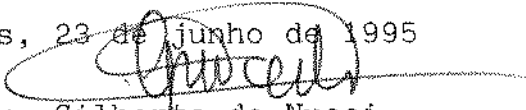


**DETERMINAÇÃO DE BIOEQUIVALÊNCIA DE  
DIFERENTES FORMULAÇÕES DE DICLOFENACO  
DE  
POTÁSSIO**

**LUIZ MADALENO FRANCO**

Este exemplar corresponde à versão final da tese de Mestrado, apresentada a Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP, para obtenção do título de Mestre em Farmacologia do Farmacêutico Luiz Madaleno Franco.

Campinas, 23 de junho de 1995

  
Prof. Dr. Gilberto de Nucci  
- Orientador -

**CAMPINAS - 1995**

F848d

25734/BC

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

**LUIZ MADALENO FRANCO**

**DETERMINAÇÃO DE BIOEQUIVALÊNCIA DE DIFERENTES FORMULAÇÕES  
DE  
DICLOFENACO DE POTÁSSIO**

**Dissertação Apresentada ao Departamento de Farmacologia da Faculdade de  
Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para Obtenção do  
Título de Mestre em Farmacologia.**

**Orientador: Gilberto de Nucci**

**Campinas**

**1995**

---

**Banca examinadora da Dissertação de Mestrado**

---

---

**Orientador:**

Prof. Dr. Gilberto de Nucci

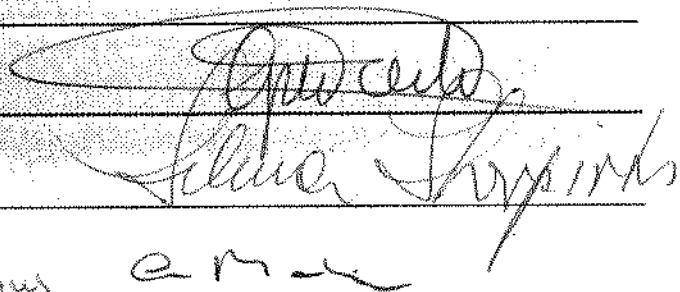
---

**Membros:**

1. Prof. Dr. Gilberto de Nucci

2. Prof. Dr. Silvia Storpirts

3. Prof. Dr. Antonio Roberto Martins

  
The image shows three handwritten signatures in black ink. The first signature is a cursive 'G. de Nucci'. The second signature is 'Silvia Storpirts'. The third signature is 'A. R. Martins'.

Curso de pós-graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da  
Universidade Estadual de Campinas.

---

**Data:**

23/06/95

---

## **DEDICATÓRIA**

**Aos meus pais pela vida, constante estímulo, apoio e confiança.**

**À minha esposa Yoko e filhos André, Juliana e Jacqueline pela força, companheirismo, amor e compreensão durante a realização desta tese de mestrado.**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais que, embora nunca tenham freqüentado uma escola, sempre viram com lucidez a importância da continuidade dos estudos, e mudaram-se para a cidade para que seus filhos pudessem continuar os estudos iniciados numa escola rural. Agradeço-lhes o constante estímulo.

À minha esposa e meus filhos pelo entendimento das ausências durante o período de elaboração deste trabalho, e pelos constantes incentivos e ajuda nos momentos difíceis.

Ao FAP (Fundo de Apoio à Pesquisa) da UNIMEP pela bolsa concedida durante a fase de dissertação (6 meses) e ao Curso de Farmácia pela liberação de 8 horas semanais para a realização de todo o trabalho de tese de mestrado.

Aos companheiros e funcionários do Laboratório de Farmacologia da F.C.M.-UNICAMP pela proveitosa e feliz convivência.

Ao colega Marcelo Nicolás Muscará pela paciência, primeiras informações e explicações sobre HPLC, além da ajuda nos momentos de dificuldades técnicas.

A Dra. Gun Birgitta Bergsten Mendes pelo acompanhamento clínico dos voluntários, publicação dos trabalhos e contribuição científica na tese.

Ao colega Welington Ribeiro pela amizade, companheirismo, paciência e ajuda durante a fase de redação da tese.

Aos funcionários Departamento de Farmacologia da F.C.M., principalmente aos da secretaria pela grande disponibilidade, em especial à Solange pelas informações acadêmicas e auxílio.

Finalmente, agradeço ao Prof. Dr. Gilberto de Nucci do Departamento de Farmacologia da F.C.M.-UNICAMP por ter propiciado a realização deste trabalho, com sua orientação e apoio no processo de capacitação, mesmo nas condições especiais de tempo de que dispúnhamos.

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO GERAL</b>	<b>09</b>
1. Fatores que determinam os níveis plasmáticos das drogas	10
2. Farmacocinética clínica	10
2.1. Biodisponibilidade	10
2.2. Bioequivalência	16
3. Genéricos	18
4. Objetivo	18
<b>CAPÍTULO II - ESTUDO DA BIOEQUIVALÊNCIA DE DICLOFENACO DE POTÁSSIO</b>	<b>19</b>
1. Introdução	19
<b>CAPÍTULO III - CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>23</b>
1. Critérios de seleção dos voluntários	23
2. Protocolo clínico	23
3. Metodologia de análise do diclofenaco	24
4. Condições cromatográficas	25
5. Materiais	25
6. Análises farmacocinética e estatística	26
<b>CAPÍTULO IV - RESULTADOS</b>	<b>27</b>
1. Diclofenaco de potássio suspensão	27
1.1. Seleção dos voluntários	27
1.2. Dose administrada	27
1.3. Resultados	27

2. Diclofenaco de potássio comprimidos	35
2.1. Seleção dos voluntários	34
2.2. Dose administrada	34
2.3. Resultados	34
CAPÍTULO V - DISCUSSÃO	39
CAPÍTULO VI -CONCLUSÃO	42
CAPÍTULO VII - ANEXOS E CURVAS INDIVIDUAIS	43
1. Anexo I - Lista de randomização das suspensões	44
2. Anexo II - Lista de randomização dos comprimidos	45
3. Curvas de concentração individuais das suspensões	46
4. Curvas de concentrações individuais dos comprimidos	65
CAPÍTULO VIII - BIBLIOGRAFIA	84
CAPÍTULO IX - TRABALHO PUBLICADO	92

## RESUMO

Com o desenvolvimento da ciência e da tecnologia e a descoberta e síntese de novos fármacos, as indústrias farmacêuticas nacionais e transnacionais colocam no mercado novos medicamentos à disposição da classe médica e da população. Neste sentido, são de extrema relevância para o bem-estar de toda a sociedade os estudos para comprovar a eficácia dos medicamentos ou para melhor garantir o controle de sua qualidade.

O objetivo deste trabalho foi pesquisar, em voluntários sadios, a bioequivalência de duas formulações de diclofenaco de potássio fabricadas por duas indústrias do setor farmacêutico.

O estudo foi realizado administrando, em jejum, dose única de diclofenaco de potássio de duas diferentes formulações, suspensão e comprimidos, em voluntários com idades entre 18 e 45 anos, dentro do peso ideal, sendo coletadas amostras de sangue em diferentes horários, após a administração, para a análise da concentração plasmática da droga. A determinação das concentrações plasmáticas dessa droga foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (H.P.L.C.), calculando-se os parâmetros farmacocinéticos: área sob a curva (AUC), concentração máxima atingida ( $C_{máx}$ ), tempo para atingir o  $C_{máx}$  ( $T_{máx}$ ), bem como os testes estatísticos paramétrico e não paramétrico, aferindo-se a bioequivalência de acordo com as exigências da *Food and Drug Administration* (F.D.A.).

Pelos resultados obtidos foi possível concluir que as duas formulações testadas (Flogan<sup>®</sup> suspensão e comprimidos) são bioequivalentes em relação a formulação de referência (Cataflan<sup>®</sup> suspensão e comprimidos), visto que as razões Flogan<sup>®</sup>/Cataflan<sup>®</sup> para  $AUC_{[0-24]}$  estão dentro do intervalo de 0,8 - 1,25, conforme exigências do F.D.A.



## CAPÍTULO I

### INTRODUÇÃO GERAL

A busca de novos medicamentos envolve anos de pesquisa e grandes investimentos das indústrias farmacêuticas visando a fornecer novas alternativas terapêuticas à classe médica e à população. Quando uma indústria encontra novas drogas ou classes terapêuticas eficientes, seguras e de importante emprego clínico, outras tendem a usá-las, respeitando ou não seu patenteamento. Assim, outras indústrias podem produzir equivalentes farmacêuticos que serão lançados no mercado, as vezes, sem os respectivos estudos que comprovem as mesmas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas do produto original.

No Brasil, o controle sanitário do mercado de medicamentos tem deixado a desejar, ao ponto de o próprio Ministério da Saúde não saber com exatidão o número de especialidades farmacêuticas disponíveis no país, nem sua qualidade e segurança. Assim, os estudos de bioequivalência vêm contribuir decisivamente na melhoria da assistência farmacêutica exigida pelo Decreto Federal 793/93, principalmente em relação aos genéricos. O uso dos genéricos certamente poderá garantir maior acesso da população aos medicamentos, melhoria da terapêutica, pelo menor número de especialidades no mercado, além de diminuir os custos dos tratamentos. Neste sentido, a garantia da qualidade das diferentes especialidades farmacêuticas que possuem em suas formulações princípios ativos básicos iguais é fundamental, ou seja: devem ser bioequivalentes.

Um importante princípio em farmacologia apregoa que: "a intensidade da ação terapêutica, assim como dos efeitos tóxicos da maioria dos medicamentos, deve-se à sua concentração nos tecidos e não necessariamente à dose administrada". A partir desse princípio podemos entender que a concentração da droga nos tecidos encontra-se em estado de equilíbrio com a concentração sanguínea, e isto determinará indiretamente a intensidade da ação farmacológica (Pancorbo, 1984).

Como nem sempre é possível estabelecer os níveis plasmáticos de uma droga para determinar sua ação farmacológica, recorre-se ao conhecimento das margens de concentração plasmáticas para alcançar os efeitos terapêuticos desejados sem que apareçam os efeitos indesejáveis decorrentes das sobredoses. Essas margens têm sido chamadas de "Níveis Plasmáticos Terapêuticos", e as tóxicas de "Níveis Plasmáticos Tóxicos".

Atualmente são conhecidos níveis plasmáticos terapêuticos para a maioria dos medicamentos, tais como: teofilina, anticonvulsivantes, aminoglicosídeos, antiarrítmicos, etc.

## **1- FATORES QUE DETERMINAM OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DAS DROGAS**

- 1.1 - A dose administrada.
- 1.2 - A biodisponibilidade da droga.
- 1.3 - A capacidade de distribuição do fármaco nos humores e tecidos.
- 1.4 - A capacidade do fígado e outros órgãos para metabolizar e desintoxicar as drogas.
- 1.5 - A capacidade do rim de eliminar as drogas e seus metabólitos.

Todos os seres humanos mostram grande variabilidade na maneira de absorver, distribuir, metabolizar e eliminar as drogas. Por isso, a mesma dose de um medicamento pode produzir diferentes efeitos em diferentes pacientes: efeito terapêutico, efeito tóxico, nenhum efeito, ou, ainda, reação adversa ao medicamento. Portanto, a determinação dos níveis plasmáticos das drogas nos pacientes poderá ser de grande importância na elaboração dos regimes posológicos, principalmente nos hepatopatas, nos portadores de falência renal aguda ou crônica e nas politerapias.

## **2- FARMACOCINÉTICA CLÍNICA**

Pelo acima exposto, tornam-se de grande utilidade os estudos de farmacocinética clínica que objetivam a aplicação da farmacocinética no manejo terapêutico seguro e efetivo de cada paciente, entendendo a farmacocinética como: "Estudo quantitativo dos processos que determinam a concentração da droga no organismo humano e consiste em modelos matemáticos que nos permitem prever a concentração de uma droga no sangue"(Pancorbo,1984).

Dentre os vários estudos de farmacocinética clínica, temos o da biodisponibilidade e o da bioequivalência.

### **2.1-BIODISPONIBILIDADE (F)**

A biodisponibilidade pode ser conceituada como: "quantidade e velocidade pela qual o princípio ativo é absorvido à partir de produtos farmacêuticos e se torna disponível no sítio de ação " e é determinada pela área sob a curva (AUC) da concentração plasmática em função do tempo, que é obtida após administração extravascular (ev) do produto, dividida

pela resultante de uma administração intravascular(iv) corrigindo-se as doses administradas (D) ( F.D.A. *in* Carcámo,1982).

$$F = (AUC_{ev}/AUC_{iv}) \times (D_{ev}/D_{iv})$$

Segundo Prista, (1991) os principais fatores que alteram a biodisponibilidade são:

- fatores fisiológicos,
- fatores físico-químicos,
- fatores farmacotécnicos,
- fatores farmacodinâmicos.

### 2.1.1-FATORES FISIOLÓGICOS

De acordo com Fick (*apud* Prista,1991) a maioria das drogas são absorvidas por difusão passiva e é necessário que o raio das partículas e a viscosidade do sistema sejam os menores possíveis para facilitar a absorção.

Quando a administração do medicamento se dá por via oral, a primeira fase da absorção consiste na dissolução da droga no meio aquoso constituído pelo suco gastrointestinal. Após a dissolução, o fármaco deve atravessar as membranas semi-permeáveis, sendo necessário que possua um adequado coeficiente de partição lipídeo/água. Tem ainda importância fundamental o pH, que determina a ionização do fármaco, e este será melhor ou pior absorvido em função da sua dissociação. Assim, para os ácidos fracos, a absorção é máxima quando o pKa for maior ou igual a 3.0 e, para as bases fracas, quando pKa for menor ou igual a 7,8.

Existem, ainda, outros processos de absorção como: a passagem através de poros da membrana (espécies químicas com 7 a 10 Å de diâmetro e pesos moleculares menores que 150 a 400), o transporte ativo, transporte facilitado, a pinocitose, etc, porém, menos utilizados pelo organismo

A biodisponibilidade depende também da via de administração escolhida, do estado fisiológico do local da absorção (exemplo: a amoxicilina e a ampicilina atravessam bem as meninges quando estas estão inflamadas, tendo dificuldades quando estas estão íntegras), da área da superfície de absorção, da circulação sanguínea, das condições fisiopatológicas do local, das características do medicamento, das variações da atividade enzimática na parede intestinal, do pH gástrico, da motilidade intestinal, da função hepática,etc.

Dentre os fatores fisiológicos, devem também ser considerados a idade, o estado de saúde, as condições de repouso, a velocidade de

esvaziamento gástrico, já que diferentes fármacos têm diferentes locais de absorção no TGI. A ingestão de alimentos interfere na absorção da droga devido: às alterações de pH, ao tempo de contato do fármaco com o local de absorção, as secreções produzidas durante o processo digestivo e as interações da droga com determinados alimentos como: tetraciclina + cálcio presente no leite, diminuindo a absorção do primeiro (Rang & Dale, 1993).

### 2.1.2-FATORES FÍSICO-QUÍMICOS

O comportamento físico-químico da droga tem grande influência na sua biodisponibilidade, visto que afeta o transporte de membrana, interferindo na sua absorção.

A solubilidade da droga é outro fator importante pois as drogas administradas em solução aquosa são mais fácil e rapidamente absorvidas que as administradas em óleos, suspensão ou sólidos, porque se misturam mais facilmente com a fase aquosa do local da absorção. Para as sólidas, o fator limitante é a sua dissolução.

As condições do local de absorção, tais como a motilidade do trato gastrointestinal, a velocidade de esvaziamento e as patologias associadas, bem como a concentração local da droga também interferem na biodisponibilidade.

Interferem também na biodisponibilidade aspectos decorrentes da natureza química dos fármacos: se é ácido, base, éster, complexo, etc, em função da sua solubilidade, coeficiente de partição, reação com o meio onde se encontra, da sua forma isomérica (se *D* ou *L* ou racêmico).

Alguns fármacos são inadequadamente absorvidos por via oral, pois se decompõem por ação do suco gástrico, ou são moléculas volumosas, ou com alta hidrofília, ou baixo coeficiente de partição óleo/água. Como exemplos temos as polimixinas, os peptídeos (insulina), os aminoglicosídeos, etc. Temos, ainda, a formação de complexos quando as drogas são administradas conjuntamente: antiácidos com alumínio e magnésio + tetraciclina (Fuchs & Wannmacher, 1992). Há, também, o caso de algumas drogas, como a ampicilina, cuja absorção por via oral está em torno de 40 a 60%, em função de suas propriedades físico-químicas (solubilidade, pK, etc.)

Outros fármacos, como o cloranfenicol que é muito amargo, são transformados em ésteres palmítico ou esteárico, para melhorar o sabor. Todavia isto dificulta sua absorção, pois precisam ser hidrolisados pelas esterases pancreáticas para ser melhor absorvidos.

Em outros casos ocorre limitação da via de absorção devido à decomposição em função do pH incompatível (ex. a acetilcolina por via

oral hidrolisa-se em colina + ácido acético). Já a codeína é bem absorvida por via oral, visto que seu pKa é de 7.9.

A salificação e a complexação podem levar a compostos tecnicamente interessantes para a indústria, pelo aumento da hidrossolubilidade (ex. pentobarbital sódico, sulfamidas sódicas, penicilinas V potássicas, etc). Outras formulações são decompostas pelo ácido clorídrico do estômago, formando cristais menores, o que facilitará sua absorção (ex. aminofilina que origina o cristal de teofilina de reduzidas dimensões)(Prista, 1991).

### 2.1.3-FATORES FARMACOTÉCNICOS

Atualmente, as indústrias e os farmacêuticos têm à sua disposição uma gama enorme de substâncias para serem utilizadas como adjuvantes e excipientes farmacotécnicos. Tais substâncias como: diluentes, desagregantes, aglutinantes, lubrificantes, espessantes, tensoativos, antioxidantes, seqüestrantes, conservantes, edulcorantes, corantes, etc., são utilizadas durante os processos de fabricação dos medicamentos. Conseqüentemente, elas podem interferir na biodisponibilidade dos fármacos, através de suas reações e interações.

Para evitar as reações e as interações, devem ser levadas em consideração as características físico-químicas do fármaco, dos adjuvantes e dos excipientes, tais como:

- carga elétrica do fármaco, dos excipientes e dos adjuvantes, evitando a tendência de complexação, floculação, aglomeração, etc.;
- reações químicas como oxidações, hidrólises, esterificações, saponificações, etc.;
- aumento da viscosidade, após solubilização no suco digestivo.
- adsorção ou fixação na própria embalagem (plásticos, vidros, borrachas, etc);
- porosidade nas formas sólidas;
- forma do revestimento dos comprimidos;
- tipo de cápsula (mole, dura, etc);
- velocidade de decantação, quando das suspensões;
- estabilidade, quando das emulsões.

Deve-se, ainda, lembrar que, visando uma melhor biodisponibilidade, toda vez em que há alteração na forma farmacêutica (comprimidos, cápsulas, xaropes, etc.) ou em seus constituintes é necessário avaliar a estabilidade, a solubilidade, a viscosidade, etc, evitando-se assim complicações como a decomposição e interações entre o fármaco, seus excipientes e adjuvantes.

Por fim, deve ser levado em conta na biodisponibilidade o estado físico do fármaco: a dimensão das partículas, a superfície específica, os tipos de cristais (agulhas, placas, esferas, romboédros, ou amorfos).

#### 2.1.4-FATORES FARMACODINÂMICOS

- Idade
- Fatores genéticos
- Interações de drogas
- Estados fisiológicos e patológicos

##### 2.1.4.1-IDADE

A função renal e o metabolismo das drogas são menos eficientes nos extremos de idade (lactentes e idosos), proporcionando efeitos maiores e mais prolongados (Curry, 1980; e Gibaldi, 1984).

No recém-nascido, a função renal, medida pela taxa de filtração glomerular, é aproximadamente 20% da do adulto normal, normalizando-se pela área de superfície corporal (Rane, 1985). A partir dos vinte anos a função renal começa a declinar, reduzindo-se em 25% aos cinquenta anos e chegando a 50% aos setenta e cinco anos. Isto resulta na diminuição da excreção das drogas, já que esta é a principal via de eliminação (ex. a gentamicina tem meia vida de 2 horas no adulto e de 18 horas no recém-nascido). É necessário portanto fazer o ajuste posológico, reduzindo a dose e/ou aumentando o intervalo entre as doses.

Em relação ao metabolismo, nos recém-nascidos e principalmente nos prematuros as enzimas: oxidases microssômicas hepáticas, glicuroniltransferases, acetiltransferases e esterases plasmáticas são pouco desenvolvidas, levando cerca de oito semanas para atingir a maturidade (ex. bebê cinzento quando do uso de cloranfenicol, pela lenta conjugação hepática, levando ao depósito nos tecidos). Isto também explica a não utilização da morfina nos trabalhos de parto, pois causaria no feto intensa depressão respiratória pela dificuldade de metabolização.

Após a idade adulta a atividade das enzimas microssomais hepáticas também diminui lentamente, levando a um contínuo aumento da meia-vida das drogas (ex. o diazepam pode ter um efeito até 4 vezes maior, comparando-se pacientes de 20 com os de 70 anos, pela diminuição das oxidases).

### 2.1.4.2-FATORES GENÉTICOS

Através do estudo de gêmeos univitelínicos e não univitelínicos, verificou-se que a variabilidade da meia-vida de várias drogas eram determinadas geneticamente (ex. meia-vida para a fenilbutazona e os anticoagulantes cumarínicos em gêmeos univitelínicos é de 6 a 22 vezes menos variável do que nos gêmeos não univitelínicos, Vessel & Page, 1968). Sabe-se que os fatores genéticos contribuem apenas com parte da variação, sendo o restante devido a outros fatores como pH, fluxo, motilidade intestinal, etc.

### 2.1.4.3-INTERAÇÃO DE DROGAS

As interações entre drogas podem ser *farmacodinâmicas* ou *farmacocinéticas*.

#### 2.1.4.3.1-FARMACODINÂMICAS

As interações farmacodinâmicas podem ocorrer por antagonismo ou por sinergismo farmacológico. Exemplos:

- um antagonista beta, como o propranolol, reduz a eficácia dos broncodilatadores salbutamol e terbutalina, que são agonistas beta;
- as sulfonamidas impedem a síntese do ácido fólico pelas bactérias e o trimetropim inibe sua redução em tetraidrofolato, por isso, são administrados juntos para se obter sinergismo;
- a álcool potencializa o efeito depressor dos benzodiazepínicos no S.N.C.

#### 2.1.4.3.2-FARMACOCINÉTICAS

A administração de drogas conjuntamente pode alterar a absorção, a distribuição, a metabolização e a excreção (Hansten, 1985).

Exemplos:

- as drogas que inibem a motilidade gastrointestinal, como a atropina, reduzem a absorção, e as drogas que a aumentam podem facilitar a absorção (metoclopramida);
- a parafina líquida, usada como laxante, retém algumas drogas lipossolúveis no intestino;

- drogas que competem com outras pelas ligações com as proteínas plasmáticas, deslocando-as, como a fenilbutazona e a aspirina.
- as interações devido à metabolização e à excreção já foram mencionadas anteriormente.

## 2.2-BIOEQUIVALÊNCIA

Segundo Goodman & Gilman (1987), produtos bioequivalentes são aqueles que produzem concentrações similares da droga no sangue e nos tecidos e são terapêuticamente equivalentes, isto é, proporcionam benefício terapêutico igual na experiência clínica.

Para Shargel & Yu (1993), produtos bioequivalentes são equivalentes farmacêuticos que têm biodisponibilidade semelhante (isto é, não são significativamente diferentes quanto a velocidade e extensão da absorção), quando administrados na mesma dose molar, em estudos sob condições experimentais similares. Podem, ainda, ser considerados bioequivalentes quando apresentam igual extensão de absorção, mas não têm a mesma velocidade de absorção, pois esta diferença na velocidade de absorção é considerada clinicamente insignificante, isto é, não é essencial para a obtenção da concentração efetiva da droga no organismo durante o uso crônico.

Ainda segundo esses autores, equivalentes farmacêuticos são produtos que contêm algum ingrediente ativo da droga (mesmo sal, éster ou outra forma química) e são idênticos na potência ou na concentração, na forma de dosagem e na via de administração.

São consideradas alternativas farmacêuticas produtos que contêm o mesmo princípio terapêutico, mas diferentes sais, ésteres, ou complexos. Diferenças na forma de dosagem e potência dentro da mesma linha de produtos ou fabricação são considerados também alternativas farmacêuticas.

Esses autores ainda consideram como alternativas terapêuticas produtos que contêm ingredientes ativos diferentes daquele que é indicado para alguma terapêutica ou objetivo clínico. Os ingredientes ativos nas alternativas terapêuticas são os da mesma classe terapêutica (ex. diclofenaco e aspirina). Equivalentes terapêuticos são aqueles produtos que contêm a mesma droga terapêuticamente ativa que daria o



mesmo efeito terapêutico e têm igual potência para efeitos adversos, nas condições enunciadas no rótulo do produto. Os medicamentos podem diferir em certas características como cor, sabor, forma farmacêutica, embalagem, tipo, conservantes, prazo de validade e quantidade por embalagem.

Já para a F.D.A. produtos bioequivalentes são os equivalentes farmacêuticos ou alternativas farmacêuticas cuja velocidade e extensão de absorção não exibem diferenças significativas quando se administra a mesma dose da porção terapêutica sob condições experimentais similares, seja em dose única ou múltipla.

Sendo assim, a bioequivalência implica a comparação de dois ou mais produtos quanto à velocidade e a magnitude de suas absorções.

Inúmeras investigações têm demonstrado que a biodisponibilidade dos produtos farmacêuticos é muito variável e a questão consiste em determinar se a diferença de absorção e, portanto, dos níveis plasmáticos, pode ter conseqüências danosas em relação aos efeitos tóxicos e à eficácia terapêutica. Portanto, quando se determina que dois produtos não são bioequivalentes, não se pode afirmar com segurança que terão respostas terapêuticas diferentes, já que os outros fatores discutidos anteriormente podem ter grande influência.

O tipo de estudo de bioequivalência também deve ser discutido, pois a maioria dos estudos de bioequivalência são realizados com amostras da população, e, depois, feitas generalizações para toda a população, por aproximação, o que pode levar a uma generalização não verdadeira (Hauck & Anderson, 1992). O ideal seriam estudos populacionais ampliados, porém, de difícil realização, em função de tempo, problemas operacionais, custos, etc.

Os estudos de bioequivalência são bastante variados quanto à escolha dos parâmetros diferindo em relação ao número de voluntários usados, se realizado com administração de doses simples, ou múltiplas (Sauter & Steinijans *et al*, 1992; Flor & Rogge *et al*, 1993); se com voluntários sadios ou doentes, se somente do sexo feminino ou masculino, quanto a idade dos voluntários (Pidjen, 1992), à via de administração do medicamento, sua forma farmacêutica, o material colhido para análise e, obviamente, o tipo de análise estatística para verificar sua bioequivalência (Sauter *et al*, 1992).

Assim, existem estudos de biodisponibilidade/bioequivalência determinando a concentração das drogas após administração pelas mais variadas vias, até pela absorção transdérmica, e em diferentes líquidos e humores orgânicos, como plasma e líquido sinovial (Kurowski & Dunki, 1992); ou determinação de droga no soro e urina, após administração por via oral (Badian *et al*, 1992); ou após administração intra-vaginal (Zschieche *et al*, 1992).

Para determinar as concentrações plasmáticas das drogas existem diversas metodologias de análise, que variam em função de suas características físico-químicas, tipo de composto, formulação, níveis plasmáticos e sensibilidade da metodologia, tais como:

- ensaios biológicos;
- testes colorimétricos;
- radioimunoensaio;
- espectrofotometria (visível, UV, fluorescência, infravermelho);
- espectrometria de massa;
- ressonância magnética nuclear;
- cromatografia de camada delgada;
- cromatografia gasosa;
- cromatografia líquida de alta eficiência (H.P.L.C.).

Como os efeitos farmacológicos (terapêuticos ou tóxicos) de uma droga são dependentes de sua concentração plasmática e existem medicamentos com a mesma concentração da droga, porém produzidas por diferentes fabricantes, é fundamental determinar se possuem a mesma biodisponibilidade e se são bioequivalentes.

### 2.3- GENÉRICOS

Nome genérico é aquele dado à droga, independentemente do fabricante ou proprietário da marca, em função do ingrediente ativo (ex. ácido acetil salicílico, acetaminofen, propranolol).

A substituição por genéricos é o processo realizado por farmacêuticos de dispensar um produto farmacêutico de marca diferente daquela prescrita pelo médico, desde que contenha o mesmo ingrediente ativo, nas mesmas concentrações e forma farmacêutica (ex: **Flogan**<sup>®</sup> suspensão por **Cataflam**<sup>®</sup> suspensão).

### 2.4- OBJETIVO

Em função do exposto, nesta dissertação de mestrado, realizamos estudos de duas formulações de diclofenaco de potássio suspensão e duas formulações de comprimidos, na Unidade de Farmacologia Clínica "Miguel de Servet" do Departamento de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, de setembro de 1992 a fevereiro de 1993, visando a determinação de suas bioequivalências.

## CAPÍTULO II

### ESTUDO DA BIOEQUIVALENCIA DE DICLOFENACO DE POTÁSSIO

#### 1- INTRODUÇÃO

Diclofenaco potássico é um agente antiinflamatório não esteróide (AINE), com alto grau de atividade antiinflamatória, analgésica e antipirética, além de ser bem tolerado (Moran, 1990). É derivado do grupo do ácido fenilacético, cujo mecanismo de ação é atribuído à inibição da atividade da ciclo-oxigenase e prostaglandina sintetase.

Semelhante aos salicilatos, o efeito antiinflamatório dos diclofenacos e outros AINEs pode resultar, em parte, da inibição da síntese e liberação de prostaglandinas durante a inflamação. Concentrações altas de diclofenaco podem inibir a formação de outros metabólitos do ácido araquidônico, incluindo leucotrienos e ácido 5-hidroxicicosatetraenóico (5-HETE). O diclofenaco pode também inibir a migração leucocitária para o sítio inflamatório (Todd & Sorkin, 1988; Ku *et al.*, 1985; Scholer *et al.*, 1986; Ku *et al.*, 1986). O diclofenaco também inibe a liberação de enzimas lisossomais de leucócitos polimorfonucleares (Todd & Sorkin, 1988; Scholer *et al.*, 1986; Ku *et al.*, 1986) e a produção de superóxidos (Todd & Sorkin, 1988; Perianin *et al.*, 1985; Friman *et al.*, 1986).

O efeito analgésico do diclofenaco parece resultar da inibição da síntese de prostaglandinas periférica e centralmente (Moncada *et al.*, 1985; Atkinson & Collier, 1980; Ferreira *et al.*, 1978).

Alguns pesquisadores sugeriram que o diclofenaco aumenta a liberação de endorfinas da pituitária, o que também contribuiria para o efeito analgésico da droga (Martini *et al.*, 1984; Sacerdote *et al.*, 1985). Entretanto, esses resultados conflitam com estudos da droga em animais, que sugerem que sua ação é principalmente no nível periférico (Scholer *et al.*, 1986). Além disso, o efeito antiinflamatório da droga contribui para sua ação analgésica (Moncada *et al.*, 1985; Ferreira *et al.*, 1978).

A administração do diclofenaco por tempo prolongado não induz a tolerância do efeito analgésico (Todd & Sorkin, 1988; Cardwell, 1986; Zucner, 1986; Ward, 1986; Abrahams *et al.*, 1978).

Embora o efeito antipirético dos AINEs não seja completamente conhecido, foi sugerido o envolvimento da inibição da síntese de prostaglandinas no SNC (Moncada *et al.*, 1985). Além disso, o diclofenaco alivia os sintomas relacionados com a dismenorréia primária, provavelmente por inibir a síntese/liberação de prostaglandinas (Ingemanson *et al.*, 1981; 1984).

A droga afeta também as funções renais (Geigy, 1988; Todd & Sorkin, 1988; Vandenburg *et al.*, 1984; Germain, 1985) e exibe efeito

antiproteinúrico em número limitado de pacientes com glomerulonefrite e função renal normal (Todd & Sorkin, 1988; Laurent *et al.*, 1987).

O mecanismo exato desta proteinúria diminuída ainda não é conhecido. A droga não possui efeitos uricosúrico quando administrada em dosagens usuais (Todd & Sorkin, 1988; Tiitinen *et al.*, 1983).

O diclofenaco causa danos à mucosa gástrica, resultando em ulceração e/ou hemorragia (Geigy, 1988; Todd & Sorkin, 1988; Menassé *et al.*; 1978; Raisford & Willis, 1982; Fowler, 1979; Osnes *et al.*, 1979). Tem sido sugerido que a inibição da prostaglandina- $E_2$  e da prostaciclina (citoprotetoras da mucosa gástrica) seria responsável pelos efeitos gástricos observados (Moncada *et al.*, 1985; Robinson, 1983; Koch-Weser, 1980; Raisford & Willis, 1982; Kobayashi *et al.*, 1985).

O diclofenaco, à semelhança de outros AINEs, inibe a agregação plaquetária e prolonga o tempo de sangramento (Todd & Sorkin, 1988; Fowler, 1979; Rorarius *et al.*, 1985; Djaldetti *et al.*, 1982; Jobin & Gagnon, 1971), efeitos estes também associados à inibição da síntese de prostaglandinas (Geigy, 1988; Oates *et al.*, 1988). Em indivíduos saudáveis, a droga não afetou substancialmente a agregação plaquetária induzida por colágeno, aferida através de contagem de plaquetas e tempo de protrombina (Todd & Sorkin, 1988).

O diclofenaco de potássio é um novo sal do diclofenaco, bem absorvido por via oral e cerca de 50% da dose administrada atinge a circulação devido ao efeito da primeira passagem hepática (Todd & Sorkin, 1988). A droga possui alta ligação com as proteínas plasmáticas (99,7%), sendo a maior parte com a albumina (Riess *et al.*; 1978). A droga é eliminada após metabolismo hepático, com excreção pela bile e pelas vias urinárias na forma de glicuronídeos e sulfatos conjugados, tendo meia-vida de eliminação de 2,0 horas (Willis *et al.*, 1979).

A farmacocinética do diclofenaco pode ser interpretada através de um modelo tricompartmental, onde as concentrações plasmáticas declinam de maneira trifásica (Willis *et al.*, 1979; 1980). O diclofenaco passa por extensiva hidroxilação e subsequente conjugação com o ácido glicurônico, o amido taurínico, o ácido sulfúrico, e outros ligantes biogênicos (Geigy, 1988; Riess *et al.*, 1978; John, 1979; Fowler *et al.*, 1983; Stierlin *et al.*, 1979).

A meia-vida do diclofenaco (administração endovenosa) em indivíduos saudáveis é de cerca de 3 minutos na primeira fase de distribuição, 16 minutos na fase intermediária (re-distribuição) e 1-2 horas na fase terminal (eliminação) (Willis *et al.*, 1979; Willis *et al.*, 1980). A meia-vida de eliminação da droga em indivíduos saudáveis ou com artrite reumatóide que utilizam a droga por via oral (comprimidos) é de cerca de 1,2 - 2 horas (Reynolds, 1989; Willis *et al.*, 1979; Kendall *et al.*, 1979; Crook *et al.*, 1982).

O diclofenaco é extensiva e rapidamente metabolizado no fígado (Geigy, 1988; Todd & Sorkin, 1988; Riess *et al.*, 1978; John, 1979; Stierlin *et al.*, 1979). Com administração oral ou IV, o diclofenaco é excretado na urina (50-70%) e nas fezes (30-35%) em 96 horas, sendo somente uma mínima parte excretada como tal (1%) (Geigy, 1988; Todd & Sorkin, 1988; Riess *et al.*, 1978; Willis *et al.*, 1981; Willis & Kendall, 1978; Stierlin *et al.*, 1979).

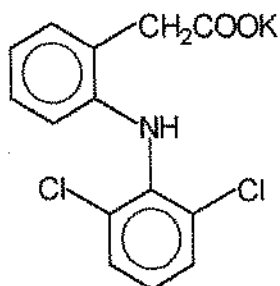
Seu principal metabólito é o 4-hidróxi derivado, resultado da hidroxilação do anel aromático e é 30 vezes menos ativo que o composto de origem (Menasse *et al.*, 1978)

O diclofenaco também pode passar por hidroxilação do anel fenilacético e subsequente conjugação para formar conjugados de 5'-hidroxiclofenaco e 4',5'-dihidroxiclofenaco (Geigy, 1988; Riess *et al.*, 1978; John, 1979; Fowler *et al.*, 1983; Stierlin *et al.*, 1979).

A conjugação com o ácido glucurônico e a taurina ocorre usualmente no grupo carboxil do anel fenilacético, enquanto a conjugação com o ácido sulfúrico ocorre principalmente no grupo 4'-hidroxil do anel aromático diclorofenil (Stierlin *et al.*, 1979). Não se sabe se o metabolismo do diclofenaco está sob controle poligênico (Geigy, 1988).

O diclofenaco de potássio é um ácido fraco, com pKa de 4,0, e tem coeficiente de partição de 13,4 (n-octano/tampão pH 7,4).

**Química:** O diclofenaco de potássio (P.M=334,2) é definido como : [o-[(2,6-diclorofenil) amino] fenil acetato de potássio  $[C_{14}H_{10}Cl_2NKO_2]$ . É um pó amarelo ou bege, que se funde a 290°C, sendo muito solúvel em metanol, solúvel em etanol, ácido acético e água, pouco solúvel em acetona e praticamente insolúvel em clorofórmio e NaOH 1N.



A experiência clínica do emprego desta droga, nos últimos vinte anos, através do uso de comprimidos revestidos do sal sódico do diclofenaco (**Voltaren<sup>®</sup>**), mostra que esta é a forma farmacêutica de maior uso (Todd & Sorkin, 1988).

Para garantir seu uso seguro, sua dissolução e, conseqüentemente seu efeito analgésico, o diclofenaco de potássio foi formulado em duas apresentações orais: drágeas e suspensão (Verstraeten & Bakshi, 1991; Novoa-Heckel, 1984). A nova apresentação em forma de suspensão tem

como anti-inflamatório, porque seus efeitos são similares ao do **Voltaren**<sup>®</sup> (Verstraeten & Bakshi, 1991; Moran, 1990; Bahamonde & Saavedra, 1990).

## CAPÍTULO III

### CASUÍSTICA, MATERIAIS E MÉTODOS

#### 1 - CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS

Deverá ser selecionados após entrevista e exames clínicos pré-estudo dezoito voluntários sadios do sexo masculino, com idades entre 18 e 40 anos, com peso corporal entre 55 e 95kg e dentro de 15% do peso corporal ideal, sendo prestadas informações e esclarecimentos sobre o referido estudo. A seguir, todos voluntários deverão assinar termo de consentimento para o estudo, sendo o protocolo clínico aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

Na avaliação clínica dos voluntários deverá ser constatado que os mesmos não apresentam sinais ou sintomas de doenças cardíacas, hepáticas, renais, pulmonares, neurológicas, hematológicas, gastrintestinais nem psíquicas. Também apresentam normalidade para os seguintes exames complementares de diagnóstico: glicemia, creatinina, uréia, TGO, TGP, fosfatase alcalina, gamaGT, colinesterase, bilirrubina total, proteínas totais, albumina, ácido úrico, sódio, potássio, cloreto, hemoglobina, hematócrito, contagem total e diferencial de células brancas, velocidade de sedimentação eritrocitária, exame de urina e proctoparasitológico.

Serão excluídos do estudo voluntários que:

- a- tenham participado de estudos semelhantes a este nos últimos 3 meses;
- b- tenham realizado tratamento com medicamentos regulares nas últimas 4 semanas;
- c- referem história de abuso de álcool ou drogas;
- d- bebam regularmente mais que 4 unidades de álcool por dia (1 unidade corresponde a: 1/2 garrafa de cerveja/ 1 copo de vinho/ 1 dose de bebida destilada );
- e- tenham peso maior que 100kg ou estavam 15% acima do peso ideal, de acordo com a tabela do *Metropolitan Life Insurance*.
- f- fumam mais que 15 cigarros ao dia.

#### 2 - PROTOCOLO CLÍNICO

O estudo foi realizado seguindo um delineamento aleatório cruzado de dois períodos, com intervalo de duas semanas entre as doses.

Cada grupo de voluntários será hospitalizado por 32 horas na Unidade de Farmacologia Clínica, sendo admitido por volta das 23 horas do dia anterior ao início do estudo, após um jantar padrão(dieta geral),

do dia anterior ao início do estudo, após um jantar padrão(dieta geral), permanecendo internado por 24 horas após a administração do medicamento para coleta das amostras de sangue para o estudo.

Após a noite de jejum, às 6 horas, será administrado o medicamento em estudo, de acordo com a lista de randomização apropriada. A seguir, cada voluntário tomará 200ml de água. Após 3,0 horas da administração do medicamento, cada voluntário tomará mais 200ml de água.

Seis horas após a administração do medicamento será servido um almoço padrão(dieta geral) e seis horas mais tarde um jantar padrão. Após o almoço, cada voluntário poderá tomar líquidos à vontade, desde que não contenham xantinas, ou seja, café, chás, coca.

Amostras de sangue para análise serão coletadas imediatamente antes da administração do medicamento e 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0, 4,0, 6,0, 8,0, 10,0, 12,0, e 24,0 horas após a administração do medicamento. Serão coletados 10,0ml de sangue em cada amostra, através de "butterfly," e colocado em tubo de ensaio, sem conservantes ou anticoagulantes, e perfeitamente identificados com as iniciais do nome do voluntário, seu número no estudo e o tempo após a administração.

Após a coleta, as amostras permanecerão à temperatura ambiente até a coagulação, quando serão centrifugadas a 2.000g por dez minutos. Os soros separados em tubos de plástico, identificados e serão armazenados em câmara fria a -20°C, até serem analisados.

### 3 - METODOLOGIA DE ANÁLISE DO DICLOFENACO

A concentração sérica de diclofenaco de potássio foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa (H.P.L.C.), com detecção no ultra-violeta, tendo como metodologia básica a descrita por Santos e cols. 1992, com introdução de algumas alterações visando melhorar a obtenção dos cromatogramas, sem a presença de interferentes na faixa de obtenção dos picos de interesse.

A principal alteração foi a introdução de uma lavagem da fase orgânica, após extração, com acetato de amônio( solução saturada diluída 1:10 em água bidestilada), além do uso de um novo padrão interno(indometacina), conforme se segue:

- 500µl de amostra de soro + 580ng de indometacina + 200µl ácido fosfórico 5%
- homogeinização
- extração com 4,0ml de diclorometano(agitação no vortex por 1min.)
- centrifugação a 2.000g por 10min.



- separação da fase orgânica e lavagem com 200µl de acetato de amônio solução saturada diluída 1:10 (agitação no vortex por 1min.)
- centrifugação a 2.000g por 5min.
- separação da fase orgânica e evaporação sob fluxo de nitrogênio a 45°C
- ressuspensão do resíduo em 100µl de acetonitrila
- injeção de 20µl no cromatógrafo

#### 4 - CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

A fase móvel usada foi constituída de ácido acético 0,1 molar e acetonitrila (60/40v/v) com pH ajustado para 5,6 com hidróxido de sódio 3,0 molar, bombeada a 2,3ml/min., através da coluna (*Lichrosorb 5 rp 18, 250 X 4.6mm, Phenomenex, CA, USA*), à temperatura ambiente. Os picos cromatográficos foram monitorizados pela absorbância no UV a 276nm e sensibilidade de 0.005 AUFS.

O sistema cromatográfico foi composto de bomba Constametric 3000 (*Milton Roy, USA*) acoplada ao VWM 2141 detector UV oscilatório (*Pharmacia-LKB, Uppsala, Sweden*). Os sinais foram obtidos no Bryans 28000 registrador gráfico (*Bryans Southern Instruments, Great Britain*).

A quantidade de diclofenaco é obtida pela razão das alturas dos picos do diclofenaco sob a altura do padrão interno (indometacina), em função das concentrações.

O limite de sensibilidade nas condições de estudo foi de 10ng para o diclofenaco de potássio. (*signal/noise ratio=3*)

A curva de calibração foi linear no intervalo de 10ng/ml a 2.000 ng/ml, com coeficiente de regressão  $\geq 0,999$  e intercepto não significativamente diferente de zero.

O coeficiente de variação no inter-ensaio (CV) foi de 21,2; 12,5; 7,7 e 7,6 % para concentrações de diclofenaco de 66; 117; 218; 581; 1.142ng/ml, respectivamente (n=12) para cada concentração.

O coeficiente de variação no intra-ensaio, foi de 8,2; 3,8; 3,9; 2,0 e 1,9 % para concentrações de diclofenaco de 56; 102; 209; 506 e 1.033ng/ml, respectivamente (n=6) para cada concentração.

#### 5 - MATERIAIS

O diclofenaco de potássio e a indometacina grau padrão para H.P.L.C. foram fornecidos por *Sigma Chemical Co (St Louis, USA)*. ácido acético P.A., acetato de amônio, diclorometano grau padrão para H.P.L.C., hidróxido de sódio P.A., ácido fosfórico P.A. e acetonitrila grau padrão para H.P.L.C. foram adquiridos da *Merck (RJ, Brasil)*.

S.A. *Indústrias Químicas (RJ, Brasil)*, e a formulação de referência foi o **Cataflam® Suspensão** (lote número 52.3902; **CAT**), que é o nome comercial do diclofenaco de potássio da *Ciba-Geigy (SP, Brasil)*.

A formulação teste de diclofenaco de potássio comprimidos (**Flogan® Comprimidos** 50mg, lote número 06 piloto, número 33322, **FLO**) foi fornecida pela *Merck S.A. Indústrias Químicas (RJ, Brasil)*, e a formulação de referência foi o **Cataflam® comprimidos** 50mg (lote número 55.5706; **CAT.**), que é o nome comercial do diclofenaco de potássio da *Ciba-Geigy (SP, Brasil)*.

## 6 - ANÁLISES FARMACOCINÉTICA E ESTATÍSTICA

A concentração sérica máxima observada ( $C_{máx}$ ) e o tempo em que a mesma aparece ( $T_{máx}$ ) foram obtidos pela curva dada pela concentração da droga *versus* tempo. A quantidade de diclofenaco é obtida pelo cálculo da área sob a curva da concentração *versus* tempo de 0 a 24 horas, usando o método trapezoidal de cálculo de áreas. A média da constante de eliminação de primeira ordem ( $K_e$ ) foi estimada a partir da equação de regressão linear entre o logaritmo da concentração (foram selecionadas aquelas que descreviam uma fase terminal de decaimento linear) e o tempo. A estimativa da meia-vida ( $T_{1/2}$ ) foi derivada a partir desta constante de eliminação ( $\ln_2/K_e$ ).

Os resultados de  $C_{máx}$  e  $AUC_{[0-24]}$  e as razões individuais entre as formulações foram analisados estatisticamente usando testes paramétricos (teste de ANOVA para uma via) e não paramétricos (teste de WILCOXON; Hauschke *et al.*, 1990).

Foram usados os seguintes softwares:

*Bioequivalence Program For Two-Period Cross-Over Studies, Version 3.4, January 29, 1990 by Herman P. Wijnan, Holanda.*

*SIPHAR- An Integrated computer system for pharmacokinetic data, by SIMED, França.*

*Lotus 123*

*Havad Graphics*

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS

#### 1. DICLOFENACO DE POTÁSSIO SUSPENSÃO

##### 1.1 - SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS

Dezoito voluntários do sexo masculino com idades entre 21 a 47 anos (média de  $29,4 \pm 6,3$ ) e peso corporal entre 55 a 95 kg (média:  $75,5 \pm 10,1$ ), foram selecionados para este estudo após entrevista, exames clínicos, esclarecimentos e assinatura de termo de consentimento para a realização do estudo.

##### 1.2 - DOSE ADMINISTRADA

Conforme protocolo clínico, após noite de jejum, às 6 horas, foram administrados 7,0ml do medicamento em estudo, equivalentes a 105mg da droga, através de seringa de 10ml, de acordo com lista de randomização apropriada (**Anexo I**),

##### 1.3 - RESULTADOS

O estudo ocorreu dentro da normalidade prevista, não sendo observado efeito adverso nos voluntários que participaram, demonstrando que o diclofenaco de potássio em suspensão é bem tolerado na dose administrada.

Pelos resultados dos exames clínicos realizados, antes e após o estudo, não foram observadas alterações que merecessem destaque, já que se encontravam dentro dos parâmetros de normalidade.

A **figura 1** mostra o cromatograma obtido e a **Figura 2** a curva das concentrações plasmáticas médias de diclofenaco vs tempo, dos voluntários em questão, após administração de dose única de 105mg das suspensões.

A **Tabela I** mostra os parâmetros farmacocinéticos para a curva das concentrações plasmáticas médias vs tempo.

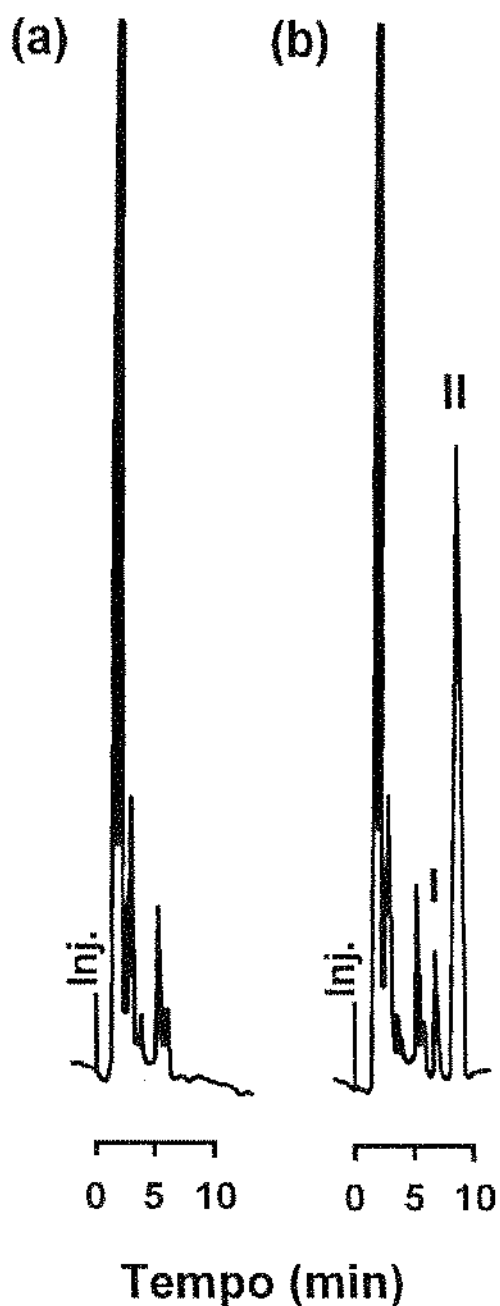
Os parâmetros farmacocinéticos médios derivados da concentração sérica *versus* tempo são apresentados na **Tabela II**

Neste estudo, o tempo de retenção foi de  $7.0 \pm 0.3$  minutos para diclofenaco e de  $9.4 \pm 0.3$  minutos para o padrão interno (indometacina). Pode-se observar também que não apareceram picos de substâncias

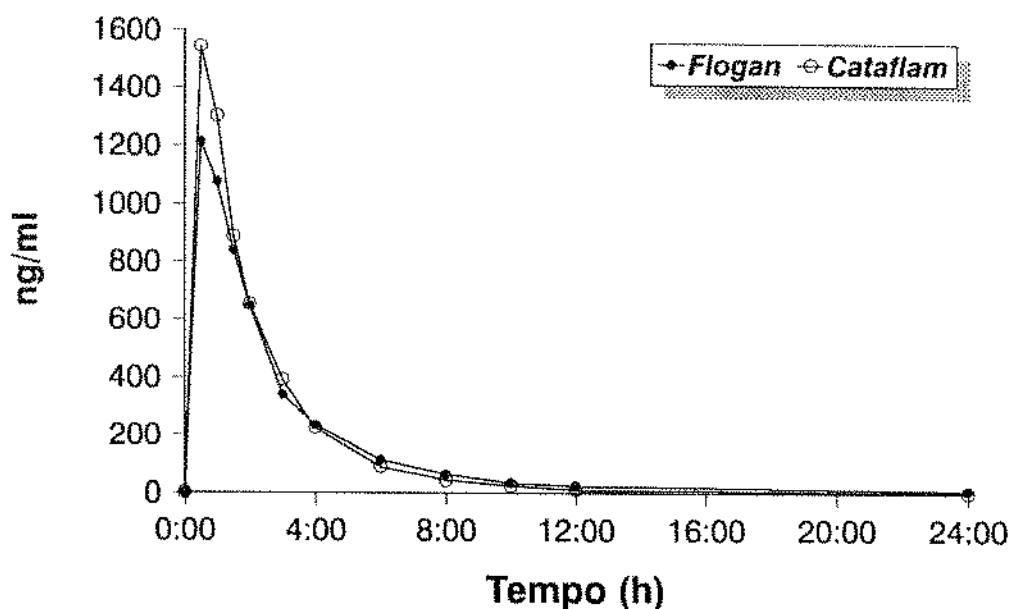
endógenas que pudessem interferir no tempo de retenção da droga em estudo ou padrão interno.

As maiores concentrações séricas foram obtidas no tempo de 0,5 horas após administração e as menores próximo das 24 horas, tanto para o **Flogan**<sup>®</sup> como para o **Cataflam**<sup>®</sup>.

A média geométrica para  $AUC_{[0-24]}$  e  $C_{máx.}$  entre as duas formulações de diclofenaco de potássio em suspensão são mostradas na **Tabela III**, Já sua inclusão no intervalo de 0,8 - 1,25 para as diferentes formulações testadas, conforme as exigências de bioequivalência, são observadas na análise estatística(**Tabela IV**)



**Figura 1.-** Cromatograma de HPLC, (a): plasma branco mostra ausência de picos de retenção no tempo dos compostos de interesse; (b): plasma colhido após quatro horas da administração de 105 mg de diclofenaco de potássio. A concentração medida nesta amostra foi de 197 ng/ml. Pico I diclofenaco; pico II: indometacina (padrão interno).



**Figura 2:** Curva das concentrações plasmáticas médias de diclofenaco de potássio vs tempo obtida após administração de uma dose única de 105mg de cada formulação de suspensão( legenda: círculos cheios=FLO e círculos vazios= CAT) (n=18)

**Tabela I:** Parâmetros farmacocinéticos para a curva das concentrações plasmáticas médias vs tempo para suspensão

	Flogon	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> (ng/ml*h) [média aritmét. (DP)]	3388 (1070)	3494 (953)
C <sub>máx</sub> (ng/ml) [ média aritmét. (DP)]	1374 (469)	1759 (804)
T <sub>máx</sub> (h) [média(inter. variação)]	0,5 (0,5-2)	0,5 (0,5-2)

**Tabela II:** Média das concentrações plasmáticas vs tempo e desvio padrão(D.P.) para diclofenaco de potássio suspensão (n=18)

a.

	<b>FLOGAN MERCK</b>	
<b>TEMPO (h)</b>	<b>MÉDIA (ng/ml)</b>	<b>D.P.</b>
0	n.d.	n.d.
0.5	1213	582
1	1076	471
1.5	840	294
2	647	213
3	339	135
4	234	146
6	113	66
8	63	38
10	34	31
12	25	24
24	10	17

b.

	<b>CATAFLAM CIBA-GEIGY</b>	
<b>TEMPO (h)</b>	<b>MÉDIA (ng/ml)</b>	<b>D.P.</b>
0	n.d.	n.d.
0.5	1543	982
1	1302	608
1.5	888	312
2	653	333
3	391	175
4	224	106
6	89	40
8	43	36
10	25	23
12	12	19
24	2	9

**TABELA III:** Média dos valores de  $AUC_{(0-\infty)}$ ,  $C_{máx}$ ,  $K_e$ ,  $T_{1/2}$ , e  $T_{máx}$ , obtidos após administração de 105mg das duas formulações de diclofenaco de potássio suspensão (Flogan<sup>®</sup> e Cataflam<sup>®</sup>) em dezoito voluntários sadios

	FLOGAN	CATAFLAM
<b><math>AUC_{10-24h}</math> (<math>ng\ h\ ml^{-1}</math>)</b>		
Média geom.	3.230	3.387
90% I.C.	2.832 - 3.684	3.058- 3751
<b><math>C_{máx}</math> (<math>ng/ml</math>)</b>		
Média geom.	1.308	1.595
90% I.C.	1.150 - 1.488	1.321 - 1924
<b><math>K_e</math> (<math>h^{-1}</math>)</b>		
Média geom.	0,335	0,397
90% I.C.	0,299 - 0,376	0,348 - 0,453
<b><math>T_{1/2}</math> (h)</b>		
Média geom.	2,06	1,74
90% I.C.	1,84 - 2,31	1,53 - 1,99
<b><math>T_{máx}</math> (h)</b>		
Mediana	0,5	0,5
Intervalo de variação	0,5 - 2,0	0,5 - 2,0

\*I.C.= intervalo de confiança



**TABELA IV:** Análise estatística das razões individuais de  $AUC_{[0-24]}$ ,  $C_{máx}$ ,  $K_e$ ,  $T_{1/2}$  e diferença de  $T_{máx}$  entre suspensão de Flogan<sup>®</sup>(FLO) e Cataflam<sup>®</sup>(CAT).

FLO/CAT	PARAMÉTRICA		NÃO PARAMÉTRICA ♣	
	Média Geom.	90% IC	Ponto estimado	90% IC
<b>AUC<sub>[0-24]</sub></b>				
% Razões	95,4	89,8 - 110,2	94,0	85,4 - 104,7
<b>C<sub>máx</sub></b>				
% Razões	82,0	73,9 - 126,0	80,9	70,8 - 96,9
<b>K<sub>e</sub></b>				
% Razões	82,1	74,4 - 90,4	83,5	71,7-92,5
<b>T<sub>1/2</sub></b>				
%Razões	121,8	110,5 -134,2	120,0	108,0 -139,4
<b>T<sub>máx</sub>(h)</b>				
(Diferença)	-0,08	-0,32 - 0,15**	0,0	-0,25 - 0,0

- Análise Paramétrica: ANOVA

\* Média Aritmética Individual das diferenças

\*\* Diferenças Individuais

♣De acordo com Hauschke et al.1990 e F.D.A. 1993

\* I.C.= Intervalo de confiança

## 2. DICLOFENACO DE POTÁSSIO COMPRIMIDOS

### 2.1- SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS

Dezoito voluntários do sexo masculino, com idades que variaram de 22 a 40 anos (média =  $30 \pm 6$ ), pesando entre 55 e 94kg (média =  $75,7 \pm 11,7$ ) e dentro de 15% do peso corporal ideal, foram selecionados para este estudo, após entrevista e exames clínicos pré-estudo.

### 2.2 - DOSE ADMINISTRADA

Conforme protocolo clínico, após noite de jejum, às 6 horas, foram administrados 2 comprimidos de diclofenaco de potássio (equivalente a 100mg), segundo lista de randomização apropriada (**Anexo II**).

### 2.3 - RESULTADOS

O diclofenaco de potássio comprimido foi bem tolerado na dose administrada, não sendo relatados efeitos colaterais ou reações adversas pelos voluntários durante o estudo.

A **Figura 3** mostra a média das concentrações séricas do diclofenaco em função do tempo, após a administração oral do diclofenaco comprimidos.

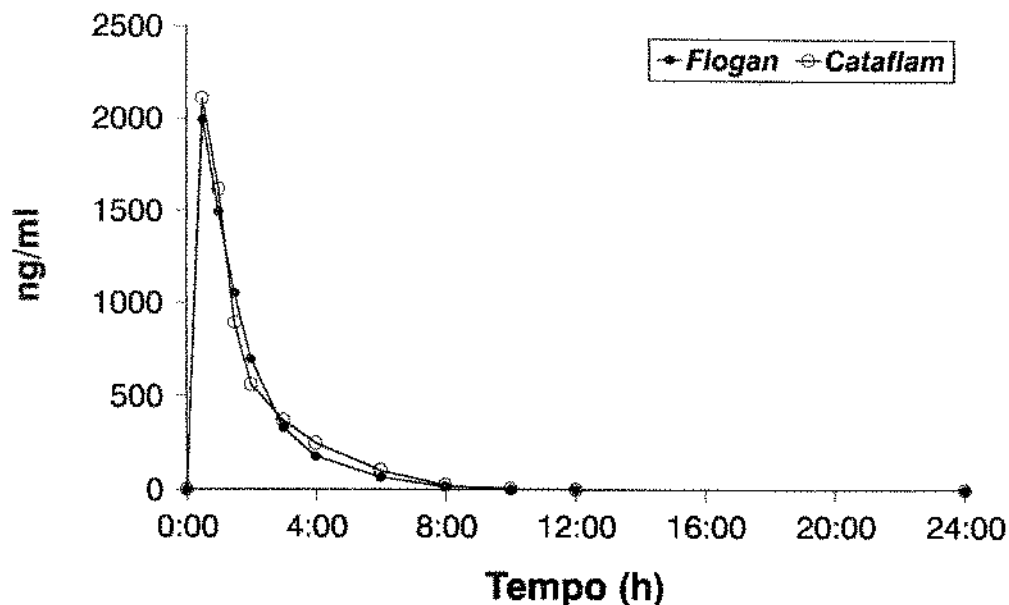
Os parâmetros farmacocinéticos para curva da média das concentrações plasmática vs tempo são mostrados na **Tabelas V**.

As médias das concentrações plasmáticas vs tempo são mostradas na **Tabela VI**

As médias dos valores de  $AUC_{[0-24]}$ ,  $C_{m\acute{a}x}$ ,  $K_e$ ,  $T_{1/2}$  e  $T_{m\acute{a}x}$  estão na **Tabela VII**

A análise estatística das razões individuais para  $AUC_{[0-24]}$ ,  $C_{m\acute{a}x}$ ,  $K_e$  e  $T_{1/2}$  e a diferença de  $T_{m\acute{a}x}$  entre Flogan<sup>®</sup> e Cataflam<sup>®</sup> comprimidos estão na **Tabella VIII**, bem como as análises para inclusão dentro do intervalo de 0,8 -1,25 para diferentes testes.

Os tempos de retenção, a linearidade da curva, coeficiente de variação de inter-ensaio e intra-ensaio são os mesmos do estudo da suspensão.(ver cap.\_III)



**Figura 3:** Curva da concentração plasmática média de diclofenaco de potássio comprimidos vs tempo obtida após administração de uma dose única de 100mg de cada formulação.(círculos cheios=FLO; círculos vazios= CAT ) (n=18)

**Tabela V:** Parâmetros farmacocinéticos para curva da concentração plasmática média vs tempo para comprimidos

	Flogon	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> (ng/ml*h) [média aritmét. (DP)]	3576 (825)	3758 (1165)
C <sub>máx</sub> (ng/ml) [ média aritmét. (DP)]	2304 (815)	2696 (1587)
T <sub>máx</sub> (h) [média(inter. variação)]	0,75 (0,5-2)	0,5 (0,5-3)

**Tabela VI:** Média das concentrações vs tempo e desvio padrão(DP)para comprimidos de diclofenaco de potássio (n=18)

a.

<b>FLOGAN MERCK</b>		
<b>TEMPO (h)</b>	<b>MÉDIA (ng/ml)</b>	<b>D.P.</b>
0	n.d.	n.d.
0.5	1992	1131
1	1492	540
1.5	1048	489
2	696	407
3	329	179
4	176	133
6	67	39
8	20	29
10	5	14
12	2	7
24	n.d.	n.d.

b.

<b>CATAFLAM CIBA-GEIGY</b>		
<b>TEMPO (h)</b>	<b>MÉDIA (ng/ml)</b>	<b>D.P.</b>
0	n.d.	n.d.
0.5	2107	1937
1	1616	801
1.5	889	403
2	560	236
3	369	241
4	247	240
6	103	96
8	26	39
10	7	18
12	2	9
24	n.d.	n.d.

**TABELA VII:** Média dos valores de  $AUC_{[0-24]}$ ,  $C_{m\acute{a}x}$ ,  $K_e$ ,  $T_{1/2}$ , e  $T_{m\acute{a}x}$ . obtidos após administração de 100mg das duas formulações de diclofenaco de potássio comprimidos (Flogan<sup>®</sup> e Cataflam<sup>®</sup>). em dezoito voluntários sadios

	FLOGAN	CATAFLAM
<b><math>AUC_{[0-24]}</math> (<math>ng\ h\ ml^{-1}</math>)</b>		
Média geom.	3.486	3.596
90% I.C.	3.157 - 3.849	3.160 - 4.092
<b><math>C_{m\acute{a}x}</math> (<math>ng/ml</math>)</b>		
Média geom.	2.152	2.289
90% I.C.	1.819 - 2.547	1.780 - 2.945
<b><math>K_e</math> (<math>h^{-1}</math>)</b>		
Média geom.	0,45	0,46
90% I.C.	0,37 - 0,55	0,38 - 0,55
<b><math>T_{1/2}</math> (<math>h</math>)</b>		
Média geom.	1,5	1,5
90% I.C.	1,3 - 1,9	1,2 - 1,8
<b><math>T_{m\acute{a}x}</math> (<math>h</math>)</b>		
Mediana	0,75	0,75
Intervalo de variação	0,5 - 2,0	0,5 - 3,0

\* I.C. = Intervalo de confiança

**TABELA VIII:** Análise estatística das razões individuais de  $AUC_{[0-24]}$ ,  $C_{máx}$ ,  $K_e$ ,  $T_{1/2}$  e diferença entre comprimidos, de Flogan<sup>®</sup> (FLO) e Cataflam<sup>®</sup> (CAT).

FLO/CAT	PARAMÉTRICA		NÃO PARAMÉTRICA ♣	
	Média Geom.	90% IC	Ponto estimado	90% IC
<b>AUC<sub>[0-24]</sub></b>				
% Razões	97,0	88,2 - 106,6	96,2	88,9 - 107,6
<b>C<sub>máx</sub></b>				
% Razões	94,0	67,2 - 131,5	90,6	64,3 - 135,6
<b>K<sub>e</sub></b>				
% Razões	97,2	71,4 - 132,3	93,1	69,6 - 135,6
<b>T<sub>1/2</sub></b>				
% Razões	109,4	82,6 - 145,0	110,2	88,8 - 150,6
<b>T<sub>máx</sub>(h)</b> (Diferença)	-0,14*	-0,56 - 0,28**	0,0	-0,25 - 0,25

- Análise Paramétrica: ANOVA

\* Média Aritmética Individual das diferenças

\*\* Diferenças Individuais

♣ De acordo com Hauschke et al. 1990 e F.D.A. 1993

\* I.C. = Intervalo de confiança

## CAPÍTULO V

### DISCUSSÃO

A metodologia de H.P.L.C. utilizada neste estudo foi similar à descrita por Santos *et al.*, 1992, com a introdução de uma lavagem na fase orgânica com acetato de amônio (solução saturada diluída 1:10 em água bidestilada), após procedimentos de extração já descritos.

Este procedimento teve como objetivo produzir cromatogramas sem interferentes que pudessem ter os mesmos tempos de retenção do diclofenaco ou padrão interno (indometacina). Observou-se, ainda, que a lavagem da fase orgânica com acetato de amônio não interferiu na porcentagem de recuperação do diclofenaco e padrão interno (92%), que foi testado pela injeção do sobrenadante contendo o acetato de amônio, não tendo sido detectado diclofenaco nem padrão interno, comprovando assim a importância de tal procedimento sem alterar a exatidão do método.

A metodologia proposta permite a dosagem em série de várias amostras, sendo possível dosar todas as amostras de dois pacientes (duas fases) num mesmo dia, com a mesma curva padrão. Isto também pode ser benéfico, visto que o coeficiente intra-ensaio mostrou-se menor que o inter-ensaio.

Apesar da metodologia proposta incluir mais um procedimento de lavagem, isto não altera significativamente o tempo de análise, já que tal procedimento é realizado enquanto se processa a corrida cromatográfica. Se comparado com a metodologia proposta por Santos e cols. observamos que naquela o tempo de centrifugação da amostra é de 20min., além de uma filtração através de filtro Millipore demandando maior tempo e custo. Assim, o custo de mais um reagente na nossa metodologia é compensada pela não necessidade de filtração e obtenção de cromatogramas isento de picos interferentes na faixa de interesse.

O método também permite boa sensibilidade (10ng/ml) e amplitude (até 2.000ng/ml), com curva de calibração linear e coeficiente de regressão  $\geq 0,999$  e intercepto não diferente de zero. Estes dados mostram que se trata de um método seguro, eficaz, rápido e de boa reprodutibilidade, possibilitando trabalhar com pequenas amostras de soro, 500 $\mu$ l, sem grandes consumos de reagente e sem desgaste da coluna.

Como descrito anteriormente, a bioequivalência, segundo a F.D.A., é estabelecida pela comparação da velocidade e da extensão da absorção

de uma droga, após administração extra-vascular, as quais poderão ser evidenciadas pela determinação da concentração da droga em diferentes humores orgânicos como: sangue, urina, saliva, líquido sinovial ou cefalorraquidiano, esperma, leite materno, etc.

A F.D.A. também tem colocado como parâmetros limites para razões de AUC, os valores entre 0,8 e 1,25 para que as formulações testadas sejam consideradas bioequivalentes (F.D.A., 1985). Neste estudo, observamos que tanto no teste estatístico paramétrico, que leva em consideração algum tipo de distribuição populacional (ANOVA), como no não paramétrico, que independe do tipo de distribuição (Wilcoxon)(Hauschke. *et al.*,1990), as formulações testadas são bioequivalentes, pois as razões FLO/CAT para  $AUC_{[0-24]}$  estão no intervalo de 0,8 - 1,25 para média a geométrica, para intervalo de confiança de 90%, assegurando portanto a bioequivalência das formulações testada (**Flogan<sup>®</sup>**), tanto suspensão como comprimidos(**Tabelas IV e VIII**).

Quando consideramos o  $C_{máx.}$  torna-se complicado afirmar se a formulação teste é bioequivalente, pois este valor pode ter sido alcançado nos intervalos de tempo entre as coletas de sangue (e não no seu  $T_{máx.}$ ). No nosso caso, se considerarmos médias das razões do  $C_{máx.}$  da formulação teste em relação à referência, tanto da suspensão como do comprimido, os dados estão de acordo com os requeridos para serem bioequivalentes (**Tabelas IV e VIII**), visto estarem dentro do intervalo de 0,8 - 1,25, porém fora dos limites superiores e inferiores.

Observa-se também nos comprimidos, que a média geométrica de  $C_{máx.}$  do **Cataflam<sup>®</sup>** continua sendo maior que a do **Flogan<sup>®</sup>** (**Tabela VII**), do mesmo modo que para a suspensão(**Tabela III**).

Em relação ao  $T_{máx.}$  de 0,75 com mediana entre 0,5 - 2,0 horas para os comprimidos, os resultados são ligeiramente diferentes dos encontrados por Todd & Sorkin, 1988(1,5 - 2,5hs para os comprimidos). Já os resultados da suspensão(  $T_{máx.}$  0,5 - 2,0 horas com mediana de 0,5 hora) estão dentro da expectativa em relação aos comprimidos, pois estes requerem processo de solubilização e dissolução antes de serem absorvidos, conforme descrito por Sayed. *et al.*, 1988 e Hassan. *et al.*, 1991, estando este tempo em torno de 45 minutos, quando testado em tampão fosfato pH 6.8, semelhante ao do suco entérico.

Quanto às constantes de eliminação ( $K_e$ ), os tempos estimados para as duas formulações estão bem próximos, assim como o tempo de meia-vida ( $T_{1/2}$ ), tanto para a suspensão(**Tabelas III e IV**) como para os comprimidos.(**Tabelas VII e VIII**).

Devemos ainda ressaltar os fatores descritos no início desta dissertação como interferentes na biodisponibilidade e, por conseguinte,



na bioequivalência quando analisamos individualmente cada gráfico de concentração *versus* tempo de cada voluntário (**Capítulo VII**), nos quais percebermos grandes variações, estando de acordo com Hauck & Anderson, 1992; Anderson, 1992; Sauter & Steinijan, 1992 e Flor *et al.*, 1993.

Sabemos também que as suspensões são formulações instáveis farmacotecnicamente, devendo-se ter cuidado com seus adjuvantes e excipientes, particularmente com o agente suspensor do princípio ativo, para garantir sua homogeneidade quando da administração. Nas formulações em estudo, parece-nos que tais fatores foram contemplados, tanto na manufatura quanto na administração (agitação antes da tomada), pois poderiam ser fatores determinantes para uma não bioequivalência (Prista, 1991).

Também deve ser considerado os fatores já mencionados que interferem na biodisponibilidade (fisiológicos, físico-químicos, farmacotécnicos e farmacodinâmicos), principalmente tratando-se de comprimidos que na sua fabricação requerem processos de granulação compressão e revestimento com número de adjuvantes e excipientes maiores do que os das soluções e suspensões.

Embora não seja possível comparar os estudos diferentes realizados para suspensão e para comprimidos, é interessante notar que, administrando-se praticamente as mesmas doses (100mg no comprimido e 105mg na suspensão), as  $AUC_{[0-24]}$  e o  $C_{máx}$  dos comprimidos são maiores do que os da suspensão. Isto vem reforçar ainda mais a necessidade de estudos de bioequivalência de diferentes formas farmacêuticas, pois estes resultados nos permite especular a importância dos fatores interferentes na biodisponibilidade e consequentemente na bioequivalência.

Deve-se, também, ressaltar que o desenvolvimento e/ou aperfeiçoamento de metodologias de análise, de drogas nos diferentes humores orgânico vem contribuir de forma decisiva na melhoria do controle de qualidade dos medicamentos, dando segurança aos clínicos para o uso racional dos medicamentos, mesmo quando do uso dos genéricos.

Destaca-se, ainda, a crescente necessidade de formação de técnicos qualificados para realização deste estudos e a criação de centros que possam atender esta demanda com segurança e isenção, melhorando consequentemente as condições sanitária do país.

## CAPÍTULO VI

### CONCLUSÕES

Em relação a metodologia utilizada neste estudo podemos considera-la como de fácil execução, de custo intermediário e de boa sensibilidade, pois permite detecção de diclofenaco no plasma na faixa de 10ng/ml até 2.000ng/ml.

Pela observação dos parâmetros médios farmacocinéticos na análise estatística (**Tabela IV e VIII**) destaca-se que as razões FLO/CAT para  $AUC_{[0-24]}$  estão dentro do intervalo de 0,8 - 1,25 para a média geométrica, para intervalos de confiança de 90 %, tanto no teste paramétrico como no não paramétrico, assegurando assim a bioequivalência da formulação testada (**Flogan<sup>®</sup>**).

Considerando os resultados obtidos para os lotes usados nos ensaios , podemos concluir que as formulações testadas de **Flogan<sup>®</sup>** são bioequivalentes às formulações de referência **Cataflam<sup>®</sup>**, tanto para suspensões quanto para os comprimidos, conforme exigências da F.D.A.1985.

## **CAPÍTULO VII**

### **ANEXOS E CURVAS INDIVIDUAIS**

## ANEXO I

## 1. LISTA DE RANDOMIZAÇÃO - SUSPENSÃO

Vol. nº.	Seqüência de Administração	
	Período I	Período II
I	<b>Flogan</b>	Cataflam
II	<b>Flogan</b>	Cataflam
III	<b>Flogan</b>	Cataflam
IV	Cataflam	<b>Flogan</b>
V	Cataflam	<b>Flogan</b>
VI	<b>Flogan</b>	Cataflam
VII	Cataflam	<b>Flogan</b>
VIII	Cataflam	<b>Flogan</b>
IX	<b>Flogan</b>	Cataflam
X	Cataflam	<b>Flogan</b>
XI	<b>Flogan</b>	Cataflam
XII	Cataflam	<b>Flogan</b>
XIII	<b>Flogan</b>	Cataflam
XIV	<b>Flogan</b>	Cataflam
XV	<b>Flogan</b>	Cataflam
XVI	Cataflam	<b>Flogan</b>
XVII	Cataflam	<b>Flogan</b>
XVIII	Cataflam	<b>Flogan</b>

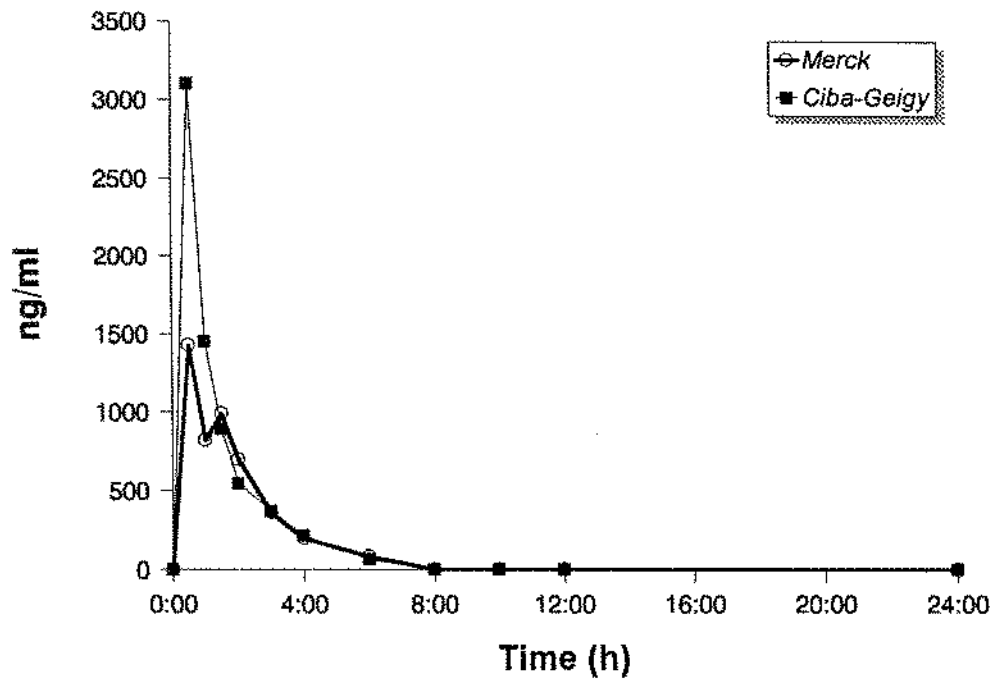
## ANEXO II

## 2. LISTA DE RANDOMIZAÇÃO - COMPRIMIDOS

Vol. nº.	Seqüência de Administração	
	Período I	Período II
I	<b>Flogan</b>	Cataflam
II	Cataflam	<b>Flogan</b>
III	Cataflam	<b>Flogan</b>
IV	Cataflam	<b>Flogan</b>
V	<b>Flogan</b>	Cataflam
VI	<b>Flogan</b>	Cataflam
VII	<b>Flogan</b>	Cataflam
VIII	Cataflam	<b>Flogan</b>
IX	<b>Flogan</b>	Cataflam
X	Cataflam	<b>Flogan</b>
XI	Cataflam	<b>Flogan</b>
XII	<b>Flogan</b>	Cataflam
XIII	Cataflam	<b>Flogan</b>
XIV	<b>Flogan</b>	Cataflam
XV	Cataflam	<b>Flogan</b>
XVI	Cataflam	<b>Flogan</b>
XVII	<b>Flogan</b>	Cataflam
XVIII	<b>Flogan</b>	Cataflam

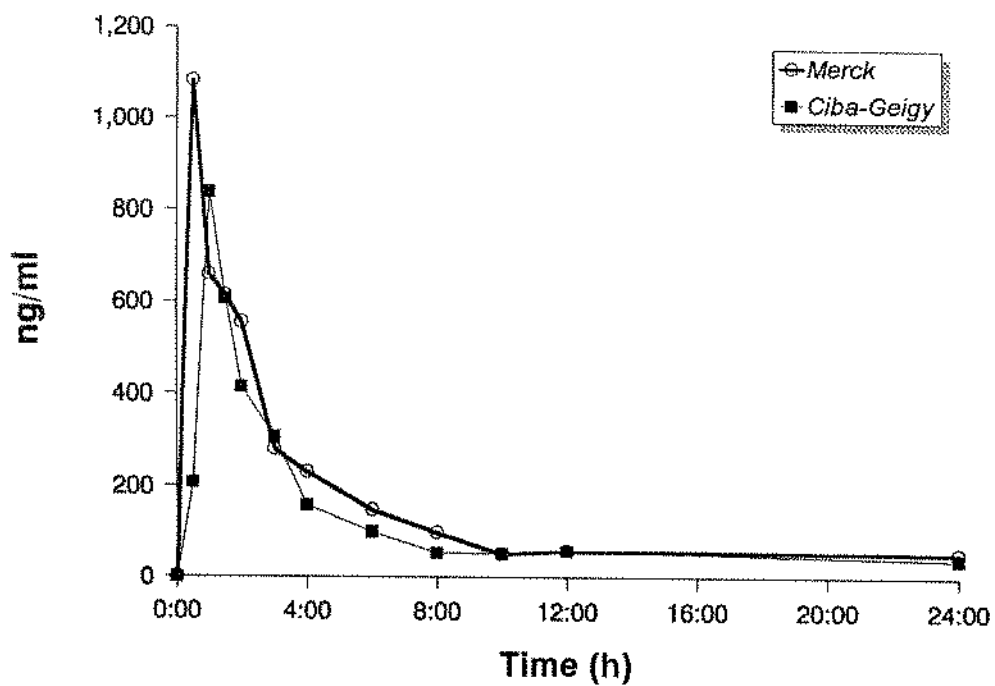
**3. RELAÇÃO DE CURVAS DE CONCENTRAÇÃO VS TEMPO DE CADA  
VOLUNTÁRIO PARA O DICLOFENACO SUSPENSÃO**

# Vol. I - A.A.S.



	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	2967	3968
C <sub>max</sub> ng/ml	1427	3101
T <sub>max</sub> h	0.5	0.5

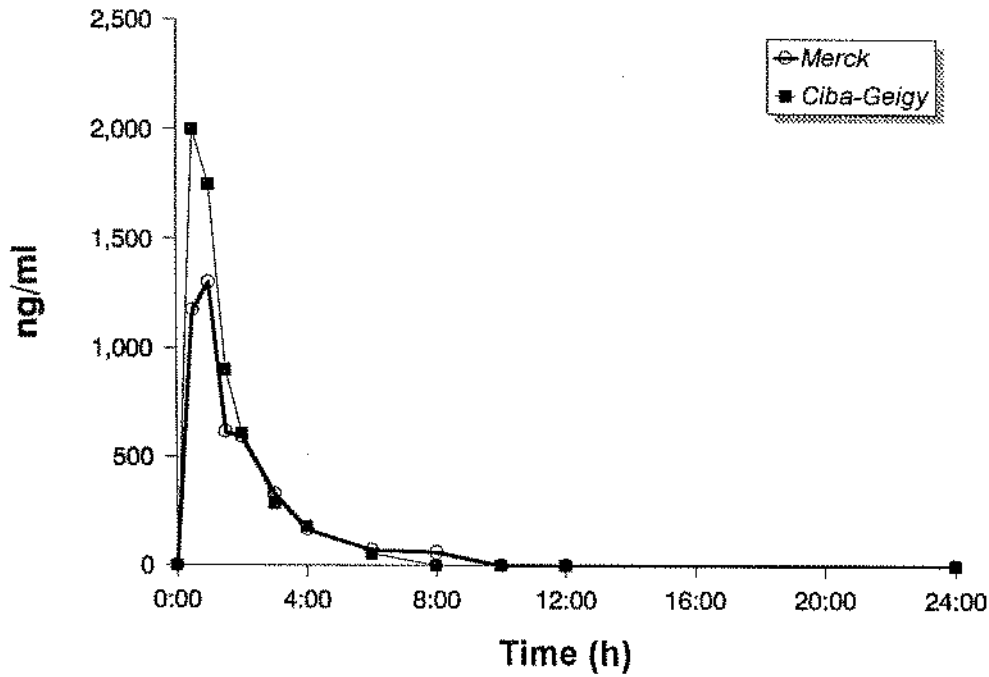
## Vol. II - D.R.R.



	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	3540	2739
C <sub>max</sub> ng/ml	1083	838
T <sub>max</sub> h	0.5	1

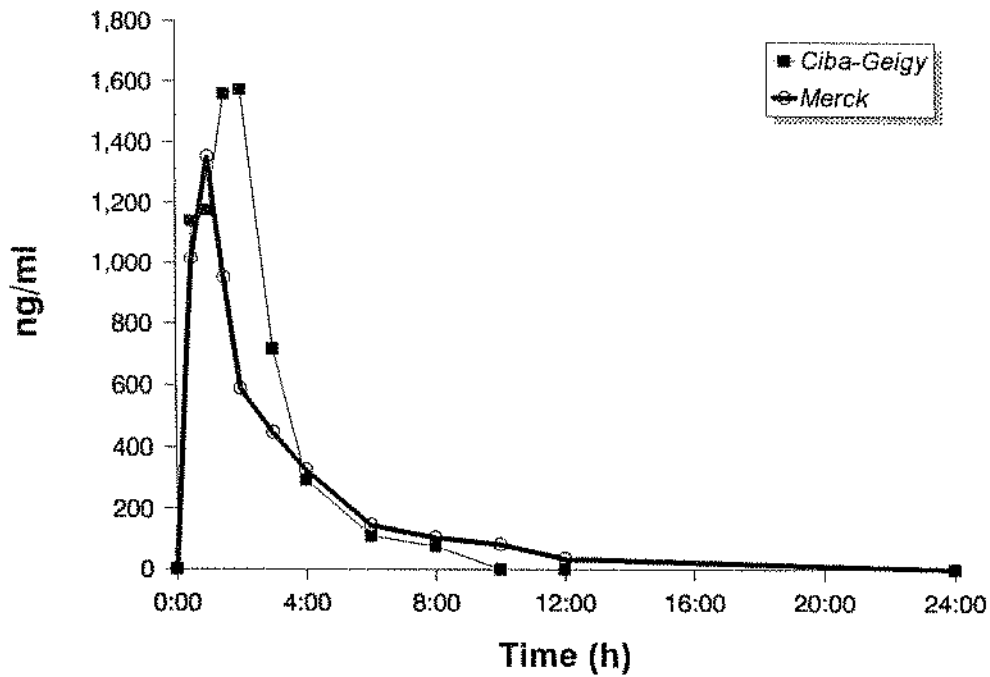


# Vol. III - V.P.S.



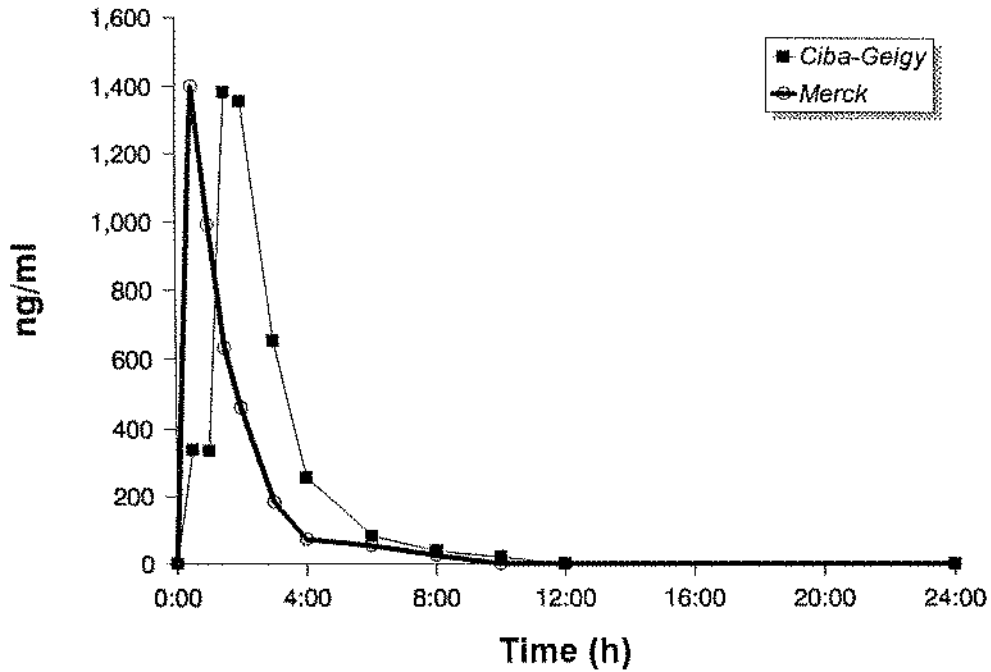
	Flogon	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	2811	3433
C <sub>max</sub> ng/ml	1298	2001
T <sub>max</sub> h	1	0.5

# Vol. IV - J.R.M.



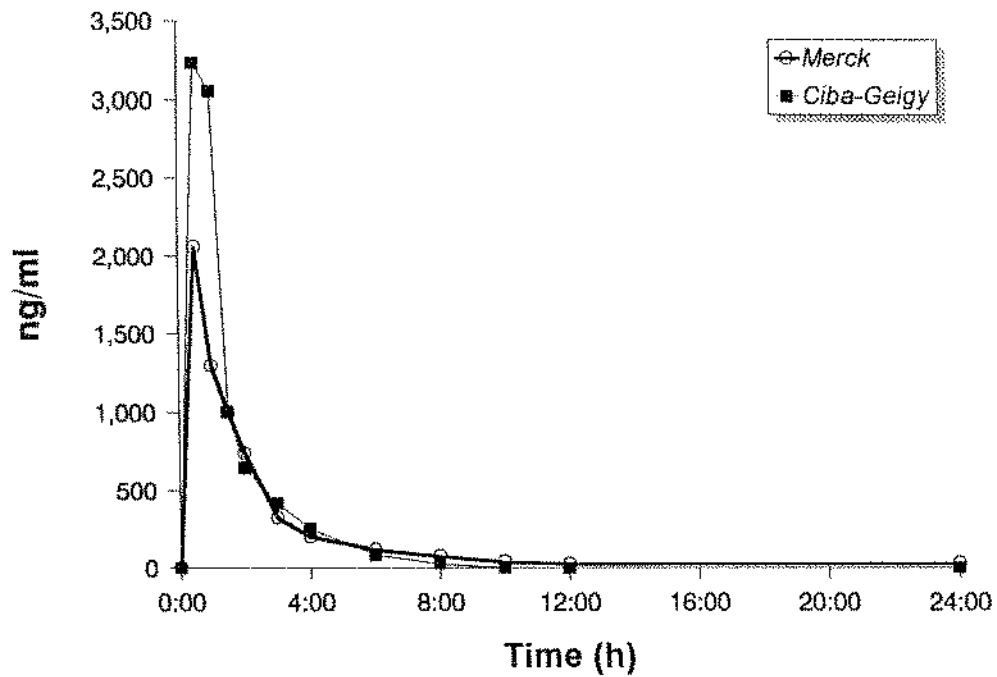
	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	3945	4647
C <sub>max</sub> ng/ml	1351	1574
T <sub>max</sub> h	1	2

## Vol. V - E.M.



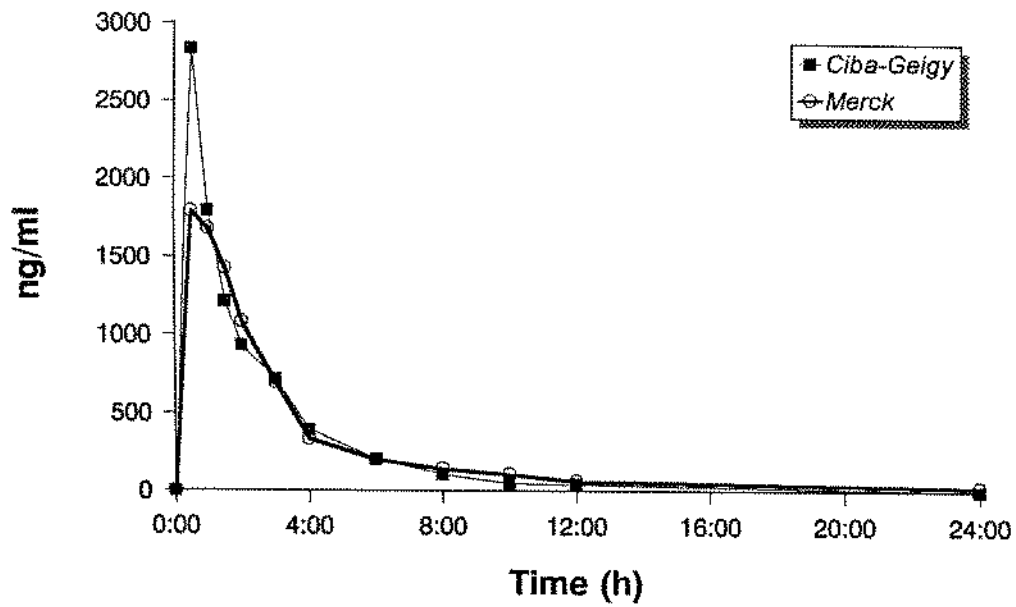
	Flogon	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	2301	3367
C <sub>max</sub> ng/ml	1399	1385
T <sub>max</sub> h	0.5	1.5

# Vol. VI - L.C.C.



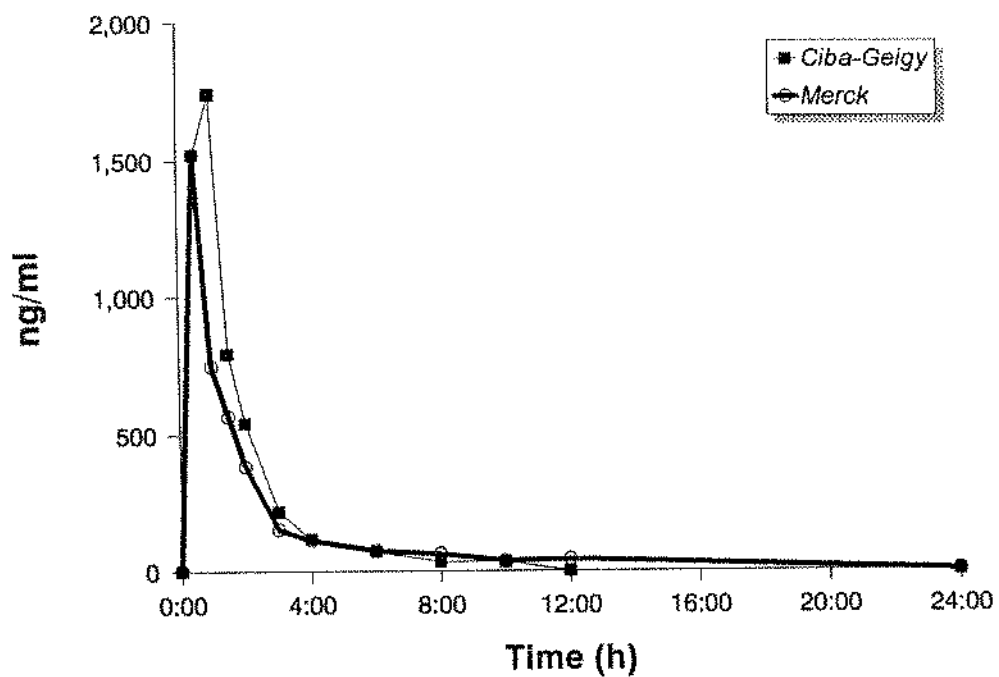
	Flogan	Cataflam
$AUC_{[0-24h]}$ ng/ml*h	4145	5137
$C_{max}$ ng/ml	2056	3233
$T_{max}$ h	0.5	0.5

# Vol. VII - J.M.P.



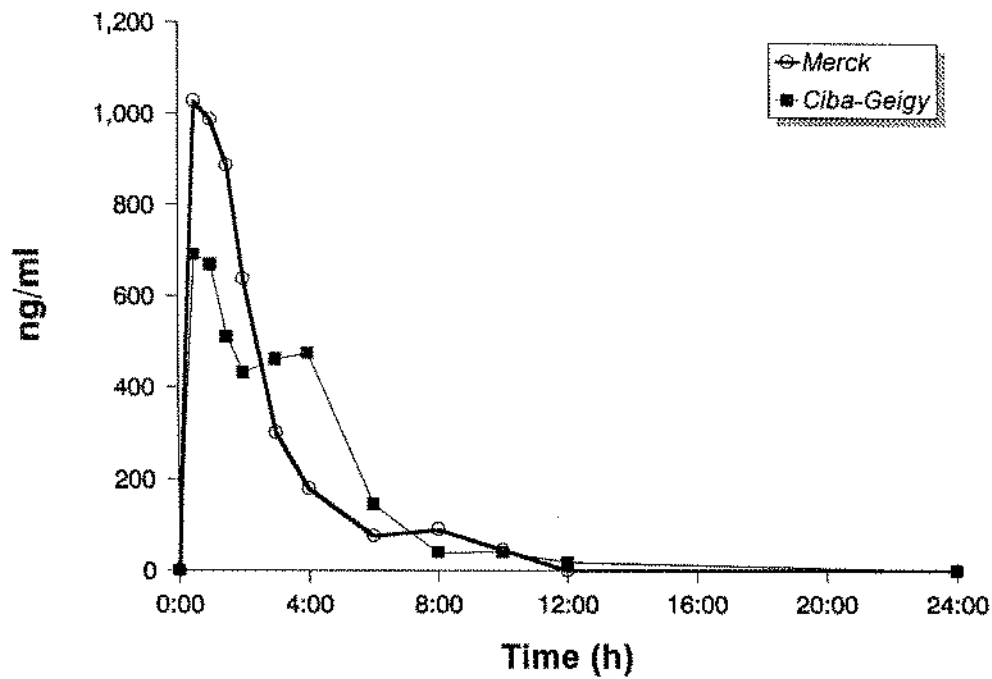
	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	5949	5959
C <sub>max</sub> ng/ml	1790	2838
T <sub>max</sub> h	0.5	0.5

# Vol. VIII - S.S.O.



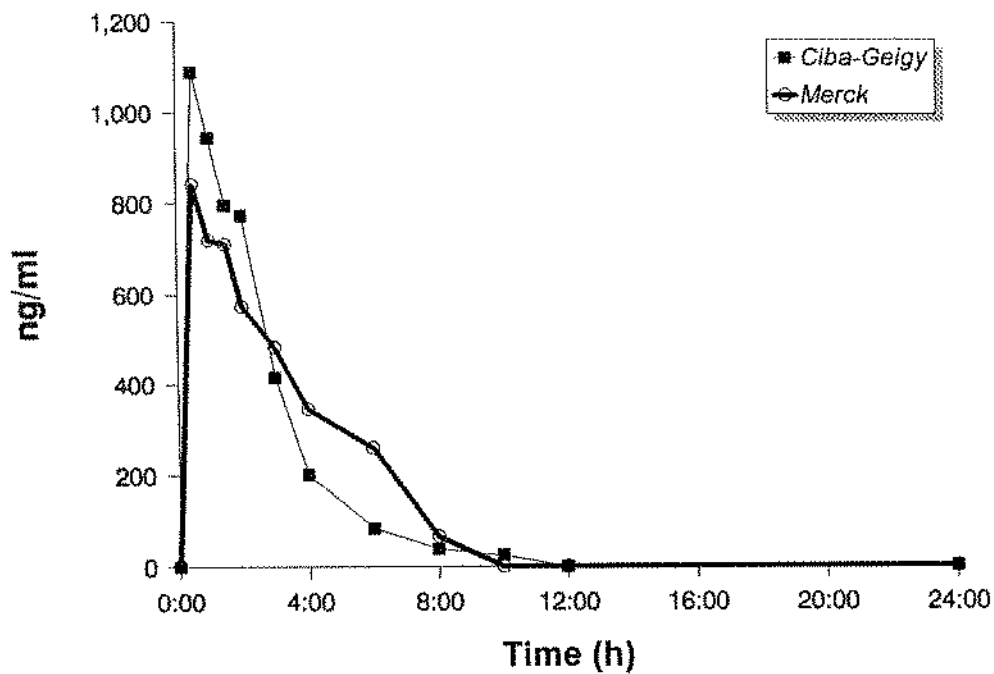
	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	2659	3104
C <sub>max</sub> ng/ml	1521	1744
T <sub>max</sub> h	0.5	1

# Vol. IX - E.L.M.



	Flogon	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	2927	3019
C <sub>max</sub> ng/ml	1028	691
T <sub>max</sub> h	0.5	0.5

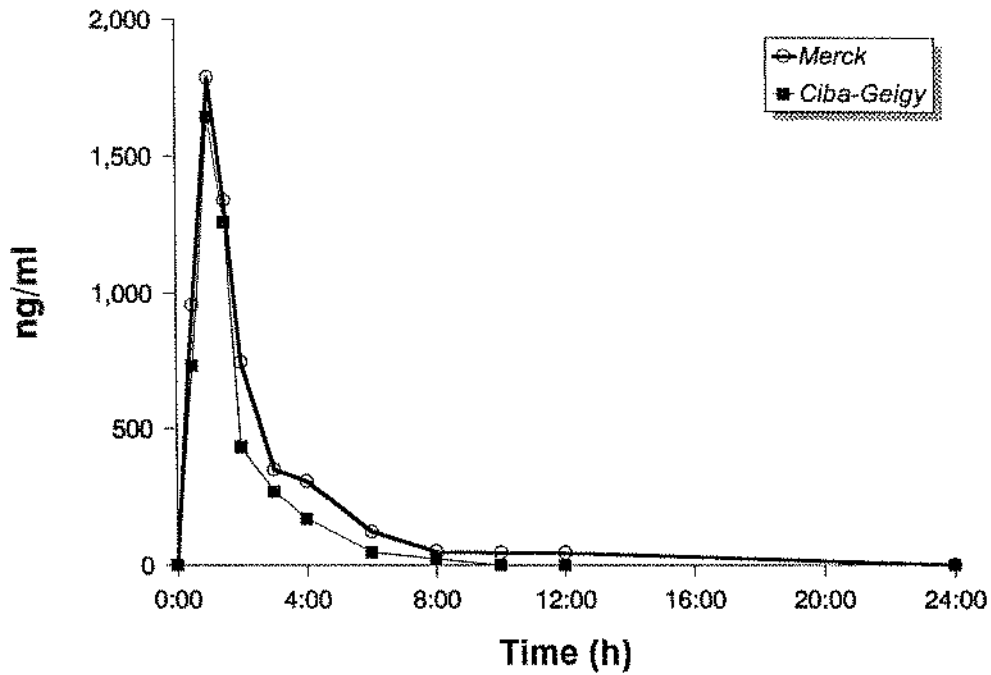
# VOL. X - J.D.B.



	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	3212	3003
C <sub>max</sub> ng/ml	841	1088
T <sub>max</sub> h	0.5	0.5

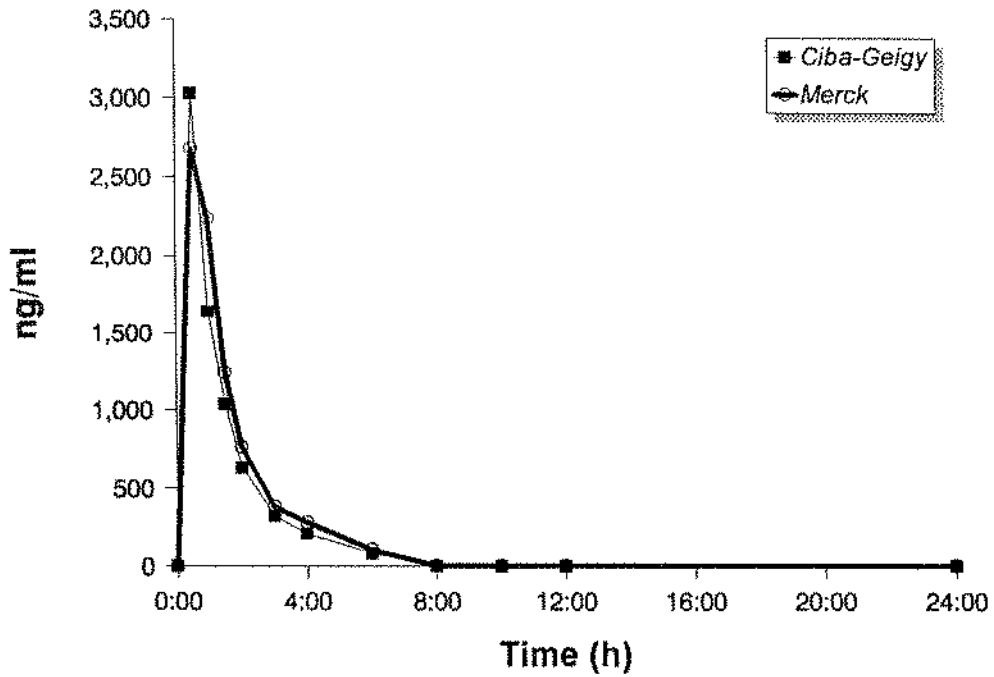


# Vol. XI - L.F.E.



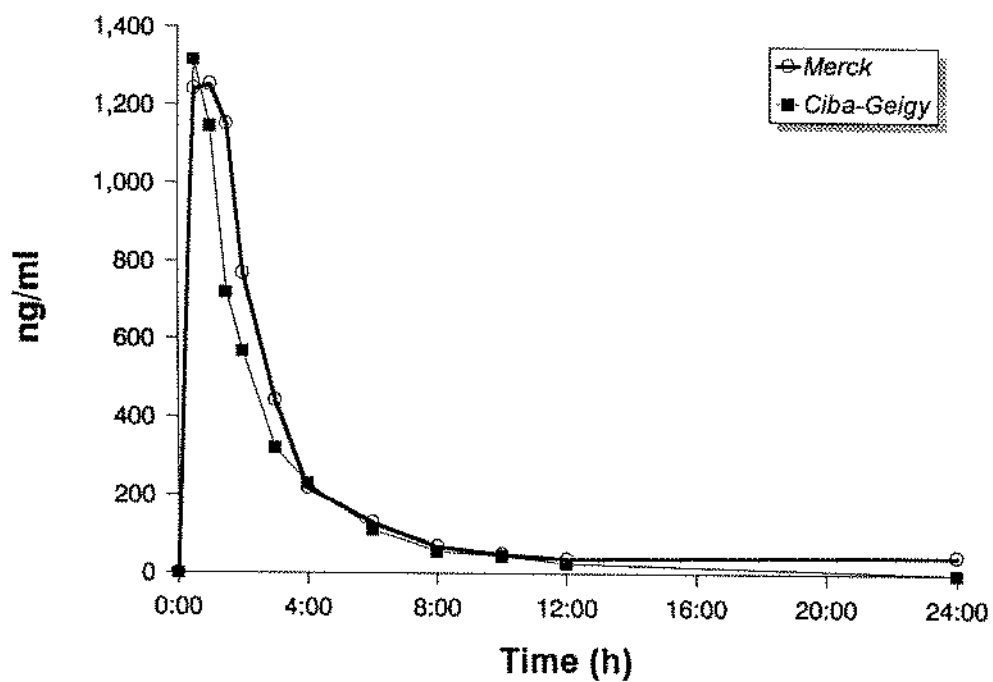
	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	4156	2804
C <sub>max</sub> ng/ml	1785	1641
T <sub>max</sub> h	1	1

# Vol. XII - A.R.



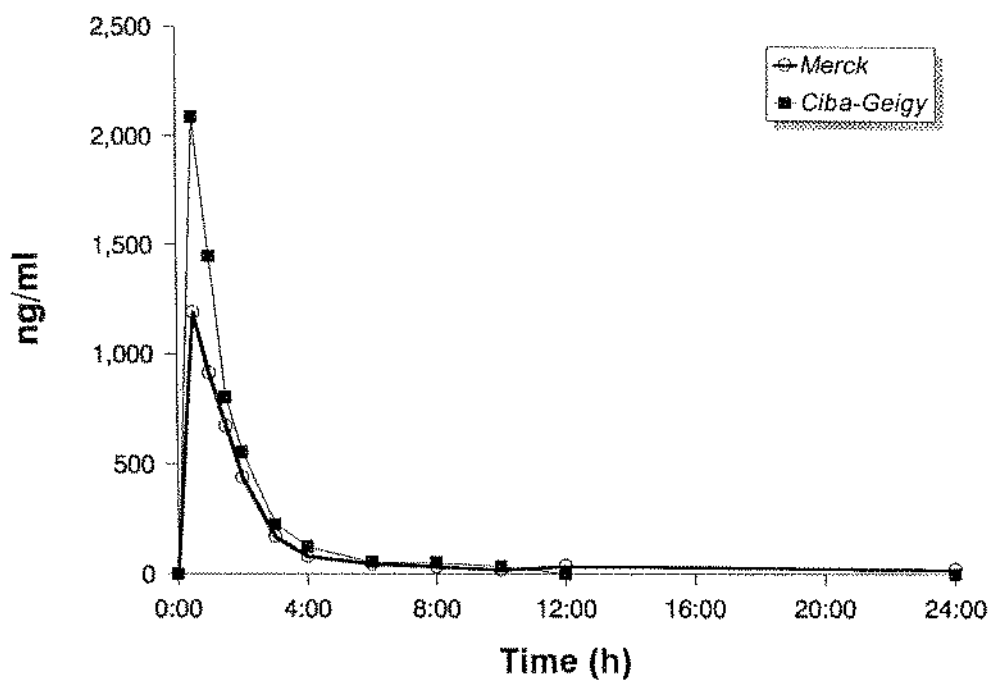
	Flogon	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	4648	4107
C <sub>max</sub> ng/ml	2677	3028
T <sub>max</sub> h	0.5	0.5

# Vol. XIII - W.F.M.



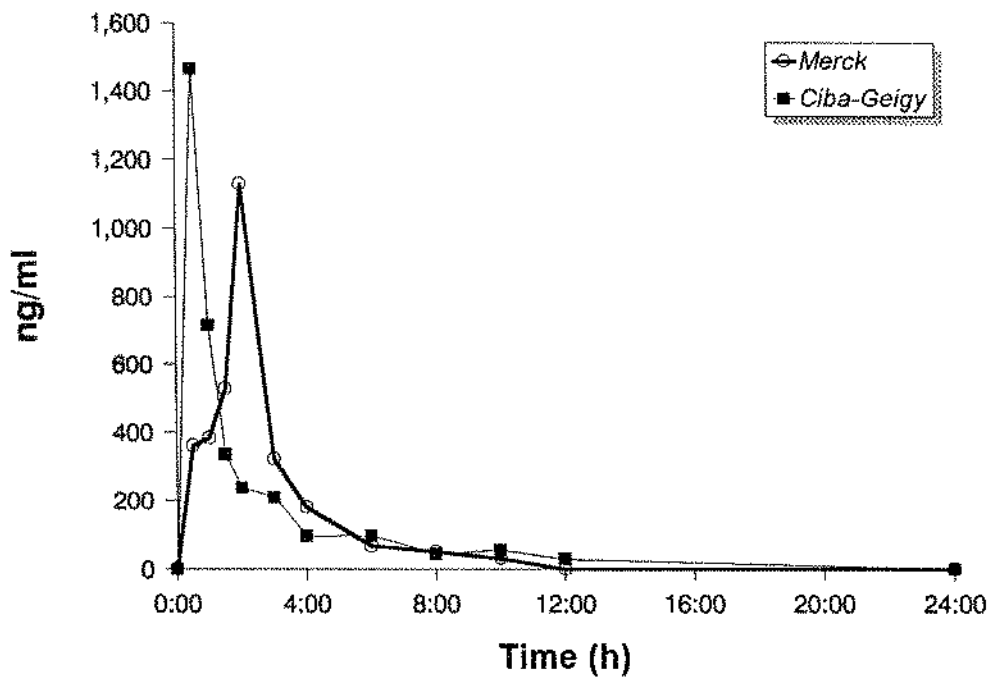
	Flogon	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	4212	3291
C <sub>max</sub> ng/ml	1251	1314
T <sub>max</sub> h	1	0.5

# Vol. XIV - H.N.S.



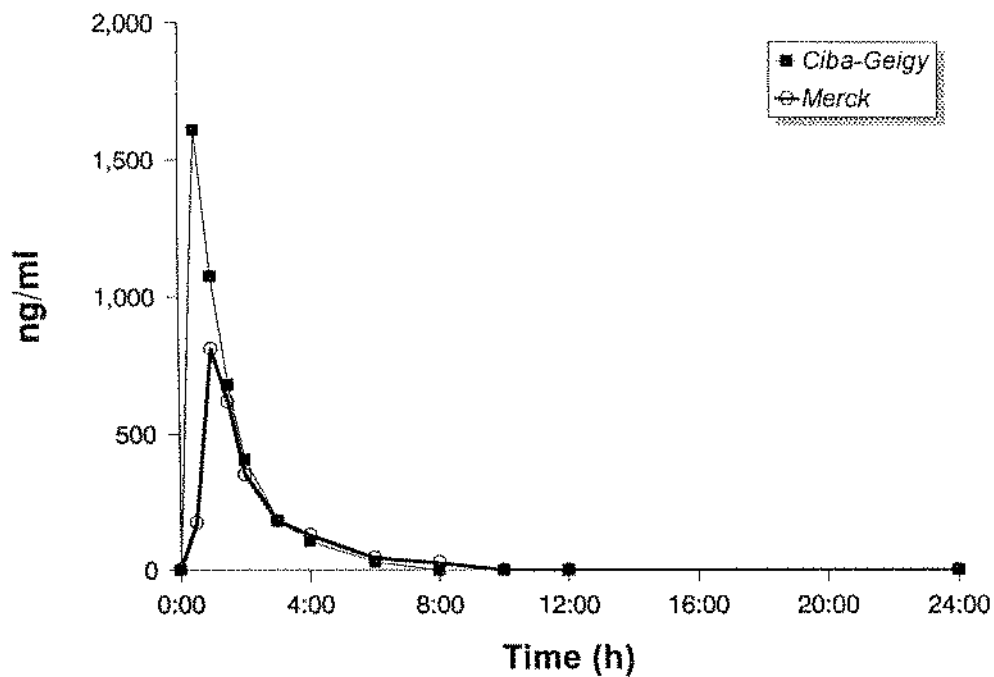
	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	2560	3279
C <sub>max</sub> ng/ml	1188	2085
T <sub>max</sub> h	0.5	0.5

# Vol. XV - J.I.F.



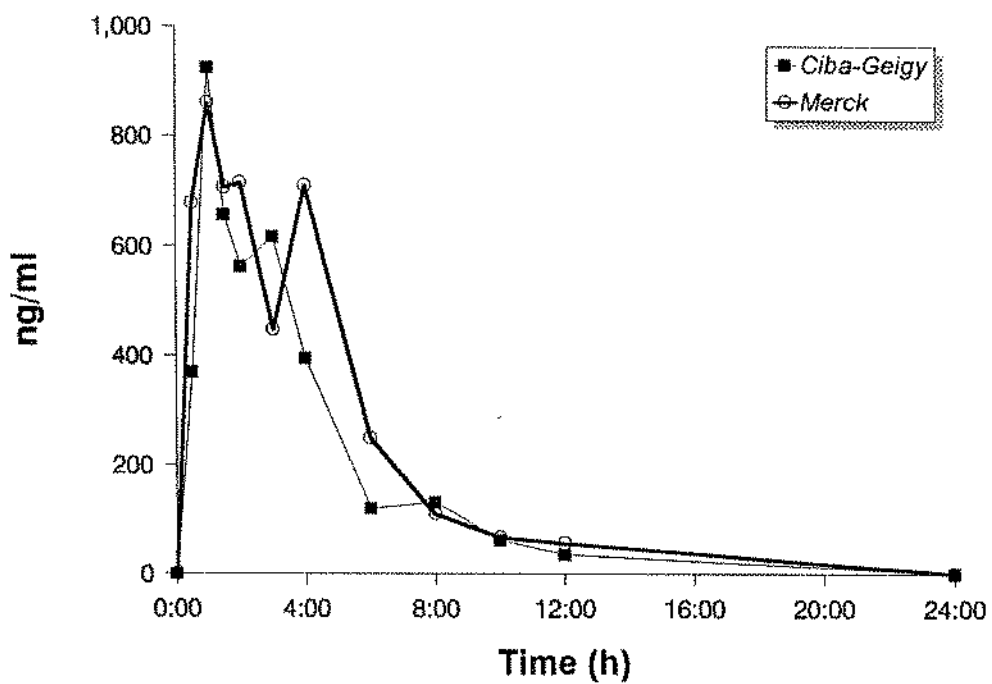
	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	2365	2390
C <sub>max</sub> ng/ml	1129	1466
T <sub>max</sub> h	2	0.5

# Vol. XVI - O.H.A.



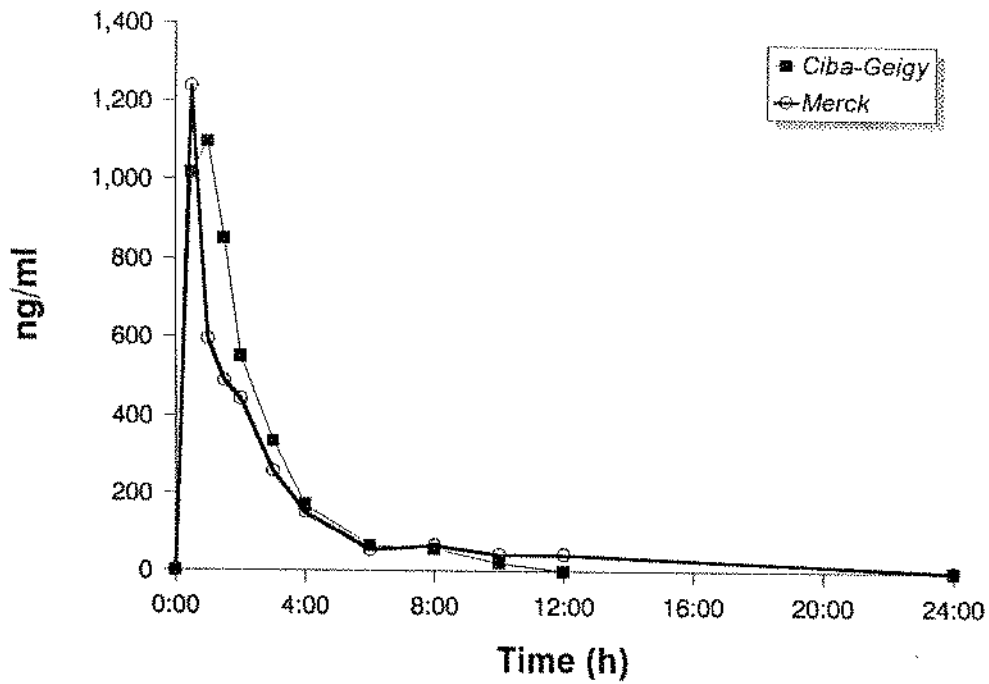
	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	1578	2391
C <sub>max</sub> ng/ml	807	1611
T <sub>max</sub> h	1	0.5

# Vol. XVII - E.S.M.



	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	4412	3480
C <sub>max</sub> ng/ml	860	925
T <sub>max</sub> h	1	1

# Vol. XVIII - J.F.P.

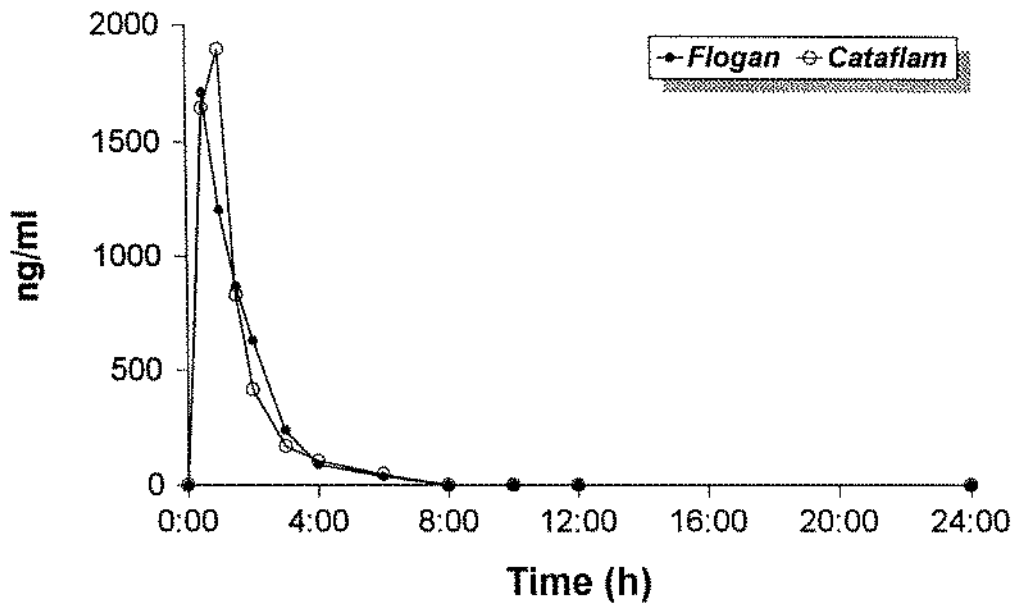


	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml·h	2591	2773
C <sub>max</sub> ng/ml	1238	1097
T <sub>max</sub> h	0.5	1



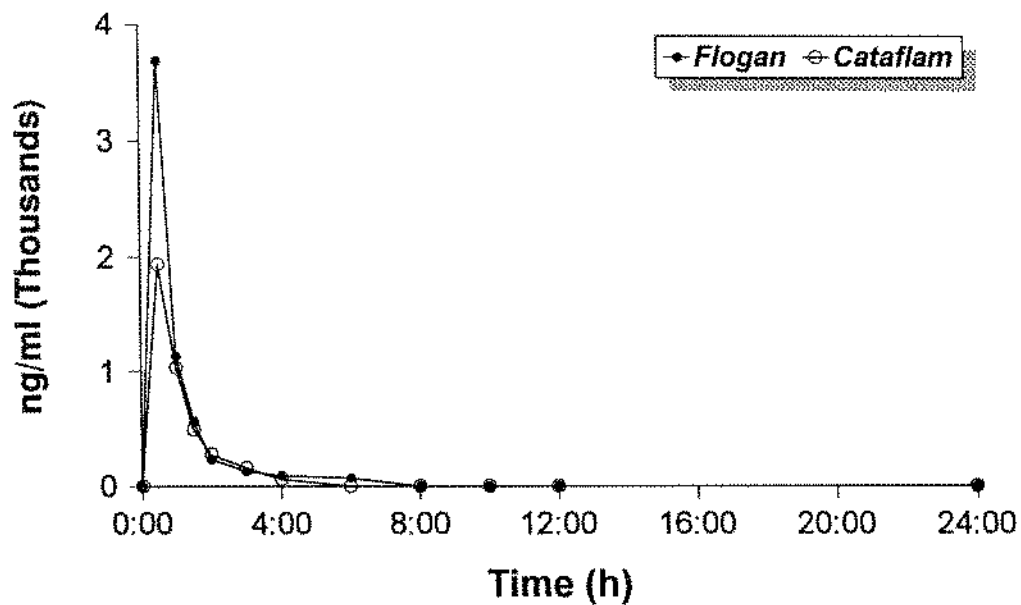
**4. RELAÇÃO DE CURVAS DE CONCENTRAÇÃO VS TEMPO DE CADA  
VOLUNTÁRIO PARA O DICLOFENACO COMPRIMIDOS**

# Vol. I - ABR



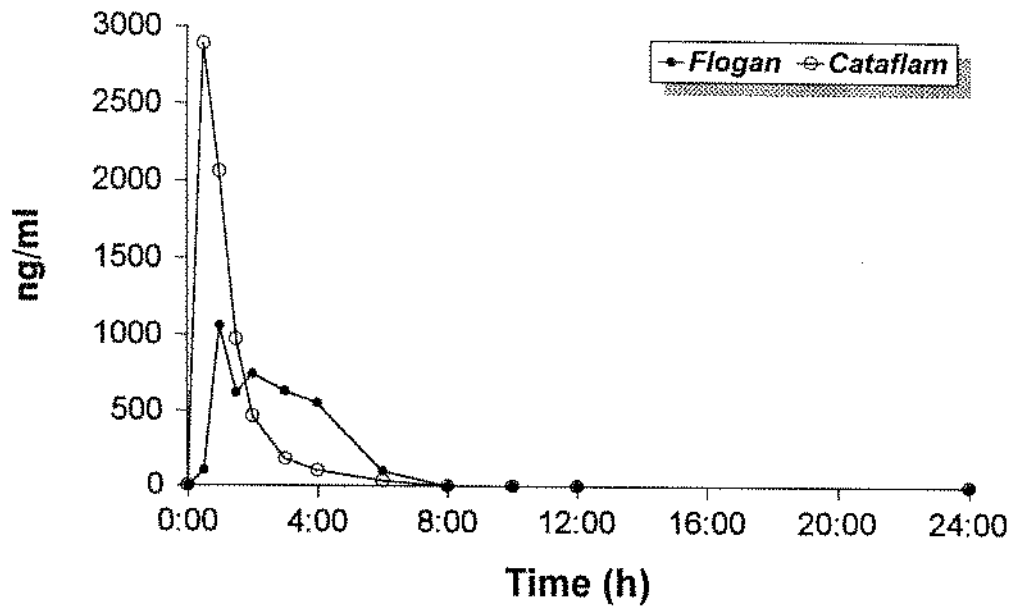
	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml·h	2808	2916
C <sub>max</sub> ng/ml	1713	1895
T <sub>max</sub> h	0.5	1

## Vol. II - JRO



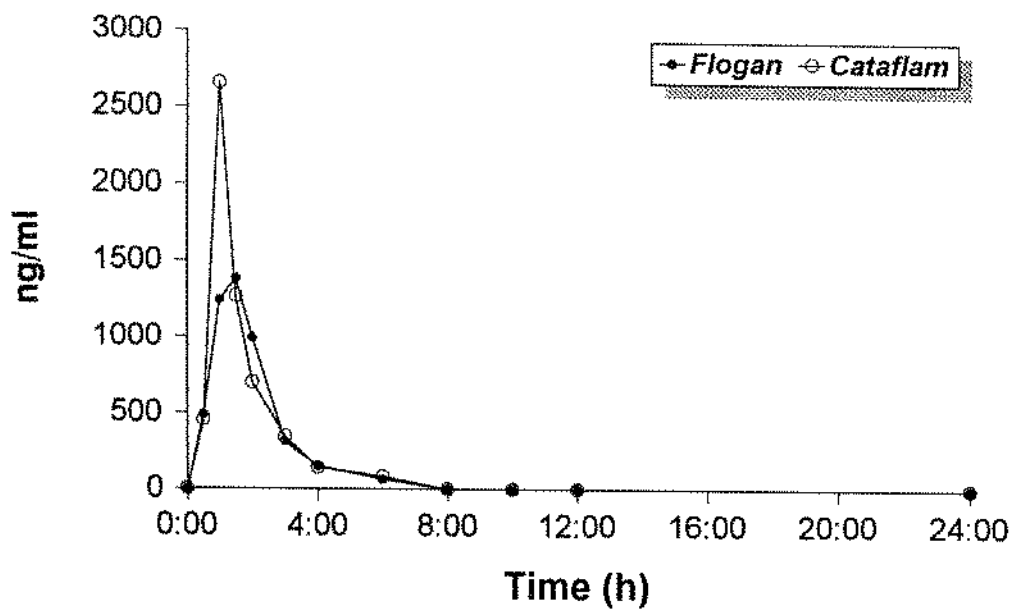
	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	3290	2198
C <sub>max</sub> ng/ml	3690	1935
T <sub>max</sub> h	0.5	0.5

# Vol. III - JCB



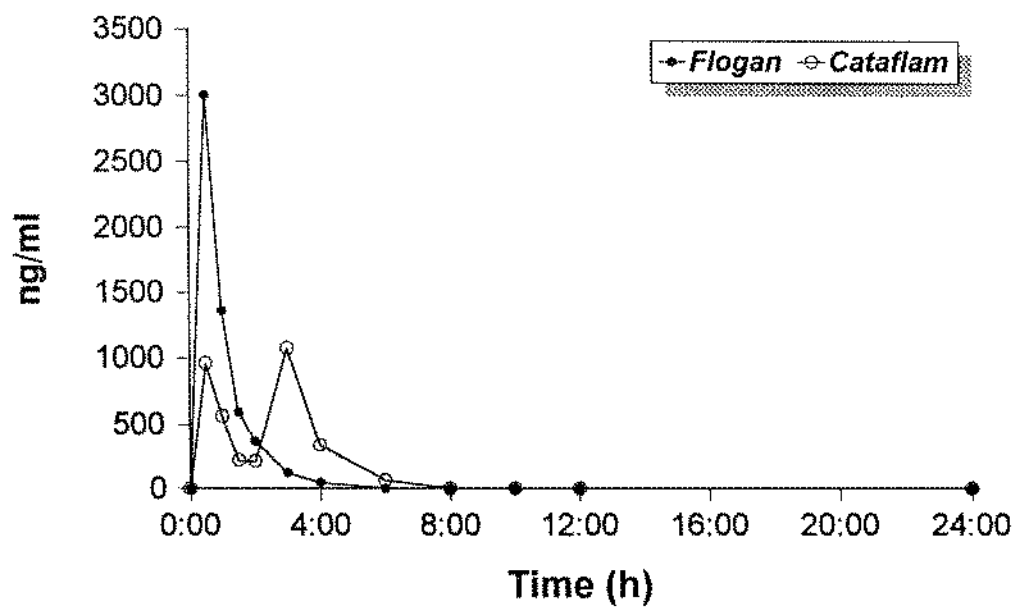
	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	3100	3713
C <sub>max</sub> ng/ml	1057	2890
T <sub>max</sub> h	1	0.5

## Vol. IV - MCM



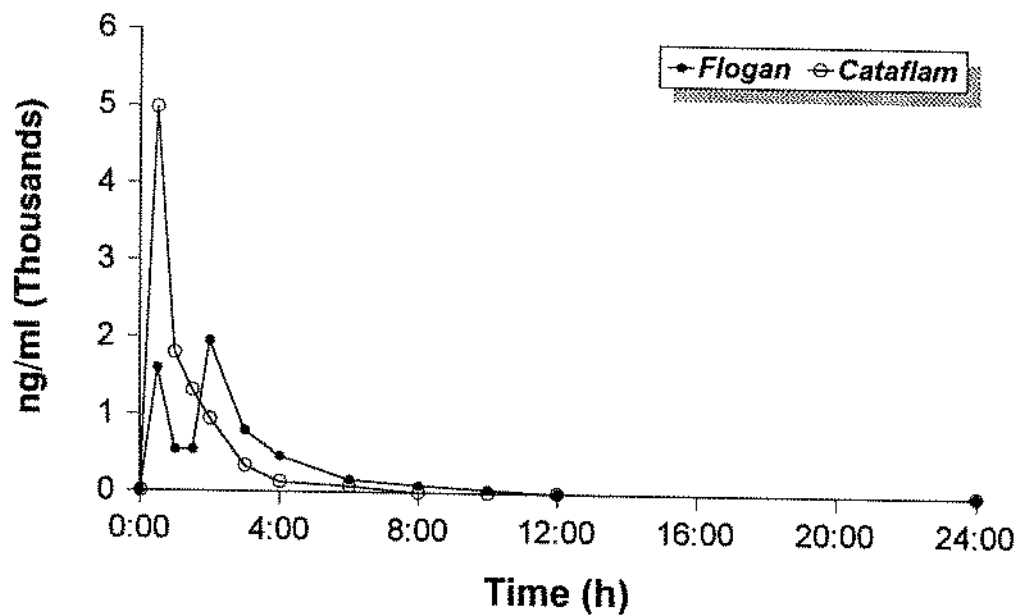
	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml·h	2958	3429
C <sub>max</sub> ng/ml	1381	2651
T <sub>max</sub> h	1.5	1

# Vol. V - UAR



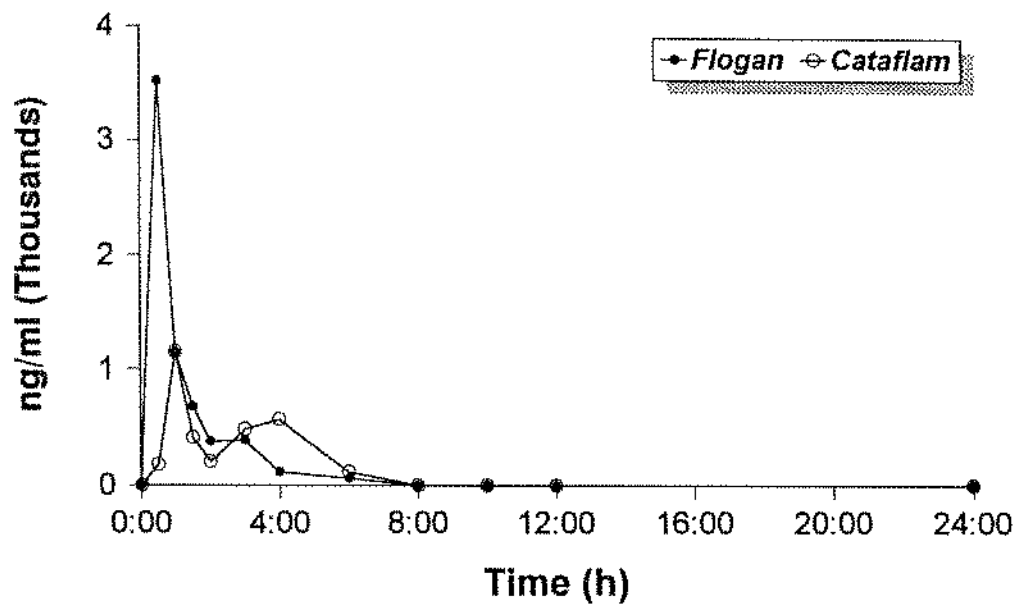
	Flogan	Cataflam
$AUC_{[0-24h]}$ ng/ml*h	2946	2730
$C_{max}$ ng/ml	3003	1072
$T_{max}$ h	0.5	3

# Vol. VI - VL



	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	4832	5402
C <sub>max</sub> ng/ml	1947	4978
T <sub>max</sub> h	2	0.5

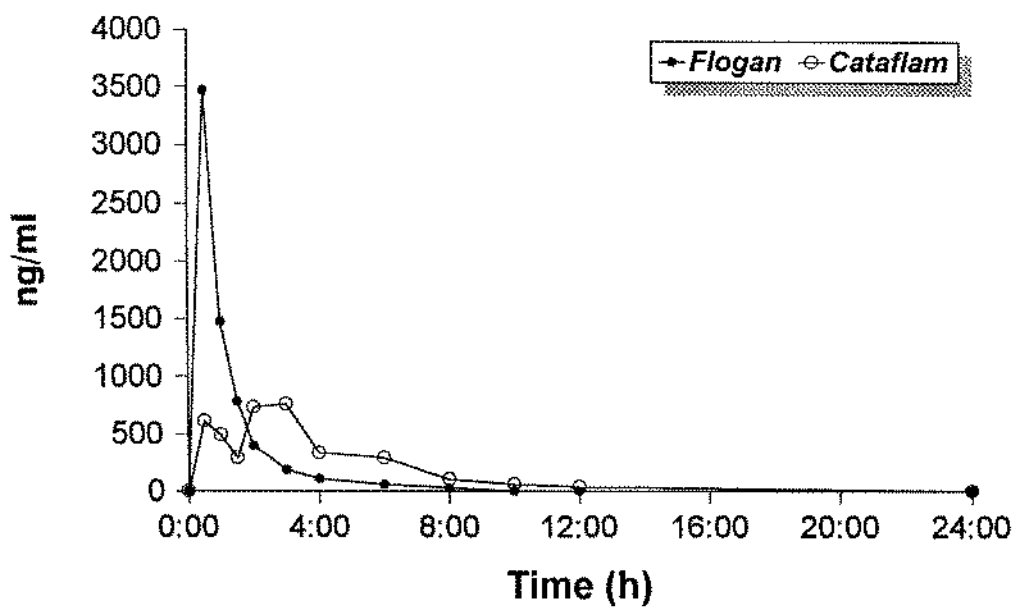
# Vol. VII - ATS



	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	3698	2618
C <sub>max</sub> ng/ml	3523	1149
T <sub>max</sub> h	0.5	1

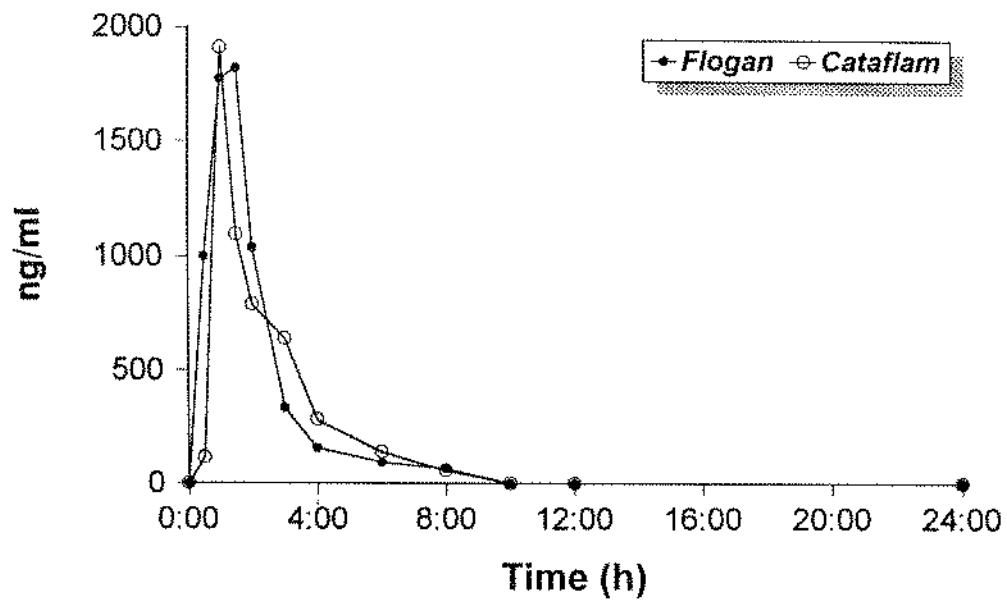


# Vol. VIII - ES



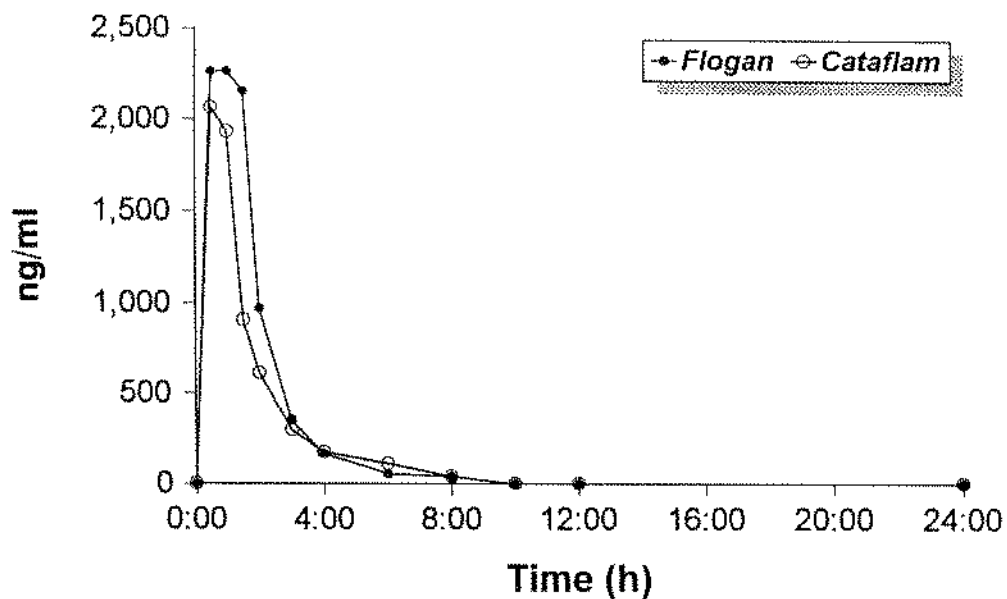
	Flogan	Cataflam
$AUC_{[0-24h]}$ ng/ml*h	3696	3698
$C_{max}$ ng/ml	3470	765
$T_{max}$ h	0.5	3

# Vol. IX - ARM



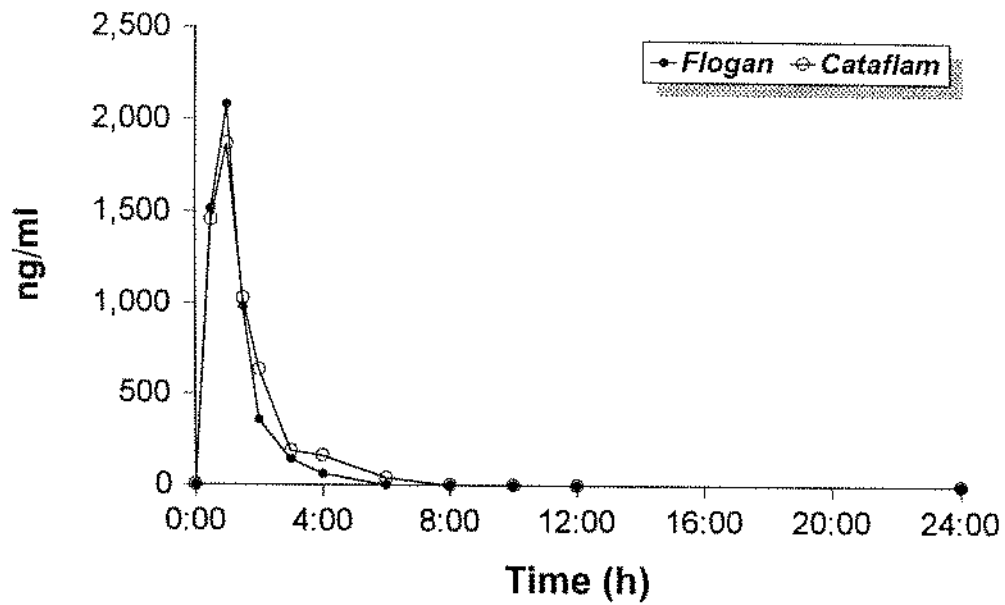
	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	3966	3622
C <sub>max</sub> ng/ml	1824	1913
T <sub>max</sub> h	1.5	1

# Vol. X - CAS



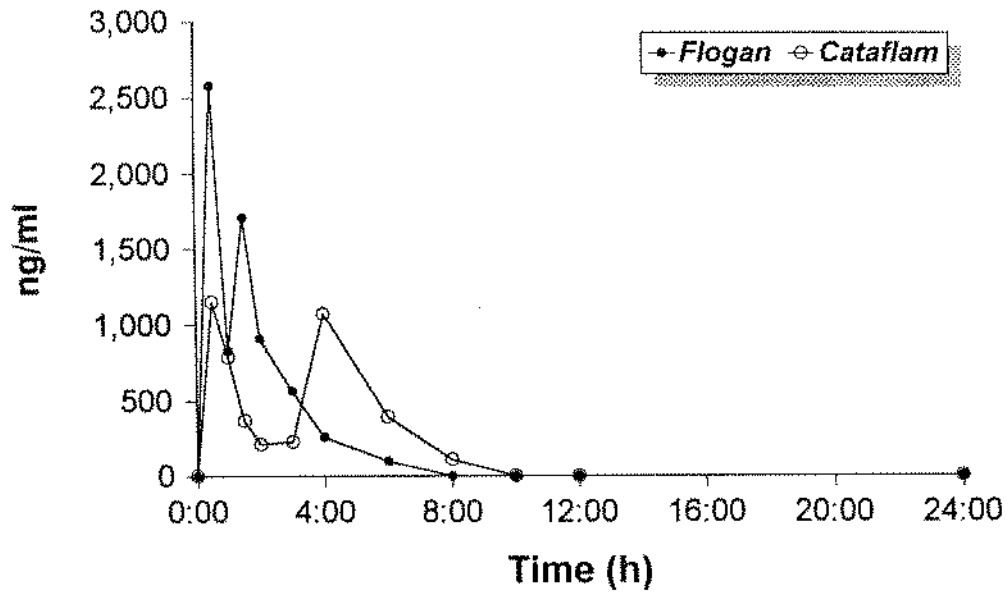
	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	4847	3761
C <sub>max</sub> ng/ml	2262	2061
T <sub>max</sub> h	1	0.5

# Vol. XI - RLS



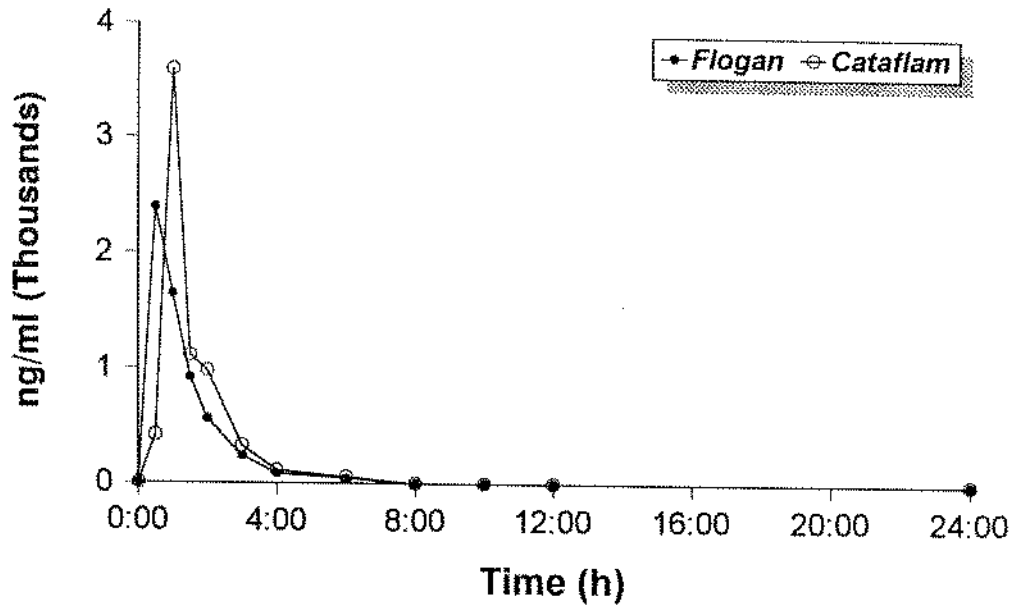
	Flogan	Cataflam
$AUC_{[0-24h]}$ ng/ml*h	2783	3153
$C_{max}$ ng/ml	2079	1868
$T_{max}$ h	1	1

## Vol. XII - CRM



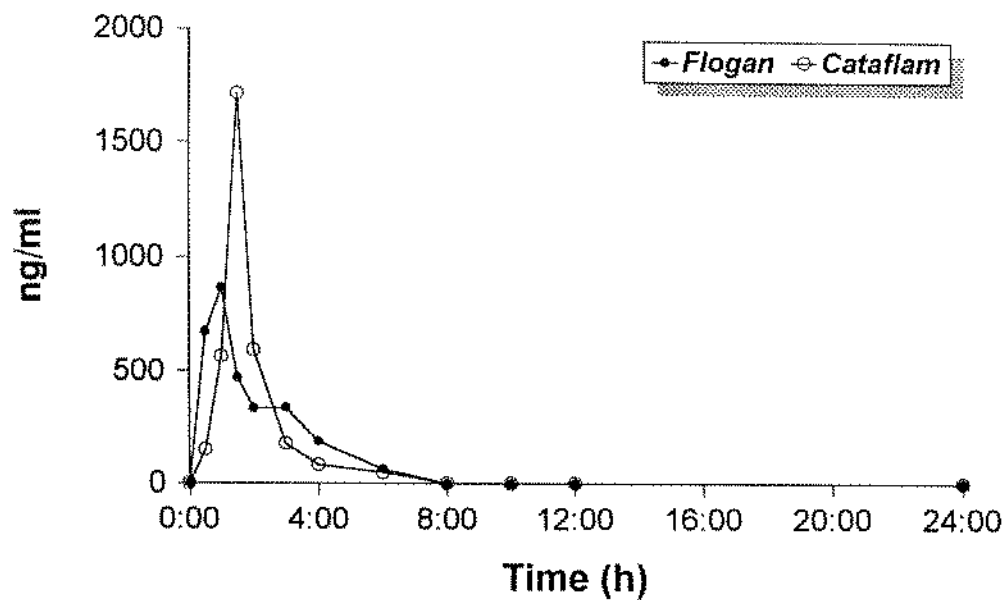
	Flogan	Cataflam
$AUC_{[0-24h]}$ ng/ml <sup>h</sup>	4383	4153
$C_{max}$ ng/ml	2581	1150
$T_{max}$ h	0.5	0.5

# Vol. XIII - EB



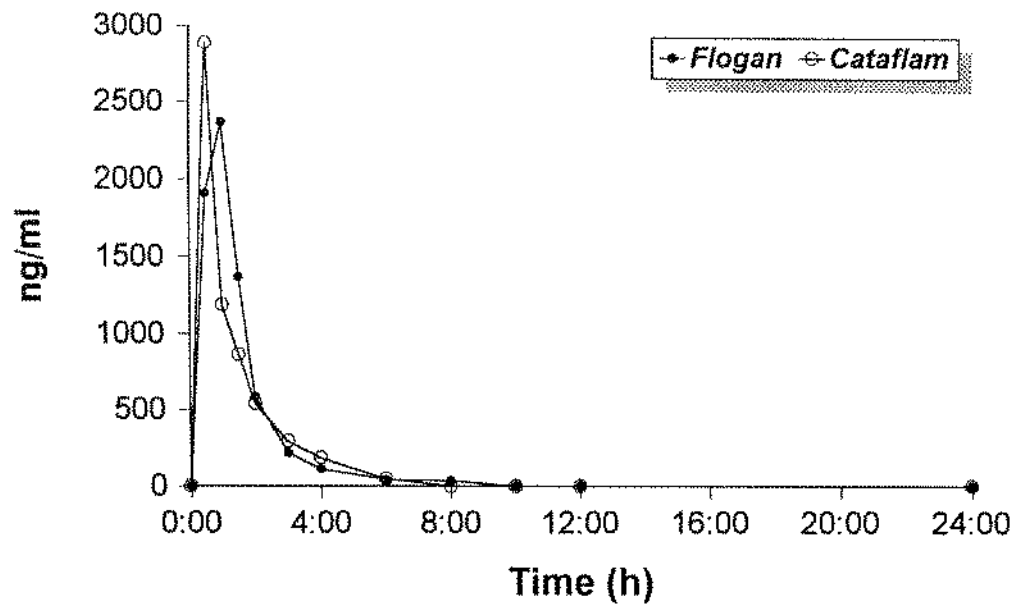
	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	3345	3904
C <sub>max</sub> ng/ml	2396	3594
T <sub>max</sub> h	0.5	1

# Vol. XIV - ACB



	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	2006	2056
C <sub>max</sub> ng/ml	866	1714
T <sub>max</sub> h	1	1.5

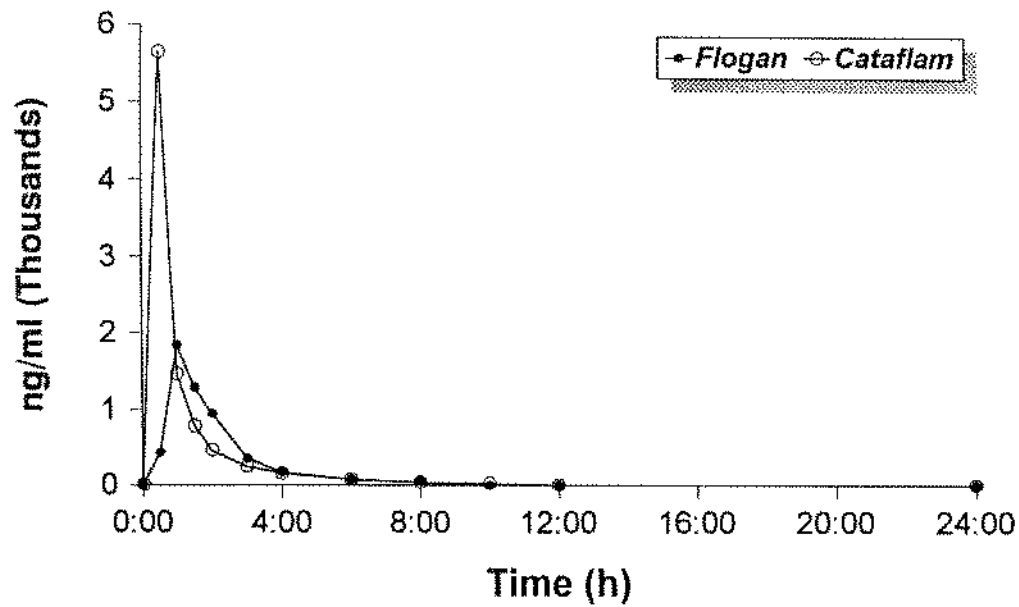
# Vol. XV - JLD



	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	3798	3541
C <sub>max</sub> ng/ml	2366	2887
T <sub>max</sub> h	1	0.5

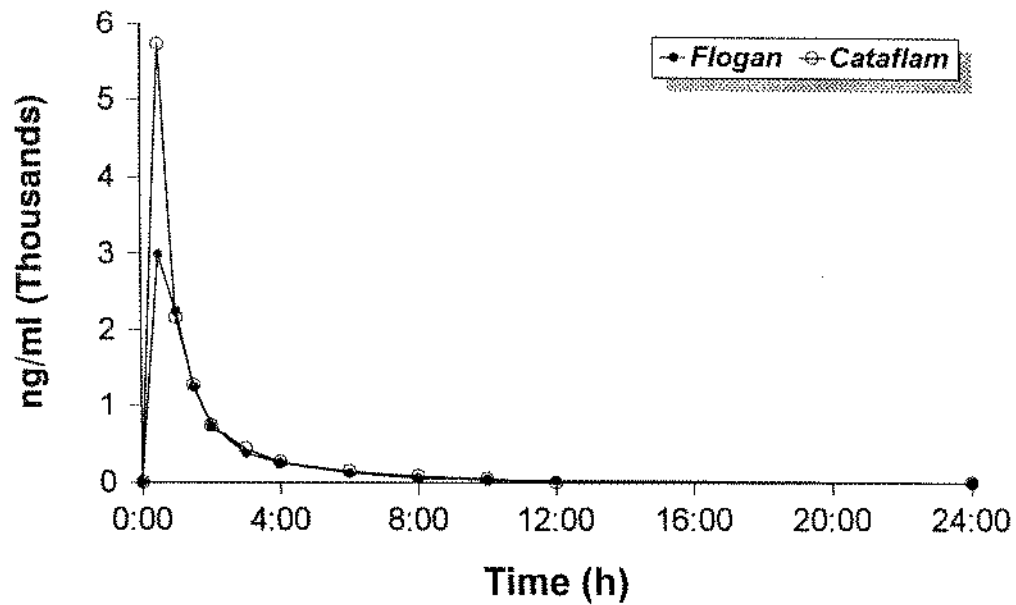


# Vol. XVI - RAB



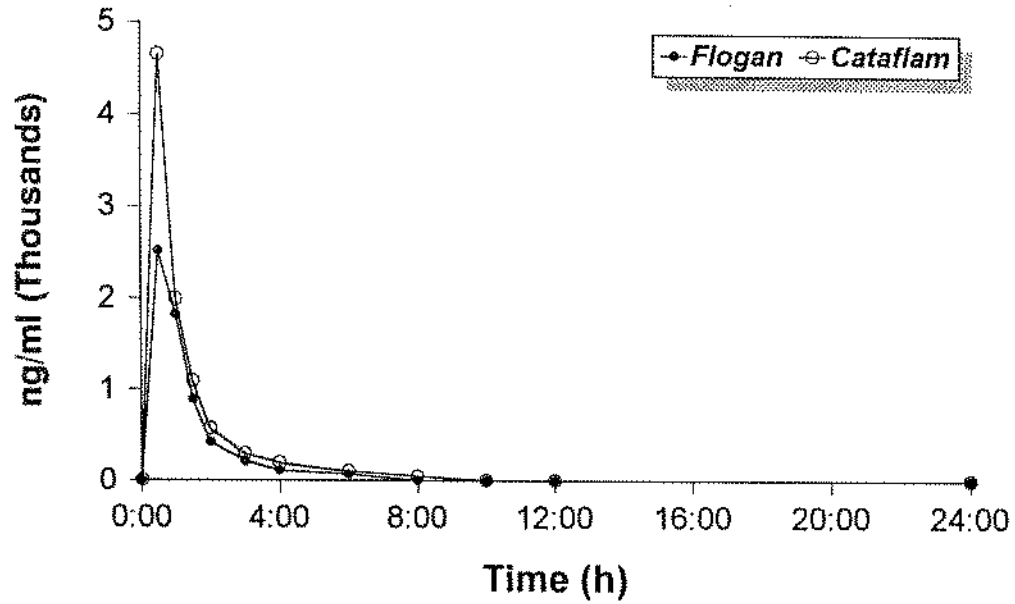
	Flogon	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	3321	5022
C <sub>max</sub> ng/ml	1826	5643
T <sub>max</sub> h	1	0.5

# Vol. XVII - LCS



	Flogan	Cataflam
$AUC_{[0-24h]}$ ng/ml*h	5192	6501
$C_{max}$ ng/ml	2985	5732
$T_{max}$ h	0.5	0.5

# Vol. XVIII - NS



	Flogan	Cataflam
AUC <sub>[0-24h]</sub> ng/ml*h	3433	5164
C <sub>max</sub> ng/ml	2517	4648
T <sub>max</sub> h	0.5	0.5

## CAPÍTULO VIII

### BIBLIOGRAFIA

- 1- Abrams, G.J., Solomon, L. Meyers, O.L. (1978). A long-term study of diclophenac sodium in the treatment of rheumatoid arthritis and osteoarthrosis. **S. Afr. Med.J.** 53:442-445.
- 2- Atkinson, D.C., Collier, H.O.J. (1980). Salicylates: molecular mechanism of therapeutic action. **Adv. Pharmacol.** 233-288.
- 3- Badian, M., Korn, A., Lehr, K.H., Malerczyk, V. & Waldhausl, W. (1982). Determination of the absolute bioavailability of glimepiride (HOE 490), a new sulphonylurea. **Intern J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.** 30:481.
- 4- Bahamonde B., & Saavedrac H. (1990). Comparasion of the analgesic and anti-inflammatory effects of diclofenac potassium versus piroxican versus placebo in ankle sprain patients (1990). **J. Int. Med. Res.** 18: 104-111.
- 5- Caldwell, J.R. (1986). Efficacy and safety of diclofenac sodium in rheumatoid arthritis: experience in the United States. **Am. J. Med.** 80:43-47.
- 6- Cárcamo, E.C. (1982). Introducion a la farmacocinetica. **Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos. Ed. Chesneau, Washington D.C.**
- 7- Curry, S.H. (1980). Drug disposition and metabolism. Blackwell.Oxford.
- 8- Crook, P.R., Willis, J.V., Kendall, M.J. et al. (1982). The pharmacokinetics of diclofenac sodium in patients with active rheumatoid disease. **Eur. J. Clin. Pharmacol.** 21:331-334.
- 9- Djaldetti, M., Fishman, P., Creter, D. & Notti, I. (1982). Ultrastructural and functional studies on human platelets incubated with diclofenac sodium (Voltaren). **Acta. Haematol.** 68:285-294.
- 10- EL-Sayed, Y. & Suleiman, M.S. (1988). Comparative Bioavailability and in Vitro Characterization of Two Brands of Diclofenac Sodium Enteric-Coated Tablets. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.** 26:487-491.

- 11- F.D.A. Food and Drug Administration., (1985). Federal Register, part. **320** Bioavalability and Bioequivalence Requeriments. 154-173 (4-1)
- 12- Ferreira, S.H., Lorenzetti, B.B. Correa, F.M.A. (1978). Central and peripheral analgesic action of aspirin-like drugs. **Eur. J. Clin. Pharmacol.** 53:39-48.
- 13- Flor, S.C., Rogge, M.C. Chow, A.T. (1993). Bioequivalence of Oral and Intravenous Ofloxacin After Multiple-Dose Administration to Healtly Male Volunteers. **Antimicrob. Agents. Chemoter.** 37:1468-1472.
- 14- Fowler, P.D. (1979). Voltarol: diclofenac sodium. **Clin Rheumatol.** 18:60-68.
- 15- Fowler, P.D., Shadforth, M.F., Crook, P.R. (1993). Plasma and synovial fluid concentrations of diclofenac sodium and its major hydroxylated metabolites during long -term treatment of rheumatoid arthritis. **Eur. J. Clín. Pharmacol.** 25:389-394.
- 16- Friman, C., Johnston, C., Chew, C. et al.(1986). Effect of diclofenac sodium, tolfenamic acid and indomethacin on the production of superoxide induced by N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine in normal human polymorphonuclear leukocytes. **Scand. J. Rheumatol.** 15:41-46.
- 17- Fuchs, F.D.& Wannmacher, L. (1992). Farmacologia clínica: fundamentos da terapeutica racional, 1ª ed. Guanabara Koogan. RJ. pp 56.
- 18- Geigy. ( 1988). Voltaren prescribing information. Ardsley, NY. jul
- 19- Germain, B.F.(1985). A placebo-controlled study of diclofenac sodium for the treatment of osteoarthritis of the hip and knee. **Curr. Ther. Res.** 37:259-268.
- 20- Gibaldi, M., Prescott, L. (1983). Handbook of Clinical Pharmacokinetics. ADIS Health Science Press. Sydney.
- 21- Gibaldi, M. (1994). Biopharmaceutcs and Clinical Pharmacokinettics. Lea & Febiger, Philadelphia.
- 22- Goodman, L.S., Gilman, A.G., Rall, T.W., Murad, F. (1987). As Bases Farmacodinâmicas da Terapêutica, 7ª ed. Guanabara Koogan-RJ.

- 23- Hansten, P.D. (1987). Associação de Medicamentos. 1ª ed. Livraria Atheneo- U.S.A. pp. 2
- 24- Hasan, M.M., Najib, N.M., Rawashdeh, N.M., Sallam, E.N., Shubair, M.S. & Alawneh, Y. (1991). Comparative Bioavailability of Two Tablet Formulations of Diclofenac Sodium in Normal Subjects. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.** 29:178-183.
- 25- Hauck, W.W. & Anderson, S. (1992). Types of Bioequivalence and Related Statistical Considerations. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.** 30:181-187.
- 26- Hauschke D. , Steinijs V.W., Diletti E. (1990). A distribution-free procedure for the statistical analyses of bioequivalence studies . **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.** 28:72-78.
- 27- Heckel G. N. (1984). Agentes analgesicos-antiinflatórios no esteroides un nuevo recurso: Diclofenaco potássico. **Compedium de Investigaciones Latinoamericanas.** 4: 211-227.
- 28- Huntwork, J.C. (1986). Efficacy and safety of diclofenac compared with aspirin in the treatment of rheumatoid arthritis. **Curr.Ther.Res.** 40:576-586.
- 29- Ingemanson, C.A., Carrington, B., Sikstrom, B. 1981. Diclofenac in the treatment of primary dysmenorrhoea. **Curr.Ther.Res.** 30:632-639.
- 30- Ingemanson, C.A., Sikstrom, B., Bjorkman, R. (1984). Comparison between diclofenac and naproxen in the treatment of primary dysmenorrhoea. **Curr. Ther. Res.** 36:1203-1209.
- 31- Jobin F., Gagnon, F.T.(1971). Inhibition of human platelet aggregation by a dibenzazepine compound (GP 44296) and by N-(2,6-dichlorophenyl)-o-aminophenylacetic acid (GP45840). **Can. J. Physiol. Pharmacol.**
- 32- John, V.A.(1979). The pharmacokinetics and metabolism of diclofenac sodium (Voltarol) in animals and man. **Rheumatol. Rehabil.** 18:22-35.
- 33- Kantor, T.G.(1986). Use of diclofenac in analgesia. **Am. J. Med.** 80:64-69.

- 34- Kendall, M.J., Thornhill, D.P., Willis, J.V. (1979). Factors affecting the pharmacokinetics of diclofenac sodium (Voltarol). **Rheumatol. Rehabil.** 18:38-45.
- 35- Kobayashi, K., Arakawa, T., Satoh, H. et al. (1985). Effect of indomethacin, tiaprofenic acid and diclofenac on rat gastric mucosal damage and content of prostacyclin and prostaglandin E2. Prostaglandins.
- 36- Koch-Weser, J. (1980). Nonsteroidal antiinflammatory drugs (first of two parts). **N. Engl. J. Med.** 302:1179-1185.
- 37- Ku, E.C., Lee, W., Kothari, H.V., Scholer, D. W. (1985). The effects of diclofenac sodium on arachidonic acid metabolism. **Semin. Arthritis. Rheum.** 15:36-41.
- 38- Ku, E.C., Lee, W., Kothari, H.V. & Scholer, D.W. (1986). Effect of diclofenac sodium on the arachidonic acid cascade. **Am. J. Med.** 80:18-23.
- 39- Kurowski, M. & Dunky, A. Transdermal absorption of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in rheumatoid arthritis patients: I-diclofenac (1992). **Intern. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.** 30:479.
- 40- Laurent, J., Belghiti, D., Bruneau, C. et al. (1987). Diclofenac, a nonsteroidal anti-inflammatory drug, decreases proteinuria in some glomerular diseases: a controlled study. **Am. J. Nephrol.** 7:198-202.
- 41- Martini, A., Bondiolotti, G. P., Sacerdote, P. et al. (1984). Diclofenac increases beta-endorphin plasma concentrations. **J. Int. Med. Res.** 12:92-95.
- 42- Menassé, R., Hedwall, P.R., Kraetz, J., Pericin, C., Riesterer, L., Sallmann, A., Ziel, R. & Jaques, R. (1978). Pharmacological properties of diclofenac sodium and its metabolites. **Scand. J. Rheumatol.** 22:5-16.
- 43- Moncada, S., Flower, R.J., Vane, J.R.: Prostaglandins, prostacyclin, thromboxane A<sub>2</sub>, and leukotrienes. In: Gilman AG, Goodman LS, Rall TW et al, eds. **Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics.** 7th ed. New York; Macmillan Publishing Company; (1985); 660-73.

- 44- Moran, M. (1990). An observer-blind comparison of diclofenac potassium, piroxicam and placebo in the treatment of ankle sprains. **Curr. Med. Res. and Opin.** 12:268-274.
- 45- Oates, J.A., FitzGerald, G.A., Branch, R.A., Jackson, E. K., Knapp, H.R. & Roberts, L. J. (1988). Clinical implications of prostaglandin and thromboxane A2 formation (first of two parts). **N. Engl. J. Med.** 319:689-698.
- 46- Osnes, M., Larsen, S., Eidsaunet, W. & Thom, E. (1979). Effect of diclofenac and naproxen on gastro duodenal mucosa. **Clin. Pharmacol. Ther.** 26:399-405.
- 47- Pancorbo, S., Gil, A.D. (1984). Farmacocinética Clínica. XXIX Congreso Nacional de La Asociación Española de Farmaceuticos de Hospitales e I Congreso Ibero-Americano de Farmacia Clínica - Alicante. pp 2-3
- 48- Perianin, A., Gougerot-Pocidalo, M.A., Giroud, J.P. et al.(1985). Diclofenac sodium, a negative chemokinetic factor for neutrophil locomotion. **Biochem. Pharmacol.** 34:3433-3438.
- 49- Pidgen, A.W. (1992). Statistical Aspects of Bioequivalence - a Review. **Xenobiotica.** 22:881-893.
- 50- Prista, L.N., Alves, A.C. & Morgado, R.M.R.(1991). Técnica Farmacêutica e Farmácia Galênica 4ª ed. Fundação Calouste Guberkian. Lisboa. Portugal. pp 582.
- 51- 53-Rainsford, K.D. & Willis, C. (1982). Relationship of gastric mucosal damage induced in pigs by antiinflammatory drugs to their effects on prostaglandin production. **Dig. Dis. Sci.** 27:624-635.
- 52- Rane, A. (1985). Drug Metabolism and Disposition in Neonats and Infancy. in Wilkinson G.R, Rawlim, D.M.(eds).
- 53- Rang, H.P. & Dale, M.M. (1993). Farmacologia. 2ª. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. Brasil. pp 73
- 54- Riess, W., Stierlin, H., Degen, P., Faigle, J. W., Géraldin, A., Moppert, J., Sallmann, A., Schimid, K., Schweizer, A., Sulc, M., Theobald, W. & Wagner, J. (1978). Pharmacokinetics and metabolism of the anti-inflammatory agent Voltaren. **Scand. J. Rheumatol.** 22:17-29.



- 55- Robinson, D.R. (1983). Prostaglandins and the mechanism of action of anti-inflammatory drugs. **Am. J. Med.** 10:26-31.
- 56- Rorarius, M., Miralles, J., Baer, G.A. (1985). Diclofenac versus indomethacin given as intravenous infusions: their effect on haemodynamics and bleeding time, and side-effects in healthy subjects. **Ann. Clin. Res.** 17:306-309.
- 57- Sacerdote, P., Monza, G., Mantegazza, P. (1985). Diclofenac and pirofen modify pituitary and hypothalamic beta-endorphin concentrations. **Pharmacol. Res.** 17:679-684.
- 58- Santos, S.R.C.J., Donzella, H., Bertoline, M.A., Pereira, M.D., Omosako, C.E. & Porta, V. (1992). Simplified Micromethod for the H.P.L.C. Measurement of Diclofenac in Plasma. **Brazilian. J. Med. Biol. Res.** 25:125-128.
- 59- Sauter, R; Steinijs, V.W; et al(1992). Presentation of results from bioequivalence studies. **International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy and Toxicology.** 30:233-256
- 60- Scholer, D.W., Ku, E.C., Boettcher, I. & Schweizer, A. (1986). **Pharmacology of diclofenac sodium.** **Am. J. Med.** 80:34-38.
- 61- Shargel, L. and Yu, A.B.C. (1993). Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics 3<sup>a</sup> ed. Appleton & Lange -Norwalk Connecticut. USA. pp 193-194.
- 62- Stierlin, H., Faigle, J.W. & Sallmann, A. (1979). Biotransformation of diclofenac sodium (Voltaren) in animals and in man: Isolation and identification of principal metabolites. **Xenobiotica.** 9:611-621.
- 63- Tiitinen, S., Nissila, M. & Ruutsalo, H.M. (1983). Effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the renal excretion of uric acid. **Clin. Rheumatol.** 2:233-236.
- 64- Todd, P.A. & Sorkin, E.M. (1988). Diclofenac sodium: a reappraisal of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, therapeutic efficacy. **Drugs.** 35:244-285.
- 65- Verstraeten A. & Bakshi R. (1991). Diclofenac potassium for the treatment of traumatic joint distortions: an open multicentre study. **J. Int. Med. Res.** 19: 165-170.

- 66- Vandenburg, M.J., Currie, W.J.C. & Mann, S.G. (1984). Differential effects of two nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the plasma urea of elderly patients with osteoarthritis: a multicentre study. **Br. J. Clin. Pract.**
- 67- Vessel, E.S., Page, J.G. (1968). Genetic control of drug levels in man: phenylbutazone. **Science** 189: 1479-1480.
- 68- Ward, J.R. (1986). Efficacy of diclofenac in osteoarthritis. **Am. J. Med.** 80:53-57.
- 69- Willis, J.V., & Kendall,M.J.(1978). Pharmacokinetics studies on diclofenac sodium in young and old volunteers. **Scand. J. Rheumatol.** 22: 36-41.
- 70- Willis, J. V. et al. (1979). The Pharmacokinetics of Diclofenac Sodium Following Intravenous and Oral Administration. **Eur. J. Clin. Pharmacol.** 16:405.
- 71- Willis, J.V., Kendall,M.J., Flinn,R.M. et al. (1979). The pharmacokinetics of diclofenac sodium following intravenous and oral administration. **Eur J Clin Pharmacol.** 16:405-10.
- 72- Willis, J.V., Kendall, M.J. & Jack, D.B. (1980). A study of the effect of aspirin on the pharmacokinetics of oral and intravenous diclofenac sodium. **Eur. J. Clin. Pharmacol.** 18:415-418.
- 73- Willis J. V., Jack D. B., Kendall M. J. et al (1981). The influence of food on the absorption of diclofenac as determined by the urinary excretion of the unchanged drug and its major metabolites during chronic administration. **Eur. J. Clin. Pharmacol.** 19:39-44.
- 74- Zschesche, M. Focke, N., Hoffmann, C., Franke, G. & Siegmund, W. (1992). Bioavailability of metronidazole vaginal tablets (Vaginid ®). **Intern. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.** 30:485
- 75- Zuckner, J. (1986). International experience with diclofenac in rheumatoid arthritis. **Am. J. Med.** 80:39-42.

## CAPÍTULO IX

### TRABALHO PUBLICADO

## Comparative bioavailability of two suspension formulations of potassium diclofenac in healthy male volunteers

G.B.B. MENDES<sup>1</sup>, L.M. FRANCO<sup>1</sup>, R.A. MORENO<sup>1</sup>, A.G. FERNANDES<sup>2</sup>, M.N. MUSCARA<sup>1</sup> and G. DE NUCCI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Miguel Servet Clinical Pharmacology Unit, Department of Pharmacology, Faculty of Medical Sciences, UNICAMP, Campinas, SP and  
<sup>2</sup>Merck S.A. Indústrias Químicas, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

**Abstract.** The bioavailability of two suspension formulations of potassium diclofenac (Flogan, Merck and Cataflam, Ciba-Geigy) were compared in eighteen healthy male volunteers who received a single dose of 7 ml of each suspension (equivalent to 105 mg of potassium diclofenac) in an open randomized two period crossover design, with a fourteen-day washout period between doses. Serum samples were obtained over a 24 hour interval and diclofenac concentrations were determined by HPLC with ultraviolet detection. From the serum diclofenac concentration vs time curves,  $AUC_{[0-24]}$  (area under the concentration vs time curves from 0-24 h),  $C_{max}$  (maximum achieved concentration),  $T_{max}$  (time to achieve  $C_{max}$ ) and  $K_e$  (terminal first order elimination constant) were obtained. Overlapping of  $T_{max}$  intervals for both formulations was observed, but the important inter-subject variation observed in  $C_{max}$  ratios did not allow equivalence conclusion for the rate of absorption. Equivalence in the extent of bioavailability between both potassium diclofenac suspension brands was concluded from the analysis of  $AUC_{[0-24]}$  ratios.

**Key words:** potassium diclofenac suspension - human volunteer pharmacokinetics - bioavailability - high-performance liquid chromatography

### Introduction

Diclofenac, ([2-(2,6-dichloroanilino) phenyl] acetic acid), is a potent non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID), widely used for its analgesic, antipyretic and anti-inflammatory activities. Its main therapeutic uses include long-term symptomatic treatment of rheumatoid arthritis [Zuckner 1986], osteoarthritis [Altman 1986], ankylosing spondylitis [Calabro 1986], and short-term treatment of acute conditions like musculoskeletal injury, postoperative pain, renal colic, biliary colic, dysmenorrhea and oral surgery [Kantor 1986].

Diclofenac is a weak acid with  $pK_a$  of 4.0, has a partition coefficient of 13.4 (n-octanol/buffer pH 7.4) and the structural elements include a phenyl acetic acid group, a secondary amino group and a phenyl ring containing 2 chlorine atoms [Sallmann 1986].

Although the drug is completely absorbed after oral administration [Todd and Sorkin 1988], almost 50% of the

administered dose does not reach the systemic circulation due to first pass hepatic metabolism [Todd and Sorkin 1988]. The drug is highly bound to serum proteins (99.7%), mostly to albumin [Riess et al. 1978] and is eliminated mainly by hepatic metabolism followed by urinary and biliary excretion of glucuronide and sulphate conjugates, with an elimination half-life of 2 hours [Willis et al. 1979]. The main metabolite is a 4'-hydroxy derivative, 30 times less active than the parent compound [Menassé et al. 1978]. An extensive clinical experience with the drug has been accumulating over the last twenty years, employing mostly the conventional oral formulation of enteric-coated tablets of the sodium salt of diclofenac (Voltaren). Following oral administration of this formulation in fasting subjects, peak plasma concentrations are obtained after 1.5-2.5 hours [Todd and Sorkin 1988]. Food may delay absorption by increasing the time to reach the site of dissolution in the small intestine [Todd and Sorkin 1988].

In order to ensure faster onset of absorption and consequently faster analgesic effect, the potassium salt of diclofenac was formulated as sugar-coated tablets [Verstraeten and Bakshi 1991, Novoa-Heckel 1984] and as suspension for oral administration. These new diclofenac potassium formulations have been marketed mainly in

Received Oktober 18, 1993

Reprint requests to Dr. G. de Nucci, Miguel Servet Clinical Pharmacology Unit, Department of Pharmacology, Faculty of Medical Sciences, Unicamp, PO Box 6111, BR-13084-100 Campinas, SP, Brazil.

Latin-American settings and have been prescribed for acute conditions, providing fast analgesic and anti-inflammatory effects, along with a rate of side effects similar to Voltaren [Verstraeten and Bakshi 1991, Morán 1990, Bahamonde and Saavedra 1990].

In the present study, we compared the bioavailability of a new brand of oral suspension of diclofenac potassium (Flogan, from Merck) with the homologous potassium diclofenac formulation Cataflam (from Ciba-Geigy) in healthy male volunteers. Serum diclofenac concentrations are quantified using a reverse-phase high-performance liquid chromatography (HPLC) method.

## Methods

### Clinical protocol

Eighteen healthy male adult volunteers, aged between 21 and 47 years (mean:  $29.4 \pm 6.3$ ), weighing between 55 and 95 kg (mean:  $77.5 \pm 10.1$ ) and within 15% of the ideal body weight, were selected for the study. The volunteers were free from significant cardiac, hepatic, renal, pulmonary, gastrointestinal, neurological and hematological disease as determined within four weeks before the start of the study, by medical history, physical examination and laboratory screenings: fasting blood glucose, urea, creatinine, SGOT (AST), SGPT (ALT), total bilirubin, total protein, serum albumin, alkaline phosphatase, sodium, potassium, chloride, uric acid, urinalysis, hemoglobin, hematocrit and total and differential white blood cells count. All volunteers gave written informed consent and the clinical protocol was approved by the Ethics Committee of the University Hospital.

The study had an open randomized two-period cross-over design with a 14-day washout period between doses. During each period, volunteers were hospitalized at 11:00 p.m. having already had a regular evening meal, and after an overnight fast they received 7 ml of the diclofenac potassium suspension (equivalent to 105 mg) allocated according to the appropriate dose randomization code. After the suspension administration the volunteers were asked to drink 200 ml of tap water. Blood samples for serum drug assay were taken from a forearm vein before and at 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 and 24 hours after diclofenac administration. On each occasion, one 10 ml sample was taken via "butterfly" into a clean tube. After blood clotting at room temperature, the blood samples were centrifuged at 2,000 g for ten minutes and the sera removed and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until assayed. The volunteers received 200 ml of tap water to drink three hours after dosing. Six hours after dose administration a standard lunch was available and an evening meal was provided twelve hours after dosing. Liquids were allowed *ad libitum* after lunch, but xanthine containing beverages, such as tea, coffee and cola, were not permitted.

### Drug analysis

Serum diclofenac concentrations were measured by reverse-phase HPLC with ultraviolet detection according to the method described below. To 500  $\mu\text{l}$  of each calibration point (diclofenac-free serum spiked with known amounts of sodium diclofenac) and serum sample, 580 ng of indomethacin and 200  $\mu\text{l}$  of 5% phosphoric acid solution were added. After a brief vortex mixing, the extraction was performed by adding 4 ml of dichloromethane and vortex mixing for 1 minute. Tubes were then centrifuged (2,000 g for 10 min), and the organic phase washed with 200  $\mu\text{l}$  of ammonium acetate solution (a saturated solution was diluted 1:10 with bi-distilled water). After centrifugation (2,000 g for 2 min) the organic phase was placed in a water-bath at  $45^{\circ}\text{C}$  and dried under a gentle stream of  $\text{N}_2$ . The residue was reconstituted with 100  $\mu\text{l}$  of acetonitrile and 20  $\mu\text{l}$  were injected into the liquid chromatograph.

### Chromatographic conditions

The mobile phase consisted of a mixture of acetonitrile and 0.1 M acetic acid solution (40/60, v/v); the pH was adjusted to 5.6 with 3 M sodium hydroxide and was pumped at a flow rate of 2.3 ml/min through the column (Lichrosorb 5 RP18,  $250 \times 4.6$  mm; Phenomenex, CA, USA) at room temperature. Peaks were monitored by UV absorbance at 276 nm at a sensitivity of 0.005 AUFS. Quantitation of diclofenac was obtained by plotting diclofenac to internal standard peak height ratios as a function of the concentrations.

The chromatographic system consisted of a Constametric 3000 pump (Milton Roy, USA) coupled to a VWM 2141 dual wavelength UV detector (Pharmacia-LKB, Uppsala, Sweden). The output signal was registered in a Bryans 28000 chart recorder (Bryan Southern Instruments, Great Britain).

### Pharmacokinetic and statistical analysis

Maximum observed plasma concentration ( $C_{\text{max}}$ ) and time taken to reach it ( $T_{\text{max}}$ ) were obtained from the drug concentration vs time curves. The areas under the diclofenac concentration vs time curves from 0–24 hours ( $\text{AUC}_{[0-24]}$ ) were calculated using the trapezoidal method and the first-order elimination rate constant ( $K_e$ ) was estimated by least square regression of the points describing a terminal log-linear decaying phase.  $T_{1/2}$  were derived from  $K_e$  ( $T_{1/2} = \ln 2/K_e$ ). The results are expressed as mean  $\pm$  SEM.  $C_{\text{max}}$  and  $\text{AUC}_{[0-24]}$  data were analyzed statistically using both parametric (one-way ANOVA) and non-parametric methods (Wilcoxon's signed ranks test) [Hauschke et al. 1990].

## Material

Diclofenac (sodium salt) and indomethacin (internal standard) for HPLC analysis were supplied by Sigma Chemical Co (St Louis, USA). Analytical grade acetic acid, ammonium acetate, dichloromethane, sodium hydroxide, phosphoric acid and HPLC grade acetonitrile were purchased from Merck (RJ, Brazil). Non-commercial test diclofenac potassium suspension formulation (Flogan Suspensao, 13° pilot lot, of. 33321; FLO) was supplied by Merck S.A. Indústrias Químicas (RJ, Brazil), and the reference formulation (Cataflam Suspensão, lot No. 523902; CAT) is the commercial diclofenac potassium suspension marketed by Ciba-Geigy (SP, Brazil).

## Results

Figure 1 shows that under the described chromatographic conditions, the retention times for diclofenac and internal standard were  $7.0 \pm 0.3$  minutes and  $9.4 \pm 0.3$  minutes, respectively. As also shown in Figure 1, no endogenous interfering peaks appeared at the retention times of the compounds of interest. The detection limit for diclofenac was set at a concentration of 10 ng/ml (signal/noise ratio = 3). The calibration curve was linear over the range 10 ng/ml to 2,000 ng/ml, with a regression coefficient  $\geq 0.999$  and intercept not significantly different from zero. Inter-assay variation values (as % CV) were 21.2, 12.5, 12.5, 7.7 and 7.6% for diclofenac concentrations of 66, 117, 218, 581 and 1,142 ng/ml, respectively ( $n = 12$  for each concentration). The obtained intra-assay variation values were 8.2, 3.8, 3.9, 2.0 and 1.9% for diclofenac concentrations of 56, 102, 209, 506 and 1,033 ng/ml, respectively ( $n = 6$  for each concentration).

Diclofenac was well tolerated at the administered dose, and no adverse effects were reported. Figure 2 shows mean diclofenac serum concentrations as a function of time after the oral administration of 105 mg potassium diclofenac of both suspensions. The major mean pharmacokinetic parameters derived from the serum concentration vs time curves are presented in Table 1. Arithmetic and geometric means ratios for  $AUC_{[0-24]}$  and  $C_{max}$  of the two diclofenac potassium oral formulations are shown in Table 2, as well as the analysis of their inclusion into the interval 80–120% by different tests.

## Conclusion

The HPLC method employed here, similar to that of Santos et al. [1992], introduced an additional washing with ammonium acetate after the extraction procedure with organic solvent in acid medium. This step improved the chromatograms by eliminating peaks which eluted at reten-

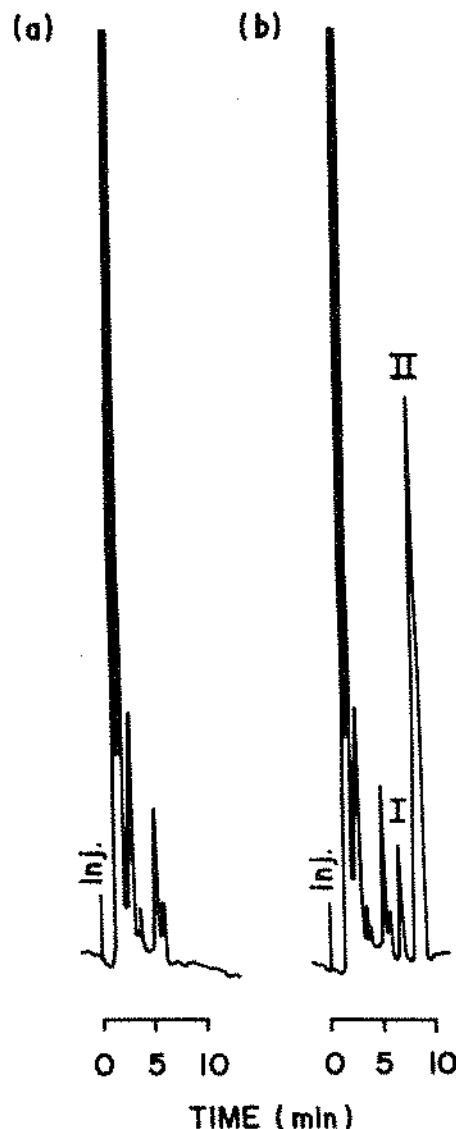


Fig. 1 HPLC chromatograms, (a): blank plasma showing the absence of peaks at the retention times of the compounds of interest; (b): plasma sample withdrawn four hours after the administration of 105 mg of potassium diclofenac. Diclofenac concentration measured in this sample was 197 ng/ml. Peak I: diclofenac; peak II: indomethacin (internal standard).

tion times very close to that of diclofenac. No loss of sensitivity was observed after the inclusion of this step, as at the neutral pH of the ammonium acetate solution re-extraction of diclofenac to the aqueous phase is avoided. This affirmation was confirmed when an aliquot of the washing ammonium acetate solution was injected into the chromatograph and no peak appeared at the retention time of diclofenac (not shown).

The present study shows that the two brands of oral suspension of potassium diclofenac are equivalent for the

Table 1 Mean pharmacokinetic parameters obtained in eighteen healthy male volunteers for both 105 mg potassium diclofenac suspension formulations

Parameter	CAT	FLO
<b>AUC<sub>[0-24]</sub> (ng h ml<sup>-1</sup>)</b>		
Arithmetic mean	3.494	3.388
Geometric mean	3.387	3.230
SD	953	1.070
<b>C<sub>max</sub> (ng/ml)</b>		
Arithmetic mean	1.759	1.374
Geometric mean	1.595	1.308
SD	804	469
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>		
Median	0.5	0.5
Range	0.5-2	0.5-2
<b>K<sub>e</sub> (h<sup>-1</sup>)</b>		
Arithmetic mean	0.478	0.404
SD	0.131	0.117
<b>T<sub>1/2</sub> (h)</b>		
Arithmetic mean	1.56	1.85
SD	0.44	0.51

Table 2 Statistical analysis of individual AUC<sub>[0-24]</sub> and C<sub>max</sub> ratios between FLO and CAT potassium diclofenac formulations. (\*) According to Hanschke et al. [1990]

FLO/CAT % Ratio	AUC <sub>[0-24]</sub>	C <sub>max</sub>
<b>Parametric</b>		
Geometric mean	95.4	82.0
Arithmetic mean	97.0	78.1
90% CI	88.3-106.4	66.9-90.7
95% CI	86.6-108.6	64.6-93.6
P {0.8 < r < 1.2}	0.99718	0.40270
P {r ≤ 0.8}	0.00259	0.59728
P {r ≥ 1.2}	0.00023	0.00002
<b>Non parametric (*)</b>		
Point estimate	94.0	80.9
90% CI	85.4-104.7	70.8-96.9

extent of absorption, as assessed by the inclusion of AUC<sub>[0-24]</sub> ratios into the interval 80-120% (Table 2).

The median T<sub>max</sub> values of 0.5 hour for both formulations tend to be lower than that reported by Todd and Sorkin [1988] of 1.5-2.5 hours for enteric coated diclofenac so-

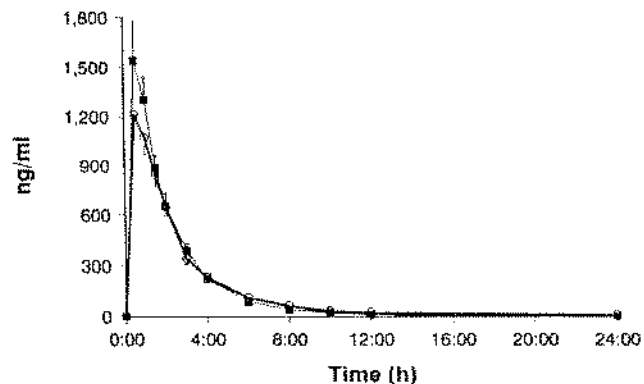


Fig. 2 Serum diclofenac concentrations (mean  $\pm$  SEM) vs time curves obtained in eighteen healthy male volunteers after a single administration (105 mg) of each formulation (open circles: FLO; filled squares: CAT)

dium tablets, suggesting that this diclofenac potassium formulation exposes the active therapeutic moiety to absorption sites at a faster rate, and this could be an advantageous condition where a rapid onset of analgesic effect is desirable. However, the last affirmation should be observed as a tendency, since inter-subject variation is important, as reflected by the obtained T<sub>max</sub> ranges with both potassium diclofenac suspensions (0.5-2 h). The finding that mean C<sub>max</sub> ratios are not included in the interval 80-120% is likely to be due to the sampling schedule employed. Given the type of formulation assayed, C<sub>max</sub> occurred well before the first sample after diclofenac administration was collected (30 min); thus, bioequivalence analysis for the rate of absorption from C<sub>max</sub> ratios is inconclusive (Table 2).

The formulations here studied, i.e., potassium diclofenac suspensions, may present some advantages as compared to the used sodium diclofenac tablets, such as easier dose adjustment and better compliance for pediatric patients.

## REFERENCES

- Altman R 1986 International experience with diclofenac in osteoarthritis. *Am J Med* 80 (Suppl 4B): 48-52
- Bahamonde BLA, Saavedra CH 1990 Comparison of the analgesic and antiinflammatory effects of diclofenac potassium versus piroxicam versus placebo in ankle sprain patients. *J Int Med Res* 18: 104-111
- Catalbro JJ 1986 Efficacy of diclofenac in ankylosing spondylitis. *Am J Med* 80 (Suppl 4B): 58-63
- Hanschke D, Seinijans VW, Diletti E 1990 A distribution-free procedure for the statistical analysis of bioequivalence studies. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 28: 72-78
- Kantor TG 1986 Use of diclofenac in analgesia. *Am J Med* 80 (Suppl 4B): 64-69

- Menassé R, Hedwall PR, Kraetz J, Pericin C, Riesterer L, Sallmann A, Ziel R, Jaques R 1978 Pharmacological properties of diclofenac sodium and its metabolites. *Scand J Rheumatol* 22 (Suppl): 5-16
- Morán M 1990 An observer blind comparison of diclofenac potassium, piroxicam and placebo in the treatment of ankle sprains. *Curr Med Res Opin* 12: 268-274
- Novoa-Heckel G 1984 Agentes analgésicos: antiinflamatorios no esteroideos. Un nuevo recurso- diclofenac potásico. *Compend Invest Clin Latinoam* 4: 24-27
- Riess W, Stierlin H, Degen P 1978 Pharmacokinetics and metabolism of the anti-inflammatory agent Voltaren. *Scand J Rheumatol* 22 (Suppl): 17-29
- Sallmann AR 1986 The history of diclofenac. *Am J Med* 8 (Suppl 4B): 29-33
- Santos SRCJ, Donzella H, Bertoline MA, Pereira MD, Omosako CE, Portu V 1992 Simplified micromethod for the HPLC measurement of diclofenac in plasma. *Braz J Med Biol Res* 25: 125-128
- Todd PA, Sorkin EM 1988 Diclofenac sodium: a reappraisal of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy. *Drugs* 35: 244-285
- Verstraeten A, Bakshi R 1991 Diclofenac potassium for the treatment of traumatic joint distortion: an open multicentre study. *J Int Med Res* 19: 165-170
- Willis JV, Kendall MJ, Flinn RM 1979 The pharmacokinetics of diclofenac sodium following intravenous and oral administration. *Eur J Clin Pharmacol* 16: 405-410
- Zuckner J 1986 International experience of diclofenac in rheumatoid arthritis. *Am J Med* 80 (Suppl 4B): 39-42