliferação epitelial e supressão da tumorigênese. Acetato e propionato são utilizados pelo coração e fígado, respectivamente. Os íons de H₂ reduzem o pH luminal, estimulam a reabsorção de água e sódio e potencializam a

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

absorção de cátions divalentes (Figura 2) (GILL; ROSSI; BAJKA; WHELAN, 2021; JAMES; MUIR; CURTIS; GIBSON, 2003; PERIS; LESMES; CUERDA; ALVAREZ, 2002; WILLIAMS; MIKKELSEN; FLANAGAN; GIDLEY, 2019).

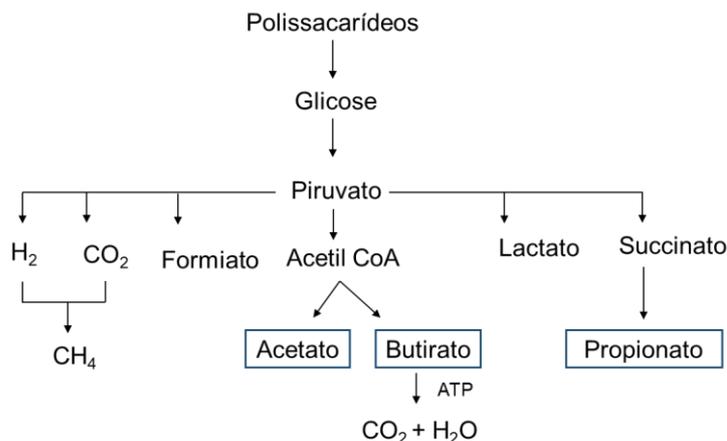


Figura 1. Fermentação bacteriana das FDs. Adaptado de PERIS, LESMES, CUERDA, ALVAREZ, 2002.

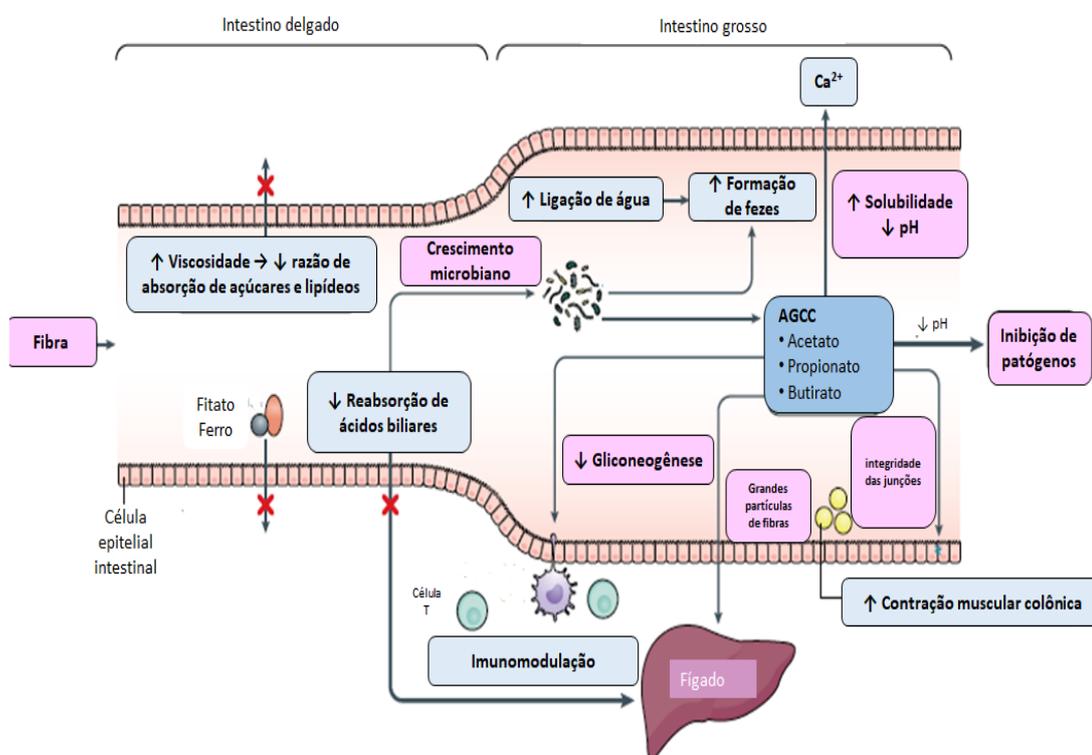


Figura 2. Mecanismos pelos quais diferentes FDs afetam o TGI. Onde: AGCC, ácidos graxos de cadeia curta. Retirado de GILL; ROSSI; BAJKA; WHELAN, 2021.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

Inicialmente, concentrava-se a importância das FDs na quantidade que deveria ser ingerida. Hoje, cada vez mais, sabe-se que as propriedades físico-químicas (tamanho, viscosidade, área superficial, propriedades de hidratação, capacidade de adsorção/ligação de íons e moléculas orgânicas), a fermentação e o destino durante o trânsito intestinal são mais importantes para determinar seus efeitos fisiológicos (GUILLON; CHAMP, 2000). A junção entre as três principais características das FDs, solubilidade, viscosidade e fermentabilidade, formam um *continuum* e trabalham em conjunto para determinar suas propriedades funcionais no TGI (Figura 3) (GILL; ROSSI; BAJKA; WHELAN, 2021).

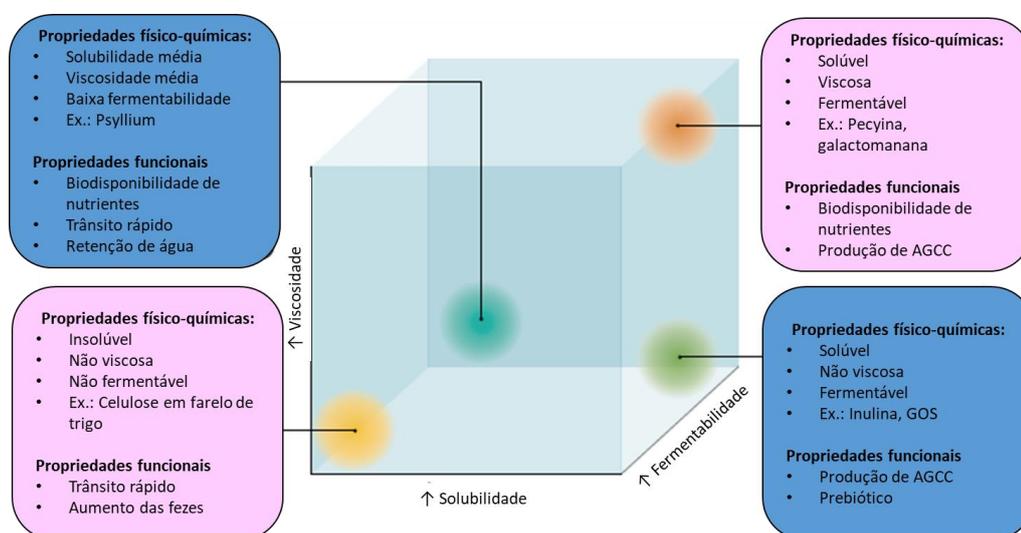


Figura 3. Espectro das características físico-químicas e propriedades funcionais das FDs. Onde: AGCC, ácidos graxos de cadeia curta; GOS, galacto-oligosacarídeos. Retirado de GILL; ROSSI; BAJKA; WHELAN, 2021.

Existe uma associação inversa entre a ingestão de FDs e risco de DCVs, de maneira que o consumo regular das FDs pode melhorar a saúde cardiovascular por meio de múltiplos mecanismos incluindo redução de lipídeos, regulação do peso corporal, melhora no metabolismo de glicose, controle da PA e redução da inflamação crônica (PEREIRA; PINS, 2000; REYNOLDS; AKERMAN; KUMAR; DIEP PHAM *et al.*, 2022; SATIJA; HU, 2012) (Figura 4). Embora tanto as fibras solúveis quanto as insolúveis causem um aumento na distensão do estômago, que por sua vez, aumenta a saciedade e pode desempenhar um papel na regulação do peso corporal, a fibra solúvel está

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

diretamente relacionada às propriedades hipolipemiantes, hipoglicemiantes e hipotensivas, enquanto a insolúvel está associada, principalmente, ao aumento de volume fecal e seus mecanismos relacionados às DCVs não são muito claros (SATIJA; HU, 2012).

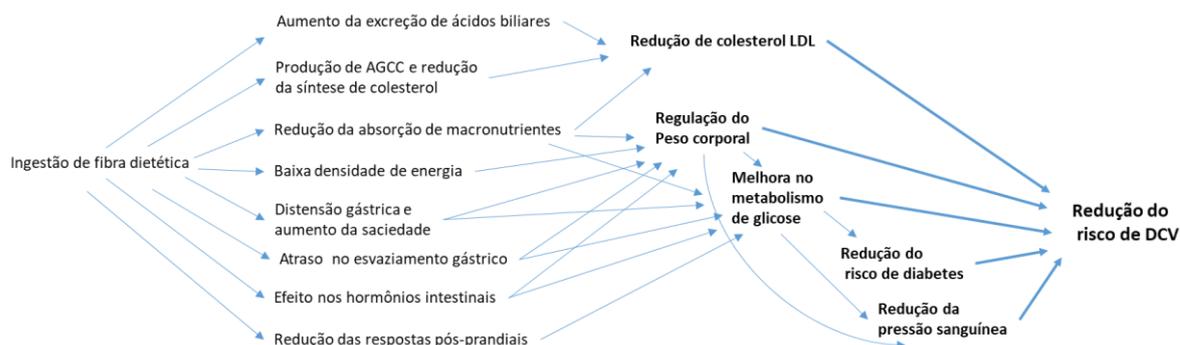


Figura 4. Mecanismo proposto para a associação inversa entre ingestão de FDs e risco de DCVs. Retirado de SATIJA; HU, 2012.

2.2 HIPERTENSÃO ARTERIAL

A HA é uma condição multifatorial, que depende de fatores genéticos/epigenéticos, ambientais e sociais. É caracterizada pela elevação persistente da PA, ou seja, PA sistólica (PAS) maior ou igual a 140 mmHg e/ou PA diastólica (PAD) maior ou igual a 90 mmHg, medida com a técnica correta, em pelo menos duas ocasiões diferentes, na ausência de medicação anti-hipertensiva. (BARROSO; RODRIGUES; BORTOLOTTI; MOTA-GOMES *et al.*, 2021).

Estima-se que 1,28 bilhões de adultos com idades entre 30-79 anos em todo o mundo tenham HA, a maioria (dois terços) vivendo em países de baixa e média renda (WHO, 2021). Embora seja de fácil diagnóstico e com um tratamento eficaz, a HA é uma condição frequentemente assintomática e costuma evoluir com alterações estruturais e/ou funcionais em órgãos-alvo, como coração, cérebro, rins e vasos. Ela é o principal fator de risco modificável com associação independente, linear e contínua para DCVs, doença renal crônica e morte prematura (BARROSO; RODRIGUES; BORTOLOTTI; MOTA-GOMES *et al.*, 2021; LIP; COCA; KAHAN; BORIANI *et al.*, 2017).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

O tratamento da HA pode ser dividido em não medicamentoso e medicamentoso. O tratamento não medicamentoso está relacionado com alterações no estilo de vida e algumas condutas que são recomendadas com relação ao tabagismo, padrão alimentar, perda de peso, consumo de bebidas alcoólicas, atividade e exercício físicos, respiração, controle de estresse, espiritualidade e religiosidade (BARROSO; RODRIGUES; BORTOLOTTI; MOTA-GOMES *et al.*, 2021). Essa alteração no estilo de vida é considerada a medida inicial para o tratamento da HA (WHELTON; HE; APPEL; CUTLER *et al.*, 2002).

Com relação ao padrão alimentar, recomenda-se a dieta DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*) (SANEELI; SALEHI-ABARGOUEI; ESMAILLZADEH; AZADBAKHT, 2014) que prioriza o consumo de frutas, verduras e grãos integrais (SACKS; SVETKEY; VOLLMER; APPEL *et al.*, 2001) e, por isso, é rica em FDs (APPEL; MOORE; OBARZANEK; VOLLMER *et al.*, 1997), que contribuem para a redução da PA.

A maioria dos pacientes hipertensos, porém, necessitará de fármacos em adição às modificações do estilo de vida para alcançar a meta pressórica. O tratamento medicamentoso pode ser por monoterapia, mas a maioria dos pacientes utiliza uma combinação de fármacos como estratégia principal, independentemente do estágio da HA e do risco cardiovascular associado. Dentre as classes de fármacos anti-hipertensivos, cinco são consideradas principais – diuréticos (DIU), bloqueadores dos canais de cálcio (BCC), inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA), bloqueadores dos receptores da angiotensina II (BRA) e betabloqueadores (BB) – por demonstrarem reduções significativas da PA (BARROSO; RODRIGUES; BORTOLOTTI; MOTA-GOMES *et al.*, 2021).

2.2.1 Fármacos anti-hipertensivos no Programa “Aqui Tem Farmácia Popular”

O Programa Farmácia Popular do Brasil foi criado em 13 de abril de 2004, pela Lei nº 10.858, e regulamentado pelo Decreto nº 5.090, de 20 de maio de 2004, com o objetivo de oferecer à população mais uma alternativa de acesso aos medicamentos considerados essenciais. Inicialmente, contava com unidades próprias que funcionavam em parceria com governos estaduais, prefeituras municipais e instituições públicas, mas, em 2006, o Programa foi expandido, aproveitando a rede

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

instalada do comércio varejista, recebendo o nome “Aqui Tem Farmácia Popular”. Em 2017, as farmácias da rede própria foram desabilitadas, mas o fornecimento de medicamentos por meio das drogarias continua até hoje. Além dos medicamentos gratuitos para hipertensão, diabetes e asma, o Programa oferece mais 11 itens, entre medicamentos e fralda geriátrica, com preços até 90% mais baratos utilizados no tratamento de dislipidemia, rinite, mal de Parkinson, osteoporose e glaucoma, além de contraceptivos (MS, 2021).

Dentre os fármacos para hipertensão, fazem parte desse Programa: atenolol (ATL), captopril, cloridrato de propranolol, hidroclorotiazida (HCTZ), losartana potássica (LST) e maleato de enalapril.

2.2.1.1 Atenolol

ATL (Figura 5) é um fármaco hidrofílico, cardioseletivo, bloqueador dos receptores β -adrenérgicos e com propriedades anti-hipertensivas

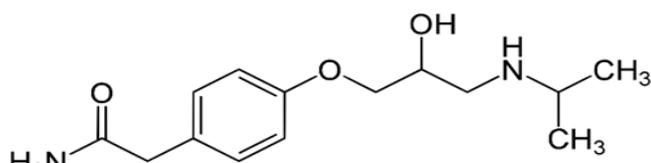


Figura 5. Estrutura química do fármaco ATL

(WAN; KODA; MARONDE, 1979). Ele tem peso molecular de 266,33; pKa (negativo do logaritmo da constante de dissociação ácida) de 9,6, Log P de 0,2 e apresenta alta solubilidade e baixa permeabilidade intestinal sendo classificado como um fármaco de classe 3 no Sistema de Classificação Biofarmacêutico (SCB) (YANG; FAUSTINO; VOLPE; ELLISON *et al.*, 2007).

Primeiramente, acreditava-se que o ATL era absorvido somente por difusão passiva no intestino delgado, tendo absorção incompleta e altamente variável (LENNERNAS; AHRENSTEDT; UNGELL, 1994), mas a partir de observações de que a absorção era diminuída na presença dos sucos de maçã e laranja, sabe-se, hoje, que o transportador de cátions orgânicos OCT1/SLC22A1 está envolvido na absorção do mesmo (MIMURA; YASUJIMA; OHTA; INOUE *et al.*, 2015). Estudos *in vitro* em células Caco-2 ou linhagens transfectadas com glicoproteína P (Pgp), mostram que ATL não é substrato dessa glicoproteína (CHEN; SLÄTTENGREN; DE LANGE; SMITH *et al.*, 2017; DOPPENSCHMITT; SPAHN-LANGGUTH; REGÅRDH; LANGGUTH, 1999).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

No plasma, apenas 3% do ATL se ligam às proteínas e a concentração máxima após uma única dose é observada em aproximadamente 3 h (intervalo de 2 a 4 h). Cerca de 5-10% do fármaco é biotransformado pelo fígado, sendo praticamente excretado completamente inalterado pelos rins. Após a administração oral, a meia-vida de eliminação do ATL é calculada de 6 a 9 h por diferentes autores (KIRCH; GÖRG, 1982).

2.2.1.2 Hidroclorotiazida

O fármaco HCTZ (Figura 6) é um diurético do tipo tiazídico que tem sido amplamente usado para tratar a HA em todo o mundo, sendo relativamente seguro. Ele atua nos túbulos contorcidos distais

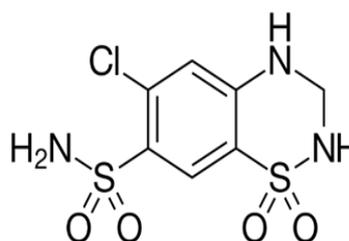


Figura 6. Estrutura química do fármaco HCTZ

e inibe o sistema co-transportador de cloreto de sódio. Isto leva a uma ação diurética que reduz a PA, mas também há uma perda de nutrientes como potássio, zinco, magnésio e riboflavina por maior excreção na urina (HERMAN; BASHIR, 2021).

HCTZ tem peso molecular de 297, 7; dois possíveis locais de ionização, tendo, assim, dois valores de pKa, 7,9 e 9,2 e LogP de -0,1, além de ter baixa solubilidade e baixa permeabilidade, sendo considerada um fármaco de classe 4, de acordo com o SCB (NDINDAYINO; VERVAET; VAN DEN MOOTER; REMON, 2002).

Após administração oral, a maior parte da sua absorção ocorre no duodeno e parte superior do jejuno e a concentração máxima é alcançada entre 1-2 h. Sua biodisponibilidade varia entre 60% e 80% e cerca de 95% da dose administrada é excretada inalterada pelos rins (BEERMANN; GROSCHINSKY-GRIND; ROSÉN, 1976).

O declínio nas concentrações plasmáticas ocorre de maneira bifásica, exibindo uma rápida queda inicial até cerca de 12 h e depois um decaimento a uma taxa mais lenta com tempos de meia vida de 2,2 h e 8-10 h (BARBHAIYA; CRAIG; CORRICK-WEST; WELLING, 1982; BEERMANN; GROSCHINSKY-GRIND, 1980). O mecanismo relacionado à essa eliminação bifásica ainda não está claro, mas

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

provavelmente está relacionado à liberação lenta do fármaco dos tecidos. HCTZ se acumula nos eritrócitos, mas o equilíbrio entre o plasma e essas células é alcançado 4 h após a administração da dose (BEERMANN; GROSCHINSKY-GRIND, 1980).

2.2.1.3 Losartana Potássica

LST (Figura 7) é o sal de losartana, que foi o primeiro de uma nova classe de fármacos orais, antagonistas não-peptídicos dos receptores de angiotensina II (tipo AT1), com atividade anti-hipertensiva. Ele se liga seletivamente e competitivamente ao receptor de angiotensina II, promovendo dilatação e neutralizando os efeitos da aldosterona e, demonstrou ser superior aos antagonistas peptídicos anteriores e aos IECAs devido à sua especificidade, seletividade e tolerabilidade (SCHOENBERGER, 1995). O tratamento com LST causa um aumento na excreção urinária de zinco e pode induzir a deficiência deste nutriente em pacientes com hipertensão (KOREN-MICHOWITZ; DISHY; ZAIDENSTEIN; YONA *et al.*, 2005).

LST tem peso molecular de 422,91; um valor de pKa na faixa de 4-5, Log P de 4,3 e apresenta solubilidade aquosa de 3,3 mg/mL em pH 7,8 (BONFILIO; MENDONÇA; PEREIRA; ARAÚJO *et al.*, 2010; WILLIAMS; ALASANDRO; FASONE; BOUCHER *et al.*, 1996). Como LST apresenta alta

solubilidade e baixa permeabilidade é considerada um fármaco de classe 3 no SCB (BONFILIO; MENDONÇA; PEREIRA; ARAÚJO *et al.*, 2010).

Embora não se conheça o local específico do intestino delgado em que ocorre a absorção da LST em humanos (SICA; GEHR; GHOSH, 2005), após sua administração oral, ela é rapidamente absorvida, alcançando concentração máxima em cerca de 1-1,5 h.

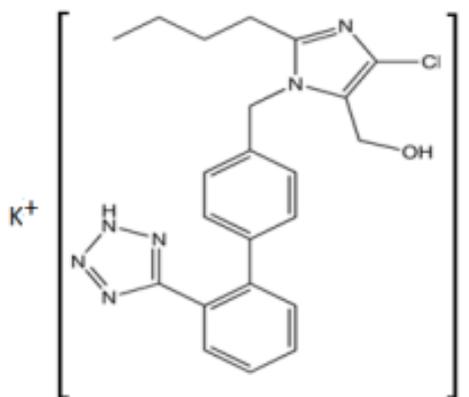


Figura 7. Estrutura química do fármaco LST

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

LST sofre extensa biotransformação pelo citocromo P450 (CYP), principalmente isoenzimas 3A4 e 2C9 e cerca de 14% da dose administrada é convertida em seu produto de biotransformação farmacologicamente ativo E 3174, que é de 10 a 40 vezes mais potente que a LST e que tem tempo de meia vida estimado de 6-9 h, enquanto o tempo de meia vida da LST é de 1,5-2,5 h (ISRAILI, 2000; SICA; GEHR; GHOSH, 2005). Ela também é conjugada ao seu metabólito tetrazol-N2-glucuronídeo durante a absorção intestinal em ratos. Essa glucuronidação ocorre no duodeno e jejuno (KRIETER; COLLETTI; MILLER; STEARNS, 1995; LO; GOLDBERG; MCCREA; LU *et al.*, 1995).

A LST apresenta biodisponibilidade oral variável e baixa (aproximadamente 33%) e isto pode ser causado pela combinação de absorção incompleta e metabolismo de primeira passagem (LO; GOLDBERG; MCCREA; LU *et al.*, 1995; SICA; GEHR; GHOSH, 2005). Além desses fatores, o transporte ativo intestinal da LST da mucosa da célula de volta para o lúmen intestinal realizado pela Pgp também pode contribuir para essa variável e baixa biodisponibilidade. Seu produto de biotransformação E 3174 não é substrato de Pgp (SOLDNER; BENET; MUTSCHLER; CHRISTIANS, 2000).

2.2.2 Quantificação de ATL, HCTZ e LST por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a detector de ultravioleta (CLAE-UV)

A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, realizada por meio da distribuição desses componentes em duas fases, que estão em contato íntimo. Uma das fases permanece estacionária, enquanto a outra se move através dela. Durante a passagem da fase móvel (FM) sobre a fase estacionária (FE), os componentes da mistura são distribuídos pelas duas de tal forma que cada um deles é seletivamente retido pela FE, o que resulta em migrações diferenciais e separação dos mesmos. Após a separação, os componentes da amostra passam por um detector que gera um sinal que depende da concentração e do tipo de analito (COLLINS; BRAGA; BONATO, 1990).

Na cromatografia líquida, a FM é líquida e a FE, sólida. Para que ela ocorra é necessário que a amostra seja solúvel na FM e que tenha uma possível interação com a FE (CIOLA, 1998). A cromatografia líquida pode ser dividida em clássica, quando a FM

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

é arrastada através da coluna apenas por força da gravidade e, cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), quando utiliza FE de partículas menores, sendo necessário o uso de uma bomba de alta pressão para eluição da FM (AMORIM, 2019).

A CLAE tem a capacidade de realizar separações e análises quantitativas de uma grande quantidade de compostos presentes em vários tipos de amostras, em escala de tempo de poucos minutos, com alta resolução, eficiência e sensibilidade. A versatilidade desta técnica reside no grande número de FEs existentes, as quais possibilitam análises e separações de uma ampla gama de compostos (AMORIM, 2019).

O detector mais utilizado para separações por CLAE é o detector espectrofotométrico que mede as variações na absorção da luz na região de 190 a 370 nm (ultravioleta) e de 370 a 700 nm (visível), sendo usado somente para substâncias que absorvem no ultravioleta-visível (UV-Vis). Ele possui alta sensibilidade; não é destrutivo; permite trabalhar com gradiente; responde à larga faixa de concentração; além de ser relativamente insensível à variação de temperatura e vazão da fase móvel.

Já existem alguns métodos utilizando CLAE-UV que descrevem a determinação simultânea de ATL, HCTZ e LST (ESWARUDU; SAKHEENA; LAHARI; BABU et al., 2021; NEELIMA; GANDHI; RAJU; SUMANTH et al., 2016; PARTHIBAN; BHAGAVAN RAJU; SUDHAKAR, 2011; SHARMA; KHANNA; MISHRA, 2013; TENGLI; GURUPADAYYA, 2013; THOMAS; CHAVAN; NANDA; KOTHAPALLI et al., 2010; YADAV; RAO, 2014), porém esses métodos foram desenvolvidos e validados para quantificação desses fármacos em diferentes formas farmacêuticas e, não, em fluidos gastrointestinais (FGIs) simulados com o objetivo de avaliar interações fármaco-nutriente.

2.2.2.1 Validação de método analítico para quantificação de fármacos

A validação é a confirmação por exame (avaliação sistemática de um método por meio de ensaios experimentais) e fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido são atendidos (ANVISA, 2017). Seu objetivo é demonstrar que um método analítico, nas condições em que é praticado, tem as características necessárias para a obtenção de resultados com a qualidade exigida (INMETRO, 2016).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

Os parâmetros a serem considerados para a validação dependem do ensaio a ser realizado. Para doseamento (quantificação) de fármacos em ensaios de dissolução são necessários avaliar a seletividade, linearidade, intervalo, exatidão e precisão (repetibilidade e precisão intermediária) do método (ANVISA, 2017).

2.3 FIBRAS DIETÉTICAS NA HIPERTENSÃO ARTERIAL

Os efeitos das FDs na PA têm sido bem menos estudados do que seu papel no metabolismo de colesterol e glicose, porém já foram publicadas algumas revisões sistemáticas sobre este tema (EVANS; GREENWOOD; THREAPLETON; CLEGHORN *et al.*, 2015; KHAN; JOVANOVSKI; HO; MARQUES *et al.*, 2018; STREPPPEL; ARENDS; VAN'T VEER; GROBBEE *et al.*, 2005; WHELTON; HYRE; PEDERSEN; YI *et al.*, 2005).

Em 2005, duas metanálises de ensaios clínicos randomizados, analisaram os efeitos das FDs na redução da PA. Streppel e colaboradores incluíram em seu estudo ensaios que utilizaram tanto fibras solúveis quanto insolúveis e que incluíam pessoas normotensas e hipertensas e encontraram uma redução de 1,13 mmHg na PAS e 1,26 mmHg na PAD (STREPPPEL; ARENDS; VAN'T VEER; GROBBEE *et al.*, 2005). Já Whelton e colaboradores, também incluíram fibras solúveis e insolúveis de diversas fontes, mas avaliaram a redução da PA de duas maneiras: incluindo estudos com pessoas normotensas e hipertensas e também separando as duas categorias. Quando ensaios com pessoas normotensas e hipertensas foram avaliados juntos, a redução foi de 1,15 mmHg para a PAS e 1,65 mmHg para a PAD (WHELTON; HYRE; PEDERSEN; YI *et al.*, 2005). Embora essa diminuição pareça ser pequena, ela pode ter grande impacto no número de eventos cardiovasculares evitados, pois uma redução de 2 mmHg na PAD poderia resultar em um decréscimo de 17% na prevalência de HA, bem como uma redução de 6% no risco de doenças coronarianas e 15% em acidentes vasculares encefálicos e ataques isquêmicos transitórios (COOK; COHEN; HEBERT; TAYLOR *et al.*, 1995). Quando Whelton e colaboradores levaram em consideração apenas ensaios com pessoas hipertensas, a redução na PA foi bem mais significativa com 5,95 mmHg para PAS e 4,20 mmHg para PAD.

Dez anos depois, uma nova metanálise de ensaios clínicos randomizados foi publicada e encontrou uma redução de 0,9 mmHg para PAS e 0,7 mmHg para PAD

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

quando todos os tipos de FDs foram incluídos na análise. Porém, esse trabalho categorizou as fibras em 7 tipos e, quando a análise levou em conta somente as dietas ricas em β -glucana, a redução foi de 2,9 mmHg para PAS e 1,5 mmHg para PAD (EVANS; GREENWOOD; THREAPLETON; CLEGHORN *et al.*, 2015). Essa foi a primeira evidência de um efeito particularmente benéfico da β -glucana sobre a PA.

Em 2018, Khan e colaboradores também realizaram uma metanálise, porém avaliando o efeito somente das fibras solúveis na PA e observou uma redução de 1,59 mmHg na PAS e 0,39 mmHg na PAD. Quando os estudos foram categorizados pelo tipo de fibra, somente aqueles que utilizaram a fibra *psyllium* mostrou uma redução significativa na PAS de 2,39 mmHg (KHAN; JOVANOVSKI; HO; MARQUES *et al.*, 2018).

O mecanismo pelo qual as fibras solúveis exercem seu efeito hipotensor ainda não é completamente entendido, porém acredita-se que esteja relacionado a efeitos indiretos, como a redução de peso corporal (SOLUM; RYTTIG; SOLUM; LARSEN, 1987) e melhora na função endotelial devido à redução nos níveis de colesterol (ANDERSON; MEREDITH; YEUNG; FREI *et al.*, 1995) e pela modulação do metabolismo da insulina (KATAKAM; UJHELYI; HOENIG; MILLER, 1998).

Como a HA é uma condição levemente inflamatória e a microbiota intestinal saudável pode diminuir a inflamação, mais recentemente, a ideia de uma correlação entre microbiota intestinal e HA tem sido extensivamente estudada (NEPALI; SURESH; PIKALE; JHAVERI *et al.*, 2022).

2.3.1 β -glucana proveniente da aveia

A β -glucana da aveia é um homopolissacarídeo linear de monômeros de D-glicose unidos por ligações glicosídicas β -(1 \rightarrow 4) e β -(1 \rightarrow 3) (Figura 8). A estrutura apresenta blocos consecutivos de glicose ligados β -(1 \rightarrow 4), isto é, segmentos de celulose oligomérica, que são separados por uma única ligação β (1 \rightarrow 3). Embora, cerca de 90% dos segmentos de celulose sejam trímeros e tetrâmeros, oligossacarídeos celulósicos mais longos também estão presentes nas cadeias poliméricas. A proporção de trissacarídeos:tetrassacarídeos na β -glucana da aveia é tipicamente 2:1, que é

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

diferente daquela encontrada nas β -glucanas da cevada (3: 1) e trigo (4: 1) (MEJÍA; DE FRANCISCO; BOHRER, 2020; WANG; ELLIS, 2014).

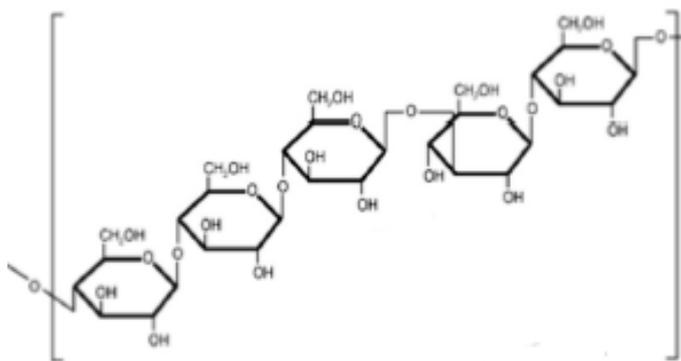


Figura 8. Estrutura química da β -glucana da aveia. Retirada de DU; MEENU; LIU; XU, 2019.

O peso molecular e a conformação da β -glucana da aveia são importantes porque podem determinar, em grande parte, muitas das outras propriedades físicas, incluindo a solubilidade, viscosidade em solução e propriedades de viscoelasticidade e gelificação. A β -glucana da aveia, como todos os outros polissacarídeos naturais, tem uma distribuição de peso molecular que é polidisperso. Isso significa que, em vez de um valor único (como nas proteínas), uma ampla distribuição de peso molecular existe em cada amostra de polímero. O peso molecular da β -glucana no grão de aveia comum (*Avena sativa* L.), que é a principal espécie comercial, é influenciada pela variedade e condições de cultivo, além de ser resultado de diferenças nas condições usadas para extração e purificação do polissacarídeo e está na faixa de 200.000 a 300.000 Dalton (Da) (MEJÍA; DE FRANCISCO; BOHRER, 2020; WANG; ELLIS, 2014).

Muito do interesse no uso das β -glucanas de cereais se originou a partir do seu uso como FD funcional e vários ensaios clínicos vem testando seus efeitos sobre a saúde e tentando esclarecer os mecanismos relacionados. Em 1997, o FDA (*Food and Drug Administration*) aprovou uma alegação de saúde sugerindo o consumo de 3 g por

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

dia de β -glucana da aveia para reduzir o colesterol e diminuir o risco de doenças coronarianas (BARSANTI; PASSARELLI; EVANGELISTA; FRASSANITO *et al.*, 2011).

2.3.2 Fiber mais[®]

É um mix de 100% FDs solúveis contendo 60% de goma guar parcialmente hidrolisada (GGPH) e 40% de inulina (extraída de chicória).

A goma guar é uma galactomanana neutra em forma de gel que é obtida do endosperma do feijão *Cyamopsis tetragonolobus* L.. Com um peso molecular de 200.000-300.000 Da, sua estrutura química é baseada em uma longa cadeia principal linear de unidades de D-manopirranose unidas em β (1 \rightarrow 4), a qual se ligam, por ligações α (1 \rightarrow 6) aos resíduos de D-galactopirranose. A proporção manose:galactose é 2:1 (Figura 9). Em sua forma purificada é apresentada como um pó branco, e quando hidratada forma uma solução coloidal com alta viscosidade (2.000-3.000 mPa.s), sendo estável a mudanças de pH (CANTÓN BLANCO; FERNÁNDEZ LÓPEZ; LUGO RODRÍGUEZ; MARTÍNEZ OLMOS *et al.*, 2017; YOON; CHU; JUNEJA, 2008).

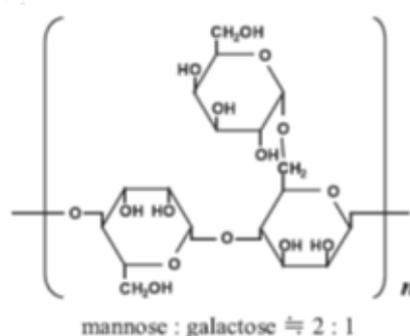


Figura 9. Estrutura química da goma guar. Retirado de YOON; CHU; JUNEJA, 2008.

GGPH é obtida por hidrólise enzimática controlada da goma guar, por meio da enzima endo- β -mananase, que quebra a molécula de galactomanana deixando os grupos galactosilos intactos. O produto obtido a partir desta hidrólise é então separado, purificado, seco e pulverizado. É um pó branco, solúvel em água e quase insípido cujo peso molecular varia de 1.000 a 100.000 Da (média de 20.000). Preserva as propriedades metabólicas, nutricionais e analíticas da goma guar e na água forma

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

uma solução transparente e de baixa viscosidade (<10 mPa.s). É estável e solúvel em diferentes valores de pH (CANTÓN BLANCO; FERNÁNDEZ LÓPEZ; LUGO RODRÍGUEZ; MARTÍNEZ OLMOS *et al.*, 2017; YOON; CHU; JUNEJA, 2008).

A inulina é um polissacarídeo composto por unidades de frutose β -(2 \rightarrow 1) ligadas a uma unidade de glicose terminal. Sua fórmula geral é representada por GF_n, onde G é a unidade terminal de glicose, F representa os resíduos de frutose e n é o número de unidades de frutose (Figura 10). O comprimento dessas cadeias de frutose varia de 2 a 60 monômeros, com peso molecular na faixa de 3500 a 5500 Da (LEYVA-PORRAS; LÓPEZ-PABLOS; ALVAREZ-SALAS; PÉREZ-URIZAR *et al.*, 2015). A inulina contendo no máximo 10 unidades de frutose também é conhecida como oligofrutose. É mais solúvel e doce e pode ser utilizada como substituta da sacarose. A inulina de cadeia mais longa é menos solúvel, mais viscosa e termoestável, sendo usada principalmente como substituta de gordura e modificador de textura. Inulina e oligofrutose são utilizadas como FD e prebióticos em alimentos funcionais (MENSINK; FRIJLINK; VAN DER VOORT MAARSCHALK; HINRICHS, 2015).

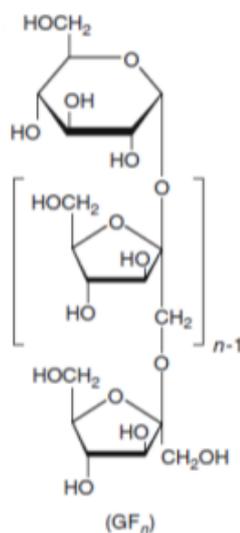


Figura 10. Estrutura química da inulina. G é a unidade terminal de glicose, F representa os resíduos de frutose e n é o número de unidades de frutose. Retirada de LEYVA-PORRAS; LÓPEZ-PABLOS; ALVAREZ-SALAS; PÉREZ-URIZAR *et al.*, 2015.

As propriedades da inulina são influenciadas pelo seu grau de polimerização que, por sua vez, depende da fonte da planta, época de colheita,

duração e condições de armazenamento pós-colheita e pelo processamento da mesma. A inulina pode ser caracterizada de acordo com o tamanho molecular das cadeias, isto é, expressando o grau de polimerização em termos do número total de unidades de frutose que formam a molécula (LEYVA-PORRAS; LÓPEZ-PABLOS; ALVAREZ-SALAS; PÉREZ-URIZAR *et al.*, 2015; MENSINK; FRIJLINK; VAN DER VOORT MAARSCHALK; HINRICHS, 2015).

2.3.3 Pectina

As pectinas são macromoléculas complexas e heterogêneas que estão entre os componentes das paredes celulares dos vegetais. Elas são formadas por uma cadeia linear de ácido galacturônico ligado em α (1 \rightarrow 4) (Figura 11), com grau variável de grupos carboxilas metil esterificados, a qual estão ligados dezessete diferentes monossacarídeos, organizados em polissacarídeos distintos, a partir de mais de vinte diferentes ligações, agrupados em diferentes tipos de cadeia, constituídas por ácidos urônicos, hexoses, pentoses e metilpentoses. Três principais cadeias são formadas: homogalacturonana, ramnogalacturonana I e ramnogalacturonana II (Figura 12). Sua diversidade de composição e arranjo molecular ampliam suas propriedades físico-químicas e aplicações tecnológicas. Elas são extensivamente utilizadas na indústria alimentícia como agentes gelificantes (CANTERI; MORENO; WOSIACKI; SCHEER, 2012; FRACASSO; PERUSSELLO; CARPINE; DE OLIVEIRA PETKOWICZ *et al.*, 2018; MOURA, 2015; VENZON; CANTERI; GRANATO; JUNIOR *et al.*, 2015).

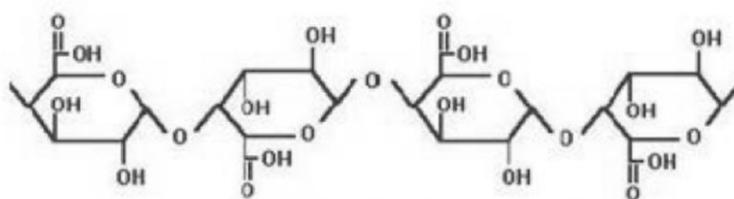


Figura 11. Estrutura química da pectina. Retirada de CANTERI; MORENO; WOSIACKI; SCHEER, 2012.

O teor de substâncias pécticas e o poder geleificante das preparações variam de acordo com a origem botânica do produto vegetal, havendo 4 subprodutos

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

de indústrias agrícolas e alimentos ricos em substâncias pécicas: bagaço de maçã, albedo cítrico, polpa de beterraba e capítulos de girassol. A pectina comercial em pó pode ser classificada como de alta metoxilação (AM), com percentual de grupamentos esterificados na cadeia (grau de esterificação) superior a 50%, porém na prática apresenta-se entre 50 e 75%, ou de baixa metoxilação (BM), com grau de esterificação inferior a 50%, na prática entre 20 e 45% (CANTERI; MORENO; WOSIACKI; SCHEER, 2012).

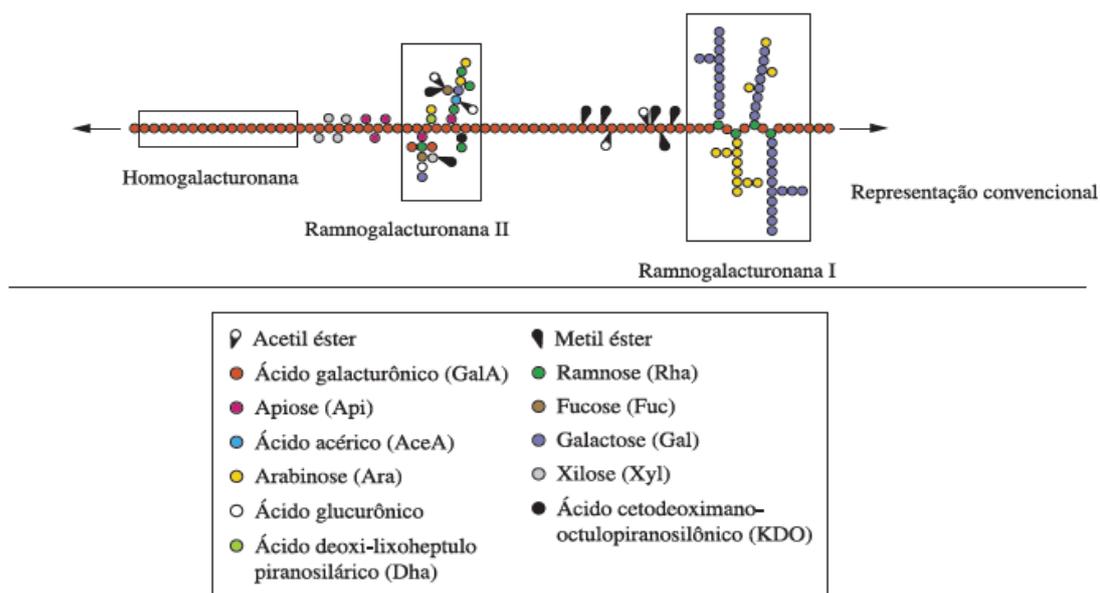


Figura 12. Cadeia pécica. Retirada de CANTERI; MORENO; WOSIACKI; SCHEER, 2012.

2.4 INTERAÇÃO FÁRMACO-NUTRIENTE

Apesar do estágio atual do conhecimento sobre interações medicamentosas estar fundamentado nas interações fármaco-fármaco, foi uma interação fármaco-nutriente que deu origem ao tema. Na década de 60 foram relatados casos de interação fármaco-nutriente, inclusive fatais, que envolviam crises hipertensivas relacionadas ao uso de inibidores das monoaminoxidases (MAO), como fenelzina e tranilcipromina, por pacientes com depressão que ingeriram certos tipos de queijo com alto teor de tiramina (BLACKWELL, 1963; SJÖQVIST; BÖTTIGER, 2010). Esta interação conhecida como “reação do queijo” ocorre quando a tiramina proveniente da dieta libera norepinefrina e outras aminas simpaticomiméticas. Quando a MAO é inibida irreversivelmente, os níveis dessas aminas aumentam, ocasionando a elevação da pressão arterial (RAO; YERAGANI, 2009).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

A interação fármaco-nutriente é resultante de uma relação física, química, fisiológica ou fisiopatológica entre um fármaco e um nutriente, vários nutrientes, alimentação em geral ou estado nutricional. Uma interação é considerada clinicamente significativa se alterar a resposta terapêutica ao medicamento ou comprometer o estado nutricional resultando em algum grau de desnutrição. As consequências clínicas de uma interação estão relacionadas a alterações na disposição (absorção, distribuição, biotransformação ou eliminação) e/ou efeito (ação fisiológica) do fármaco ou nutriente (BOULLATA; HUDSON, 2012).

As interações fármaco-nutriente podem ser divididas de acordo com quem é o fator precipitante e o objeto da interação, conforme o Quadro 1. Em alguns casos, o fármaco é o fator precipitante, por exemplo, causando mudanças no estado nutricional. Outras vezes, o fármaco é objeto da interação, ou seja, mudanças na disposição do fármaco são decorrentes de um nutriente ou estado nutricional (BOULLATA; HUDSON, 2012).

Quadro 1. Classificação das interações fármaco-nutriente

Fator precipitante	Objeto de interação	Potencial consequência
Estado nutricional	Fármaco	Falha no tratamento ou toxicidade do fármaco
Alimento ou componente alimentar	Fármaco	Falha no tratamento ou toxicidade do fármaco
Nutriente específico ou outro ingrediente de suplemento dietético	Fármaco	Falha no tratamento ou toxicidade do fármaco
Fármaco	Estado nutricional	Alteração no estado nutricional
Fármaco	Nutrientes específicos	Alteração nas concentrações do nutriente

Retirado de BOULLATA; HUDSON, 2012.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

Quando o fator precipitante é o nutriente e o objeto da interação é o fármaco, a interação fármaco-nutriente pode ser chamada de efeito alimentar que é um fenômeno comum associado à via oral de administração de medicamentos. O efeito alimentar e a sua relevância clínica são avaliados pelas mudanças na taxa ou extensão de absorção dos fármacos. O parâmetro farmacocinético utilizado para avaliar a extensão da absorção é a área sob a curva de concentração-tempo até a última concentração medida (ASC_{0-t}) ou extrapolada para o infinito (ASC_{0-∞}) e para a taxa de absorção é a concentração plasmática máxima (C_{máx}) e o tempo para atingir C_{máx} (T_{máx}) (DENG; ZHU; CHEN; FAN et al., 2017; FLEISHER; LI; ZHOU; PAO et al., 1999).

O efeito alimentar é considerado “positivo” (Figura 13) quando o alimento aumenta a absorção e a exposição ao fármaco, como por exemplo, aumentando a dissolução e a solubilidade do mesmo, estimulando o fluxo biliar, retardando o esvaziamento gástrico, aumentando o fluxo sanguíneo esplâncnico, aumentando a captação linfática ou inibindo enzimas metabólicas e transportadores de efluxo na primeira passagem (YAN, 2017).

O efeito alimentar é “negativo” (Figura 13), ou seja, o alimento diminui a absorção e a exposição ao fármaco quando os alimentos estimulam a secreção de ácido gástrico que hidrolisa fármacos lábeis, interagem com fármacos física ou quimicamente, ou causam aumento da motilidade intestinal (YAN, 2017).

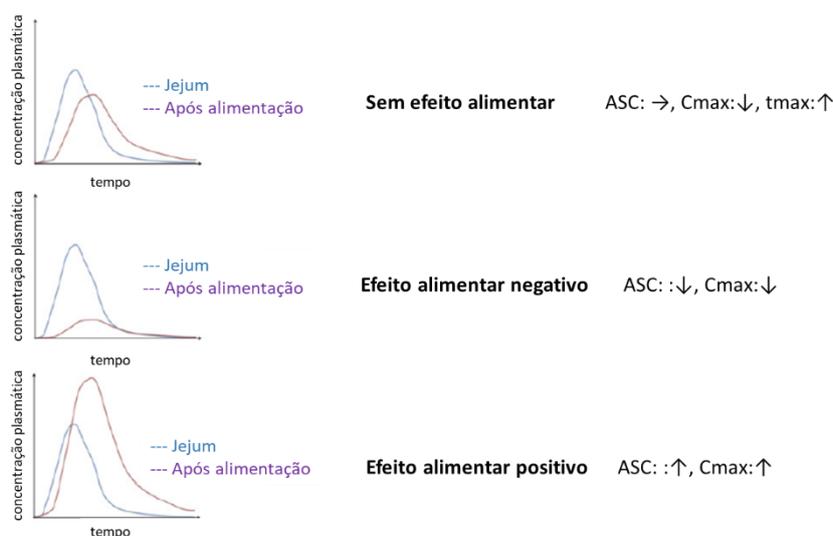


Figura 13. Classificação dos efeitos alimentares na absorção oral de fármacos. Adaptado de KOZIOLEK; GRIMM; SCHNEIDER; JEDAMZIK et al., 2016.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

O interesse por eventuais interações entre fármacos e nutrientes levou a trabalhos objetivando elucidar os mecanismos das mesmas, uma vez que esse conhecimento permitiria uma previsão mais precisa da incidência e gravidade das interações fármaco-nutriente com compostos semelhantes na prática clínica (CHAN, 2013).

Assim, baseadas nos mecanismos das interações e na sequência fisiológica de eventos que ocorrem após a ingestão do nutriente ou do fármaco, as interações fármaco-nutriente podem ser também categorizadas em quatro tipos principais, que subdivididos contemplam seis tipos de interações (CHAN, 2013):

- **Tipo I – Bioinativações *Ex Vivo*:** Este tipo de interação geralmente envolve reações químicas ou físicas que ocorrem antes que o fármaco ou nutriente envolvidos entrem no corpo. É um mecanismo mais comumente relacionado ao preparo e infusão de um medicamento e formulação de nutrientes em pacientes que recebem nutrição enteral (NE) ou nutrição parenteral (NP), quando os agentes podem interagir por estar em contato direto durante o processo de preparo ou administração. Qualquer paciente que receba NE ou NP está potencialmente em risco de sofrer interações do tipo I e a melhor forma de evitá-las é sempre separar as duas administrações na ausência de dados que confirmem a falta de interação.
- **Tipo II – Interações Associadas à Fase de Absorção:** São as mais comumente encontradas na prática clínica, embora sejam limitadas a medicamentos e nutrientes administrados por via oral ou enteral. Nessas interações, os agentes precipitantes podem modificar a função de uma enzima (interação do tipo IIA) ou de uma proteína de transporte (interação do tipo IIB) que é responsável pela biotransformação ou transporte do objeto da interação antes de atingir a circulação sistêmica. Em alguns casos, complexação, ligação e/ou outros processos de desativação que podem ocorrer no TGI (interação tipo IIC) também podem estar envolvidos. Ao

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

compreender as enzimas ou proteínas transportadoras envolvidas nessas interações, é possível prever a probabilidade e até a magnitude de outras interações fármaco-nutriente mediadas pelo mesmo mecanismo. Embora, nem sempre seja possível, muitas interações do tipo II podem ser minimizadas separando o horário de administração entre o fármaco e o nutriente envolvidos.

- **Tipo III – Interações Associadas à Ação Fisiológica:** Ocorre após a fase de absorção estar completa para pelo menos um dos dois agentes da interação (precipitante ou objeto). Os mecanismos envolvem a alteração da distribuição celular ou tecidual, metabolismo ou transporte sistêmico, ou penetração em órgãos ou tecidos específicos do objeto da interação. Em alguns casos, a interação ocorre nos receptores das células ou tecido alvo. A diferença mais importante entre as interações do tipo II e tipo III é que não se espera que a separação do tempo de administração resolva a interação. O ajuste de dose é necessário para otimizar a terapia ou evitar eventos adversos.
- **Tipo IV – Interações Associadas à Fase de Eliminação:** Podem envolver a modulação, antagonismo ou comprometimento da eliminação renal ou entero-hepática. Algumas dessas interações podem ser mediadas por fármacos ou nutrientes que competem por certas proteínas de transporte específicas para eliminação.

Outra forma de dividir as interações fármaco-nutriente é de acordo com a etapa em que ocorrem desde a administração do medicamento até o efeito farmacológico do mesmo. Neste caso, alguns autores dividem as interações em farmacocinéticas e farmacodinâmicas (CHOI; KO, 2017), enquanto outros distinguem dentre as interações farmacocinéticas aquelas que ocorrem antes da absorção. Neste caso, as interações podem ser biofarmacêuticas, farmacocinéticas ou farmacodinâmicas (Figura 14). As interações biofarmacêuticas envolvem as reações físico-químicas que podem ocorrer durante a liberação do fármaco, de sua forma

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

farmacêutica no lúmen do TGI, para que o mesmo seja absorvido. As interações farmacocinéticas são aquelas que ocorrem durante a absorção, distribuição, biotransformação ou eliminação do fármaco e podem envolver enzimas e transportadores que são importantes para esses processos. Já as interações farmacodinâmicas envolvem os receptores farmacológicos do fármaco, promovendo sinergismo ou antagonismo no efeito esperado (BOULLATA; HUDSON, 2012).

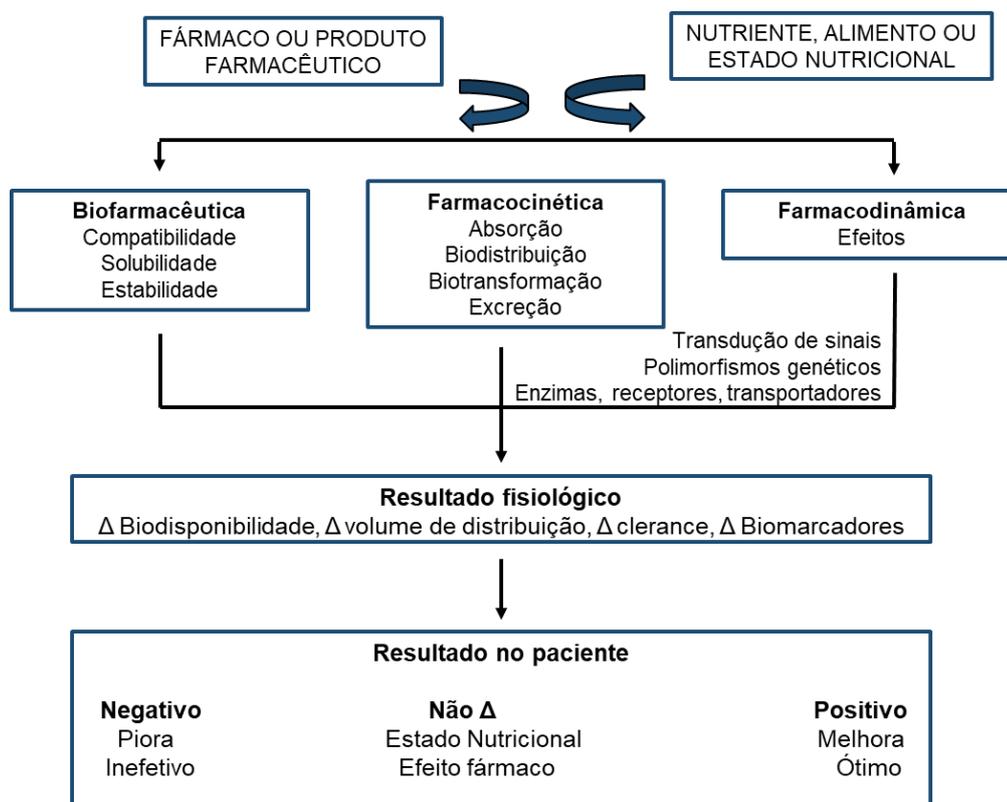


Figura 14. Modelo de interação fármaco-nutriente. Onde: Δ , alterar. Retirada de BOULLATA; HUDSON, 2012.

As interações que ocorrem antes da absorção levam, principalmente, a alterações no processo de dissolução do fármaco no fluido GI. Portanto, com o auxílio do SCB (AMIDON; LENNERNÄS; SHAH; CRISON, 1995) podemos avaliar o risco do fármaco sofrer impacto de possíveis alterações de sua solubilidade no meio devido a variações de pH, viscosidade, entre outras propriedades físico-químicas. Esta classificação não é adequada para tratar as demais interações farmacêuticas. O risco

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

do fármaco sofrer interações que ocorram envolvendo grupos de transporte celular e enzimas de biotransformação, o que é típico das interações farmacocinéticas, pode ser avaliado pela Sistema de Classificação Biofarmacêutico com base na Disposição dos Fármacos (WU; BENET, 2005). Evidentemente que tanto as interações que ocorrem antes da absorção quanto aquelas que ocorrem após a absorção, alteram as propriedades farmacocinéticas do fármaco, mas o manejo na avaliação do risco e do planejamento de formulações para evitar as interações são diferentes.

Embora as interações fármaco-nutriente mais comuns costumem resultar em falha terapêutica ou aparecimento de efeitos adversos, algumas interações podem ser exploradas para melhorar a terapia medicamentosa e em benefício dos pacientes. Por exemplo, a administração de medicamentos junto das refeições pode ser requerida, seja para reduzir a irritação da mucosa gastrointestinal (GI), favorecer o cumprimento do horário da terapia, levar a um aumento desejado da absorção do fármaco ou mesmo manter concentrações plasmáticas efetivas do mesmo (MOURA; REYES, 2002).

Diversos fatores justificam a ocorrência de interações fármaco-nutriente, como as características físico-químicas das substâncias envolvidas, a dose do fármaco e a forma farmacêutica, a quantidade de nutrientes disponíveis, o momento de administração do medicamento e o horário da dieta (intervalo de tempo entre a alimentação e a administração do medicamento), além de aspectos individuais, como quadro clínico, polifarmácia (uso de mais de 5 medicamentos), constituição enzimática e microbiota intestinal (SCHMIDT; DALHOFF, 2002; WELLING, 1977).

Não está claro quantas das interações fármaco-nutriente identificadas são clinicamente relevantes (MASON, 2010). Portanto, interações significativas que precisam ser totalmente evitadas não são comuns, em vez disso, é necessário um monitoramento próximo com modificação no regime de dosagem dos medicamentos (BOULLATA; HUDSON, 2012; CHAN, 2013; PRESCOTT; DRAKE; STEVENS, 2018).

O efeito das interações difere de uma pessoa para outra com alguns grupos de pacientes em risco particular. Interações fármaco-nutriente são críticas no caso de pacientes suscetíveis e hospitalizados, principalmente no uso de fármacos de estreita faixa terapêutica, pois pequenas mudanças na farmacocinética podem causar grandes

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

interferências na eficácia e segurança do tratamento (FLEISHER; LI; ZHOU; PAO *et al.*, 1999; VELOSO; FIGUEREDO; BARROSO; NASCIMENTO *et al.*, 2019). Pacientes em terapias múltiplas e/ou de longo prazo ou ainda idosos, nos quais muitas vezes é exercida a polifarmácia, que sofrem de diabetes, HA, depressão, colesterol alto ou insuficiência cardíaca congestiva são considerados de alto risco e devem ser especialmente monitorados (ISMAIL; YAHEYA, 2009; MCCABE, 2004; THOMAS, 1995). Bebês e crianças também devem ser particularmente monitorados devido à relativa ineficiência das enzimas biotransformadoras hepáticas e função renal pouco desenvolvida. O risco de interações também é aumentado em pacientes que já estão desnutridos por causa da má alimentação; naqueles com doenças que podem levar a deficiências nutricionais, como doença celíaca e fibrose ou naqueles com necessidades nutricionais específicas como pacientes bariátricos, com câncer ou queimaduras (MASON, 2010).

O efeito da ingestão de alimentos na taxa e extensão da absorção de um medicamento experimental administrado por via oral deve ser investigado o mais cedo possível durante o desenvolvimento do mesmo para otimizar a determinação da dose e garantir recomendações alimentares ideais nos estudos clínicos de fase III e na sua bula. Em geral, as recomendações sobre o momento da ingestão do medicamento em relação aos alimentos devem ter como objetivo minimizar a variabilidade e obter a exposição ideal. Se a formulação for modificada durante o desenvolvimento clínico ou se uma nova forma farmacêutica for desenvolvida, a possibilidade de um efeito alimentar alterado deve ser considerada e estudos adicionais de interação com alimentos podem ser necessários (EUROPEAN MEDICINES, 2012).

Sendo assim, devido ao risco associado a determinadas interações fármaco-nutriente, a avaliação do efeito dos alimentos no perfil farmacocinético de um fármaco é parte integrante do processo de registro de um novo medicamento. Normalmente, o efeito do alimento sobre a biodisponibilidade oral do fármaco é determinado em estudo clínico realizado com voluntários sadios, nos quais os perfis de concentração-tempo após a administração em jejum e com alimentação são comparados com base em parâmetros farmacocinéticos (KOZIOLEK; ALCARO; AUGUSTIJNS; BASIT *et al.*, 2019).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

Tanto FDA, EMA (*European Medicines Agency*) quanto Anvisa recomendam a padronização da refeição utilizada em estudos para avaliação do efeito alimentar na biodisponibilidade, já que o mesmo depende do tipo e composição dos alimentos. É recomendada uma refeição rica em calorias (800-1000 kcal) e gorduras (500-600 kcal de calorias totais derivadas de gordura), que é a refeição destinada a desencadear uma resposta máxima em nível fisiológico (KOZIOLEK; ALCARO; AUGUSTIJNS; BASIT et al., 2019).

2.4.1 A interação fármaco-nutriente na absorção de medicamentos

Um medicamento administrado por via oral deve ser absorvido pelo TGI em uma extensão e taxa que resultará em concentrações circulantes de fármaco suficientes para provocar uma resposta farmacológica de magnitude e duração desejadas. A eficiência com que um fármaco é absorvido, é função de muitos fatores. Ele deve ser suficientemente solúvel em água para se dissolver nos FGIs e, ainda, para compostos absorvidos passivamente, deve ser capaz de se difundir através das membranas epiteliais do TGI para a circulação sistêmica (WELLING, 1977). Neste sentido, a regra dos 5 de Lipinski envolve quatro parâmetros que estão associados à solubilidade e à permeabilidade dos fármacos, que devem ter valores iguais ou múltiplos a 5 e que permitem prever a sua má absorção ou permeação. Assim, para fármacos que possuem doadores de mais de 5 ligações de hidrogênio, mais de 10 aceptores de ligação de hidrogênio, peso molecular maior que 500 e o valor de Log P maior que 5 é mais provável que ele tenha má absorção. Exceções à essa regra ocorrem com fármacos que são substratos de transportadores biológicos (LIPINSKI; LOMBARDO; DOMINY; FEENEY, 1997).

A investigação das interações na etapa de absorção tem como objetivo identificar situações em que a solubilidade, dissolução ou permeabilidade de um fármaco é alterada por fatores extrínsecos (EUROPEAN MEDICINES, 2012).

As interações fármaco-nutriente podem influenciar a absorção dos fármacos alterando processos como esvaziamento gástrico, trânsito intestinal, liberação da formulação e dissolução do fármaco, difusão do fármaco dissolvido para as membranas absorventes do intestino e permeação da membrana para a corrente

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

sanguínea. As interações que afetam a absorção dos fármacos podem ser divididas em duas categorias: (a) interações físico-químicas e (b) interações fisiológicas ou bioquímicas (FLEISHER; LI; ZHOU; PAO *et al.*, 1999).

As interações físico-químicas de adsorção, quelação, complexação, ligação e precipitação podem ocorrer entre os fármacos e componentes específicos da refeição e envolvem alterações na razão de dissolução, degradação e difusão do fármaco (FLEISHER; LI; ZHOU; PAO *et al.*, 1999; LENTZ, 2008).

Em adição as interações físico-químicas, a ingestão de alimentos pode alterar a fisiologia do TGI e indiretamente também afetar a absorção dos fármacos (interações fisiológicas ou bioquímicas). Algumas dessas alterações são:

(a) aumento da viscosidade GI: os alimentos podem funcionar como uma barreira física por causa da alta viscosidade resultante, restringindo a permeação do fármaco para a membrana absorptiva na parte superior do intestino;

(b) retardo do esvaziamento gástrico: como poucos fármacos são absorvidos no estômago, eles precisam atravessá-lo para serem absorvidos no intestino. A ingestão de alimentos prolonga o tempo de esvaziamento no estômago, o que é particularmente problemático para fármacos instáveis em pH ácido e para aqueles cujo o local de absorção é o intestino e depende de um transporte ativo saturável, já que um esvaziamento gástrico mais lento pode aumentar a absorção;

(c) alteração do pH do TGI: como a maioria dos fármacos são ácidos ou bases fracas e podem existir tanto na sua forma ionizada quanto não ionizada dependendo do pH do meio, e como a maioria também é absorvida por transporte passivo que depende das formas não ionizadas para acontecer, a alteração do pH pode alterar tanto a solubilização quanto a permeabilidade dos fármacos durante a absorção;

(d) aumento do fluxo esplâncnico: o que aumenta a taxa de entrega dos fármacos para o fígado, podendo impulsionar a biotransformação por enzimas que não são facilmente saturadas. Outro cenário possível é a saturação das enzimas hepáticas por uma maior concentração de substrato que resulta do aumento do fluxo pós-prandial, o que pode aumentar a extensão da absorção na condição alimentada;

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

(e) estimulação da secreção biliar: a maior concentração de sais biliares pode aumentar a solubilidade de fármacos lipofílicos, mas as micelas biliares também podem reduzir a fração de fármaco livre na superfície da membrana epitelial;

(f) estimulação do transporte linfático: que pode ser uma importante via para aumentar a absorção de fármacos lipofílicos;

(g) alteração da microbiota intestinal: pode afetar a circulação entero-hepática e comprometer a reabsorção de fármacos que dependem da microbiota para desconjugação e

(h) inibição de transportadores e enzimas: pela competição entre os fármacos e nutrientes (DENG; ZHU; CHEN; FAN *et al.*, 2017; O'SHEA; HOLM; O'DRISCOLL; GRIFFIN, 2019; PAO; ZHOU; COOK; KARARLI *et al.*, 1998).

2.4.1.1 O efeito alimentar na absorção de fármacos segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutico

Em 1995, Amidon e colaboradores desenvolveram o SCB que categoriza os fármacos em quatro classes de acordo com sua solubilidade e permeabilidade (Figura 15), que são considerados parâmetros fundamentais para a razão e extensão da absorção oral (AMIDON; LENNERNÄS; SHAH; CRISON, 1995).

	Alta solubilidade	Baixa solubilidade
Alta permeabilidade	Classe 1 Alta solubilidade Alta permeabilidade	Classe 2 Baixa solubilidade Alta permeabilidade
Baixa permeabilidade	Classe 3 Alta solubilidade Baixa permeabilidade	Classe 4 Baixa solubilidade Baixa permeabilidade

Figura 15. Sistema de Classificação Biofarmacêutico. Retirado de AMIDON; LENNERNÄS; SHAH; CRISON, 1995.

Fleisher e colaboradores se basearam em uma refeição rica em gorduras, como o FDA recomenda para estudos de avaliação do efeito alimentar na biodisponibilidade de formas de dosagem oral (FDA, 2017), e observaram que os efeitos dos alimentos podem ser previstos de acordo com a classificação dos fármacos no SCB. Deste modo:

- (a) **Fármacos de classe 1:** possuem rápida dissolução e alta permeabilidade. São bem absorvidos e praticamente não sofrem efeito alimentar. São afetados por um número limitado de interações;
- (b) **Fármacos de classe 2:** são pouco solúveis em água e têm taxa de dissolução limitada, por isso serão afetados por interações que aumentem a solubilidade e a taxa de dissolução, como por exemplo, a coadministração com uma refeição com alto teor de gordura, que estimula a liberação de secreções no TGI, aumentando o efeito de solubilização biliar que, por sua vez, aumenta a taxa de dissolução. Assim, esses fármacos são prováveis de sofrer efeito alimentar positivo;
- (c) **Fármacos de classe 3:** possuem alta solubilidade em água e a taxa de permeação na membrana intestinal é a etapa limitante da absorção. Muitos fármacos dessa classe apresentam absorção região-dependente com melhor absorção na região superior do intestino delgado. Por isso, qualquer interação que comprometa a absorção nesta parte pode resultar em uma diminuição significativa na absorção como acontece com a coadministração com refeições independente do teor de gordura. Logo, esses fármacos são prováveis de sofrer efeito alimentar negativo;
- (d) **Fármacos de classe 4:** possuem baixa solubilidade e permeabilidade, mas podem ser administrados oralmente desde que as concentrações plasmáticas alcançadas sejam suficientes para produzir o efeito terapêutico necessário. Muitos desses fármacos apresentam $T_{máx}$ longo, uma vez que costumam ser compostos anfipáticos, havendo

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

tendência para aderir na parte superior do TGI, apesar de apresentarem melhor absorção nesta região em função da maior área de superfície para absorção. Esses são fármacos que não possuem uma tendência clara com relação ao efeito alimentar (FLEISHER; LI; ZHOU; PAO et al., 1999).

Porém, nem sempre essa regra é cumprida à risca. Para fármacos pertencentes à classe 2, é geralmente reconhecido que nem todos os compostos devem ser agrupados. Em vez disso, a categoria pode ser subdividida em ácidos fracos, bases fracas e compostos lipofílicos. Cada um responderá de forma diferente ao efeito dos alimentos. Para ácidos fracos e bases fracas com alto pKas (a maioria dos compostos desta classe), as refeições que estimulam o fluxo biliar e a atividade enzimática aumentam a dissolução e, posteriormente, resultam em efeitos alimentares positivos. No entanto, é possível que um fármaco com baixo pKa precipite no estômago ou na parte superior do intestino delgado se o pH do conteúdo GI estiver elevado devido à ingestão de refeições. Nesses casos, a biodisponibilidade pode diminuir para um fármaco de classe 2 (LENTZ, 2008).

Gu e colaboradores avaliaram o efeito alimentar em um conjunto de dados clínicos e correlacionaram com o SCB. Esta análise revelou que 67% dos fármacos de classe 1, no conjunto de dados não apresentaram efeito alimentar, 71% dos fármacos de classe 2 tiveram um efeito alimentar positivo e 61% dos fármacos de classe 3 mostraram um efeito alimentar negativo. Dos fármacos de classe 4, neste conjunto de dados, a grande maioria (73%) mostrou um efeito alimentar positivo (GU; LI; LEVONS; LENTZ *et al.*, 2007).

Enquanto Fleisher e colaboradores apenas avaliaram o efeito dos alimentos na extensão da absorção, Wu e colaboradores avaliaram as alterações que os alimentos podem causar também em $T_{máx}$ (Figura 16) (WU; BENET, 2005).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

	Alta solubilidade	Baixa solubilidade
Alta permeabilidade	Classe 1 $F_{\text{extensão}} \leftrightarrow$ $T_{\text{máx}} \uparrow$	Classe 2 $F_{\text{extensão}} \uparrow$ $T_{\text{máx}} \uparrow \downarrow \leftrightarrow$
Baixa permeabilidade	Classe 3 $F_{\text{extensão}} \downarrow$ $T_{\text{máx}} \uparrow$	Classe 4 $F_{\text{extensão}} \downarrow \uparrow \leftrightarrow$ $T_{\text{máx}} \downarrow \uparrow \leftrightarrow$

Figura 16. Efeitos alimentares de uma refeição rica em gorduras segundo o SCB. Onde: \leftrightarrow , não altera; \uparrow , aumenta; \downarrow , diminui; $F_{\text{extensão}}$, fração absorvida (extensão); $T_{\text{máx}}$ tempo para atingir concentração máxima absorvida. Retirado de WU; BENET, 2005.

Enquanto refeições com alto teor de gordura não terão efeito significativo na extensão da absorção de fármacos classe 1, estas refeições podem atrasar o esvaziamento no estômago e portanto causar um aumento de $T_{\text{máx}}$ (WU; BENET, 2005).

Com relação a fármacos de classe 2, mesmo com a solubilização adicional no lúmen intestinal, pode ocorrer diminuição de $T_{\text{máx}}$ devido à inibição do ciclo de efluxo ou aumento de $T_{\text{máx}}$ devido à desaceleração do esvaziamento gástrico, para fármacos onde predominam a permeação passiva através das membranas de absorção. Porém, se a alta permeabilidade depender de transportadores de captação, a refeição poderá inibir esses transportadores de influxo e também de efluxo. Então, dependendo da magnitude da inibição dos transportadores, a refeição poderá ter pouco efeito na extensão da absorção, mas pode aumentar $T_{\text{máx}}$ devido ao retardo do esvaziamento gástrico (WU; BENET, 2005).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

Para fármacos de classe 3, o efeito da alimentação dependerá se for mais pronunciado nos transportadores de influxo ou efluxo, mas é esperado que $T_{máx}$ aumente por uma combinação de esvaziamento gástrico e absorção mais lentos. Já para classe 4, é mais difícil prever pois todos os efeitos de interação previstos para classe 2 e 3 podem ocorrer (WU; BENET, 2005).

Embora Fleisher e colaboradores e Wu e Benet tenham previsto o efeito alimentar conforme o SCB, utilizando uma refeição rica em gorduras, o processo de absorção do fármaco pode ser afetado por muitos fatores, incluindo o conteúdo calórico (refeições de baixa versus alta caloria), composição de nutrientes (proteínas, fibras, refeições ricas em carboidratos ou ricas em gordura), volume, temperatura da própria refeição e ingestão de líquidos (LENTZ, 2008).

2.4.2 Métodos para avaliação das interações fármaco-nutriente na etapa de absorção do fármaco

Na avaliação das interações fármaco-nutriente, assim como fármaco-fármaco, podem ser utilizados métodos experimentais *in vitro* e *in vivo*, métodos orientados ao paciente (consulta a prontuários médicos) e métodos preditivos computacionais *in silico* (FERDOUSI; SAFDARI; OMIDI, 2017).

Os métodos *in vitro* para avaliar uma interação fármaco-nutriente que ocorre na etapa de absorção são os mesmos usados para avaliar a absorção do fármaco durante o desenvolvimento farmacêutico, porém são realizados ensaios na ausência e presença do nutriente.

Entre esses métodos podemos citar: modelos de dissolução, modelos baseados em membranas artificiais (PAMPA - *parallel artificial membrane permeation assay*), cultura de células e câmaras de difusão (células de Franz). Cada um deles possui vantagens e desvantagens e como o processo de absorção intestinal depende de uma multiplicidade de parâmetros, a combinação de diferentes ensaios *in vitro* deve ser considerada a fim de obter melhores informações sobre a interação entre fármacos e nutrientes (EHRHARDT; KIM, 2007).

Considerando os custos e a viabilidade dos experimentos *in vitro* e *in vivo*, há uma grande tendência de realização de estudos *in silico* entre os pesquisadores que

utilizam modelagem e simulações computadorizadas para examinar hipóteses e entender mecanismos relacionados às ações e efeitos colaterais de medicamentos, o que pode envolver interações fármaco-fármaco e fármaco-nutriente. As abordagens de modelagem *in silico* melhoraram as ciências relacionadas à saúde em grande parte devido à otimização e custo-benefício das técnicas informatizadas (SAFDARI; FERDOUSI; AZIZIHERIS; NIAKAN-KALHORI *et al.*, 2016).

2.4.2.1 Métodos in vitro para avaliação de interações fármaco-nutriente: teste de dissolução

Animais são frequentemente usados como modelos para investigar os efeitos alimentares. No entanto, as diferenças entre espécies limitam a aplicação desses modelos para extrapolações em humanos. Uma alternativa aos experimentos com animais é simular os efeitos alimentares em testes de dissolução com meios compendiais e biorrelevantes que simulam as condições do estômago, trato intestinal e cólon (JONES; PARROTT; OHLENBUSCH; LAVÉ, 2006).

O teste de dissolução foi utilizado durante muito tempo para abordar questões de controle de qualidade. No entanto, nos últimos anos, houve um forte impulso para identificar problemas de biodisponibilidade de uma formulação com base nos resultados de experimentos de dissolução adequadamente projetados. Assim, o escopo dos testes de dissolução se expandiu consideravelmente para incluir a previsão do desempenho *in vivo* de formulações farmacêuticas (KLEIN, 2010).

Exatamente neste sentido, os testes de dissolução podem ser utilizados para prever possíveis interações fármaco-nutriente que envolvam reações físico-químicas que possam comprometer a solubilidade de um fármaco, e conseqüentemente, a biodisponibilidade do mesmo.

Além dos meios compendiais, como fluido gástrico simulado (FGS) e fluido intestinal simulado (FIS), outros meios de dissolução especiais têm sido utilizados como: leite, fluido do intestino delgado simulado em jejum (FaSSIF), fluido do intestino delgado simulado no estado alimentado (FeSSIF) e/ou modificações desses meios no conteúdo de fosfolipídios ou sais biliares, pH ou inclusão de enzimas lipolíticas (LENTZ, 2008).

Os meios biorrelevantes contendo sais biliares e lecitina são os que mais se aproximam das condições encontradas no TGI, no entanto, é difícil projetar um meio de estado alimentado simulado universal porque a composição dos fluidos no estado alimentado *in vivo* é altamente dependente da própria refeição ingerida. A concentração de sal biliar e lecitina no FeSSIF padrão é baseada no pico médio de produção de bile e, portanto, pode não ser apropriado nos casos em que os medicamentos são administrados em vários momentos após a ingestão das refeições, em comparação com quando são administrados concomitantemente com alimentos (LENTZ, 2008).

2.4.2.2 Métodos in silico para avaliação de interações fármaco-nutriente: modelagem molecular e simulação computacional

Enquanto os métodos experimentais e orientados para o paciente são trabalhosos e caros, as abordagens computacionais fornecem meios robustos para a previsão das interações fármaco-fármaco (FERDOUSI; SAFDARI; OMIDI, 2017; HUANG; NIU; GREEN; YANG *et al.*, 2013) e fármaco-nutriente, permitindo uma compreensão a nível molecular dessas interações (LEAL; DA SILVA JÚNIOR, 2018).

Várias abordagens têm sido utilizadas com sucesso na avaliação das interações como “*machine learning*” (algoritmos de aprendizagem de máquina) (REKER; SHI; KIRTANE; HESS *et al.*, 2020), “*deep learning*” (RYU; KIM; LEE, 2018) e modelagem QSAR (*quantitative structure-activity relationship*) (ZAKHAROV; VARLAMOVA; LAGUNIN; DMITRIEV *et al.*, 2016).

A modelagem molecular consiste em um conjunto de ferramentas que permitem a representação, visualização, manipulação e determinação de parâmetros geométricos (comprimento e ângulo de ligação) e eletrônicos (energia dos orbitais de fronteira, momento de dipolo, potencial de ionização, entre outros) de uma molécula isolada ou de complexos (RODRIGUES, 2001).

Um estudo de modelagem molecular normalmente envolve três etapas. Na primeira etapa, um modelo é selecionado para descrever como cada átomo interage com os outros e com seu ambiente. Na segunda, é realizado o cálculo propriamente dito, que pode envolver um esquema de minimização de energia, uma simulação de

dinâmica molecular ou um experimento de encaixe molecular virtual. Independentemente do tipo de cálculo, esta é a etapa mais demorada no problema de modelagem molecular. A principal tarefa desta etapa é fornecer informações suficientes para prever com precisão as propriedades do sistema. Por fim, a terceira etapa envolve a análise dos resultados, não apenas para calcular as propriedades, mas também para validar os procedimentos de modelagem com dados experimentais confiáveis (FENG; ZHU; CAMPANELLA, 2016).

A grande maioria dos programas de modelagem molecular é capaz de retratar entidades químicas com um alto grau de precisão (RODRIGUES, 2001). Existem muitas opções quanto ao método de cálculo a ser aplicado em uma determinada estratégia de modelagem molecular. Estes métodos basicamente diferem quanto à natureza do campo de forças, ou seja, do conjunto de funções de energia e parâmetros numéricos associados. Os campos podem ser totalmente empíricos, como os utilizados em mecânica molecular (MM), ou, no outro extremo, puramente teóricos (métodos *ab initio*), passando pelos chamados métodos semi-empíricos. A aplicação de um ou outro método é determinada pelo compromisso entre tempo e precisão dos resultados e pela complexidade do sistema a ser analisado (BARREIRO; RODRIGUES; ALBUQUERQUE; SANT'ANNA et al., 1997)

2.4.2.2.1 Métodos de cálculo utilizados em modelagem molecular

(A) Mecânica molecular (MM)

É um método que calcula a estrutura e a energia das moléculas com base nos movimentos dos núcleos, não considerando, explicitamente, os elétrons. Assim, pode-se admitir que a MM trata a molécula como uma coleção de esferas conectadas por molas, com constantes de forças características, onde as esferas representam os núcleos e as molas representam as ligações (Figura 17) (ANDREI; FERREIRA; FACCIONE; FARIA, 2003; BARREIRO; RODRIGUES; ALBUQUERQUE; SANT'ANNA *et al.*, 1997; LEWARS, 2010; RODRIGUES, 2001).

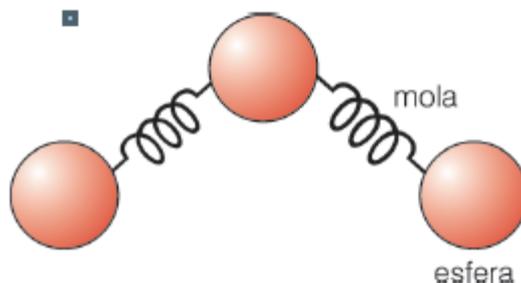


Figura 17. Representação de uma molécula em mecânica molecular. As esferas representam átomos e as molas representam as ligações entre eles. Retirado de RODRIGUES, 2001.

O campo de forças neste caso é constituído pelo somatório de termos de energia relacionados às posições de equilíbrio do sistema (distâncias de ligação, ângulos de ligação, ângulos diedros, distâncias de van der Waals, ligações hidrogênio, interações eletrostáticas, entre outras) às quais podem ser associadas penalidades energéticas para seu afastamento, isto é, as constantes de força das “molas” (BARREIRO; RODRIGUES; ALBUQUERQUE; SANT'ANNA *et al.*, 1997).

O princípio por trás do MM é expressar a energia de uma molécula em função da sua resistência ao alongamento de ligação, dobra de ligação e aglomeração de átomos, e usar essa equação de energia para encontrar os comprimentos de ligação, ângulos e diedros correspondentes a geometria de energia mínima. Ou seja, MM usa um modelo conceitualmente mecânico de uma molécula para encontrar sua geometria de energia mínima. A forma da expressão matemática para a energia e os parâmetros nela contidos constituem um campo de forças, e os métodos de mecânica molecular são às vezes chamados de métodos de campo de forças (LEWARS, 2010).

A principal vantagem da MM é a rapidez na avaliação de sistemas moleculares complexos. Porém, tem como desvantagem que algumas classes de moléculas não são corretamente parametrizadas, não sendo adequada para determinação de propriedades, nas quais o efeito eletrônico (como interações de orbitais, quebra de ligações, entre outros) é predominante (BARREIRO; RODRIGUES; ALBUQUERQUE; SANT'ANNA *et al.*, 1997; LEWARS, 2010).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

A MM pode fornecer excelentes geometrias para pequenas (C1 a C10, aproximadamente) e médias (C11 a C100) moléculas orgânicas, onde os cálculos podem ser rápidos e muito precisos. Porém, um dos principais usos da MM é para modelar polímeros, principalmente biopolímeros (proteínas, ácidos nucleicos e polissacarídeos). Alguns campos de forças foram desenvolvidos especificamente para isso e dois dos mais amplamente utilizados são CHARMM (*Chemistry at HARvard using Molecular Mechanics*) e os campos de forças no pacote computacional AMBER (*Assisted Model Building with Energy Refinement*) (LEWARS, 2010).

MM é usado rotineiramente para criar estruturas de entrada para outros métodos de cálculo como mecânica quântica (MQ) pois, além de rápido, pode ser muito preciso, desde que o campo de forças tenha sido cuidadosamente parametrizado para os tipos de moléculas em estudo (LEWARS, 2010).

(B) Mecânica quântica (MQ)

Os métodos de MQ permitem maior precisão nos resultados, além de fornecerem dados sobre a estrutura eletrônica, que não é considerada na MM (SANTOS; PRANDI; RAMALHO, 2019). Isto implica em um custo computacional (tempo de computação e capacidade de memória necessária) maior (BARREIRO; RODRIGUES; ALBUQUERQUE; SANT'ANNA *et al.*, 1997).

Descrições baseadas em MQ de sistemas químicos dividem os átomos nos núcleos e os elétrons circundantes, inerentemente levando em consideração todas as mudanças na densidade eletrônica resultantes da polarização, contribuições de muitos corpos e até mesmo transferência de carga, assim um dos principais desafios dos métodos de MQ é a descrição precisa do movimento correlacionado dos elétrons (HOFER; DE VISSER, 2018).

Os métodos quânticos podem ser divididos em *ab initio* e semi-empíricos e são baseados no formalismo de orbitais moleculares com diferentes abordagens. Enquanto nos métodos *ab initio*, um modelo para uma função de onda particular é selecionado e os cálculos necessários são realizados sem simplificação, os métodos semi-empíricos são baseados no mesmo formalismo dos métodos *ab initio*, mas parte de seus parâmetros são ajustados a dados experimentais. A parametrização dos

métodos semi-empíricos com dados experimentais aumentou significativamente a acurácia química e a velocidade dos métodos de orbitais moleculares (BARREIRO; RODRIGUES; ALBUQUERQUE; SANT'ANNA *et al.*, 1997; RODRIGUES, 2001).

Os enormes custos computacionais dos métodos *ab initio*, muitas vezes, inviabilizam os cálculos biomoleculares. Os métodos semi-empíricos são baseados no mesmo arcabouço teórico dos métodos *ab initio*, mas visam reduzir o custo computacional desprezando ou aproximando integrais de dois elétrons. Essas integrais podem ser ajustadas a dados experimentais ou substituídas por expressões analíticas mais aproximadas. (JOHANSSON; KAILA; SUNDHOLM, 2013).

2.4.2.2 Modelagem molecular de carboidratos

Na natureza, os carboidratos formam uma importante família de biomoléculas que podem existir na forma de monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos, polissacarídeos e glicoconjugados como glicopeptídeos, glicolipídios, glicosaminoglicanos e proteoglicanos. Eles são reconhecidos por suas diversas funções desde o armazenamento e fornecimento de energia até processos biológicos complexos que dependem de interações carboidrato-carboidrato, carboidrato-proteína e carboidrato-ácido nucléico e que constituem a base molecular da entrada viral, transdução de sinal, inflamação, interações célula-célula, interações bactérias-hospedeiro, fertilidade e desenvolvimento. O reconhecimento da importância dessas moléculas trouxe a necessidade de se conhecer suas estruturas tridimensionais (3D) e mostrou o desafio para estudá-las devido à sua grande complexidade estrutural, que envolve um alto número de centros quirais, alta flexibilidade na ligação glicosídica, coexistência de sacarídeos na forma aberta e na forma de anel fechado e efeitos eletrônicos que ocorrem durante a sua mudança conformacional (PEREZ; TVAROŠKA, 2014; XIONG; CHEN; COSSINS; XU *et al.*, 2015).

O conhecimento básico que se deve ter sobre uma estrutura 3D de carboidratos inclui:

- Estrutura primária (conectividade de átomos);
- Conformação em anel dos monossacarídeos;

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

- Estados rotacionais de ligações inter-resíduos e exocíclicas e suas energias;
- Enrugamento do anel e transições da conformação da ligação glicosídica em uma escala de tempo;
- arranjo espacial em escala (estrutura terciária) (SCHERBININA; TOUKACH, 2020)

As moléculas de carboidratos são consideradas especialmente difíceis de modelar devido às suas funcionalidades altamente polares e às diferenças nos arranjos eletrônicos, tais como o efeito anomérico, exo-anomérico e *gauche* que ocorrem durante as alterações conformacionais e variação configuracional (Figura 18) (PEREZ; TVAROŠKA, 2014).

Efeito anomérico é a tendência de substituintes eletronegativos no átomo de carbono C-1 de um anel de aldopiranosose se ligarem à posição axial em contraste à posição equatorial, como ocorre nos anéis de ciclo-hexano. Este termo, primeiramente identificado na química de carboidratos, foi estendido para descrever a preferência do ângulo diedro C – X, do fragmento R – X – C – Y pela orientação sinclinal (*gauche*) sobre antiperiplanar (*trans*), quando X = N (Nitrogênio), O (Oxigênio) ou S (Enxofre) e Y = Br (Bromo), Cl (Cloro), F (Flúor), N, O, ou S e, foi denominado efeito anomérico generalizado. A preferência orientacional do grupamento aglicona em torno da ligação glicosídica C-1 – O-1 é chamada de efeito exo-anomérico ou efeito anomérico reverso (DA SILVA, 2011). Similarmente, o efeito *gauche* foi definido como a tendência de uma molécula adotar uma estrutura com um número de interações sinclinais entre pares de elétrons adjacentes ou ligações polares em um segmento molecular X – C – C – Y, onde X e Y são átomos eletronegativos. O grupo hidroximetil primário nas hexopiranososes é um típico exemplo de um segmento (O-5 – C-5 – O-6 – C-6). Os efeitos exo-anomérico e *gauche* são de primordial importância devido ao seu impacto nas conformações ao redor da ligação glicosídica de estruturas de oligo- e polissacarídeos (PEREZ; TVAROŠKA, 2014).

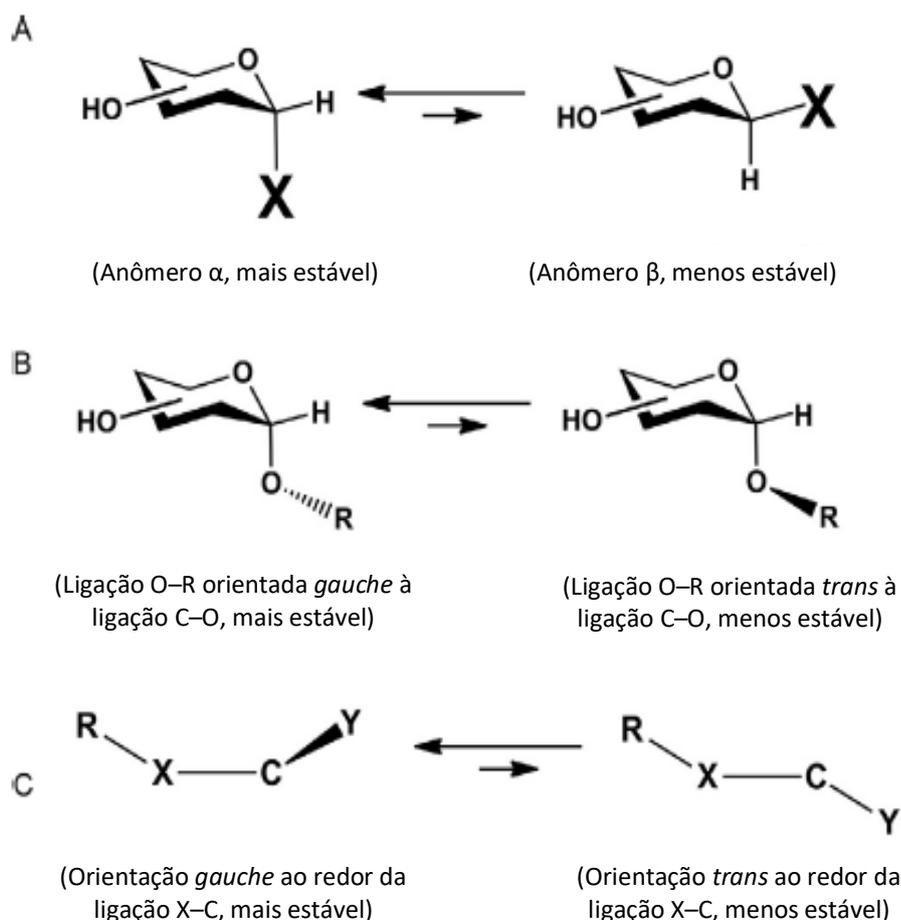


Figura 18. Ilustração dos efeitos estereoquímicos. (A) Efeito anomérico, (B) Efeito exo-anomérico e, (C) Efeito *gauche*. Retirado de PEREZ; TVAROŠKA, 2014.

Com relação à flexibilidade conformacional dos carboidratos, a orientação relativa de dois monossacarídeos contíguos, ligados por uma ligação glicosídica em um dissacarídeo, é caracterizada pelos ângulos de torção Φ e Ψ , onde $\Phi = \text{O-5} - \text{C-1} - \text{O} - \text{Cn}'$ e $\Psi = \text{C-1} - \text{O} - \text{Cn}' - \text{C}(n-1)'$, sendo n o número do átomo de carbono do segundo monossacarídeo com o qual se forma a ligação glicosídica $1 \rightarrow n$. Para dois monossacarídeos ligados por uma ligação $1 \rightarrow 6$, outro parâmetro (ω) é necessário para descrever a orientação sobre a ligação exocíclica C-5 – C-6. Esta orientação é, geralmente, descrita pelos ângulos de torção O-5 – C-5 – C-6 – O-6 e C-4 – C-5 – C-6 – O-6, que combinados definem as conformações *gauche-trans* (gt), *gauche-gauche* (gg) e *trans-gauche* (tg) (Figura 19). As conformações energeticamente favoráveis de um

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

dímero de carboidrato podem ser facilmente mostradas em gráficos de energia denominados (Φ, Ψ) (PEREZ; TVAROŠKA, 2014; XIONG; CHEN; COSSINS; XU *et al.*, 2015)

Com relação ao grande número de grupos hidroxila na sua estrutura, os carboidratos são geralmente solúveis em água e seus valores de $\log P$ são frequentemente negativos. A superfície dos carboidratos tem partes hidrofóbicas e hidrofílicas, formadas por prótons alifáticos não polares e grupos hidroxila polares. Isso leva a densidades de solventes anisotrópicos em torno de moléculas de carboidratos. Em ambientes aquosos, interações favoráveis de moléculas de água com as partes hidrofílicas resultam de interações eletrostáticas e ligações hidrogênio. Inversamente, a interação da água com partes hidrofóbicas na superfície é desfavorável (PEREZ; TVAROŠKA, 2014).

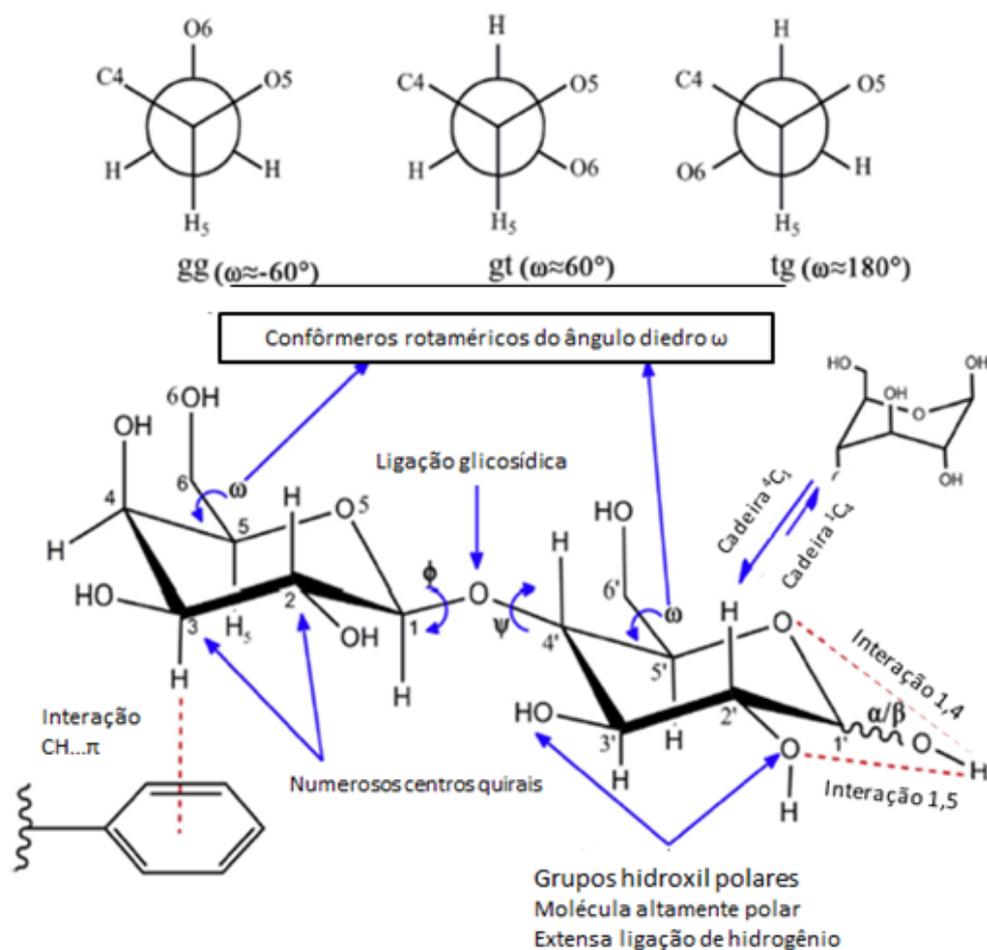


Figura 19. Ilustração de estruturas complexas de carboidratos destacando os desafios computacionais na simulação de carboidratos. Um dissacarídeo ligado 1–4 (lactose) é apresentado com a indicação dos números dos átomos e ângulos de torção da ligação glicosídica Φ e Ψ , onde $\Phi = O-5 - C-1 - O - Cn'$ e $\Psi = C-1 - O - Cn' - C(n-1)'$ para uma ligação (1 – n). Projeções de Newman (topo) dos confôrmeros rotaméricos *gauche-gauche* (gg), *gauche-trans* (gt) e *trans-gauche* (tg) do ângulo diedro ω (definido como O-5 – C-5 – C-6 – O-6 e C-4 – C-5 – C-6 – O-6) são apresentadas. A torção ω ocorre principalmente em uma das três conformações. A geometria da interação CH- π , um exemplo da conformação em cadeira ${}^4C_1/{}^1C_4$ da glicopiranosose e as interações 1,4 e 1,5 entre os átomos de hidrogênio da hidroxila C1 e oxigênio também são indicadas. Retirado de XIONG; CHEN; COSSINS; XU *et al.*, 2015.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

Até o momento, os seguintes modelos teóricos e métodos são aplicados para projetar *in silico* a estrutura tridimensional de carboidratos:

- Cálculos de MM e dinâmica molecular;
- Simulações de Monte Carlo;
- Métodos semi-empíricos;
- Simulações *ab initio* baseadas na teoria funcional da densidade e
- Abordagens híbridas MQ/MM e MQ/MQ (SCHERBININA; TOUKACH, 2020).

Devido a limitações computacionais, a maioria das publicações da última década relatou abordagens de dinâmica molecular com campos de forças gerais ou dedicados. Com o aumento do poder do computador, outros métodos ganham interesse, porém a maioria das aplicações de modelagem molecular de carboidratos, especialmente em solução, ainda usam métodos MM/Dinâmica Molecular (SCHERBININA; TOUKACH, 2020).

Nas simulações de MM, os princípios da mecânica newtoniana são aplicados para calcular a energia potencial de um sistema usando um conjunto de parâmetros específicos para uma classe de compostos em estudo (campo de forças). Características particulares da fração de carboidrato, por exemplo, enrugamento do anel, barreiras rotacionais, ligações de hidrogênio, devem ser levados em consideração para realizar uma análise precisa do comportamento molecular no vácuo ou em solução (SCHERBININA; TOUKACH, 2020)

Simulações de dinâmica molecular consideram equações de movimento newtonianas para observar a evolução de um sistema durante um determinado intervalo de tempo. A geração do conjunto de conformação ocorre por meio do cálculo de trajetória molecular a uma dada temperatura. A precisão do cálculo depende do campo de forças empregado e amostragem conformacional suficiente (SCHERBININA; TOUKACH, 2020).

Na modelagem de carboidratos podem ser utilizados vários campos de forças desenvolvidos para representação geral de uma ampla gama de compostos orgânicos, como por exemplo, MM2, MM3 e MM4 de Allinger. Destes, apesar de ser um campo de forças universal, o MM3 apresenta bom desempenho em açúcares.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO DA LITERATURA

Contudo, vários campos de forças especialmente desenvolvidos para carboidratos têm sido aplicados como CHARMM36, GLYCAM06, GROMOS e OPLS-AA-SEI (SCHERBININA; TOUKACH, 2020).

Os campos de forças clássicos, em geral, têm dificuldades de tratar variações sutis nas distribuições de cargas entre esteroisômeros e, às vezes, até entre diferentes conformações de um único monossacarídeo. Eles também têm problemas em modelar distribuições corretas de rotâmeros da ligação glicosídica para oligo- e polissacarídeos. Atualmente, alguns campos de força desenvolvidos especificamente para carboidratos atingiram um melhor desempenho do que métodos de MQ semi-empíricos. No entanto, esses campos de força recentes podem só mostrar seus pontos fracos à medida que mais dados experimentais se tornarem disponíveis (XIONG; CHEN; COSSINS; XU *et al.*, 2015).

3 JUSTIFICATIVA

O uso generalizado e sem orientação de medicamentos aliado a uma grande variedade de hábitos alimentares, composição alimentar e uso de suplementos dietéticos permite um número infinito de potenciais interações fármaco-nutriente. Embora não se saiba a proporção dessas interações que sejam clinicamente significativas, os profissionais de saúde não podem desconsiderar sua relevância na prática clínica, já que elas podem afetar negativamente o atendimento ao paciente, contribuindo para a morbidade e prolongando o tempo de tratamento e hospitalizações.

O cuidado ideal ao paciente inclui identificação, avaliação e gerenciamento das interações medicamentosas e os estudos para avaliar o efeito da alimentação na absorção de fármacos são realizados, geralmente, no período de desenvolvimento de novos medicamentos e incluem uma refeição padronizada em conteúdo nutricional e calórico.

Mais recentemente, tem havido um crescente interesse por avaliar as interações entre fármacos e nutrientes específicos. Essa interação fármaco-nutriente pode ser físico-química ou fisiológica podendo retardar, aumentar, diminuir ou não afetar a absorção de fármacos.

No caso da HA, com a utilização da terapia não medicamentosa e o aumento da ingestão de FDs, é necessário avaliar, inicialmente, *in vitro* e *in silico*, possíveis interações entre esses nutrientes e os fármacos anti-hipertensivos que são utilizados simultaneamente. Por meio dos resultados destes ensaios será possível investir em um ensaio clínico a partir de indícios de que essa interação possa ocorrer. O fato de uma interação ocorrer *in vitro* não significa necessariamente que a mesma ocorrerá também *in vivo*, mas é norteadora para a execução de um ensaio clínico e um alerta para o prescritor que deve orientar ao paciente um afastamento entre a administração do medicamento e a ingestão desse nutriente.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Avaliar, por meio de método *in vitro* e *in silico*, as possíveis interações biofarmacêuticas entre fármacos anti-hipertensivos distribuídos gratuitamente pelo SUS e pertencentes ao Programa “Aqui tem Farmácia Popular” e FDs solúveis frequentemente consumidas pela população brasileira.

4.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- Realizar busca bibliográfica e revisão da literatura sobre interação entre FDs e medicamentos utilizados para dislipidemias, *diabetes mellitus* e HA;
- Desenvolver método por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de ultravioleta (CLAE-UV) para quantificação dos fármacos anti-hipertensivos nos ensaios *in vitro* de interação com as FDs;
- Determinar a porcentagem de fármaco livre presente nos FGIs simulados utilizados nos ensaios de interação;
- Realizar estudos de modelagem e simulação de dinâmica molecular para elucidar os possíveis arranjos moleculares e os tipos de interações intermoleculares entre os fármacos e a fibra β -glucana do farelo de aveia;
- Discutir a relevância clínica da possível interação para a eficácia e segurança do fármaco anti-hipertensivo.

5 HIPÓTESES

As hipóteses deste estudo foram:

- 1) A administração simultânea das FDs (β -glucana proveniente do farelo de aveia ou Fiber mais[®] ou pectina) e dos fármacos anti-hipertensivos (atenolol ou hidroclorotiazida ou losartana potássica) não altera a fração livre dos fármacos disponível para absorção;
- 2) A administração simultânea das FDs (β -glucana proveniente do farelo de aveia ou Fiber mais[®] ou pectina) e dos fármacos anti-hipertensivos (atenolol ou hidroclorotiazida ou losartana potássica) altera a fração livre dos fármacos disponível para absorção.

6 MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 BUSCA BIBLIOGRÁFICA E REVISÃO SISTEMÁTICA (ARTIGO 1)

Inicialmente, foi definida a estratégia PICO desta pesquisa, ou seja, foi realizada a sistematização dos elementos da pergunta de pesquisa conforme o Problema (P), Intervenção (I), Comparação (C) e Desfechos (*outcome* – O).

A partir da estratégia PICO, foi realizada busca bibliográfica nas bases de dados PubMed/Medline, Scopus, Web of Science (WOS), Cochrane Library, CINAHL e Biblioteca Virtual em Saúde/Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) de ensaios clínicos que avaliassem possíveis interações entre fármacos hipolipemiantes, hipoglicemiantes e anti-hipertensivos com as FDs. Foram utilizados descritores em inglês (*Medical Subject Headings* – MeSH) e português e espanhol (Descritores em Ciências da Saúde – DeCS) para LILACS. Os operadores booleanos “AND” e “OR” foram utilizados para combinar os descritores.

6.1.1 Hipolipemiantes

Foram utilizados os termos: *interaction, dietary fiber, (1-6)-glucomannan, psyllium, guar gum, chitosan, beta-glucans, pectins, hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitors, simvastatin, pravastatin, fluvastatin, pitavastatin, atorvastatin, rosuvastatin calcium, cholestyramine resin, bezafibrate, absorption, drug liberation, biological availability, pharmacokinetics, area under curve* e *biological transport*.

Estudos clínicos randomizados ou não que avaliassem a interação entre FDs e fármacos hipolipemiantes publicados até fevereiro de 2020 foram elegíveis.

6.1.2 Hipoglicemiantes

Foram utilizados os termos: *interaction, dietary fiber, (1-6)-glucomannan, psyllium, guar gum, chitosan, beta-glucans, pectins, hypoglycemic agents, sulfonylurea compounds, chlorpropamide, glyburide, glipizide, glicazide, glimeripide, repaglinide, nateglinide, biguanides, metformin, pioglitazone, sitagliptin phosphate, vildagliptin, saxagliptin, linagliptin, alogliptin, exenatide, liraglutide, lixisenatide, dulaglutide, semaglutide, dapagliflozin, empagliflozin, canagliflozin, absorption, drug liberation, biological availability, pharmacokinetics, area under curve* e *biological transport*.

6 MATERIAIS E MÉTODOS

Estudos clínicos randomizados ou não que avaliassem a interação entre FDs e fármacos hipoglicemiantes publicados até outubro de 2020 foram elegíveis.

6.1.3 Anti-hipertensivos

Foram utilizados os termos: *interaction, dietary fiber, (1-6)-glucomannan, psyllium, guar gum, chitosan, beta-glucans, pectins, antihypertensive agentes, diuretics, adrenergic beta-antagonists, adrenergic alpha-2 receptor agonists, calcium channel blockers, angiotensin-converting enzyme inhibitors, vasodilator agentes, absorption, drug liberation, biological availability, pharmacokinetics, area under curve e biological transport.*

Estudos clínicos randomizados ou não que avaliassem a interação entre FDs e fármacos anti-hipertensivos publicados até dezembro de 2020 foram elegíveis.

6.2 ESCOLHA DOS FÁRMACOS PARA ESTUDOS DE INTERAÇÃO *IN VITRO* E *IN SILICO*

Para a avaliação da interação entre FDs e fármacos anti-hipertensivos, foram selecionados medicamentos que são disponibilizados pelo Programa “Aqui tem Farmácia Popular” por serem bastante prescritos pelos médicos e também pela facilidade de acesso da população aos mesmos, já que são medicamentos oferecidos pelo referido programa como gratuidade.

Dentre os medicamentos possíveis (ATL, captopril, enalapril, HCTZ, LST e propranolol), foram excluídos os fármacos que são classificados no SCB como Classe 1 (captopril, enalapril e propranolol), pois são fármacos que possuem alta solubilidade e permeabilidade no TGI, e que, conseqüentemente são menos afetados por interações que influenciam na etapa de absorção.

6 MATERIAIS E MÉTODOS

6.3 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA POR CLAE-UV PARA QUANTIFICAÇÃO DOS FÁRMACOS NOS FLUIDOS GÁSTRICO E INTESTINAL SIMULADOS (ARTIGO 2)

6.3.1 Materiais

- Padrão farmacêutico secundário de ATL (Material de Referência Certificado) –
99,4% de pureza
Lote: LRAC4829 – Sigma-Aldrich
Validade: Janeiro/2024
- Padrão farmacêutico secundário de HCTZ (Material de Referência Certificado) –
99,7% de pureza
Lote: LRAB5026 – Sigma-Aldrich
Validade: Dezembro/2022
- Padrão farmacêutico secundário de LST (Material de Referência Certificado) – 99,9%
de pureza
Lote: LRAC5655 – Sigma-Aldrich
Validade: Abril/2024
- Farelo de aveia – Quaker®
Lote: 145
Validade: 31/05/2022
Informação nutricional: Em 10 g de farelo de aveia, há 0,8 g de β -glucana.
- Fiber Mais® – Nestlé
Lote: 106412105
Validade: 01/06/2022
- Pectina cítrica – comprada a granel – Casas Pedro – Empório de Especiarias
Validade: 23/12/2021

6 MATERIAIS E MÉTODOS

- Acetonitrila (ACN) grau HPLC – J. T. Baker®
- Metanol (MeOH) grau HPLC – J. T. Baker®
- Fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄) – J. T. Baker®
- Cloreto de sódio (NaCl) – J. T. Baker®
- Hidróxido de sódio (NaOH) – J. T. Baker®
- Ácido fosfórico 85% (H₃PO₄) (solução em água) – Scharlau®
- Ácido clorídrico (HCl) – Scharlau®
- Dispositivos de ultrafiltração - Amicon Centrifree® (com corte de peso molecular de 30KDa) – Merck do Brasil®.

6.3.2 Instrumentação

O cromatógrafo líquido de alta eficiência consiste no modelo 1220 *Infinity II Compact LC System all-in-one* equipado com um detector de ultravioleta. Os dados foram adquiridos e processados usando o software *Agilent OpenLAB CDS (EZChrom edition)* versão A.04.09. A coluna cromatográfica utilizada foi Kromasil 100 C18 (Phenomenex, 250 × 4.6mm x 5.0 μm), protegida por uma pré-coluna de mesmo material.

6.3.3 Métodos

6.3.3.1 Condições cromatográficas

A FM utilizada foi KH₂PO₄ 0,01M contendo H₃PO₄ (pH 3) (A) e ACN (B) com eluição em gradiente com um tempo total de corrida de 25 minutos (Quadro 2). Um volume de 25 μL de amostra foi injetado na coluna mantida a 25 ± 1°C. ATL, HCTZ e LST foram monitorados em 232 nm.

6 MATERIAIS E MÉTODOS

Quadro 2. Etapas da eluição em gradiente

Tempo	Fluxo (mL/min)	A (%)	B (%)
0.0	1.0	85.0	15.0
3.5	1.0	85.0	15.0
4.0	1.5	75.0	25.0
8.0	1.5	75.0	25.0
8.5	1.5	65.0	35.0
20.5	1.5	65.0	35.0
21.0	1.0	85.0	15.0
25.0	1.0	85.0	15.0

6.3.3.2 Preparo de soluções estoque, calibradores e controles de qualidade (CQ)

Foram preparadas soluções estoque de ATL (20 mg/mL), HCTZ (20 mg/mL) e LST (40 mg/mL) em MeOH. Cinco padrões para curva de calibração (5, 10, 20, 40 e 60 µg/mL, para ATL e HCTZ e 10, 20, 40, 80 e 120 µg/mL, para LST) foram preparados por diluição apropriada em FGIs. As amostras CQ baixa (CQB), média (CQM) e alta (CQA) foram preparadas nas concentrações de 15, 30 e 50 µg/mL, respectivamente, para ATL e HCTZ, e 30, 60 e 100 µg/mL para LST. Estas soluções foram estocadas a -20°C.

6.3.3.3 Preparo dos fluidos gastrointestinais

Os FGIs foram preparados de acordo com Farmacopéia Brasileira – 6ª edição (ANVISA, 2019).

6.3.3.3.1 Fluido gástrico simulado (FGS) sem enzimas pH 1,2

Foram dissolvidos 2g de NaCl em 100 mL de água. Depois, foram adicionados 7 mL de HCl e avolumados com água para 1000 mL. O pH foi ajustado com HCl em 1,2 ±0,1.

6.3.3.3.2 Fluido intestinal simulado (FIS) sem pancreatina pH 6,8

Foram misturados 250 mL de solução de KH₂PO₄ 0,2 M e 112 mL de NaOH 0,2 M e, depois, foram avolumados para 1000 mL com água. O pH foi ajustado para 6,8 ± 0,1 com NaOH 0,2 M.

6.3.3.4 Validação da metodologia analítica

O método desenvolvido para quantificação dos fármacos ATL, HCTZ e LST foi validado seguindo o Guia de Validação de Métodos Analíticos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) - Resolução RDC N° 166/2017 (ANVISA, 2017) com relação a parâmetros de seletividade, linearidade, precisão, exatidão e efeito matriz.

6.3.3.4.1 Seletividade

Para demonstrar a seletividade do método, amostras branco de FGS e FIS foram injetadas para comprovar que a resposta analítica se deve exclusivamente aos analitos, na ausência de interferentes da matriz nos tempos de retenção dos mesmos. Além disso, como nos ensaios de interação foram utilizados dispositivos de ultrafiltração, esses mesmos fluidos foram injetados após filtração, com a finalidade de demonstrar a ausência de interferentes provenientes do dispositivo.

Também foram injetados FGS e FIS adicionados das fibras (β -glucana, Fiber mais® e pectina) que foram comparados com as amostras dos mesmos fluidos adicionados com os analitos ATL, HCTZ e LST na concentração do CQB. Para o método ser considerado seletivo, as respostas de picos interferentes próximo ao tempo de retenção dos analitos nas amostras brancas e adicionadas de fibras devem ser inferiores a 15% da resposta do analito nas amostras do CQB.

6.3.3.4.2 Linearidade

A linearidade do método foi estabelecida pela adição dos padrões analíticos de ATL e HCTZ (5 – 60 $\mu\text{g/mL}$) e LST (10 – 120 $\mu\text{g/mL}$) em FGS e FIS, utilizando 5 concentrações diferentes e análise em triplicata. As curvas de calibração foram obtidas plotando-se a resposta analítica individual (área do pico dos analitos) contra suas respectivas concentrações nominais. Por meio de regressão linear foi obtida a equação da reta, estimada pelo método dos mínimos quadrados, e o coeficiente de correlação (R^2) que deve ser maior que 0,990.

Além disso, a homocedasticidade dos dados foi avaliada pela comparação de variâncias, utilizando teste de Cochran e considerando nível de significância de 5%.

6.3.3.4.3 Efeito matriz

Para avaliar o efeito matriz, foram preparadas 3 curvas em FGS, FIS e ACN. Os calibradores de cada curva foram preparados nas mesmas concentrações do teste de linearidade, utilizando 5 concentrações e em triplicata. O paralelismo das curvas foi avaliado pelo teste F (*Snedecor*) de homogeneidade de variâncias por nível de concentração e teste t (*Student*) de comparação das médias por nível de concentração. Os cálculos foram realizados por meio da ferramenta análise de dados, utilizando o Microsoft Excel®.

Para cada conjunto de amostras foi avaliado se as variâncias eram estatisticamente iguais e, depois, foi realizado o teste t presumindo-se duas amostras de variâncias equivalentes. Caso o valor de t calculado seja menor que o valor t crítico bi-caudal (tabelado), considerando o nível de significância de 5% no teste de hipóteses, as curvas são consideradas paralelas, sendo indicativo da ausência de interferência dos constituintes da matriz

6.3.3.4.4 Precisão e Exatidão

A precisão e exatidão do método foram avaliadas em FGS e FIS, utilizando 3 concentrações: CQB, CQM e CQA, com 4 réplicas em cada nível individualmente preparadas e analisadas no mesmo dia, em uma única corrida analítica (intra-ensaio) e em 3 diferentes dias (inter-ensaio).

A precisão, que é a proximidade entre os resultados obtidos por meio dos ensaios, foi demonstrada pela dispersão dos resultados, calculando-se o desvio padrão relativo (DPR) da série de medições conforme a fórmula $DPR = (DP/CMD) \times 100$, em que DP é o desvio padrão e CMD, a concentração média determinada experimentalmente.

A exatidão foi expressa pela relação percentual de recuperação de cada analito de concentração conhecida adicionado à amostra pela fórmula: recuperação = $(CMD / \text{concentração teórica}) \times 100$, onde CMD é a concentração média determinada experimentalmente.

Foram aceitos valores de desvio de até 15% para o DPR e percentuais de recuperação.

6 MATERIAIS E MÉTODOS

6.4 ENSAIO *IN VITRO* PARA AVALIAÇÃO DA POSSÍVEL INTERAÇÃO ENTRE OS FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS, ATL, HCTZ E LST, COM AS FIBRAS β -GLUCANA DA AVEIA, FIBER MAIS® E PECTINA (ARTIGO 3)

6.4.1. Materiais

Nos ensaios *in vitro* de avaliação da interação fármaco-nutriente, foram utilizados os mesmos materiais descritos no item 6.3.1.

6.4.2. Instrumentação

Além do cromatógrafo líquido descrito no item 6.3.2, foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Agitador magnético – modelo 752 – Fisatom®
- Centrífuga Sorvall ST 16 R – Thermo Scientific®

6.4.3 Métodos

6.4.3.1 Preparação dos fluidos gastrointestinais simulados

Com o objetivo de simular as condições *in vivo*, foram utilizados nos ensaios *in vitro* de interação, os FGIs simulados descritos na Farmacopéia Brasileira nos pHs 1,2; 6,8 e 7,5 (ANVISA, 2019).

Porém, como a maioria dos fármacos são ácidos ou bases fracas, também é importante avaliar uma possível interação em pH próximo e igual ao pKa do fármaco, se este estiver entre 1,2 e 7,5, que corresponde a faixa de pH em que ocorre a absorção GI. Dentre os fármacos avaliados, somente LST tem pKa nesta faixa e, por isso, avaliamos a sua interação também em pH 3,1; 4,1; 5,1 e 6,1.

Os fluidos foram preparados conforme descrito no item 6.3.3.3 porém ajustando o pH para os valores citados acima.

6.4.3.2 Preparação das misturas dos fármacos anti-hipertensivos com as fibras dietéticas

As misturas de fármacos e FDs foram preparadas de acordo com as doses recomendadas de cada fibra e cada fármaco. Assim, considerando a recomendação de consumo de 25g de fibras por dia, é indicado o uso de uma colher de sopa, ou seja, 5 g

6 MATERIAIS E MÉTODOS

de fibra a cada consumo de suplemento nutricional. Já os fármacos são administrados na dose de 25 mg para ATL e HCTZ e 50 mg para LST.

Dessa forma, 25 mg de ATL ou HCTZ ou 50 mg de LST foram dissolvidos, individualmente, em 500 mL de cada um dos fluidos testados e, posteriormente, foram adicionados 5 g dos suplementos nutricionais (farelo de aveia, Fiber mais® ou pectina cítrica), que foram incubados a 25 °C por 30 minutos em constante agitação. Amostras controles foram preparadas como descrito anteriormente, porém sem a adição das FDs. Para cada experimento ou controle foram preparadas três réplicas.

Após o tempo de incubação, 500 µL de cada solução foi centrifugada a 1500 x g por 30 min utilizando os dispositivos de ultrafiltração Amicon Centrifree® pré-tratados com água. A solução que passou através da membrana, ou seja, o fármaco livre foi quantificado por CLAE-UV utilizando o método descrito no item 6.3.

6.4.3.3 Cálculo da porcentagem de fármaco livre

A possível interação foi avaliada pela porcentagem de fármaco livre que foi calculada usando a fórmula: fármaco livre (%) = (área do pico da solução experimental / área do pico da solução controle) X 100. Foi calculado a média das áreas dos analitos para cada experimento (n=3) e o desvio padrão (DP) utilizando o Microsoft Excel®.

6.4.3.4 Análise estatística

A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk e do gráfico *normal Q-Q plot*. Foi utilizado o teste F para análise da variância e, como os dados não possuem variâncias iguais, foi realizado para análise de significância o teste *ANOVA with Tamhane's T2 Post Hoc*. Valores de $p < 0,05$ foram considerados como significância estatística.

As análises estatísticas foram realizadas no pacote estatístico SPSS *for Windows* versão 20.0.

6 MATERIAIS E MÉTODOS

6.5 MODELAGEM E SIMULAÇÃO DE DINÂMICA MOLECULAR DOS SISTEMAS MOLECULARES β -GLUCANA/FÁRMACO (ARTIGO 3)

Os estudos *in silico* foram realizados no Laboratório de Planejamento Farmacêutico e Simulação Computacional (LaPFarSC) da Faculdade de Farmácia – UFRJ

6.5.1 Programas utilizados

- Avogadro® Versão 1.90 (HANWELL; CURTIS; LONIE; VANDERMEERSCH *et al.*, 2012)
- MOPAC® 2016 (MOPAC2016, 2016)
- UCSF Chimera® V. 1.15 (PETTERSEN; GODDARD; HUANG; COUCH *et al.*, 2004)
- XenoView® V.3.4 (SHENOGIN; OZISIK, 2007)
- VMD® 1.9.3 (HUMPHREY; DALKE; SCHULTEN, 1996)

6.5.2 Dados utilizados para preparação dos sistemas moleculares β -glucana/fármaco

6.5.2.1 Preparação do sistema molecular β -glucana/ATL

- Proporções experimentais: 5 mg ATL – 80 mg β -glucana (1:16);
- Densidade da β -glucana: $\sim 1,5$ g/cm³;
- Peso molecular da β -D-glicose (resíduo) = 180,15 g/mol;
- Peso molecular do ATL: 266,33 g/mol;
- Cadeia polimérica da β -glucana: 16 monômeros

O modelo molecular preparado de β -glucana (1-3) (1-4) é um homopolímero linear de D-glicose, o qual contém três ligações β -(1-4) consecutivas separada por uma ligação β -(1-3).

O modelo parametrizado do sistema molecular contém 4 moléculas de ATL e 8 moléculas da cadeia polimérica de β -glucana (1:16).

6.5.2.2 Preparação do sistema molecular β -glucana/HCTZ

- Proporções experimentais: 5 mg HCTZ – 80 mg β -glucana (1:16);
- Densidade da β -glucana: $\sim 1,5$ g/cm³;
- Peso molecular da β -D-glicose (resíduo) = 180,15 g/mol;
- Peso molecular da HCTZ: 297,74 g/mol;
- Cadeia polimérica da β -glucana: 16 monômeros

6 MATERIAIS E MÉTODOS

O modelo parametrizado do sistema molecular contém 4 moléculas de HCTZ e 8 moléculas da cadeia polimérica de β -glucana (1:16).

6.5.2.3 Preparação do sistema molecular β -glucana/LST

- Proporções experimentais: 5 mg LST – 40 mg β -glucana (1:8);
- Densidade da β -glucana: $\sim 1,5$ g/cm³;
- Peso molecular da β -D-glicose (resíduo) = 180,15 g/mol;
- Peso molecular da LST: 422,91 g/mol;
- Cadeia polimérica da β -glucana: 16 monômeros

O modelo parametrizado do sistema molecular contém 6 moléculas de LST e 8 moléculas da cadeia polimérica de β -glucana (1:8).

6.5.3 Metodologia

Foram construídas estruturas tridimensionais (3D) dos fármacos ATL, HCTZ e LST, e do resíduo de β -D-glicose, e realizou-se a otimização geométrica inicial no programa Avogadro[®] empregando o campo de forças MMFF94 (*Merck Molecular Force Field*) (HALGREN, 1996; HANWELL; CURTIS; LONIE; VANDERMEERSCH *et al.*, 2012). As estruturas moleculares 3D foram refinadas utilizando método semi-empírico PM6 disponível no programa MOPAC[®] (MOPAC2016, 2016; STEWART, 2007). Em seguida, as cargas atômicas parciais foram obtidas utilizando o método semi-empírico AM1-bcc disponível no programa Chimera[®] (PETTERSEN; GODDARD; HUANG; COUCH *et al.*, 2004). No programa Xenoview[®] foram realizadas as parametrizações das moléculas utilizando o campo de forças PCFF (*Polymer Consistent Force Field*), além da polimerização da estrutura da β -glucana e preparação da célula amorfa contendo as moléculas dos fármacos e β -glucana para as simulações de dinâmica molecular (SHENOGIN; OZISIK, 2007). Os sistemas moleculares foram otimizados e equilibrados durante 500 ps a 298 K. As simulações de dinâmica molecular foram realizadas por 10 ns a 298 K, utilizando termostato de Berendsen, tempo de integração de 1 fs, com volume variável e forma da caixa de simulação restrita (BERENDSEN; POSTMA; VAN GUNSTEREN; DINOLA *et al.*, 1984). As interações intermoleculares foram analisadas utilizando o programa VMD[®] (HUMPHREY; DALKE; SCHULTEN, 1996).

7 RESULTADOS

7.1 BUSCA BIBLIOGRÁFICA E REVISÃO SISTEMÁTICA (ARTIGO 1)

O Quadro 3 mostra a estratégia PICO definida para esta pesquisa. A partir desta estratégia foi realizada a busca bibliográfica nas bases de dados com cada classe de fármaco separadamente.

Quadro 3. Estratégia PICO

Problema		Intervenção	Comparação	Desfecho
Interação fármaco (hipolipemiante ou hipoglicemiante ou anti-hipertensivo)	fibra-	Administração dos fármacos em associação com as FDs	Administração dos fármacos na ausência das FDs	Alteração da liberação / dissolução / absorção / biodisponibilidade / ASC / farmacocinética dos fármacos

Com os termos para fármacos hipolipemiantes foram identificados 12 ensaios clínicos que envolviam interações entre fármacos, como as estatinas (sinvastatina, lovastatina, atorvastatina, pravastatina e rosuvastatina), genfibrozila, colestiramina e benzafibrato, e fibras como psyllium, goma guar, β -glucana da aveia, pectina, hidroxipropilmetilcelulose e inulina. De maneira geral, esses ensaios mostram que associação entre os fármacos hipolipemiantes e fibras solúveis, levam a um efeito aditivo na redução de colesterol total e da fração LDL (nem sempre estatisticamente significativa), porém não mostram o efeito da fibra nas concentrações sanguíneas dos fármacos (AGRAWAL; TANDON; SHARMA, 2007; MACIEJKO; BRAZG; SHAH; PATIL et al., 1994; MAKI; CARSON; MILLER; ANDERSON et al., 2009; MARTÍNEZ-ABUNDIS; BARRERA-DURÁN; GONZÁLEZ-ORTIZ; HERNÁNDEZ-SALAZAR, 2016; MOREYRA; WILSON; KORAYM, 2005; SCHWANDT; RICHTER; WEISWEILER; NEUREUTHER, 1982; TUOMILEHTO; SILVASTI; MANNINEN; UUSITUPA et al., 1989; UUSITUPA; EBELING; HAPPONEN; VOUTILAINEN et al., 1991; UUSITUPA; MIETTINEN; HAPPONEN; EBELING et al., 1992; WIRTH; MIDDELHOFF; BRAEUNING; SCHLIERF, 1982). Apenas um estudo relatou ter encontrado mudanças similares nas quantidades de colesterol total e fração LDL quando utilizou rosuvastatina sozinha ou em associação com fibras solúveis (não descritas) e/ou

7 RESULTADOS

sinvastatina com associação de ezetimibe ou sinvastatina com associação de ezetimibe e fibras solúveis (RAMOS; FONSECA; KASMAS; MOREIRA et al., 2011). Além disso, apenas um ensaio de associação de lovastatina com pectina e β -glucana do farelo de aveia mostrou aumento nas concentrações de LDL que foi associado a uma redução na absorção de lovastatina. No entanto, dados de concentrações do fármaco não foram mostrados (RICHTER; JACOB; SCHWANDT, 1991).

Com a observação de que a maioria desses ensaios já relatavam o desfecho clínico da associação entre os fármacos hipolipemiantes e as FDs e não mostravam o que acontecia com as concentrações dos fármacos, decidiu-se não incluí-los na primeira publicação decorrente deste trabalho.

Na busca bibliográfica utilizando termos relacionados aos fármacos hipoglicêmicos foram selecionados 5 artigos que avaliavam tanto o desfecho clínico, ou seja, o que acontecia com a concentração de glicose dos pacientes, quanto o que ocorria com as concentrações dos fármacos estudados após o uso do mesmo em concomitância com a FD. A partir desta busca, originou-se o primeiro artigo (Anexo A) relacionado a esta tese que é uma revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados.

Nesta revisão, observou-se que em três ensaios houve diminuição da ASC de absorção dos fármacos metformina, glibenclamida e gliclazida quando administrados em concomitância com as fibras goma guar e glucomanana, porém não houve diferença nas concentrações de glicose sanguínea pós-prandial quando os fármacos foram administrados sozinhos ou em concomitância com as FDs (GIN; ORGERIE; AUBERTIN, 1989; SHIMA, 1982; SHIMA; TANAKA; IKEGAMI; TABATA *et al.*, 1983).

Nos outros dois ensaios não houve diminuição da ASC de absorção dos fármacos gliplizida e glibenclamida quando administrados com goma guar (HUUPPONEN; KARHUVAARA; SEPPÄLÄ, 1985; UUSITUPA; SÖDERVIK; SILVASTI; KARTTUNEN, 1990).

Já quando foi feita a busca com termos para fármacos anti-hipertensivos, não foram encontrados ensaios clínicos que avaliassem a interação desta classe farmacêutica com FDs, embora existam alguns testes *in vitro* (DONGOWSKI; NEUBERT; HAASE; SCHNORRENBERGER, 1996; IWAZAKI; TAKAHASHI; TAMEZANE; TANAKA *et al.*, 2014; IWAZAKI; TAKAHASHI; MIYAKE; HIROSHIMA *et al.*, 2016) e um ensaio em animais

7 RESULTADOS

(REPPAS; ELEFTHERIOU; MACHERAS; SYMILLIDES *et al.*, 1998). Devido a essa lacuna na literatura, escolheu-se realizar os testes *in vitro* e *in silico* deste trabalho com os fármacos anti-hipertensivos.

7.2 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA POR CLAE-UV PARA QUANTIFICAÇÃO DOS FÁRMACOS NOS FLUIDOS GÁSTRICO E INTESTINAL SIMULADOS (ARTIGO 2)

Diferentes tipos de coluna, solventes, força do solvente (proporção de solvente orgânico na FM e pH da solução tampão), fluxo de FM e comprimento de onda para detecção foram testados e usados para otimizar as condições cromatográficas que permitissem um método preciso e exato para ATL, HCTZ e LST determinados simultaneamente em FGS e FIS.

A melhor metodologia analítica que nos permitiu uma separação de qualidade em termos de simetria do pico, resolução e tempo de execução razoável foi obtida utilizando a coluna Kromasil 100 C18 (250 × 4,6 mm, 5 µm) com fase móvel ACN e KH₂PO₄ contendo H₃PO₄ (pH 3) em gradiente. A detecção foi feita em 232 nm, comprimento de onda que permitiu a quantificação de todos os analitos. Os tempos médios de detecção para ATL, HCTZ e LST foram de 3,200, 7,053 e 17,247 min, respectivamente, conforme a Figura 20.

7 RESULTADOS

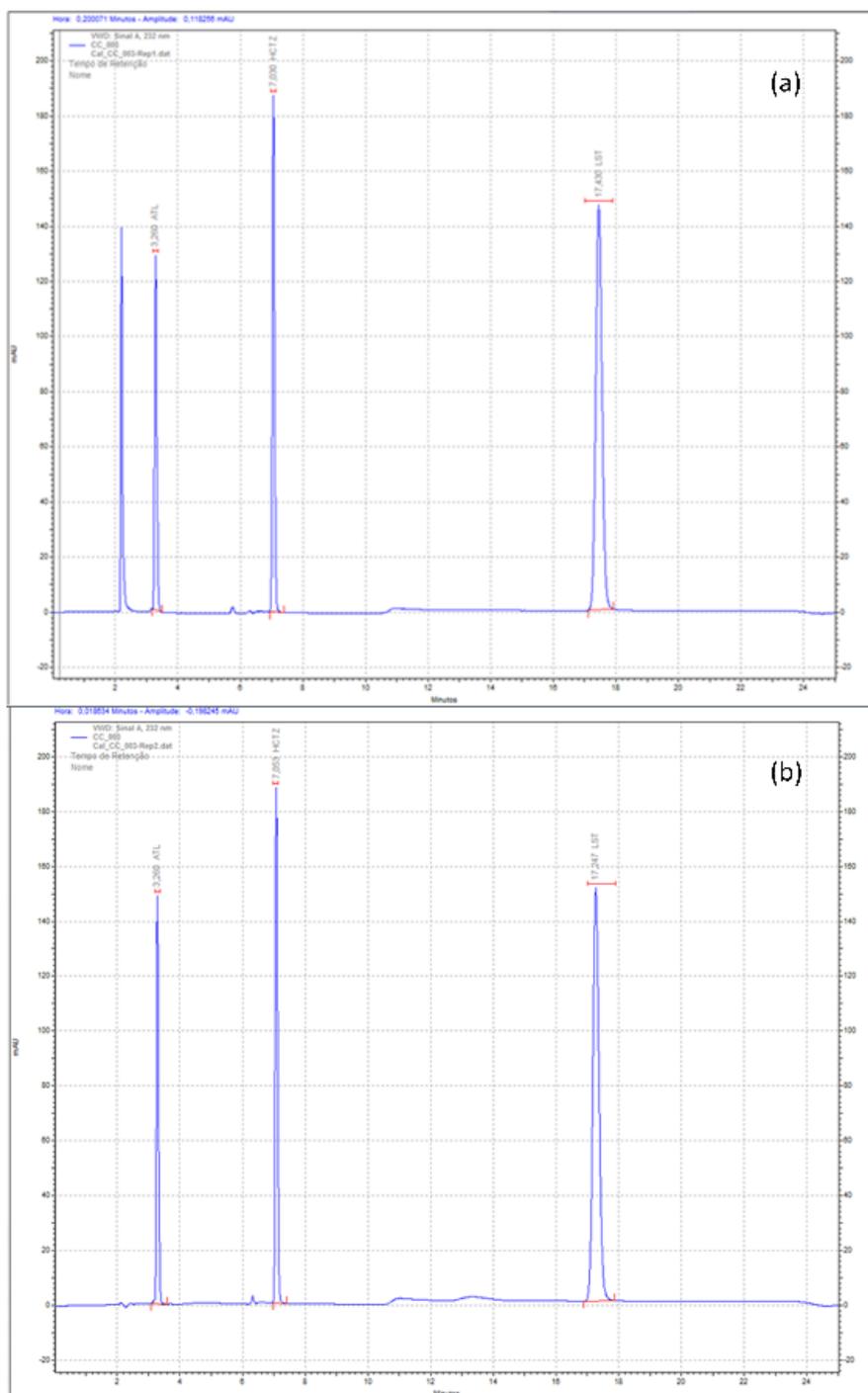


Figura 20. Perfil cromatográfico de ATL 20 µg/mL (T_R : 3,200 min), HCTZ 20 µg/mL (T_R : 7,053 min) e LST 40 µg/mL (T_R : 17,247 min) em FGS (a) e FIS (b). Onde T_R corresponde ao tempo de retenção do analito.

7 RESULTADOS

7.2.1. Validação do método analítico

7.2.1.1. Seletividade

No ensaio de seletividade, foram injetadas amostras branco de FGS filtrada e não filtrada (Figura 21a) e FIS filtrada e não filtrada (Figura 21b). Pode-se observar pela sobreposição de cromatogramas, a ausência de interferentes provenientes do dispositivo de ultrafiltração.

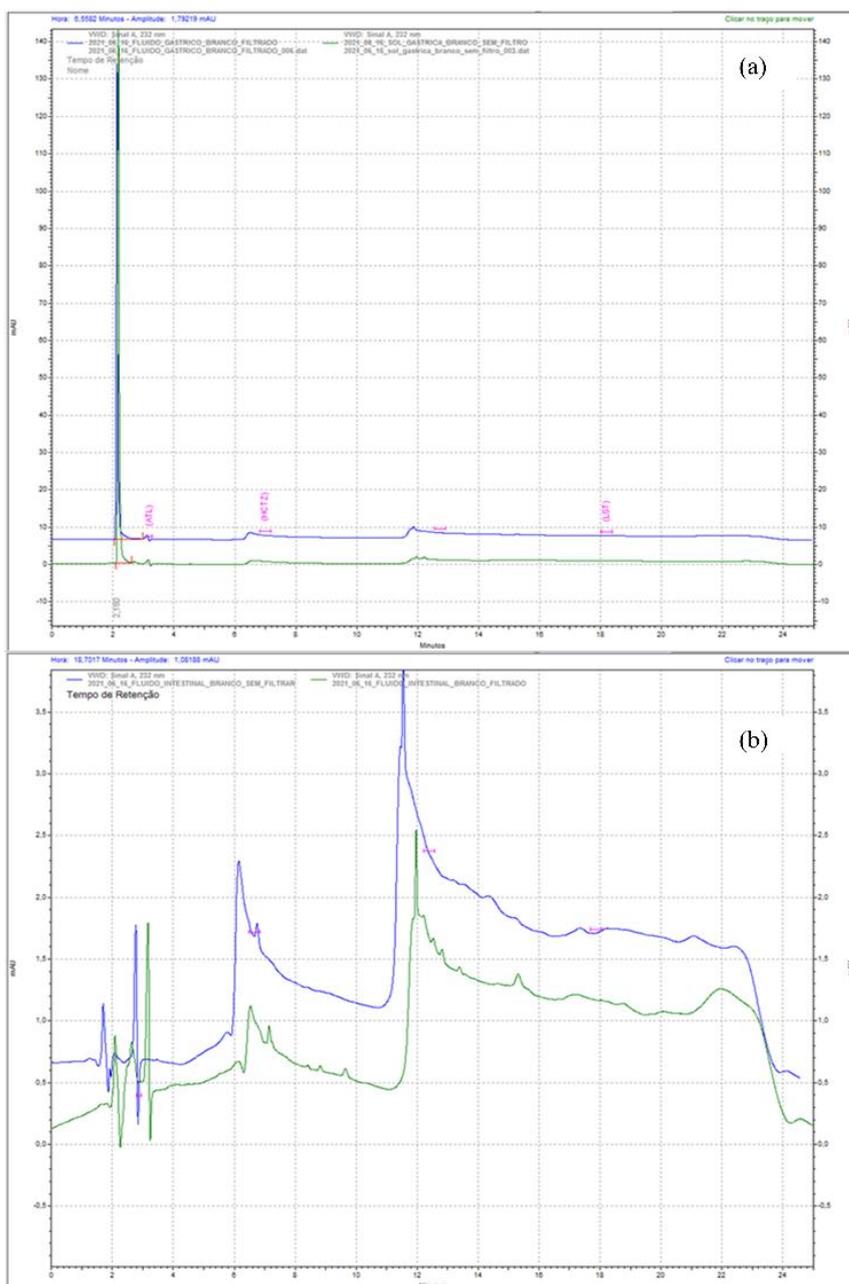


Figura 21. Sobreposição de cromatogramas de FGS filtrado e não filtrado (a) e FIS filtrado e não filtrado.

7 RESULTADOS

Além disso, foram adicionadas as FDs (β -glucana, Fiber mais[®] e pectina) ao FGS e FIS e as respostas de picos interferentes próximo ao tempo de retenção dos analitos foram avaliadas.

Todas as fibras testadas apresentaram um pequeno pico interferente próximo ao tempo de retenção de ATL, porém a maior resposta desse pico correspondeu a 2,57% da área de pico do ATL na amostra de CQB. Enquanto isso, nenhuma fibra apresentou pico interferente no tempo de retenção de HCTZ e, apenas β -glucana da aveia em FIS apresentou um pico interferente próximo ao tempo de retenção de LST que correspondeu a 5,86% de sua área de pico na amostra de CQB (Figura 22).

7 RESULTADOS

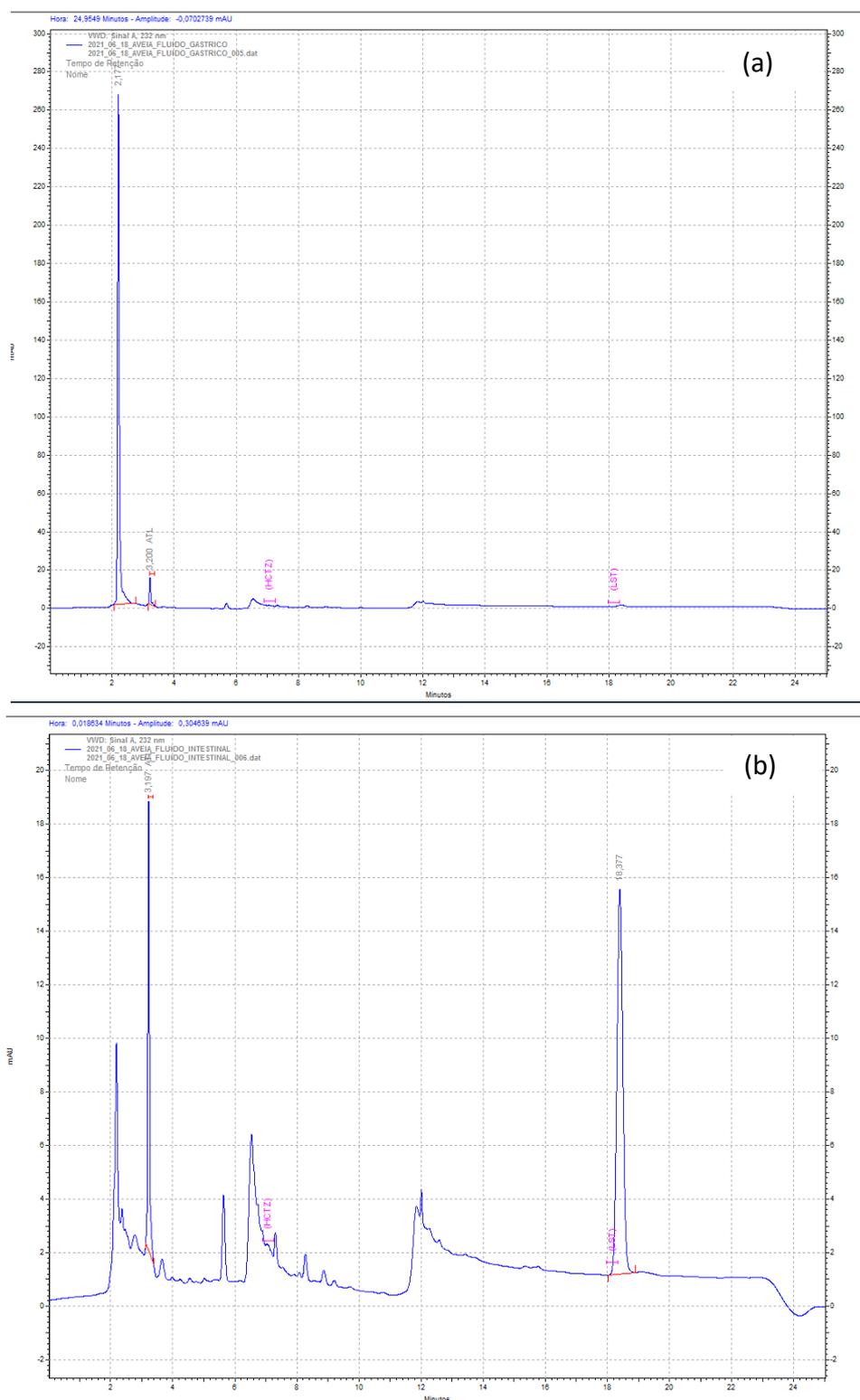


Figura 22. Cromatogramas de (a) farelo de aveia em FGS; (b) farelo de aveia em FIS; (c) Fiber mais® em FGS; (d) Fiber mais® em FIS; (e) pectina em FGS e, (f) pectina em FIS.

7 RESULTADOS

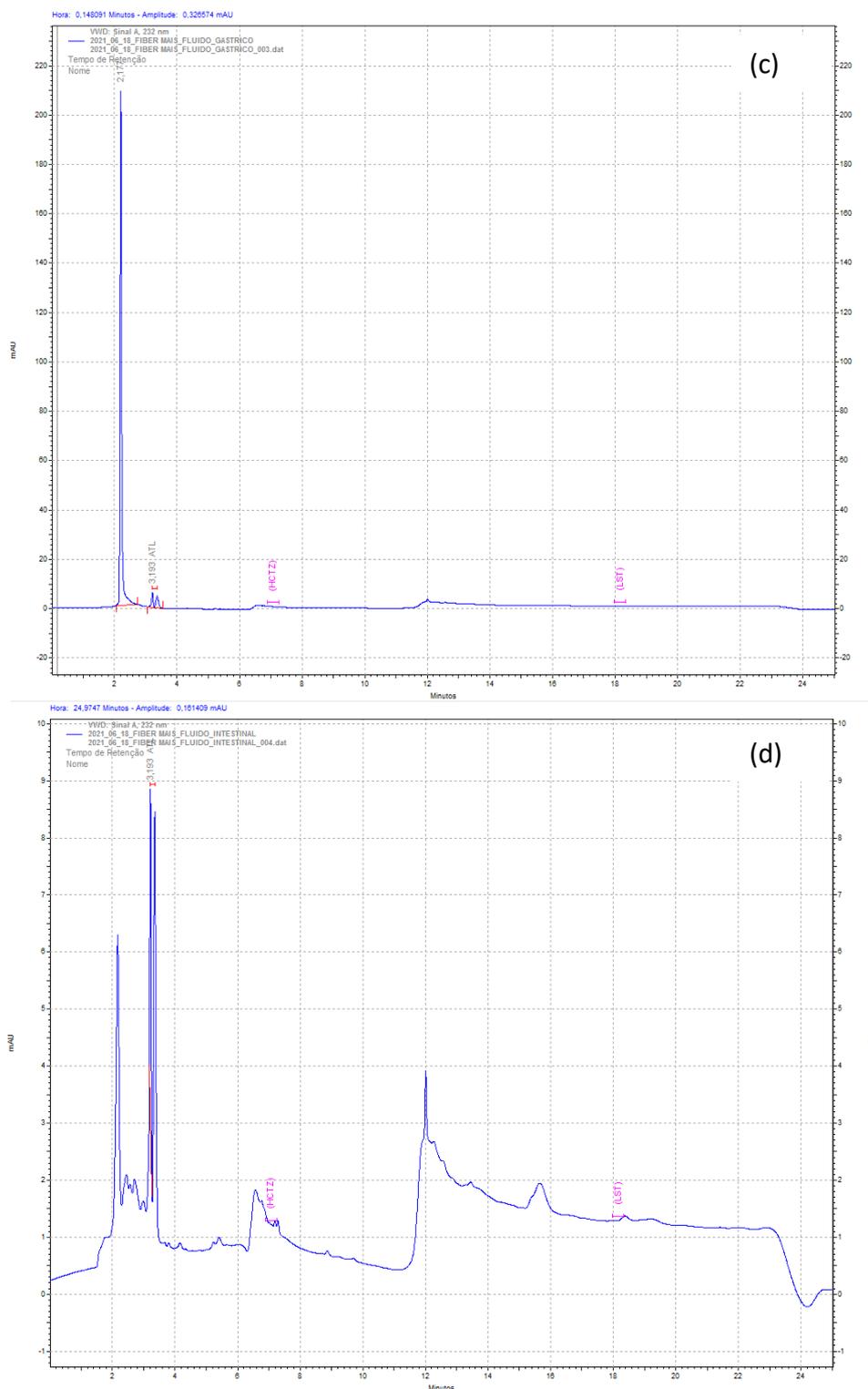


Figura 22 - continuação. Cromatogramas de (a) farelo de aveia em FGS; (b) farelo de aveia em FIS; (c) Fiber mais® em FGS; (d) Fiber mais® em FIS; (e) pectina em FGS e (f) pectina em FIS.

7 RESULTADOS

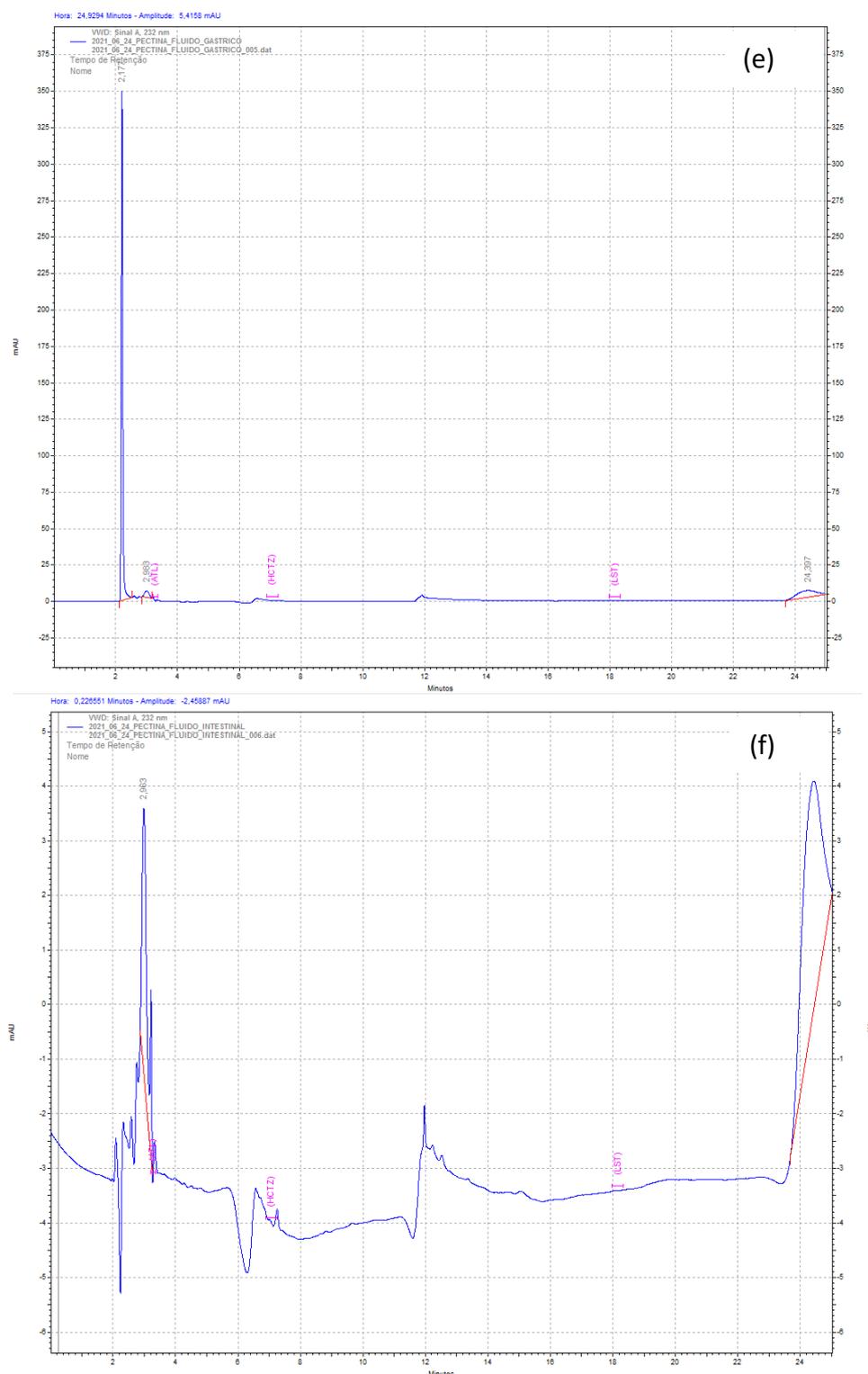


Figura 22 - continuação. Cromatogramas de (a) farelo de aveia em FGS; (b) farelo de aveia em FIS; (c) Fiber mais® em FGS; (d) Fiber mais® em FIS; (e) pectina em FGS e, (f) pectina em FIS.

7 RESULTADOS

7.2.1.2. Linearidade

O método mostrou linearidade na faixa de concentração de 5 – 60 µg/mL para ATL e HCTZ e 10 – 120 µg/mL para LST em ambos FGS e todas as curvas de calibração apresentaram coeficiente de correlação $R^2 > 0,990$, conforme a Tabela 1.

O teste de Cochran para cada curva de todos os analitos, tanto em FGS, quanto em FIS confirmou a homocedasticidade dos dados.

Tabela 1. Parâmetros descrevendo a linearidade das curvas de calibração para de cada analito em FGS e FIS

Analito	Fluido	Data	Equação de regressão	Coeficiente de correlação (R^2)
ATL	FGS	Validação dia 1	$y = 499589.0550 x + 323355.5825$	0.9996
		Validação dia 2	$y = 433582.1704 x + 610369.4671$	0.9980
		Validação dia 3	$y = 480250.7006 x + 407611.0160$	0.9995
ATL	FIS	Validação dia 1	$y = 606790.4644 x + 165708.5272$	0.9977
		Validação dia 2	$y = 634759.7239 x + 333890.7220$	0.9977
		Validação dia 3	$y = 627081.5734 x + 399458.2516$	0.9997
HCTZ	FGS	Validação dia 1	$y = 681705.3157 x + 1051327.1426$	0.9983
		Validação dia 2	$y = 683230.2361 x + 1411857.6931$	0.9937
		Validação dia 3	$y = 683065.3426 x + 995000.1490$	0.9983
HCTZ	FIS	Validação dia 1	$y = 743.815.7319 x + 1256609.1723$	0.9974
		Validação dia 2	$y = 765631.8418 x + 1472840.3373$	0.9965
		Validação dia 3	$y = 762960.7519 x + 1436574.9647$	0.9979
LST	FGS	Validação dia 1	$y = 862157.5201 x - 298826.2861$	0.9982
		Validação dia 2	$y = 888430.0393 x + 851694.3421$	0.9954
		Validação dia 3	$y = 863472.7478 x - 226389.6498$	0.9984
LST	FIS	Validação dia 1	$y = 974171.3775 x - 327893.5841$	0.9958
		Validação dia 2	$y = 1021851.7390 x + 131113.8261$	0.9973
		Validação dia 3	$y = 1005957.1848 x + 165918.4888$	0.9985

7.2.1.3. Efeito matriz

A ausência de efeito matriz foi demonstrada pelo paralelismo entre as curvas de cada analito preparada em FGS ou FIS e comparada com a curva preparada em ACN. Como o valor de F calculado foi menor que o valor de F tabelado (6,39 para 5 determinações com nível de significância de 5%), as variâncias por nível de concentração são consideradas estatisticamente iguais. Como o valor de t calculado foi menor que o

7 RESULTADOS

valor de t tabelado (2,31 para 5 determinações com nível de significância de 5%) foi confirmada a ausência de efeito matriz.

Os valores de F calculado e t calculado são mostrados na Tabela 1.

Tabela 2. Valores de F calculado e t calculado para as curvas de cada analito em FGS e FIS em comparação com a curva analítica em ACN

Analito	Fluido	F tabelado (95%)	F calculado	t tabelado (95%)	t calculado
ATL	FGS	6,39	1,49	2,31	0,31
	FIS		1,24		0,12
HCTZ	FGS		1,30		0,16
	FIS		1,27		0,13
LST	FGS		1,00		0,015
	FIS		1,02		0,019

7.2.1.4. Precisão e Exatidão

As tabelas 2, 3 e 4 apresentam os dados de precisão e exatidão intra- e inter-ensaio para ATL, HCTZ e LST, respectivamente. A precisão e exatidão intra-ensaio foram determinadas ao longo de 3 dias ($n=4$ em cada dia). Para o ATL, o DPR foi inferior a 3,07% e a exatidão variou entre 95,09 – 106,92%. Para HCTZ, o DPR foi inferior a 1,82% e a exatidão variou entre 99,74 – 109,51%. Enquanto que para LST, o DPR foi inferior a 2,14% e a exatidão variou entre 93,62 – 109,19%.

A precisão e exatidão inter-ensaio foi avaliada com 12 réplicas de cada CQ em 3 dias e todos os valores de DPR e porcentagem de recuperação foram menores que o desvio de 15% permitido para o método.

7 RESULTADOS

Tabela 3. Repetibilidade, precisão intermediária e exatidão de ATL em FGS e FIS

Concentração nominal ($\mu\text{g/mL}$)		FGS			FIS		
		CQB	CQM	CQA	CQB	CQM	CQA
		15	30	50	15	30	50
Intra-ensaio (n=4)							
Dia 1	Média \pm DP	14,48 \pm 0,15	30,45 \pm 0,08	47,54 \pm 0,43	15,34 \pm 0,09	31,56 \pm 0,97	52,68 \pm 0,51
	Precisão (DPR)	1,02	0,26	0,91	0,57	3,07	0,96
	Exatidão (%)	95,50	101,49	95,09	102,25	105,19	105,37
Dia 2	Média \pm DP	14,34 \pm 0,02	30,36 \pm 0,56	49,07 \pm 0,95	15,04 \pm 0,15	32,07 \pm 0,30	52,16 \pm 0,71
	Precisão (DPR)	0,11	1,86	1,93	1,03	0,93	1,37
	Exatidão (%)	95,60	101,21	98,14	100,29	106,92	104,32
Dia 3	Média \pm DP	14,53 \pm 0,09	30,22 \pm 0,32	48,09 \pm 0,46	14,76 \pm 0,14	31,64 \pm 0,37	52,38 \pm 0,92
	Precisão (DPR)	0,59	1,04	0,95	0,93	1,16	1,76
	Exatidão (%)	96,86	100,74	96,17	98,28	105,47	104,76
Inter-ensaio (n=12)							
	Média \pm DP	14,44 \pm 0,12	30,34 \pm 0,35	48,23 \pm 0,89	15,04 \pm 0,27	31,76 \pm 0,61	52,41 \pm 0,70
	Precisão (DPR)	0,82	1,16	1,84	1,82	1,92	1,34
	Exatidão (%)	96,3	101,15	96,47	100,31	105,86	104,82

DP: desvio padrão; DPR: desvio padrão relativo

7 RESULTADOS

Tabela 4. Repetibilidade, precisão intermediária e exatidão de HCTZ em FGS e FIS

Concentração nominal ($\mu\text{g/mL}$)		FGS			FIS		
		CQB	CQM	CQA	CQB	CQM	CQA
		15	30	50	15	30	50
Intra-ensaio (n=4)							
Dia 1	Média \pm DP	15,19 \pm 0,08	31,22 \pm 0,08	51,67 \pm 0,26	15,19 \pm 0,14	31,98 \pm 0,45	52,92 \pm 0,43
	Precisão (DPR)	0,55	0,25	0,51	0,91	1,40	0,81
	Exatidão (%)	101,27	104,08	103,34	101,29	106,61	105,84
Dia 2	Média \pm DP	15,17 \pm 0,28	32,02 \pm 0,44	52,67 \pm 0,27	14,96 \pm 0,15	32,75 \pm 0,22	52,66 \pm 0,47
	Precisão (DPR)	1,82	1,37	0,52	1,00	0,69	0,89
	Exatidão (%)	101,12	106,76	105,38	99,74	109,16	105,33
Dia 3	Média \pm DP	15,35 \pm 0,03	32,61 \pm 0,23	52,05 \pm 0,20	14,83 \pm 0,09	32,55 \pm 0,26	52,69 \pm 0,75
	Precisão (DPR)	0,17	0,71	0,38	0,60	0,79	1,42
	Exatidão (%)	102,33	108,71	104,09	98,87	109,51	105,39
Inter-ensaio (n=12)							
	Média \pm DP	15,24 \pm 0,18	31,96 \pm 0,65	52,13 \pm 0,49	15,00 \pm 0,19	32,43 \pm 0,45	52,76 \pm 0,53
	Precisão (DPR)	1,78	2,04	0,93	1,30	1,39	1,00
	Exatidão (%)	101,60	106,52	104,26	99,97	108,09	105,52

DP: desvio padrão; DPR: desvio padrão relativo

7 RESULTADOS

Tabela 5. Repetibilidade, precisão intermediária e exatidão de LST em FGS e FIS

Concentração nominal ($\mu\text{g/mL}$)		FGS			FIS		
		CQB	CQM	CQA	CQB	CQM	CQA
		30	60	100	30	60	100
Intra-ensaio (n=4)							
Dia 1	Média \pm DP	29,12 \pm 0,08	62,24 \pm 0,33	105,78 \pm 0,51	29,11 \pm 0,26	62,12 \pm 1,37	108,59 \pm 0,41
	Precisão (DPR)	0,28	0,51	0,49	0,88	2,14	0,38
	Exatidão (%)	97,08	107,07	105,78	97,32	106,86	108,59
Dia 2	Média \pm DP	28,73 \pm 0,58	65,51 \pm 0,40	107,62 \pm 0,62	28,56 \pm 0,29	65,32 \pm 0,33	107,53 \pm 1,41
	Precisão (DPR)	2,01	0,61	0,58	1,02	0,51	1,31
	Exatidão (%)	95,76	109,19	107,62	95,20	108,87	107,53
Dia 3	Média \pm DP	29,11 \pm 0,10	65,03 \pm 0,65	106,78 \pm 0,45	28,09 \pm 0,10	64,88 \pm 0,69	107,43 \pm 1,05
	Precisão (DPR)	0,34	1,01	0,42	0,36	1,07	0,98
	Exatidão (%)	97,02	108,38	106,78	93,62	108,13	107,43
Inter-ensaio (n=12)							
	Média \pm DP	28,97 \pm 0,38	64,93 \pm 0,70	106,73 \pm 0,92	28,62 \pm 0,53	64,77 \pm 0,97	107,85 \pm 1,09
	Precisão (DPR)	1,30	1,08	0,87	1,84	1,5	1,01
	Exatidão (%)	96,58	108,21	106,73	95,40	107,95	107,85

DP: desvio padrão; DPR: desvio padrão relativo

7 RESULTADOS

7.3 ENSAIO *IN VITRO* PARA AVALIAÇÃO DA POSSÍVEL INTERAÇÃO ENTRE OS FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS, ATL, HCTZ E LST, COM AS FIBRAS β -GLUCANA DA AVEIA, FIBER MAIS® E PECTINA (ARTIGO 3)

Considerando um desvio padrão relativo de $\pm 15\%$ permitido para a metodologia analítica utilizada para quantificar os fármacos ATL, HCTZ e LST, só foram consideradas como uma possível interação, porcentagens de fármaco livre menores que 85%.

7.3.1 Efeito das FDs solúveis incubadas em diferentes fluidos gastrointestinais na porcentagem de ATL livre

Nenhuma das fibras testadas, em nenhum dos FGIs, alterou de maneira relevante as porcentagens de ATL livre que permaneceram por volta de 100% (tabela 5).

Tabela 6. Porcentagens de ATL livre em diferentes FGIs

% de ATL livre (média \pm DP) (n=3)			
Fibra	Fluido Gástrico pH 1,2	Fluido Intestinal pH 6,8	Fluido Intestinal pH 7,5
B-glucana	110,60 \pm 0,75	104,73 \pm 13,96	99,20 \pm 8,37
Pectina	97,13 \pm 4,11	99,21 \pm 8,53	97,95 \pm 4,26
Fiber mais®	109,41 \pm 5,25	104,30 \pm 5,90	103,54 \pm 9,21

DP: desvio padrão

7.3.2 Efeito das FDs solúveis incubadas em diferentes fluidos gastrointestinais na porcentagem de HCTZ livre

Assim como aconteceu com ATL, nenhuma das fibras testadas, em nenhum dos FGIs testados, alterou as porcentagens de HCTZ livre que permaneceram próximas a 100% (tabela 6).

7 RESULTADOS

Tabela 7. Porcentagens de HCTZ livre em diferentes FGIs

% de HCTZ livre (média ± DP) (n=3)			
Fibra	Fluido Gástrico pH 1,2	Fluido Intestinal pH 6,8	Fluido Intestinal pH 7,5
B-glucana	91,08 ± 8,10	91,97 ± 8,16	97,12 ± 4,87
Pectina	103,42 ± 3,52	99,48 ± 12,90	103,35 ± 8,92
Fiber mais®	106,05 ± 4,68	91,35 ± 7,51	100,72 ± 9,72

DP: desvio padrão

7.3.3 Efeito das FDs solúveis incubadas em diferentes fluidos gastrointestinais na porcentagem de LST livre

Com relação a LST, nos mesmos pHs testados para os outros fármacos, apenas ocorreu interação, com $81,46 \pm 6,54$ % de fármaco livre, com a β -glucana no fluido intestinal pH 6,8 (Tabela 7).

Tabela 8. Porcentagens de LST livre em diferentes fluidos gastrointestinais

% de LST livre (média ± DP) (n=3)			
Fibra	Fluido Gástrico pH 1,2	Fluido Intestinal pH 6,8	Fluido Intestinal pH 7,5
B-glucana	85,03 ± 1,84	81,46 ± 6,54	93,22 ± 0,62
Pectina	97,97 ± 1,91	96,12 ± 8,16	114,20 ± 6,02
Fiber mais®	97,57 ± 1,05	94,22 ± 2,54	101,89 ± 6,38

DP: desvio padrão

Quando foram testados os pHs próximos e igual ao pKa da LST, também só ocorreram interações com a β -glucana, porém nos quatro pHs testados (Tabela 8).

Comparando as porcentagens de LST livre obtidas em cada pH, com 100% de fármaco livre (quando não ocorre nenhuma interação), somente a interação que ocorreu no pH 4,1 pode ser considerada estatisticamente significativa ($p = 0,004$). Já quando avaliamos a significância estatística considerando os pHs em pares (2 a 2),

7 RESULTADOS

somente encontramos interações significativas entre os pHs 4,1 e 1,2 ($p = 0,017$) e pHs 4,1 e 7,5 ($p = 0,001$) (Figura 23).

Tabela 9. Porcentagens de LST livre em FGS e FIS em diversos pHs próximos ao seu pka

% de LST livre (média \pm DP) (n=3)				
Fibra	Fluido Gástrico pH 3,1	Fluido Gástrico pH 4,1	Fluido Intestinal pH 5,1	Fluido Intestinal pH 6,1
β -glucana	72,71 \pm 2,62	63,16 \pm 0,77	67,57 \pm 5,76	84,80 \pm 5,34

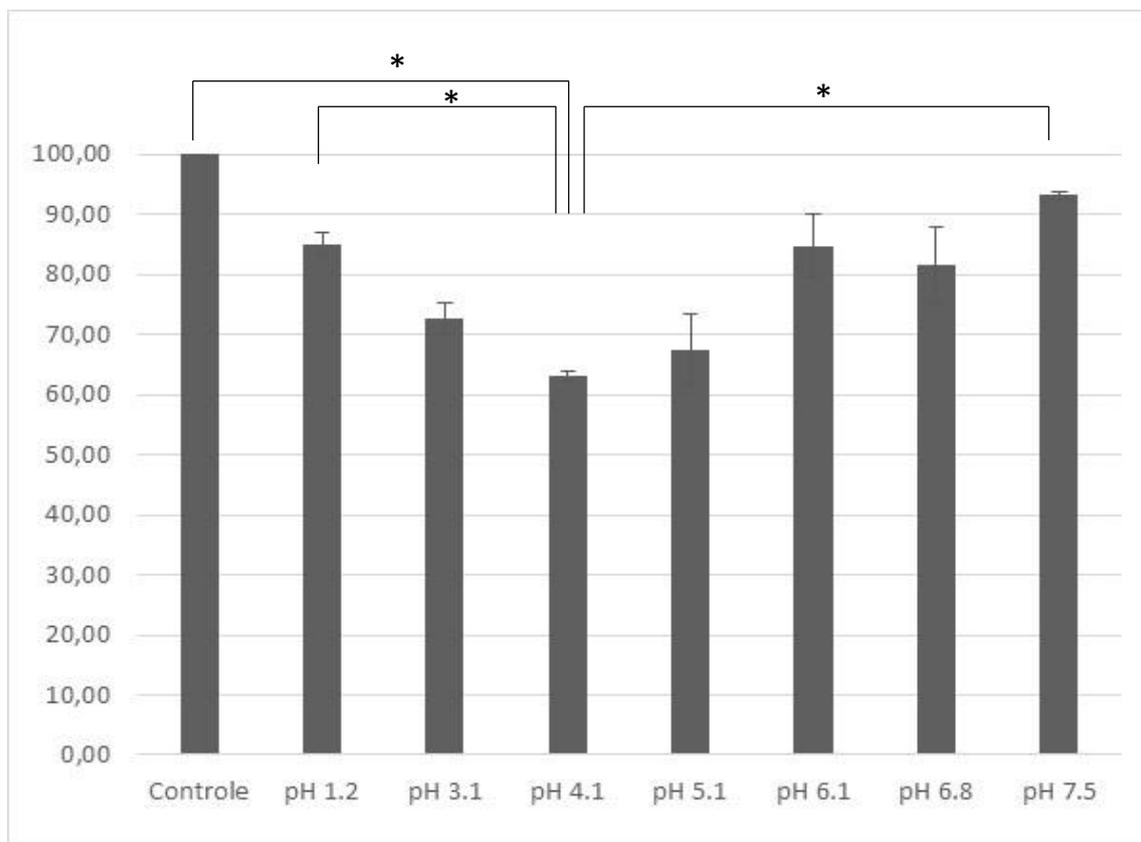


Figura 23. Porcentagens de LST livre quando incubada com β -glucana da aveia em diversos pHs. Cada coluna representa a média com DP (n=3). * $p < 0,05$.

7.4 MODELAGEM E SIMULAÇÃO DE DINÂMICA MOLECULAR DOS SISTEMAS MOLECULARES β -GLUCANA/FÁRMACO (ARTIGO 3)

7.4.1 Otimização geométrica das estruturas moleculares 3D

Foram construídas estruturas 3D dos fármacos e do resíduo de β -D-glicose e, posteriormente, as moléculas foram submetidas a cálculos de otimização geométrica, visando obter as estruturas moleculares de baixa de energia adequadas para as próximas etapas do estudo de modelagem molecular. As Figuras 24-26 apresentam as estruturas 3D dos fármacos otimizadas, e a Figura 27 apresenta a estrutura 3D otimizada do resíduo de β -D-glicose.

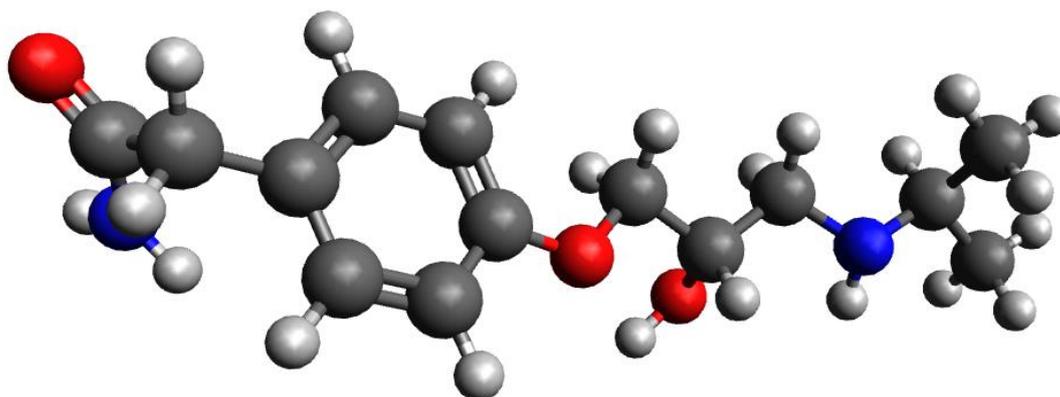


Figura 24. Estrutura molecular 3D otimizada do fármaco ATL.

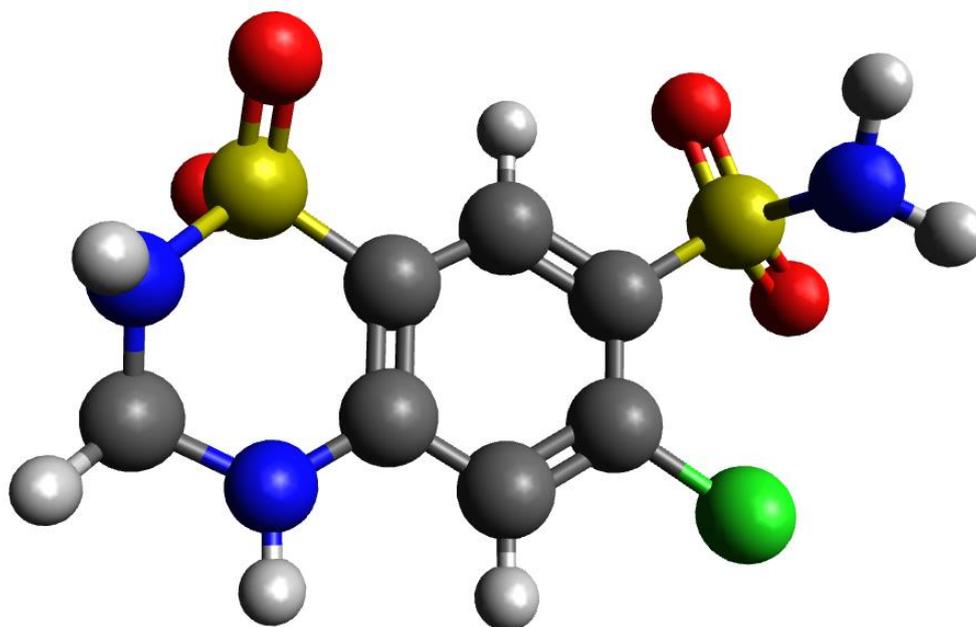


Figura 25. Estrutura molecular 3D otimizada do fármaco HCTZ.

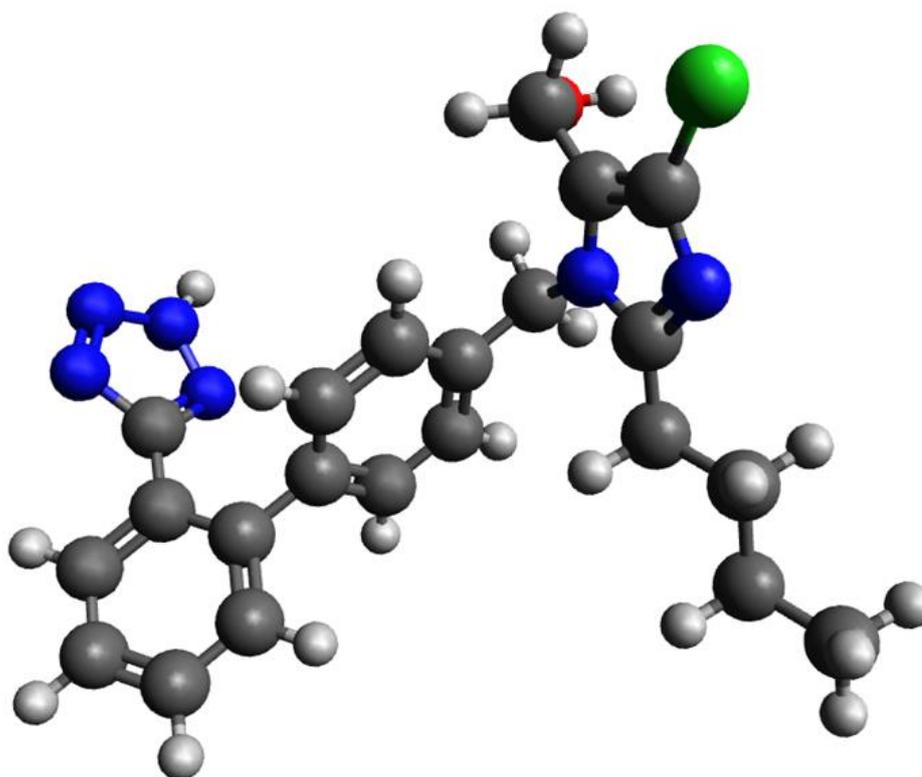


Figura 26. Estrutura molecular 3D otimizada do fármaco LST.

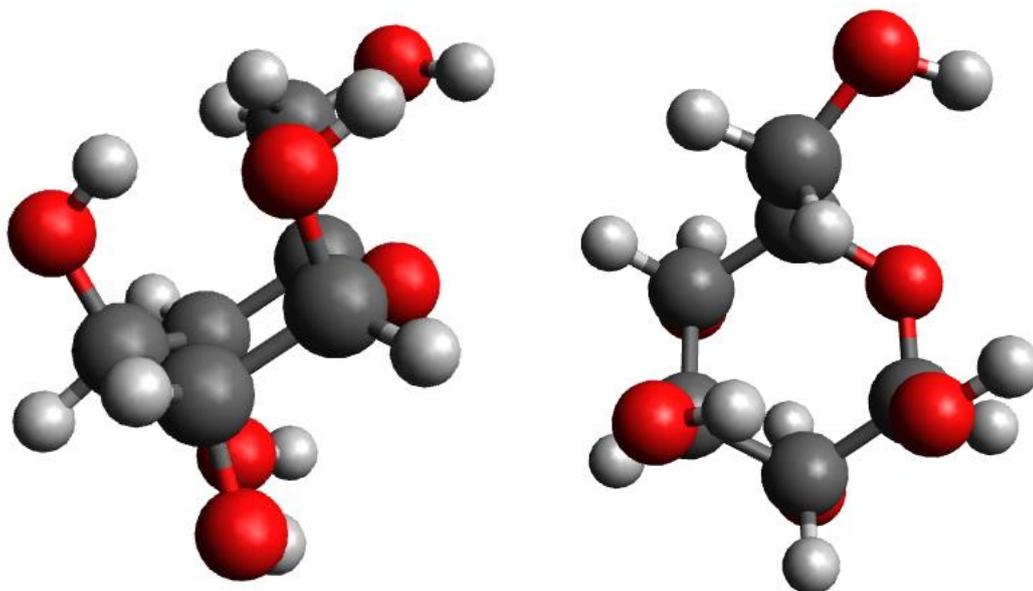


Figura 27. Estrutura molecular 3D otimizada do resíduo β -D-glicose vista de ângulos distintos.

7.4.2 Cargas atômicas parciais

As estruturas 3D otimizadas dos fármacos e do resíduo de β -D-glicose foram submetidas a cálculos para obtenção de cargas atômicas parciais, com o intuito de serem aplicadas nas parametrizações utilizadas na etapa de simulação de dinâmica molecular. As Figuras 28-30 apresentam as estruturas 3D dos fármacos otimizados contendo as cargas parciais atômicas e a Figura 31 apresenta a estrutura 3D otimizada do resíduo de β -D-glicose contendo as cargas atômicas parciais.

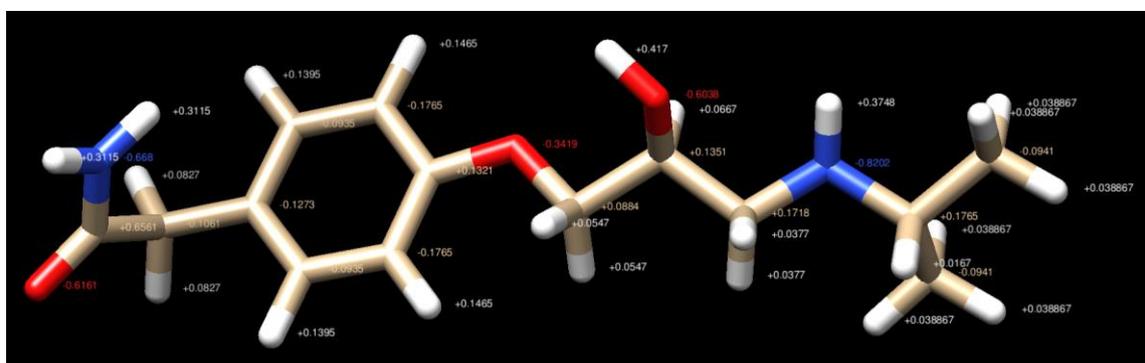


Figura 28. Estrutura molecular 3D otimizada do fármaco ATL mostrando as cargas parciais atômicas empregadas na parametrização dos modelos moleculares.

7 RESULTADOS

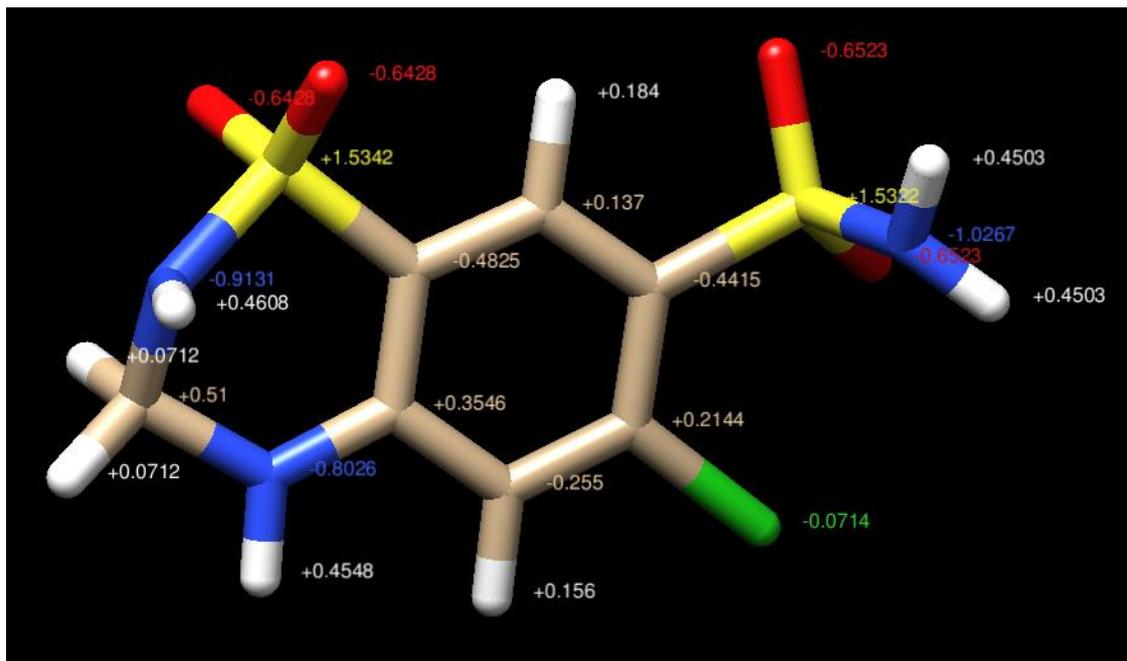


Figura 29. Estrutura molecular 3D otimizada do fármaco HCTZ mostrando as cargas parciais atômicas empregadas na parametrização dos modelos moleculares.

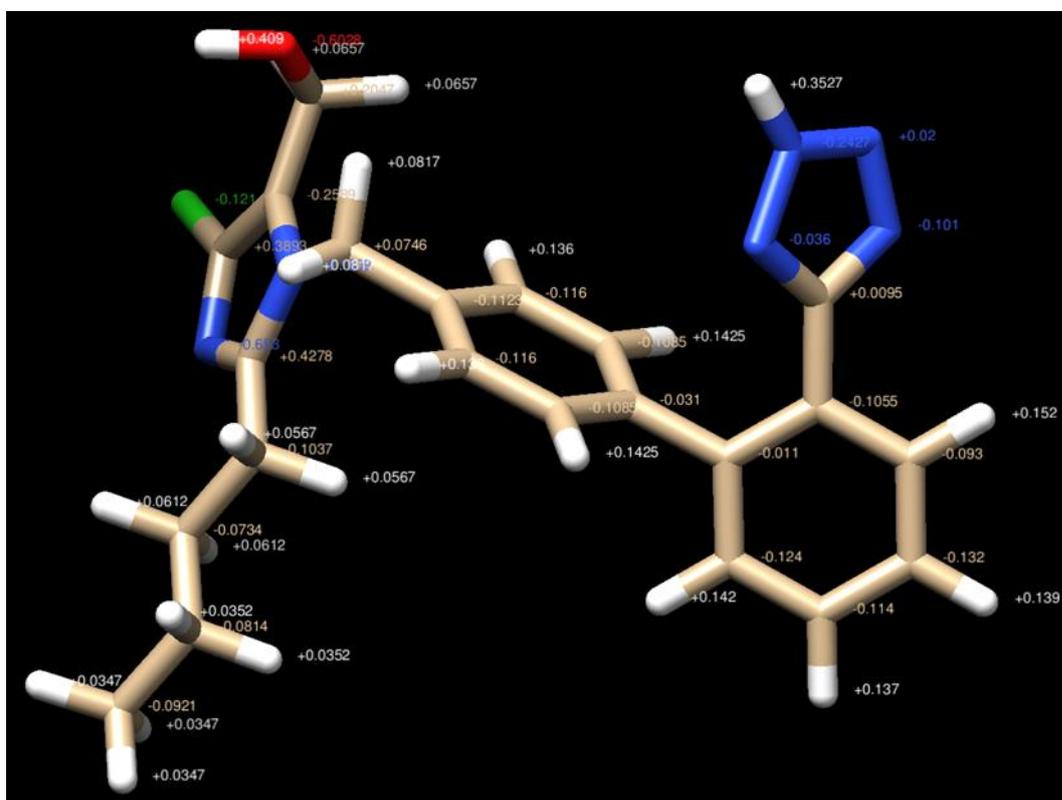


Figura 30. Estrutura molecular 3D otimizada do fármaco LST mostrando as cargas parciais atômicas empregadas na parametrização dos modelos moleculares.

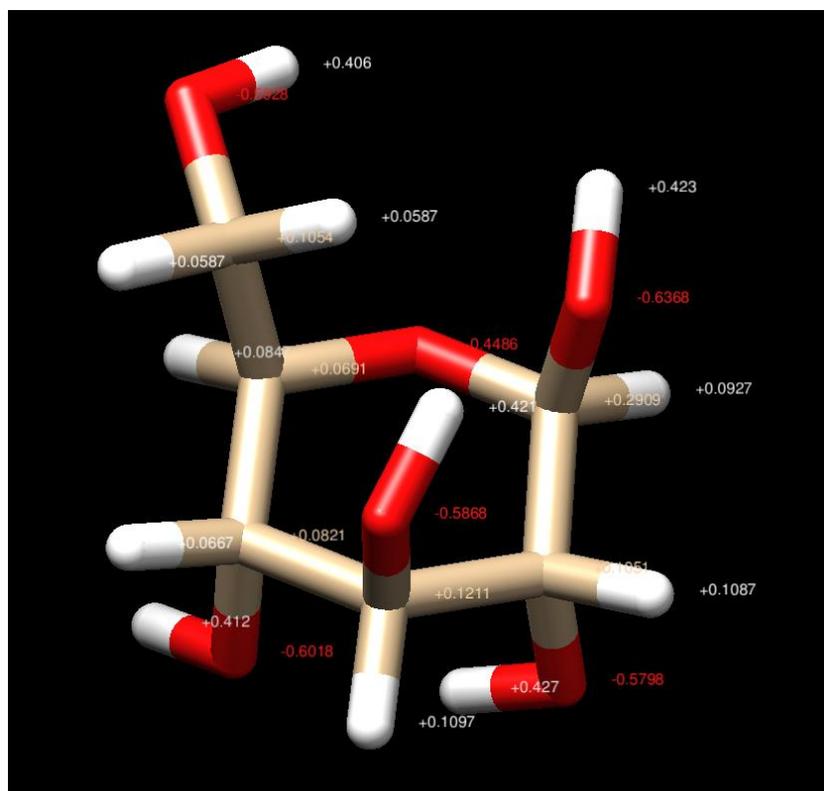


Figura 31. Estrutura molecular 3D otimizada do resíduo β -D-glicose mostrando as cargas parciais atômicas empregadas na parametrização dos modelos moleculares.

7.4.3 Sistemas moleculares β -glucana/fármaco

Com a obtenção das cargas atômicas parciais, o resíduo de β -D-glicose foi polimerizado com o intuito de gerar o modelo da cadeia do polissacarídeo β -glucana. A estrutura molecular 3D da β -glucana foi submetida a uma otimização geométrica. A Figura 32 apresenta a estrutura 3D otimizada do polissacarídeo β -glucana contendo 16 resíduos.

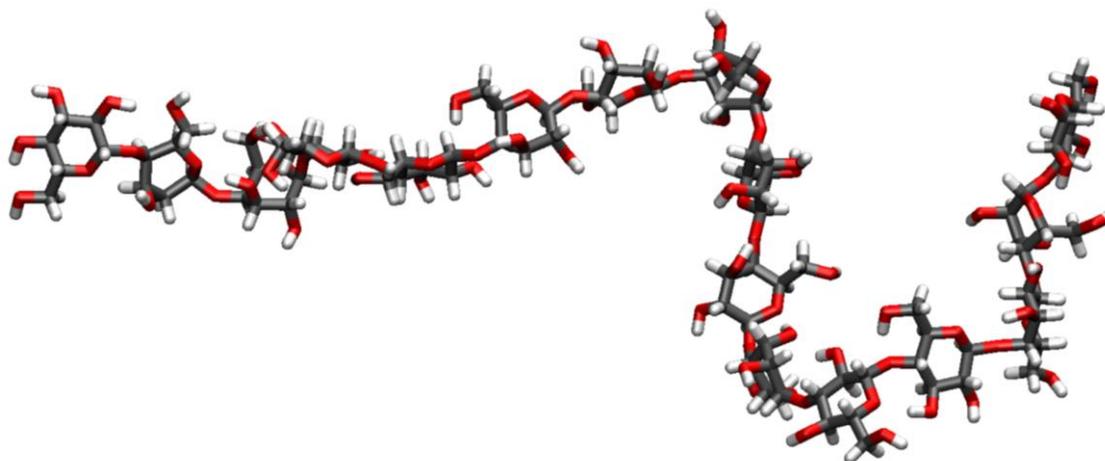


Figura 32. Estrutura molecular 3D otimizada e parametrizada da cadeia polimérica da β -glucana contendo 16 resíduos.

A obtenção e otimização geométrica do modelo da cadeia do polissacarídeo β -glucana permitiu a preparação da célula amorfa dos complexos moleculares formados por β -glucana/fármaco. Os modelos moleculares seguiram as proporções empregadas nos estudos experimentais. As células amorfas dos complexos moleculares β -glucana/fármaco no estado sólido foram as estruturas moleculares de partida para os estudos de simulação de dinâmica molecular. As Figuras 33-35 mostram estas estruturas moleculares das células amorfas utilizadas nas simulações de dinâmica molecular.

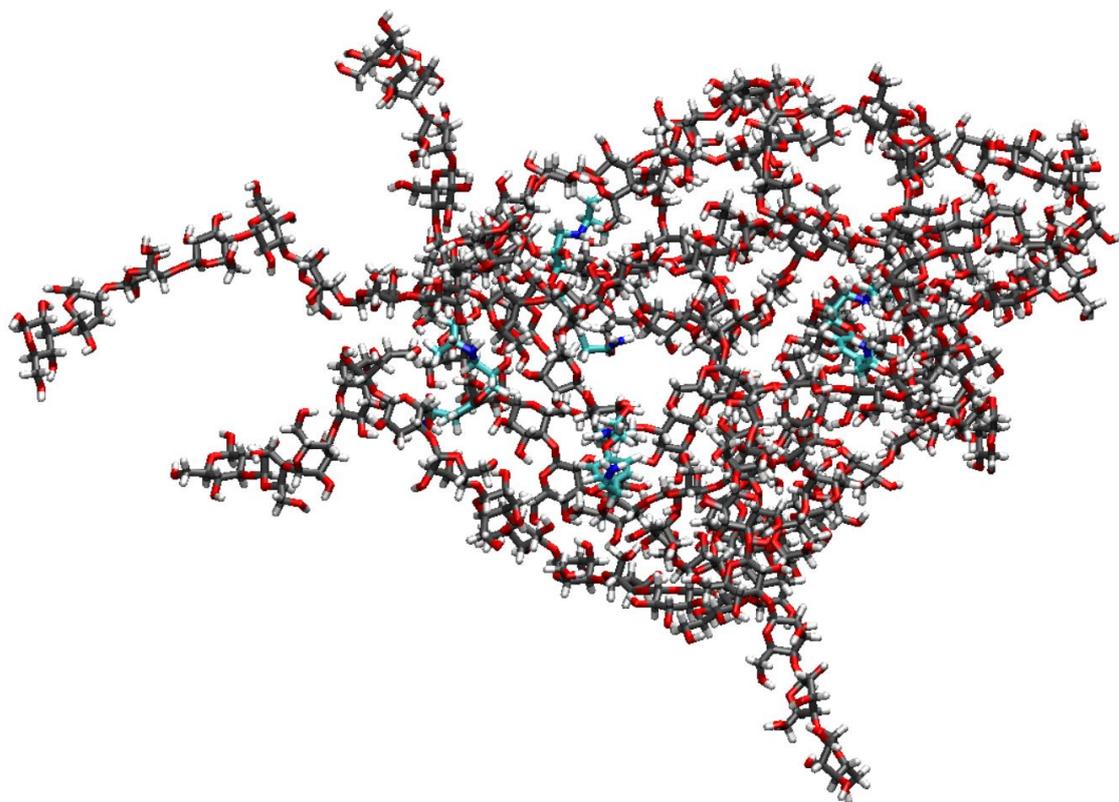


Figura 33. Sistema molecular amorfo contendo 4 moléculas de ATL e 8 cadeias poliméricas de β -glucana (1:16).

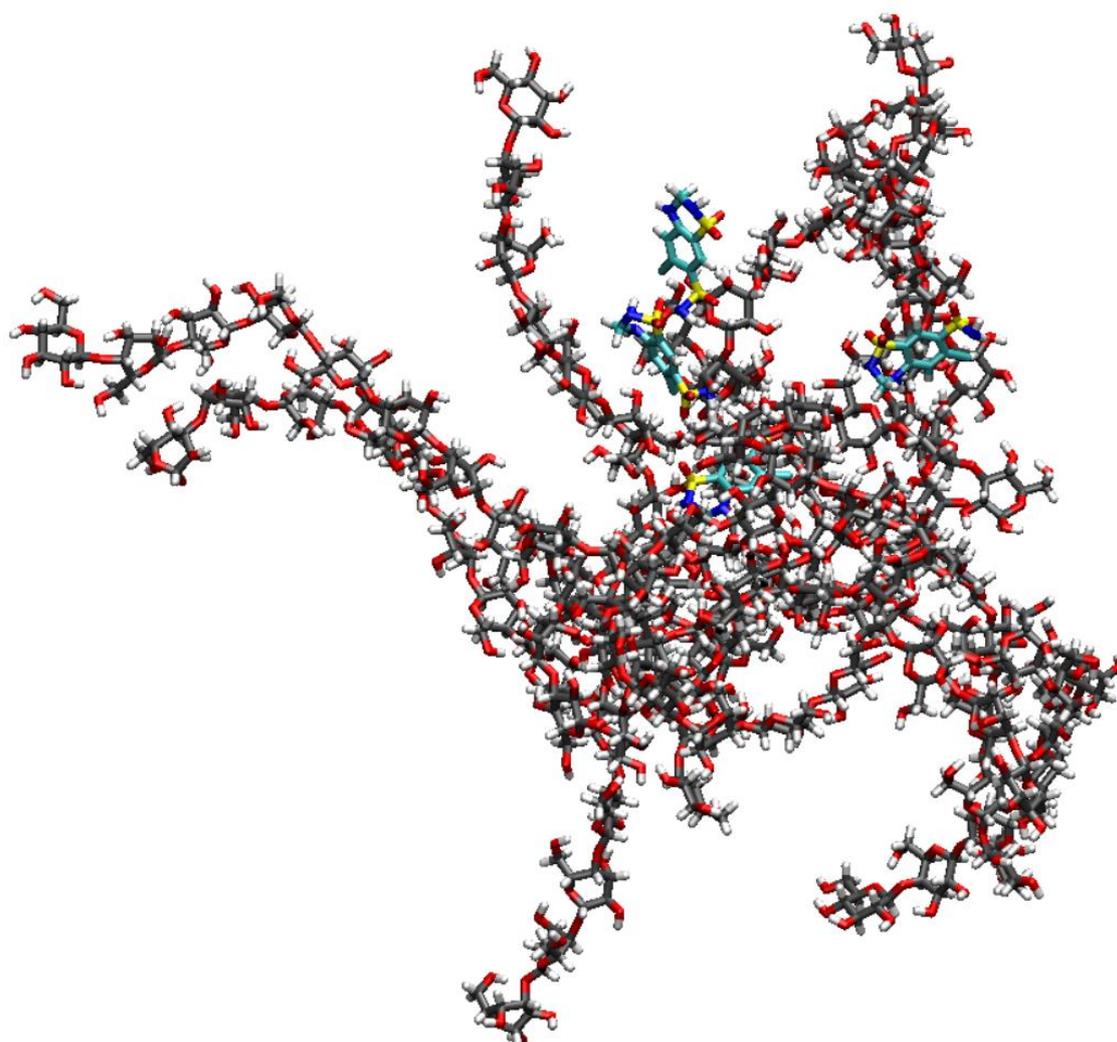


Figura 34. Sistema molecular amorfo contendo 4 moléculas de HCTZ e 8 cadeias poliméricas de β -glucana (1:16).

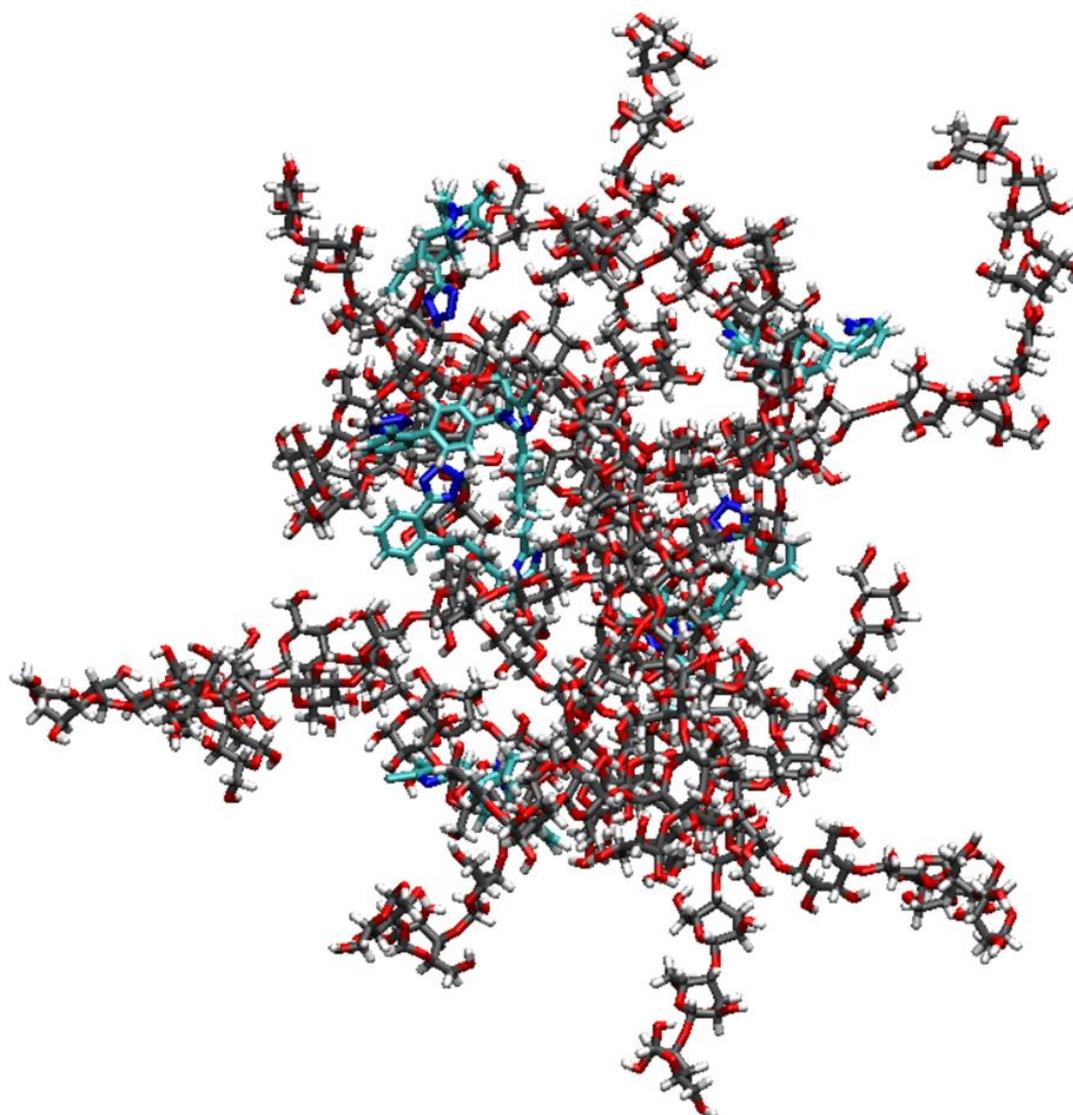


Figura 35. Sistema molecular amorfo contendo 6 moléculas de LST e 8 cadeias poliméricas de β -glucana (1:8).

7.4.4 Simulação de dinâmica molecular

Após 10 ns de simulação de dinâmica molecular, os resultados indicam que os três fármacos estudados podem realizar interações intermoleculares com as cadeias do polissacarídeo β -glucana. Entretanto, os tipos mais favoráveis de interações diferem entre os fármacos. Enquanto no sistema molecular β -glucana/LST, as moléculas do fármaco fazem preferencialmente interações hidrofóbicas com as cadeias do polissacarídeo, nos sistemas moleculares β -glucana/ATL e β -glucana/HCTZ, as moléculas

7 RESULTADOS

dos fármacos realizam de forma mais favorável interações por ligação hidrogênio com as cadeias da β -glucana. As Figuras 36-38 mostram os arranjos moleculares e as interações intermoleculares obtidas nas simulações de dinâmica molecular para os sistemas β -glucana/fármacos.

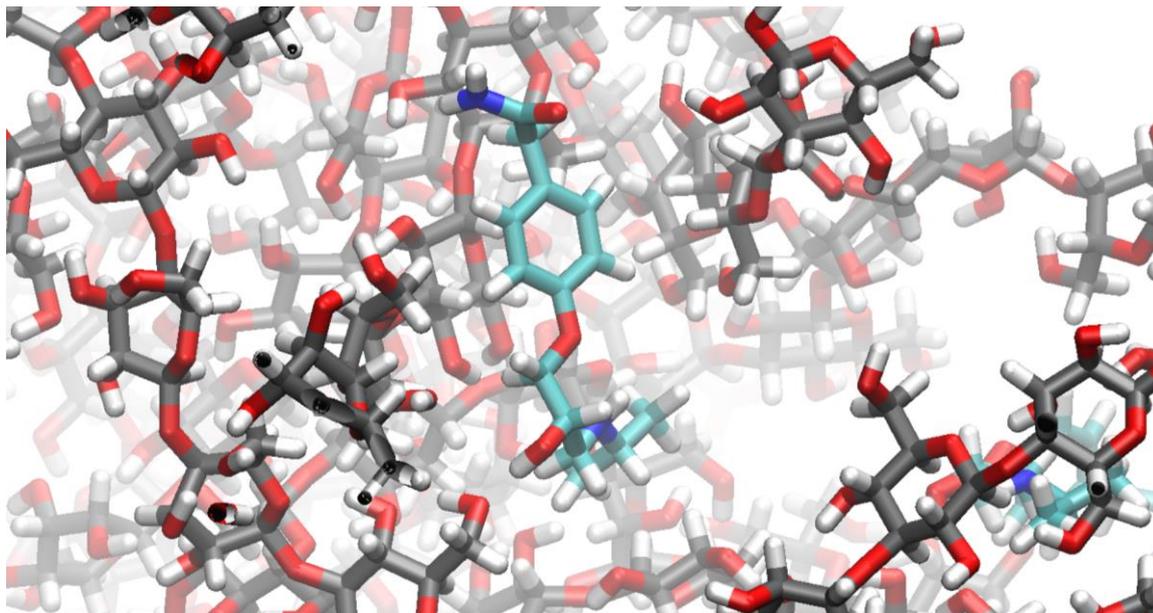


Figura 36. Sistema molecular amorfo contendo 4 moléculas de ATL e 8 cadeias poliméricas de β -glucana (1:16), realizando interações por ligação hidrogênio.

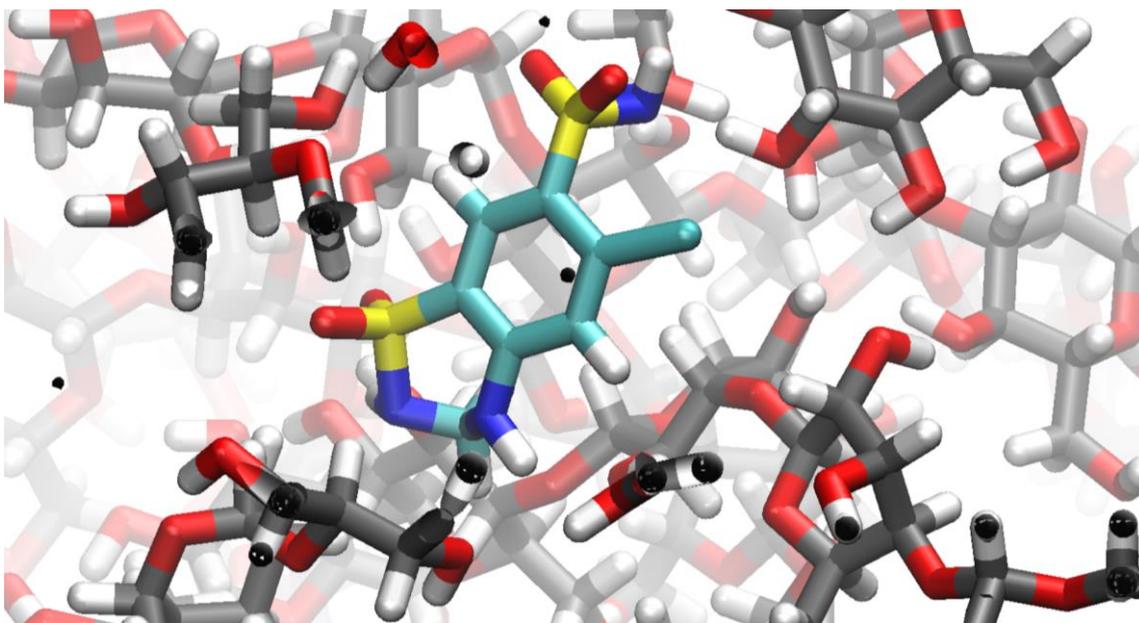


Figura 37. Sistemas molecular amorfo contendo 4 moléculas de HCTZ e 8 cadeias poliméricas de β -glucana (1:16), realizando interações por ligação hidrogênio.

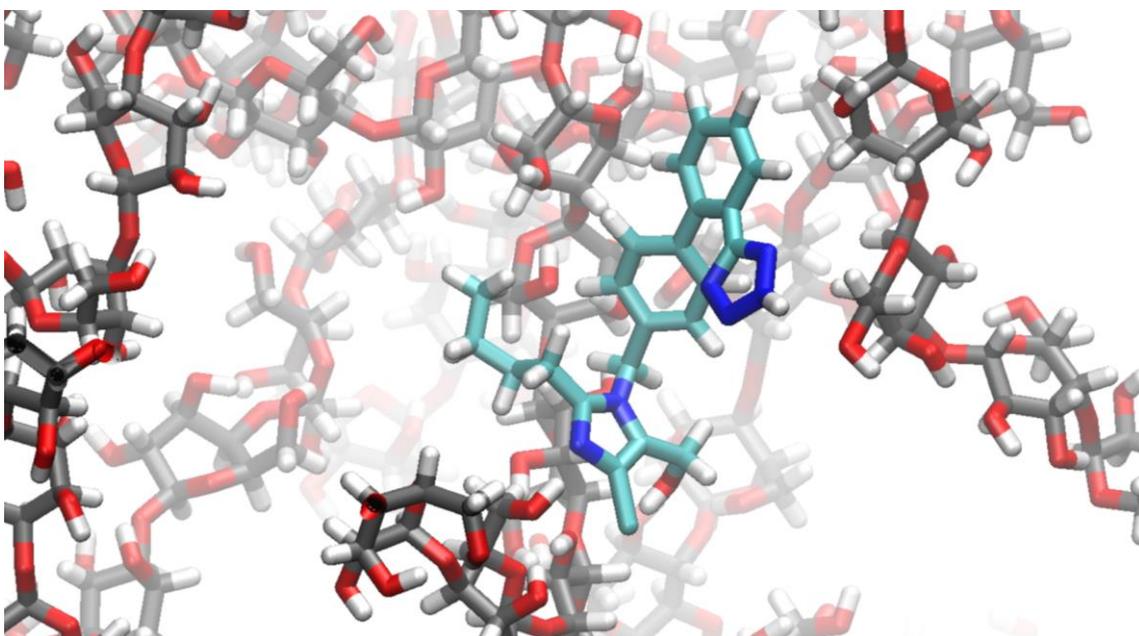


Figura 38. Sistema molecular amorfo contendo 6 moléculas de LST e 8 cadeias poliméricas de β -glucana (1:8), realizando interações hidrofóbicas.

8 DISCUSSÃO

8.1 BUSCA BIBLIOGRÁFICA E REVISÃO SISTEMÁTICA

A partir da busca bibliográfica em seis bases de dados, de acordo com os critérios PICO definidos, originou-se uma revisão sistemática com cinco ensaios clínicos controlados (randomizados ou não) que envolviam a avaliação de interações entre fármacos hipoglicemiantes e FDs. Enquanto em dois ensaios (HUUPPONEN; KARHUVAARA; SEPPÄLÄ, 1985; UUSITUPA; SÖDERVIK; SILVASTI; KARTTUNEN, 1990), não ocorreram alterações significativas na ASC de absorção dos fármacos, nos outros três houve uma tendência de diminuição, com reduções de cerca de 25 a 50% na ASC (GIN; ORGERIE; AUBERTIN, 1989; SHIMA, 1982; SHIMA; TANAKA; IKEGAMI; TABATA *et al.*, 1983). Embora esta redução tenha ocorrido, não houve um aumento correspondente nas concentrações de glicose quando os fármacos foram associados às FDs, provavelmente porque o efeito hipoglicêmico da fibra pode ter compensado a diminuição das concentrações do fármaco, não havendo prejuízo clínico.

O fato dessa interação não ter causado uma falha terapêutica não pode levar a uma generalização desse resultado para outras FDs e outros fármacos hipoglicêmicos. Isto porquê a influência das FDs na absorção dos fármacos depende das propriedades físico-químicas de ambos, da formulação farmacêutica, do intervalo de tempo entre a refeição e a administração do medicamento, do volume de líquido com o qual ele é ingerido e de características fisiológicas do paciente (DENG; ZHU; CHEN; FAN *et al.*, 2017).

8.2 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA POR CLAE-UV PARA QUANTIFICAÇÃO DOS FÁRMACOS NOS FLUIDOS GÁSTRICO E INTESTINAL SIMULADOS

Embora já existam na literatura métodos simultâneos por CLAE-UV para determinação dos fármacos ATL, HCTZ e LST, estes métodos têm aplicação para formas de dosagem farmacêutica, principalmente comprimidos diluídos na própria FM do método (THOMAS; CHAVAN; NANDA; KOTHAPALLI *et al.*, 2010), em solventes orgânicos (ESWARUDU; SAKHEENA; LAHARI; BABU *et al.*, 2021; YADAV; RAO, 2014) ou mistura de solvente orgânico com água (DURGA RAO; SATYANARAYANA; SAIT; RAMAKOTI REDDY *et al.*, 2009).

8 DISCUSSÃO

Neste trabalho foi desenvolvida uma metodologia utilizando como matriz FGIs que tem como principais constituintes água, NaCl e KH_2PO_4 . Além disso, o objetivo do método foi avaliar uma possível interação com as FDs e, para isso, foi necessário utilizar um dispositivo de ultrafiltração para separar os fármacos livres daqueles ligados ou complexados às fibras.

Levando em consideração que as fibras adicionadas aos FGIs poderiam ser possíveis interferentes para quantificação dos fármacos e, que além disso, o dispositivo de ultrafiltração contém traços de glicerina, que também poderiam interferir na análise, foi necessário realizar a validação do método, levando em consideração, principalmente, parâmetros de seletividade, efeito matriz, precisão e exatidão.

O método desenvolvido apresentou picos bem resolvidos e simétricos para todos os analitos. O dispositivo de ultrafiltração não adicionou nenhum interferente à análise, como foi observado pela sobreposição de cromatogramas de amostras filtradas e não filtradas. Todas as fibras testadas apresentaram um pequeno pico próximo ao tempo de retenção do ATL e, apenas a β -glucana apresentou um pico interferente próximo ao tempo de retenção da LST, porém esses picos não comprometeram a seletividade, tendo o método apresentado linearidade, precisão e exatidão adequados.

Uma vez validado, o método foi aplicado com sucesso no estudo de interação *in vitro* com as FDs solúveis, β -glucana da aveia, Fiber mais® e pectina, mas pode ser utilizado também em outros tipos de estudos que envolvem o uso de FGIs, como estudos para avaliar o desempenho luminal de novas fórmulas administradas por via oral ou ensaios de dissolução.

8.3 ENSAIOS *IN VITRO* E *IN SILICO* PARA AVALIAÇÃO DA POSSÍVEL INTERAÇÃO ENTRE OS FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS, ATL, HCTZ E LST, COM AS FIBRAS β -GLUCANA DA AVEIA, FIBER MAIS® E PECTINA

As tabelas 5 - 8 mostram os resultados de porcentagem de fármaco livre após a incubação individual de cada fármaco com as FDs. O fármaco livre é aquele que atravessou a membrana do dispositivo de ultrafiltração, ou seja, aquele não adsorvido, ligado ou complexado a FD. Levando em consideração o DP aceito nos ensaios de validação ($\pm 15\%$), neste trabalho foi considerada como interação uma porcentagem de

8 DISCUSSÃO

fármaco livre menor do que 85%. Assim, dentre todas os fármacos e FDs testados nos dois FGIs simulados, apenas ocorreu interação entre LST e β -glucana da aveia. Essa interação foi dependente do pH do meio, sendo maior no pH 4,1 que corresponde a região de pKa da LST.

A importância do pH para a ligação, adsorção ou complexação das FDs aos fármacos também já foi demonstrada por Watanabe e colaboradores (2006), que em seu trabalho, avaliaram a porcentagem de teofilina, paracetamol, metoprolol, clorpromazina, imipramina e amitriptilina adsorvida pelas FDs celulose, quitosana, pectina, alginato de sódio e glucomanana nos pHs 3,0 e 7,0. Neste caso, a porcentagem de fármaco adsorvida foi dependente tanto da estrutura do fármaco e da fibra, mas também do pH do meio (WATANABE; INOUE; IMAI; SUEMARU *et al.*, 2006).

No desenvolvimento de um ensaio *in vitro*, não só o pH do local de absorção é importante, mas o conhecimento do pKa do fármaco também é fundamental, pois influencia a sua lipofilicidade, solubilidade, ligação a proteínas e permeabilidade que, por sua vez, afeta diretamente a sua absorção e biodisponibilidade (MANALLACK, 2007).

O pKa de um fármaco é uma propriedade físico-química que controla o seu estado de ionização quando em solução. Se o pKa for o mesmo pH da solução em que o fármaco está dissolvido, então aproximadamente 50% do mesmo existe na forma ionizada e 50% na forma não ionizada. A medida que o pH do meio muda, o estado de ionização também é alterado. Fármacos fracamente ácidos se dissolvem mais rápido em pH mais alto (quando mais fármaco existe na sua forma ionizada), enquanto fracamente básicos tendem a ter uma dissolução mais lenta em pH mais alto (quando mais fármaco existe na sua forma não ionizada). Assim, acima do pKa para ácidos fracos e abaixo do pKa para bases fracas, a solubilidade aumenta (BONAMICI, 2009).

O equilíbrio entre formas ionizadas e não ionizadas não afeta somente a dissolução, mas também a permeabilidade do fármaco. O epitélio GI atua como uma barreira para fármacos absorvidos principalmente por difusão passiva, assim fármacos lipossolúveis terão mais facilidade de passar por essa barreira. Uma vez que a forma não ionizada dos fármacos é mais lipossolúvel, a permeabilidade e a absorção é aumentada quando o pH do meio favorece a forma não-ionizada do mesmo. Desta forma, é provável que um fármaco fracamente ácido seja melhor absorvido no estômago, onde se

8 DISCUSSÃO

encontra na forma não ionizada, enquanto que um fármaco fracamente básico seja melhor absorvido no intestino (BONAMICI, 2009).

LST é um fármaco pertencente a classe 3 no SCB, logo é um fármaco altamente solúvel, mas que possui limitações relacionadas a permeabilidade que é a etapa limitante da absorção do mesmo. Uma consequência da absorção limitada pela permeabilidade é que a taxa de dissolução é geralmente muito menos importante do que a taxa de trânsito GI (MARTINEZ; AMIDON, 2002). Assim, muitos dos fármacos dessa classe exibem permeabilidade região dependente, o que significa que o pH do meio influenciará na sua absorção.

Embora não esteja claro o local exato da absorção intestinal da LST, o fato de sua biotransformação no enterócito (glucuronidação) ocorrer no duodeno e porção alta do jejuno, faz com que seja possível que sua absorção ocorra nessa região intestinal, cujo o pH, em jejum, é na faixa de 6,1 a 7,0. Embora, neste trabalho não tenha sido encontrada a maior interação nesta faixa pH e, sim, por volta de 4,1 a 5,1, estudos têm mostrado que uma hora após a administração de um copo de água, a variabilidade de pH é alta, podendo o mesmo chegar perto de 3,0. No estado alimentado, durante as primeiras três horas após a administração das refeições, o pH intestinal tem medianas variando entre 4,8 e 6,5 (VERTZONI; AUGUSTIJNS; GRIMM; KOZIOLEK *et al.*, 2019), valores que contemplam a faixa de pH onde foram observados os menores teores de LST livre, sugerindo maior efeito da interação fármaco-fibra.

Iwazaki e colaboradores (2014) também avaliaram uma possível interação entre as fibras solúveis (alginato de sódio, pectina e glucomanana) e insolúveis (celulose e quitosana) com os BRAs (losartana, telmisartana e candesartana) em ensaio *in vitro*. Nesse ensaio, as FDs foram incubadas com os fármacos por 90 minutos, porém as porcentagens de fármaco livre diminuíram imediatamente após a mistura, não se alterando durante os minutos seguintes da incubação, sendo um indicativo de que a coexistência das FDs com os BRAs pode levar a uma interação físico-química, que resulta na diminuição dos níveis dos BRAs.

Quando LST foi incubada com as fibras insolúveis, as porcentagens de fármaco livre permaneceram entre 85 – 100% durante todo o curso do ensaio, porém na incubação com as fibras solúveis, as porcentagens de LST diminuíram de acordo com

8 DISCUSSÃO

o pH do meio. Enquanto com glucomanana, a porcentagem de LST livre foi menor que 30% em todas as soluções usadas (pHs 1,2; 3,0; 6,8 e 7,0), com alginato de sódio diminuiu para cerca de 20% de LST livre nos pHs 6,8 e 7,0 e com pectina para cerca de 50% nestes mesmos pHs (IWAZAKI; TAKAHASHI; TAMEZANE; TANAKA *et al.*, 2014). Assim como apresentado nesta tese, as interações entre as fibras e fármacos, foram dependentes do pH do meio, porém ocorreu uma diminuição na porcentagem de LST livre quando incubada com pectina em pH 6,8 que não foi observada no resultado deste trabalho.

Sabe-se que a pectina é um poliânion linear (policarboxilato), com graus variáveis de éster metílico. Enquanto alguns grupos carboxila estão metilados, outros estão na forma livre ou na forma de sais de sódio, potássio ou amônio. Ela é extraída comercialmente, principalmente, das cascas de frutas cítricas e do bagaço da maçã em condições levemente ácidas. Muitas propriedades da pectina, como solubilidade, viscosidade e gelificação, dependem do tamanho molecular, do grau de esterificação (metoxilação), quantidade de resíduos de ácido galacturônico e composição de monossacarídeos da mesma, que por sua vez, dependem da origem e da forma de extração da pectina (BELKHEIRI; FOROUHAR; URSU; DUBESSAY *et al.*, 2021; SRIAMORNSAK, 2003).

Provavelmente, o fato de não ter ocorrido interação da LST com a pectina neste trabalho esteja relacionado a diferenças na estrutura química da pectina utilizada nos ensaios de Iwazaki e colaboradores, já que elas foram obtidas de fontes diferentes. Enquanto, aqui foi utilizada uma pectina amidada de baixa metoxilação extraída a partir das cascas de frutos cítricos, Iwazaki e colaboradores utilizaram pectina extraída do bagaço de maçã, não especificando se a mesma é de alta ou baixa metoxilação.

Sperber (2010) e Celus e colaboradores (2018) mostraram como a ampla gama de estruturas moleculares da pectina podem influenciar na sua ligação à proteínas e cátions divalentes. Segundo o primeiro, a pectina forma complexos não covalentes com a β -lactoglobulina, porém pectinas com β distintas características físico-químicas apresentam comportamento diferenciados na complexação. Os complexos dependem da densidade de carga local e da carga total da pectina, que é, por sua vez, controlada pelo grau de esterificação da mesma (SPERBER, 2010). Celus e colaboradores (2018)

8 DISCUSSÃO

também relataram que o grau de esterificação é o principal fator que influencia na ligação da pectina a cátions divalentes (CELUS; KYOMUGASHO; VAN LOEY; GRAUWET *et al.*, 2018).

A interação entre LST e β -glucana do farelo de aveia encontrada nos ensaios *in vitro* ganha grande relevância quando levamos em consideração o consumo deste cereal, que na alimentação humana, é obtido por meio da ingestão de cereais matinais, pães, biscoitos, barras de cereais, granolas e alimentos infantis elaborados a partir do farelo, farinha e flocos de aveia. (COELHO, 2020). O Brasil é o 6º maior produtor e consumidor de aveia no mundo (USDA, 2022) e seu consumo está associado às propriedades fisiológicas atribuídas, principalmente, às β -glucanas.

O crescente interesse pelas β -glucanas pode ser observado pelo aumento do número de publicações de estudos com esta FD nas últimas décadas (Figura 39) e está relacionado, principalmente, à sua aceitação como ingrediente funcional e bioativo e seus vários benefícios à saúde.

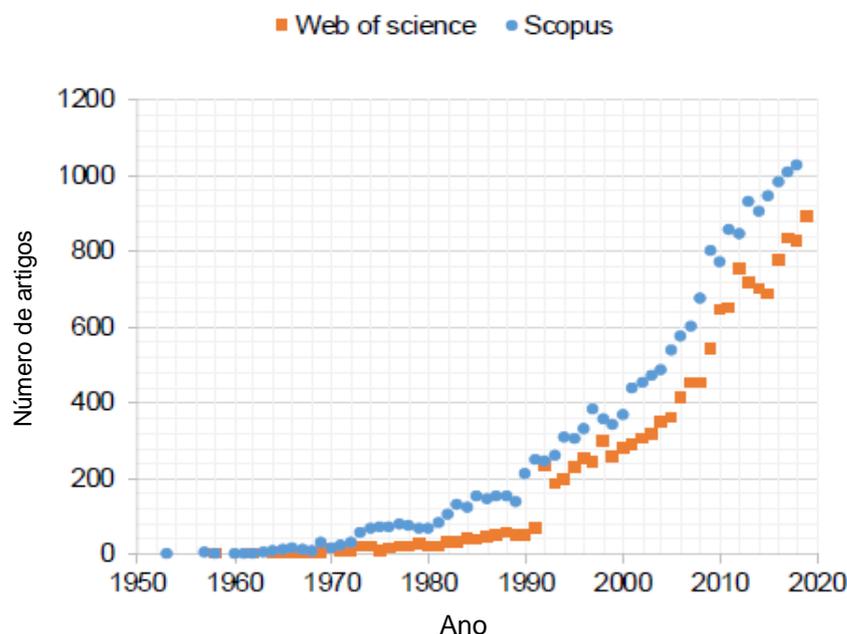


Figura 39. Número de artigos publicados no Scopus (<http://www.scopus.com>) e Web of Science (<https://clarivate.com/products/web-of-science/>) de 1950-2018 usando o termo “ β -glucan” nos títulos, resumos e palavras-chave de artigos. Retirado de KAUR; SHARMA; JI; XU *et al.*, 2020.

8 DISCUSSÃO

Outro fator que pode levar ao aumento da importância dessa interação é o polimorfismo de genes que expressam o CYP2C9, que é um dos citocromos responsáveis pela biotransformação da LST em seu metabólito ativo E-3174. Pessoas com CYP2C9*2 ou *3 apresentam $ASC_{0-\infty}$ de LST maior e $ASC_{0-\infty}$ de E-3174 menor do que pessoas com CYP2C9*1/*1 (PARK; SONG; YEE; YOON *et al.*, 2021). Neste caso, mesmo com as concentrações de LST maiores, é esperado um menor efeito anti-hipertensivo, pois o metabólito é mais potente que a própria LST. Então, se ocorrer uma interação diminuindo as concentrações de LST livre é esperado uma redução ainda maior no efeito do fármaco.

Vários trabalhos mostram que a β -glucana pode se ligar a substâncias macromoleculares como proteínas por meio de ligações não covalentes (ligações hidrogênio e Van der Waals) e covalentes (YANG; DENG; XU; JIN *et al.*, 2020) e também a pequenas moléculas como polifenóis (GAO; LIU; PENG; WU *et al.*, 2012; MATIĆ; JAKOBEK; UKIĆ, 2018; VEVERKA; DUBAJ; GALLOVIČ; JORÍK *et al.*, 2014; WU; MING; GAO; WANG *et al.*, 2011) e ácido ascórbico (ZOU; NIE; YIN; XIE, 2020) por meio de ligações não covalentes, principalmente ligações hidrogênio e interações hidrofóbicas.

A interação da β -glucana com polifenóis e ácido ascórbico também é dependente de pH (FANG; ZOU; CHEN; NI *et al.*, 2021; LI; ZENG; FU; WAN *et al.*, 2019; VEVERKA; DUBAJ; GALLOVIČ; JORÍK *et al.*, 2014; WU; MING; GAO; WANG *et al.*, 2011). Outro fator importante para a interação entre a β -glucana e polifenóis é que a ligação parece não ser dependente da estrutura da β -glucana, já que não existe nenhuma ligação preferencial pela β -glucana da aveia ou cevada (BORDENAVE; HAMAKER; FERRUZZI, 2014), porém a mesma é influenciada pelo número e arranjo espacial das moléculas de hidroxila no polifenol (JAKOBEK; MATIĆ; KRALJEVIĆ; UKIĆ *et al.*, 2020). A capacidade de adsorção é maior para polifenóis que possuem 3 ou menos grupos hidroxilas (MATIĆ; JAKOBEK; UKIĆ, 2018; WANG; LIU; CHEN; ZHAO, 2013).

Justamente para analisar a natureza das ligações entre β -glucana e os fármacos ATL, HCTZ e LST foi realizada a modelagem molecular e a simulação de dinâmica molecular dos sistemas moleculares β -glucana/fármaco.

Como visto nas Figuras 36-38, os três fármacos podem realizar interações intermoleculares com a β -glucana, mudando somente os tipos mais favoráveis de

ligações entre eles. O perfil mais hidrofóbico da LST faz com que suas moléculas tenham mais afinidade pelas cadeias do polissacarídeo da β -glucana do que com o ambiente aquoso corporal. Em contra partida, as moléculas dos fármacos ATL e HCTZ realizam de forma mais favorável interações por ligação hidrogênio com as cadeias do polissacarídeo da β -glucana, podendo, nesse caso, apresentar também afinidade pelo ambiente corporal mais hidrofílico.

O fato da LST apresentar maior afinidade pela β -glucana, havendo um potencial risco de interação *in vivo*, não significa que devemos evitar o consumo da FD que já demonstrou ser eficiente como nutriente funcional, ajudando a melhorar fatores de risco para desenvolvimento das DCVs, como HA, dislipidemias, *diabetes mellitus* e obesidade. É necessário, na verdade, monitoramento dos pacientes que utilizam este medicamento e orientação de que o mesmo não deve ser administrado em concomitância ou em horário muito próximo de alimentos ou suplementos alimentares que contenham esta FD.

Com base nestes resultados, uma orientação na embalagem da fibra deveria ser considerada pelas indústrias, assim como existe na bula do medicamento Metamucil[®], que é um regulador intestinal à base de *Psyllium Husk*. Nessa orientação recomenda-se que: pacientes que estejam usando alguma outra medicação (além das interações medicamentosas já listadas na bula), devem “tomar Metamucil[®] 2 horas antes ou 2 horas após outros medicamentos, para prevenir a alteração da absorção destes”.

8.4 RELEVÂNCIA DOS ENSAIOS *IN VITRO* E *IN SILICO* PARA AVALIAÇÃO DE POSSÍVEIS INTERAÇÕES FÁRMACO-NUTRIENTE

Embora as reações adversas relacionadas aos medicamentos sejam um problema de saúde pública de grande relevância, principalmente em pessoas idosas, o que pode ser explicado pelas mudanças na farmacocinética e farmacodinâmica relacionadas à idade, pelo aumento da vulnerabilidade dos idosos e pela alta prevalência de multimorbidade e conseqüentemente polifarmácia nessa faixa etária (GUNTURU; DHARMARAJAN, 2020), a avaliação da segurança do medicamento antes e após a aprovação do mesmo é realizada, principalmente, com relação às conseqüências de um

8 DISCUSSÃO

único medicamento ou interações entre medicamentos. Com exceção dos efeitos de refeições inteiras e macronutrientes sobre a ação do medicamento, as interações fármaco-nutriente não são abordadas especificamente durante a fase de desenvolvimento do mesmo (PÉTER; NAVIS; DE BORST; VON SCHACKY et al., 2017).

A gravidade de algumas interações, porém, tem levado a uma revisão regulatória e fez com que a indústria farmacêutica expandisse seus esforços para investigar potenciais interações que influenciam a absorção dos fármacos em estudos de triagem pré-clínica (FLEISHER; LI; ZHOU; PAO *et al.*, 1999). Recomenda-se que sejam realizados estudos *in vitro* e *in silico* seguidos de estudos *in vivo*. Os resultados dos estudos de interação são usados, então, para prever uma série de outras interações com base nos mecanismos envolvidos. As recomendações de tratamento são desenvolvidas com base na relevância clínica e na possibilidade de fazer ajustes de dose ou monitoramento do tratamento (EUROPEAN MEDICINES, 2012).

Desse modo, cada vez mais, estudos *in vitro* de dissolução ou liberação a partir de formas de dosagens oral e permeabilidade através de meios que simulem o epitélio GI têm sido utilizados para avaliar como uma potencial interação medicamentosa pode influenciar num determinado componente da absorção (FLEISHER; LI; ZHOU; PAO *et al.*, 1999).

Os ensaios de dissolução permitem avaliar a cedência do fármaco contido ou não (dissolução intrínseca) em uma forma farmacêutica, para um meio similar aos líquidos corpóreos e representam uma ferramenta indispensável não só para avaliar a interação fármaco-nutriente, mas também para as várias etapas dos processos de desenvolvimento farmacotécnico de medicamentos, permitindo verificar a estabilidade das formulações (SOUZA; FREITAS; STORPIRTIS, 2007).

A questão chave no desenvolvimento de um ensaio *in vitro* para prever possíveis interações é a simulação realista das condições ao longo do TGI, principalmente considerando a variação dos fatores fisiologicamente relevantes. Nesse contexto, a simulação dos FGIs é de vital importância e eles devem levar em consideração a variabilidade de pH no TGI entre os estados de jejum e alimentado. Outros fatores, como volume dos fluidos, temperatura, osmolaridade e agitação

8 DISCUSSÃO

também precisam ser monitorados na tentativa de se obter a melhor correlação *in vitro-in vivo*.

De fato, os modelos *in vitro* estão se tornando cada vez mais refinados e confiáveis, evoluindo tanto na metodologia quanto na interpretação dos seus resultados, mas eles ainda têm desvantagens e limitações, principalmente ligadas aos pressupostos necessários que são feitos. Embora os modelos possam facilmente prever o tipo, o mecanismo e até mesmo a magnitude das interações, muitas vezes não conseguem prever as consequências clínicas (KREMERS, 2002).

Apesar das limitações da extrapolação de dados de estudos *in vitro* para o ambiente *in vivo*, ensaios *in vitro* continuam sendo a base das avaliações iniciais, em grande parte devido à natureza de alto rendimento desses estudos, custos substancialmente reduzidos em relação aos ensaios *in vivo* e à considerável redução de risco a que sujeitos de pesquisa possam ser expostos (KREMERS, 2002; MARKOWITZ; ZHU, 2012).

Especialmente na área da medicina cardiovascular, onde os ensaios clínicos têm crescido em tamanho, escopo e complexidade e tornaram-se excessivamente caros, a busca por novas terapias exigem novas abordagens para reduzir custos e manter a qualidade de provas futuras (SOLOMON; PFEFFER, 2016). Nesse mesmo sentido, a realização de um ensaio clínico para avaliar uma possível interação entre um fármaco anti-hipertensivo e as FDs seria o ideal, porém inviável se não houver ainda alguma evidência de que essa interação possa estar ocorrendo.

Desta maneira, os ensaios *in vitro* e *in silico* fornecem muito valor na identificação de constituintes específicos que podem potencialmente representar um risco de interação e servir como um “sinal” de que estudos *in vivo* devem acontecer (MARKOWITZ; ZHU, 2012). Além disso, ensaios *in vitro* podem fornecer a base para o desenho de estudos subsequentes de interação medicamentosa *in vivo* (ZHANG; ZHANG; ZHAO; HUANG, 2009)

Os estudos *in silico*, como a modelagem molecular, além de ajudarem na previsão das interações baseada nas estruturas tridimensionais dos fármacos e nutrientes envolvidos, têm a possibilidade única de fornecer detalhes atômicos e moleculares dessas interações (FENG; ZHU; CAMPANELLA, 2016).

8 DISCUSSÃO

Particularmente, a modelagem molecular de carboidratos, que são moléculas que apresentam uma série de alterações conformacionais, podendo existir em várias configurações, oferece oportunidades para explorar propriedades moleculares experimentalmente inalcançáveis e resolver modelos teóricos desenvolvidos além de suposições e aproximações, fornecendo assim informações complementares às abordagens teóricas e experimentais tradicionais (FENG; ZHU; CAMPANELLA, 2016)

Este trabalho traz justamente uma inovação no sentido de utilizar a modelagem molecular seguida de estudos de dinâmica molecular para avaliar as ligações envolvidas no sistema molecular β -glucana/fármacos, sendo a primeira vez que a modelagem de carboidratos é utilizada para avaliar uma interação entre FDs e fármacos.

Não é fácil prever a relevância clínica de interações medicamentosas que são identificadas *in vitro* ou *in silico*, uma vez que a mesma depende de vários fatores, incluindo a condição do paciente, os medicamentos administrados concomitantemente, a via de administração, o índice terapêutico do fármaco, entre outros, mas compreender e antecipar as interações é uma parte necessária da terapêutica racional.

As interações fármaco-nutriente muitas vezes são evitáveis desde que reconhecidas precocemente. No entanto, enquanto as interações fármaco-fármaco são amplamente aceitas como clinicamente relevantes e incluídas na maioria dos sistemas de farmacovigilância, as interações fármaco-nutriente são pouco exploradas e sua avaliação não faz parte da rotina clínica (PÉTER; NAVIS; DE BORST; VON SCHACKY *et al.*, 2017).

Então, para otimizar os resultados clínicos, é importante reconhecer as interações fármaco-nutriente como parte do processo de avaliação do paciente. Profissionais de saúde precisam compreender a fisiologia da disposição de nutrientes e as etapas desde a administração de um medicamento até o seu efeito farmacológico, ampliando o entendimento dos mecanismos potenciais de interação. A observação clínica e a documentação é de vital importância para que médicos, nutricionistas e farmacêuticos possam ter acesso às informações de interação que permitam abordagens de tratamento seguras (BOULLATA; HUDSON, 2012).

8.5 LIMITAÇÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dada a natureza multifatorial das interações fármaco-nutriente e ao grande número de variáveis que precisam ser abordadas em estudos desse tipo, não é de surpreender que resultados diferentes e muitas vezes conflitantes sejam obtidos em diversos laboratórios. Para melhor compreender e interpretar estes estudos é essencial que as suas condições sejam cuidadosamente controladas e completamente descritas. Não há necessidade de haver uniformidade nos estudos, pelo contrário, somente estudando as interações sob uma ampla variedade de condições será possível entendê-las completamente, juntamente com suas implicações mecanicistas e clínicas (WELLING, 1996).

Especialmente as investigações envolvendo FDs, seja para investigar os seus efeitos na saúde ou para avaliar interações, são complicadas pelas variações nas intervenções. Os estudos podem investigar fibras sintéticas consistindo em apenas um tipo de molécula, fibras extraídas de fontes vegetais naturais consistindo em uma ou um número limitado de fibras, alimentos únicos contendo um número limitado de fibras naturais que são intrínsecas e intactas nas células vegetais e dietas ricas em fibras consistindo em uma ampla gama de diferentes fibras naturais de uma ampla variedade de alimentos diferentes. As variações nas intervenções de fibra criam vários desafios na interpretação e aplicação dos resultados. Por exemplo, estudos *in vitro* e em animais têm frequentemente utilizado fibras sintéticas ou extraídas na forma suplementar, mas cujas características físico-químicas, como peso molecular e bioacessibilidade, podem ser diferentes quando consumidas como alimentos integrais como parte da dieta, o que pode afetar suas propriedades físico-químicas e funcionais e, conseqüentemente a sua capacidade de interação com os fármacos (GILL; ROSSI; BAJKA; WHELAN, 2021).

Apesar de todos os avanços nos ensaios *in vitro* e *in silico* para avaliar interações tanto fármaco-fármaco quanto fármaco-nutriente, nas condições *in vivo* podem ocorrer interações inesperadas, que pode ser devido a muitas variáveis que ainda não podem ser entendidas ou não podem ser mensuradas com precisão. Em primeiro lugar, a interação pode envolver mecanismos desconhecidos, como por exemplo, transportador ou vias metabólicas incomuns. Segundo, a previsão pode ser confundida quando múltiplas enzimas biotransformadoras e transportadores estão

8 DISCUSSÃO

envolvidos na disposição de um fármaco. A falta de modelos *in vitro* que representem o verdadeiro ambiente fisiológico também limita nossa capacidade de prever *in vivo* situações em que vários fármacos são coadministrados ou o nutriente de interesse é administrado com outros alimentos e que pode levar a inibição e indução concomitantes de enzimas biotransformadoras e transportadores. Terceiro, embora a abordagem de modelagem e simulação usando modelos *in silico* incorporando parâmetros fisiológicos e variabilidade interindividual seja promissora na avaliação abrangente do potencial de interação medicamentosa em diferentes cenários, uma previsão precisa de dados *in vivo* pode continuar sendo prejudicada por fatores desconhecidos a serem descobertos à medida que a ciência evolui e à medida que o conhecimento sobre um fármaco se acumula. Portanto, a capacidade de prever quantitativamente a magnitude da interação medicamentosa *in vivo* a partir de dados *in vitro* e *in silico* é limitada. Previsões precisas da extensão das interações medicamentosas *in vivo* a partir de estudos *in vitro* e *in silico* exigirão esforços contínuos para melhorar nossas habilidades em avaliar as interações a partir de dados experimentais (ZHANG; ZHANG; ZHAO; HUANG, 2009).

Particularmente com relação a este trabalho, o método *in vitro* utilizado avaliou apenas interações físico-químicas que podem alterar a etapa de absorção dos fármacos. Embora essas interações, caso aconteçam, envolvam a ligação do nutriente ao fármaco, reduzindo a quantidade de fármaco livre para ser absorvido, outras etapas da absorção como o papel da FD nos sistemas de transporte de influxo e efluxo não foram avaliadas. Outra limitação deste trabalho é o fato do teste de dissolução só ter sido realizado nos meios compendiais que simulam as condições GIs. Embora, esses meios sejam oficialmente reconhecidos pela sua importância, os meios biorelevantes poderiam ser uma opção, já que possuem na sua composição sais biliares, lipídios, proteínas e enzimas, que permitiriam uma simulação mais completa de todas as condições GIs.

9 CONCLUSÕES

Durante a busca bibliográfica de ensaios clínicos que avaliassem a interação de FDs com fármacos utilizados no tratamento dos fatores de risco para desenvolvimento das DCVs, não foram encontrados ensaios com os fármacos anti-hipertensivos e, por isso, eles foram selecionados para os ensaios *in vitro* e *in silico*, de modo que seus resultados pudessem subsidiar um posterior ensaio clínico.

Neste trabalho somente foi observada interação, com diminuição da porcentagem de fármaco livre estatisticamente significativa, entre LST e β -glucana proveniente do farelo da aveia no pKa do fármaco. Isto nos mostra que a interação é dependente da estrutura molecular do fármaco e, por isso, não ocorreu interação da β -glucana com ATL e HCTZ que preferencialmente fazem ligações intermoleculares com o ambiente aquoso corporal, mas também da estrutura molecular da FD e do pH do meio.

Embora ainda sejam necessários mais estudos para avaliar esta interação entre β -glucana e LST, a partir deste resultado, é possível orientar aos pacientes que estejam em uso destes nutriente e fármaco, que os mesmos não devem ser administrados em concomitância ou em horário muito próximo.

A utilização de métodos *in vitro*, como ensaios de dissolução do fármaco na presença do nutriente, e métodos *in silico*, como a modelagem molecular e a simulação de dinâmica molecular, para avaliar as ligações químicas envolvidas numa interação é uma estratégia válida que permite avaliar uma possível interação físico-química que pode afetar a porcentagem de fármaco livre disponível para ser absorvida e, conseqüentemente, a biodisponibilidade do mesmo.

Para finalizar, embora alguns trabalhos mostrem as ligações envolvidas na interação da β -glucana com micro e macromoléculas, nenhum deles avalia a interação com fármacos e nem elucida as ligações químicas envolvidas na formação do sistema molecular β -glucana/fármaco. Logo, este trabalho trouxe de forma inovadora a modelagem molecular de uma FD com a finalidade de avaliar uma interação fármaco-nutriente.

10 APRESENTAÇÕES EM EVENTOS CIENTÍFICOS

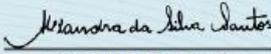
10.1 IX SEMINÁRIO DE INTEGRAÇÃO DOS SERVIDORES TÉCNICOS-ADMINISTRATIVOS EM EDUCAÇÃO - SINTAE UFRJ

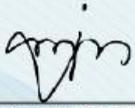
 **UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO**
PRÓ-REITORIA DE PESSOAL
COORDENAÇÃO DE POLÍTICAS DE PESSOAL
DIVISÃO DE DESENVOLVIMENTO 

CERTIFICADO

Certificamos que Edlaine Rijo Costa, CPF n° 096.926.717-71, apresentou o trabalho intitulado: "Investigação in vitro de eventuais interações entre fibras alimentares solúveis e fármacos anti-hipertensivos" – Modalidade: COMUNICAÇÃO ORAL; Participação: AUTOR(A) – no LX SINTAE UFRJ – Seminário de Integração dos Servidores Técnico-Administrativos em Educação, realizado de 29/11/2021 a 03/12/2021 (edição remota e virtual).

Rio de Janeiro, 28 de janeiro de 2022


Alexandra da Silva Santos
Diretora Divisão de Desenvolvimento


Rita de Cassia Silveira dos Anjos
Superintendente de Planejamento

 **DVDE**
Divisão de Desenvolvimento

A autenticidade deste certificado pode ser confirmada através do seguinte endereço: <https://sged.ufrj.br/verificar>, digitando-se o seguinte código: 6XSMME.

10 APRESENTAÇÕES EM EVENTOS CIENTÍFICOS

10.2 11ª SEMANA DE INTEGRAÇÃO ACADÊMICA - SIAC- UFRJ

11ª SIAC SEMANA DE INTEGRAÇÃO ACADÊMICA DA UFRJ
14 a 18 FEVEREIRO | 2022

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho **INTERAÇÃO ENTRE FIBRAS ALIMENTARES E FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS: INFLUÊNCIA DO PH NA INTERAÇÃO DA B-GLUCANA DE FARELO DE AVEIA COM LOSARTANA POTÁSSICA IN VITRO**, orientado por RITA DE CÁSSIA ELIAS ESTRELA MARINS, JOSÉ CARLOS SARAIVA GONÇALVES e GLORIMAR ROSA e de autoria de EDLAINE RIJO COSTA foi apresentado no formato ORAL durante a 11ª Semana de Integração Acadêmica da UFRJ, realizada em ambiente virtual no período de 14 a 18 de fevereiro de 2022.

Rio de Janeiro, 24 de Maio de 2022

Ivana Bentes
Prof. Ivana Bentes
Pro-Reitora de Extensão - UFRJ

Gisele Viana Pires
Prof. Gisele Viana Pires
Pro-Reitora de Graduação - UFRJ

Denise Maria Guimarães Freire
Prof. Denise Maria Guimarães Freire
Pro-Reitora de Pós-Graduação - UFRJ

Redação: Apoio:

A autenticidade deste certificado pode ser confirmada através do seguinte endereço: <https://certificados.sistemasiac.ufrj.br/verificar/>, digitando-se o seguinte código: 5RAMV2.

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMIDON, G. L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical research**, 12, n. 3, p. 413-420, 1995.

ANDERSON, T. J.; MEREDITH, I. T.; YEUNG, A. C.; FREI, B. *et al.* The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. **New England Journal of Medicine**, 332, n. 8, p. 488-493, 1995.

ANDREI, C. C.; FERREIRA, D. T.; FACCIONE, M.; FARIA, T. J. **Da Química Medicinal à química combinatória e modelagem molecular-um curso prático**. Manole: Barueri, 2003.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. <http://portal.anvisa.gov.br> 2017.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopéia Brasileira - 6ª edição. <http://portal.anvisa.gov.br>. I 2019.

APPEL, L. J.; MOORE, T. J.; OBARZANEK, E.; VOLLMER, W. M. *et al.* A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. **New England Journal of Medicine**, 336, n. 16, p. 1117-1124, 1997.

BARBER, T. M.; KABISCH, S.; PFEIFFER, A. F. H.; WEICKERT, M. O. The health benefits of dietary fibre. **Nutrients**, 12, n. 10, p. 3209, 2020.

BARBHAIYA, R. H.; CRAIG, W. A.; CORRICK-WEST, H. P.; WELLING, P. G. Pharmacokinetics of hydrochlorothiazide in fasted and nonfasted subjects: a comparison of plasma level and urinary excretion methods. **Journal of pharmaceutical sciences**, 71, n. 2, p. 245-248, 1982.

BARREIRO, E. J.; RODRIGUES, C. R.; ALBUQUERQUE, M. G.; SANT'ANNA, C. M. R. D. *et al.* Modelagem molecular: uma ferramenta para o planejamento racional de fármacos em química medicinal. **Química nova**, 20, p. 300-310, 1997.

BARROSO, W. K. S.; RODRIGUES, C. S.; BORTOLOTTI, L. A.; MOTA-GOMES, M. A. *et al.* Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 116, n. 3, p. 516-658, 2021.

BARSANTI, L.; PASSARELLI, V.; EVANGELISTA, V.; FRASSANITO, A. M. *et al.* Chemistry, physico-chemistry and applications linked to biological activities of β -glucans. **Natural product reports**, 28, n. 3, p. 457-466, 2011.

BEERMANN, B.; GROSCHINSKY-GRIND, M. Clinical pharmacokinetics of diuretics. **Clinical pharmacokinetics**, 5, n. 3, p. 221-245, 1980.

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEERMANN, B.; GROSCHINSKY-GRIND, M.; ROSÉN, A. Absorption, metabolism, and excretion of hydrochlorothiazide. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, 19, n. 5part1, p. 531-537, 1976.

BELKHEIRI, A.; FOROUHAR, A.; URSU, A. V.; DUBESSAY, P. *et al.* Extraction, characterization, and applications of pectins from plant by-products. **Applied Sciences**, 11, n. 14, p. 6596, 2021.

BERENDSEN, H. J. C.; POSTMA, J. P. M. V.; VAN GUNSTEREN, W. F.; DINOLA, A. *et al.* Molecular dynamics with coupling to an external bath. **The Journal of chemical physics**, 81, n. 8, p. 3684-3690, 1984.

BLACKWELL, B. Hypertensive crisis due to monoamine-oxidase inhibitors. **The Lancet**, 282, n. 7313, p. 849-851, 1963.

BONAMICI, D. Sistema de classificação biofarmacêutica e bioisenções. **Brasil. Outubro de**, 2009.

BONFILIO, R.; MENDONÇA, T. F.; PEREIRA, G. R.; ARAÚJO, M. B. D. *et al.* Losartan potassium dissolution test for drug release evaluation in pharmaceutical capsules using HPLC and UV spectrophotometry. **Química Nova**, 33, p. 377-383, 2010.

BORDENAVE, N.; HAMAKER, B. R.; FERRUZZI, M. G. Nature and consequences of non-covalent interactions between flavonoids and macronutrients in foods. **Food & function**, 5, n. 1, p. 18-34, 2014.

BOULLATA, J. I.; HUDSON, L. M. Drug–nutrient interactions: a broad view with implications for practice. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, 112, n. 4, p. 506-517, 2012.

CANGA, A. G.; MARTÍNEZ, N. F.; PRIETO, A. S.; VIEITEZ, J. J. G. *et al.* Dietary fiber and its interaction with drugs. **Nutricion hospitalaria**, 25, n. 4, p. 535-539, 2010.

CANTERI, M. H. G.; MORENO, L.; WOSIACKI, G.; SCHEER, A. D. P. Pectina: da matéria-prima ao produto final. **Polímeros**, 22, p. 149-157, 2012.

CANTÓN BLANCO, A.; FERNÁNDEZ LÓPEZ, M.; LUGO RODRÍGUEZ, G.; MARTÍNEZ OLMOS, M. Á. *et al.* Utilidad en la clínica de la goma guar parcialmente hidrolizada: revisión de la evidencia y experiencia. **Nutrición Hospitalaria**, 34, n. 1, p. 216-223, 2017.

CARLSON, J. L.; ERICKSON, J. M.; LLOYD, B. B.; SLAVIN, J. L. Health effects and sources of prebiotic dietary fiber. **Current developments in nutrition**, 2, n. 3, p. nzy005, 2018.

CELUS, M.; KYOMUGASHO, C.; VAN LOEY, A. M.; GRAUWET, T. *et al.* Influence of pectin structural properties on interactions with divalent cations and its associated functionalities. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, 17, n. 6, p. 1576-1594, 2018.

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHAN, L. N. Drug-nutrient interactions. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, 37, n. 4, p. 450-459, 2013.

CHEN, X.; SLÄTTENGREN, T.; DE LANGE, E. C. M.; SMITH, D. E. *et al.* Revisiting atenolol as a low passive permeability marker. **Fluids and Barriers of the CNS**, 14, n. 1, p. 1-14, 2017.

CHOI, J. H.; KO, C. M. Food and drug interactions. **Journal of lifestyle medicine**, 7, n. 1, p. 1, 2017.

CODEX ALIMENTARIUS, C. Guidelines on nutrition labelling (CAC/GL 2-1985). **Rome: CAC**, 2017.

COELHO, A. A. Resíduos do processamento de aveia: aplicação em alimentos e seus impactos- Uma revisão. 2020.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Princípios básicos de cromatografia. **Introdução a métodos cromatográficos**, 6, p. 13-19, 1990.

COOK, N. R.; COHEN, J.; HEBERT, P. R.; TAYLOR, J. O. *et al.* Implications of small reductions in diastolic blood pressure for primary prevention. **Archives of internal medicine**, 155, n. 7, p. 701-709, 1995.

DA SILVA, C. O. Efeito Anomérico em Carboidratos: Fatos e Hipóteses. **Revista Virtual de Química**, 3, n. 4, p. 235-246, 2011.

DENG, J.; ZHU, X.; CHEN, Z.; FAN, C. H. *et al.* A Review of Food–Drug Interactions on Oral Drug Absorption. **Drugs**, 77, n. 17, p. 1833-1855, 2017.

DONGOWSKI, G.; NEUBERT, R.; HAASE, H.; SCHNORRENBERGER, B. Interactions between food components and drugs. Part 4: Influence of pectins and bile salts on propranolol absorption. **International journal of pharmaceutics**, 144, n. 2, p. 233-239, 1996.

DOPPENSCHMITT, S.; SPAHN-LANGGUTH, H.; REGÅRDH, C. G.; LANGGUTH, P. Role of P-glycoprotein-mediated secretion in absorptive drug permeability: An approach using passive membrane permeability and affinity to P-glycoprotein. **Journal of pharmaceutical sciences**, 88, n. 10, p. 1067-1072, 1999.

DU, B.; MEENU, M.; LIU, H.; XU, B. A concise review on the molecular structure and function relationship of β -glucan. **International journal of molecular sciences**, 20, n. 16, p. 4032, 2019.

DURGA RAO, D.; SATYANARAYANA, N. V.; SAIT, S. S.; RAMAKOTI REDDY, Y. *et al.* Simultaneous determination of losartan potassium, atenolol and hydrochlorothiazide in pharmaceutical preparations by stability-indicating UPLC. **Chromatographia**, 70, n. 3, p. 647-651, 2009.

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ESWARUDU, M. M.; SAKHEENA, P.; LAHARI, K.; BABU, P. S. *et al.* Validated RP-HPLC Method for Simultaneous Estimation of Atenolol, Hydrochlorothiazide and Losartan Potassium in Bulk and Pharmaceutical Dosage Form. **Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development**, 9, n. 1, p. 60-66, 2021.

EUROPEAN MEDICINES, A. Guideline on the investigation of drug interactions. European Medicines Agency London, United Kingdom 2012.

EVANS, C. E. L.; GREENWOOD, D. C.; THREAPLETON, D. E.; CLEGHORN, C. L. *et al.* Effects of dietary fibre type on blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials of healthy individuals. **Journal of hypertension**, 33, n. 5, p. 897-911, 2015.

FANG, X.-H.; ZOU, M.-Y.; CHEN, F.-Q.; NI, H. *et al.* An overview on interactions between natural product-derived β -glucan and small-molecule compounds. **Carbohydrate Polymers**, p. 117850, 2021.

FENG, T.; ZHU, X.; CAMPANELLA, O. Molecular modeling tools to characterize the structure and complexation behavior of carbohydrates. **Current Opinion in Food Science**, 9, p. 62-69, 2016.

FERDOUSI, R.; SAFDARI, R.; OMIDI, Y. Computational prediction of drug-drug interactions based on drugs functional similarities. **Journal of biomedical informatics**, 70, p. 54-64, 2017.

FLEISHER, D.; LI, C.; ZHOU, Y.; PAO, L.-H. *et al.* Drug, meal and formulation interactions influencing drug absorption after oral administration. **Clinical pharmacokinetics**, 36, n. 3, p. 233-254, 1999.

FRACASSO, A. F.; PERUSSELLO, C. A.; CARPINE, D.; DE OLIVEIRA PETKOWICZ, C. L. *et al.* Chemical modification of citrus pectin: Structural, physical and rheological implications. **International journal of biological macromolecules**, 109, p. 784-792, 2018.

GAO, R.; LIU, H.; PENG, Z.; WU, Z. *et al.* Adsorption of (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) onto oat β -glucan. **Food Chemistry**, 132, n. 4, p. 1936-1943, 2012.

GILL, S. K.; ROSSI, M.; BAJKA, B.; WHELAN, K. Dietary fibre in gastrointestinal health and disease. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, 18, n. 2, p. 101-116, 2021.

GIN, H.; ORGERIE, M. B.; AUBERTIN, J. The influence of guar gum on absorption of metformin from the gut in healthy volunteers. **Hormone and metabolic research**, 21, n. 02, p. 81-83, 1989.

GMI. Global Market Insights. Market Size By Ingredients (Fructo-oligosaccharide (FOS), Inulin, Galacto-oligosaccharides (GOS), Mannan-oligosaccharide (MOS)), By Application (Prebiotic Food & Beverages {Dairy Products, Cereals, Baked Food, Fermented Meat Products, Dry Food Prebiotics}, Prebiotic Dietary Supplements {Food Supplement, Nutritional Supplements, Specialty Nutrients, Infant Formula}, Animal Feed Prebiotics) Industry Analysis Report, Country

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Outlook Application Development, Price Trends, Competitive Market Share & Forecast, 2021 – 2027. <https://www.gminsights.com/industry-analysis/prebiotics-market> 2020.

GU, C.-H.; LI, H.; LEVONS, J.; LENTZ, K. *et al.* Predicting effect of food on extent of drug absorption based on physicochemical properties. **Pharmaceutical research**, 24, n. 6, p. 1118-1130, 2007.

GUILLON, F.; CHAMP, M. Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. **Food research international**, 33, n. 3-4, p. 233-245, 2000.

HALGREN, T. A. Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94. **Journal of computational chemistry**, 17, n. 5-6, p. 490-519, 1996.

HANWELL, M. D.; CURTIS, D. E.; LONIE, D. C.; VANDERMEERSCH, T. *et al.* Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. **Journal of cheminformatics**, 4, n. 1, p. 1-17, 2012.

HASLER, C. M. Functional foods: benefits, concerns and challenges—a position paper from the American Council on Science and Health. **The Journal of nutrition**, 132, n. 12, p. 3772-3781, 2002.

HERMAN, L.; BASHIR, K. Hydrochlorothiazide. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing [internet]. August 10, 2021. Acesso em 15/09/2021 2021.

HIJOVÁ, E.; BERTKOVÁ, I.; ŠTOFILOVÁ, J. Dietary fibre as prebiotics in nutrition. **Central European journal of public health**, 27, n. 3, p. 251-255, 2019.

HOFER, T. S.; DE VISSER, S. P. Quantum mechanical/molecular mechanical approaches for the investigation of chemical systems—recent developments and advanced applications. **Frontiers in Chemistry**, 6, p. 357, 2018.

HOLSCHER, H. D. Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. **Gut microbes**, 8, n. 2, p. 172-184, 2017.

HUANG, J.; NIU, C.; GREEN, C. D.; YANG, L. *et al.* Systematic prediction of pharmacodynamic drug-drug interactions through protein-protein-interaction network. **PLoS computational biology**, 9, n. 3, p. e1002998, 2013.

HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD: visual molecular dynamics. **Journal of molecular graphics**, 14, n. 1, p. 33-38, 1996.

HUUPPONEN, R.; KARHUVAARA, S.; SEPPÄLÄ, P. Effect of guar gum on glipizide absorption in man. **European journal of clinical pharmacology**, 28, n. 6, p. 717-719, 1985.

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ISMAIL, M. Y. M.; YAHEYA, M. Drug-food interactions and role of pharmacist. **Asian journal of pharmaceutical and clinical research**, 2, n. 4, p. 1-10, 2009.

ISRAILI, Z. H. Clinical pharmacokinetics of angiotensin II (AT 1) receptor blockers in hypertension. **Journal of human hypertension**, 14, n. 1, p. S73-S86, 2000.

IWAZAKI, A.; TAKAHASHI, K.; TAMEZANE, Y.; TANAKA, K. *et al.* Effect of dietary fiber on the level of free angiotensin II receptor blocker in vitro. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 37, n. 5, p. 779-784, 2014.

IWAZAKI, A.; TAKAHASHI, N.; MIYAKE, R.; HIROSHIMA, Y. *et al.* Effect of dietary fibers on losartan uptake and transport in Caco-2 cells. **Biopharmaceutics & Drug Disposition**, 37, n. 4, p. 212-219, 2016.

JAKOBEK, L.; MATIĆ, P.; KRALJEVIĆ, Š.; UKIĆ, Š. *et al.* Adsorption between quercetin derivatives and β -glucan studied with a novel approach to modeling adsorption isotherms. **Applied Sciences**, 10, n. 5, p. 1637, 2020.

JAMES, S. L.; MUIR, J. G.; CURTIS, S. L.; GIBSON, P. R. Dietary fibre: a roughage guide. **Internal medicine journal**, 33, n. 7, p. 291-296, 2003.

JOHANSSON, M. P.; KAILA, V. R. I.; SUNDHOLM, D. Ab initio, density functional theory, and semi-empirical calculations. *In: Biomolecular Simulations: Springer*, 2013. p. 3-27.

JONES, H. M.; PARROTT, N.; OHLENBUSCH, G.; LAVÉ, T. Predicting pharmacokinetic food effects using biorelevant solubility media and physiologically based modelling. **Clinical pharmacokinetics**, 45, n. 12, p. 1213-1226, 2006.

JONES, J. M. CODEX-aligned dietary fiber definitions help to bridge the 'fiber gap'. **Nutrition journal**, 13, n. 1, p. 34, 2014.

KATAKAM, P. V. G.; UJHELYI, M. R.; HOENIG, M. E.; MILLER, A. W. Endothelial dysfunction precedes hypertension in diet-induced insulin resistance. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 275, n. 3, p. R788-R792, 1998.

KAUR, R.; SHARMA, M.; JI, D.; XU, M. *et al.* Structural features, modification, and functionalities of beta-glucan. **Fibers**, 8, n. 1, p. 1, 2020.

KHAN, K.; JOVANOVSKI, E.; HO, H. V. T.; MARQUES, A. C. R. *et al.* The effect of viscous soluble fiber on blood pressure: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, 28, n. 1, p. 3-13, 2018.

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

KIRCH, W.; GÖRG, K. G. Clinical pharmacokinetics of atenolol—a review. **European journal of drug metabolism and pharmacokinetics**, 7, n. 2, p. 81-91, 1982.

KLEIN, S. The use of biorelevant dissolution media to forecast the in vivo performance of a drug. **The AAPS journal**, 12, n. 3, p. 397-406, 2010.

KOREN-MICHOWITZ, M.; DISHY, V.; ZAIDENSTEIN, R.; YONA, O. et al. The effect of losartan and losartan/hydrochlorothiazide fixed-combination on magnesium, zinc, and nitric oxide metabolism in hypertensive patients: a prospective open-label study. **American journal of hypertension**, 18, n. 3, p. 358-363, 2005.

KREMERS, P. In vitro Tests for Predicting Drug-Drug Interactions: The Need for Validated Procedures. **Pharmacology & toxicology**, 91, n. 5, p. 209-217, 2002.

KRIETER, P. A.; COLLETTI, A. E.; MILLER, R. R.; STEARNS, R. A. Absorption and glucuronidation of the angiotensin II receptor antagonist losartan by the rat intestine. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 273, n. 2, p. 816-822, 1995.

LENNERNAS, H.; AHRENSTEDT, O.; UNGELL, A. L. Intestinal drug absorption during induced net water absorption in man; a mechanistic study using antipyrine, atenolol and enalaprilat. **British journal of clinical pharmacology**, 37, n. 6, p. 589-596, 1994.

LENTZ, K. A. Current methods for predicting human food effect. **The AAPS journal**, 10, n. 2, p. 282-288, 2008.

LEWARS, E. G. **Computational Chemistry - Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics**. Second ed. 2010. 675 p.

LEYVA-PORRAS, C.; LÓPEZ-PABLOS, A. L.; ALVAREZ-SALAS, C.; PÉREZ-URIZAR, J. et al. Physical properties of inulin and technological applications. **Polysaccharides; Ramawat, KG, Mérillon, JM, Eds.; Springer: New York, NY, USA**, p. 959-984, 2015.

LI, R.; ZENG, Z.; FU, G.; WAN, Y. et al. Formation and characterization of tannic acid/beta-glucan complexes: Influence of pH, ionic strength, and temperature. **Food Research International**, 120, p. 748-755, 2019.

LIP, G. Y. H.; COCA, A.; KAHAN, T.; BORIANI, G. et al. Hypertension and cardiac arrhythmias: executive summary of a consensus document from the European Heart Rhythm Association (EHRA) and ESC council on Hypertension, endorsed by the Heart Rhythm Society (HRS), Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS), and Sociedad Latinoamericana de Estimulación Cardíaca y Electrofisiología (SOLEACE). **European Heart Journal—Cardiovascular Pharmacotherapy**, 3, n. 4, p. 235-250, 2017.

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced drug delivery reviews**, 23, n. 1-3, p. 3-25, 1997.

LO, M. W.; GOLDBERG, M. R.; MCCREA, J. B.; LU, H. *et al.* Pharmacokinetics of losartan, an angiotensin II receptor antagonist, and its active metabolite EXP3174 in humans. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, 58, n. 6, p. 641-649, 1995.

LUNN, J.; BUTTRISS, J. L. Carbohydrates and dietary fibre. **Nutrition Bulletin**, 32, n. 1, p. 21-64, 2007.

MANALLACK, D. T. The p K a distribution of drugs: application to drug discovery. **Perspectives in medicinal chemistry**, 1, p. 1177391X0700100003, 2007.

MARKOWITZ, J. S.; ZHU, H.-J. Limitations of in vitro assessments of the drug interaction potential of botanical supplements. **Planta medica**, 78, n. 13, p. 1421-1427, 2012.

MASON, P. Important drug–nutrient interactions. **Proceedings of the Nutrition Society**, 69, n. 4, p. 551-557, 2010.

MATIĆ, P.; JAKOBEK, L.; UKIĆ, Š. An equilibrium and kinetic study of phenolic acids adsorption onto β -glucan. **Croatian journal of food science and technology**, 10, n. 1, p. 73-80, 2018.

MCCABE, B. J. Prevention of food-drug interactions with special emphasis on older adults. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, 7, n. 1, p. 21-26, 2004.

MEJÍA, S. M. V.; DE FRANCISCO, A.; BOHRER, B. A comprehensive review on cereal β -glucan: Extraction, characterization, causes of degradation, and food application. **Critical reviews in food science and nutrition**, 60, n. 21, p. 3693-3704, 2020.

MENSINK, M. A.; FRIJLINK, H. W.; VAN DER VOORT MAARSCHALK, K.; HINRICHS, W. L. J. Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics. **Carbohydrate polymers**, 130, p. 405-419, 2015.

MIMURA, Y.; YASUJIMA, T.; OHTA, K.; INOUE, K. *et al.* Functional identification of organic cation transporter 1 as an atenolol transporter sensitive to flavonoids. **Biochemistry and biophysics reports**, 2, p. 166-171, 2015.

MOHN, E. S.; KERN, H. J.; SALTZMAN, E.; MITMESSER, S. H. *et al.* Evidence of drug–nutrient interactions with chronic use of commonly prescribed medications: An update. **Pharmaceutics**, 10, n. 1, p. 36, 2018.

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MOPAC2016. James J. P. Stewart, **Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA**, [HTTP://OpenMOPAC.net](http://OpenMOPAC.net) 2016.

MOURA, F. A. D. **Propriedades físico-químicas e efeito prebiótico de pectina hidrolisada obtida de resíduos agroindustriais**. 2015. 77 f. (Tese de Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS).

MS. **Ministério da Saúde. Assistência Farmacêutica no SUS. Farmácia Popular. Sobre o Programa**. <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/assistencia-farmaceutica-no-sus/farmacia-popular-1/sobre-o-programa>, 2021. Acesso em: 06 de janeiro.

NDINDAYINO, F.; VERVAET, C.; VAN DEN MOOTER, G.; REMON, J. P. Bioavailability of hydrochlorothiazide from isomalt-based moulded tablets. **International journal of pharmaceutics**, 246, n. 1-2, p. 199-202, 2002.

NEPALI, P.; SURESH, S.; PIKALE, G.; JHAVERI, S. *et al.* Hypertension and the role of dietary fiber. **Current Problems in Cardiology**, p. 101203, 2022.

O'SHEA, J. P.; HOLM, R.; O'DRISCOLL, C. M.; GRIFFIN, B. T. Food for thought: formulating away the food effect—a PEARRL review. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 71, n. 4, p. 510-535, 2019.

PAO, L.-H.; ZHOU, S. Y.; COOK, C.; KARARLI, T. *et al.* Reduced systemic availability of an antiarrhythmic drug, bidisomide, with meal co-administration: relationship with region-dependent intestinal absorption. **Pharmaceutical research**, 15, n. 2, p. 221-227, 1998.

PARK, Y.-A.; SONG, Y.-B.; YEE, J.; YOON, H.-Y. *et al.* Influence of CYP2C9 genetic polymorphisms on the pharmacokinetics of losartan and its active metabolite E-3174: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Personalized Medicine**, 11, n. 7, p. 617, 2021.

PEREIRA, M. A.; PINS, J. J. Dietary fiber and cardiovascular disease: experimental and epidemiologic advances. **Current Atherosclerosis Reports**, 2, n. 6, p. 494-502, 2000.

PEREZ, S.; TVAROŠKA, I. Carbohydrate–protein interactions: Molecular modeling insights. **Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry**, 71, p. 9-136, 2014.

PERIS, G. P.; LESMES, B.; CUERDA, C. M.; ALVAREZ, C. Metabolismo colónico de la fibra. **Nutr Hosp**, 17, p. 11-16, 2002.

PETTERSEN, E. F.; GODDARD, T. D.; HUANG, C. C.; COUCH, G. S. *et al.* UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. **Journal of computational chemistry**, 25, n. 13, p. 1605-1612, 2004.

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

PRESCOTT, J. D.; DRAKE, V. J.; STEVENS, J. F. Medications and micronutrients: identifying clinically relevant interactions and addressing nutritional needs. **Journal of Pharmacy Technology**, 34, n. 5, p. 216-230, 2018.

PÉTER, S.; NAVIS, G.; DE BORST, M. H.; VON SCHACKY, C. *et al.* Public health relevance of drug–nutrition interactions. **European journal of nutrition**, 56, n. 2, p. 23-36, 2017.

RAO, T. S. S.; YERAGANI, V. K. Hypertensive crisis and cheese. **Indian journal of psychiatry**, 51, n. 1, p. 65, 2009.

REKER, D.; SHI, Y.; KIRTANE, A. R.; HESS, K. *et al.* Machine learning uncovers food-and excipient-drug interactions. **Cell reports**, 30, n. 11, p. 3710-3716, 2020.

REPPAS, C.; ELEFThERIOU, G.; MACHERAS, P.; SYMILLIDES, M. *et al.* Effect of elevated viscosity in the upper gastrointestinal tract on drug absorption in dogs. **European journal of pharmaceutical sciences**, 6, n. 2, p. 131-139, 1998.

REYNOLDS, A. N.; AKERMAN, A.; KUMAR, S.; DIEP PHAM, H. T. *et al.* Dietary fibre in hypertension and cardiovascular disease management: systematic review and meta-analyses. **BMC medicine**, 20, n. 1, p. 1-9, 2022.

RODRIGUES, C. R. Processos Modernos no desenvolvimento de Fármacos: Modelagem molecular. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, N, 2001.

RYU, J. Y.; KIM, H. U.; LEE, S. Y. Deep learning improves prediction of drug–drug and drug–food interactions. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 115, n. 18, p. E4304-E4311, 2018.

SACKS, F. M.; SVETKEY, L. P.; VOLLMER, W. M.; APPEL, L. J. *et al.* Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. **New England journal of medicine**, 344, n. 1, p. 3-10, 2001.

SAFDARI, R.; FERDOUSI, R.; AZIZIHERIS, K.; NIAKAN-KALHORI, S. R. *et al.* Computerized techniques pave the way for drug-drug interaction prediction and interpretation. **BioImpacts: BI**, 6, n. 2, p. 71, 2016.

SANEEI, P.; SALEHI-ABARGOUEI, A.; ESMAILLZADEH, A.; AZADBAKHT, L. Influence of Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet on blood pressure: a systematic review and meta-analysis on randomized controlled trials. **Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases**, 24, n. 12, p. 1253-1261, 2014.

SANTOS, L. D. A.; PRANDI, I. G.; RAMALHO, T. C. Could quantum mechanical properties be reflected on classical molecular dynamics? The case of halogenated organic compounds of biological interest. **Frontiers in Chemistry**, 7, p. 848, 2019.

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

SARKAR, S. Functional foods as self-care and complementary medicine. **Nutrition & Food Science**, 2007.

SATIJA, A.; HU, F. B. Cardiovascular benefits of dietary fiber. **Current atherosclerosis reports**, 14, n. 6, p. 505-514, 2012.

SCHERBININA, S. I.; TOUKACH, P. V. Three-dimensional structures of carbohydrates and where to find them. **International journal of molecular sciences**, 21, n. 20, p. 7702, 2020.

SCHOENBERGER, J. A. Losartan with hydrochlorothiazide in the treatment of hypertension. **Journal of hypertension. Supplement: official journal of the International Society of Hypertension**, 13, n. 1, p. S43-47, 1995.

SHENOGIN, R.; OZISIK, R. **XenoView v.3.4**. 2007.

SHIMA, K. Effect of dietary fiber, konjac mannan and guar gum on absorption of sulfonylurea in man. **Nutrition**

Reports International., 26, n. 2, p. 297-302, 1982.

SHIMA, K.; TANAKA, A.; IKEGAMI, H.; TABATA, M. *et al.* Effect of dietary fiber, glucomannan, on absorption of sulfonylurea in man. **Hormone and Metabolic Research**, 15, n. 01, p. 1-3, 1983.

SICA, D. A.; GEHR, T. W. B.; GHOSH, S. Clinical pharmacokinetics of losartan. **Clinical pharmacokinetics**, 44, n. 8, p. 797-814, 2005.

SJÖQVIST, F.; BÖTTIGER, Y. Historical perspectives: drug interactions—it all began with cheese. **Journal of internal medicine**, 268, n. 6, p. 512-515, 2010.

SOLDNER, A.; BENET, L. Z.; MUTSCHLER, E.; CHRISTIANS, U. Active transport of the angiotensin-II antagonist losartan and its main metabolite EXP 3174 across MDCK-MDR1 and Caco-2 cell monolayers. **British journal of pharmacology**, 129, n. 6, p. 1235-1243, 2000.

SOLOMON, S. D.; PFEFFER, M. A. The future of clinical trials in cardiovascular medicine. **Circulation**, 133, n. 25, p. 2662-2670, 2016.

SOLUM, T. T.; RYTTIG, K. R.; SOLUM, E.; LARSEN, S. The influence of a high-fibre diet on body weight, serum lipids and blood pressure in slightly overweight persons. A randomized, double-blind, placebo-controlled investigation with diet and fibre tablets (DumoVital). **International journal of obesity**, 11, p. 67, 1987.

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

SOUZA, J. D.; FREITAS, Z. M. F.; STORPIRTIS, S. Modelos in vitro para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 43, p. 515-527, 2007.

SPERBER, B. L. H. M. **Influence of pectin characteristics on complexation with β -lactoglobulin**. 2010. 9085858356.

SRIAMORNSAK, P. Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: A review. **Silpakorn University International Journal**, 3, n. 1-2, p. 206-228, 2003.

STEWART, J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. **Journal of Molecular modeling**, 13, n. 12, p. 1173-1213, 2007.

STREPPEL, M. T.; ARENDS, L. R.; VAN'T VEER, P.; GROBBEE, D. E. *et al.* Dietary fiber and blood pressure: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. **Archives of internal medicine**, 165, n. 2, p. 150-156, 2005.

SULTAN, E. S.; EL-SAHN, F. A.; FETOHY, E. M.; MOHAMED, D. T. Knowledge, Attitude and Practice of Physicians and Pharmacists Working in Alexandria Governmental Hospitals Regarding Food Drug and Drug Nutrient Interactions. **Journal of High Institute of Public Health**, 51, n. 3, p. 121-127, 2021.

THOMAS, A. B.; CHAVAN, U. B.; NANDA, R. K.; KOTHAPALLI, L. P. *et al.* Simultaneous RP-HPLC analysis of atenolol, hydrochlorothiazide, and losartan potassium in a tablet formulation. **Acta Chromatographica**, 22, n. 2, p. 219-226, 2010.

THOMAS, J. A. Drug–nutrient interactions. **Nutrition reviews**, 53, n. 10, p. 271-282, 1995.

USDA. United States Department of Agriculture. Grain: World Markets and Trade. <https://www.fas.usda.gov/data/grain-world-markets-and-trade> 2022.

UUSITUPA, M.; SÖDERVIK, H.; SILVASTI, M.; KARTTUNEN, P. Effects of a gel forming dietary fiber, guar gum, on the absorption of glibenclamide and metabolic control and serum lipids in patients with non-insulin-dependent (type 2) diabetes. **International journal of clinical pharmacology, therapy, and toxicology**, 28, n. 4, p. 153-157, 1990.

VELOSO, R. C. D. S. G.; FIGUEREDO, T. P. D.; BARROSO, S. C. C.; NASCIMENTO, M. M. G. D. *et al.* Factors associated with drug interactions in elderly hospitalized in high complexity hospital. **Ciencia & saude coletiva**, 24, p. 17-26, 2019.

VENZON, S. S.; CANTERI, M. H. G.; GRANATO, D.; JUNIOR, B. D. *et al.* Physicochemical properties of modified citrus pectins extracted from orange pomace. **Journal of food science and technology**, 52, n. 7, p. 4102-4112, 2015.

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VERTZONI, M.; AUGUSTIJNS, P.; GRIMM, M.; KOZIOLEK, M. *et al.* Impact of regional differences along the gastrointestinal tract of healthy adults on oral drug absorption: An UNGAP review. **European journal of pharmaceutical sciences**, 134, p. 153-175, 2019.

VEVERKA, M.; DUBAJ, T.; GALLOVIČ, J.; JORÍK, V. *et al.* Beta-glucan complexes with selected nutraceuticals: Synthesis, characterization, and stability. **Journal of Functional Foods**, 8, p. 309-318, 2014.

WAN, S. H.; KODA, R. T.; MARONDE, R. F. Pharmacokinetics, pharmacology of atenolol and effect of renal disease. **British journal of clinical pharmacology**, 7, n. 6, p. 569-574, 1979.

WANG, Q.; ELLIS, P. R. Oat β -glucan: physico-chemical characteristics in relation to its blood-glucose and cholesterol-lowering properties. **British Journal of Nutrition**, 112, n. S2, p. S4-S13, 2014.

WANG, Y.; LIU, J.; CHEN, F.; ZHAO, G. Effects of molecular structure of polyphenols on their noncovalent interactions with oat β -glucan. **Journal of agricultural and food chemistry**, 61, n. 19, p. 4533-4538, 2013.

WATANABE, S.; INOUE, N.; IMAI, K.; SUEMARU, K. *et al.* Interaction of drugs with dietary fiber—Adsorption of drugs onto dietary fiber in in vitro study—. **Japanese Journal of Pharmaceutical Health Care and Sciences**, 32, n. 3, p. 221-226, 2006.

WHELTON, P. K.; HE, J.; APPEL, L. J.; CUTLER, J. A. *et al.* Primary prevention of hypertension: clinical and public health advisory from The National High Blood Pressure Education Program. **Jama**, 288, n. 15, p. 1882-1888, 2002.

WHELTON, S. P.; HYRE, A. D.; PEDERSEN, B.; YI, Y. *et al.* Effect of dietary fiber intake on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. **23 (3)**, 23, n. 3, p. 475-481, 2005.

WHO. **World Health Organization. Hypertension - Key Facts. 25 August 2021.** <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>, p. [website] accessed 11 November 2021, 2021. Acesso em: 11 November.

WILLIAMS, B. A.; MIKKELSEN, D.; FLANAGAN, B. M.; GIDLEY, M. J. “Dietary fibre”: moving beyond the “soluble/insoluble” classification for monogastric nutrition, with an emphasis on humans and pigs. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, 10, n. 1, p. 1-12, 2019.

WILLIAMS, R. C.; ALASANDRO, M. S.; FASONE, V. L.; BOUCHER, R. J. *et al.* Comparison of liquid chromatography, capillary electrophoresis and super-critical fluid chromatography in the determination of Losartan Potassium drug substance in Cozaar® tablets. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, 14, n. 11, p. 1539-1546, 1996.

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

WU, C.-Y.; BENET, L. Z. Predicting drug disposition via application of BCS: transport/absorption/elimination interplay and development of a biopharmaceutics drug disposition classification system. **Pharmaceutical research**, 22, n. 1, p. 11-23, 2005.

WU, Z.; MING, J.; GAO, R.; WANG, Y. *et al.* Characterization and antioxidant activity of the complex of tea polyphenols and oat β -glucan. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 59, n. 19, p. 10737-10746, 2011.

XIONG, X.; CHEN, Z.; COSSINS, B. P.; XU, Z. *et al.* Force fields and scoring functions for carbohydrate simulation. **Carbohydrate research**, 401, p. 73-81, 2015.

YADAV, S. S.; RAO, J. R. Simultaneous estimation of Losartan, Hydrochlorothiazide and Atenolol from solid dosage form by RP-HPLC. **Int J Pharm Pharm Sci**, 6, n. 1, p. 283-288, 2014.

YANG, W.; DENG, C.; XU, L.; JIN, W. *et al.* Protein-neutral polysaccharide nano- and micro-biopolymer complexes fabricated by lactoferrin and oat β -glucan: Structural characteristics and molecular interaction mechanisms. **Food Research International**, 132, p. 109111, 2020.

YANG, Y.; FAUSTINO, P. J.; VOLPE, D. A.; ELLISON, C. D. *et al.* Biopharmaceutics classification of selected β -blockers: solubility and permeability class membership. **Molecular pharmaceutics**, 4, n. 4, p. 608-614, 2007.

YOON, S.-J.; CHU, D.-C.; JUNEJA, L. R. Chemical and physical properties, safety and application of partially hydrolyzed guar gum as dietary fiber. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, 42, n. 1, p. 1-7, 2008.

ZAKHAROV, A. V.; VARLAMOVA, E. V.; LAGUNIN, A. A.; DMITRIEV, A. V. *et al.* Qsar modeling and prediction of drug–drug interactions. **Molecular pharmaceutics**, 13, n. 2, p. 545-556, 2016.

ZHANG, L.; ZHANG, Y. D.; ZHAO, P.; HUANG, S.-M. Predicting drug–drug interactions: an FDA perspective. **The AAPS journal**, 11, n. 2, p. 300-306, 2009.

ZOU, M. Y.; NIE, S. P.; YIN, J. Y.; XIE, M. Y. An overview on ascorbic acid induced degradation of polysaccharide from natural products. **International journal of biological macromolecules**, 2020.

ANEXO A – ARTIGO 1

International Journal of Diabetes in Developing Countries
<https://doi.org/10.1007/s13410-022-01114-y>

REVIEW ARTICLE



The effect of dietary fibers on the absorption of oral hypoglycemic drugs: a systematic review of controlled trials

Edlaine Rijo Costa^{1,2} · Thales Nascimento Castro³ · Rita de Cássia Elias Estrela^{2,3} · José Carlos Saraiva Gonçalves² · Glorimar Rosa^{1,4}

Received: 28 September 2021 / Accepted: 29 June 2022

© The Author(s), under exclusive licence to Research Society for Study of Diabetes in India 2022

Abstract

Purpose Dietary fibers and hypoglycemic drugs can be used concomitantly in the treatment of diabetes mellitus. We aimed to perform this review in order to evaluate whether scientific evidence is available regarding the interaction between these components and whether these interactions alter drug absorption.

Methods We conducted a search of the literature for controlled clinical trials that evaluated the occurrence and clinical relevance of interactions between dietary fibers and hypoglycemic drugs. Six databases were searched from inception to April 20, 2020 and trials were eligible for inclusion if they measured changes in drug absorption parameters.

Results In three studies, there were interactions between dietary fibers and hypoglycemic drugs, causing alterations in drug absorption. The other two studies had no significant changes in absorption pharmacokinetic parameters.

Conclusions The physicochemical characteristics of the dietary fiber used, the chemical structure of the drug, and the pharmaceutical form administered are determining factors for the occurrence of alterations in drug absorption.

Keywords Dietary fiber · Hypoglycemic agents · Diabetes mellitus · Drug-food interactions · Absorption

Introduction

Diabetes mellitus (DM) is a chronic disease that occurs when there are elevated blood glucose levels due to the inability of the pancreas to produce insulin or the inability of the body to use insulin adequately. According to the International Diabetes Federation, in 2019, approximately 463 million adults (ages 20 to 79 years) lived with diabetes, and 374 million people were at an increased risk of developing type 2 diabetes mellitus (DM2) [1].

DM2 is one of the main diseases that can be avoided by means of lifestyle changes and non-pharmacological intervention. Studies have shown that, in people with risk factors, approximately 7% loss of initial body weight over 6 months at a rate of 0.5 to 1.0 kg/month and 150 min of physical activity per week are capable of reducing conversion to DM [2]. These changes, however, should not only occur for the sake of prevention. Once DM has been established, sedentary habits must be eliminated, and it is necessary to adopt a healthy and balanced diet, avoiding simple sugars and increasing the quantity of dietary fibers, in association with pharmacological treatment [3].

Dietary fibers are recommended in DM, because they improve glycemic control and decrease hyperinsulinemia [4–7]. Evidence has shown that this protective effect of fibers is mainly due to the ingestion of soluble fibers [8–11], but the role of insoluble fibers continues to be under discussion [12, 13], given that they act in diverse ways in controlling DM. Soluble fibers have beneficial effects on blood glucose and lipid metabolism, while insoluble fibers act by contributing to satiety and weight control [14]. Due to their importance for controlling DM and other diseases [15], dietary fibers have increasingly received attention from the population and health

✉ Edlaine Rijo Costa
edlaine@pharma.ufrj.br

¹ Postgraduate Program in Medicine/Cardiology, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

² Faculty of Pharmacy, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

³ Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

⁴ Josué de Castro Nutrition Institute, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

professionals. The recommended intake of dietary fiber is 25 to 29 g per 1000 kcal [16], which is often far from the population's actual intake. To compensate for this deficiency in fiber intake, some supplements are used in a continuous manner, generally without the control of a physician or nutritionist.

In spite of the beneficial effects of dietary fibers, it is known that they may affect pharmacokinetic parameters of orally administered drugs. These dietary fiber-drug interactions may not result in any changes [17–19], but they may also lead to an increase [20, 21] or a decrease [22–26] in the bioavailability of the drug and, consequently, cause unwanted clinical effects of lack of effect.

Given that dietary fibers may be used concomitantly with oral hypoglycemic drugs in DM, it is important to evaluate whether any type of interaction occurs between them and whether this interaction is relevant to the treatment of patients and the evolution of the disease. Therefore, this review was conducted in order to evaluate whether scientific evidence is available regarding the interaction between dietary fibers and oral hypoglycemic drugs and whether these interactions alter drug absorption.

Methods

This review was conducted in accordance with the Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions [27] and the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) guidelines and checklist [28], albeit not prospectively registered. The PRISMA checklist is included in Fig. 1.

Search strategy

Two authors independently searched the PubMed/Medline, Scopus, Web of Science (WOS), Cochrane Library, CINAHL, and Virtual Health Library/Latin American and Caribbean Health Sciences Literature (LILACS) databases for clinical trials on the interaction between dietary fiber and hypoglycemic drugs, by consulting the Health Science Descriptors (DeCS) and Medical Subject Headings (MeSH). The following English search terms and their correspondents in Portuguese and Spanish (for LILACS) were used: interaction, dietary fiber, (1-6)-glucosaminan, psyllium, guar gum, chitosan, beta-glucans, pectins, hypoglycemic agents, sulfonylurea compounds, biguanides, absorption, drug liberation, biological availability, pharmacokinetics, area under curve, and biological transport. The Boolean operators “AND” or “OR” were used to combine the descriptors. Studies published up to April 20, 2020 were eligible. An update of the search was conducted in October 2020. Language restrictions were applied to select articles in English, Spanish, and Portuguese. Additionally, the reference lists of the included studies were

hand searched in order to identify other relevant trials. The search strategy is detailed in Table S1 in the Supporting Information online.

Selection criteria, screening, and eligibility

Table 1 shows the PICOS (participants, intervention, comparators, outcomes, and study design) criteria adopted in this review. After database search, duplicate studies were excluded. Initial selection was based on title and abstract; subsequently, full texts were read to determine which studies were eligible for inclusion. Only clinical trials were evaluated. Reviews, consensus papers, letters to editor, dissertations, and theses were excluded. Studies that evaluated changes in absorption parameters caused by the interaction between dietary fibers and hypoglycemic drugs were selected. Eligibility was analyzed independently by the reviewing authors, and disagreements were resolved by consensus.

Data extraction and synthesis

The following information was extracted from the selected articles: first author's name, publication year, study population, study design, dose and fiber used, dose and drug used, pharmacokinetic study design, main results (alterations in the area under the curve [AUC] of the drug and blood glucose concentration), and information on risk-of-bias assessment.

Risk-of-bias assessment

Two investigators independently evaluated risk of bias using the Risk of Bias in Non-randomized Studies of Interventions (ROBINS-I) [29] and Risk of Bias for Randomized Trials (RoB 2) [30] tools recommended by the Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions [31, 32]. The included studies were assessed for bias across the following seven domains: (1) bias due to confounding; (2) bias in selection of participants into the study; (3) bias in classification of interventions; (4) bias due to deviations from intended interventions; (5) bias due to missing data; (6) bias in measurement of outcomes; and (7) bias in selection of the reported result, for non-randomized studies, and (1) random sequence generation; (2) allocation concealment; (3) blinding of participants and personnel; (4) blinding of outcome assessment; (5) incomplete outcome data; (6) selective reporting; and (7) other bias, for randomized trials. Each item was assessed through the signaling questions judged as yes, probably yes, probably no, no, and no information (insufficient or absent details to answer the questions). An overall risk-of-bias judgment was made as low, moderate, serious, critical, or no information for non-randomized studies or low, high, or unclear for randomized trials.

12 ANEXOS

International Journal of Diabetes In Developing Countries

Fig. 1 Prisma 2009 Checklist

Section/Topic	#	Checklist Item	Reported on page
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review, meta-analysis, or both.	1
ABSTRACT			
Structured summary	2	Provide a structured summary including, as applicable: background; objectives; data sources; study eligibility criteria; participants; and interventions; study appraisal and synthesis methods; results; limitations; conclusions and implications of key findings; systematic review registration number.	1
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of what is already known.	1, 2
Objectives	4	Provide an explicit statement of questions being addressed with reference to participants, interventions, comparisons, outcomes, and study design (PICOS).	2
METHODS			
Protocol and registration	5	Indicate if a review protocol exists, if and where it can be accessed (e.g., Web address), and, if available, provide registration information including registration number.	2
Eligibility criteria	6	Specify study characteristics (e.g., PICOS, length of follow-up) and report characteristics (e.g., years considered, language, publication status) used as criteria for eligibility, giving rationale.	2, 3
Information sources	7	Describe all information sources (e.g., databases with dates of coverage, contact with study authors to identify additional studies) in the search and date last searched.	2
Search	8	Present full electronic search strategy for at least one database, including any limits used, such that it could be repeated.	S1
Study selection	9	State the process for selecting studies (i.e., screening, eligibility, included in systematic review, and, if applicable, included in the meta-analysis).	2
Data collection process	10	Describe method of data extraction from reports (e.g., piloted forms, independently, in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.	2
Data items	11	List and define all variables for which data were sought (e.g., PICOS, funding sources) and any assumptions and simplifications made.	2
Risk of bias in individual studies	12	Describe methods used for assessing risk of bias of individual studies (including specification of whether this was done at the study or outcome level), and how this information is to be used in any data synthesis.	2
Summary measures	13	State the principal summary measures (e.g., risk ratio, difference in means).	NA
Synthesis of results	14	Describe the methods of handling data and combining results of studies, if done, including measures of consistency (e.g., I ²) for each meta-analysis.	NA
Risk of bias across studies	15	Specify any assessment of risk of bias that may affect the cumulative evidence (e.g., publication bias, selective reporting within studies).	NA
Additional analyses	16	Describe methods of additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression), if done, indicating which were pre-specified.	NA
RESULTS			
Study selection	17	Give numbers of studies screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally with a flow diagram.	4
Study characteristics	18	For each study, present characteristics for which data were extracted (e.g., study size, PICOS, follow-up period) and provide the citations.	4, 5
Risk of bias within studies	19	Present data on risk of bias of each study and, if available, any outcome-level assessment (see Item 12).	6, 7
Results of individual studies	20	For all outcomes considered (benefits or harms), present, for each study: (a) simple summary data for each intervention group and (b) effect estimates and confidence intervals, ideally with a forest plot.	NA
Synthesis of results	21	Present results of each meta-analysis done, including confidence intervals and measures of consistency.	NA
Risk of bias across studies	22	Present results of any assessment of risk of bias across studies (see Item 15).	NA
Additional analysis	23	Give results of additional analyses, if done (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression [see Item 16]).	NA
DISCUSSION			
Summary of evidence	24	Summarize the main findings including the strength of evidence for each main outcome; consider their relevance to key groups (e.g., health care providers, users, and policy makers).	7, 8
Limitations	25	Discuss limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias) and at review level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias).	8
Conclusions	26	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence, and implications for future research.	8
FUNDING			
Funding	27	Describe sources of funding for the systematic review and other support (e.g., supply of data), role of funders for the systematic review.	N/A

NA: Not applicable

Table 1 PICOS criteria for inclusion and exclusion of studies

Parameter	Inclusion criterion	Exclusion criterion
Population	Adult humans (female and male)	
Intervention	Hypoglycemic drug plus supplementation with dietary fiber	
Comparator	Hypoglycemic drug without supplementation	
Outcomes	Changes in absorption, drug liberation, biological availability, pharmacokinetics, area under curve, and biological transport	
Study design	Controlled clinical trials	In vitro studies, reviews, consensus papers, letters to editor, theses, and dissertations

Results

Selected studies

Figure 2 shows a flow diagram of the literature search and selection process. After the database search, 307 records were identified in PubMed ($n = 72$), Scopus ($n = 147$), WOS ($n = 50$), Cochrane Library ($n = 26$), CINAHL ($n = 11$), and LILACS ($n = 0$). In addition, one record was included from the reference list of another relevant study. After removing 89 duplicate articles, 218 studies were screened, and 209 were excluded on the basis of title and abstract. After full-text reading of the remaining 9 eligible papers, another 4 records were excluded for the following reasons: fiber was not administered as a supplement in 3 studies, and 1 study did not have the outcome of interest. At the end of the selection process, 5 controlled trials were included in the qualitative analysis.

Study characteristics

The main characteristics of the included studies are reported in Table 2. In total, 5 controlled studies conducted between 1982 and 1990 were included, 3 non-randomized and 2 randomized. All studies were crossover and single-dose experiments, with blood samples taken for 6 or 8 h. Only one study did not have a washout period, with the control and the test experiments occurring on consecutive days. The study populations ranged from 6 to 10 volunteers. Guar gum and glucomannan were used as interventions, while the drugs administered were metformin, glipizide, gliclazide, and glibenclamide, in different dosages.

Effect of dietary fiber on hypoglycemic drug exposure

Non-randomized studies Gin et al. (1989) [33] evaluated the influence of guar gum on the absorption of oral metformin, observing that concentrations of the drug administered in con-

Fig. 2 Flow diagram of the literature search process

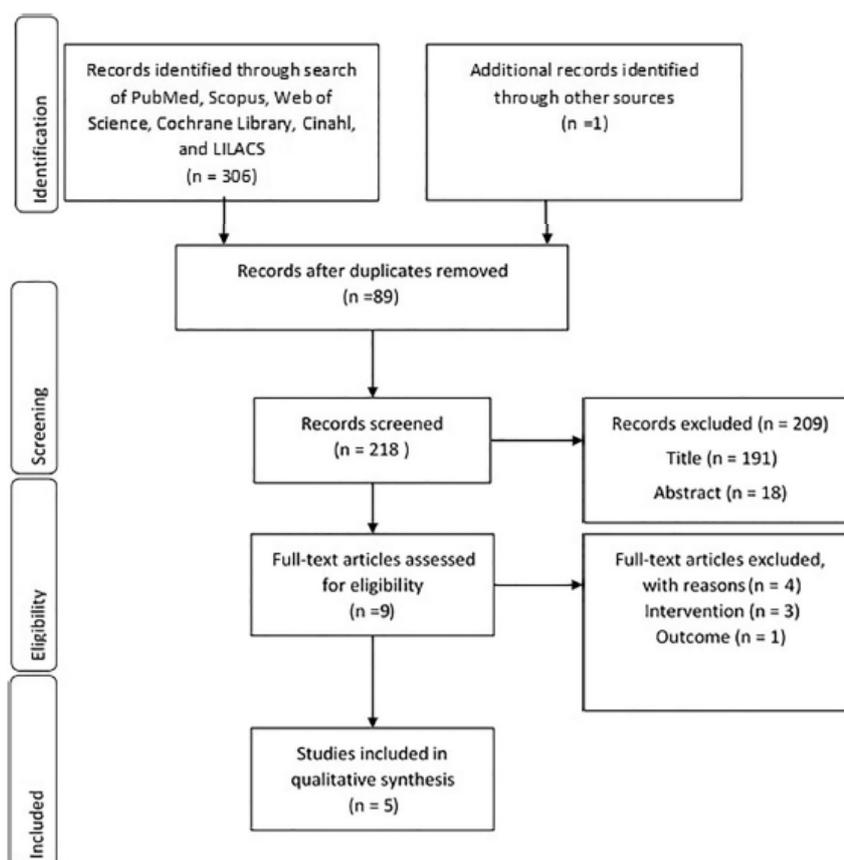


Table 2 Characteristics of clinical studies on the dietary fiber-hypoglycemic drug interaction and main findings (AUC and blood glucose concentration) when the drug was administered alone (D) or concomitantly with dietary fiber (D + DF)

Reference	Study population*	Study design	Dietary fiber/dose	Hypoglycemic drug/dose	Pharmacokinetic study	AUC ₀₋₄		Blood glucose concentration (D + DF)
						D	(D + DF)	
Gin et al. (1989) [33]	5 men and 1 woman (age 24–32 y), healthy	Controlled, non-randomized, crossover, single-dose experiment	Guar gum/10 g	Metformin/1700 mg	Blood samples taken for 6h, with 2-day washout period	1025 ± 76 μg/mL × h	621 ± 57 μg/mL × h ^a	Reduction in postprandial blood glucose peak
Huupponen et al. (1985) [36]	6 men and 4 women (22.5 ± 0.71 y), healthy	Controlled, randomized, crossover, single-dose experiment	Guar gum/4.75 g	Glipizide/2.5 mg	Blood samples taken for 8h, with 1-week washout period	2330 ± 587 nmol/L × h	2240 ± 542 nmol/L × h ^b	Reduction in postprandial blood glucose at 30 min
Shima et al. (1982) [35]	4 men and 3 women (age 22 to 35 y), healthy	Controlled, non-randomized, crossover, single-dose experiment	Gucomannan/3.9 g Guar gum/4 g	Gliclazide/40 mg	Blood samples taken for 8h, with 1-week washout period	Data not available		Did not change glucose levels
Shima et al. (1983) [34]	9 men (age 21 to 47 y), healthy	Controlled, non-randomized, crossover, single-dose experiment	Glucosmannan/3.9 g	Glibenclamide/2.5 mg	Blood samples taken for 6h, with no washout period	284.4 ± 109.3 ng × h/mL	145.7 ± 81.5 ng × h/mL ^a	Reduction in postprandial blood glucose peak
Unsitupa et al. (1990) [37]	4 men and 5 women (age 36 to 63 y), with non-insulin-dependent diabetes	Randomized, double-blind, placebo-controlled crossover	Guar gum/5g	Glibenclamide/3.5 mg	Blood samples taken for 6h, with 1-week washout period	560 ± 513 ng/mL × h	729 ± 813 ng/mL ^b	Reduction in postprandial blood glucose

* Age range or mean age ± SD

AUC, area under the curve; D, drug; DF, dietary fiber

a: statistical significance $P < 0.05$; b: without statistical significance

comitance with dietary fiber did not reach the same blood levels obtained by the drug alone; a decrease of approximately 40% occurred in the bioavailability of the drug, with a decrease in AUC from 1025 ± 76 to $621 \pm 57 \mu\text{g/mL} \times \text{h}$. This notwithstanding, in spite of the decrease in metformin concentrations in the presence of guar gum, there was a reduction in postprandial blood glucose. Shima et al. (1983) [34] estimated the effect of glucomannan on the absorption of glibenclamide, observing that, in the presence of the fiber, the AUC during the first 3 h of the experiment was $145.7 \pm 81.5 \text{ ng} \times \text{h/mL}$, which was significantly lower than the corresponding value for the drug administered alone, namely, $284.4 \pm 109.3 \text{ ng} \times \text{h/mL}$, indicating a decrease of approximately 50%. This decrease was not found during the final half (3 to 6 h) of the experiment; in spite of this, a notable influence of glucomannan on glibenclamide absorption was observed, although this reduction did not lead to significant alterations in blood glucose level, except at 30 min (time to reach the maximum concentration of glibenclamide). Shima et al. (1982) [35] published another article containing two experiments. Experiment 1 is the same one published in Shima et al. (1983) [34] whose results we have previously presented. With respect to Shima et al. (1982) [35], we will discuss only the results of experiment 2, which investigated the effects of glucomannan and guar gum on the absorption of gliclazide. In this case, the mean plasma concentrations of gliclazide tended to be lower when the drug was administered concomitantly with the fiber; however, there was only a statistically significant difference at 2 h in the experiment where glucomannan was used, when there was a reduction of approximately 25% in the concentration value. Data for AUC were not shown. Guar gum was considered less strong in reducing plasma concentrations of gliclazide. Notwithstanding the reductions in plasma concentrations of the drug, there was no difference in the glucose levels in the different experiments.

Randomized studies Huupponen et al. (1985) [36] studied the effect of guar gum on the absorption of glipizide, and they found no difference in the AUC between the different treatments, namely, $2330 \pm 587 \text{ nmol/L} \times \text{h}$ when glipizide was administered alone and $2240 \pm 542 \text{ nmol/L} \times \text{h}$ when it was administered concomitantly with dietary fiber. Uusitupa et al. (1990) [37] also showed that guar gum does not interfere with the absorption of glibenclamide, given that the AUC when the drug was administered concomitantly with the dietary fiber ($729 \pm 813 \text{ ng/mL} \times \text{h}$) did not differ statistically from the AUC of the drug administered without the dietary fiber ($560 \pm 513 \text{ ng/mL} \times \text{h}$), although glipizide concentrations tend to be higher when administered with fiber. Although there was no difference between the different treatments, there was a greater reduction in blood glucose levels when the dietary fiber was used.

Risk-of-bias assessment

Non-randomized studies Table 3 shows the risk-of-bias assessment of the non-randomized studies included. In the evaluation of bias due to confounding, two studies [33, 34] had low risk of bias, due to the fact that they excluded participants at the baseline who could have had prognostic variables that would also have been capable of predicting the intervention. Thus, as participants, they selected only healthy people who were not receiving any medication, who did not have any family history of diabetes, and who had normal glucose tolerance tests. In contrast, one study [35] had a moderate risk of bias due to the fact that it only selected healthy people, but without mentioning history of diabetes. In relation to bias in selection of participants into the study, two studies [33, 34] presented a moderate risk of bias, because, even though they showed the characteristics of the selected participants, they were not comparable to a well-designed clinical trial without bias in the selection of participants. The other study [35] had a serious risk in the selection of participants, because it selected only healthy people. In all other domains, the three non-randomized studies had low risk of bias, because they described well-defined intervention protocols, with no differences in care between the intervention and control groups. Moreover, no co-interventions were carried out. There was no loss of follow-up or exclusion of volunteers for any reason. There was also no loss of data, and all measurements of outcomes were presented, including the drug concentration values at each moment evaluated for each participant. It is not possible for us to estimate whether the outcome evaluators were aware of the status of the intervention (blinding), but, as the outcomes were related to the drug concentrations measured by quantitative methods, non-blinding would not change the measurement of outcomes.

Randomized studies Table 4 shows the risk-of-bias assessment of the randomized studies included. Both randomized studies [36, 37] are not clear regarding risk of bias in random sequence generation and allocation concealment, as they do not cite which methods were used to randomize and to conceal the allocation sequence. With respect to bias in blinding of participants and personnel, the study by Uusitupa et al. (1990) [37] was double-blinded; however, they did not describe the means of blinding, and, for this reason, the risk was considered unclear. In contrast, Huupponen et al. (1985) [36] did not perform blinding, indicating a high risk of bias in this domain. Neither of the two studies showed blinding of outcome assessment; however, as their outcomes are quantitative (measurement of concentration), the risk of bias was considered low. With respect to the domains of incomplete outcome data and selective reporting, the risks of bias were also considered low, because there were no losses of follow-up, and all outcomes were evaluated with their reported results.

Table 3 Appraisal of risk-of-bias of the included studies using the Cochrane Risk of Bias in Non-randomized Studies of Interventions (ROBINS-I)

Reference	Risk of bias						
	Pre-intervention		At intervention	Post-intervention			
	Bias due to confounding	Bias in selection of participants into the study	Bias in classification of interventions	Bias due to deviations from intended interventions	Bias due to missing data	Bias in measurement of outcomes	Bias in selection of the reported result
Gin et al. (1989) [33]	Low	Moderate	Low	Low	Low	Low	Low
Shima et al. (1982) [35]	Moderate	Serious	Low	Low	Low	Low	Low
Shima et al. (1983) [34]	Low	Moderate	Low	Low	Low	Low	Low

All of the evaluated studies had low numbers of participants. This does not determine a high risk of bias; nevertheless, small studies may be estimated in an imprecise manner, with wide confidence intervals.

Discussion

DM is a risk factor for developing cardiovascular diseases, as one of its main complications is the development of atherosclerosis combined with hyperinsulinemia, hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia, and alterations in platelet function and in the vascular endothelium [38].

The modification of eating habits should be the initial measure for preventing DM. Foods rich in dietary fibers or supplements thereof have important effects on carbohydrate metabolism, and they are effective in increasing peripheral sensitivity to insulin [39], thus improving glycemic control [40, 41].

Several studies have demonstrated that the beneficial role of dietary fibers in glucose control is mainly related to viscous fibers [42], due to their ability to retain water and to the formation of a gel that thickens the contents of the small intestine, delaying gastric emptying and modulating digestive processes by decreasing the diffusion of nutrients for absorption and the

contact between food and digestive enzymes. In addition to this, viscous fibers alter the resistance of contractile movements of the gastrointestinal tract, which can lead to a decrease in glucose transport to absorptive surfaces [43, 44].

Although dietary fibers are utilized for DM, in many cases, dietary treatment poses limitations that make it insufficient, thus requiring associated pharmacological intervention [45].

For reasons of convenience and safety, the oral route is the most common way to administer medications. As the absorption of nutrients and of some drugs occurs through similar and often competing mechanisms, drug-nutrient interactions may occur, with the gastrointestinal tract as the main site of interaction; this becomes a highly relevant problem in clinical practice [46].

Nutrients can modify the effects of drugs by interfering with processes such as absorption, distribution, biotransformation, and excretion. In relation to absorption, consumption of foods such as dietary fibers may modify the rate and extent of drug absorption, changing pharmacokinetic parameters such as peak plasma concentration (maximum concentration [C_{max}]), time to reach C_{max} (maximum time [T_{max}]), and the AUC. Once the bioavailability of the drug has been affected, changes may occur in the pharmacodynamics and therapy [46–48].

Table 4 Appraisal of risk-of-bias of the included studies using the Cochrane Risk of Bias for Randomized Trials (RoB 2)

Reference	Risk of bias						
	Random sequence generation	Allocation concealment	Blinding of participants and personnel	Blinding of outcome assessment	Incomplete outcome data	Selective reporting	Other bias
Huipponen et al. (1985) [36]	Unclear	Unclear	High	Low	Low	Low	Unclear
Uusitupa et al. (1990) [37]	Unclear	Unclear	Unclear	Low	Low	Low	Unclear

This review evaluated the possible interactions between dietary fibers and hypoglycemic drugs used to treat DM. After searching 6 databases, according to the PICOS criteria defined, 5 articles were selected. Only the study by Shima et al. (1982) [35] showed a serious risk of bias, due to the selection of healthy people for the trial, but without mentioning their history of diabetes. Both randomized studies showed risk of bias because they did not describe how the randomization of participants was conducted. Moreover, the study by Huupponen et al. (1985) [36] did not perform blinding.

The selected studies used the viscous fibers guar gum or glucomannan as the intervention, but they evaluated their effects on different drugs (metformin, glipizide, gliclazide, and glibenclamide).

Gin et al. (1989) [33] observed that the addition of guar gum reduced the systemic bioavailability of metformin by about 40%. According to Shima et al. (1982) [35], guar gum also reduced plasma levels of gliclazide; glucomannan fiber, however, was more potent in this reduction. Shima et al. (1983) [34] also showed that glucomannan had an important influence on the absorption of glibenclamide, reducing its absorption by about 50% during the initial period of their experiment. Two studies showed that guar gum did not interfere with the absorption of glipizide [36] and glibenclamide [37], although the concentrations of glibenclamide have a tendency to be higher in the presence of fiber.

The influence of nutrients on the absorption of drugs depends on the type of food, the pharmaceutical formulation, the time interval between the meal and the administration of the drug, and the volume of liquid with which it is ingested [46, 49].

Foods can influence the bioavailability of medications by direct binding to the drug or by altering the luminal pH, gastric emptying, intestinal transit, mucosal absorption, bile secretion, hepatosplenic flow, lymphatic transport, or the activity of transporters and biotransformation enzymes [49–52].

In case of dietary fibers, viscosity is an important factor that delays gastric emptying and limits the access of the drug to the mucosal surface, altering its absorption. Guar gum is a galactomannan obtained from the endosperm of the legume *Cyamopsis tetragonolobus*, with a molecular weight of 200,000 to 300,000 daltons (Da), which, when hydrated, forms a colloidal solution with high viscosity (2000 to 3000 mPa·s) [53]. Glucomannan, on the other hand, is a type of non-ionic hydrocolloidal fiber, which is extracted from the tubers of *Amorphophallus konjac*. Its molecular weight ranges from 500,000 to 2,000,000 Da, depending on the origin of the plant and the extraction procedures [54]. Glucomannans are among the most viscous dietary fibers, with a viscosity 5 times greater than that of guar gum [55]. This high viscosity may explain the difference found by Shima et al. (1982) [34, 35] in the decreased plasma concentrations of gliclazide.

Nevertheless, the interaction does not depend on the physicochemical properties of the fiber alone, but also on the

chemical structure of the drug and on its pharmaceutical form; for this reason, guar gum may have reduced the absorption of metformin [33], but it did not alter that of glipizide [36] and glibenclamide [37]. Glipizide is a drug that is rapidly absorbed, with T_{max} of 1.2 to 3.5 h [56] and bioavailability of approximately 100% [57]. Although glibenclamide is absorbed more slowly than glipizide [56], with a T_{max} of 1.5 to 4 h, it also has complete absorption, being almost totally biotransformed, resulting in at least two hydroxylated metabolites, which are considered active [58]. In contrast, metformin is a drug with absolute oral bioavailability of 40 to 60%, with low permeability (Biopharmaceutical Classification class II) [59, 60], and part of the administered dose may bind to the intestinal wall [61]. Its absorption only ends approximately 6 to 10 h after administration, regardless of the amount of metformin that has been absorbed up to this time [62]. Because metformin remains in the gastrointestinal tract for a longer time, the high viscosity colloidal solution formed by the dietary fiber may act as a physical barrier to the diffusion of metformin at the site of absorption, leading to a decrease in its concentrations and altering the AUC of absorption of this drug.

Although, in three of the studies analyzed, the dietary fibers tested decreased drug concentrations, blood glucose levels not increased in a corresponding manner, probably because the hypoglycemic effect of the fiber may have compensated for the decrease in drug concentrations, without any clinical impairment.

Conclusion

In spite of a few limitations and risks of bias, the reviewed studies show that there does not exist a correlation between the use of dietary fiber and alterations in the absorption of hypoglycemic drugs. The interaction with significant changes in the pharmacokinetic parameters depends on the physicochemical characteristics of the fiber, the structural characteristics of the drug, and the pharmaceutical formulation. Furthermore, when this interaction occurs, it may not have clinical relevance, given that the pharmacodynamic effect of the drug may not be altered.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s13410-022-01114-y>.

Acknowledgments The authors would like to acknowledge Eliana R. da Fonseca and Vanessa S. Mendonça, from the University Hospital Clementino Fraga Filho Library, for their support.

Author contribution Conceptualization: ERC, JCSG, and GR. Investigation: ERC, TNC, RCEE, JCSG, and GR. Literature search and data analysis: ERC and TNC. Critical review: RCEE and GR. Writing—original draft: ERC, RCEE, and GR. Writing—review and editing: ERC, TNC, RCEE, JCSG, and GR.

International Journal of Diabetes in Developing Countries

Availability of data and material Not applicable

Code availability Not applicable

Declarations

Conflicts of interest The authors declare no competing interests.

References

- International, Federation D. IDF Diabetes Atlas. 9th edition. 2019 <https://www.diabetesatlas.org/en/sections/worldwide-toll-of-diabetes.html>. Accessed 28 Oct 2020.
- American Diabetes A. 5. Prevention or delay of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2017;40(Supplement 1):S44-S7.
- Sociedade Brasileira de D. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes-2019-2020. SBD São Paulo; 2019.
- Chandalia M, Garg A, Lujohann D, Von Bergmann K, Grundy SM, Brinkley LJ. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 2000;342(19):1392-8.
- Miranda PM, Horwitz DL. High-fiber diets in the treatment of diabetes mellitus. *Ann Intern Med*. 1978;88(4):483-6.
- Kaczmarczyk MM, Miller MJ, Freund GG. The health benefits of dietary fiber: beyond the usual suspects of type 2 diabetes mellitus, cardiovascular disease and colon cancer. *Metabolism*. 2012;61(8):1058-66.
- McRae MP. Dietary fiber intake and type 2 diabetes mellitus: an umbrella review of meta-analyses. *J Chimpr Med*. 2018;17(1):44-53.
- Mann J. Dietary fibre and diabetes revisited. *Eur J Clin Nutr*. 2001;55(11):919-22.
- Nuttall FQ. Dietary fiber in the management of diabetes. *Diabetes*. 1993;42(4):503-8.
- Vinik AI, Jenkins DJA. Dietary fiber in management of diabetes. *Diabetes Care*. 1988;11(2):160-73.
- Jenkins DJA, Kendall CWC, Axelsen M, Augustin LSA, Vuksan V. Viscous and nonviscous fibres, nonabsorbable and low glycaemic index carbohydrates, blood lipids and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol*. 2000;11(1):49-56.
- Schulze MB, Schulz M, Heidemann C, Schienkiewitz A, Hoffmann K, Boeing H. Fiber and magnesium intake and incidence of type 2 diabetes: a prospective study and meta-analysis. *Arch Intern Med*. 2007;167(9):956-65.
- Montonen J, Knekt P, Järvinen R, Aromaa A, Reunanen A. Whole-grain and fiber intake and the incidence of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr*. 2003;77(3):622-9.
- Weickert MO, Pfeiffer AFH. Metabolic effects of dietary fiber consumption and prevention of diabetes. *J Nutr*. 2008;138(3):439-42.
- Anderson JW, Baird P, Davis RH, Ferreri S, Knudtson M, Koraym A, et al. Health benefits of dietary fiber. *Nutr Rev*. 2009;67(4):188-205.
- Reynolds A, Mann J, Cummings J, Winter N, Mete E, Te Morenga L. Carbohydrate quality and human health: a series of systematic reviews and meta-analyses. *Lancet*. 2019;393(10170):434-45.
- Issy AM, Lanchote VL, de Carvalho D, Silva HC. Lack of kinetic interaction between valproic acid citrus pectin. *Ther Drug Monit*. 1997;19(5):516-20.
- Nordström M, Melander A, Robertsson E, Steen B. Influence of wheat bran and of a bulk-forming ispaghula cathartic on the bioavailability of digoxin in geriatric in-patients. *Drug Nutr Interact*. 1987;5(2):67-9.
- Chiu AC, Sherman SI. Effects of pharmacological fiber supplements on levothyroxine absorption. *Thyroid*. 1998;8(8):667-71.
- Astarloa R, Mena MA, Sanchez V, De La Vega L, De Yébenes JG. Clinical and pharmacokinetic effects of a diet rich in insoluble fiber on Parkinson disease. *Clin Neuropharmacol*. 1992;15(5):375-80.
- González A, Fernández N, Sahagún A, García JJ, Díez MJ, Castro LJ, Sierra M. Effect of glucomannan and the dosage form on ethinylestradiol oral absorption in rabbits. *Contraception*. 2004;70(5):423-7.
- Fernández N, Díez MJ, Terán MT, García JJ, Calle AP, Sierra M. Influence of two commercial fibers in the pharmacokinetics of ethinylestradiol in rabbits. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998;286(2):870-4.
- Huupponen R, Seppälä P, Iisalo E. Effect of guar gum, a fibre preparation, on digoxin and penicillin absorption in man. *Eur J Clin Pharmacol*. 1984;26(2):279-81.
- Watanabe S, Suemaru K, Inoue N, Imai K, Aimoto T, Araki H. Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies of drug interaction following oral administration of imipramine and sodium alginate in rats. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2008;378(1):85-91.
- Etman MA. Effect of a bulk forming laxative on the bioavailability of carbamazepine in man. *Drug Dev Ind Pharm*. 1995;21(16):1901-6.
- Liel Y, Harman-Boehm I, Shany S. Evidence for a clinically important adverse effect of fiber-enriched diet on the bioavailability of levothyroxine in adult hypothyroid patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(2):857-9.
- Higgins JPT, Thomas J, Chandler J, Cumpston M, Li T, Page MJ, et al. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions*: John Wiley & Sons; 2019.
- Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, Prisma G. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med*. 2009;6(7):e1000097.
- Sterne JAC, Hernán MA, Reeves BC, Savović J, Berkman ND, Viswanathan M, Henry D, Altman DG, Ansari MT, Boutron I, Carpenter JR, Chan AW, Churchill R, Deeks JJ, Hróbjartsson A, Kirkham J, Jüni P, Loke YK, Pigott TD, et al. ROBINS-I: a tool for assessing risk of bias in non-randomised studies of interventions. *BMJ*. 2016;355.
- Higgins JPT, Altman DG, Gøtzsche PC, Jüni P, Moher D, Oxman AD, et al. The Cochrane collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ*. 2011;343:d5928.
- Sterne JAC, Hernán MA, McAleenan A, Reeves BC, Higgins JPT. Assessing risk of bias in a non-randomized study. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions*. 2019:621-641.
- Higgins JPT, Savović J, Page MJ, Elbers RG, Sterne JAC. Assessing risk of bias in a randomized trial. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*. 2019:205-228.
- Gin H, Orgerie MB, Aubertin J. The influence of guar gum on absorption of metformin from the gut in healthy volunteers. *Horm Metab Res*. 1989;21(02):81-3.
- Shima K, Tanaka A, Ikegami H. Effect of dietary fiber, glucomannan, on absorption of sulfonylurea in man. *Horm Metab Res*. 1983;15(1):1-3.
- Shima K. Effect of dietary fiber, konjac mannan and guar gum, on absorption of sulfonylurea in man. *Nutr Rep Int*. 1982;26(2):297-302.
- Huupponen R, Karhuvaara S, Seppälä P. Effect of guar gum on glipizide absorption in man. *Eur J Clin Pharmacol*. 1985;28(6):717-9.
- Uusitupa M, Sodervik H, Silvasti M, Karttunen P. Effects of a gel forming dietary fiber, guar gum, on the absorption of glibenclamide and metabolic control and serum lipids in patients with non-insulin-dependent (type 2) diabetes. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol*. 1990;28(4):153-7.

38. Steiner G. Diabetes and atherosclerosis: an overview. *Diabetes*. 1981;30(Supplement 2):1-7.
39. Fukagawa NK, Anderson JW, Hageman G, Young VR, Minaker KL. High-carbohydrate, high-fiber diets increase peripheral insulin sensitivity in healthy young and old adults. *Am J Clin Nutr*. 1990;52(3):524-8.
40. Fujii H, Iwase M, Ohkuma T, Ogata-Kaizu S, Ide H, Kikuchi Y, Idevaki Y, Joudai T, Hirakawa Y, Uchida K, Sasaki S, Nakamura U, Kitazono T. Impact of dietary fiber intake on glycemic control, cardiovascular risk factors and chronic kidney disease in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus: the Fukuoka Diabetes Registry. *Nutr J*. 2013;12(1):159.
41. Behall KM, Scholfield DJ, Hallfrisch JG, Liljeberg-Elmstahl HGM. Consumption of both resistant starch and β -glucan improves post-prandial plasma glucose and insulin in women. *Diabetes Care*. 2006;29(5):976-81.
42. Chutkan R, Fahey G, Wright WL, McRorie J. Viscous versus non-viscous soluble fiber supplements: mechanisms and evidence for fiber-specific health benefits. *J Am Acad Nurse Pract*. 2012;24(8):476-87.
43. Edwards CA, Johnson IT, Read NW. Do viscous polysaccharides slow absorption by inhibiting diffusion or convection? *Eur J Clin Nutr*. 1988;42(4):307-12.
44. James SL, Muir JG, Curtis SL, Gibson PR. Dietary fibre: a roughage guide. *Intern Med J*. 2003;33(7):291-6.
45. Gillies CL, Abrams KR, Lambert PC, Cooper NJ, Sutton AJ, Hsu RT, Khunti K. Pharmacological and lifestyle interventions to prevent or delay type 2 diabetes in people with impaired glucose tolerance: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2007;334(7588):299.
46. Moura MRL, Reyes FGR. Interação fármaco-nutriente: uma revisão. *Rev Nutr*. 2002;15:223-38.
47. Thomas JA. Drug-nutrient interactions. *Nutr Rev*. 1995;53(10):271-82.
48. Fleisher D, Li C, Zhou Y, Pao L-H, Karim A. Drug, meal and formulation interactions influencing drug absorption after oral administration. *Clin Pharmacokinet*. 1999;36(3):233-54.
49. Deng J, Zhu X, Chen Z, Fan CH, Kwan HS, Wong CH, Shek KY, Zuo Z, Lam TN. A review of food-drug interactions on oral drug absorption. *Drugs*. 2017;77(17):1833-55.
50. Anderson KE. Influences of diet and nutrition on clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet*. 1988;14(6):325-46.
51. Koziolok M, Alcaro S, Augustijns P, Basit AW, Grimm M, Hens B, Hoad CL, Jedanzik P, Madla CM, Maliepaard M, Marciani L, Maruca A, Parrott N, Pávek P, Porter CJH, Reppas C, van Riet Nales D, Rubbens J, Stelova M, et al. The mechanisms of pharmacokinetic food-drug interactions—a perspective from the UNGAP group. *Eur J Pharm Sci*. 2019;134:31-59.
52. O'Shea JP, Holm R, O'Driscoll CM, Griffin BT. Food for thought: formulating away the food effect—a PEARRL review. *J Pharm Pharmacol*. 2019;71(4):510-35.
53. Cantón Blanco A, Fernández López M, Lugo Rodríguez G, Martínez Olmos MÁ, Palmeiro Carballeira R, Pita Gutiérrez F, et al. Utilidad en la clínica de la goma guar parcialmente hidrolizada: revisión de la evidencia y experiencia. *Nutr Hosp*. 2017;34(1):216-23.
54. Devaraj RD, Reddy CK, Xu B. Health-promoting effects of konjac glucomannan and its practical applications: a critical review. *Int J Biol Macromol*. 2019;126:273-81.
55. Vuksan V, Sievenpiper JL, Owen R, Swilley JA, Spadafora P, Jenkins DJ, Vidgen E, Brighenti F, Josse RG, Leiter LA, Xu Z, Novokmet R. Beneficial effects of viscous dietary fiber from Konjac-mannan in subjects with the insulin resistance syndrome: results of a controlled metabolic trial. *Diabetes Care*. 2000;23(1):9-14.
56. Lebovitz HE. Glipizide: A Second-generation sulfonylurea hypoglycemic agent; pharmacology, pharmacokinetics and clinical use. *Pharmacother J Human Pharmacol Drug Ther*. 1985;5(2):63-77.
57. Wählin-Boll E, Almér LO, Melander A. Bioavailability, pharmacokinetics and effects of glipizide in type 2 diabetics. *Clin Pharmacokinet*. 1982;7(4):363-72.
58. Ali SL, Blume HH, Schug BS. Sulfonylureas: physico-chemical properties, analytical methods of determination and bioavailability. *Oral Antidiabetics*: Springer; 1996. p. 73-128.
59. Amidon GL, Lennemäs H, Shah VP, Crison JR. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm Res*. 1995;12(3):413-20.
60. Dahan A, Miller JM, Amidon GL. Prediction of solubility and permeability class membership: provisional BCS classification of the world's top oral drugs. *AAPS J*. 2009;11(4):740-6.
61. Scheen AJ. Clinical pharmacokinetics of metformin. *Clin Pharmacokinet*. 1996;30(5):359-.
62. Graham GG, Punt J, Arora M, Day RO, Doogue MP, Duong J, et al. Clinical pharmacokinetics of metformin. *Clin Pharmacokinet*. 2011;50(2):81-98.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

ANEXO B – ARTIGO 2

HPLC–UV method for simultaneous atenolol, hydrochlorothiazide, and losartan potassium determination in simulated gastrointestinal fluids: Application for *in vitro* food-drug interaction studies

HPLC method for antihypertensive drugs applied to interaction study

Edlaine Rijo Costa^{1,2}, Rita de Cássia Elias Estrela^{2,3}, José Carlos Saraiva Gonçalves², Glorimar Rosa^{1,4}

¹Postgraduate Program in Medicine/Cardiology, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

²Faculty of Pharmacy, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

³Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil

⁴Josué de Castro Nutrition Institute, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

Correspondence

Edlaine Rijo Costa

Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Avenida Carlos Chagas Filho, 373 Bl A2, sala 52, 21941-902. Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

Email: edlaine@pharma.ufrj.br

Abstract

A chromatographic method was developed and validated for simultaneous quantification of atenolol (ATL), hydrochlorothiazide (HCTZ), and losartan potassium (LST) in an *in vitro* food-drug interaction study. The chromatographic separation was achieved with a gradient of acetonitrile and potassium dihydrogen phosphate buffer containing phosphoric acid (pH 3) on a Kromasil 100 C18 (250 × 4.6 mm, 5 μm) reversed phase column at 25 °C, under UV detection at 232 nm. The total runtime was 25 minutes. The calibration standard concentrations ranged between 5 and 60 μg/mL for ATL and HCTZ and between 10 and 120 μg/mL for LST. Calibration curves were linear with coefficient of determination values within the range of 0.9937 to 0.9997. Intra- and inter-assay precision (percent relative standard error) was < 10%, while accuracy ranged from 93.62 to 109.51% for all analytes. The validation results demonstrated that the method was specific, precise, accurate, and linear for ATL, HCTZ, and LST in simulated gastrointestinal fluids. The method was successfully applied in an *in vitro* dietary fiber-antihypertensive drugs interaction study. After evaluating the percentages of free drug, only LST showed interaction with β-glucan from oat bran in simulated intestinal fluid.

Keywords

HPLC-UV, food-drug interaction, antihypertensive drugs, simulated gastrointestinal fluids

1 INTRODUCTION

Simultaneous intake of food and medication can have a major impact on the biopharmaceutical and pharmacokinetic stages of administered orally drugs and, consequently, on the safety and efficacy of pharmacotherapy. Therefore, drug-nutrient interaction is one of the main challenges of oral administration of medications (KOZIOLEK; ALCARO; AUGUSTIJNS; BASIT *et al.*, 2019).

The majority of clinically relevant drug-nutrient interactions are caused by food-induced changes in drug bioavailability (SCHMIDT; DALHOFF, 2002). However, the effects of food on bioavailability are not easily predictable, because they result from the complex interactions between the physiological conditions of the human gastrointestinal tract, the properties of the food, the properties of the drug, and its dosage form (DENG; ZHU; CHEN; FAN *et al.*, 2017).

Due to the seriousness of some of these interactions, attempts have increasingly been made to investigate them in stages of pre-clinical screening. *In vitro* studies, such as drug dissolution assays of oral dosage forms and cell permeability tests, have been used as proof of potential drug-nutrient interactions (LENTZ, 2008; PENTAFRAGKA; SYMILLIDES; MCALLISTER; DRESSMAN *et al.*, 2019). These *in vitro* methods make it possible to evaluate physical-chemical interactions that involve alterations in drug stability, solubility, and diffusibility (FLEISHER; LI; ZHOU; PAO *et al.*, 1999).

In arterial hypertension, lifestyle modification with dietary changes is considered the initial measure for treatment (WHELTON; HE; APPEL; CUTLER *et al.*, 2002). For patients with hypertension, the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) is recommended (APPEL; MOORE; OBARZANEK; VOLLMER *et al.*, 1997). It is rich in dietary fibers, due to the high consumption of fruits and vegetables. Several studies have linked dietary fiber intake to a reduction in blood pressure (KHAN; JOVANOVSKI; HO; MARQUES *et al.*, 2018; WHELTON; HYRE; PEDERSEN; YI *et al.*, 2005).

The majority of patients with hypertension, however, will require medications, in addition to lifestyle modifications in order to reach their blood pressure goals. The association of drugs is the preferred therapeutic strategy for the majority of patients with hypertension, regardless of the stage of arterial hypertension and cardiovascular risk (BARROSO; RODRIGUES; BORTOLOTTI; MOTA-GOMES *et al.*, 2021). As many of these drugs need to be administered repeatedly and in several daily doses, it is inevitable that they are administered in different prandial states (O'SHEA; HOLM; O'DRISCOLL; GRIFFIN, 2019), thus increasing the possibility of an interaction between the drugs and dietary fibers.

Therefore, the objective of this study was to develop and to validate an analytical methodology by means of high-performance liquid chromatography with an ultraviolet detector (HPLC-UV) for simultaneous quantification of the antihypertensive drugs atenolol (ATL), hydrochlorothiazide (HCTZ), and losartan potassium (LST), in an *in vitro* study, evaluating interaction with dietary fiber in simulated gastrointestinal fluids.

2 EXPERIMENTAL

2.1 Chemicals and reagents

ATL, HCTZ, and LST (pharmaceutical secondary standard) were obtained from Sigma-Aldrich (São Paulo, Brazil). HPLC grade acetonitrile (ACN) and methanol, potassium dihydrogen phosphate, and analytical grade sodium chloride and sodium hydroxide (J. T. Baker[®]) were purchased from Avantor Performance Materials (State of Mexico, Mexico). Phosphoric acid, 85 wt% solution in water, and hydrochloric acid (Scharlau[®]) were acquired from Scharlab Brasil S/A (São Paulo, Brazil). Ultrapure water was obtained using an Elga US Filter System (California, USA).

The following dietary fibers were used in the interaction assay: β -glucan from oat bran (Quaker[®]), sold by Pepsico do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda (São Paulo, Brazil); Fiber mais[®], a mixture of guar gum and inulin, sold by Nestlé Brasil Ltda (São Paulo, Brazil); and pectin purchased in bulk at Casas Pedro, Empório de Especiarias (Rio de Janeiro, Brazil). Amicon Centrifree[®] Filter System ultrafiltration devices (molecular weight cutoff 30 kDa) were acquired from Merck do Brazil (Rio de Janeiro, Brazil).

2.2 Instrumentation

The HPLC apparatus consisted of a 1220 Infinity II Compact LC System all-in-one configuration (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) equipped with UV detector.

Data were acquired and processed using Agilent OpenLAB CDS (EZChrom edition) software, version A.04.09. The stationary phase was a Kromasil 100 C18 column (Phenomenex, 250 × 4.6 mm ID; particle size, 5.0 μm), protected with a C18 guard column.

2.3 Chromatographic conditions

The mobile phase used was potassium dihydrogen phosphate 0.01 M containing phosphoric acid (pH 3) (A) and acetonitrile (B). The steps of elution gradient are displayed in Table 1. The sample volume of 25 μL was injected into the column, and the temperature was maintained at 25 ± 1 °C. ATL, HCTZ, and LST were monitored with UV detector set at 232 nm.

2.4 Sample Preparation

2.4.1 Stock solutions, calibration standards, and quality control samples

Stock solutions of ATL and HCTZ at 20 mg/mL were prepared by dissolving accurately weighed 200.0 mg of ATL and HCTZ powder in 10 mL of methanol, while the solution of LST at 40 mg/mL was prepared by dissolving accurately weighed 400.0 mg of LST powder in 10 mL of methanol. Five standards for the calibration curve (5, 10, 20, 40, and 60 μg/mL for ATL and HCTZ and 10, 20, 40, 80, and 120 μg/mL for LST) were prepared by appropriate dilution in the gastrointestinal fluids. Low (LQC), medium (MQC), and high (HQC) quality control samples were prepared at 15, 30, and 50 μg/mL, respectively, for ATL and HCTZ, and 30, 60, and 100 μg/mL, for LST. These solutions were stored at -20 °C.

2.4.2 Gastrointestinal fluids

Gastrointestinal fluids were prepared in accordance with the Brazilian Pharmacopoeia, sixth edition (ANVISA, 2019).

2.4.2.1 Simulated gastric fluid (SGF) without enzymes, pH 1.2

In 100 ml of water, 2 g of sodium chloride were dissolved. Subsequently, 7 ml of hydrochloric acid were added, and the volume was brought to 1000 ml with water. The pH was adjusted to 1.2 ± 0.1 with hydrochloric acid.

2.4.2.2 Simulated intestinal fluid (SIF) without pancreatin, pH 6.8

We mixed 250 ml of 0.2 M monobasic potassium phosphate solution and 112 ml of 0.2 M sodium hydroxide and subsequently brought the volume to 1000 ml with water. The pH was adjusted to 6.8 ± 0.1 with 0.2 M sodium hydroxide.

2.5 Validation procedures

The developed method was validated as per the Brazilian Health Surveillance Agency (Anvisa) RDC N° 166 guideline (ANVISA, 2017) with respect to dosage parameters of selectivity, linearity, precision, accuracy, and matrix effect.

2.5.1 Selectivity

The selectivity of the method is demonstrated by means of injections of blank samples of SGF and SIF, which were injected to prove that the analytical response is exclusively due to the analytes without the presence of matrix interferences in their retention times. Furthermore, as ultrafiltration devices are used in interaction assays, these same fluids were injected after filtration, in order to demonstrate the absence of interferences originating from the device.

SGF and SIF added to the fibers (β -glucan, Fiber mais[®], and pectin) were also injected, and they were compared to samples of the same fluids added with the analytes ATL, HCTZ, and LST, in the LQC concentration. In order for the method to be considered selective, the interference peak responses close to the retention time of the analytes must be less than 15% of the analyte response in the LQC samples.

2.5.2 Linearity

The linearity of the method was established by adding the analytical standards of ATL and HCTZ (5 to 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and LST (10 to 120 $\mu\text{g}/\text{mL}$) in SGF and SIF, using 5 different concentrations, with analysis in triplicate. Calibration curves were obtained by plotting the individual analytical response (peak area of the analytes) against their respective nominal concentrations. By means of linear regression, the straight line equation was obtained, estimated by the least squares method, and the correlation coefficient (R^2), which must be greater than 0.990.

Furthermore, the homoscedasticity of the data was evaluated by comparing variances, using the Cochran test and considering a significance level of 5%.

2.5.3 Matrix effect

In order to evaluate the matrix effect, 3 curves were prepared (in SGF, SIF, and ACN). The calibrators for each curve were prepared in the same concentrations as the linearity test, using 5 concentrations, in triplicate. The parallelism of the curves was evaluated using the F test (Snedecor) for homogeneity of variances by concentration level and the t test (Student) for comparison of means by concentration level. The calculations were performed by a data analysis tool, using Microsoft Excel[®].

Therefore, for each set of samples, we evaluated whether the variances were statistically equal, and the t test was subsequently performed, assuming two samples of equivalent variances. In the event that the calculated t value is smaller than the two-tailed critical t value (tabulated), considering a significance level of 5% in the hypothesis

test, the curves are considered parallel, indicating the absence of interference from the matrix constituents.

2.5.4 Precision and accuracy

The method's precision and accuracy were evaluated in SGF and SIF, using 3 concentrations: low (LQC), medium (MQC), and high (HQC), with 4 individually prepared replicates at each level, as described in section 2.4.1. They were analyzed on the same day, in a single analytical run (intra-assay) and on 3 different days (inter-assay).

Precision, which is the proximity between the results obtained by means of the assays, was demonstrated by the dispersion of the results, calculating the relative standard deviation (RSD) of the measurement series, using the following formula: $RSD = (SD/MDC) \times 100$, where SD is the standard deviation and MDC is the mean experimentally determined concentration.

Accuracy was expressed by the percentage recovery ratio of each analyte of known concentration added to the sample, using the following formula: $recovery = (MDC / theoretical\ concentration) \times 100$, where MDC is the mean experimentally determined concentration.

Deviation values of up to 15% were accepted for RSD and recovery percentages.

2.6 Application of the method in an *in vitro* assay to evaluate the interaction of the drugs ATL, HCTZ, and LST with dietary fibers

In order to evaluate a possible food-drug interaction, simulated gastrointestinal fluids were used to reflect possible drug absorption sites. ATL and HCTZ (25 mg) and LST (50 mg) were individually solubilized in 500 mL of SGF or SIF and then 5 g of soluble dietary fiber β -glucan from oat bran, Fiber mais[®], and pectin were added. These solutions were incubated under constant agitation at 25 °C for 30 minutes. Control samples were prepared as described above, but without the addition of dietary fibers. For each experiment or control, 3 replicates were prepared.

Following incubation, 500 μ L of each solution was filtered at 1500 g for 45 minutes using Amicon Centrifree[®] ultrafiltration devices. The solution that passed through the membrane, i.e., the free drug, was quantified using the previously validated HPLC-UV method.

The possible interaction was evaluated by means of the free drug percentage, which was calculated using the following formula: $free\ drug\ (\%) = (peak\ area\ of\ the\ experimental\ solution / peak\ area\ of\ the\ control\ solution) \times 100$. The mean of the areas of the analytes for each experiment ($n = 3$) and the standard deviation of the means were calculated using Microsoft Excel[®].

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Method optimization

Some methods that HPLC-UV describe the simultaneous determination of ATL, HCTZ, and LST in Bulk and Pharmaceutical Dosage Form (ESWARUDU; SAKHEENA; LAHARI; BABU *et al.*, 2021; NEELIMA; GANDHI; RAJU; SUMANTH *et al.*, 2016; PARTHIBAN;

BHAGAVAN RAJU; SUDHAKAR, 2011; SHARMA; KHANNA; MISHRA, 2013; TENGLI; GURUPADAYYA, 2013; THOMAS; CHAVAN; NANDA; KOTHAPALLI *et al.*, 2010; YADAV; RAO, 2014). However, to the extent of our knowledge, this is the first simultaneous method for quantification of these analytes in gastrointestinal fluids, with the aim of evaluating drug-nutrient interactions.

Different column types, solvents, solvent strength (ratio of organic solvent in the mobile phase and buffer solution pH), mobile phase flow, and wavelength for detection were tested and used to optimize the chromatographic conditions that allowed a precise and accurate method for all analytes determined simultaneously in SGF and SIF.

Thus, the best analytical methodology, which allowed quality separation in terms of peak symmetry, resolution, and feasible runtime, was obtained using the Kromasil 100 C18 column (250 × 4.6 mm, 5 μm), with mobile phase ACN and potassium dihydrogen phosphate buffer containing phosphoric acid (pH 3) in gradient. UV detection was performed at 232 nm, a wavelength that allowed the quantification of all analytes. Mean detection times for ATL, HCTZ, and LST were 3.200, 7.053 and 17.247 minutes, respectively, as shown in Figure 1.

Given that this method was used to quantify drugs in an *in vitro* interaction assay, we did not use an internal standard, which could influence the chemical bonds that occur between the drugs and the fibers, shifting the balance of analytes.

3.2 Method validation

3.2.1 Selectivity

In the selectivity assay, blank samples of filtered and unfiltered SGF (Figure 2a) and filtered and unfiltered SFI (Figure 2b) were injected. It is possible to observe, through the overlap of chromatograms, the absence of interferences from the ultrafiltration device.

Furthermore, dietary fibers (β -glucan, Fiber mais[®], and pectin) were added to SGF and SIF, and the interference peak responses close to the retention time of the analytes were evaluated.

All tested fibers showed a small interference peak close to the ATL retention time; however, the highest response of this peak corresponded to 2.57% of the ATL peak area in the LQC sample. In contrast, no fiber showed an interference peak in HCTZ retention time, and only β -glucan from oat bran in SIF showed an interference peak close to LST retention time, which corresponded to 5.86% of its peak area in the LQC sample (Figure 3).

Although studies show that both HCTZ and LST can undergo thermal degradation when subjected to 60°C for 60 min, that LST can undergo oxidative degradation (3% H₂O₂), and that ALT and LST can undergo basic and acidic degradation (0.1M NaOH or 0.1M HCl reflux for 60 min at 60°C), respectively, after a day forced degradation study (Neelima *et al.*, 2016; Thomas *et al.*, 2010), when we compared solutions of the analytes freshly prepared in SGF and SIF with those that were subjected to the *in vitro* experiment that occurred for 30 min at 25°C at different pHs, we did not observe degradation products. Additionally, due to the absence of biotransformation enzymes, no metabolites are

formed during the *in vitro* assay, that could interfere the chromatographic resolution of the analytes.

3.2.2 Linearity

The method is linear in the concentration range of 5 to 60 µg/mL for ATL and HCTZ and the range of 10 to 120 µg/mL for LST in both gastrointestinal fluids, and all calibration curves presented a correlation coefficient (R^2) > 0.990. The linear regression data obtained from the calibration curves constructed using the peak area of the analyte in relation to the nominal concentration of the analyte are shown in Table 2.

The Cochran test for each curve of the analytes, both in SGF and in SIF, confirmed the homoscedasticity of the data.

3.2.3 Matrix effect

The absence of matrix effect was demonstrated by means of the parallelism between the curves of each analyte prepared in SGF or SIF, compared with the curve prepared in ACN. Parallelism was assessed using the *F* test (Snedecor) for homogeneity of variances by concentration level and *t* test (Student) for comparison of means by concentration level. If the calculated *F* value is smaller than the tabulated *F* value (6.39 for 5 determinations with a significance level of 5%), it is considered that the variances by concentration level are statistically equal. If the calculated *t* value is smaller than the tabulated *t* value (2.31 for 5 determinations with a significance level of 5%), the absence of matrix effect is confirmed.

The calculated *F* and *t* values are displayed in Table 3.

3.2.4 Precision and accuracy

Tables 4, 5, and 6 display the intra- and inter-assay precision and accuracy data for ATL, HCTZ, and LST, respectively. Intra-assay precision and accuracy were determined over 3 days ($n = 4$ each day). For ATL, precision was less than 3.07% RSD, and accuracy ranged from 95.09% to 106.92%. For HCTZ, precision was less than 1.82% RSD, and accuracy ranged from 99.74% to 109.51%. With respect to LST, precision was less than 2.14% RSD, and accuracy varied from 93.62% to 109.19%.

Inter-assay precision and accuracy were evaluated in 12 replicates of each QC over 3 days, and all RSD and percent recovery values were below the 15% deviation allowed for the method.

3.3 Application of the method in an *in vitro* food-drug interaction assay

The validated method was successfully applied in a study of the interaction of the drugs ATL, HCTZ, and LST with the soluble dietary fibers β -glucan from oat bran, Fiber mais[®], and pectin. Table 7 shows the results of free drug percentage after the individual incubation of each drug with dietary fibers. The free drug is the one that has crossed the membrane of the ultrafiltration device, that is, the one not adsorbed or complexed with dietary fiber. Taking into account the standard deviation accepted in the validation tests ($\pm 15\%$), we consider a free drug percentage lower than 85% as an interaction.

Therefore, among all drugs and dietary fibers tested in both simulated gastrointestinal environments, interaction only occurred between LST and β -glucan from oat bran in the SIF, compromising the free drug fraction in the simulated intestinal environment, which was 81.46 ± 12.05 . Considering that the free fraction may have an impact on the absorbed fraction of the drug, this piece of data takes on importance as patients with hypertension may be exposed to a situation of concomitant use of LST and β -glucan. Evidently, only clinical studies can evaluate the relevance of this data in clinical practice, but, in addition to providing a basis as to the need for these studies, this finding, by itself, constitutes a warning to prescribing physicians.

4 CONCLUSION

Given that the oral route is the main route of drug administration, there exists a possibility of interaction between drugs and foods. A method that makes it possible to quantify drugs in simulated gastrointestinal fluids makes it possible to predict, *in vitro*, interactions that may occur due to physicochemical reactions between these components. Especially in arterial hypertension, this evaluation takes on great importance due to the treatment with multiple drugs that are administered several times a day, which increases the risk of occurrence of interactions. Thus, the method developed and validated for the quantification of the antihypertensive drugs ATL, HCTZ, and LST in SGF and SIF has demonstrated adequate linearity, selectivity, precision, and accuracy for conducting interaction studies with dietary fibers. Furthermore, this method may be used in other types of studies that involve the use of simulated gastrointestinal fluids, such as studies to evaluate the luminal performance of new orally administered formulas or dissolution assays.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to thank the Faculty of Pharmacy of the Federal University of Rio de Janeiro for providing the facilities required to conduct this research, which was part of the doctoral studies of Edlaine Rijo Costa, who is a student in the Postgraduate Program in Medicine/Cardiology.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

ORCID

Edlaine Rijo Costa <https://orcid.org/0000-0002-3380-2670>

Anvisa. (2017). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. In. <http://portal.anvisa.gov.br>.

Anvisa. (2019). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopéia Brasileira - 6ª edição. In (6ª ed., Vol. I). <http://portal.anvisa.gov.br>.

- Appel, L. J., Moore, T. J., Obarzanek, E., Vollmer, W. M., Svetkey, L. P., Sacks, F. M., . . . Windhauser, M. M. (1997). A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. *New England Journal of Medicine*, 336(16), 1117-1124.
doi:<https://doi.org/10.1056/NEJM199704173361601>
- Barroso, W. K. S., Rodrigues, C. S., Bortolotto, L. A., Mota-Gomes, M. A., Brandão, A. A., & Feitosa, A. D. M. (2021). Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 116(3), 516-658.
doi:<https://doi.org/10.36660/abc.20201238>
- Deng, J., Zhu, X., Chen, Z., Fan, C. H., Kwan, H. S., Wong, C. H., . . . Lam, T. N. (2017). A Review of Food–Drug Interactions on Oral Drug Absorption. *Drugs*, 77(17), 1833-1855.
doi:<https://doi.org/10.1007/s40265-017-0832-z>
- Eswarudu, M. M., Sakheena, P., Lahari, K., Babu, P. S., & Eswaraiah, M. C. (2021). Validated RP-HPLC Method for Simultaneous Estimation of Atenolol, Hydrochlorothiazide and Losartan Potassium in Bulk and Pharmaceutical Dosage Form. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 9(1), 60-66.
doi:<https://doi.org/10.22270/ajprd.v9i1.913>
- Fleisher, D., Li, C., Zhou, Y., Pao, L.-H., & Karim, A. (1999). Drug, meal and formulation interactions influencing drug absorption after oral administration. *Clinical pharmacokinetics*, 36(3), 233-254. doi:<https://doi.org/10.2165/00003088-199936030-00004>
- Khan, K., Jovanovski, E., Ho, H. V. T., Marques, A. C. R., Zurbau, A., Mejia, S. B., . . . Vuksan, V. (2018). The effect of viscous soluble fiber on blood pressure: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 28(1), 3-13.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.numecd.2017.09.007>
- Koziolek, M., Alcaro, S., Augustijns, P., Basit, A. W., Grimm, M., Hens, B., . . . Maliepaard, M. (2019). The mechanisms of pharmacokinetic food-drug interactions—A perspective from the UNGAP group. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 134, 31-59.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.04.003>
- Lentz, K. A. (2008). Current methods for predicting human food effect. *The AAPS journal*, 10(2), 282-288. doi:<https://doi.org/10.1208/s12248-008-9025-8>
- Neelima, M. S., Gandhi, B. M., Raju, V. B., Sumanth, K. S., Srinivas, K., Mounika, P., & Lakshmi, P. J. N. (2016). Development and validation of stability indicating reverse phase high-performance liquid chromatography method for simultaneous estimation of atenolol, hydrochlorothiazide and losartan in bulk and pharmaceutical dosage form. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(2), 118-124.
- O'Shea, J. P., Holm, R., O'Driscoll, C. M., & Griffin, B. T. (2019). Food for thought: formulating away the food effect—a PEARRL review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71(4), 510-535. doi:<https://doi.org/10.1111/jphp.12957>
- Parthiban, C., Bhagavan Raju, M., & Sudhakar, M. (2011). Simultaneous estimation and validation of Atenolol, Hydrochlorothiazide and Losartan in tablet dosage form by RP-HPLC method. *International Journal of Pharmacy & Industrial Research*, 1(4), 325-329.
- Pentafragka, C., Symillides, M., McAllister, M., Dressman, J., Vertzoni, M., & Reppas, C. (2019). The impact of food intake on the luminal environment and performance of oral drug products with a view to in vitro and in silico simulations: a PEARRL review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 71(4), 557-580. doi:<https://doi.org/10.1111/jphp.12999>
- Schmidt, L. E., & Dalhoff, K. (2002). Food-drug interactions. *Drugs*, 62(10), 1481-1502.
doi:<https://doi.org/10.2165/00003495-200262100-00005>

- Sharma, R., Khanna, S., & Mishra, G. P. (2013). RP-HPLC Method for Simultaneous Estimation of Atenolol, Hydrochlorothiazide and Losartan in Tablet Dosage form. *Chemical Science Transactions*, 2(S1), S1-S6. doi:<https://doi.org/10.7598/cst2013.296>
- Tengli, A. R., & Gurupadayya, B. M. (2013). Method development and validation of tablet dosage form containing losartan, atenolol and hydrochlorthiazide using internal standard by RP-HPLC. *J Chromat Separation Techniq*, 4(5), 1-5. doi:<https://doi.org/10.4172/2157-7064.1000180>
- Thomas, A. B., Chavan, U. B., Nanda, R. K., Kothapalli, L. P., Jagdale, S. N., Dighe, S. B., & Deshpande, A. D. (2010). Simultaneous RP-HPLC analysis of atenolol, hydrochlorothiazide, and losartan potassium in a tablet formulation. *Acta Chromatographica*, 22(2), 219-226. doi:<https://doi.org/10.1556/achrom.22.2010.2.5>
- Whelton, P. K., He, J., Appel, L. J., Cutler, J. A., Havas, S., Kotchen, T. A., . . . Winston, M. C. (2002). Primary prevention of hypertension: clinical and public health advisory from The National High Blood Pressure Education Program. *Jama*, 288(15), 1882-1888. doi:<https://doi.org/10.1001/jama.288.15.1882>
- Whelton, S. P., Hyre, A. D., Pedersen, B., Yi, Y., Whelton, P. K., & He, J. (2005). Effect of dietary fiber intake on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. *23*(3), 475-481. doi:<https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000160199.51158.cf>
- Yadav, S. S., & Rao, J. R. (2014). Simultaneous estimation of Losartan, Hydrochlorothiazide and Atenolol from solid dosage form by RP-HPLC. *Int J Pharm Pharm Sci*, 6(1), 283-288.

12 ANEXOS

TABLE 1 Gradient elution steps

Time	Flow rate (mL/min)	A (%)	B (%)
0.0	1.0	85.0	15.0
3.5	1.0	85.0	15.0
4.0	1.5	75.0	25.0
8.0	1.5	75.0	25.0
8.5	1.5	65.0	35.0
20.5	1.5	65.0	35.0
21.0	1.0	85.0	15.0
25.0	1.0	85.0	15.0

TABLE 2 Parameters describing the linearity of the calibration curves

Analyte	Fluid	Date	Regression equation	Correlation coefficient (R ²)
ATL	SGF	Validation day 1	$y = 499589.0550x + 323355.5825$	0.9996
		Validation day 2	$y = 433582.1704x + 610369.4671$	0.9980
		Validation day 3	$y = 480250.7006x + 407611.0160$	0.9995
ATL	SIF	Validation day 1	$y = 606790.4644x + 165708.5272$	0.9977
		Validation day 2	$y = 634759.7239x + 333890.7220$	0.9977
		Validation day 3	$y = 627081.5734x + 399458.2516$	0.9997
HCTZ	SGF	Validation day 1	$y = 681705.3157x + 1051327.1426$	0.9983
		Validation day 2	$y = 683230.2361x + 1411857.6931$	0.9937
		Validation day 3	$y = 683065.3426x + 995000.1490$	0.9983
HCTZ	SIF	Validation day 1	$y = 743.815.7319x + 1256609.1723$	0.9974
		Validation day 2	$y = 765631.8418x + 1472840.3373$	0.9965
		Validation day 3	$y = 762960.7519x + 1436574.9647$	0.9979
LST	SGF	Validation day 1	$y = 862157.5201x - 298826.2861$	0.9982
		Validation day 2	$y = 888430.0393x + 851694.3421$	0.9954
		Validation day 3	$y = 863472.7478x - 226389.6498$	0.9984
LST	SIF	Validation day 1	$y = 974171.3775x - 327893.5841$	0.9958
		Validation day 2	$y = 1021851.7390x + 131113.8261$	0.9973
		Validation day 3	$y = 1005957.1848x + 165918.4888$	0.9985

ATL: atenolol; HCTZ: hydrochlorothiazide; LST: losartan potassium; SGF: simulated gastric fluid; SIF: simulated intestinal fluid

TABLE 3 Calculated F and calculated t values for the curves of each analyte in SGF and SIF, in comparison with the analytical curve in acetonitrile for calculation of matrix effect

Analyte	Fluid	Tabulated F (95%)	Calculated F	Tabulated t (95%)	Calculated t
ATL	SGF	6.39	1.49	2.31	0.31
	SIF		1.24		0.12
HCTZ	SGF		1.30		0.16
	SIF		1.27		0.13
LST	SGF		1.00		0.015
	SIF		1.02		0.019

ATL: atenolol; HCTZ: hydrochlorothiazide; LST: losartan potassium; SGF: simulated gastric fluid; SIF: simulated intestinal fluid

12 ANEXOS

TABLE 4 Repeatability, intermediate precision, and accuracy for atenolol in SGF and SIF

Nominal concentration ($\mu\text{g/mL}$)		SGF			SIF		
		LQC	MQC	HQC	LQC	MQC	HQC
		15	30	50	15	30	50
Intra-assay (n=4)							
Day 1	Mean \pm SD	14.48 \pm 0.15	30.45 \pm 0.08	47.54 \pm 0.43	15.34 \pm 0.09	31.56 \pm 0.97	52.68 \pm 0.51
	Precision (RSD)	1.02	0.26	0.91	0.57	3.07	0.96
	Accuracy (%)	95.50	101.49	95.09	102.25	105.19	105.37
Day 2	Mean \pm SD	14.34 \pm 0.02	30.36 \pm 0.56	49.07 \pm 0.95	15.04 \pm 0.15	32.07 \pm 0.30	52.16 \pm 0.71
	Precision (RSD)	0.11	1.86	1.93	1.03	0.93	1.37
	Accuracy (%)	95.6	101.21	98.14	100.29	106.92	104.32
Day 3	Mean \pm SD	14.53 \pm 0.09	30.22 \pm 0.32	48.09 \pm 0.46	14.76 \pm 0.14	31.64 \pm 0.37	52.38 \pm 0.92
	Precision (RSD)	0.59	1.04	0.95	0.93	1.16	1.76
	Accuracy (%)	96.86	100.74	96.17	98.28	105.47	104.76
Inter-assay (n=12)							
	Mean \pm SD	14.44 \pm 0.12	30.34 \pm 0.35	48.23 \pm 0.89	15.04 \pm 0.27	31.76 \pm 0.61	52.41 \pm 0.70
	Precision (RSD)	0.82	1.16	1.84	1.82	1.92	1.34
	Accuracy (%)	96.3	101.15	96.47	100.31	105.86	104.82

HQC: high quality control; LQC: low quality control; MQC: medium quality control; RSD: relative standard deviation; SD: standard deviation; SGF: simulated gastric fluid; SIF: simulated intestinal fluid

12 ANEXOS

TABLE 5 Repeatability, intermediate precision, and accuracy for hydrochlorothiazide in SGF and SIF

Nominal concentration ($\mu\text{g/mL}$)		SGF			SIF		
		LQC	MQC	HQC	LQC	MQC	HQC
		15	30	50	15	30	50
Intra-assay (n=4)							
Day 1	Mean \pm SD	15.19 \pm 0.08	31.22 \pm 0.08	51.67 \pm 0.26	15.19 \pm 0.14	31.98 \pm 0.45	52.92 \pm 0.43
	Precision (RSD)	0.55	0.25	0.51	0.91	1.40	0.81
	Accuracy (%)	101.27	104.08	103.34	101.29	106.61	105.84
Day 2	Mean \pm SD	15.17 \pm 0.28	32.02 \pm 0.44	52.67 \pm 0.27	14.96 \pm 0.15	32.75 \pm 0.22	52.66 \pm 0.47
	Precision (RSD)	1.82	1.37	0.52	1.00	0.69	0.89
	Accuracy (%)	101.12	106.76	105.38	99.74	109.16	105.33
Day 3	Mean \pm SD	15.35 \pm 0.03	32.61 \pm 0.23	52.05 \pm 0.20	14.83 \pm 0.09	32.55 \pm 0.26	52.69 \pm 0.75
	Precision (RSD)	0.17	0.71	0.38	0.60	0.79	1.42
	Accuracy (%)	102.33	108.71	104.09	98.87	109.51	105.39
Inter-assay (n=12)							
	Mean \pm SD	15.24 \pm 0.18	31.96 \pm 0.65	52.13 \pm 0.49	15.00 \pm 0.19	32.43 \pm 0.45	52.76 \pm 0.53
	Precision (RSD)	1.78	2.04	0.93	1.30	1.39	1.00
	Accuracy (%)	101.60	106.52	104.26	99.97	108.09	105.52

HQC: high quality control; LQC: low quality control; MQC: medium quality control; RSD: relative standard deviation; SD: standard deviation; SGF: simulated gastric fluid; SIF: simulated intestinal fluid

12 ANEXOS

TABLE 6 Repeatability, intermediate precision, and accuracy for losartan potassium in SGF and SIF

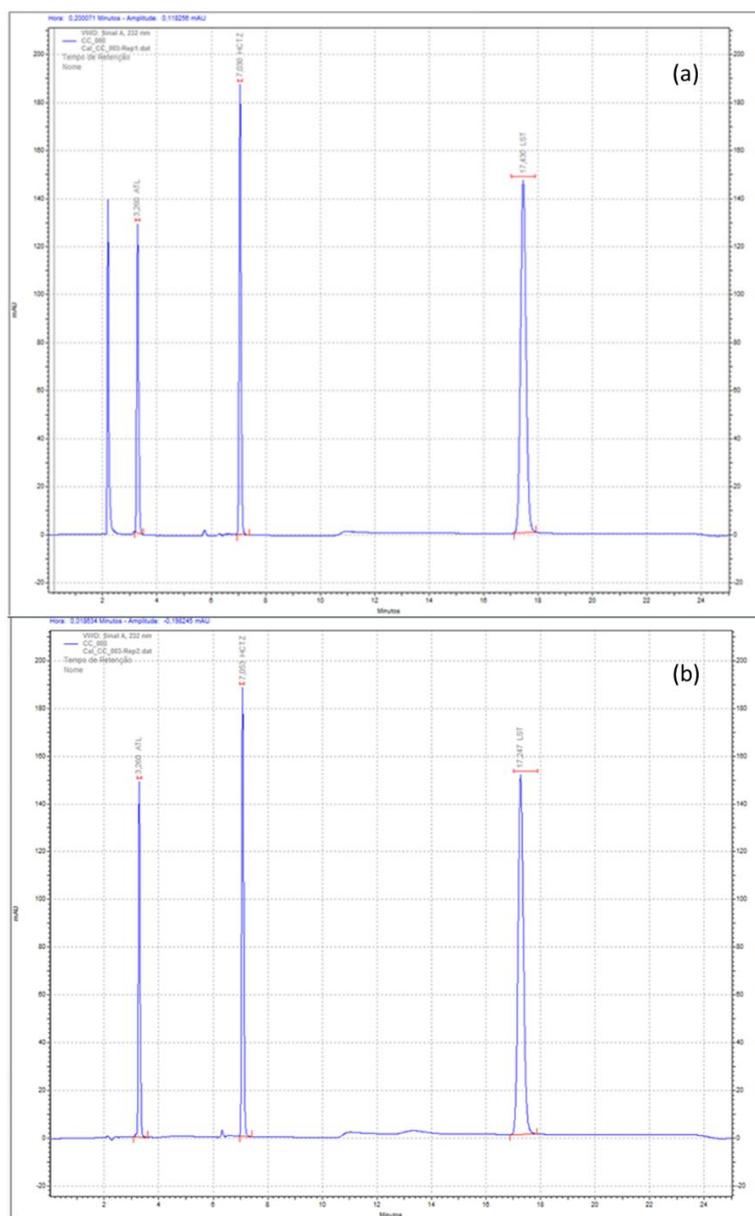
Nominal concentration ($\mu\text{g/mL}$)		SGF			SIF		
		LQC	MQC	HQC	LQC	MQC	HQC
		30	60	100	30	60	100
Intra-assay (n=4)							
Day 1	Mean \pm SD	29.12 \pm 0.08	62.24 \pm 0.33	105.78 \pm 0.51	29.11 \pm 0.26	62.12 \pm 1.37	108.59 \pm 0.41
	Precision (RSD)	0.28	0.51	0.49	0.88	2.14	0.38
	Accuracy (%)	97.08	107.07	105.78	97.32	106.86	108.59
Day 2	Mean \pm SD	28.73 \pm 0.58	65.51 \pm 0.40	107.62 \pm 0.62	28.56 \pm 0.29	65.32 \pm 0.33	107.53 \pm 1.41
	Precision (RSD)	2.01	0.61	0.58	1.02	0.51	1.31
	Accuracy (%)	95.76	109.19	107.62	95.20	108.87	107.53
Day 3	Mean \pm SD	29.11 \pm 0.10	65.03 \pm 0.65	106.78 \pm 0.45	28.09 \pm 0.10	64.88 \pm 0.69	107.43 \pm 1.05
	Precision (RSD)	0.34	1.01	0.42	0.36	1.07	0.98
	Accuracy (%)	97.02	108.38	106.78	93.62	108.13	107.43
Inter-assay (n=12)							
	Mean \pm SD	28.97 \pm 0.38	64.93 \pm 0.70	106.73 \pm 0.92	28.62 \pm 0.53	64.77 \pm 0.97	107.85 \pm 1.09
	Precision (RSD)	1.30	1.08	0.87	1.84	1.5	1.01
	Accuracy (%)	96.58	108.21	106.73	95.40	107.95	107.85

HQC: high quality control; LQC: low quality control; MQC: medium quality control; RSD: relative standard deviation; SD: standard deviation; SGF: simulated gastric fluid; SIF: simulated intestinal fluid

TABLE 7 Percentage of free drug in SGF and SIF after incubation with dietary fibers

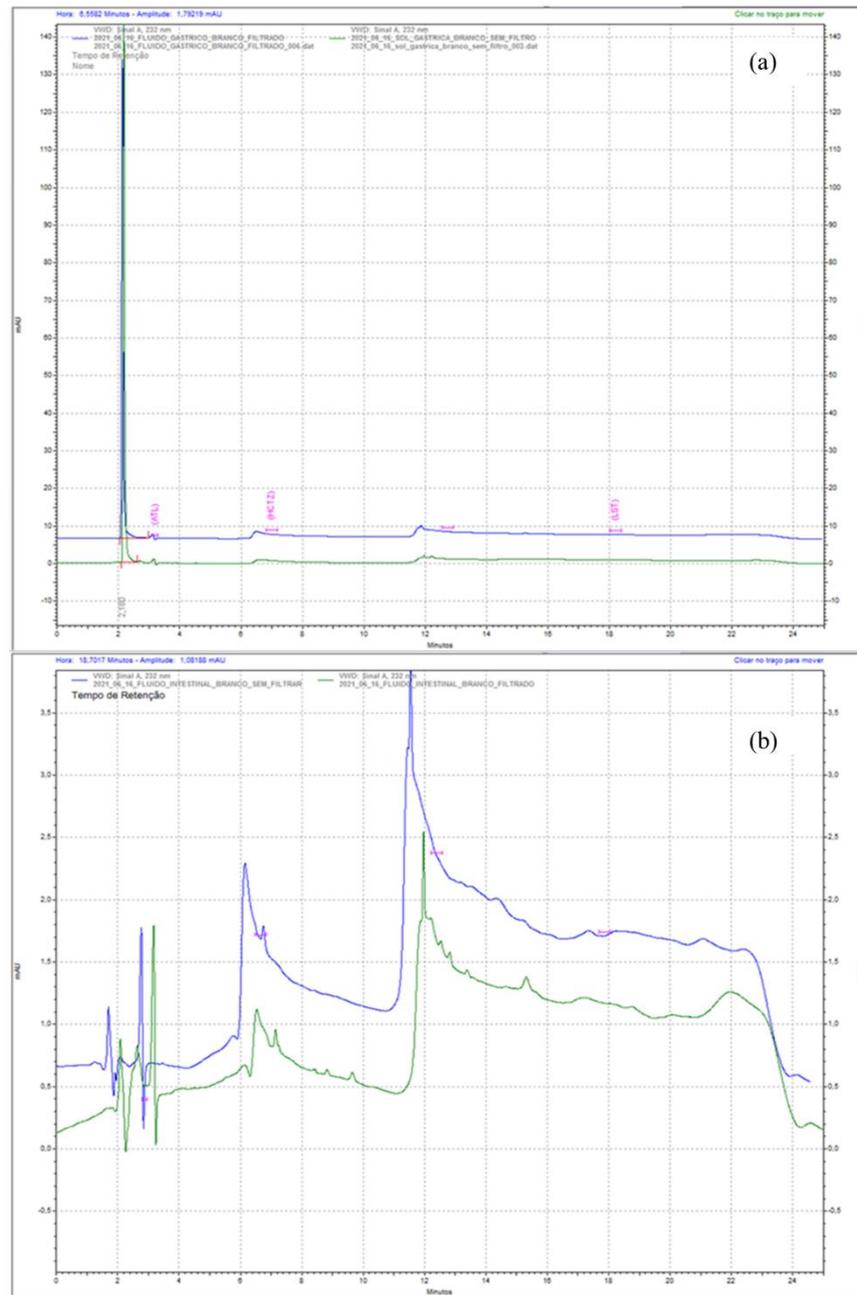
		% Free drug (mean \pm SD) (n=3)	
Drug	Dietary fiber	SGF	SIF
ATL	β -glucan	110.60 \pm 0.75	104.73 \pm 13.96
	Fiber mais	109.41 \pm 5.25	104.30 \pm 5.90
	Pectin	97.13 \pm 4.11	99.21 \pm 8.53
HCTZ	β -glucan	91.08 \pm 8.10	91.97 \pm 8.16
	Fiber mais	106.05 \pm 4.68	91.35 \pm 7.51
	Pectin	103.42 \pm 3.52	99.48 \pm 12.90
LST	β -glucan	85.03 \pm 1.84	81.46 \pm 6.54
	Fiber mais	97.57 \pm 1.05	94.22 \pm 2.54
	Pectin	97.97 \pm 1.91	96.12 \pm 8.16

ATL: atenolol; HCTZ: hydrochlorothiazide; LST: losartan potassium; SD: standard deviation; SGF: simulated gastric fluid; SIF: simulated intestinal fluid



ATL: atenolol; HCTZ: hydrochlorothiazide; LST: losartan potassium

FIGURE 1 Chromatographic profiles of atenolol (20 $\mu\text{g/mL}$), hydrochlorothiazide (20 $\mu\text{g/mL}$), and losartan potassium (40 $\mu\text{g/mL}$) in SGF (a) and SIF (b)



ATL: atenolol; HCTZ: hydrochlorothiazide; LST: losartan potassium

FIGURE 2 Chromatograms overlap of unfiltered and filtered SGF (a) and unfiltered and filtered SIF (b)

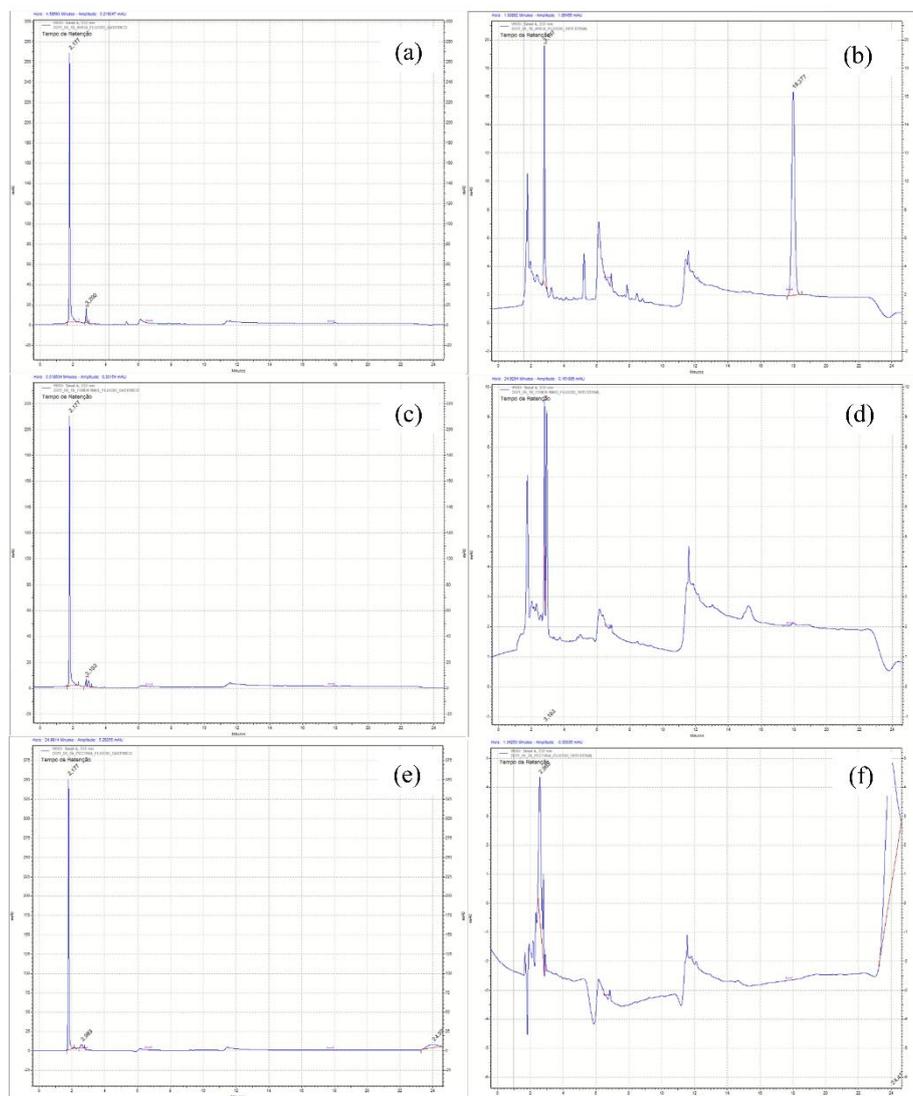


FIGURE 3 Chromatograms of (a) oat bran in SGF; (b) oat bran in SIF; (c) Fiber mais® in SGF; (d) Fiber mais® in SIF; (e) pectin in SGF; and (f) pectin in SIF