

**LUCAS WILLIAN LEAL BOLDRINA**

Estudo de Biodisponibilidade Comparativa de duas  
Formulações de Fenoximetilpenicilina.

**CAMPINAS**

**Unicamp**

**2011**





---

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
Faculdade de Ciências Médicas

Estudo de Biodisponibilidade Comparativa de duas  
Formulações de Fenoximetilpenicilina.

**LUCAS WILLIAN LEAL BOLDRINA**

Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP para obtenção do título de Mestre em Farmacologia. Sob orientação do Prof. Dr. Ronilson Agnaldo Moreno.

Campinas, 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR  
ROSANA EVANGELISTA PODEROSO – CRB8/6652  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
UNICAMP

B637e      Boldrina, Lucas Willian Leal, 1981-  
              Estudo de biodisponibilidade comparativa de duas  
              formulações de fenoximetilpenicilina. / Lucas Willian Leal  
              Boldrina. -- Campinas, SP: [s.n.], 2011.

              Orientador: Ronilson Agnaldo Moreno  
              Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de  
              Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

              1. Penicilina V. 2. Equivalência Terapêutica. 3.  
              Farmacocinética. 4. Cromatografia Líquida de Alta  
              Pressão. I. Moreno, Ronilson Agnaldo. II. Universidade  
              Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.  
              III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em inglês:** Comparative bioavailability study of two phenoxymethylpenicillin

**Palavras-chave em inglês:**

Penicillin V

Therapeutic Equivalency

Pharmacokinetics

Chromatography, High Pressure Liquid

**Área de concentração:** Farmacologia

**Titulação:** Mestre em Farmacologia

**Banca examinadora:**

Ronilson Agnaldo Moreno [Orientador]

Fernando de Sá Del Fiol

Nelci Fenalti Hoehr

**Data da defesa:** 20-06-2011

**Programa de Pós-Graduação:** Faculdade de Ciências Médicas

---

## Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado

---

Lucas Willian Leal Boldrina

---

**Orientadora(a): Prof(a). Dr(a). Ronilson Agnaldo Moreno**

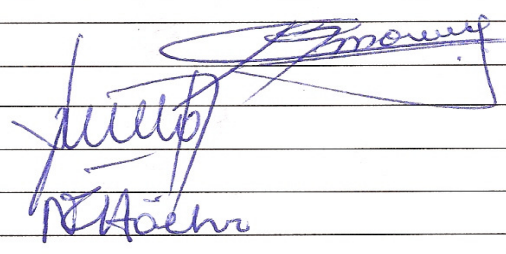
---

### Membros:

Professor (a) Doutor (a) Ronilson Agnaldo Moreno

Professor (a) Doutor (a) Fernando de Sá Del Fiol

Professor (a) Doutor (a) Nelci Fenalti Hoehr



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

---

**Data: 20/06/2011**

---



## DEDICATÓRIA

À **Deus** que permitiu meu nascimento aos 6 meses de gestação e 900 gramas.

À **Nossa Senhora Desatadora de Nós**, auxiliando nos momentos mais difíceis.

Ao Beato, Santo **Karol Józef Wojtyła**, exemplo seriedade, respeito e amor.

**Ao meu pai Alcebíades**, sempre me aconselhou a estudar e buscar pela ciência e pesquisa. Pai exemplar, Te Amo!

À **minha mãe Neusa**, presente em minha carreira acadêmica, desde o início das aulas da FCM. Mãe exemplar, Te Amo!

À **minha irmã Lilian**, que sempre incentivou para não desistir deste sonho! Sou feliz por ser teu irmão! Te Amo!

**Ao meu sobrinho Gabriel**, bebê lindo, presente de Deus para alegrar nossa família! Serei um Tio muito presente em todos os momentos de sua vida, auxiliando em seus estudos e na sua formação moral e ética. Te Amo!

À **minha namorada Rosa Emma**, pela atenção, compreensão, amor e ajuda em todos os momentos. Te Amo!

**Aos meus familiares** pelo carinho e esforços para que eu chegasse até aqui.

**Aos meus avós Firmino e Herminia, Sebastião e Lindaura,**

Pela educação oferecida aos meus pais e exemplo de vida em família e apoio em minha educação e formação profissional.

À Sra. Aparecida e Sr. Antônio, Sra. Márcia, Patrícia e Guilherme, respeitosamente dedico este trabalho.





## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

Ao Professor Dr. Ronilson Agnaldo Moreno, orientador solícito, incentivador, por auxiliar meus passos acadêmicos, pelo exemplo profissional de seriedade, honestidade, zelo, amizade, companheirismo e apoio. Minha gratidão a este ilustre pesquisador que repartiu comigo seus conhecimentos e mostrou que os limites existem para que possamos vencê-los, indo para frente a cada dia, meu profundo respeito e admiração, obrigado.



## AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), por meio do Reitor: Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa.

À Faculdade de Ciências Médicas (FCM/UNICAMP), por meio do Diretor: Prof. Dr. Mario José Abdalla Saad.

À Coordenação Geral dos Cursos de Pós-Graduação da FCM, por meio do Coordenador: José Barreto Campello Carvalheira.

Ao Prof. Dr. Edson Antunes, coordenador do programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

Aos professores Profa. Dra. Nelci Fenalti Höer, Prof. Dr. Rodrigo Ramos Catharino e Profa. Dra. Sisi Marcondes Paschoal, pela participação na minha Qualificação e orientações para concretização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Gilberto de Nucci, pelo início à Pesquisa Clínica na Unicamp.

Ao Prof. Dr. Marcos Dias Fontana (*In Memoriam*), incentivo no início de minhas atividades acadêmicas. Obrigado, “MESTRE”.

À Profa. Dra. Carmen Silvia Bertuzzo, pelo apoio e conhecimento adquirido durante estágio no Laboratório de Genética.

Ao Aché Laboratórios S/A e Eurofarma Laboratórios Ltda, pela produção dos medicamentos do estudo.

Aos professores da Farmacologia da UNICAMP e aos funcionários da Secretaria da Comissão de Pós-Graduação da Unicamp, Marcinha, Bruno Alves Pereira, Rosicler, Cris, Wanderlei, grato por toda informação e ajuda no momento exato de minha vida acadêmica. Deus Ilumine Todos!

Aos profissionais da Unidade Analítica T&E Analítica Comércio e Análises Químicas LTDA, Wagner Polcelli, José Arnaldo D. Favero, Leonardo C. Amstalden; Ao profissional da Unidade Estatística, Gilberto Bernasconi; À profissional do Centro de Equivalência Farmacêutica, Claudia Schumann Radó de Melo e à todos profissionais da Etapa Clínica, Dr. Plínio Trabasso, Dr. Francisco Hideo Aoki, Dr. Ney Carter do Carmo Borges, Enfermeira Angélica de Toledo e toda equipe profissional da clínica São Lucas.



Ao Investigador Principal e orientador Prof. Dr. Ronilson Agnaldo Moreno e ao Investigador Clínico Prof. Dr. Ney Carter do Carmo Borges.

Aos funcionários da Synchronphar pela atenção e apoio na documentação, em especial ao Sandro, Josimara, Carlos, Melissa, Eduardo, Marcos, Gustavo e a todos que de alguma maneira me auxiliaram no desenvolvimento do trabalho;

À Ana Cristina e seu Marido Ariovaldo pelo apoio e dedicação durante anos de pesquisa e auxílio nas análises e interpretação dos resultados.

À Andréa e seu Marido Ramon pelo apoio e dedicação no início do trabalho.

Aos voluntários sadios não só deste trabalho, pela confidencialidade, seriedade, paciência, participação, confiança e pontualidade, pois contribuíram para a realização desta etapa da minha vida profissional e participaram da concretização de um sonho, espero ter contribuído na melhoria da qualidade de vida de vocês.

Aos meus amigos de trabalho na PUC, em especial à Lourdes, Mari e Cris que sempre me incentivaram e apoiaram em todo momento para a concretização deste trabalho, também ao José Rosa, Ivani, Betinha, Jayme, Paulo e Sueli.

Aos professores da PUC Sorocaba, Vilma, Heitor, Eliana, Henry, Walter, Minoru, Bistrichi, Judite, Marco Antônio, Marco Túlio, Paulo Renato, Julio Tamer, Luciano, Paulo Inácio, Aída, Gislaine, Maria Julieta, Clemente Reinaldo, Pedro, Marcela, Maria Cecília, Cibele, Sandra Regina, Priscila, Mário e a todos que de alguma maneira contribuíram para minha formação e crescimento profissional.

Aos professores da UNISO do curso de Farmácia e Bioquímica, em especial, ao Reitor Prof. Dr. Fernando de Sá Del Fiol, pela orientação durante a formação acadêmica, incentivo ao mestrado e participação na Defesa.

À Profa. Dra. Gislaine Ventrucci pela participação na Defesa.

Aos pesquisadores do Instituto Adolfo Lutz, pelo incentivo à área da pesquisa;

À Bióloga Lucimara por me apresentar à Unicamp e à Farmacêutica Maria Cláudia por apresentar a Farmacologia Clínica;

Várias foram as pessoas, colegas de profissão, amigos e instituições que contribuíram para a realização deste trabalho; a todas, mesmo que não relatadas, expresso os meus agradecimentos.



## Oração pelas mães



Louvado sejas, meu Senhor, pelas mães. Pela mãe de cada um de nós, por tua mãe, Maria de Nazaré, que quiseste que também fosse nossa mãe, por todas as mães, as vivas e as falecidas. Louvado sejas meu Senhor, pelas mães sobrecarregadas pelo trabalho, no emprego ou em casa, pelas mães doadoras de muitas vidas, pelas mães não amadas por seus filhos e pelas mães que morreram ao darem à luz uma vida nova.

Louvado sejas, meu Senhor, pela dedicação que cada um de nós recebeu de sua mãe, pela doação de todas as mães a seus filhos. Louvado sejas, meu Senhor, porque pelo amor das mães revelas o rosto materno de teu amor a todos nós! Parabéns à todas as Mães!

*“É graça divina começar bem.*

*Graça maior persistir na caminhada certa.*

*Mas graça das graças é não desistir nunca”.*

***D. Helder Câmara***





## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a bioequivalência de Fenoximetilpenicilina comprimido (500.000 UI) da Aché Laboratórios S/A, Meracilina formulação teste e Pen-Ve-Oral<sup>®</sup>, produzido por Eurofarma Laboratórios Ltda., Brasil, em voluntários sadios de ambos os sexos. O estudo foi do tipo aberto, randomizado, cruzado, com 2 tratamentos, 2 seqüências, 2 períodos, com uma semana de intervalo entre as doses, nos quais os voluntários receberam em cada período a formulação teste e a formulação de referência. Uma única dose de cada formulação foi administrada a 26 voluntários sadios. A seqüência de tratamento foi determinada por uma lista de randomização gerada automaticamente pelo sistema SCPCM (Sistema de Controle de Pesquisas Clínicas de Medicamentos). As amostras de plasma foram coletadas num intervalo de 36 horas. As concentrações de Fenoximetilpenicilina foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector UV-visível. A partir da curva da concentração de Fenoximetilpenicilina no plasma vs tempo foram obtidos os parâmetros farmacocinéticos:  $ASC_{0-t}$ ,  $ASC_{0-inf}$ , e  $C_{max}$ . As médias geométricas da Meracilina e Pen-Ve-Oral<sup>®</sup> foram: 99.89% (90% CI = 94,62%; 105,46%) para  $ASC_{0-t}$  99.76 (90% CI = 94,09%; 105,78%) para  $ASC_{0-inf}$  101.11% (98.61% - 103.37% ) para  $C_{max}$ . Diante dos resultados encontrados de  $C_{max}$  e  $ASC_{0-t}$  e estando dentro do intervalo de confiança entre 80% e 125% proposto pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pelo Food and Drug Administration (FDA), conclui-se que a Meracilina – comprimidos (500.000 UI) é bioequivalente ao Pen-Ve-Oral<sup>®</sup>, de acordo com sua taxa de extensão e biodisponibilidade.

**Palavras-chaves:** 1. Penicilina V. 2. Equivalência Terapêutica. 3. Farmacocinética. 4. Cromatografia Líquida de Alta Pressão.



## ABSTRACT

This study aimed to compare the bioequivalence between Phenoxymethylpenicillin tablets (500.000 UI), a test formulation Meracilina by Aché Laboratórios S/A, and the Pen-Ve-Oral<sup>®</sup> tablet formulation elaborated by Eurofarma Laboratórios Ltda., Brazil, in healthy human volunteers of both sexes. The study was carried out by using an open, randomized-crossover design, consisting of a two-period treatment, in which the volunteers received, in each period, the test formulation or the reference formulation, with a seven-day washout interval. A single dose of each formulation was administered to 26 healthy volunteers. The treatment sequence was determined by a randomization list, automatically produced by the Clinical Trial Medicine Control System. Plasma samples were obtained over a 36-hour period. Phenoxymethylpenicillin concentrations were analyzed by high pressure liquid chromatography and UV-visible detection (HPLC-UV). From the Phenoxymethylpenicillin plasma concentration vs. time curves, the following pharmacokinetic parameters were obtained:  $ASC_{0-t}$ ,  $ASC_{0-inf}$ , and  $C_{max}$ . The mean of Meracilina/Pen-Ve-Oral<sup>®</sup> 500.000 UI percent geometric mean was 99.89% for  $AUC_{0-t}$ , 100.86% for  $AUC_{0-\infty}$  and 101.11% for  $C_{max}$ . The 90% confidence intervals were 94.62 – 105.46%, 95.22 – 106.83% and 98.61 – 103.87%, respectively. Considering the results of  $C_{max}$  and  $AUC_{0-t}$  within the confidence interval between 80% and 125% proposed by the Brazilian National Agency for Sanitary Surveillance (Anvisa) and for the US Food and Drug Administration (FDA), it was concluded that Meracilina tablet (500.000UI) by Eurofarma Laboratórios Ltda. is bioequivalent to Pen-Ve-Oral<sup>®</sup> tablet for both rate and extent of bioavailability.

**Keywords:** 1.Penicillin V, 2. Therapeutic Equivalency, 3.Pharmacokinetics, 4.High Pressure Liquid Chromatography.



## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>6-APA</b>	Ácido 6-aminopenicillanic acid
<b>AFNA</b>	Ácido fenoxiacético;
<b>ANOVA</b>	Análise de variância;
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária;
<b>ASC<sub>(0-t)</sub></b>	Área sob a curva de concentração plasmática do fármaco vs tempo calculada pelo método dos trapézios do tempo 0 (zero) ao tempo t (em ngxh/mL);
<b>ASC<sub>(0-∞)</sub></b>	Área sob a curva de concentração plasmática do fármaco vs tempo calculada pelo método dos trapézios projetada do tempo 0 ao infinito (em ngxh/mL);
<b>BE</b>	Bioequivalência
<b>BPC</b>	Boas Práticas Clínicas;
<b>BPFQC</b>	Boas práticas de fabricação e controle de qualidade;
<b>β-HCG</b>	Beta-Human Chorionic Gonadotrophin;
<b>CEP</b>	Comitê de Ética em Pesquisa;
<b>C.H.B.C.M.</b>	concentração da hemoglobina corpuscular
<b>CLAE</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência;
<b>C<sub>max</sub></b>	Concentração plasmática máxima;
<b>CONEP</b>	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa;
<b>CQ</b>	Controle de qualidade;
<b>CQA</b>	Controle de qualidade alto;
<b>CQB</b>	Controle de qualidade baixo;
<b>CQM</b>	Controle de qualidade médio;
<b>CRF/SP</b>	Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo;
<b>CV</b>	Coefficiente de variação;
<b>DCB</b>	Denominação comum brasileira;
<b>DCI</b>	Denominação comum internacional;
<b>DP</b>	Desvio padrão;
<b>DPR</b>	Desvio Padrão Relativo



<b>ECG</b>	Eletrocardiograma;
<b>EMEA</b>	European Medicines Agency;
<b>F</b>	Fator do Teste F;
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration Agency;
<b>FMP</b>	Fenoximetilpenicilina;
<b>GL</b>	Graus de liberdade;
<b>GRP</b>	Good Recruiement Praticce
<b>h</b>	Hora;
<b>hh:mm</b>	hora:minuto
<b>HCG</b>	Human Chorionic Gonadotrophine;
<b>HPLC</b>	High Pressure Liquid Chromatograpy;
<b>HIV</b>	Human immunodeficiency virus;
<b>IC</b>	Intervalo de confiança;
<b>IFPMA</b>	International Federation of Farmaceutical Manufacturers;
<b>IMC</b>	Índice de massa corpórea;
<b>IMS</b>	Intercontinental Marketing Services Health Inc
<b>Kg</b>	Quilo;
<b>L</b>	Litro;
<b>LIQ</b>	Limite inferior de quantificação;
<b>L/L</b>	líquido/líquido;
<b>Log</b>	Logaritmo;
<b>Ltda</b>	Limitada;
<b>mg</b>	Miligrama;
<b>min.</b>	Minuto;
<b>mL</b>	Mililitro;
<b>mm</b>	Milímetro;
<b>n</b>	Tamanho da amostra;
<b>ng/mL</b>	Nanograma por mL;
<b>°C</b>	Grau centígrado;
<b>OMC</b>	Organização mundial do comércio;
<b>p</b>	Poder do teste;





<b>PA</b>	Pressão arterial;
<b>PI</b>	Padrão interno;
<b>P &amp; D</b>	Pesquisa e Desenvolvimento;
<b>PBPs</b>	Penicillin Binding Proteins;
<b>QM</b>	Quadrado Médio;
<b>R<sup>2</sup></b>	Coefficiente de correlação;
<b>RDC</b>	Resolução da diretoria colegiada;
<b>R.D.W.</b>	Red Cell Distribution Width;
<b>REBLAS</b>	Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde;
<b>SPE</b>	Solid-phase extraction;
<b>SQ</b>	Soma dos Quadrados;
<b>T</b>	Teste;
<b>T ½</b>	Meia-vida de eliminação do fármaco;
<b>TCLE</b>	Termo de consentimento livre e esclarecido;
<b>TGO</b>	Transaminase glutamil oxalacética;
<b>TGP</b>	Transaminase glutamil pirúvica;
<b>T<sub>max</sub></b>	Tempo para se atingir a concentração plasmática máxima;
<b>UI</b>	Unidade Internacional
<b>UI/mL</b>	Unidades internacionais por mL;
<b>UNICAMP</b>	Universidade Estadual de Campinas;
<b>UTI</b>	Unidade de terapia intensiva
<b>UV</b>	Ultravioleta;
<b>UV/Vs</b>	Ultravioleta/visível
<b>Valor-p</b>	Probabilidade de significância
<b>V.C.M.</b>	Volume Corpuscular Médio
<b>vs</b>	Versus;
<b>WHO</b>	World Health Organization;
<b>µg</b>	Micrograma;
<b>µg/mL</b>	Micrograma por mililitro;
<b>µL</b>	Micro litro;
<b>γGT</b>	Gama Glutamil Transferase



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Participação dos Genéricos no Mercado Farmacêutico Mundial .....	73
Tabela 2: Horário da dieta padronizada nos dois períodos de estudo .....	108
Tabela 3: Dieta administrada nos dois períodos de internação .....	108
Tabela 4: Descrição das Etapas do Protocolo Clínico.....	110
Tabela 5: Descrição das amostras de retenção .....	111
Tabela 6: Descrição das condições cromatográficas para o estudo.....	112
Tabela 7: Padrões de Referência usados na análise da Fenoximetilpenicilina.....	112
Tabela 8: Descrição dos voluntários .....	125
Tabela 9: Estatística descritiva dos dados antropométricos da população em estudo.....	126
Tabela 10: Descrição da história clínica dos voluntários .....	126
Tabela 11: Avaliação dos Sistemas da História Clínica Pré-estudo.....	126
Tabela 12: Descrição da História Clínica e Exames Laboratoriais Pré e Pós-estudo.....	127
Tabela 13: Atrasos dos pontos de coleta .....	130
Tabela 14: Eventos Adversos relatados pelos voluntários durante a internação.....	130
Tabela 15: Dados para a construção da curva de calibração resposta em meio solvente (concentração de padrão interno de 1,0 mg/L .....	131
Tabela 16: Resultados de precisão para o processo em solvente .....	132
Tabela 17: Resultados de Exatidão .....	133
Tabela 18: Dados para a construção da curva de calibração (resposta) em meio biológico (concentração de padrão interno 1,0 mg/L).....	133
Tabela 19: Porcentagem de Recuperação de Fenoximetilpenicilina (FMP) .....	134
Tabela 20: Porcentagem de Recuperação do padrão interno Fenitoína .....	135
Tabela 21: Limite de Quantificação em plasma.....	135
Tabela 22: Resultados de precisão (DPR) para três faixas de concentração: baixa, média e alta. .....	136
Tabela 23: Resumo precisão resultado três faixas de DPR (baixa, média e alta).....	137
Tabela 24: Resultado de exatidão para três faixas de concentração de Fenoximetilpenicilina..	137
Tabela 25: Resumo exatidão para três faixas de concentração de FMP.....	138
Tabela 26: Alterações do fluxo e comprimento de onda.....	138
Tabela 27: Resultados para modificação em fluxo e comprimento de onda.....	139
Tabela 28: Resultados da análise das amostras recém preparadas - Análise Inicial Tempo Zero .....	139
Tabela 29: Resultado do estudo de estabilidade - curta duração.....	140
Tabela 30: Considerações estatísticas para a estabilidade de curta duração .....	140
Tabela 31: Resultados do estudo de estabilidade com 3 ciclos de congelamento e descongelamento .....	140
Tabela 32: Estabilidade após 3 ciclos de congelamento e descongelamento.....	141
Tabela 33: Resultados de estudo de estabilidade - tempo e condições de análise.....	141
Tabela 34: Considerações estatísticas para a estabilidade pós-processamento .....	141
Tabela 35: Resultado de estudo de estabilidade - soluções padrão (após 4 dias).....	142
Tabela 36: Considerações estatísticas para a estabilidade da solução padrão.....	142
Tabela 37: ANOVA para $\ln(C_{max})$ .....	144
Tabela 38: ANOVA para $\ln(ASC_{0-t})$ .....	144
Tabela 39: ANOVA para $\ln(ASC_{0-\infty})$ .....	145
Tabela 40: Médias e (IC 90%) dos parâmetros farmacocinéticos.....	147
Tabela 41: Média IC (90%) e conclusão para a razão das médias de $C_{max}$ , $ASC_{0-t}$ e $ASC_{0-\infty}$ . Dados transformados em logaritmo natural .....	148
Tabela 42: Análise da diferença individual de $T_{max}$ . (teste menos referência).....	148



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Parâmetros farmacocinéticos avaliados na BE: $ASC_{0-t}$ , $T_{max}$ , $C_{max}$ .....	56
Figura 2: Crescimento no número de registros de medicamentos genéricos no mercado brasileiro.....	64
Figura 3: Procedimentos de extração em fase sólida .....	79
Figura 4: Esquema simplificado do Sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	81
Figura 5: Detector de Ultravioleta Fixo .....	85
Figura 6: Estrutura Química da Fenitoína .....	87
Figura 7: Estrutura básica da molécula de Penicilina.....	92
Figura 8: Estrutura do ácido 6-amino penicilâmico (6-APA) .....	92
Figura 9: Esquema da hidrólise de penicilina G catalisada pela enzima penicilina G acilase....	93
Figura 10: Estrutura Química da Fenoximetilpenicilina .....	95
Figura 11: Estrutura tridimensional da Fenoximetilpenicilina.....	95
Figura 12: Curva média da concentração plasmática vs tempo de Pen-Ve-Oral <sup>®</sup> (referência) e Meracilina (teste). .....	148



## LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Ítems da História Clínica e Exames Físicos a serem referenciados no CRF .....	105
Quadro 2: Exames Laboratoriais realizados no processo de seleção dos voluntários.....	105
Quadro 3: Aleatorização da medicação.....	106
Quadro 4: Análise do hemograma antes e depois da realização do estudo .....	128
Quadro 5: Análise dos parâmetros bioquímicos antes e depois da realização do estudo .....	129





## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Número registros medicamentos genéricos .....	65
Gráfico 2: Evolução da participação de mercado (Unidades).....	66
Gráfico 3: Curva de Calibração - padrões em solução diluente. ....	132
Gráfico 4: Curva de calibração - padrões em matriz biológica.....	134



# SUMÁRIO

RESUMO .....	XVII
ABSTRACT .....	XIX
<b>1- INTRODUÇÃO.....</b>	<b>41</b>
<b>2- OBJETIVOS.....</b>	<b>45</b>
<b>2.1 OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>47</b>
<b>2.2 MÉTODOS .....</b>	<b>47</b>
<b>3 – REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>49</b>
<b>3.1 BIOEQUIVALÊNCIA .....</b>	<b>51</b>
<b>3.2 BIODISPONIBILIDADE .....</b>	<b>51</b>
3.2.1 <i>Biodisponibilidade absoluta .....</i>	<i>52</i>
3.2.2 <i>Biodisponibilidade relativa.....</i>	<i>52</i>
3.2.3 <i>Parâmetros para Avaliação da Bioequivalência.....</i>	<i>55</i>
3.2.3 <i>Conceitos Técnicos .....</i>	<i>56</i>
<b>3.3 ESTUDOS CLÍNICOS NO BRASIL .....</b>	<b>58</b>
<b>3.4 MEDICAMENTOS .....</b>	<b>60</b>
<b>3.4.1 MEDICAMENTOS SIMILARES .....</b>	<b>60</b>
<b>3.4.2 MERCADO BRASILEIRO DE GENÉRICOS .....</b>	<b>62</b>
3.4.3 <i>Pesquisa Clínica .....</i>	<i>69</i>
3.5 <i>A Indústria Farmacêutica.....</i>	<i>72</i>
3.5.1 <i>Considerações sobre as Indústrias Farmacêuticas do estudo.....</i>	<i>74</i>
<b>3.5.2 FATOR ECONÔMICO .....</b>	<b>75</b>
<b>3.19 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS.....</b>	<b>76</b>
3.19.1 <i>Princípios de Cromatografia .....</i>	<i>76</i>
3.19.2 <i>Métodos Analíticos aplicados a Testes de Bioequivalência .....</i>	<i>76</i>
3.19.3 <i>Extração líquido-líquido.....</i>	<i>78</i>
3.19.4 <i>Extração em Fase Sólida .....</i>	<i>78</i>
3.19.5 <i>Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) .....</i>	<i>80</i>
3.19.6 <i>Detectores para CLAE.....</i>	<i>82</i>
<b>3.20 A TÉCNICA HPLC.....</b>	<b>83</b>
3.20.1 <i>Espectrofotometria no UV/VIS.....</i>	<i>83</i>
3.20.2 <i>Padrão Interno.....</i>	<i>86</i>
<b>3.21 ANTIBIÓTICOS .....</b>	<b>88</b>
3.21.1 <i>Histórico da Penicilina .....</i>	<i>88</i>
3.21.2 <i>Mecanismo de Ação dos antibióticos <math>\beta</math>-lactâmicos .....</i>	<i>90</i>
3.21.3 <i>Mecanismo de resistência aos <math>\beta</math>-lactâmicos.....</i>	<i>90</i>
3.21.3.1 <i>Carbapenemases.....</i>	<i>91</i>
3.22 <i>Química das Penicilinas .....</i>	<i>91</i>
3.22.1 <i>Classificação.....</i>	<i>93</i>
3.22.2 <i>Penicilinas Semi-Sintéticas.....</i>	<i>93</i>
3.22.3 <i>Penicilina G.....</i>	<i>94</i>
3.22.4 <i>Penicilina V (Fenoximetilpenicilina).....</i>	<i>94</i>
3.22.5 <i>Estrutura Química da Fenoximetilpenicilina.....</i>	<i>95</i>
3.22.6 <i>Farmacocinética da Penicilina V .....</i>	<i>96</i>



3.22.7	<i>Indicação Terapêutica da Penicilina V</i> .....	96
3.22.8	<i>Contra-indicação da Penicilina V</i> .....	96
3.22.9	<i>Interações medicamentosas da Penicilina V</i> .....	97
3.22.10	<i>Eventos adversos da Penicilina V</i> .....	97
<b>3.22.3.1</b>	<b>SULFONAMIDAS</b> .....	97
<b>3.23</b>	<b>ÉTICA EM ESTUDOS CLÍNICOS</b> .....	99
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>101</b>
<b>4.1</b>	<b>ETAPA CLÍNICA</b> .....	<b>103</b>
4.1.1	<i>Elaboração do Protocolo Clínico e Aprovação pelo CEP</i> .....	103
4.1.2	<i>Definição do plano de estudo</i> .....	103
4.1.3	<i>População</i> .....	104
4.1.4	<i>Recrutamento, seleção e avaliação clínica dos voluntários</i> .....	104
4.1.6	<i>Aleatorização da Medicação</i> .....	106
4.1.7	<i>Confinamento dos Voluntários</i> .....	107
4.1.8	<i>Horários de jejum e alimentação</i> .....	107
4.1.9	<i>Dieta padronizada nos dois períodos de estudo</i> .....	108
4.1.10	<i>Administração do medicamento teste e referência</i> .....	109
4.1.11	<i>Cronograma de coleta das amostras</i> .....	109
4.1.12	<i>Processamento e armazenamento inicial das amostras</i> .....	110
4.1.13	<i>Armazenamento e transporte das amostras</i> .....	110
4.1.14	<i>Amostras de retenção–inventário</i> .....	110
4.1.15	<i>Avaliação Pós- estudo</i> .....	111
<b>4.2</b>	<b>ETAPA ANALÍTICA</b> .....	<b>112</b>
4.2.1	<i>Materiais e reagentes usados na análise da Fenoximetilpenicilina</i> .....	112
4.2.2	<i>Procedimento para o tratamento de fluído biológico (plasma)</i> .....	113
4.3	<i>Validação da Metodologia Analítica</i> .....	114
4.4	<i>Validação do método analítico</i> .....	114
<b>4.5</b>	<b>ETAPA ESTATÍSTICA</b> .....	<b>121</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>123</b>
<b>5.1</b>	<b>ETAPA CLÍNICA</b> .....	<b>125</b>
5.1.1	<i>Dados da População</i> .....	125
5.1.2	<i>História Clínica Pré-Estudo</i> .....	126
5.1.3	<i>Exames Laboratoriais Pré e Pós-estudo</i> .....	127
5.1.4	<i>Resultados da Etapa Clínica</i> .....	127
5.1.5	<i>Desvios de Protocolo</i> .....	130
5.1.6	<i>Ocorrência de Eventos Adversos</i> .....	130
<b>5.2</b>	<b>ETAPA ANALÍTICA</b> .....	<b>131</b>
5.2.1	<i>Resultados da Etapa Analítica</i> .....	131
5.2.2	<i>Linearidade</i> .....	131
5.2.3	<i>Precisão:</i> .....	132
5.2.4	<i>Exatidão:</i> .....	133
5.2.5	<i>Linearidade:</i> .....	133
5.2.6	<i>Recuperação:</i> .....	134
5.2.7	<i>Limite de Quantificação (LQ):</i> .....	135
5.2.8	<i>Precisão:</i> .....	136
5.2.9	<i>Exatidão:</i> .....	137
5.2.10	<i>Robustez</i> .....	138



5.2.11 Estabilidade .....	139
5.2.12 Estabilidade de curta duração.....	140
5.2.13 Estabilidade após ciclos de congelamento.....	140
5.2.14 Estabilidade no tempo e condições de análise/pós processamento .....	141
5.2.15 Estabilidade das soluções padrão.....	142
<b>5.3 CONDIÇÕES GERAIS SOBRE AS ESTABILIDADES.....</b>	<b>142</b>
<b>5.4 - ETAPA ESTATÍSTICA .....</b>	<b>144</b>
<b>5.4.1 TABELAS DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA .....</b>	<b>144</b>
<b>5.4.2 TABELAS DOS INTERVALOS DE CONFIANÇA .....</b>	<b>146</b>
<b>6 - DISCUSSÃO.....</b>	<b>149</b>
<b>7 – CONCLUSÃO .....</b>	<b>155</b>
<b>8 – REFERÊNCIAS .....</b>	<b>159</b>
<b>9 – ANEXOS .....</b>	<b>171</b>





## 1- INTRODUÇÃO



A política de medicamentos é um conjunto de diretrizes cuja finalidade é assegurar à população, medicamentos em quantidade suficiente, seguros, eficazes e de boa qualidade (1).

O alto custo com medicamentos e os reajustes de preço acima dos índices de inflação mantiveram a indústria farmacêutica brasileira como alvo de intenso e acelerado debate (2).

Diante disso, há um grande desafio: como proteger a população, que necessita do medicamento, e a Indústria que precisa ter lucro para investir no desenvolvimento de novos medicamentos. No mundo inteiro, governos tentam encontrar esse equilíbrio por meio de um controle cada vez mais rigoroso sobre as indústrias farmacêuticas (3).

O Brasil por meio da lei 9.787/99, conhecida com lei dos genéricos, publicada em 10 de fevereiro de 1999, realizou importante mudança neste setor, garantindo o acesso ao medicamento (4).

De acordo com Porta (5), os medicamentos genéricos devem satisfazer os mesmos padrões de qualidade que o produto original, ou inovador, além de ser clinicamente intercambiável com o medicamento referência, em geral, isso pode ser feito por meio de ensaios de bioequivalência.

A equivalência terapêutica ou intercambialidade entre dois produtos pode ser determinada por avaliações diretas (ensaios clínicos de longa duração) e indiretas (estudos de bioequivalência). Os ensaios clínicos são longos, envolvem um grande número de pacientes e possuem custo elevado. Já os estudos de bioequivalência podem comprovar esta intercambialidade através de métodos alternativos mais rápidos e seguros (6).

O medicamento analisado neste estudo é a Penicilina V ou Fenoximetilpenicilina, um derivado biossintético do ácido 6-amino-penicilânico, resultante da adição de fenoxiacetamida ou ácido fenoxiacético aos meios de cultura do *P.chrysogenum* tendo sido descoberta por Behrens e col. em 1948, sendo o substituto ativo por via oral da penicilina G-procaína e G-benzatina na profilaxia febre reumática (7).

Em 1928, Alexander Fleming observou que uma placa de cultura, na qual estavam sendo cultivados estafilococos, fora contaminada com um fungo que havia provocado lise das bactérias presentes na vizinhança da placa, fungo esse pertencente ao gênero *Penicillium*. Fleming isolou o fungo em uma cultura pura e demonstrou que ele produzia uma substância antibacteriana, que ele chamou de penicilina (8,9).

A vantagem da penicilina V em relação à penicilina G é estabilidade em meio ácido, conferindo uma melhor absorção no trato gastrointestinal.

Penicilina V, em dose oral equivalente a penicilina G, confere concentrações plasmáticas duas a cinco vezes maiores que as obtidas com a penicilina G.

Ativa contra a maioria das bactérias gram-positivas não produtoras de betalactamases, anaeróbios e alguns gram negativos (10).

Atua por inibição da síntese da parede celular e ativação do sistema autolítico endógeno da bactéria (11). É indicada nas infecções leves por germes sensíveis (estreptococos e pneumococos), principalmente faringites e amigdalites (12), sendo utilizada também nas otites (13).

É utilizada também como primeira escolha para infecções de faringoamigdalites, escarlatina, erisipela, meningite causada por *Neisseria meningitidis*, pneumonia de aspiração, sífilis, tétano, leptospirose, gangrena gasosa e actinomicose (14).

A Penicilina V é bem tolerada por crianças e indicada como substituto da penicilina-procaína e possui baixos efeitos tóxicos (15) é uma penicilina natural e mantém-se em uso até hoje (14).

## **2- OBJETIVOS**



## **2.1 Objetivo geral**

Comparar a Bioequivalência da formulação Meracilina<sup>®</sup> (teste) - Aché Laboratórios Farmacêuticos S/A, atinge níveis plasmáticos equivalentes aos da formulação de Pen-Ve-Oral<sup>®</sup> (referência), produzido pela Eurofarma Laboratórios Ltda, administrada em voluntários sadios.

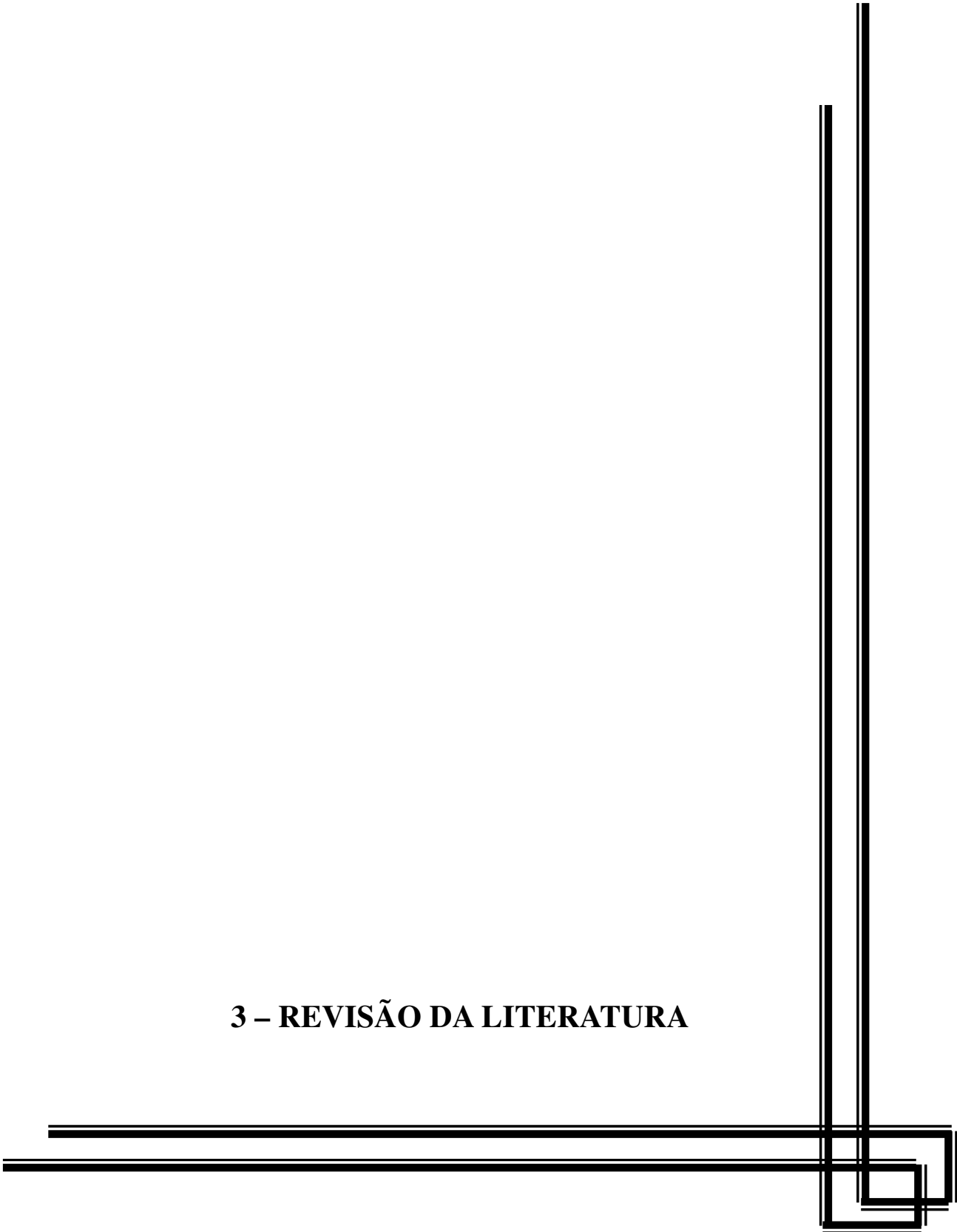
## **2.2 Métodos**

- Elaborar e submeter ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) o protocolo de estudo de Biodisponibilidade relativa/Bioequivalência;
- Planejar, elaborar o desenho do estudo e determinar o tamanho da amostra (número de voluntários);
- Desenvolver e validar os métodos de extração e quantificação das amostras biológicas, utilizando a técnica HPCL acoplado ao detector UV;
- Avaliar a estabilidade dos fármacos em plasma humano;
- Obter e analisar as amostras biológicas dos voluntários;
- Determinar os parâmetros farmacocinéticos;
- Analisar estatisticamente através de programas específicos validados, os dados das concentrações encontradas nos pontos de coleta definidos no protocolo de estudo.





### **3 – REVISÃO DA LITERATURA**



Há uma grande quantidade de medicamentos disponível no mercado mundial, mas segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), um terço da população mundial não tem acesso aos medicamentos considerados essenciais. A falta de acesso aos medicamentos é devido aos fatores relacionados aos preços elevados, profissionais treinados inadequadamente para prescrição e distribuição inadequada. Também é fator preocupante o uso inadequado de antibióticos e psicotrópicos. Estimativas da OMS relatam que mais da metade de todos medicamentos que são prescritos, dispensados ou vendidos inadequadamente e que metade dos pacientes não fazem uso correto dos medicamentos (16).

A era de estudos de biodisponibilidade iniciou-se a partir de 1945, com a primeira publicação do conceito de disponibilidade biológica. O desenvolvimento, durante a década de 1960, de técnicas analíticas possibilitou o desenvolvimento de métodos sensíveis o suficiente para permitir a quantificação de fármacos ou metabólitos, inicialmente na urina, e posteriormente no plasma, o que possibilitou a avaliação e comparação da biodisponibilidade de diferentes formulações em voluntários, bem como a demonstração de que diferenças significativas entre estas podem ocorrer (17).

Após a legislação de registro compulsório de medicamentos em 1969, que facilitou a entrada de medicamentos genéricos no mercado canadense, o Drugs Directorate Canadian Federal Department of Health and Welfare começou a utilizar bioequivalência como uma medida para aprovar o registro de um medicamento durante a década de 1970. Este programa, juntamente com outras informações, foi analisado pelo FDA, órgão a editar as primeiras diretrizes para a realização de estudos de bioequivalência em 1977. A aplicação destas diretrizes foi ampliada no Drug Price Competition and Patent Term Restoration Act. De 1984, o qual concedia ao FDA poderes para autorizar a aprovação de fármacos genéricos sem evidências clínicas de segurança ou eficácia, desde que a fármaco seja bioequivalente ao produto inovador.

Entretanto, assumia-se que equivalentes farmacêuticos eram necessariamente equivalentes terapêuticos. Um produto farmacêutico é terapeuticamente equivalente a outro se este contiver a mesma substância ativa e comprovar clinicamente que possui a mesma eficácia e segurança estabelecidas através de ensaios clínicos (18).

Assim, foi demonstrado que a hipótese de que equivalentes farmacêuticos eram terapêuticamente semelhantes estava equivocada. Desde então, tornou-se cada vez maior o interesse em estudos clínicos que garantissem a não inferioridade clínica dos medicamentos. Diante disso, o estudo de biodisponibilidade relativa foi instituído na prática médica como uma forma de assegurar a qualidade do medicamento genérico (18).

### **3.1 Bioequivalência**

O estudo consiste na comparação entre biodisponibilidade de duas formulações farmacêuticas (18).

Os ensaios de bioequivalência são obrigatórios para dois tipos de situações: alteração de uma formulação já existente no mercado ou versões genéricas de um produto inovador. Desta forma, o único objetivo desse estudo é obter evidência de que não há diferença significativa entre a formulação teste e a formulação referência quanto aos parâmetros farmacocinéticos:  $C_{max}$  e ASC (19,20,21).

Os principais parâmetros farmacocinéticos utilizados para a avaliação da biodisponibilidade são:

- O pico de concentração máxima -  **$C_{máx}$** ;
- O tempo para ocorrer o pico -  **$T_{máx}$** ;
- A área sob a curva – **ASC**.

Essas medidas são obtidas diretamente das curvas de concentração sanguínea versus tempo, construídas no estudo.

### **3.2 Biodisponibilidade**

Biodisponibilidade é considerado como a velocidade e a extensão na qual uma molécula ativa é absorvida e torna-se disponível no seu sítio de ação. Considerando-se que a quantidade do fármaco contida no fluido biológico está em equilíbrio com o sítio de ação, a biodisponibilidade é determinada através da medida da concentração do princípio ativo do medicamento em sangue total, soro ou outro fluido biológico apropriado em função do tempo (18), indica a velocidade e a extensão de

absorção de um princípio ativo em forma de dosagem, a partir de sua curva de concentração/tempo na circulação sistêmica ou na excreção urinária (17,22).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define biodisponibilidade como sendo a velocidade e a extensão de absorção de um fármaco em uma forma de dosagem, a partir de sua curva concentração/tempo na circulação sistêmica ou sua excreção na urina, sendo a mesma definição adotada no Brasil pela ANVISA (22).

Segundo Shargel e Yu (23) e Storpirtis (24), a biodisponibilidade de uma formulação farmacêutica pode ser influenciada por dois fatores: fatores relacionados ao indivíduo (idade, sexo, peso corporal e fatores fisiológicos associados) e por fatores relacionados à forma farmacêutica (fármaco, excipientes e técnica de fabricação): tamanho de partícula, forma polimórfica, presença de solvatos ou hidratos, natureza química, solubilidade, tipo e quantidade de excipientes, método de preparação, tipo de granulação, tempo de mistura ou agitação, condições de secagem, velocidade de compressão e instabilidade.

Diante disso, a realização de ensaios de bioequivalência para verificação da equivalência terapêutica entre formulações farmacêuticas é de fundamental importância.

### **3.2.1 Biodisponibilidade absoluta**

É a fração da dose que é efetivamente absorvida após administração extravascular de um medicamento. É calculada tendo como referência a administração do mesmo fármaco por via intravascular, que possui por definição biodisponibilidade igual a 100% (23).

### **3.2.2 Biodisponibilidade relativa**

A bioequivalência entre medicamentos administrados pela mesma via extravascular pode ser avaliada pela comparação de parâmetros farmacocinéticos relacionados à biodisponibilidade, ou seja, à quantidade absorvida e à velocidade do

processo de absorção. Comparam-se dois produtos, administrados por via extravascular, tendo um deles como referência.

Medicamentos bioequivalentes são equivalentes farmacêuticos (mesma forma farmacêutica e quantidade do mesmo princípio ativo) que, ao serem administrados na mesma dose molar, nas mesmas condições experimentais, não apresentam diferenças estatisticamente significativas em relação à biodisponibilidade.

Medicamento genérico é um medicamento similar a um produto de referência ou inovador, que pretende ser com este intercambiável, geralmente produzido após expiração ou renúncia da proteção patentária ou de outros direitos de exclusividade, comprovada a sua eficácia, segurança e qualidade, e designado pela DCB ou, na sua ausência, pela DCI (17).

A bioequivalência conquistou atenção crescente nos últimos 30 anos após evidências de que produtos comerciais contendo a mesma dosagem do fármaco ou parte ativa podem exibir diferenças pronunciadas na resposta terapêutica (25). A partir de então houve um aumento no interesse de se estudar bioequivalência e biodisponibilidade (26).

A introdução de medicamentos genéricos foi um fator importante que trouxe a tona preocupações sobre a biodisponibilidade desses produtos, uma vez que o seu desempenho *in vivo* era totalmente desconhecido (25). Houve também uma preocupação com a garantia da intercambialidade desses produtos com o produto inovador. Com isso foi necessário comprovar e comparar a qualidade, eficácia e segurança dos genéricos com os produtos inovadores, para isso são realizados os ensaios de bioequivalência e biodisponibilidade (22,27).

Nos últimos 10 anos, os estudos de bioequivalência e biodisponibilidade tornaram-se tema de muitas publicações científicas (5,28,29,30,31,32,33,34), devido, principalmente, ao aumento do número de registro de medicamentos genéricos no Brasil.

De acordo com a Resolução RDC nº 16 de 02 de Março de 2007 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (35), dois medicamentos são ditos bioequivalentes quando são administrados na mesma dose molar, nas mesmas condições experimentais e não apresentam diferenças estatisticamente significativas em relação à biodisponibilidade.

Além disso, um medicamento bioequivalente deve ser considerado equivalente farmacêutico, ou seja, conter o mesmo fármaco, isto é, sal ou éster da mesma molécula ativa, na mesma quantidade e forma farmacêutica, podendo ou não conter excipientes idênticos (35).

No Brasil, os estudos de bioequivalência devem ser realizados para aqueles medicamentos cujos testes “in vitro” comprovam a equivalência farmacêutica entre as formulações, e deve utilizar os mesmos lotes testados na equivalência farmacêutica (36).

De acordo com a Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA), produtos farmacêuticos são considerados equivalentes terapêuticos somente se eles são equivalentes farmacêuticos e se deles pode-se esperar obter o mesmo efeito clínico e perfil de segurança quando administrado para pacientes sob condições específicas (35).

Os estudos de bioequivalência podem ser estudos abertos e cruzados ou em algumas situações especiais podem ser feitos em paralelo. Durante a realização do estudo, aos voluntários são administradas a formulação teste e a formulação referência aleatoriamente em períodos distintos, e são realizados geralmente em uma população pequena de voluntários adultos e sadios (37).

A utilização de voluntários sadios é baseada no fato de que diversas doenças podem alterar a biodisponibilidade dos fármacos. Para evitar essas variáveis, os voluntários são submetidos a avaliações clínicas e laboratoriais para que possam comprovar o seu estado de saúde (38).

Geralmente, doses únicas dos medicamentos teste e referência são administradas em períodos diferentes, com o segundo produto somente administrado depois de um intervalo adequado (washout) para garantir que não haja um efeito residual do primeiro fármaco administrado, o que aumentaria artificialmente os resultados. As amostras sanguíneas são coletadas para a quantificação antes e após a administração de cada formulação e em intervalos pré-estabelecidos para obtenção dos perfis farmacocinéticos, necessários para se determinar a bioequivalência.

### 3.2.3 Parâmetros para Avaliação da Bioequivalência

Para a avaliação da biodisponibilidade relativa de dois medicamentos são determinados os parâmetros farmacocinéticos que melhor se correlacionam com os efeitos terapêuticos no organismo (39). Estes parâmetros relacionam-se com a quantidade de fármaco absorvida e a velocidade do processo de absorção (40).

Os parâmetros farmacocinéticos são obtidos das curvas de concentração sanguínea do fármaco versus tempo, e analisado estatisticamente para determinação da bioequivalência.

Os seguintes parâmetros farmacocinéticos são determinados:

a) Área sob a Curva da Concentração Plasmática versus Tempo (ASC): relaciona-se com a quantidade ou a extensão de absorção do fármaco. Pode ser calculado pelo método trapezoidal e expresso em unidades de concentração vezes tempo.

a1) Área sob a Curva da Concentração Plasmática versus Tempo, de zero ao tempo  $t$  ( $ASC_{0-t}$ ): relaciona-se com a quantidade do fármaco absorvida do tempo zero ao tempo  $t$ , onde  $t$  é a última coleta determinada experimentalmente.

a2) Área sob a Curva da Concentração Plasmática versus Tempo, de zero ao infinito ( $ASC_{0-inf}$ ): relaciona-se com a quantidade ou a extensão de absorção do fármaco do tempo zero projetado até o infinito.

b) Concentração Máxima Atingida no Plasma ( $C_{max}$ ): concentração mais elevada do fármaco atingida na circulação sanguínea após sua administração.

Relaciona-se com a intensidade da resposta farmacologia. O  $C_{max}$  ideal deve estar dentro da janela terapêutica.

c) Meia Vida de Eliminação do Fármaco ( $t_{1/2}$ ): representa o tempo em que a concentração do fármaco no plasma é reduzida a metade. Calcula-se através do logaritmo neperiano ( $\ln$ ) de 2 ( $\ln 2 = 0,693$ ) dividido pela constante de eliminação  $t_{1/2} = \ln 2 / K_e^*$ .

d) Tempo correspondente à Concentração Máxima Atingida no Plasma ( $T_{max}$ ): tempo correspondente para que o fármaco atinja a concentração máxima ( $C_{max}$ ).

\* A constante de eliminação ( $k_e$ ) foi calculada com o valor absoluto do coeficiente angular da reta ajustada por mínimos quadrados aos quatro (ou pelo menos

três) últimos valores quantificáveis log-transformados (logaritmo natural) das concentrações:  $ASC_{0-inf} = ASC_{0-t} + C_{ult}/k_e$ .

A eficácia e segurança do medicamento genérico em relação ao medicamento de referência, na maioria dos casos, são asseguradas por meio de estudos de bioequivalência. Em alguns casos, a bioequivalência pode ser comprovada por estudos *in vitro*, como é o caso dos produtos de uso tópico sem absorção sistêmica (24).

A RE n° 478 de março de 2002 estabelece três medidas fundamentais para a determinação da bioequivalência entre medicamentos (41).

Os principais parâmetros farmacocinéticos (figura 1) utilizados para a avaliação da biodisponibilidade são:

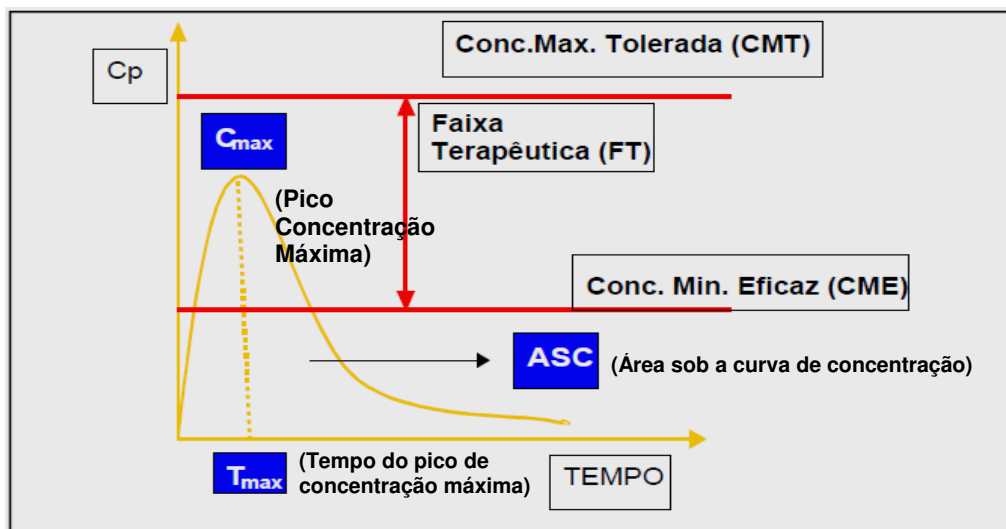


Figura 1: Parâmetros farmacocinéticos avaliados na BE:  $ASC_{0-t}$ ,  $T_{max}$ ,  $C_{max}$

### 3.2.3 Conceitos Técnicos

**3.2.3.1 Medicamento Similar** – que contém o mesmo ou os mesmos princípios ativos, apresenta a mesma concentração, forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica, preventiva ou diagnóstica, do medicamento de referência registrado no órgão federal responsável pela vigilância



sanitária, podendo diferir somente em características relativas ao tamanho e forma do produto, prazo de validade, embalagem, rotulagem, excipientes e veículos, devendo sempre ser identificado por nome comercial ou marca.

**3.2.3.2 Medicamento Genérico** – medicamento similar a um produto de referência ou inovador, que se pretende ser com este intercambiável, geralmente produzido após a expiração ou renúncia da proteção patentária ou de outros direitos de exclusividade, comprovada a sua eficácia, segurança e qualidade, e designado pela DCB ou, na sua ausência, pela DCI.

**3.2.3.3 Medicamento de Referência** – produto inovador registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária e comercializado no País, cuja eficácia, segurança e qualidade foram comprovadas cientificamente junto ao órgão federal competente, por ocasião do registro.

**3.2.3.4 Produto Farmacêutico Intercambiável** – equivalente terapêutico de um medicamento de referência, comprovados, essencialmente, os mesmos efeitos de eficácia e segurança.

**3.2.3.5 Bioequivalência** – consiste na demonstração de equivalência farmacêutica entre produtos apresentados sob a mesma forma farmacêutica, contendo idêntica composição qualitativa e quantitativa de princípio (s) ativo (s), e que tenham comparável biodisponibilidade, quando estudados sob um mesmo desenho experimental.

**3.2.3.6 Biodisponibilidade** – indica a velocidade e a extensão de absorção de um princípio ativo em uma forma de dosagem, a partir de sua curva concentração/tempo na circulação sistêmica ou sua excreção na urina." (22).

### 3.3 Estudos Clínicos no Brasil

Com início de pesquisas farmacêuticas com formulações genéricas, a preocupação do governo em regulamentar tais medicamentos aumentou, o que resultou na publicação do Decreto n° 793, de abril de 1993, que apontou algumas diretrizes para o controle e aprovação dos medicamentos genéricos de interesse no mercado nacional. Com a Lei n° 9782, de 26 de janeiro de 1999, o governo brasileiro instituiu a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a ANVISA, cuja função na área de medicamento é aprovar, registrar, controlar e inspecionar a produção, a comercialização e o uso dos medicamentos no Brasil. A falta de uma política específica para medicamentos farmacêuticos e a inexistência de uma lei de patentes, até 1996, foram as principais causas da existência da multiplicidade de medicamentos que continham o mesmo princípio ativo, porém estavam sendo comercializados por laboratórios diferentes. Para sanar tais problemas, foi instituída a Lei da Política Nacional de Medicamentos Genéricos, a Lei n° 9787 de 11 de fevereiro de 1999, sancionada pelo presidente da República Fernando Henrique Cardoso, que estabelece o que é o medicamento genérico e dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos, sob fiscalização da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Essa resolução foi atualizada com objetivo de melhor rever as exigências através da RDC 84 de março de 2002, com o intuito de detalhar as regulamentações já previstas na RDC 10. Esta nova resolução transforma os anexos da RDC 10 em guias publicados na forma de resoluções (RE), como a RE n° 478 – Guia para provas de bioequivalência de medicamentos Genéricos (42).

O objetivo dessa legislação é aumentar a oferta de medicamentos, o que resultará numa maior concorrência entre os fabricantes e na diminuição dos gastos da população com os mesmos (43).

Os laboratórios farmacêuticos com objetivo de obter registro do medicamento genérico junto à ANVISA deveriam seguir os procedimentos apresentados nas Resoluções de n° 896 e 898, de 29 de maio de 2003 e na Lei n° 9.787, 10 de fevereiro de 1999, que estabeleceram as bases legais para a instituição do medicamento genérico no país (44).

No início, mesmo obedecendo às boas normas de fabricação e controle de qualidade, a produção de medicamentos contendo o mesmo princípio ativo do medicamento de referência, não garante a mesma eficácia clínica, oferecendo risco das doses administradas tornando-as sub-terapêuticas ou tóxicas (24).

Portanto aumentou a atenção para os estudos de biodisponibilidade e bioequivalência, no objetivo é regulamentar e avaliar a bioequivalência de formulações genéricas e de formulações de medicamentos já existentes no mercado (44).

Os parâmetros farmacocinéticos avaliados nos estudos de bioequivalência são aqueles relacionados ao processo de absorção do fármaco a partir da forma farmacêutica administrada (24).

A quantidade de fármaco absorvida é obtida pelo valor da área sob a curva do tempo zero ao último tempo de coleta ( $ASC_{0-t}$ ). A velocidade de absorção é avaliada pela medida da maior concentração plasmática do fármaco atingida experimentalmente ( $C_{max}$ ) após a administração do medicamento. O parâmetro  $T_{max}$  é o tempo relacionado à  $C_{max}$ , também avaliado em estudos de bioequivalência, quando clinicamente relevante (45).

O estudo de bioequivalência deve ser realizado utilizando-se obrigatoriamente o mesmo lote empregado no estudo de equivalência farmacêutica respeitada as restrições de outras normas legais e regulamentares pertinentes e vice-versa. Também se torna necessário o desenvolvimento de metodologias de baixo custo e fácil aplicação, com sensibilidade adequadas para cada tipo de estudo.

Para realizar o registro do medicamento genérico, é necessário o estudo de farmacocinética comparada de fármacos deve ser realizado a fim de comparar se existe bioequivalência entre o medicamento teste e o referência adotado como padrão pelo Ministério da Saúde.

Desse modo, o teste de bioequivalência realizado, de acordo com as Boas Práticas de Clínica (BPC) e de Laboratório (BPL), empregando-se voluntários sadios, é fundamental para garantir que dois medicamentos que comprovaram a equivalência farmacêutica apresentarão o mesmo desempenho no organismo em relação à biodisponibilidade, expressa em termos da quantidade absorvida do fármaco, a partir da forma farmacêutica administrada, e da velocidade do processo de absorção (23,40).

Os testes de bioequivalência são rotineiramente realizados há décadas em vários países, mas pouco estudada no Brasil. Há dezenas de livros produzidos sobre a bioética aplicada a procedimentos terapêuticos inovadores com uso de células tronco ou terapia genética, mas é escassa a literatura em língua portuguesa acerca dos ensaios clínicos com medicamentos realizados em proporção crescente em voluntários sadios. No Brasil, a iniciativa de dar início ao recrutamento de voluntários sadios para participação em ensaios clínicos com medicamentos, coube a um professor da Unicamp, o Médico Farmacologista Dr. Gilberto de Nucci, que recém desembarcara do pós-doutorado em Londres em um instituto de pesquisa do *St Bartholomew's Medical College*, sob orientação de John Robert Vane, em meados de 1982 com o prêmio Nobel de Medicina. Nesta época, as normas regulatórias no país eram escassas.

Os ensaios clínicos, ou experimentos, para teste comparativo de medicamentos em voluntários sadios foram iniciados no Brasil em 1989, no Departamento de Farmacologia da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), sete anos antes da regulamentação da realização deste tipo de pesquisa no país, embora fosse uma prática já estabelecida em países europeus e nos Estados Unidos. No Brasil, apenas em 1996 surgiu uma regulamentação da pesquisa com humanos por meio da Resolução nº 196/96, que se estabeleceu os princípios normativos, a decisão voluntária do participante de pesquisa, a responsabilidade dos pesquisadores, além de determinar o papel dos Comitês de Ética em Pesquisa (CEPs) e da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), do Ministério da Saúde (46).

### **3.4 Medicamentos**

#### **3.4.1 Medicamentos Similares**

Medicamentos similares surgiram no Brasil a partir de 1971, após a suspensão do reconhecimento de patentes em 1969, quando os laboratórios nacionais puderam produzir medicamentos patenteados em outros países, sem a necessidade de apresentar o teste de bioequivalência para o órgão regulador. Dessa forma, esse tipo de

medicamento apresentava obrigatoriamente um nome fantasia (marca) distinto do medicamento original, o que significava que necessitava ser promovido junto à classe médica em igualdade de condições dos medicamentos originais, apesar de apresentarem a mesma composição química.

A denominação de medicamentos similares foi introduzida no mercado brasileiro em 1976, com a publicação da lei 6360/76, chamada lei da Vigilância Sanitária, que assegurou o direito de registro por similaridade a outros medicamentos já registrados.

Os medicamentos similares já se utilizavam fortemente da estratégia de preços reduzidos, comparados com os medicamentos originais, para se diferenciarem no mercado, porém legalmente não poderiam ser “trocados” pelo farmacêutico quando da apresentação de um receituário médico de um produto original (47).

Em 1983, tornou-se obrigatória a impressão do nome genérico (segundo a DCB) da substância ativa nas embalagens dos medicamentos, além da marca comercial (nome de fantasia ou marca registrada (47).

A partir de 1990, a Organização Mundial de Saúde propõe que um genérico só deve ser autorizado para comercialização quando a sua segurança, eficácia e qualidade tenham sido estabelecidas e documentadas, usando como referência o produto inovador (47).

Já em 1991, começou a tramitar na Câmara dos Deputados, em Brasília, o Projeto de Lei nº 2002 que visava abolir as marcas comerciais das embalagens de medicamentos. Este projeto deu origem ao Decreto nº 793, de 05 de abril de 1993, que determinava o uso da denominação genérica do fármaco nas embalagens, em tamanho três vezes maior que o da marca do medicamento. Porém, as diretrizes desse decreto não foram implantadas integralmente, por problemas técnicos e por falta de vontade política (47).

Com a sanção, em 1996, da Lei de Patentes, voltou-se à situação anterior a 1971: medicamentos patenteados no exterior e cuja patente ainda não havia vencido não podem ser copiados, devendo esperar o prazo de vencimento da patente, de 10 a 20 anos. Nesta mesma época em que foi criada a Organização Mundial do Comércio (OMC), o mundo todo passou a ser pressionado para aceitar patentes de medicamentos (47).

Sendo finalmente, em 1999, criado pelo governo federal, os medicamentos genéricos, lei 9787, de 10 de fevereiro de 1999. Além de estabelecer o medicamento genérico, alterou a Lei 6360/76 incluindo entre outras definições a do medicamento similar “aquele que contém o mesmo ou os mesmos princípios ativos, apresenta a mesma concentração, forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica preventiva ou diagnóstica, do medicamento de referência registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária, podendo diferir somente em características relativas ao tamanho e forma do produto, prazo de validade, embalagem, rotulagem, excipientes e veículos, devendo sempre ser identificado por nome comercial ou marca” (22).

Porém, de acordo com a Resolução nº 391, de 9 de agosto de 1999, para realizar-se um estudo de bioequivalência, a empresa deverá comprovar a equivalência farmacêutica em relação ao medicamento de referência, e os resultados devem ser apresentados conforme o guia para modelo de relatório de estudo de equivalência farmacêutica (48).

Então passou a ser questionada as regras para registros dos similares. Não era possível admitir a existência de classes diferentes de medicamentos. Com o objetivo de adequar o mercado de medicamentos brasileiro e seguir as diretrizes da Política nacional de medicamentos, em 29 de maio de 2003, foram publicadas resoluções que estabeleciam novos critérios para registro de medicamentos similares (49), com base na comprovação da equivalência farmacêutica e da biodisponibilidade relativa e critérios para a adequação dos medicamentos similares, já registrados (50,51).

### **3.4.2 Mercado Brasileiro de Genéricos**

A introdução no mercado dos medicamentos genéricos acontece após os medicamentos originais patenteados perderem a sua patente, e dessa forma permitindo que outras indústrias possam produzir um medicamento equivalente ao medicamento original a um preço extremamente mais competitivo. Tais fabricantes não precisarão incorrer em custos de pesquisa e desenvolvimento e não farão gastos de promoção junto

à classe médica, uma vez que os medicamentos genéricos não possuem marca, mas somente o princípio ativo padrão regulamentado pela ANVISA. A lei de patentes foi regulamentada no Brasil apenas em 1996, todos os medicamentos registrados no país até essa data se tornaram potenciais medicamentos de referência para a introdução de genéricos a partir de 1999.

A política de medicamentos envolvendo a produção, a garantia de qualidade, a prescrição, a dispensação e o uso dos mesmos é parte fundamental de uma diretriz preconizada pela Organização Mundial da Saúde para promoção do uso racional de medicamentos genéricos no país, conferindo à população o acesso a medicamentos de qualidade, com preços bem mais baixos. Porém, para que esse objetivo seja alcançado, é fundamental a participação ativa e consciente dos profissionais responsáveis pela prescrição e dispensação dos medicamentos (47).

Nos 10 anos da presença do genérico no mercado brasileiro, houve um investimento por parte das indústrias de US\$ 170 milhões para a construção e modernização de plantas industriais e previsão de investimentos até 2010 em torno de US\$ 354 milhões.

Atualmente, 4 das 6 maiores empresas farmacêuticas são nacionais e essas 4 produzem genéricos (52). A figura 2 demonstra o crescimento do número de registros de medicamentos no mercado brasileiro durante os anos de 2000 a 2010 e o gráfico 1 o número de registros por testes realizados.

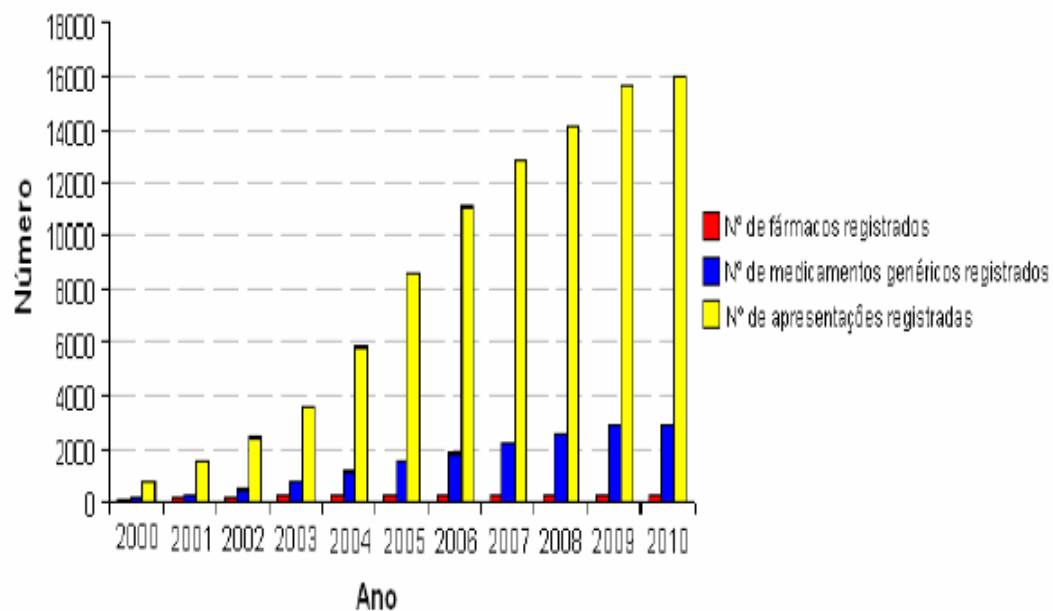


Figura 2: Crescimento no número de registros de medicamentos genéricos no mercado brasileiro.

Fonte: Adaptado de

:[http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/estatistica/1\\_valoresacumulados\\_novo.pdf](http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/estatistica/1_valoresacumulados_novo.pdf) disponível em 23/03/2010.



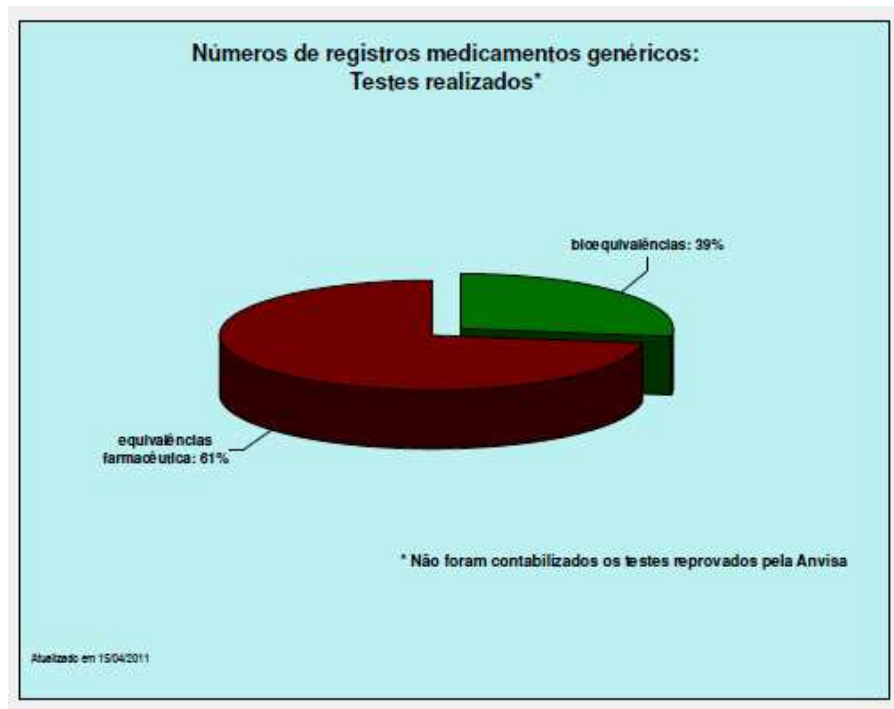


Gráfico 1: Número registros medicamentos genéricos

Fonte:

[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/6a136380439b965f8584b507ebd78d7a/7\\_teste\\_realizados.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/6a136380439b965f8584b507ebd78d7a/7_teste_realizados.pdf?MOD=AJPERES). Acesso em 18 de maio de 2011.

A oportunidade criada com o mercado de medicamentos genéricos levou ao surgimento e crescimento de vários laboratórios nacionais especializados nesse tipo de medicamentos. Uma demonstração desse fato está no ranking dos 10 maiores laboratórios farmacêuticos brasileiros em 2006 de acordo com o Intercontinental Medical Statistics (IMS). Segundo esse levantamento, dentre os dez maiores laboratórios brasileiros, cerca de quatro laboratórios eram produtores nacionais de genéricos. Adicionalmente, segundo dados da ANVISA, em novembro de 2008 já existiam medicamentos genéricos para cerca de 334 fármacos, perfazendo mais de 2.572 medicamentos genéricos diversos registrados e 92 laboratórios fabricantes.

Como parte da transformação de mercado causada pela introdução dos genéricos no país (Gráfico 2), nos últimos anos a penetração desse tipo de medicamentos vem aumentando consistentemente e se percebe uma diminuição sensível da participação dos medicamentos originais e uma acomodação da participação dos medicamentos similares. Um fator crucial para o bom desempenho dos medicamentos

genéricos é o apoio governamental para a sua divulgação que contribui para a diminuição da resistência da população em adquirir um produto distinto do medicamento original.

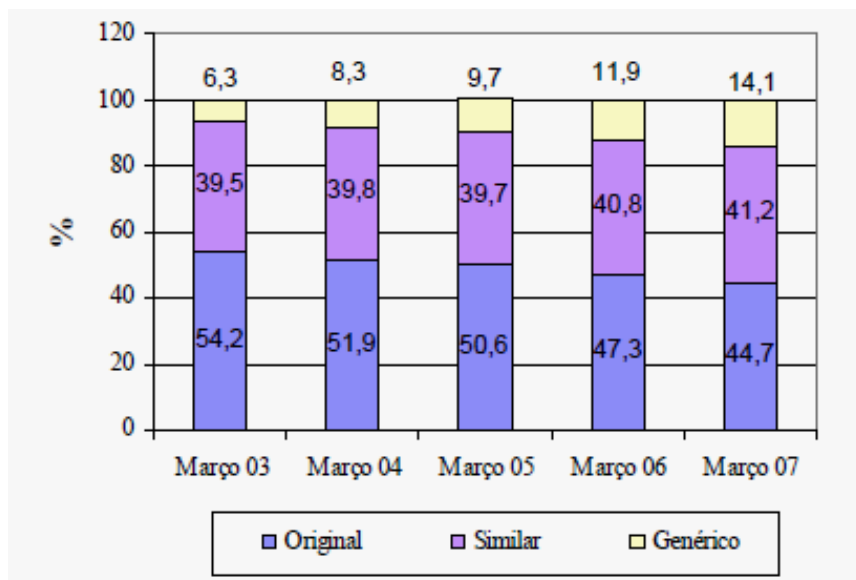


Gráfico 2: Evolução da participação de mercado (Unidades)

Fonte: Intercontinental Medical Statistics (IMS)

Segundo Capanema (53) a infra-estrutura instalada no Brasil para a realização dos testes pré-clínicos e clínicos ainda é bastante precária e não atende às exigências dos órgãos regulatórios internacionais mais rigorosos, como FDA e EMEA. Esse fato tem motivado as empresas nacionais farmacêuticas a realizar seus testes em instituições localizadas em outros países e à medida que as empresas nacionais passam a investir mais em pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos, a demanda por esses testes se torna mais significativa.

Em 2006, o mercado nacional movimentou cerca de US\$ 9,8 bilhões, com 1,4 bilhões de unidades vendidas. Esses valores representam, respectivamente, um aumento de 23,8% e 3,1% em relação aos dados de 2005. Em 2006, o IMS identificou 305 laboratórios operando no Brasil, sendo que 232 são nacionais de propriedade privada, 16 são públicos e 57 são estrangeiros (54).

Trata-se de um mercado extremamente pulverizado, onde o líder em vendas possuía, no final de 2006, apenas 6,59% do mercado total. Os cinco maiores laboratórios possuem apenas 28% do mercado (54).

A participação dos genéricos no mercado nacional vem crescendo de forma constante, saindo de um patamar de 4,88% em 2002 até atingir 10,71% em 2006, em vendas. Trata-se de um mercado dominado pelos laboratórios nacionais; os quatro primeiros laboratórios são nacionais e dominam cerca de 80% do mercado em volume de vendas. O IMS identificou 305 laboratórios operando no Brasil, sendo que 232 são nacionais de propriedade privada, 16 são públicos e 57 são estrangeiros (54).

O *ranking* específico dos laboratórios que atuam no segmento de genéricos no Brasil mostra o domínio dos laboratórios nacionais. Três laboratórios nacionais dominam 70% do mercado de medicamentos genéricos, tanto em valor quanto em unidades vendidas (54).

Estudo do *IMS Health*, no ano de 2010, aponta uma expansão sem precedentes no mercado “Pharmerging”. Este termo é a nova classificação adotada pelo *Intercontinental Marketing Services Health Inc. (IMS)*, a fim de definir os 17 mercados emergentes, de alto potencial em crescimento farmacêutico, no período de 2009 a 2013, no qual o Brasil está incluído. É previsto que a expansão no faturamento do mercado farmacêutico mundial seja de US\$ 90 bilhões e que permitirá crescimento anual de 48% na economia mundial em 2013, muito acima dos 37% registrados em 2009. O mesmo estudo indica mudanças significativas no cenário econômico global e de saúde, incluindo aumento dos níveis de acesso e financiamento à saúde.

O Brasil tem presença neste mercado, apresenta crescimento da ordem de US\$10 bilhões/ano. Com esta conjuntura, o país se destaca em 9º no *ranking* mundial em volume financeiro, ultrapassando economias como Canadá, Rússia e Índia (55).

Este mercado possui características distintas daquelas do mercado de medicamentos de marca. A discussão a respeito da competitividade da indústria farmacêutica nacional somente faz sentido em termos de segmento de genéricos. Ela não existe no caso dos produtos patenteados e não há nenhuma perspectiva de deixar de ser a médio e longo prazos (56).

O sistema de proteção patentária é um dos fatores limitantes na concorrência em preços. Portanto o segmento de produtos genéricos é possível a concorrência de preços. Expirada a patente, permite-se a entrada de outros produtos ao mercado, o que provoca queda dos preços. Neste segmento a propaganda e a inovação do produto tem

importância secundária, quanto que a tecnologia de processo e escala mínima tem um peso mais importante na redução de custos (57).

Conforme esclarece Pinto (58), os medicamentos genéricos devem passar, obrigatoriamente, por testes de bioequivalência com o medicamento de referência. Por outro lado, a partir de abril de 2001, os medicamentos similares passaram, também, a ter que comprovar sua bioequivalência com o medicamento de referência.

Existe um consenso a respeito dos medicamentos similares de que irão desaparecer do mercado e que, como acontece em outros mercados, os negócios serão divididos em lançamentos com patentes e medicamentos genéricos. O custo envolvido nos novos testes exigidos pela legislação, a serem realizados na renovação do registro do similar, pode inviabilizar o produto para os laboratórios de pequeno e médio portes.

O papel dos laboratórios nacionais tornou-se mais significativo na medida em que passaram a ter maiores chances de competir quando se trata do mercado de medicamentos genéricos.

Desta forma, os medicamentos genéricos representaram uma oportunidade para os laboratórios nacionais. Pinto (58) afirma que é esperado que as subsidiárias de laboratórios estrangeiros instaladas no Brasil fabriquem mais medicamentos de referência e as nacionais, mais produtos genéricos.

Silva e Cohen (59), analisando o impacto do advento dos genéricos nas estratégias da indústria farmacêutica brasileira, concluem que, a partir do aumento da oferta de medicamentos genéricos, a partir de 1999, os laboratórios que mais lançaram medicamentos são justamente aqueles que decidiram investir nesse novo mercado. Os autores entendem que o crescimento desses laboratórios deveu-se à utilização da estratégia de custos, adequada para o mercado de medicamentos genéricos. Além disso, destacam a dificuldade de as subsidiárias de laboratórios estrangeiros adaptarem-se à mudança do ambiente gerada pelo advento dos medicamentos genéricos que criou novas opções de compra para os consumidores.

Com relação aos preços dos medicamentos, apesar de os genéricos terem criado uma competição por preços, dois anos após sua implantação, não houve a redução de preços esperada Lisboa et al. (60). Da mesma forma que nos Estados Unidos, os líderes de mercado optaram por aumentar seus preços, voltando-se para um mercado

menos elástico que resiste a substituir um medicamento de marca pelo seu genérico. Existe necessidade de redução da assimetria de informação sobre a qualidade dos genéricos a fim de se reduzir a concentração dos mercados, levando a uma diminuição dos preços dos medicamentos líderes Lisboa et al. (60).

Godoy et al. (61) publicaram um estudo demonstrando que a introdução dos medicamentos genéricos resultou em uma nítida redução dos preços dos medicamentos de referência e similares. Os resultados do estudo demonstraram que as diferenças de preços entre os medicamentos genéricos e de referência estão diminuindo e que alguns laboratórios detentores do registro do medicamento de referência optaram por reduzir seus preços, conseqüentemente, a perda de receita. Os autores atribuem tais reduções de preços a dois motivos, sendo o primeiro a sinalização do governo para o mercado, através da exigência de testes mais rigorosos, de que os medicamentos genéricos possuem qualidade e em segundo lugar, viriam as iniciativas de propaganda governamental visando informar o consumidor a respeito dos genéricos.

### **3.4.3 Pesquisa Clínica**

Os ensaios clínicos com seres humanos foram iniciados ao redor da década de 1930, seguindo-se os primeiros ensaios clínicos “simples” cego randomizados e controlados. Por volta de 1950, o pesquisador inglês Harry Gold passou a adotar os ensaios “duplo cegos”.

Pesquisa Clínica pode ser definida como sendo um estudo sistemático que segue métodos científicos aplicáveis aos seres humanos, denominados voluntários ou “sujeitos” da pesquisa, sadios ou enfermos, de acordo com a fase da pesquisa. Quando realizada com medicamentos, tem como objetivo básico verificar os efeitos de segurança e tolerância e relacionar os efeitos adversos, além de analisar a absorção, distribuição, metabolismo e excreção dos princípios ativos, a fim de que se estabeleçam a eficácia e a segurança do produto (62).

Atualmente, a Farmacologia Clínica desenvolve estudos farmacocinéticos e elaboração, execução e análise de ensaios clínicos, para verificar a segurança, qualidade

e eficácia dos medicamentos em seres humanos, conhecidos como estudos ou testes de bioequivalência.

Estudos clínicos utilizando fármacos em seres humanos são divididos convencionalmente em 4 fases:

#### **3.4.3.1 Fase Pré-Clínica**

Toda nova molécula, identificada em experimentações *in vivo* com potencial terapêutico, deverá ser aplicada em animais antes de ser aplicada em seres humanos. Buscam-se informações sobre atividade farmacológica e segurança. Os produtos que demonstram atividade farmacológica específica e perfil de toxicidade aceitável passam à fase seguinte.

#### **3.4.3.2 Fase I**

É de extrema importância, neste momento se administra em seres humanos, novos princípios ativos ou novas formulações de fármacos. Envolve cerca de 20 a 100 indivíduos, sendo geralmente voluntários sadios, de acordo com a classe do fármaco a ser avaliado. São estudos de farmacologia clínica, nos quais se busca avaliar suas características de segurança e do perfil farmacocinético. A fase I envolve também estudos de biodisponibilidade e metabolismo do fármaco.

#### **3.4.3.3 Fase II (Pesquisa Terapêutica Piloto)**

Estes estudos constituem a primeira administração do medicamento a pacientes, envolvendo cerca de 50 a 300 indivíduos. Têm como objetivo estudar o potencial terapêutico e os efeitos colaterais do medicamento, além de estabelecer o intervalo mais apropriado entre as doses. Os ensaios de fase II servem como um processo de separação, para selecionar os fármacos com real potencial terapêutico das inativas ou tóxicas.

#### **3.4.3.4 Fase III (Pesquisa Terapêutica Ampliada)**

São estudos terapêuticos multicêntricos, envolvendo no mínimo 250 indivíduos portadores de enfermidade ou condição patológica para a qual o novo produto pretende ser aplicado. Avalia a eficácia, segurança e compara o fármaco com placebo ou fármacos já disponíveis no mercado com a mesma finalidade terapêutica. Exploram-se nesta fase o tipo e perfil das reações adversas mais frequentes. É após a conclusão dos estudos na Fase III em geral, que se obtêm aprovação para uso comercial por parte das autoridades regulatórias. Para alguns pesquisadores o termo ensaio clínico se refere especificamente a fase III, que é mais rigoroso e extenso tipo de investigação clínica de um novo tratamento (62).

#### **3.4.3.5 Fase IV (Pesquisa Pós-Comercialização)**

Geralmente, são estudos de vigilância pós-comercialização, para estabelecer o valor terapêutico, o surgimento de novas reações adversas e/ou confirmação da frequência de surgimento das já conhecidas, e as estratégias de tratamento. São realizados com base nas características com que foi autorizado o medicamento e/ou especialidade medicinal.

Assim, entre os estudos que buscam identificar parâmetros iniciais de eficácia e segurança, estão os estudos de biodisponibilidade, quando os dados de absorção, distribuição, metabolização e eliminação, bem como efeitos adversos ainda não são totalmente conhecidos. Nestes estudos, uma monitorização médica rigorosa durante toda fase de investigação do fármaco faz-se necessária. Estudos de bioequivalência, por outro lado, apresentam, como principal propósito, obter evidências de que uma formulação teste não é diferente, do ponto de vista farmacocinético, de uma dada formulação referência. Estes estudos são realizados geralmente como base para solicitação de registro de um medicamento genérico. Conduzidos habitualmente em voluntários sadios, ou seja, um estudo não terapêutico, as características farmacocinéticas e farmacodinâmicas do fármaco estudado já são conhecidas,

apresentando assim um risco menor que estudos iniciais de biodisponibilidade. Nesta fase pós-comercialização podem ser incluídos mais de 1000 voluntários (62).

#### **3.4.3.6 Critérios de segurança:**

A conceituação de evento adverso em estudos clínicos e sua correta e pronta notificação, quando necessário, são fundamentais para que um estudo clínico seja corretamente conduzido.

Todos os eventos adversos observados ou voluntariamente relatados, independentemente do grupo de tratamento ou de suspeita de relação causal com a medicação em estudo, deverão ser registrados na página correspondentes a Eventos Adversos, necessariamente presentes na Ficha Clínica.

Situações que envolvam eventos adversos a medicamentos, doenças que se iniciem durante o estudo ou exacerbações de doenças preexistentes também deverão ser registradas.

Exacerbação de doença preexistente, incluindo a doença em estudo, é definida como manifestação da doença que indique piora significativa da gravidade da mesma em comparação à gravidade observada no início do estudo. Pode incluir piora na gravidade, aumento na frequência ou novos sinais ou sintomas (17).

### **3.5 A Indústria Farmacêutica**

A indústria de medicamentos genéricos teve origem na década de 60, sendo os Estados Unidos o primeiro país a adotar essa política, mas somente em 1984 houve condições específicas para o crescimento da indústria de genéricos (47).

O mercado brasileiro está entre os quinze maiores do mundo e faturou em 2005, cerca de R\$ 22 bilhões (9 bilhões de dólares). Antes da forte desvalorização cambial em janeiro de 1999, essa cifra era superior aos 10 bilhões de dólares.

De acordo com pesquisa intitulada “Mercado Mundial de Genéricos” disponível no site da PróGenéricos (52), demonstra que o crescimento anual do mercado de genéricos está ao redor de 17% e movimenta aproximadamente 55 bilhões, sendo



destaque os Estados Unidos da América que apresenta vendas na ordem de US\$ 20 bilhões, o que corresponde a 60% das prescrições e custa de 30 a 80% menos que os medicamentos de referência. Assim, os norte-americanos economizam entre US\$ 8 e 10 bilhões ao ano com a aquisição de medicamentos genéricos.

No Brasil, no ano de 2008, a cada 10 medicamentos mais prescritos 8 eram genéricos, (60% a mais do que em 2007). Os medicamentos genéricos custam, em média, 40% menos que os medicamentos de referência quando entram no mercado brasileiro (63,64). A Tabela 1 mostra a participação dos genéricos em vários países.

Tabela 1: Participação dos Genéricos no Mercado Farmacêutico Mundial

<b>País</b>	<b>% em valor (US\$)</b>	<b>% em unidades vendidas</b>
E.U.A	13	60
Alemanha	26	60
Reino Unido	26	60
Canadá	22	45
França	14	35
Espanha	13	30
Brasil	14	20

Fonte: Adaptado de IMS *Health*, junho 2008. Disponível em:

<http://www.progenericos.org.br/mercado.shtml> Acesso em 30 mai 2011.

### **3.5.1 Considerações sobre as Indústrias Farmacêuticas do estudo**

#### **3.5.1.0 Aché:**

Presente há mais de 40 anos no mercado farmacêutico nacional e atua nos segmentos de prescrição, genéricos e de medicamentos éticos. Seu portfólio engloba 217 marcas em 500 apresentações. Em 2008, as vendas totais da companhia foi de R\$ 1,493 bilhão, representando um crescimento de 14,7% em relação ao ano anterior. A unidade de negócios de prescrição foi responsável por 69,5% desta demanda, totalizando R\$ 1,038 bilhão, seguida pela unidade de genéricos, com 19% ou R\$ 284 milhões e pela unidade MIP, com 11,5% ou R\$ 171 milhões. Com isso, a participação no mercado brasileiro foi de 5,7% em valor, ocupando a quarta colocação. Em receituário, a companhia manteve a liderança do setor, com a marca de 6,73%.

Merece destaque o desempenho das unidades de prescrição e genéricos, que cresceram acima da média do mercado farmacêutico total e evidenciaram a retomada de crescimento da companhia. A Aché entrou no mercado de genéricos em 2005 com a aquisição da Biossintética. Sendo o segmento dos genéricos o que mais cresceu entre os líderes, consolidando-se na terceira posição do *ranking* (65).

#### **3.5.1.1 Eurofarma:**

A Eurofarma iniciou em 1972, com o nome de Billi Farmacêutica, fabricando medicamentos para terceiros, laboratórios nacionais e multinacionais. Com o passar dos anos e o aumento da percepção de mercado e oportunidades, a empresa adquiriu outras companhias e passou a fabricar e comercializar marcas próprias e sob licença de multinacionais. Em 1993, adotou o nome Eurofarma, atuando em diversas frentes de mercado sob uma única marca. Atualmente o laboratório comercializa medicamentos para áreas humanas e veterinária, por meio de nove Unidades de negócio: Farma (prescrição Médica), Genéricos, Hospitalar, Licitações, Oncologia, Pearson (Veterinária), Serviços a Terceiros, Exportação e Euroglass (produção de ampolas e de

frascos de vidro neutro tipo I). Produz cerca de 150 milhões de unidades (caixas) por ano e teve um faturamento de R\$ 1,04 bilhão em 2007.

Nos últimos anos, em função do crescimento e planos de expansão, a empresa tem em meta um investimento de R\$ 280 milhões na construção de seu novo complexo fabril em Itapevi, no estado de São Paulo.

O IMS Health aponta que o setor teve um crescimento médio de 12% em 2008, enquanto a companhia cresceu 21%.

Os genéricos tem um papel menor dentro do portfólio da empresa. A associação dos genéricos ao laboratório é provavelmente resultante da propaganda nos pontos de venda. A divisão de genéricos iniciou suas atividades em 2001. Em 2008, o seguimento de 137 produtos respondeu por 16% do total do faturamento.

A empresa tem como objetivo para 2015 estar entre as três maiores companhias farmacêuticas do país e fabricar seus próprios medicamentos inovadores, além de trazer produtos de alto valor agregado para seu portfólio, por meio de parcerias. Nos últimos anos, sua grande performance foi baseada nos genéricos e similares que tem contribuído para um crescimento de 15 a 20% nos últimos cinco anos.

O departamento de pesquisa, desenvolvimento e inovação atualmente trabalha com 15 projetos e compreende as áreas de pesquisa clínica, equivalência farmacêutica e desenvolvimento farmacotécnico.

Na área de pesquisa clínica são gerenciados os projetos inovadores, de pesquisa clínica e as parcerias com universidades (66).

### **3.5.2 Fator Econômico**

O medicamento genérico no Brasil é de extrema importância para os administradores públicos, visto que o Sistema Único de Saúde (SUS) garante gratuitamente o acesso da população aos medicamentos essenciais e sabe-se que medicamentos genéricos (em sua maioria) tem seu preço final, menor que um medicamento original (67).

Existem várias apresentações de Fenoximetilpenicilina comprimidos de 500.000 UI disponíveis no mercado, o medicamento genérico custa R\$ 11,05

(Fenoximetilpenicilina Teuto); os similares R\$ 7,52 (Meracilina Aché) e R\$ 12,34 (Penicillin V da Teuto); o referência R\$ 18,12 reais (Pen-Ve-Oral da Eurofarma). Valores extraídos do site consulta remédios em 01/05/2011 correspondem à embalagem com 12 comprimidos de fenoximetilpenicilina 500.000UI (68).

### **3.19 Análises Cromatográficas**

#### **3.19.1 Princípios de Cromatografia**

O princípio da cromatografia foi inicialmente desenvolvido pelo químico David Talbot Day em 1897. Em seus resultados, Day e colaboradores observaram a separação de frações de petróleo ao longo de uma coluna empacotada com sólidos (tais como terra ou argila), publicando este trabalho em (69,70). Paralelamente aos estudos de Day, o botânico Michael Semenovich Tswett estudava um método para separar pigmentos de plantas, passando soluções destes componentes através de coluna de vidro empacotada com carbonato de cálcio. Em 1903, Tswett criou o termo cromatografia, não se sabe se por ter separado pigmentos de colorações (em grego *chroma* significa cor e *graphein* significa escrever) ou porque Tswett significa “cor” em russo, e a cromatografia seria a “técnica de Tswett” (69,70).

#### **3.19.2 Métodos Analíticos aplicados a Testes de Bioequivalência**

O desenvolvimento do método é a etapa mais importante nos estudos de bioequivalência, visto que a confiabilidade dos resultados desses estudos está na dependência direta da etapa analítica. O método de quantificação deve apresentar sensibilidade, especificidade/seletividade para cada analito, precisão e exatidão além de ser relativamente simples, de modo a minimizar os erros (71).

Durante esta etapa é de suma importância o monitoramento de todos os passos do método de preparação e análise das amostras, os quais envolvem os processos de extração, separação, purificação, identificação e quantificação do fármaco na matriz biológica (72,73).

A quantificação de fármacos em amostras biológicas, sobretudo em plasma de voluntários e/ou pacientes, coletadas em estudos clínicos de farmacocinética têm sido procedimento usual na determinação da não inferioridade de medicamentos (74).

Matrizes biológicas como sangue, plasma, urina, saliva e fluido cérebro espinhal e tecidos contêm grande quantidade de compostos endógenos que podem interferir no método analítico (71). O conhecimento dessas matrizes e da farmacocinética do princípio ativo ordena o desenvolvimento das técnicas de extração e detecção utilizadas para assegurar especificidade/seletividade para a determinação do limite de quantificação e faixa linear (75).

Os componentes endógenos presentes são potenciais interferentes em análises cromatográficas (75). O pré-tratamento das amostras tem a finalidade de eliminar os interferentes, extrair o fármaco com altas recuperações e, em determinadas ocasiões, pré-concentrar, quando se faz necessário um aumento na sensibilidade do método (74).

O desenvolvimento de métodos de extração está relacionado com as propriedades dos analíticos de interesse, o limite inferior de quantificação desejado, a natureza da matriz, o tipo de cromatografia utilizada para etapa de separação e o tipo de detector utilizado para a quantificação.

As técnicas mais comumente utilizadas para extração e concentração de compostos presentes em fluidos biológicos têm sido: precipitação de proteínas, extração líquido-líquido e extração em fase sólida (76,77).

O desenvolvimento de um método cromatográfico nem sempre é uma tarefa simples, visto que, um número substancial de fatores relacionados ao fármaco em estudo, pode influenciar no resultado final (78).

Quanto aos testes de bioequivalência, não se tem um consenso em relação ao melhor método na mensuração da concentração de fármacos nas amostras biológicas, no entanto, sabe-se que o método precisa ser exato, preciso e específico.

Então, métodos que envolvam cromatografia líquido-gás, CLAE, técnicas de fluorescência, espectrometria de massa radioimunoensaio, entre outros, podem ser empregados.

### **3.19.3 Extração líquido-líquido**

É baseada na diferente solubilidade do analito em dois solventes imiscíveis. Este princípio é bastante utilizado na preparação de amostras para análises cromatográficas, principalmente pelo baixo custo e fácil operação. A extração é eficiente na diferente na remoção de interferentes e aumenta a concentração do analito na amostra. Geralmente adiciona-se um solvente orgânico (pouco polar) imiscível à amostra aquosa (polar), num valor adequado de pH. A mistura é agitada e posteriormente centrifugada. Remove-se a fase orgânica e seca-se sob fluxo de ar ou nitrogênio. Ressuspende-se o resíduo na amostra e injeta-se no sistema cromatográfico (75).

Para o desenvolvimento de método de extração utilizando solventes orgânicos como extratores é necessário o conhecimento das características físico-químicas do analito, tais como: polaridade, pKa, solubilidade, coeficiente de partição.

A extração líquido-líquido (ELL) apresenta vantagens e desvantagens na sua utilização. Dentre as vantagens podemos citar o baixo custo e a boa aplicabilidade em um amplo espectro de compostos, com extratos limpos, boas recuperações e boa reprodutibilidade. A formação de emulsão entre a fase aquosa e a fase orgânica durante o processo de agitação, o alto nível de resíduos tóxicos ao meio ambiente e aos profissionais (69) além dos processos demorados diante do elevado número de amostras se caracterizam como as principais desvantagens da ELL, além de não se apresentar adequada para a extração de compostos altamente polares.

### **3.19.4 Extração em Fase Sólida**

A extração em fase sólida (EFS) é uma técnica de separação baseada nos mecanismos de separação da cromatografia líquida, também conhecida como cromatografia clássica (77).

Em meados da década de 70, a EFS surgiu como uma nova técnica utilizada na diminuição dos problemas existentes na quantificação de compostos em matrizes complexas como o plasma humano. Hoje em dia a extração em fase sólida se configura

como uma das ferramentas mais poderosas para a extração e/ou pré-concentração de analitos presentes em matrizes complexas (75).

A extração em fase sólida (fig. 3) emprega solventes recheados em cartuchos ou adsorvidos em discos e os mecanismos de retenção são idênticos àqueles envolvidos em cromatografia líquida em coluna. Essa técnica é bem compatível com a CLAE de fase reversa e é de fácil automação. Entretanto apresenta retenção insuficiente de muitos compostos polares, seletividade limitada e elevado custo operacional. Além disso, é significativa a quantidade de solventes orgânicos, mesmo que seja menor que na usada em extração líquido-líquido (79).

As vantagens da extração fase sólida em relação à extração líquido-líquido são: rapidez, recuperações mais altas, boa precisão e exatidão, extratos muito limpos, capacidade de processar pequenos e grandes volumes de amostras, cartuchos e colunas de extração descartáveis, análise de analitos voláteis, não há formação de emulsões e obtenção de uma alta seletividade pela variedade de fases sólidas e procedimentos de extração disponíveis (80).

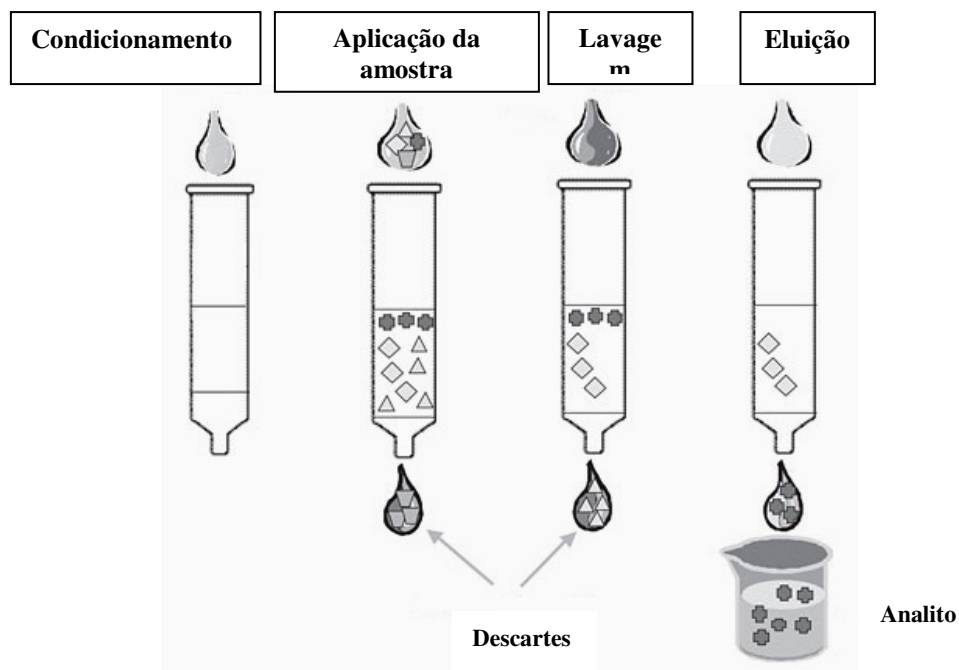


Figura 3: Procedimentos de extração em fase sólida

Fonte: [www.biotage.com/graphics/9223.jpg](http://www.biotage.com/graphics/9223.jpg)

### **3.19.5 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)**

Entre os métodos modernos de análise, a cromatografia ocupa um lugar de destaque devido a sua eficiência para efetuar a separação, a identificação e a quantificação das espécies químicas, isoladamente ou em conjunto com outras técnicas instrumentais de análise, como por exemplo a espectrometria de massas (81).

A cromatografia é um processo de separação de compostos de uma mistura através de duas fases imiscíveis, uma delas deslocando-se em relação à outra que permanece estacionária. A separação cromatográfica se efetua através da migração diferencial dos componentes da mistura no sistema bifásico. A primeira fase (em movimento) é denominada de fase móvel e a segunda (estacionária) de fase fixa ou estacionária (82).

A separação cromatográfica baseia-se na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido às diferenças entre duas fases imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária, e no alargamento de bandas, que é dependente de processos físicos e não de equilíbrio. Estas interações podem ser realizadas por meio de interações do tipo pontes de hidrogênio, interações eletrostáticas e hidrofóbicas ou forças de Van der Waals, entre outras (17).

A migração diferencial resulta da diferença de equilíbrio dos analitos entre as duas fases imiscíveis e é determinada pelos fatores que afetam este equilíbrio como composição da fase móvel, composição da fase estacionária e temperatura da separação. Mudanças em qualquer um destes fatores levam a alterações na migração diferencial. (17)

A grande variedade de combinações entre fases móveis e estacionárias a torna uma técnica extremamente versátil e de grande aplicação (81).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) surgiu como a aplicação de cromatografia líquida às teorias e instrumentação desenvolvidas originalmente para cromatografia gasosa (81).

A CLAE usa pressões elevadas para forçar a passagem do solvente através de colunas fechadas que contém partículas microporosas com grande pureza e formato



esférico, que são permeáveis ao solvente e têm uma área superficial de várias centenas de metros quadrados por grama. As análises são mais rápidas e a eficiência é muito mais elevada quando comparada à cromatografia líquida clássica. Permite o uso de detectores, tais como ultravioleta, índice de refração, espectrometria de massas, fluorescência, condutividade e eletroquímicos (83).

As amostras devem ser tratadas antes de injetadas na CLAE. Utiliza-se como pré-tratamentos: precipitação de proteínas do soro ou plasma, extração líquido-líquido e líquido-sólido. Adiciona-se um padrão interno à amostra no início do processo para compensar perdas por transferência e variações de volume nas diferentes etapas, uma vez que o método extrativo do analisado possa vir a interferir na exatidão, precisão e seletividade do processo. A recuperação do analisado não precisa ser necessariamente de 100%, mas a extensão da recuperação do analisado e do padrão interno deve ser consistente, precisa e reprodutiva (84).

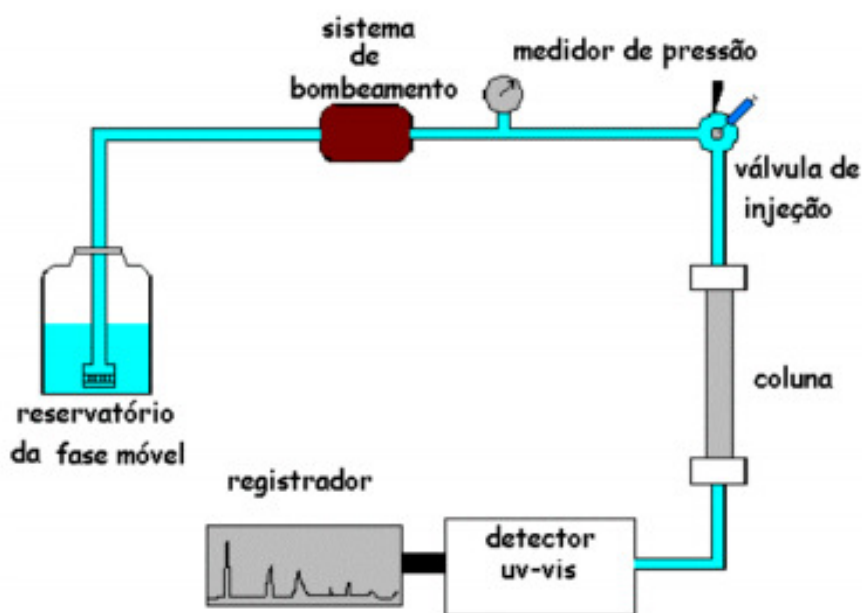


Figura 4: Esquema simplificado do Sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)  
Fonte (84).

### 3.19.6 Detectores para CLAE

A função destes equipamentos é a detecção dos compostos vindos do eluente da coluna. Tipos de detectores:

- UV/Visível;
- Fluorescência;
- Índice de Refração;
- Infra-vermelho;
- Eletroquímicos;
- Espectrometria de massas.

Os detectores mais frequentemente utilizados em cromatografia a líquida de alta eficiência são os espectrofotométricos (UV/Vis). Os detectores espectrofotométricos são utilizados para detectar compostos com grupamento cromóforo (85).

Tais detectores consistem de uma célula de fluxo localizada no término da coluna cromatográfica. A radiação ultravioleta atravessa, constantemente, pela célula de fluxo e é recebida no detector. Com o sistema em funcionamento, as substâncias são eluídas da coluna, passam pela célula de detector e absorvem a radiação, resultando em alterações mensuráveis no nível de energia. Esses detectores podem apresentar comprimento de onda fixo, variável ou múltiplo (85).

Detectores de comprimento de onda fixo operam em um único valor, tipicamente 254 nm, emitido por uma lâmpada de mercúrio de baixa pressão. Aqueles com comprimento de onda variável contêm uma fonte contínua de emissão, como uma lâmpada de deutério ou xenônio de alta pressão, e um monocromador ou um filtro de interferência, de modo a gerar radiação monocromática a um valor selecionado pelo operador, podendo, ainda, ser programados para alterar o comprimento de onda durante o desenvolvimento da análise. Os detectores de comprimento de onda múltiplo medem simultaneamente, a absorbância em dois ou mais comprimentos de onda, sendo denominados de detectores de arranjo de diodos. Nestes, a radiação ultravioleta é

transmitida através da célula de fluxo, absorvida pela amostra e então separada em seus componentes originais, que são detectados, individualmente, pelo detector de fotodiodos, registrando dados de absorbância em toda a faixa do espectro do ultravioleta e visível e os espectros de cada pico registrado no Cromatograma (85).

### **3.20 A técnica HPLC**

A técnica HPLC faz análises mais rápidas do que a cromatografia clássica, com alta resolução e eficiência. Dependendo do detector pode atingir sensibilidade em nível de parte por bilhão ou trilhão.

Dentre as técnicas analíticas de separação, a HPLC é a mais usada, possuindo alta sensibilidade, fácil adaptação em determinações quantitativas acuradas, adequação a separações de espécies não voláteis ou termicamente instáveis, ampla aplicabilidade a substâncias, como por exemplo, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarbonetos, pesticidas, entre outros (70).

Um dos detectores mais utilizados para separações por HPLC é o detector de LC-MS, porém na análise alguns medicamentos ainda é possível a detecção por UV-visível, obtendo-se resultados validados. Nestes, empregam-se detectores de fluorescência, de índice de refração, entre outros. Estes detectores de UV-Visível se baseiam no princípio de absorção de luz ultravioleta ou de luz visível, quando amostra sai da coluna e passa por uma pequena célula de escoamento mantida no feixe de radiação. Os detectores espectrofotométricos podem apresentar comprimento de onda fixo, operam tipicamente em 254nm (86,87).

#### **3.20.1 Espectrofotometria no UV/VIS**

Os detectores de ultravioleta-visível (UV-VIS) baseiam-se na Lei de Lambert-Beer, que estabelece uma relação linear entre Absorbância e Concentração.

A análise espectrofotométrica quantitativa por absorção tem como princípio a relação direta existente entre a quantidade de luz absorvida e a concentração da substância, também conhecida como lei de Beer.

Quando a concentração (c) é expressa em mol/L-1 e o caminho óptico (b) em centímetro, a equação torna-se:

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Onde:

A = absorvância, logaritmo do inverso da transmitância ( $A = -\log T$ )

$\epsilon$  = absortividade molar.

T = transmitância

A absorvância, por sua vez, é proporcional à *transmitância*, fração de luz transmitida. Quando o conteúdo da célula é *transparente* à radiação empregada (UV ou VIS), a transmitância é 100 % e evidentemente a absorvância é ZERO. Entretanto, quando chega à célula uma substância que absorva essa luz, o sistema de detecção mede a diferença em intensidade, gerando o cromatograma correspondente.

Os instrumentos mais comuns (e mais baratos) utilizam como fonte de radiação uma lâmpada de mercúrio, cuja radiação é monocromática (discreta), com comprimento de onda de 254 nm. Esses instrumentos, portanto, operam com um comprimento de onda fixo (único). A Fig 5 representa um diagrama esquemático desse tipo de instrumento. Como a região útil da radiação UV varia de 190 nm a 370 nm, é de se esperar que mesmos os compostos que absorvem luz UV não venham a ser detectados em um detector do tipo fixo, ou que sejam detectados com baixa sensibilidade.

Para se conseguir uma varredura em toda a região UV, é primordial, evidentemente, que a fonte de radiação possa emitir luz com todos os comprimentos de onda da faixa de interesse (fonte não monocromática, ou *contínua*). Para tanto, empregase a lâmpada de deutério.

Nesse caso, o instrumento (UV variável) necessita de um dispositivo que selecione um determinado comprimento de onda, de modo a irradiar a amostra com uma luz monocromática. Esse dispositivo chama-se “monocromador”. A seleção do comprimento de onda pode ser manual (UV *ajustável*). Nesse caso, comporta-se como um UV fixo, embora possa ser selecionado qualquer comprimento de onda dentro da região UV.

Existe um outro tipo de equipamento (UV de varredura), no qual a alteração do comprimento de onda é automática, indo de um ao outro extremo da região UV, em um intervalo de tempo muito menor que o tempo de residência da amostra na célula analítica. Com esse equipamento, substâncias que absorvam em comprimentos de onda bem diferentes podem ser detectadas em uma única corrida.

Também existem equipamentos que operam na região *visível* (400-750 nm), que empregam uma lâmpada de tungstênio, cuja radiação também é contínua. Finalmente, existem equipamentos que operam em ambas as faixas (UV-VIS) (88).

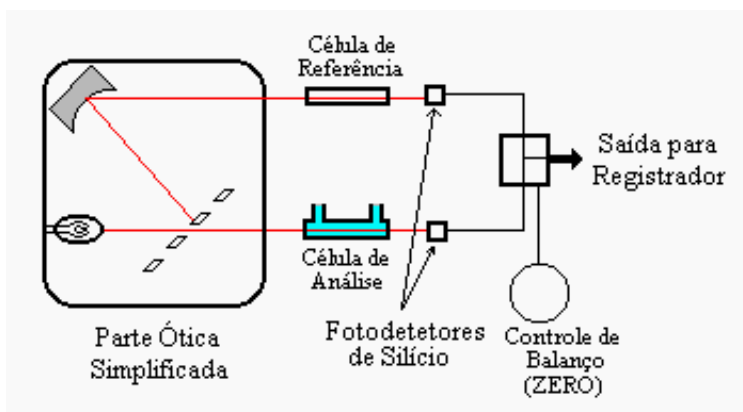


Figura 5: Detector de Ultravioleta Fixo

Fonte: (88).

### **3.20.2 Padrão Interno**

#### **3.20.2.1 Padronização Interna e Externa**

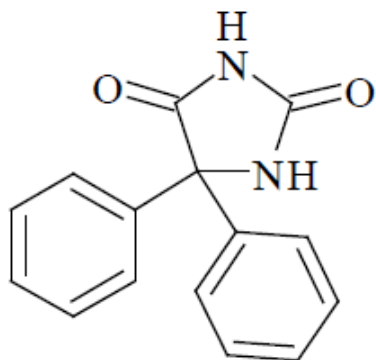
Dentre os métodos de quantificação, a padronização interna é a que possui maior capacidade de eliminar erros técnicos, sendo selecionada para a quantificação dos fármacos em fluídos biológicos. Este método consiste em comparar a relação entre a área/altura obtida do composto e a do padrão interno, empregando diversas concentrações do composto em estudo e uma concentração fixa do padrão interno.

Adiciona-se uma quantidade conhecida do padrão interno à amostra e determina-se a relação entre as áreas/alturas do pico cromatográfico, eliminando os erros decorrentes do procedimento de extração e erros de injeção.

O padrão interno ideal corresponde a uma substância que tenha um tempo de retenção diferente ao fármaco analisado, mas que seja próximo a ele, e que não influencie a análise. O padrão interno deve possuir propriedades químicas semelhantes ao composto analisado, estar presente em concentrações similares, ter tempo de retenção próximo ao composto problema sem causar interferência, ser inerte e não fazer parte da amostra. A padronização externa consiste em comparar a área ou altura do pico correspondente a quantidades conhecidas do composto problema com a do mesmo composto na amostra cuja concentração se deseja determinar (89). Preparam-se soluções da substância a ser quantificada em diversas concentrações; obtém-se o cromatograma correspondente a cada uma delas e relacionam-se as áreas obtidas com as concentrações. Utilizando a equação da curva resultante, pode-se calcular a concentração desta substância na amostra a partir da área da substância obtida no cromatograma resultante de uma injeção separada. Este método é sensível a erros de preparo das amostras e dos padrões, da injeção das soluções padrão e das amostras. Por isso deve ser feito a cada análise.

A escolha do padrão interno tem como objetivo compensar eventuais perdas durante o processo de extração do analito e eventuais erros no volume de injeção. Os critérios que podem ser utilizados na escolha do padrão interno são: presença de grupos funcionais similares em ambas às estruturas, semelhança quanto às características

químicas de cada molécula e composição química elementar. Através desta análise preliminar e de acordo com a disponibilidade do laboratório, foi escolhido como padrão interno a Fenitoína (Fig 6).



Peso Molecular: 274,25 g/mol

Figura 6: Estrutura Química da Fenitoína

(FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

A Fenitoína é um fármaco anticonvulsivante sintetizada desde 1937 e amplamente utilizada em nosso meio para o controle e/ou prevenção de crises convulsivas em adultos. Também denominada difenilidantoína, ela pertence ao grupo dos hidantoinatos e, em uma escala cronológica de descoberta dos fármacos anticonvulsivantes, é a terceiro fármaco, antecedido pelo sal de brometo, introduzido pelo pesquisador Locock em 1857, e pelo fenobarbital, desenvolvido pela empresa farmacêutica alemã Bayer em 1912.

Foi descoberta em 1937 pelo farmacêutico Putnam quando testava hidantoinatos procurando um modelo que especificamente tivesse propriedades anticonvulsivantes sem os efeitos sedativos do fenobarbital. Constitui a primeira indicação no controle das crises convulsivas, assim como a carbamazepina, descoberta na década de 1960. É metabolizada pela via do citocromo P450 e eliminada na urina. A dose habitual para o adulto é de 300 mg/dia e para a criança, 5 mg/kg/dia. Tem sido indicado como fármaco antiarrítmico, miorrelaxante esquelético e inibidor da secreção/síntese de colagenase; para tratamento da enxaqueca; controle da dor neuropática e outras síndromes dolorosas como a neuralgia do trigêmeo. (85).

## 3.21 Antibióticos

### 3.21.1 Histórico da Penicilina

Os antibióticos são produtos do metabolismo secundário de alguns microrganismos que inibem o processo de crescimento de outros microrganismos. Eles interferem no metabolismo celular e por mecanismos diversos levam a interrupção da atividade das células, inibindo seu crescimento ou eliminando os microrganismos patogênicos (90).

A inibição do processo de crescimento de um microrganismo por outro já era conhecida há muito tempo. Em 1881, Tyndall verificou que meios de cultura turvos pelo crescimento bacteriano se tornavam límpido quando cresciam fungos em sua superfície.

O exemplo de grande destaque data de 1929 quando Alexander Fleming, trabalhando no Hospital St. Mary, em Londres, observou uma placa de cultura, na qual estavam sendo cultivados estafilococos, fora contaminada com um fungo do gênero *Penicillium*, e que o crescimento bacteriano na vizinhança do fungo fora inibido. Ele isolou o fungo em uma cultura pura e demonstrou que ele produzia uma substância antibacteriana. A substância produzida pelo fungo recebeu o nome de “penicilina” (8,91).

A descoberta da Penicilina, o primeiro antibiótico que encontrou uso prático no homem, marcou o início de uma era na produção destas substâncias.

De acordo com Tavares (13), o final da década de 1930 e, principalmente, a década de 1940 foram marcadas pelo grande desenvolvimento da indústria química-farmacêutica de síntese, dando origem a inúmeros quimioterápicos. Foi nesta época que o mundo assistiu ao surgimento de uma nova era no tratamento das infecções, com a introdução dos antibióticos na prática médica.

Segundo Dale (8) o uso clínico das penicilinas em seres humanos foi claramente demonstrado em 1941. Uma pequena quantidade de penicilina extraída cuidadosamente de culturas brutas nos laboratórios da Dunn School of Pathology, em Oxford, foi administrada a um policial que apresentava septicemia estafilocócica e



estreptocócica, com múltiplos abscessos e osteomielite com extravasamento purulento dos seios da face. Ele sentia muita dor e estava desesperadamente doente, e embora as sulfonamidas estivessem disponíveis, elas não teriam efeito na presença de pus. Foram aplicadas injeções intravenosas de penicilina ao policial a cada 3 horas. Toda a urina do paciente foi coletada e, a cada dia, a maior parte da penicilina era extraída e reutilizada. Depois de 5 dias, a situação do paciente melhorou muito, sua temperatura era normal, ele estava comendo bem e houve uma óbvia resolução do abscesso. Além do mais, não parecia haver efeitos tóxicos do fármaco. Infelizmente, quando o suprimento de penicilina acabou, sua situação deteriorou gradualmente e ele morreu 1 mês depois (8).

O uso terapêutico da penicilina tornou-se realidade na prática clínica a partir de 1943. O fármaco rapidamente revelou-se eficaz e no tratamento de pneumonias, sífilis, difteria, amigdalites, endocardite bacteriana, meningites e outras infecções causadas por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Vários antibióticos foram descobertos após a penicilina, como a estreptomicina em 1944, cefalosporina em 1945, o cloranfenicol em 1947 entre outros fármacos. O surgimento destes novos fármacos, fez com que o mundo científico ficasse maravilhado, houve grande euforia no mundo todo, na esperança de que se conseguiria debelar a maioria das enfermidades infecciosas graves.

Todavia, num curto período de tempo, verificou-se que estes antibióticos não apresentavam mais a mesma eficácia com o aparecimento de microrganismos resistentes a estes fármacos.

Segundo Rossi e Andreazzi (92) os principais mecanismos de resistência aos antimicrobianos são: alteração do sítio de ação do fármaco, alteração da permeabilidade, expulsão do fármaco (bomba de efluxo) e, principalmente, produção de enzimas inativadoras dos antimicrobianos.

O grupo dos  $\beta$ -lactâmicos reúne alguns dos antimicrobianos mais importantes e mais utilizados na prática clínica para o tratamento de infecções hospitalares e comunitárias. Pertencem a este grupo fármacos das seguintes classes antimicrobianas: penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenens (93).

As primeiras penicilinas, biossintéticas ou naturais, ainda estão em uso clínico. Outras, semi-sintéticas, com amplo espectro e melhores propriedades farmacocinéticas, foram sendo utilizadas no decorrer dos anos (90).

### **3.21.2 Mecanismo de Ação dos antibióticos $\beta$ -lactâmicos**

Os  $\beta$ -lactâmicos atuam inibindo a síntese da parede celular bacteriana, através da inibição da proteínas ligadoras de penicilinas (PBPs “penicillin binding proteins”) uma das responsáveis transpeptidase importante na síntese do peptidoglicano, um importante componente da parede celular bacteriana.

Durante a síntese da parede celular bacteriana, a pressão osmótica interna é mantida pela rígida estrutura desta parede. A união de precursores da parede celular ocorre por catálise de enzimas específicas de proteínas reguladoras, as PBPs. Quando a bactéria é exposta ao antibiótico, este se liga às PBPs na parede bacteriana e enzimas autolíticas são liberadas na membrana da célula, degradando a parede celular levando à lise celular e conseqüente morte bacteriana (92).

### **3.21.3 Mecanismo de resistência aos $\beta$ -lactâmicos**

A resistência bacteriana aos antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos está relacionada à síntese da parede celular ou à degradação do fármaco. Os mecanismos de resistência aos  $\beta$ -lactâmicos podem envolver a alteração do sítio de ligação, diminuindo a afinidade pelos alvos do fármaco (PBP); alteração da permeabilidade da membrana externa bacteriana; o efluxo ativo de antibióticos e a inativação ou degradação do fármaco pela hidrólise do anel  $\beta$ -lactâmico.

A modificação das PBPs é o principal mecanismo de resistência bacteriana aos  $\beta$ -lactâmicos nos cocos Gram-positivos e em algumas bactérias Gram-negativas.

A afinidade dos agentes antimicrobianos às diversas PBPs é variável. Mutações podem alterar as PBPs pré-existentes que passam então a apresentar baixa afinidade de ligação aos  $\beta$ -lactâmicos, ou levar a produção de PBPs suplementares que

apresentam baixa afinidade aos  $\beta$ -lactâmicos e são capazes de substituir as PBPs que se encontram inibidas. Essas PBPs alteradas não permitem a ligação do antibiótico  $\beta$ -lactâmico e, com isso, este não poderá agir (94).

### **3.21.3.1 Carbapenemases**

São denominados carbapenemases as  $\beta$ -lactamases com capacidade de hidrolisar principalmente os antimicrobianos carbapenêmicos, mas isso não significa que essas enzimas não sejam capazes de hidrolisar outros  $\beta$ -lactâmicos. Outra característica dessas enzimas é que elas não são inibidas pela maioria dos inibidores de  $\beta$ -lactamases (95).

## **3.22 Química das Penicilinas**

As penicilinas compõem uma classe terapêutica de antibióticos com estruturas relacionadas e com propriedades e atividades ligeiramente diferenciadas.

O núcleo da penicilina é constituído pela fusão de um anel tiazolidínico com um anel  $\beta$ -lactâmico, ao qual estão fixadas cadeias laterais através de uma ligação amida. A cadeia lateral da penicilina natural pode ser clivada por uma amidase, produzindo o ácido 6-aminopenicilânico. A seguir outras cadeias laterais podem ser fixadas, resultando em diferentes penicilinas semi-sintéticas com atividades antibacterianas peculiares e diferentes perfis farmacocinéticos (95).

A estrutura de todas as penicilinas, mostrada na figura 7 apresenta um núcleo comum, o ácido 6-amino penicilâmico (6-APA) mostrado na figura 8.

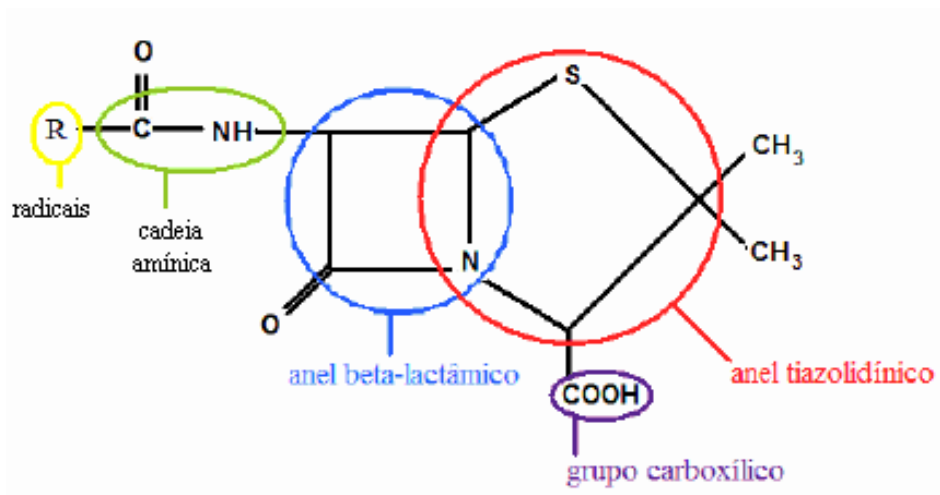


Figura 7: Estrutura básica da molécula de Penicilina.

Fonte (118).

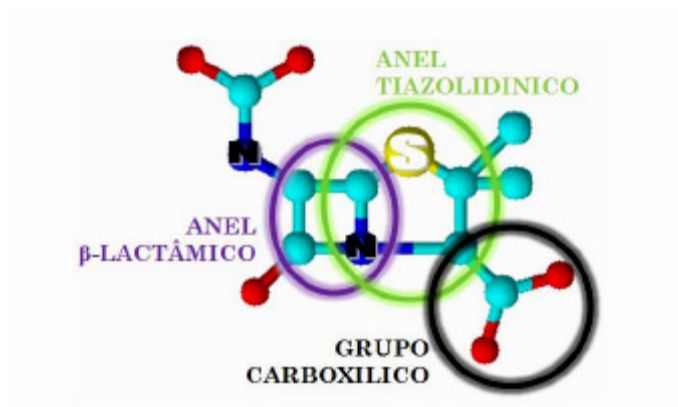


Figura 8: Estrutura do ácido 6-amino penicilâmico (6-APA)

Fonte (118).

O anel  $\beta$ -lactâmico, presente no 6-APA, contém um anel de quatro membros chamado  $\beta$ -lactâmico e um anel de cinco membros denominado anel tiazolidínico.

É responsável pela atividade de todas as penicilinas e pela designação geral desses antibióticos  $\beta$ -lactâmicos.

Na ausência de precursor (ácido da cadeia lateral) o *Penicillium chrysogenum* produz baixa concentração de 6-APA, além de misturas de penicilinas. As penicilinas naturais com interesse industrial e econômico, atualmente são a penicilina G (benzilpenicilina) e a penicilina V (fenoximetilpenicilina) (96).

A obtenção de uma dada penicilina está, conforme já comentado, relacionada com o tipo de precursor utilizado. Assim, o fornecimento de sais de ácido fenoxiacético (AFNA) leva à formação exclusiva de penicilina V.

As penicilinas naturais podem ser destruídas por enzimas denominadas  $\beta$ -lactamases. Essas enzimas rompem o anel  $\beta$ -lactâmico do núcleo básico da molécula, através da hidrólise da ligação amida presente no anel. Por essa razão estas enzimas são também denominadas  $\beta$ -lactamases. Esse rompimento impede a penicilina de atuar no bloqueio da formação da parede celular de bactérias, não combatendo assim a infecção (96).

### 3.22.1 Classificação

Dependendo da forma de obtenção, as penicilinas podem ser classificadas em biossintéticas ou semi-sintéticas.

### 3.22.2 Penicilinas Semi-Sintéticas

Em 1958 Sheeham sintetizou a Penicilina e em 1954 Batchelor e col. Descobriram a obtenção simplificada do ácido 6-aminopenicilânico (6-APA). O 6-APA sintetizado em quantidades apreciáveis, o que serviu como ponto de partida para a síntese química de diversos derivados da penicilina (15).

O anel central, 6-APA, pode ser produzido em grande quantidade por fungos por fermentação ou por hidrólise enzimática de penG, como mostrado na figura 9

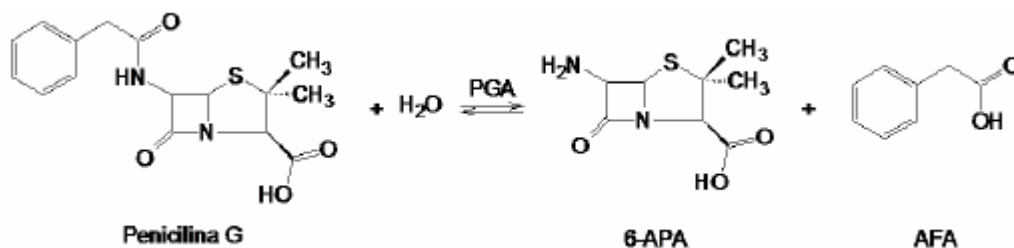


Figura 9: Esquema da hidrólise de penicilina G catalisada pela enzima penicilina G acilase

A descoberta de que em caldos fermentativos de *P. chrysogenum* havia a presença de 6-APA levou os pesquisadores a investigar a possibilidade de produzir este núcleo  $\beta$ -lactâmico diretamente em meios de cultivo.

Cole , 1966 ao investigar diferentes cepas de *P. chrysogenum*, sugeriu que algumas destas eram capazes de excretar penicilina V acilase, dessa forma, penicilina V era hidrolisada no meio e 6-APA era produzido. A ausência de 6-APA no meio indicava a falta de capacidade de excreção dessa enzima pelo fungo, assim a enzima em seu ambiente mostrava-se mais eficiente para a síntese do que para a hidrólise. Em 1996, Whiteman comprovou a existência de penicilina V acilase em cultivos de *P. chrysogenum* (97).

É possível adicionar, a esse anel central, diferentes cadeias laterais, criando novos tipos de penicilinas que não são encontradas na natureza. Essas penicilinas são denominadas penicilinas semi-sintéticas, e algumas apresentam vantagem sobre as penicilinas naturais (98).

### **3.22.3 Penicilina G**

A penicilina G ou benzilpenicilina é o derivado benzílico do 6-APA, apresentado sob a forma de sal alcalino sódico ou potássico. Os sais alcalinos da penicilina apresentam-se como um pó cristalino, branco, inodoro, facilmente solúvel em água, muito higroscópico e instável em solução aquosa devido ao seu anel  $\beta$ -lactâmico. Funde-se a 215°C com decomposição (85).

Sofre degradação pelo ácido no trato gastrintestinal, sendo ineficaz por administração por via oral (95).

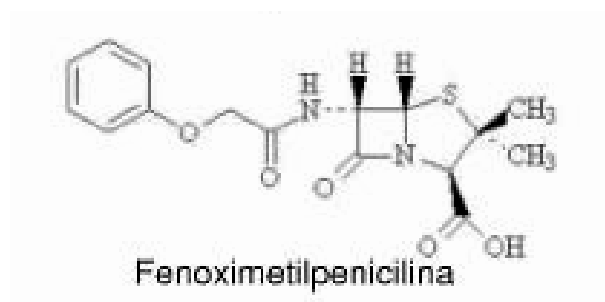
### **3.22.4 Penicilina V (Fenoximetilpenicilina)**

A penicilina V é um derivado semi-sintético do grupo das fenoximetilpenicilinas. Difere da Penicilina G apenas por ser estável em meio ácido (95).

### 3.22.4.1 Espectro antibacteriano

É um antibiótico de espectro estreito, cuja atividade se limita, primariamente a bactérias Gram-positivas e alguns outros microrganismos (15).

### 3.22.5 Estrutura Química da Fenoximetilpenicilina



Peso Molecular: 350,38 g/mol

Figura 10: Estrutura Química da Fenoximetilpenicilina

Fonte: (88).

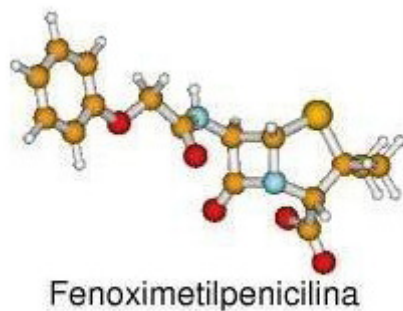


Figura 11: Estrutura tridimensional da Fenoximetilpenicilina

Fonte: (88).

### **3.22.6 Farmacocinética da Penicilina V**

A penicilina V foi desenvolvida para obviar a desvantagem da benzilpenicilina ou penicilina G de ser inativada pelo suco gástrico, tendo como vantagem a possibilidade de ser administrada por via oral. A penicilina V é absorvida na taxa de 60%, principalmente ao nível do duodeno. Uma vez absorvida, sua ligação com proteínas sanguíneas ocorre em cerca de 80% do antibiótico circulante (8), que corresponde a cerca de 3 a 5 µg/mL e a forma livre do fármaco no sangue, pode alcançar concentrações máximas de 0,8 µg/mL de 10 a 60 minutos após uma dose oral de 500 mg (99).

### **3.22.7 Indicação Terapêutica da Penicilina V**

Quando se deseja a administração oral, a penicilina V é preferível à benzilpenicilina, devido à melhor absorção da primeira e porque pode ser dada com alimentos (99). As principais indicações da penicilina V são: sinusite, otite média, infecções pneumocócicas menos graves, gengivite ulcerativa necrosante (95), faringite estreptocócica por estreptococos beta-hemolíticos do grupo A, durante 10 dias; piodermas estreptocócicos brandos e profilaxia secundária da febre reumática (99).

### **3.22.8 Contra-indicação da Penicilina V**

É contra-indicado o uso em caso de hipersensibilidade conhecida da fenoximetilpenicilina potássica e/ou demais componentes da formulação. Não deve ser administrada em pacientes sensíveis à cefalosporinas.



### **3.22.9 Interações medicamentosas da Penicilina V**

A probenecida diminui a taxa de excreção das penicilinas, assim como prolonga e aumenta os níveis sanguíneos. O uso concomitante com neomicina oral deve ser evitado, desde que foi relatado má absorção da fenoximetilpenicilina potássica.

### **3.22.10 Eventos adversos da Penicilina V**

As penicilinas são relativamente livres de efeitos tóxicos diretos (além do seu efeito pró-convulsivante quando administradas intratecalmente). Os principais efeitos adversos são as reações de hipersensibilidade causadas pelos produtos de degradação da penicilina, que se combinam à proteína do hospedeiro e se tornam antigênicos. As reações de hipersensibilidade são: erupções cutâneas (dermatite maculopapular à esfoliativa), urticária, reações semelhantes à doença do soro ocorre infreqüentemente, edema de laringe e anafilaxia, febre e eosinofilia. Muito sério é o choque anafilático agudo, que, embora felizmente muito raro, pode, em alguns casos, ser fatal (8).

As reações mais comuns às penicilinas orais são: náusea, vômito, dor abdominal, diarreia e alteração da coloração da mucosa da língua.

O uso de antibiótico durante a gravidez deve ser sempre analisado com a relação entre o risco e o benefício, pois pode induzir parto prematuro. É considerada categoria B do FDA.

As penicilinas possuem efeitos tóxicos desconhecidos na gravidez, sendo provavelmente seguras (99).

### **3.22.3.1 Sulfonamidas**

São agentes quimioterápicos eficazes e representam o primeiro grupo de agentes utilizados para o tratamento de infecções bacterianas. O termo sulfonamidas, ou simplesmente sulfas, é comumente empregado como denominação genérica dos derivados da sulfanilamida (99).

A descoberta da atividade antibacteriana das sulfas, foi oficializada em 1935 com a publicação do trabalho “Uma Contribuição à Quimioterapia das Infecções Bacterianas” no qual foi descrita a atividade biológica da *p*-sulfamidocrisoidina (Prontosil Rubrum<sup>®</sup>) pelo patologista e bacteriologista alemão Gerhard Johannes Paul Domagk. Nesta época, o corante sulfonamido-crizoidina (prontosil vermelho) foi um dos corantes incluídos por Domagk no tratamento da infecção estreptocócica experimental em camundongos, que demonstrou ser eficaz também para tratamento de pneumonias, escarlatina e infecções urinárias. Posteriormente, pesquisas do Instituto Pasteur comprovaram que o princípio ativo com real atividade antibiótica era um metabólito do corante, a sulfanilamida (conhecida desde 1908) como um metabólito do Prontosil.

As pesquisas concluíram que a parte ativa da molécula era a sulfanilamida e que os vários quimioterápicos antibacterianos até então bem conhecidos, somente agiam devido à presença do grupo farmacofórico sulfonamídico, cujo mecanismo de ação foi posteriormente elucidado, sendo relacionado à inibição da enzima diidropteroato sintase bacteriana.

O conglomerado Interessen-Gemeinschaft Farbenindustrie, registrou a patente do Prontosil Rubrum nos anos 30.

Posteriormente, Domagk curou a própria filha de septicemia estreptocócica (na época 100% fatal) com prontosil. Em 1937, tornou-se evidente que o prontosil era degradado no corpo, liberando sulfanilamida, o agente antibacteriano ativo.

Esta descoberta conferiu a Gerhard Johannes Paul Domagk o prêmio Nobel de Medicina em 1939.

Numerosas sulfonamidas foram produzidas e muito utilizadas, mas em virtude do aparecimento de resistência bacteriana, sua utilidade tornou-se limitada, exceto em associação com a trimetoprima ou pirimetamina (para a malária) (44,95,99,100).

### 3.23 Ética em Estudos Clínicos

A história da medicina revela a necessidade da Pesquisa Clínica com seres humanos, tanto para a efetividade das provas clínicas como para intervenções realizadas em pacientes. Entretanto, esta necessidade implica em cuidados com a saúde e com os riscos morais os quais os sujeitos da pesquisa estão envolvidos.

No século XX cientistas reconheceram a necessidade de obter um consentimento esclarecido dos sujeitos de pesquisa, por uma variedade de riscos que foram utilizados em testes utilizando fármacos (101).

No Brasil, as principais resoluções que envolvem a pesquisa clínica com seres humanos são as resoluções nº 196 de 10 de outubro de 1996 e nº 251 de 07 de agosto de 1997. Estas resoluções são exigidas quando há pesquisas de fase I, II ou III, ou que não estejam registrados no país, ainda que fase IV. Além de novas modalidades, indicações doses ou vias de administração diferentes daquelas estabelecidas quando são autorizadas pelo registro, bem como os estudos de biodisponibilidade e ou bioequivalência.

Os princípios de Boas Práticas Clínicas (BPC) são padrões internacionais de qualidade ética e científica para o planejamento, condução, registro e relatório de pesquisas que envolvam a participação de seres humanos e podem ajudar na conclusão de um estudo clínico bem conduzido, sendo que o objetivo final é o benefício dos pacientes, tanto daqueles que participam das pesquisas como os demais que posteriormente receberão um tratamento mais adequado, através da descoberta de novas terapêuticas. Estes princípios têm seu foco na informação e comunicação ao paciente, que deve ser clara, balanceada e não-coerciva. O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) deve ser escrito em linguagem adequada, claro e transparente.

A relação médico-paciente deve ser, como em todo o exercício da medicina, inquestionável na ética, na qual o investigador deve se sentir totalmente confortável com a intervenção proposta. Incentivos podem, eventualmente ser oferecidos aos pacientes, tais como vale-refeição ou vale transporte, desde que previamente aprovados pelo respectivo CEP e dentro de critérios razoáveis, isto é, não coercivos e balanceados versus as exigências do protocolo (102).



## 4 – METODOLOGIA



## **4.1 ETAPA CLÍNICA**

### **4.1.1 Elaboração do Protocolo Clínico e Aprovação pelo CEP**

O Estudo foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinque (1964) e as revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983), Hong Kong (1989), Somerset Oeste (1996) e Edinburg (2000), assim como as regulamentações locais (Resoluções 196/96 e 251/97 do CNS-MS, bem como Resolução RDC 135/03 da ANVISA) (103).

Conforme previsto na Resolução 397/04, o estudo será iniciado após a emissão do laudo conclusivo da equivalência farmacêutica, a fim de preservar o voluntário.

O projeto de pesquisa, o protocolo experimental e o termo de consentimento, foram submetidos ao Comitê de Ética em Pesquisa da UNICAMP - credenciado pelo CONEP - Conselho Nacional de Saúde/MS. O ensaio iniciou somente após a elaboração e submissão do Protocolo escrito e aprovado pelo Comitê de Ética, parecer número 230/2005. O Investigador foi o responsável por obter aprovação do Protocolo de Estudo pelo Comitê de Ética. Uma cópia da aprovação foi enviada ao patrocinador, antes do início do estudo.

### **4.1.2 Definição do plano de estudo**

O estudo foi do tipo aberto, randomizado, cruzado, sendo 2 tratamentos, 2 períodos (2 seqüências), nos quais os voluntários recebem, em cada período, a formulação teste ou a formulação referência.

A seqüência de tratamento atribuída a cada voluntário nos períodos de estudo é determinada por uma lista de randomização gerada automaticamente pelo sistema SCPCM ( Sistema de Controle de Pesquisas Clínicas de Medicamentos).

As formulações foram administradas em dose única por via oral seguidos de coletas de sangue por pelo menos 3 meias vidas. Os períodos de tratamento devem obedecer um intervalo mínimo de 7 meias-vidas entre eles (*wash-out* período de eliminação da droga pelo organismo).

A finalidade da etapa clínica é a coleta de amostras de sangue dos voluntários para medir (na Etapa Analítica) níveis plasmáticos do fármaco após sua administração oral.

#### **4.1.3 População**

A população estudada foi constituída por 26 voluntários sadios adultos, 13 do sexo masculino e 13 do sexo feminino, com idade de 18 a 50 anos, com índice de massa corpórea maior do que 19 e menor do que 28 (Dietary Guidelines Advisory Committee. 1995). Não houve restrições quanto ao grupo étnico. Os voluntários foram recrutados entre aqueles que se apresentaram à Unidade Clínica.

#### **4.1.4 Recrutamento, seleção e avaliação clínica dos voluntários**

Os voluntários foram aceitos no estudo mediante a constatação de que fossem saudáveis, através de:

- História médica;
- Exame físico
- Exames laboratoriais e eletrocardiograma (ECG), na avaliação inicial, pré-estudo, e após o último período de internação.



Antes da admissão no estudo, os voluntários foram submetidos aos seguintes exames clínicos:

Quadro 1: Ítems da História Clínica e Exames Físicos a serem referenciados no CRF

<b>Categoria</b>	<b>Exames</b>
<u>História Médica</u>	Alergias; olhos, nariz e garganta; sistemas respiratório, cardiovascular, gastrointestinal, genito urinário, nervoso central, hematopoético-linfático, endócrino; dermatológico, musculoesquelético; estabilidade emocional, história familiar, cirúrgica.
<u>Exame Físico</u>	Olhos, orelhas, nariz, garganta, pescoço (incluindo tireóide), coração, pulmões, abdômem (incluindo fígado e baço), pele, linfonodos, sistema nervoso, esqueleto e músculos.
<u>Dados antropométricos</u>	<u>Pressão arterial (medida 5 minutos após descanso, na posição sentada; pulso; altura; peso - roupas leves; índice de massa corpórea; temperatura em <sup>0</sup>C).</u>

Para fins de avaliação das condições de saúde, durante o processo de seleção os voluntários realizarão os testes apresentados no quadro 2:

Quadro 2: Exames Laboratoriais realizados no processo de seleção dos voluntários

<b>Categoria</b>	<b>Exames</b>
ECG	ECG padrão com 12 derivações
Análise hematológica	Hemoglobina, hematócrito, contagem total e diferencial de leucócitos, contagem de glóbulos vermelhos, contagem de plaquetas.
Análise Bioquímica	Ureia, creatinina, bilirrubina total, proteínas totais, albumina, glicose em jejum, fosfatase alcalina, AST, ALT, colesterol total, triglicérides, ácido úrico, $\gamma$ GT.
Urina	Sumário de Urina (urina I)
Fezes	Protoparasitológico.
Sorologia	Análise Sorológica para: hepatite B, hepatite C e HIV(1+2)

Uma vez avaliada a higidez, os voluntários foram submetidos a uma entrevista livre para a avaliação da saúde mental, bem como condições emocionais para participar da investigação, antes do início do estudo.

#### 4.1.5 Medicamento

##### 4.1.5.1 Identificação dos medicamentos

**Formulação Referência:** Pen-Ve-Oral<sup>®</sup> - comprimido 500.000 UI, produzido pela Eurofarma Laboratórios Ltda

**Formulação Teste:** Meracilina – comprimido 500.000 UI, produzido pela Aché Laboratórios Farmacêuticos Ltda.

##### 4.1.6 Aleatorização da Medicação

A seqüência de administração da medicação a cada voluntário foi definida de forma aleatória.

Quadro 3: Aleatorização da medicação

<b>Voluntário</b>	<b>Período 1</b>	<b>Período 2</b>
1	MERACILINA	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>
2	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>	MERACILINA
3	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>	MERACILINA
4	MERACILINA	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>
5	MERACILINA	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>
6	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>	MERACILINA
7	MERACILINA	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>
8	MERACILINA	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>
9	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>	MERACILINA
10	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>	MERACILINA
11	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>	MERACILINA
12	MERACILINA	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>
13	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>	MERACILINA
14	MERACILINA	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>
15	MERACILINA	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>
16	MERACILINA	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>
17	MERACILINA	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>
18	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>	MERACILINA
19	MERACILINA	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>
20	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>	MERACILINA
21	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>	MERACILINA
22	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>	MERACILINA
23	MERACILINA	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>
24	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>	MERACILINA
25	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>	MERACILINA
26	MERACILINA	PEN-VE-ORAL <sup>®</sup>

#### **4.1.7 Confinamento dos Voluntários**

Os voluntários foram internados na Clínica São Lucas, na cidade de Americana, que possui uma unidade para ensaios clínicos com 30 leitos e posto de enfermagem.

Os voluntários se apresentaram na sede da Synchronphar, situada a Rua Candido Gomide, 38, Campinas-SP, até as 18:00 horas na noite anterior de cada período do estudo para uma reunião pré-internação, seguida de uma avaliação médica, e vistoria dos pertences pessoais e separação destes não pertinentes à internação com devolução ao final de cada internação.

O grupo de voluntários sob responsabilidade e cuidados da Synchronphar, foi levado para internação na Clínica São Lucas (Americana) e permaneceu na unidade por 20 horas. O primeiro período de internação teve início dia 12/05/2005 às 20:30 horas e término no dia 13/05/2005 às 16:00 horas. O segundo período teve início no dia 19/05/2005 às 20:00 horas e término dia 20/05/2005 às 16:00 horas.

Os voluntários receberam assistência e cuidados especializados durante todos os períodos de tratamento, o que incluiu uma averiguação sumária de suas condições quando de seu confinamento e no momento da alta, de forma a possibilitar avaliar sua aderência aos quesitos do estudo.

#### **4.1.8 Horários de jejum e alimentação**

Ao chegarem na Clínica São Lucas, os voluntários fizeram sua última refeição do dia, permaneceram em jejum a partir das 21:00 horas (por 10 horas de jejum) da noite do confinamento até a manhã do dia seguinte, quando foram servidas as refeições (Tabela 2):

- Jantar (10 horas antes da administração da medicação);
- Entre 4 e 5 horas após a administração da medicação foi servido um almoço padronizado.
- Após 7-8 horas da administração da medicação foi oferecido um lanche da tarde padronizado.

A fim de manter a padronização dos grupos de tratamento, a dieta (alimentos e líquidos) em torno de 2500 a 2700 Kcal que corresponde a 3 refeições (jantar, almoço e lanche da tarde) oferecida obedeceu ao mesmo padrão para todos os voluntários. Todos os alimentos e bebidas servidos foram ingeridos por completo. O cardápio foi estipulado pela Unidade Clínica e a nutricionista da Unidade de Internação (Tabela 3).

Tabela 2: Horário da dieta padronizada nos dois períodos de estudo

Tempo após administração	Refeição	Líquidos
20:00	Jantar	Permitidos
07:00	Administração da medicação	
04:00 – 05:00	Almoço	Permitido
07:00 – 08:00	Lanche da tarde	Permitido

#### 4.1.9 Dieta padronizada nos dois períodos de estudo

Tabela 3: Dieta administrada nos dois períodos de internação

Períodos I e II	
Refeições	Dieta Administrada
Jantar	Alface, tomate, arroz, feijão, filé de peixe, legumes gratinados (batata, vagem e cenoura) e canjica com coco.
Almoço	Rúcula com tomate e molho italiano, arroz, feijão, carne de panela, lasanha (massa, presunto, mussarela e molho vermelho) e sagu.
Lanche da Tarde	Pão francês, iogurte de morango, geléia sache, mamão formoso e margarina sache.

Líquidos: a ingestão de líquidos *ad libidum* foi permitida até seis horas antes da administração da medicação. Junto com a medicação foram programadas as seguintes ingestões de líquido: 200 mL de água mineral sem gás em temperatura ambiente junto com a medicação. Água e líquidos (sem xantina) foram permitidos *ad libidum* após 2 horas da administração da medicação.

Jejum: os voluntários permaneceram em jejum a partir das 21:00 horas (pelo menos dez horas de jejum antes da medicação) da noite da internação até a manhã do dia seguinte.

Os voluntários não tomaram líquidos desde seis horas pré-administração da medicação e até duas horas após a ingestão da medicação.

#### **4.1.10 Administração do medicamento teste e referência**

##### **Posologia**

Os voluntários receberam em cada um dos períodos de internação, um comprimido contendo 500.000 UI de Fenoximetilpenicilina, por via oral em dose única, com um copo de água mineral (200 mL), seguindo a randomização:

- Meracilina – comprimido 500.000 UI, Aché Laboratórios Farmacêuticos Ltda.
- Pen-Ve-Oral<sup>®</sup> – comprimido 500.000 UI, Eurofarma Laboratórios Ltda.

#### **4.1.11 Cronograma de coleta das amostras**

A coleta das amostras foi realizada por meio de cateter heparinizado introduzido em veia superficial do antebraço do voluntário e após pelo menos oito horas de jejum foi feita uma coleta de sangue de 20 mL para controle individual e curvas padrões em seguida foi realizada a coleta da pré-dose de 8 mL realizada no máximo de até 30 minutos antes da administração da medicação. Após a administração da medicação iniciou as coletas de sangue para análise farmacocinética do fármaco.

No total foram coletadas 32 amostras de 8 mL de sangue (16 em cada período do estudo). Um total de aproximadamente 336 mL de sangue foi coletado durante os dois períodos do estudo, incluindo o volume coletado para os exames laboratoriais pré e pós-estudo. Os tempos de coleta são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4: Descrição das Etapas do Protocolo Clínico

<b>Tempos de coleta p/ a fenoximetilpenicilina</b>	<b>Descrição</b>
hh:mm	0:00; 0:10; 0:20; 0:30; 0:40; 0:50; 1:00; 1:15; 1:30; 1:45; 2:00; 2:30; 3:00; 4:00; 6:00; e 8:00 horas.

#### **4.1.12 Processamento e armazenamento inicial das amostras**

Logo após a coleta (máximo de trinta minutos), as amostras de sangue foram centrifugadas em torno de 3.000 rpm por dez minutos a 4°C. Imediatamente após a centrifugação, um mínimo de 2.5 mL de plasma, para cada amostra foi transferido para um primeiro tubo criogênico e o plasma restante foi transferido para um segundo tubo criogênico como uma amostra em duplicata. As amostras de plasma foram armazenadas em frascos, igualmente identificados, a temperatura de -20°C em freezer específico para armazenagem de amostras biológicas, localizado na Unidade Clínica São Lucas.

#### **4.1.13 Armazenamento e transporte das amostras**

Após o término do período de estudo, os frascos identificados individualmente foram embalados por voluntário e por período do estudo. O transporte para a unidade analítica foi realizado de acordo com as normas de transporte de amostras.

Depois de completada a etapa analítica, as amostras restantes ficaram sob a responsabilidade e aos cuidados da unidade clinica, por até três meses após a entrega do relatório final ao patrocinador.

#### **4.1.14 Amostras de retenção–inventário**

O Centro mantém, em local próprio, amostras de retenção de ambas as formulações até o vencimento do prazo de validade mais longo. Nenhum fármaco pode ser desprezado sem a comunicação por escrito do patrocinador. Cabe ao Investigador Principal ou ao responsável designado por ele manter um inventário com o registro dos

fármacos recebidos, administrados, devolvidos, enviados ao patrocinador ou retidos conforme Tabela 5.

Tabela 5: Descrição das amostras de retenção

Nome	Produto Teste	Produto Referência
	Meracilina	Pen-Ve-Oral®
Ativo farmacêutico	Fenoximetilpenicilina	Fenoximetilpenicilina
Forma farmacêutica	Comprimido	Comprimido
Número de lote	41200	59749
Concentração	500.000 UI	500.000 UI
Validade	12/2008	Fev/2007
Fabricante	Aché Laboratórios Farmacêuticos S/A	Eurofarma Laboratórios Ltda.

#### 4.1.15 Avaliação Pós- estudo

Após três dias do final do estudo, os voluntários foram reavaliados clinicamente e por exames laboratoriais subsidiários realizados na fase pré-estudo.

O exame pós-estudo foi para verificar se o voluntário não apresenta nenhum sintoma de doença ou dano à saúde. O exame pós-estudo realizou-se dentro de dez dias após a coleta da última amostra de sangue para análise farmacocinética do segundo período.

Os exames pós-estudo foram os seguintes: exame físico (inclusive ECG com 12 derivações, pressão sangüínea, temperatura corporal, frequência cardíaca e peso); exames laboratoriais sangue (incluindo  $\beta$ -HCG) e urina, exceto sorologia; bem-estar geral e medicação concomitante.

Durante o exame pós-estudo, cada participante foi orientado a não doar sangue por pelo menos dois meses, nem participar, por um período mínimo de três meses após o estudo, de quaisquer estudos clínicos que impliquem a coleta de amostras de sangue.

## 4.2 ETAPA ANALÍTICA

A etapa analítica consiste na fase de quantificação do fármaco no plasma. Foi realizada na unidade analítica da T&E Analítica Centro Analítico e Científico, localizada em Campinas, São Paulo, seguindo os critérios definidos pela RE nº 899 “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos” de 29 de maio de 2003, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

### 4.2.1 Materiais e reagentes usados na análise da Fenoximetilpenicilina

Os materiais e métodos na análise da Fenoximetilpenicilina estão descritos na Tabela 6:

Tabela 6: Descrição das condições cromatográficas para o estudo

<b>Técnica HPLC - UV</b>	
Matriz biológica	Plasma (336 µL)
Modo Eluição	Sólido/líquido
Coluna	C18 250 mm x 4,0 mm (5µm)
Nome comercial	Lichrospher
Modo Eluição	Isocrático
Fase Móvel	Tampão KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 10nM: ACN (60:40) pH 3,5
Vazão	1,3 mL/min
Volume de injeção	20 µL
Deteção	Ultra-violeta a 220 nm
Quantificação	Padrão interno Fenitoína
Tempo de retenção	FMP cerca de 4,0 minutos Padrão interno cerca de 10,0 minutos

Tabela 7: Padrões de Referência usados na análise da Fenoximetilpenicilina

<b>Nome</b>	<b>Utilização</b>	<b>Descrição</b>	<b>Lote</b>
Phenicillin V	Analito	Grau USP	HOC213
Potassium Phenytoin	Padrão interno	Grau USP	I2B233



#### 4.2.2 Procedimento para o tratamento de fluido biológico (plasma)

O isolamento das amostras de plasma foi realizado pela extração em fase sólida (cartucho SPE) após adição de solução padrão interno, utilizando o procedimento analítico:

1- Transferiu-se com auxílio de micropipeta volumétrica, 1000 µL de plasma sanguíneo para um frasco eppendorf de 4,5 mL.

2- Adicionou-se com pipeta volumétrica, 10 µL da solução de padrão interno preparado em diluente em concentrações de cerca de 10 mg/L.

3- Adicionou-se com auxílio de pipeta volumétrica, 1000 µL de H<sub>2</sub>O deionizada para diluir o plasma na concentração de 1:1;

4- Agitou-se em sistema vórtex por 1 minuto;

5- Efetuou-se a extração da solução de amostra sobre o cartucho C18 (ref. Waters Oasis<sup>®</sup> HLB 1cc 30mg Extraction Cartridges), previamente condicionado com 2 mL de solução metanol/água 1:1;

6- Efetuou-se 2 lavagens com 1 mL de água deionizada no cartucho para a eliminação de impurezas;

7- Eluiu-se com 1 mL de MeOH grau HPLC, filtrando diretamente sobre o “vial” de injetor automático de 2 mL;

RE: n°899 de 29 de maio de 2003.

##### 4.2.2.1 Cálculo

A concentração do ativo por mililitro de amostra foi calculada utilizando-se a equação da reta, obtida pela leitura dos padrões, de acordo com a seguinte equação:

$$Conc. Ativo = \frac{Área - b}{a}$$

Onde:

Conc. Ativo = concentração do ativo por mililitro de amostra (mg/mL);

Área = área referente ao sinal analítico do ativo;

b = coeficiente linear da curva de calibração;

a = coeficiente angular da curva de calibração;

### **4.3 Validação da Metodologia Analítica**

A Validação da Metodologia Analítica aplicada ao processo de Bioequivalência, busca garantir a confiabilidade dos resultados por meio dos ensaios de: especificidade, linearidade, recuperação, exatidão, precisão, limite de quantificação, robustez e estabilidade.

O ensaio busca a validação do método analítico por HPLC para a determinação do ativo de Fenoximetilpenicilina em amostras de plasma sanguíneo, visando a obtenção de curvas farmacocinéticas em ensaios de bioequivalência farmacêutica.

A validação foi realizada através da determinação de especificidade, linearidade, recuperação, exatidão, precisão, limite de quantificação, robustez e estabilidade conforme estabelecido pela Resolução nº899 de 29 de maio de 2003 (89).

### **4.4 Validação do método analítico**

O processo de validação visa a determinação do ativo de Fenoximetilpenicilina (FMP) em amostras de plasma sanguíneo, visando a obtenção de curvas farmacocinéticas em ensaios de bioequivalência.

Os procedimentos buscam atender as exigências analíticas dentro dos parâmetros de validação para o fármaco em estudo, de acordo com a RE Nº899 “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos” de 29 de maio de 2003 da ANVISA/MS (89).

A determinação da adequabilidade e confiabilidade de um método analítico para a realização de um estudo de bioequivalência é realizada por meio da averiguação de sua sensibilidade, especificidade, linearidade, acurácia, precisão e reprodutibilidade, levando-se ainda em conta a estabilidade dos compostos que estão sendo empregados. Pode-se concluir que os métodos bioanalíticos de “quantificação da fenoximetilpenicilina em amostras de plasma humano utilizando a técnica de HPLC/UV” foram validados de acordo com a RE N°899 de 29 de maio de 2003 (89), e para esta certificação utilizou-se dos seguintes parâmetros e respectivos limites de aceitação:

#### **4.4.1 Especificidade/Seletividade:**

A especificidade foi aplicada quando se busca analiticamente uma espécie única, enquanto que a seletividade busca a espécie como um todo. A especificidade foi medida em função do branco do solvente e branco do plasma sanguíneo (plasma normal, lipêmico e hemolisado), podendo também ser medida pela intersecção ou proximidade dos compostos, ambos em concentrações próximas, por meio da teoria da equação de resolução cromatográfica, utilizada para a verificação da eficiência de colunas cromatográficas.

A especificidade é comprovada pela determinação de inexistência de interferência significativa no tempo de retenção do fármaco, metabólitos ou padrão interno, comparando-se visualmente os cromatogramas obtidos com aquele produzido pela análise de uma solução aquosa destas, numa concentração próxima ao limite de quantificação (LOQ);

#### **4.4.2 Recuperação:**

Para a realização do teste, foram realizadas análises em triplicata dos padrões de baixa, média e alta concentração (tabela 19 e 20) em matriz biológica e aquosa. A recuperação, separadamente, foi calculada em função da relação da área do padrão extraído (em plasma) e não extraído (em solvente).

#### **4.4.3 Limite de Quantificação:**

O valor do limite de quantificação em solvente e em matriz biológica foi resultado de áreas mínimas obtidas com resolução e variação aceitáveis para o estudo. Tendo como base o menor padrão da curva de calibração, inicialmente preparado de 0,30mg/L, foram analisados em quintuplicata padrões de 0,10 mg/L, o qual foi considerado como limite de quantificação do método (tabela 21).

#### **4.4.4 Sensibilidade:**

Utiliza-se o Limite de Quantificação (LOQ) para avaliação da sensibilidade, de forma a considerar não somente a capacidade de detecção do método, mas também em função dos critérios de precisão e acurácia do mesmo. O LOQ é aprovado se forem satisfeitos os seguintes critérios: Inexistência de interferência ou resposta cinco vezes maior que qualquer interferência existente em brancos nos tempos de retenção em uso; Pico do fármaco (analito) identificável, claro, discreto com uma precisão de 20%, calculada pelo coeficiente de variabilidade do valor quantificado para cinco alíquotas provenientes de um mesmo controle padrão, bem como da correspondente duplicata da curva de calibração. c) Acurácia de 80% a 120% em relação ao valor nominal da concentração do controle padrão utilizado, bem como da correspondente duplicata da curva de calibração em uso.

#### **4.4.5 Linearidade:**

É avaliada em função da linearidade da curva de calibração empregada. A curva de calibração, cujos pontos são quantificados em duplicata, é aprovada se forem satisfeitos os seguintes critérios: Pelo menos 4 de 6 padrões das diferentes concentrações, incluindo o padrão correspondente ao LOQ e o padrão de maior concentração, com desvio menor do que 15% da respectiva concentração nominal (menor que 20% para o LOQ) em pelo menos uma das duplicatas; Coeficiente de correlação da curva igual ou maior que 0,95.

A linearidade do método proposto foi avaliada inicialmente pela preparação de padrões com padrão interno em meio solvente. Para a construção da curva de calibração (resposta) neste meio foram utilizados padrões em solução diluente nas

concentrações de 0,1; 0,3; 0,5; 1,0; 2,5; 4,0 e 5,0 mg/L com padrão interno na concentração fixa de 1,0 mg/L (tabela 15 e gráfico 3). Após a constatação da linearidade em meio solvente, verificada pelo coeficiente de correlação da curva ( $R^2 \geq 0,99$ ), foram preparados padrões em plasma nas mesmas concentrações para o ativo e padrão interno (tabela 18 e gráfico 4).

#### **4.4.6 Precisão:**

É o grau de repetibilidade entre os resultados de análises individuais, sendo a metodologia aplicada diversas vezes em uma mesma amostra homogênea, em condições idênticas de análise. Após a realização do estudo em linearidade em plasma foram definidos os padrões de baixa, média e alta concentração. Para o cálculo da precisão em meio biológico cada padrão foi analisado em quintuplicata. Os cálculos de precisão foram determinados em uma mesma corrida analítica (precisão intra-corrída) e em corridas diferentes (precisão inter-corrídas), avaliadas em termos do desvio padrão relativo (DPR).

A precisão pode ser expressa como desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação (CV%), segundo a fórmula, em que DP é o desvio padrão e CMD é a concentração média determinada:

$$\text{DPR} = \frac{\text{DP}}{\text{CMD}} \times 100$$

Os dados de precisão em fluído biológicos são mostrados na tabela 22.

#### **4.4.7 Fator de Assimetria:**

O fator de assimetria T “tailing factor”, é uma medida de simetria de pico, sendo que valores de T=1,0 referem-se a picos perfeitamente simétricos. O valor de T pode variar aleatoriamente dependendo da assimetria do pico. Com valores de T < 1,0 observa-se que o pico apresenta uma assimetria frontal e com valores de T > 1,0 uma assimetria distal. A variação da assimetria influi no reconhecimento instrumental do início e final do sinal cromatográfico (derivada 1º e derivada 2º), responsável pela variabilidade da área integrada.

Para este estudo, o valor de T obtido corresponde a 1,2, o que conceitua picos com baixa assimetria distal.

#### **4.4.8 Exatidão:**

Após a realização do estudo de linearidade e definidos os padrões de baixa, média e alta concentração, a exatidão foi determinada em uma mesma corrida analítica (exatidão intra-corrída) e em corridas diferentes (exatidão inter-corrídas). Para a determinação da exatidão, calculou-se o valor da recuperação, utilizando-se para cálculo a quintuplicata da injeção de cada amostra (tabela 24). O valor de exatidão para cada padrão em porcentagem deve estar entre 85 e 115 %, segundo a equação:

$$RECUPERAÇÃO = \frac{\text{Concentração Obtida}}{\text{Concentração Teórica}} \times 100$$

#### **4.4.9 Reprodutibilidade:**

Avaliada a partir da determinação da precisão e acurácia de 3 lotes provenientes de matrizes biológicas distintas através da quantificação, para cada um dos lotes, de pelo menos 3 concentrações padrão distintas (controles de qualidade QCA, QCB, QCC), determinadas em função da faixa de concentrações esperadas, tornando-se como base 5 alíquotas de cada concentração.

#### **4.4.10 Estabilidade:**

Para a determinação da estabilidade do ativo em várias condições de estocagem, manuseio e análise foi utilizado um conjunto de amostras preparadas a partir de uma solução padrão recente de Fenoximetilpenicilina, adicionado à matriz biológica em “branco”.

#### **4.4.11 Estabilidade de curta duração:**

Foram utilizadas três amostras de baixa, média e alta concentração, que permaneceram por 18 horas em temperatura ambiente e analisadas nas condições analíticas (tabela 6) e resultados (tabela 29 e 30).

#### **4.4.11 Estabilidade após ciclo de congelamento e descongelamento:**

A estabilidade após ciclos de congelamento e descongelamento em plasma foi analisada, partindo-se de três amostras de baixa, média e alta concentração, preparadas e analisadas de imediato. As amostras foram congeladas à -20°C e mantidas por 24 horas, descongeladas em temperatura ambiente (de 23 a 26°C) e congeladas novamente por 12 horas, e assim sucessivamente, até completar os três ciclos. Após realização de três ciclos de congelamento e descongelamento, as amostras foram re-analisadas, medindo o desvio da análise inicial. Os resultados são mostrados nas tabelas 31 e 32.

#### **4.4.12 Estabilidade no tempo e condições de análise/ pós-processamento**

Para este estudo, foram utilizadas três amostras de baixa, média e alta concentração, preparadas e analisadas de imediato. As amostras foram mantidas dentro do amostrador automático por no mínimo 28 horas, correspondendo à simulação do tempo necessário para análise de um lote analítico. Após este período nas condições descritas, as amostras foram re-analisadas. Os resultados são mostrados nas tabelas 33 e 34.

#### **4.4.13 Estabilidade de longa duração:**

O estudo de estabilidade de longa duração foi realizado utilizando-se três amostras de baixa, média e alta concentração, preparadas e analisadas de imediato. As amostras foram congeladas à -20°C e mantidas ao intervalo de tempo correspondente desde a primeira coleta até a análise da última.

**4.4.12 Estabilidade das soluções-padrão:** Para este estudo, foram utilizadas três amostras de baixa, média e alta concentração, preparadas com soluções-padrão recentes e analisadas de imediato. Posteriormente novas amostras de baixa e alta concentração, foram preparadas a partir das mesmas soluções-padrão mantidas por, no mínimo, 6 horas à temperatura de armazenagem (2 a 8°C) e analisadas. Os resultados são mostrados nas tabelas 35 e 36.





## 4.5 ETAPA ESTATÍSTICA

Após o recebimento dos relatórios da Etapa Analítica iniciou-se a realização da Etapa Estatística.

No Brasil, de acordo com o Conselho Regional de Estatística toda etapa estatística de um estudo de bioequivalência deve ser acompanhado por um profissional com formação em estatística, conforme Lei nº 4.739/65 e o Decreto Federal nº 62.497/68, que oficializam e regulamentam a profissão do estatístico (104).

Neste estudo, os dados analisados a partir das concentrações de amostras de plasma, foram do tipo aberto, randomizado, cruzado, sendo 2 tratamentos, 2 períodos (2 seqüências).

A etapa estatística em bioequivalência compõe-se basicamente por métodos associados à avaliação da bioequivalência, onde se considera o critério da bioequivalência média sob o delineamento experimental crossover 2x2. Dividiu-se em duas etapas: cálculo do tamanho da amostra/obtenção da randomização (Planejamento do estudo) e análise estatística.

Na primeira etapa além do cálculo do tamanho da amostra e da obtenção da randomização realizou-se a análise dos parâmetros bioquímicos e hemograma para verificar se as diferenças encontradas antes e após o estudo foram significativas e para isso utilizou-se a comparação entre médias de duas amostras pareadas.

Para a análise da estatística de bioequivalência, de acordo com o órgão regulador, os dados foram conduzidos após transformação logarítmica baseada no modelo aditivo para todos os valores de ASC e  $C_{max}$ . O  $T_{max}$ , foi estatisticamente avaliado utilizando a diferença individual, construindo um intervalo de confiança de 90%, por meio de teste não paramétrico. Os parâmetros farmacocinéticos  $ASC_{0-inf}$ ,  $T_{1/2}$ , e  $Kel$  foram calculados, porém, estes parâmetros não foram considerados no cálculo de bioequivalência. Para a decisão de bioequivalência, análise considerou como variável alvo  $ASC_{0-t}$  e  $C_{max}$ .

Foi empregada análise de variância (ANOVA) apropriada para o modelo de dois períodos cruzados, sob os dados  $\ln ASC_{0-t}$  e  $\ln C_{max}$ , à qual foram considerados em seu modelo os efeitos de seqüência, voluntária dentro da seqüência, tratamento e

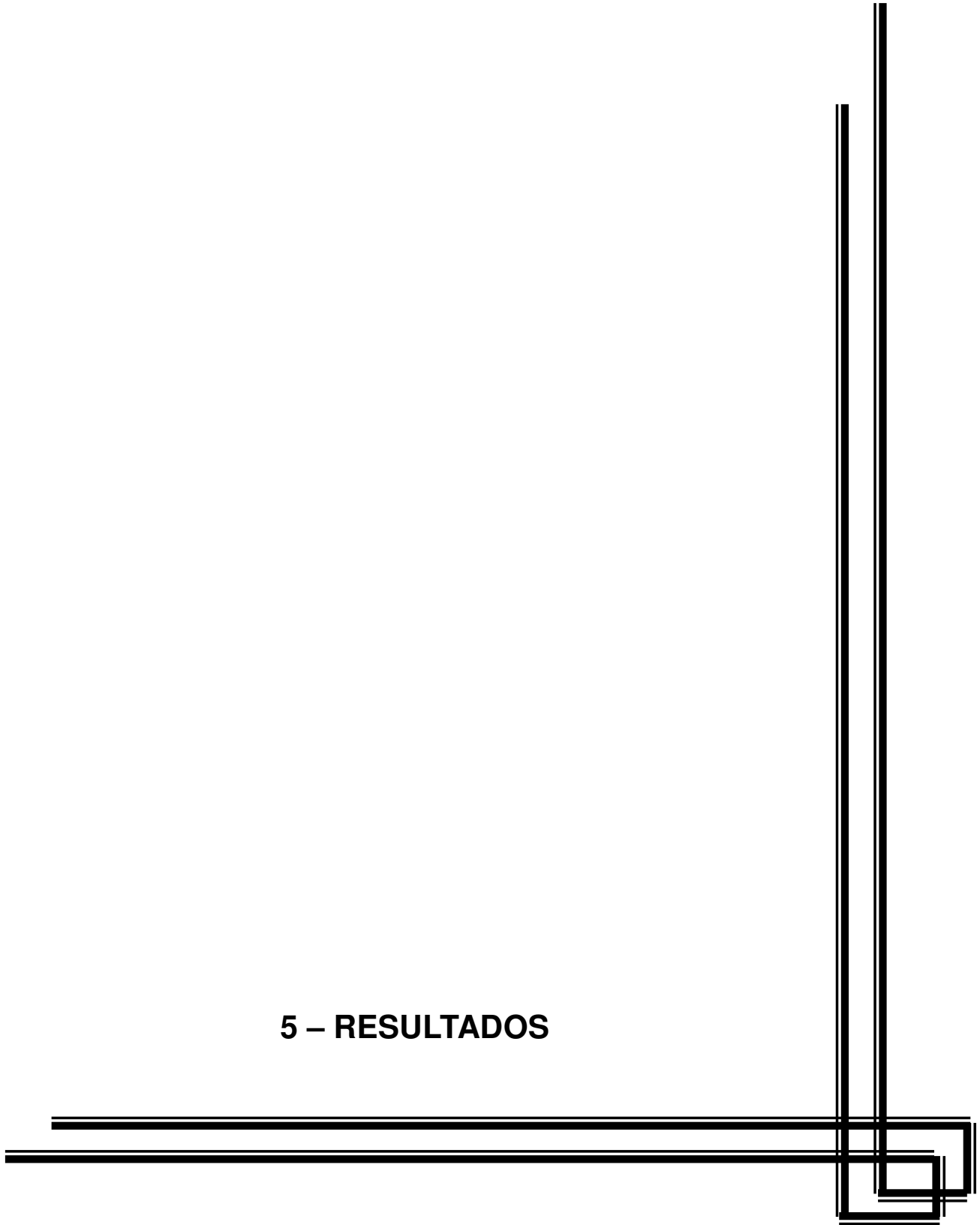
período. Foram calculados os pontos paramétricos e estimativas dos intervalos da razão T/R (formulação teste/formulação referência) para os valores  $ASC_{0-t}$  e  $C_{max}$ .

A biodisponibilidade relativa da formulação teste *versus* referência foi avaliada pelas razões das médias geométricas (pontos estimados). As formulações em estudo são consideradas com biodisponibilidade equivalente quando o intervalo de confiança (IC) de 90% da média geométrica da ASC (no que diz respeito à extensão de absorção),  $C_{max}$  (no que diz respeito à velocidade de absorção), estiverem dentro do intervalo de 80% a 125% da média geométrica da formulação referência (regra do FDA para estudos de bioequivalência e da Resolução 391/99 (48) e Resolução 135/03 da ANVISA/MS (103)).

O número planejado da amostra foi de 26 voluntários, calculado conforme recomendação da ANVISA (2003). Alguns voluntários sofreram atraso durante as coletas. Os atrasos foram considerados no cálculo dos parâmetros farmacocinéticos.

As análises do logaritmo da área sob a curva do tempo 0 ao tempo  $t$ , da área sob a curva do tempo 0 ao infinito e da concentração máxima foram realizadas usando um modelo linear em que variáveis independentes foram a seqüência (RT e TR), período (1 e 2), produto (R e T) e voluntários dentro da seqüência. A análise farmacocinética foi realizada com os seguintes programas: Microsoft Excel v.1997; Microsoft Word V. 1997; WinNonLin<sup>TM</sup>; EquivTest<sup>TM</sup> v. 3.1 para o cálculo da ANOVA e para os gráficos utilizou-se o Graph Pad Prism<sup>®</sup> versão 2.0.

## 5 – RESULTADOS





## 5.1 ETAPA CLÍNICA

### 5.1.1 Dados da População

Um total de 26 voluntários foi selecionado no estudo, sendo 13 do sexo feminino, e 13 do sexo masculino, todos com idade entre 18 e 50 anos, 13 foram alocados na seqüência 1 e outros 13 na seqüência 2.

Tabela 8: Descrição dos voluntários

<b>Voluntário</b>	<b>Sexo</b>	<b>Idade</b>	<b>Peso</b>	<b>Altura</b>	<b>IMC</b>
1	M	32	80,8	1,73	27,00
2	M	26	74,3	1,74	24,54
3	M	29	64,5	1,74	21,30
4	M	22	87	1,79	27,15
5	M	27	58,5	1,68	20,73
6	M	23	67,2	1,77	21,45
7	M	24	97,2	1,88	27,50
8	M	20	60,8	1,69	21,29
9	M	19	74,1	1,79	23,13
10	M	23	73	1,81	22,28
11	M	31	63,5	1,64	23,61
12	M	23	71,5	1,79	22,32
13	M	20	77	1,77	24,58
14	F	34	54,2	1,64	20,15
15	F	25	55,5	1,61	21,41
16	F	39	68	1,61	26,23
17	F	24	69,9	1,66	25,37
18	F	18	55	1,59	21,76
19	F	31	52,7	1,49	23,74
20	F	20	54,1	1,57	21,95
21	F	24	54,5	1,56	22,39
22	F	21	53	1,58	21,23
23	F	22	61	1,59	24,13
24	F	23	59	1,57	23,94
25	F	26	56,2	1,57	22,80
26	F	38	53,8	1,55	22,39

Tabela 9: Estatística descritiva dos dados antropométricos da população em estudo

Variáveis	N	Média	DP	Mínimo	Mediana	Máximo
<b>Altura</b>	26	1,67	0,10	1,49	1,65	1,88
<b>Peso</b>	26	65,24	11,62	52,70	62,25	97,20
<b>IMC</b>	26	23,25	2,07	20,15	22,60	27,50
<b>Idade</b>	26	25,54	5,64	18,00	24,00	39,00

### 5.1.2 História Clínica Pré-Estudo

Tabela 10: Descrição da história clínica dos voluntários

Características	Ocorrências
Pressão Arterial	Nenhum desvio significativo
Frequência Cardíaca	Nenhum desvio significativo
Temperatura	Nenhum desvio significativo
Abuso de álcool e drogas	Não relatado por nenhum voluntário
Fumante	9 voluntários relataram ser ex-fumantes
Doador de sangue	Não relatado por nenhum voluntário

Tabela 11: Avaliação dos Sistemas da História Clínica Pré-estudo

História	Ocorrências
Alergia	07 voluntários
Olhos, ouvidos, nariz e garganta	05 voluntários
Respiratória	04 voluntários
Cardiovascular	Não houve relato
Gastrointestinal	04 voluntários
Genitourinário	01 voluntário
Dermatológico	01 voluntário
Sistema Nervoso Central	Não houve relato
Hematopoiético – linfático	04 voluntários
Endócrino	Não houve relato
Dermatológico	Não houve relato
Musculoesquelético	Não houve relato
Estabilidade emocional	03 voluntários
História cirúrgica	09 voluntários
História familiar	14 voluntários
Outros	02 voluntários (Hepatite A na infância)

### 5.1.3 Exames Laboratoriais Pré e Pós-estudo

Tabela 12: Descrição da História Clínica e Exames Laboratoriais Pré e Pós-estudo

<b>Características</b>	<b>Ocorrências</b>
Dados antropométricos: Pressão arterial, Frequência Cardíaca, Temperatura, Pulso, ECG	Nenhum desvio significativo nos resultados
Exame Físico	Comissura Labial direita (boca) e linfonodo direito doloroso pós extração dentária (voluntário 20).
Exames Laboratoriais (Hematológicos, Uroanálise, Parasitológico, Imunológico e teste de gravidez ( $\beta$ -HCG))	Nenhum desvio significativo nos resultados
Abuso de álcool e drogas	Não houve relato
Fumante	Ex-fumantes (9 voluntários)
Doador de sangue	Não houve relato

Obs: Na fase pós-estudo não são realizados os exames parasitológicos e imunológicos.

### 5.1.4 Resultados da Etapa Clínica

Foram selecionados no estudo 26 voluntários sadios, sendo 13 do sexo masculino e 13 do sexo feminino, todos com idade entre 18 e 50 anos, com índice de massa corpórea maior que 19 e menor do que 28.

Nos exames laboratoriais, tanto no hemograma como nos parâmetros bioquímicos, não houve nenhuma alteração significativa, conforme pode ser constatado nos Quadros 4 e 5 abaixo:

Quadro 4: Análise do hemograma antes e depois da realização do estudo

Exame	Hemograma Completo		Teste t-pareado
	Homens	Mulheres	
Eritrócitos	4,5 a 6,1 milhões/mm <sup>3</sup>	4,0 a 5,4 milhões/mm <sup>3</sup>	t = 0,102
Hemoglobina	12,8 a 17,8 g/dL	11,3 a 16,3 g/dL	t = 0,312
Hematócrito	40,0 a 50,0%	36,0 a 48,0%	t = 0,080
V.C.M.	77,0 a 92,0 fL	77,0 a 92,0 fL	t = 0,112
H.B.C.M.	27,0 a 32,0 pg	27,0 a 32,0 pg	t = 0,242
C.H.B.C.M.	30,0 a 35,0 g/dL	30,0 a 35,0 g/dL	t = 0,063
R.D.W.	11,5 a 14,5	11,5 a 14,5	t = 0,568
	<b>Valores Relativos</b>	<b>Valores Referência</b>	
	<b>Homens</b>	<b>Mulheres</b>	
Leucócitos	4,0 a 11,0 /mm <sup>3</sup>	4,0 a 11,0 /mm <sup>3</sup>	t = 0,123
Neutrófilos	40 a 70%	40 a 70%	t = 0,216
Segmentados	36 a 66%	36 a 66%	t = 0,122
Eosinófilos	2,0 a 4,0%	2,0 a 4,0%	t = 0,718
Linfócitos	25 a 45%	25 a 45%	t = 0,078
Monócitos	2,0 a 10,0%	2,0 a 10,0%	t = 0,582
Plaquetas	150.000 a 400.000/mm <sup>3</sup>		t = 0,072



Quadro 5: Análise dos parâmetros bioquímicos antes e depois da realização do estudo

Exame	Valores de referência		Teste t-pareado
<b>Bioquímica</b>			
	Homens	Mulheres	
Glicose em Jejum	60 a 99 mg/dL	60 a 99 mg/dL	t = 0,065
Colesterol Total	< 200 mg/dL	< 200 mg/dL	t = 0,384
Triglicérides	< 150 mg/dL	< 150 mg/dL	t = 0,193
Uréia	6,0 a 50,0 mg/dL	6,0 a 50,0 mg/dL	t = 0,067
Creatinina	0,9 a 1,3 mg/dL	0,6 a 1,1 mg/dL	t = 0,188
Ácido Úrico	3,5 a 7,2 mg/dL	2,6 a 6,0 mg/dL	t = 0,693
Transaminase Oxalacetica	15 a 40 U/L	13 a 35 U/L	t = 0,100
Transaminase Pirúvica	10 a 40 U/L	7 a 34 U/L	t = 0,119
Fosfatase Alcalina	De 20 a 49 anos – 70 a 290 U/L Acima de 50 anos – 90 a 430 U/L		t = 0,089
Gama GT	2 a 30 U/L	1 a 24 U/L	t = 0,297
Bilirrubina Total	0,5 a 1,4 mg/dL		t = 0,118
Bilirrubina Direta	0,1 a 0,6 mg/dL		t = 0,132
Bilirrubina Indireta	0,1 a 0,8 mg/dL		t = 0,084
Proteínas Totais	6,0 a 8,0 g%		t = 0,155
Albumina	3,5 a 5,5 g%		t = 0,928
Globulinas	1,0 a 3,0 g%		t = 0,090
Relação A/G	No mínimo 1,2		t = 0,112

Para a comparação dos resultados dos exames laboratoriais realizados antes e após o estudo aplicou-se o “Teste t para dados pareados” (comparação entre médias de duas amostras pareadas).

De acordo com os valores encontrados ( $t > 0,05$ ), verificou-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias dos exames quando comparados no mesmo indivíduo, antes e após a realização do estudo de bioequivalência, tanto para os parâmetros bioquímicos quanto para o hemograma.

### 5.1.5 Desvios de Protocolo

Ocorreram atrasos de coletas de amostras (tabela 13). Estes atrasos foram considerados na análise farmacocinética do fármaco.

Tabela 13: Atrasos dos pontos de coleta

<b>Voluntário</b>	<b>Período</b>	<b>Horário de Coleta (h)</b>	<b>Tempo de Atraso (min)</b>
03	1	1,00	1
03	1	2,50	1
03	1	4,00	1
03	2	8,00	3
08	2	1,00	1
09	1	4,00	20
11	1	3,00	2
11	1	4,00	2
14	1	0,33	1
17	2	1,50	1
19	1	0,17	2
24	1	0,50	1
24	1	8,00	1
26	1	0,30	1

### 5.1.6 Ocorrência de Eventos Adversos

Neste estudo, foram incluídos 26 voluntários. Dos voluntários participantes, 01 apresentou eventos adversos (tabela 14), não sendo relacionado ao fármaco. Os eventos adversos foram devidamente descritos e anotados nas fichas clínicas dos voluntários.

O estudo transcorreu sem nenhum evento adverso sério.

Tabela 14: Eventos Adversos relatados pelos voluntários durante a internação

<b>Voluntário</b>	<b>Período</b>	<b>Medicamento</b>	<b>Evento Adverso (intensidade)</b>
18	1	R	Dismenorréia com cefaléia (leve)
	2	T	Não houve evento adverso

## 5.2 ETAPA ANALÍTICA

### 5.2.1 Resultados da Etapa Analítica

O método analítico descrito foi devidamente validado, para garantir a confiabilidade dos resultados. Para validar a metodologia analítica da Fenoximetilpenicilina, foram avaliados os seguintes parâmetros: sensibilidade, especificidade/seletividade, linearidade, exatidão e precisão intra e inter corrida analítica e recuperação do método de extração, levando em consideração a estabilidade dos analitos nas condições experimentais.

### 5.2.2 Linearidade

Tabela 15: Dados para a construção da curva de calibração resposta em meio solvente (concentração de padrão interno de 1,0 mg/L)

Conc Teórica FMP (mg/L)	Área de FMP	Área de PI	Razão de Áreas ATIVO/PI	Conc. Obtida (mg/L)	Desvio (%)
0,10	1578	84623	0,02	0,10	99,8
	1567	85029	0,02	0,10	98,7
	1604	83918	0,02	0,10	102,3
0,30	4735	86031	0,06	0,29	96,5
	4747	85348	0,06	0,29	97,5
	4624	85946	0,05	0,28	94,4
0,50	7458	81796	0,09	0,48	95,6
	7521	80069	0,09	0,49	98,5
	7740	82146	0,09	0,49	98,8
1,00	15123	83297	0,18	0,95	94,9
	15698	83847	0,19	0,98	97,9
	15914	83928	0,19	0,99	99,1
2,50	41028	83029	0,49	2,58	103,2
	40590	84199	0,48	2,52	100,6
	41612	83179	0,50	2,61	104,4
4,00	65789	85135	0,77	4,03	100,8
	66017	85369	0,77	4,03	100,9
	65915	84179	0,78	4,09	102,1
5,00	78029	82976	0,94	4,91	98,1
	78185	84123	0,93	4,85	97,0
	79117	81697	0,97	5,05	101,0

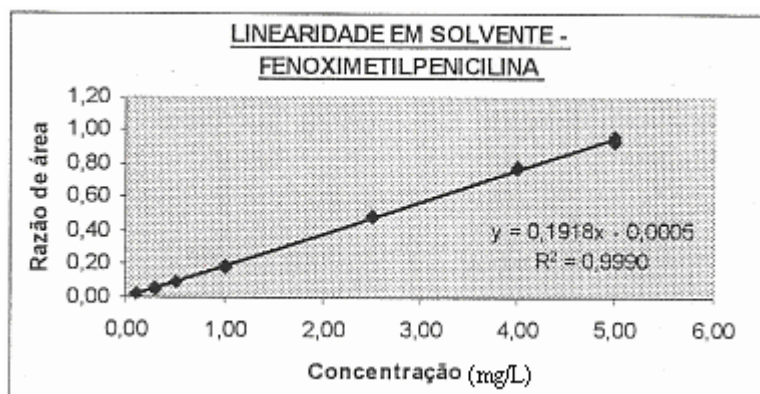


Gráfico 3: Curva de Calibração - padrões em solução diluente.

Conclusão: Considerando-se o coeficiente de correlação  $R^2 > 0,99$ , que conceitua a relação de linearidade entre o eixo x e y e o próprio visual da curva de resposta, pode-se concluir que a linearidade foi compatível para a análise de concentrações distintas do analito em estudo.

### 5.2.3 Precisão:

Tabela 16: Resultados de precisão para o processo em solvente

	Concentração obtida (mg/L)	Concentração obtida (mg/L)	Concentração obtida (mg/L)
1º Determinação	0,29	2,58	4,91
2º Determinação	0,29	2,52	4,85
3º Determinação	0,28	2,61	5,05
Média	0,29	2,57	4,94
Desvio padrão	0,005	0,048	0,105
(DPR) %	1,7	1,9	2,1

Conclusão: Pode-se observar que os valores de DPR (%) individuais contemplam a condição de ser inferior a 5,0 %. Baseando-se nestes resultados, considerou-se a precisão compatível para o processo em solvente.

## 5.2.4 Exatidão:

Tabela 17: Resultados de Exatidão

	Recuperação (%)	Recuperação (%)	Recuperação (%)
1º Determinação	96,4	103,3	100,1
2º Determinação	92,3	99,1	101,1
3º Determinação	91,3	102,5	99,8
Média	93,3	101,6	100,6

Conclusão: Pode-se observar que os valores, assim como as médias das variabilidades da exatidão, encontram-se dentro dos parâmetros de aceitabilidade para o estudo.

## 5.2.5 Linearidade:

Tabela 18: Dados para a construção da curva de calibração (resposta) em meio biológico (concentração de padrão interno 1,0 mg/L)

Conc Teórica FMP (MG/L)	Área de FMP	Área de Padrão Interno (PI)	Razão de Áreas ATIVO/PI	Conc. Obtida (mg/L)	Desvio (%)
0,10	1399	75655	0,018	0,11	107,3
	1400	74426	0,019	0,11	109,0
	1436	78000	0,018	0,11	106,8
0,30	4309	83020	0,052	0,29	96,4
	4348	87633	0,050	0,28	92,3
	4081	83183	0,049	0,27	91,3
0,50	7022	86469	0,081	0,45	89,8
	7355	88470	0,083	0,46	91,9
	7740	87934	0,088	0,49	97,2
1,00	16022	85132	0,188	1,03	103,2
	16691	84923	0,197	1,08	107,7
	16074	86242	0,186	1,02	102,2
2,50	40672	85983	0,473	2,58	103,3
	39678	87450	0,454	2,48	99,1
	40657	86674	0,469	2,56	102,5
4,00	64153	88337	0,726	3,96	99,1
	61162	87591	0,698	3,81	95,2
	63461	85992	0,738	4,03	100,7
5,00	74552	81205	0,918	5,01	100,1
	76162	81517	0,934	5,10	101,9
	74935	81934	0,915	4,99	99,8

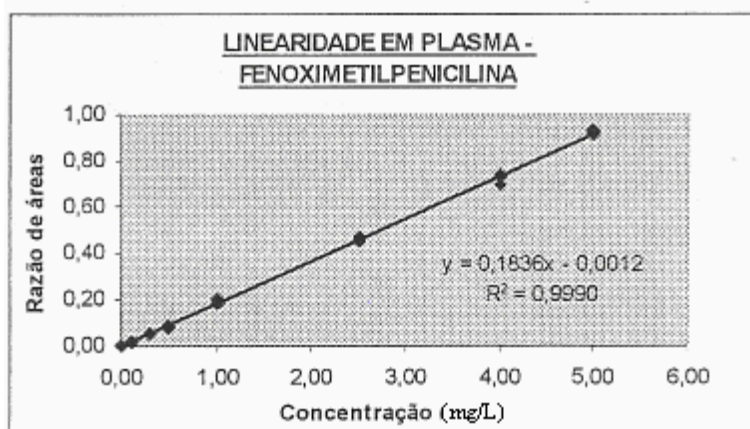


Gráfico 4: Curva de calibração - padrões em matriz biológica

Conclusão: Considerando-se o coeficiente de correlação  $> 0,99$ , que conceitua a relação de linearidade entre o eixo x e y e o próprio visual da curva de resposta, pode-se concluir que a linearidade foi compatível para a análise de concentrações distintas do analito em estudo.

### 5.2.6 Recuperação:

Tabela 19: Porcentagem de Recuperação de Fenoximetilpenicilina (FMP)

Conc. Teórica de FMP (mg/L)	Área em plasma	Área em solvente	Relação de áreas (plasma/solvente)	Recuperação (%)
0,30	4309	4735	0,910	91,0
	4348	4747	0,916	91,6
	4081	4624	0,883	88,3
2,50	40672	41028	0,991	99,1
	39678	40590	0,978	97,8
	40657	41612	0,977	97,7
5,00	74552	78029	0,955	95,5
	76162	78185	0,974	97,4
	74935	79117	0,947	94,7

Tabela 20: Porcentagem de Recuperação do padrão interno Fenitoína

Conc. Teórica de Pad. Interno (PI)	Área do Pico em Plasma	Área em solvente	Relação de áreas (plasma/solvente)	Recuperação (%)
1,00	83020	86031	0,965	96,5
	87633	85348	1,027	102,7
	83183	85946	0,968	96,8
	85983	83029	1,036	103,6
	87450	84199	1,039	103,9
	86674	83179	1,042	104,2
	81205	82976	0,979	97,9
	81517	84123	0,969	96,9
	81934	81697	1,003	100,3
Média	84289	84059	1,0031	100,31

Conclusão: Considerando-se a variação para a recuperação do analito em meio biológico, pode-se observar, com os resultados obtidos, que a mesma foi compatível com a condição analítica proposta de acordo com a RE nº 899 de 29 de maio de 2003.

### 5.2.7 Limite de Quantificação (LQ):

Tabela 21: Limite de Quantificação em plasma

Área de Fenoximetilpenicilina	Área de Padrão Interno (PI)	Conc. Teórica de FMP (mg/L)	Conc. Obtida (mg/L)	Desvio (%)
4514	86637	0,30	0,29	96,8
1587	86803	0,10	0,11	106,1
1550	86396	0,10	0,10	104,3
1592	86887	0,10	0,11	106,3
1554	88056	0,10	0,10	102,7
1571	87235	0,10	0,10	104,6

Conclusão: O valor do limite de quantificação atende aos valores previstos para a curva farmacocinética do estudo em questão, tanto em dimensão quanto em confiabilidade de repetição.

## 5.2.8 Precisão:

Tabela 22: Resultados de precisão (DPR) para três faixas de concentração: baixa, média e alta.

	Concentração obtida (mg/L) (Baixa)	Concentração obtida (mg/L) (Média)	Concentração obtida (mg/L) (Alta)
1º	0,29	2,42	5,03
Ocasião*	0,30	2,62	5,11
	0,27	2,49	5,08
	0,29	2,50	4,98
	0,28	2,56	5,24
Média	0,29	2,52	5,09
Desvio	0,011	0,077	0,098
Padrão			
DPR %	3,9	3,1	1,9
2º	0,32	2,72	5,28
Ocasião*	0,31	2,66	5,55
	0,32	2,70	5,57
	0,31	2,61	5,37
	0,32	2,58	5,46
Média	0,32	2,66	5,45
Desvio	0,009	0,059	0,123
Padrão			
DPR %	2,7	2,2	2,3
3º	0,28	2,37	4,91
Ocasião**	0,29	2,37	5,09
	0,28	2,38	4,96
	0,28	2,39	5,00
	0,29	2,40	4,94
Média	0,28	2,38	4,98
Desvio	0,004	0,012	0,068
Padrão			
DPR %	1,6	0,5	1,4

\* Concentração calculada a partir de curva de linearidade (função  $y=0,1836x - 0,0012$ ).

\*\* Concentração calculada a partir de curva de validação (função  $y=0,1784x + 0,0064$ ).



Tabela 23: Resumo precisão resultado três faixas de DPR (baixa, media e alta)

	DPR's (BAIXA) %	DPR's (MÉDIA) %	DPR's (ALTA) %
1º Ocasião	3,9	3,1	1,9
2º Ocasião	2,7	2,2	2,3
3º Ocasião	1,6	0,5	1,4
Média inter-Ocasões dos DPR's	2,7	1,9	1,9

Conclusão: Pode-se observar que tanto entre os valores individuais de DPR, quanto a média dos valores obtidos intra e inter ocasião são inferiores a 15,0 % em variabilidade. Baseando-se nestes resultados considerou-se a precisão como compatível para o processo analítico em meio biológico.

### 5.2.9 Exatidão:

Tabela 24: Resultado de exatidão para três faixas de concentração de Fenoximetilpenicilina

	Concentração obtida (mg/L) (Baixa)	Concentração obtida (mg/L) (Média)	Concentração obtida (mg/L) (Alta)
1º Ocasião*	97,5	96,8	100,7
	100,4	105,0	102,1
	91,6	99,6	101,5
	97,5	99,9	99,6
	92,4	102,3	104,9
Média	95,9	100,7	101,8
2º Ocasião*	107,1	108,9	105,6
	102,2	106,2	111,1
	107,9	108,1	111,4
	101,7	104,4	107,4
	106,3	103,4	109,3
Média	105,0	106,2	109,0
3º Ocasião**	92,2	94,9	98,2
	95,4	94,8	101,7
	93,5	95,2	99,3
	92,7	95,7	99,9
	95,3	95,9	98,7
Média	93,8	95,3	99,6

\* Concentração calculada a partir de curva de linearidade (função  $y=1,3584x - 0,0114$ ).

\*\* Concentração calculada a partir de curva de validação (função  $y= 1,3440x + 0,0101$ ).

Tabela 25: Resumo exatidão para três faixas de concentração de FMP

	DPR's (BAIXA) %	DPR's (MÉDIA) %	DPR's (ALTA) %
1º Ocasão	95,9	100,7	101,8
2º Ocasão	105,0	106,2	109,0
3º Ocasão	93,8	95,3	99,6
Média inter-Ocasões dos DPR's	98,2	100,7	103,4

Conclusão: Pode-se observar que tanto para os valores individuais, assim como as médias das variabilidades inter e intra ocasião da exatidão encontram-se dentro do parâmetro de aceitabilidade, ou seja, o método analítico definido foi compatível em exatidão.

### 5.2.10 Robustez

Tabela 26: Alterações do fluxo e comprimento de onda

Comprimento de onda	Primeira Alteração: 218 nm
	Segunda Alteração: 222 nm
Fluxo	Primeira Alteração: 1,2 mL/min
	Segunda Alteração: 1,4 mL/min

Tabela 27: Resultados para modificação em fluxo e comprimento de onda

Alteração	Área de FMP	Área de Padrão Interno	Conc. Teórica de FMP (mg/L)	Conc. Obtida (mg/L)**	Desvio %
1º Alteração Onda	5084	91314	0,30	0,28	92,1
	43897	92639	2,50	2,62	104,8
	86134	91639	5,00	5,23	104,7
2º Alteração Onda	4320	79133	0,30	0,27	90,0
	33110	78323	2,50	2,33	93,3
	64313	79264	5,00	4,51	90,2
1º Alteração Fluxo	5388	83994	0,30	0,32	107,9
	39146	86941	2,50	2,49	99,5
	76460	84656	5,00	5,03	100,5
2º Alteração Fluxo	5307	86845	0,30	0,31	102,2
	38951	87241	2,50	2,47	98,7
	76918	84712	5,00	5,05	101,1

\*\* Concentração calculada a partir da curva de calibração denominada curva de validação I

(função:  $y=0,1784x + 0,0064$ ).

Conclusão: Tanto para o ensaio de modificação do fluxo quanto para modificação de comprimento de onda na condição analítica, observou-se estabilidade quantitativa média para os fármacos em análise.

### 5.2.11 Estabilidade

Tabela 28: Resultados da análise das amostras recém preparadas - Análise Inicial Tempo Zero

Área de FMP	Área de Padrão Interno	Conc. Teórica FMP (mg/L)	Conc. Obtida (mg/L) **	Média Conc. (mg/L)
4867	83090		0,33	
4906	85208	0,30	0,32	0,32
5444	95197		0,32	
40153	86655		2,53	
43304	86618	2,50	2,73	2,63
41542	86270		2,63	
80025	84329		5,18	
80193	90338	5,00	4,84	5,00
77138	84446		4,98	

\*\* Concentração calculada a partir de curva de linearidade (função:  $y= 0,1836x - 0,0012$ ).

### 5.2.12 Estabilidade de curta duração

Tabela 29: Resultado do estudo de estabilidade - curta duração

Área de Fenoximetilpenicilina	Área de Padrão Interno	Conc. Teórica FMP (mg/L)	Conc. Obtida (mg/L) **	Média Conc. (mg/L)
5549	85716		0,33	
4771	86238	0,30	0,27	0,29
4842	85960		0,28	
38158	88760		2,37	
38505	90277	2,50	2,35	2,38
38473	87774		2,42	
75428	84469		4,97	
74228	85191	5,00	4,85	4,93
76090	85445		4,96	

\*\* Concentração calculada a partir da curva de validação 1 (função:  $y = 0,1784 x + 0,0064$ ).

Tabela 30: Considerações estatísticas para a estabilidade de curta duração

Conc. Teórica (mg/L)	Média Conc. Inicial (mg/L)	Média Conc. Final (mg/L)	Desvios das médias finais em relação as Conc. Iniciais (%)***
0,30	0,32	0,29	- 9,3
2,50	2,63	2,38	- 9,5
5,00	5,00	4,93	- 1,4

\*\*\* Desvios calculados em relação ao maior valor.

### 5.2.13 Estabilidade após ciclos de congelamento e descongelamento

Tabela 31: Resultados do estudo de estabilidade com 3 ciclos de congelamento e descongelamento

Área de Fenoximetilpenicilina	Área de Padrão Interno	Conc. Teórica FMP (mg/L)	Conc. Obtida (mg/L) **	Média Conc. (mg/L)
4642	82592		0,31	
4642	83892	0,30	0,31	0,29
4098	87277		0,26	
37914	87492		2,41	
38629	87406	2,50	2,46	2,44
38790	87717		2,46	
73610	84234		4,85	
73225	84769	5,00	4,80	4,87
74647	83831		4,95	

\*\* Concentração calculada a partir da curva de validação 2 (função:  $y = 0,1801 x - 0,0002$ ).

Tabela 32: Estabilidade após 3 ciclos de congelamento e descongelamento

Conc. Teórica (mg/L)	Média Conc. Inicial (mg/L)	Média Conc. Final (mg/L)	Desvios das médias finais em relação as Conc. Iniciais (%)***
0,30	0,32	0,29	- 9,3
2,50	2,63	2,44	- 7,2
5,00	5,00	4,87	- 2,6

\*\*\* Desvios calculados em relação ao maior valor.

#### 5.2.14 Estabilidade no tempo e condições de análise/pós processamento

Tabela 33: Resultados de estudo de estabilidade - tempo e condições de análise

Área de FMP	Área de Padrão Interno	Conc. Teórica FMP (mg/L)	Conc. Obtida (mg/L) **	Média Conc. (mg/L)
5121	86213		0,30	
5017	87320	0,30	0,29	0,29
5155	86514		0,30	
39612	91029		2,40	
40029	93214	2,50	2,37	2,39
39726	91529		2,40	
76314	86018		4,94	
75987	86621	5,00	4,88	4,92
76188	85958		4,93	

\*\* Concentração calculada a partir da curva de validação 1 (função:  $y = 0,1784 x + 0,00064$ ).

Tabela 34: Considerações estatísticas para a estabilidade pós-processamento

Conc. Teórica (mg/L)	Média Conc. Inicial (mg/L)	Média Conc. Final (mg/L)	Desvios das médias finais em relação as Conc. Iniciais (%)***
0,30	0,32	0,29	- 9,4
2,50	2,63	2,39	- 9,1
5,00	5,00	4,92	- 1,6

\*\*\* Desvios calculados em relação ao maior valor.

### 5.2.15 Estabilidade das soluções padrão

Tabela 35: Resultado de estudo de estabilidade - soluções padrão (após 4 dias)

Área de FMP	Área de Padrão Interno	Conc. Teórica FMP (mg/L)	Conc. Obtida (mg/L) **	Média Conc. (mg/L)
4363	85335		0,28	
4608	82846	0,30	0,31	0,30
4674	84620		0,31	
38220	86247		2,46	
38034	87336	2,50	2,42	2,44
38456	87849		2,43	
72522	82449		4,89	
73245	83726	5,00	4,86	4,87
73568	84018		4,86	

\*\* Concentração calculada a partir da curva de validação 2 (função:  $y = 0,1801 x + 0,0002$ ).

Tabela 36: Considerações estatísticas para a estabilidade da solução padrão

Conc. Teórica (mg/L)	Média Conc. Inicial (mg/L)	Média Conc. Final (mg/L)	Desvios das médias finais em relação as Conc. Iniciais (%)***
0,30	0,32	0,30	- 6,3
2,50	2,63	2,44	- 7,2
5,00	5,00	4,87	- 2,6

\*\*\* Desvios calculados em relação ao maior valor.

## 5.3 Condições gerais sobre as estabilidades

### 5.3.1 Estabilidade de curta duração

Com os resultados obtidos de concentração e os desvios entre as amostras do teste em relação aos valores das amostras recém-preparadas, conclui-se que na estabilidade de curta duração as amostras foram consideradas estáveis, por apresentar um desvio menor que 15%.

### 5.3.2 Estabilidade em ciclos de congelamento e descongelamento

Com os resultados obtidos de concentração e os desvios entre as amostras do teste em relação aos valores das amostras recém-preparadas, conclui-se que nos ciclos de congelamento e descongelamento as amostras foram consideradas estáveis, por

apresentar um desvio menor do que 15%, de acordo com a Resolução RE nº 899 de 29 de maio de 2003.

### **5.3.3 Estabilidade no tempo e condições de análise**

Com os resultados obtidos de concentração e os desvios entre as amostras do teste em relação aos valores das amostras recém-preparadas, conclui-se que no tempo de 30 horas as amostras foram consideradas estáveis, por apresentar um desvio menor do que 15%, de acordo com a Resolução RE nº 899 de 29 de maio de 2003.

### **5.3.4 Estabilidade das soluções-padrão**

Com os resultados obtidos de concentração e os desvios entre as amostras do teste em relação aos valores das amostras recém-preparadas, concluiu-se que após 3 dias de armazenamento das soluções padrões sob refrigeração, as amostras foram consideradas estáveis, por apresentar um desvio menor do que 15%, de acordo com a Resolução RE nº 899 de 29 de maio de 2003 (89).

### **5.3.5 Conclusão das estabilidades**

A validação do método analítico para a FMP seguiu os parâmetros estabelecidos pela Resolução RE nº 899 de 29 de maio de 2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde.

De acordo com os resultados obtidos nos parâmetros solicitados, pode-se considerar a metodologia como confiável, ou seja, validada para a técnica de Cromatografia Líquida e Detecção na Região de Absorção ao Ultra-Violeta, de acordo com procedimentos e condições analíticas aqui estabelecidas, para a determinação da concentração de FMP em amostras de plasma sanguíneo.

## 5.4 - ETAPA ESTATÍSTICA

### 5.4.1 Tabelas de análise de variância

Para o delineamento *crossover* padrão 2x2, o objetivo da análise de variância é estudar a variabilidade dos dados estudados, como mostra as Tabelas 37, 38 e 39.

Tabela 37: ANOVA para ln (Cmax)

Fonte	g.l.	SQ	QM	F	Valor-p
<b>Inter-individual</b>					
Seqüência	1	0.0057	0.0057	0.1846	0.6712
Resíduos (inter)	24	0.7530	0.0313	11.2917	1.752E-37
<b>Intra-individual</b>					
Fármaco	1	0.0015	0.0015	0.5687	0.4580
Período	1	0.0003	0.0003	0.1158	0.7365
Resíduos (intra)	24	0.0666	0.0027		
<b>Total</b>	51	0.8274			

Tabela 38: ANOVA para ln (ASC<sub>0-t</sub>)

Fonte	g.l.	SQ	QM	F	Valor-p
<b>Inter-individual</b>					
Seqüência	1	0.0595	0.0595	0.7281	0.4019
Resíduos (inter)	24	1.9638	0.0818	6.3242	1.299E-05
<b>Intra-individual</b>					
Fármaco	1	0.0004	0.0004	0.0309	0.8618
Período	1	0.0244	0.0244	1.8872	0.1822
Resíduos (intra)	24	0.3105	0.0129		
<b>Total</b>	51	2.3587			



Tabela 39: ANOVA para  $\ln(ASC_{0-\infty})$

<b>Fonte</b>	<b>g.l.</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>F</b>	<b>Valor-p</b>
<b>Inter-individual</b>					
Seqüência	1	0.0787	0.0787	1.0233	0.3218
Resíduos (inter)	24	1.8477	0.0769	5.2404	6.734E-05
<b>Intra-individual</b>					
Fármaco	1	0.0009	0.0009	0.0648	0.8012
Período	1	0.0175	0.0175	1.1917	0.2858
Resíduos (intra)	24	0.3525	0.0146		
<b>Total</b>	51	2.2976			

Conclui-se, para os parâmetros farmacocinéticos  $C_{max}$ ,  $ASC_{0-t}$  e  $ASC_{0-\infty}$  que o efeito de seqüência não é significativo (valor-p = 0.6712 para  $C_{max}$ , valor-p = 0.4019 para  $ASC_{0-t}$  e valor-p = 0.3218 para  $ASC_{0-\infty}$ ).

Nota-se também que o efeito de período não é significativo (valor-p = 0.7365) para  $C_{max}$ , (valor-p = 0.1822) para  $ASC_{0-t}$  e (valor-p = 0.2858) para  $ASC_{0-\infty}$ .

Estes resultados não implicam na decisão de bioequivalência média entre as duas formulações pois a bioequivalência é definida pelo intervalo de confiança (IC de 90%).

#### 5.4.2 Tabelas dos Intervalos de confiança

A média geométrica da razão entre teste e referência do parâmetro farmacocinético  $C_{\max}$  é de 101,11%, com o intervalo de 90% de confiança (98,61% – 103,67%), e coeficiente de variação intra-individual de 5,20%.

A média geométrica da razão entre teste e referência do parâmetro farmacocinético  $ASC_{0-t}$  é de 100,56%, com o intervalo de 90% de confiança (95,27% – 106,13%), e coeficiente de variação intra-individual de 11,40%.

A média geométrica da razão entre teste e referência do parâmetro farmacocinético  $ASC_{0-\infty h}$  é de 100,86%, com o intervalo de 90% de confiança (95,22% – 106,83%), e coeficiente de variação intra-individual de 12,13%.

O intervalo não paramétrico de 90% de confiança da diferença entre teste e referência do parâmetro farmacocinético  $T_{\max}$  é de (-0,03; 0,08), com valor-p de 0,44.

Na Tabela 38, estão apresentados os parâmetros farmacocinéticos médios, usando um intervalo de confiança de 90%, obtidos das análises plasmáticas de 26 voluntários submetidos ao estudo entre Pen-Ve-Oral<sup>®</sup> (referência) e Meracilina (teste).

Pode-se notar, nos parâmetros farmacocinéticos contidos na Tabela 40, que os resultados obtidos para os medicamentos referência e teste são próximos, tanto para a média como para o IC (90%).

Tabela 40: Médias e (IC 90%) dos parâmetros farmacocinéticos

Parâmetros Farmacocinéticos	Fenoximetilpenicilina	
	Pen-Ve-Oral® (Referência)	Meracilina (Teste)
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>		
<b>Média</b>	1,07	1,10
<b>(IC 90%)</b>	(1,03 – 1,12)	(1,04 – 1,16)
<b>C<sub>max</sub> (µg*mL<sup>-1</sup>)</b>		
<b>Média</b>	2,64	2,67
<b>(IC 90%)</b>	(2,53 – 2,75)	(2,55 – 2,78)
<b>ASC<sub>0-t</sub>(µg*h*mL<sup>-1</sup>)</b>		
<b>Média</b>	3,22	3,26
<b>(IC 90%)</b>	(3,01 – 3,43)	(3,01 – 3,50)
<b>t<sub>1/2</sub> (h)</b>		
<b>Média</b>	0,95	1,02
<b>(IC 90%)</b>	(0,78 – 1,13)	(0,82 – 1,22)
<b>ASC<sub>0-8h</sub> (µg*h*mL<sup>-1</sup>)</b>		
<b>Média</b>	3,36	3,39
<b>(IC 90%)</b>	(3,14 – 3,58)	(3,13 – 3,64)
<b>ASC<sub>0-∞</sub> (µg*h*mL<sup>-1</sup>)</b>		
<b>Média</b>	3,43	3,48
<b>(IC 90%)</b>	(3,20 – 3,66)	(3,22 – 3,73)

Observa-se que a média de ASC<sub>0-t</sub> (referência = 3,22, teste = 3,26) é maior que 80% da média de ASC<sub>0-∞</sub> (referência 80% = 2,74, teste 80% = 2,78), para o medicamento referência e teste, conforme preconizada pela legislação vigente.

O valor de ASC<sub>0-t</sub> foi maior que 80% do valor extrapolado ao infinito.

Na Tabela 41 foi construído os IC (90%) para C<sub>max</sub>, ASC<sub>0-ult h</sub> e para ASC<sub>0-∞</sub>, observe que os intervalos estão contidos no intervalo de 80 a 125%.

Tabela 41: Média IC (90%) e conclusão para a razão das médias de  $C_{max}$ ,  $ASC_{0-t}$  e  $ASC_{0-\infty}$ .  
Dados transformados em logaritmo natural

Razão Meracilina / Pen- Ve-Oral®	Média Geométrica	IC (90%)	CV (%)	Poder do Teste (%)	Bioequi- valencia
$C_{max}$	101,11	(98,61 – 103,67)	5,20	> 95,00	Sim
$ASC_{0-t}$	100,56	(95,27 – 106,13)	11,40	> 95,00	Sim
$ASC_{0-\infty}$	100,86	(95,22 – 106,83)	12,13	> 95,00	Sim

Na Tabela 40 estão apresentados os resultados de  $T_{max}$ , os quais demonstraram que não existe diferença entre as medianas de  $T_{max}$  teste e o  $T_{max}$  referência (valor-p = 0,44), com 90% de confiança, bem como os resultados do intervalo de confiança de 90%, construído a partir da mediana de  $T_{max}$ , conforme a legislação vigente.

Tabela 42: Análise da diferença individual de  $T_{max}$ . (teste menos referência)

Diferença de $T_{max}$ (teste- referência)	IC 90% (-0,03; 0,08)	Valor-p 0,44
--	-------------------------	-----------------

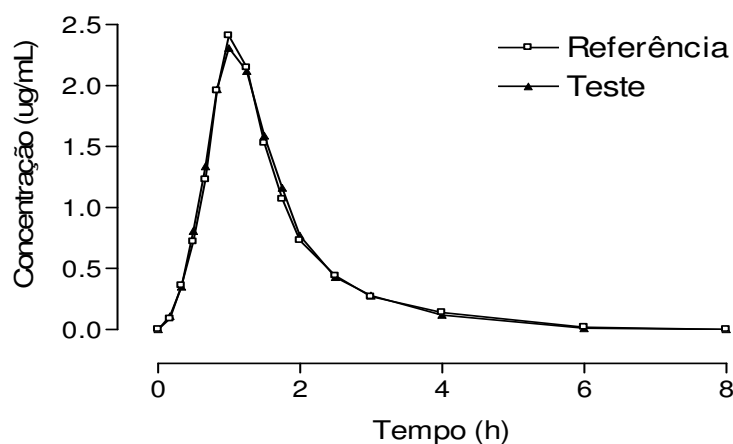


Figura 12: Curva média da concentração plasmática vs tempo de Pen-Ve-Oral® (referência) e Meracilina (teste).

## 6 - DISCUSSÃO



Em 12 anos de presença no mercado brasileiro (1999-2011), os genéricos correspondem atualmente a 21,62% das vendas em unidades no conjunto do mercado farmacêutico.

Os medicamentos genéricos são oficialmente 35% mais baratos que os medicamentos de referência ao consumidor (105).

O apoio do governo brasileiro na implantação dos medicamentos genéricos, por meio do esclarecimento e divulgação junto à população, levou ao seu sucesso de mercado. A regulamentação do genérico acarretou em uma série de exigências técnicas até então desconhecidas tanto para a área regulatória quanto para as indústrias farmacêuticas, exigências que foram cumpridas e observou-se uma evolução do número de registros de medicamentos genéricos.

Atualmente o Brasil conta com mais de 17550 apresentações comerciais de genéricos, distribuídas entre 384 fármacos pertencentes a 117 classes terapêuticas e 101 laboratórios fabricantes (106).

Os testes realizados representam 61% de equivalência farmacêutica e 39% de bioequivalência (107).

No ano de 2002 foram realizados em média 9,5 estudos/mês, 13,4 em 2003, 11,6 em 2004, 16 em 2005, 17,75 em 2006 e 17 estudos/mês em 2007 (108).

Esse incremento nos testes de biodisponibilidade e bioequivalência foi impulsionado pela regulamentação da ANVISA que estendeu aos medicamentos similares a necessidade de realização destes testes, até então só exigidos para os genéricos.

Estudos de bioequivalência devem verificar a existência ou não de diferenças entre formulações farmacêuticas no que se refere aos parâmetros relacionados à extensão e velocidade de absorção do princípio ativo a partir de sua forma farmacêutica ( $C_{max}$  e ASC), administrados, geralmente, por via oral.

No desenvolvimento desta metodologia analítica, observaram-se os métodos analíticos já existentes, considerando as características físico-químicas da Fenoximetilpenicilina comprimidos de 500.000 UI.

Primeiramente definiu-se qual seria o padrão interno a ser utilizado, com objetivo de compensar eventuais perdas durante o processo de extração do analito e eventuais erros no volume de injeção. Foi escolhida a Fenitoína como padrão interno por atender às finalidades analíticas propostas.

O protocolo clínico desenvolvido de acordo com as resoluções da ANVISA foi delineado considerando a inclusão de um número adequado de voluntários, a coleta de amostras por um período de tempo superior a 3 vezes a meia-vida de eliminação do fármaco, a coleta de pontos próximos a concentração máxima plasmática ( $C_{max}$ ) e o emprego de um método analítico preciso e adequado.

Vinte e seis voluntários sadios foram incluídos na avaliação quanto a bioequivalência. As razões das médias (teste/referência) dos parâmetros acima e correspondentes a intervalo de confiança de 90%, foram calculadas para determinar a bioequivalência.

Para a determinação da Fenoximetilpenicilina (Meracilina) foram colhidas amostras de sangue previamente à administração e até 8 horas após, em intervalos pré-determinados. Um total de 832 amostras foram submetidas à quantificação. As concentrações plasmáticas de Fenoximetilpenicilina (Meracilina) foram determinadas através de cromatografia líquida de alta eficiência.

Para cada formulação foram calculadas a concentração máxima atingida  $C_{max}$ , a área sob a curva a partir da hora da administração do medicamento até a última amostra coletada  $ASC_{(0-t)}$ , e a área sob a curva a partir da administração do medicamento e extrapolada ao infinito  $ASC_{(0-\infty)}$ .

A coluna cromatográfica utilizada foi a Lichrospher C18 5 $\mu$ m (250 mm x 4,0mm), apresenta boa separação dos compostos de interesse dos interferentes da matriz.

A taxa de absorção da Fenoximetilpenicilina comprimidos é muito rápida, sendo possível comparar a biodisponibilidade relativa e absoluta (109).

A quantificação de fenoximetilpenicilina foi realizada em diferentes matrizes biológicas, como plasma e saliva (110). Poucos métodos podem ser encontrados na literatura para análise de Fenoximetilpenicilina em matrizes biológicas (111). Métodos microbiológicos, titulação iodométrica e titulação mercurimétrica potenciométrica foram empregados em análises de penicilinas (112). Pajchel et al. (113) descreveram um ensaio



que utiliza eletroforese capilar para quantificação de Fenoximetilpenicilina (113). No entanto, Dolezalová et al. (112) usou cromatografia eletrocínica micelar (MEKC).

Comparado com o método HPLC, o método MECK é mais rápido e mais barato. Por outro lado, é menos sensível e preciso (112).

Hilder et al. (114) descreveram um método usando espectrometria de massas com ionização por “Electrospray” (ESI-MS). Mesmo sendo sensível e específico, é um método caro comparado ao método de detecção por HPLC-UV. Medvedovici et al. (115) reportaram um método HPLC-DAD de extração líquido-líquido para quantificar amostras de Fenoximetilpenicilina em plasma humano, o método obteve um baixo LOQ (50 ng/mL), mas o tempo de retenção foi de aproximadamente 12 minutos. O método de HPLC com detecção por UV oferece vantagens de alta resolução, precisão, rapidez e sensibilidade para quantificar fenoximetilpenicilina em plasma humano (116).

As vantagens da extração fase sólida (SPE) são o baixo consumo de solventes, economia de tempo e potencial para automação se comparada com a extração líquido-líquido.

O método analítico de extração fase sólida descrito neste estudo para quantificar Fenoximetilpenicilina em plasma humano provou ser eficaz (LOQ de 0.1 mg/mL).

Deste modo, o método desenvolvido e validado no Brasil, foi empregado com sucesso na determinação de Fenoximetilpenicilina em amostras biológicas após a administração do medicamento em dose única, já que se apresentou simples, direto e obteve um bom tempo de retenção (4.0 min). Este método é apropriado para uma rotina como em um estudo de bioequivalência e aplicação no controle de qualidade dos medicamentos que contém Fenoximetilpenicilina em sua formulação.

Os dados de concentração versus tempo dos 26 voluntários foram empregados na análise estatística, a qual foi conduzida de acordo com a RE n 898/03 da ANVISA. O IC 90% dos parâmetros farmacocinéticos avaliados ( $C_{max}$ ,  $ASC_{0-t}$ ,  $ASC_{0-\infty}$ ) apresentaram-se dentro do intervalo de 0,80 a 1,25% proposto pela ANVISA.

O medicamento teste foi considerado bioequivalente ao medicamento de referência, o que significa dizer que o mesmo é tão seguro e eficaz quanto ao medicamento referência, e pode ser com este intercambiável.



## 7 – CONCLUSÃO



Os dados farmacocinéticos demonstram que fenoximetilpenicilina 500.000 UI (Meracilina) é bioequivalente nos termos de extensão e absorção à formulação referência (Pen-Ve-oral<sup>®</sup>), conseqüentemente, esta preparação pode ser considerada equivalente terapêutico.

#### **De acordo com o objetivo geral**

Considerando que dois medicamentos são bioequivalentes quando IC de 90% para a razão entre as médias dos dados transformados em logaritmo natural de  $C_{max}$  e  $ASC_{0-t}$  estiverem entre 80% e 125%, conforme legislação vigente, e estando os resultados deste estudo de acordo com as especificações exigidas, razão entre as médias de  $C_{max}$  e  $ASC_{0-t}$  entre 80% e 125%, pode-se concluir que a formulação de Fenoximetilpenicilina (Pen-Ve-Oral<sup>®</sup>) comprimido de 500.000 UI produto referência produzido pela Eurofarma Laboratórios Ltda e Meracilina produzido pela Aché Laboratórios Farmacêuticos S/A são bioequivalentes.

#### **De acordo com o objetivo proposto**

A cromatografia líquida acoplada ao detector UV – HPLC/UV usada para quantificar 500.000 UI de Fenoximetilpenicilina em plasma humano está de acordo com o objetivo proposto e com as especificações exigidas pelo Órgão Regulador e a validação de acordo com a Resolução RE nº 899 de 29 de maio de 2003 para estudos de bioequivalência.



## 8 – REFERÊNCIAS





1. Weich A. Otimização da avaliação do fármaco e comprimidos de atenolol: aplicação em produção, controle e registro de medicamento genérico [dissertação]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2007.
2. Fiúza EPS, Lisboa MB. Bens credenciais e poder de mercado: um estudo econométrico da indústria farmacêutica brasileira. Rio de Janeiro: IPEA; 2001.73 p.
3. Pitta LR. Estudo dos métodos estatísticos na análise da biodisponibilidade relativa/bioequivalência para o registro de medicamentos no Brasil [dissertação]. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde; Fundação Oswaldo Cruz; 2004.
4. Nishijima M. Análise econômica dos medicamentos genéricos no Brasil [tese]. São Paulo: Universidade Estadual de São Paulo; 2003.
5. Porta V, Ferraz HG, Souza TML, Kano EK, Serra CHR. Método analítico para a determinação de meloxicam em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Rev Bras Ciênc Farm. 2005; 41(2):215-22.
6. Kano EK. Avaliação de diferentes cronogramas de coletas de amostras biológicas em estudos de bioequivalência e análise da influência do teor de fármacos sobre os resultados destes estudos [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2008.
7. Tavares, W. Manual de antibióticos para o estudante de medicina. São Paulo: Atheneu, 1984. 374p.
8. Dale MM, Rang HP, Ritter JM, Flower RJ. Farmacologia. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2007.
9. Goodman LS, Gilman, A G, Hardman, JG. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 11ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.
10. Salomão R, Pignatari ACC. Guias de medicina ambulatorial e hospitalar UNIFESP/EPM. São Paulo: Manole; 2004. 580 p.
11. Sih TM. Infectologia em otorrinopediatria: uso criterioso de antibióticos em infecções das vias aéreas superiores. Rio de Janeiro: Revinter; 2001. 248 p.
12. Fonseca AL. Antibióticos na clínica diária. 6ª ed. Rio de Janeiro: EPUB; 1999. 468 p.
13. Tavares W. Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos. São Paulo: Atheneu; 1990. 793 p.

14. Fuchs FD, Wannmacher L, Ferreira MBC. Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. Princípios gerais do uso de antimicrobianos.
15. Tavares W, Magalhães GAP. Antibióticos e quimioterápicos para o clínico. São Paulo: Atheneu; 2007. 585 p.
16. OMS. Organização Mundial da Saúde. Essential Medicines and Pharmaceutical Policies. Medicine Access and Rational Use. Disponível em: <http://www.who.int/medicines/> em 24/06/2009a
17. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Gerência-Geral de Inspeção e Controle de Medicamentos e Produtos. Manual de boas práticas em biodisponibilidade e bioequivalência. Brasília, DF: ANVISA; 2002. v. 1.
18. Metzler CM. Bioavailability: a problem in equivalence. Biometrics. 1974; 30: 309-17.
19. Arancibia A. Calidad biofarmacéutica, estudios “in vitro” e “in vivo”. Acta Farm Bonaerense. 1991; 10(2):123-33.
20. Jackson AJ. Generics and bioequivalence. Rockville: CRC; 1994. p. 203.
21. Vernengo M. Elementos técnicos de una política de medicamentos genéricos. Génève: Organización Panamericana de la Salud; Organización Mundial de la Salud; 1993. p. 47.
22. Brasil. Lei nº 9.787, de 10 de fevereiro de 1999. Dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências. Diário Oficial da União, 1999.
23. Shargel L, Yu ABC. Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics. 4ª ed. Stamford: Appleton & Lange; 1999. 768 p.
24. Storpirtis S. Biofarmacotécnica: fundamentos de biodisponibilidade, bioequivalência, dissolução e intercambialidade de medicamentos genéricos. São Paulo: Infarma; 1999. p. 78.
25. Horvitz RA. More on bioavailability and generics. Drug Ther. 1975;5(9):125-30.
26. Porta V. Avaliação de bioequivalência de formulações do mercado nacional contendo fluconazol. [Tese]. São Paulo: USP, 1999. 200p.

27. Brasil. Lei n° 9.782, de 26 de janeiro de 1999. Define o sistema nacional de vigilância sanitária, cria a Agência nacional de vigilância sanitária, e dá outras providências. Diário Oficial da União, 1999.
28. Motta M, Ribeiro W, Ifa DR, Moraes MO, Corrado OAP, De Nucci G. Bioequivalence evaluation of two roxithromycin formulations in healthy human volunteers by high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Acta Physiol Pharmacol Ther Latinoam.* 1999; 49 (4):233-41.
29. Lerner FE, Caliendo G, Santagada V, Santana GSM, Moraes MEA, De Nucci G. Clarithromycin bioequivalence study of two oral formulations in healthy human volunteers. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2000; 38(7):345-54.
30. Laurito TL, Mendes GD, Santagada V, Caliendo G, Moraes ME, Nucci G. Bromazepam determination in human plasma by high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry: a highly sensitive and specific tool for bioequivalence studies. *J Mass Spectrom.* 2004; 39(2):168-76.
31. Bedor DCG, Gonçalves TM, Bastos LL, Sousa CEM, Abreu LRP, Oliveira EJ, et al. Development and validation of a new method for the quantification of norfloxacin by HPLC-UV and its application to a comparative pharmacokinetic study in human volunteers. *Rev Bras Ciênc Farm.* 2007; 43(2):231-8.
32. Armando YP, Schramm SG, Silva MF, Kano EK, Koono EE, Porta V, et al. Bioequivalence assay between orally disintegrating and conventional tablet formulations in healthy volunteers. *Int J Pharm.* 2009; 366(1-2):149-53.
33. Nascimento DF, Moraes MO, Bezerra FAF, Pontes AV, Uchoa CRA, Moraes RA, et al. Determination of nimodipine in plasma by HPLC-MS/MS and pharmacokinetic application. *Braz J Pharm Sci.* 2010; 46(4):665-77.
34. Lopes RAL, Neves FAR. Metanálise de estudos de bioequivalência: a intercambiabilidade de genéricos e similares que contêm hidroclorotiazida é possível, mas não àqueles com maleato de enalapril. *J Bras Nefrol.* 2010; 32(2):173-81.
35. Brasil. Resolução RDC n° 16, de 2 de março de 2007. Aprova o Regulamento técnico para medicamento genérico.
36. Soares A. Biodisponibilidade comparativa de três formulações de captopril [dissertação]. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará; 2002.
37. Bennett LZ. Understanding bioequivalence testing. *Transplant Proc.* 1999; 31(3A):7S-9S.
38. Gibaldi M. *Biopharmaceuticals and clinical pharmacokinetics.* 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1991. p. 406.

39. Storpirtis S. Fundamentos científicos e conceitos utilizados em farmacocinética, biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos. In: Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas; Sindicato das Indústrias Farmacêuticas. Biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos. São Paulo, 1994.
40. Storpirtis S, Consigliere VO. Biodisponibilidade e bioequivalencia de medicamentos: aspectos fundamentais para o planejamento e execução de estudos. Rev Farm Bioquim Univ S Paulo. 1995; 31(2):63-70.
41. Brasil. Resolução RE n° 478, de 19 de março de 2002. Determina a publicação do “Guia para provas de Bioequivalência de Medicamentos Genéricos. Diário Oficial da União. 2002.
42. Ribeiro ANF. Medicamentos genéricos: informações para farmacêuticos ou profissionais da saúde. São Paulo: CRFSP; 2000.
43. ABIFAM. Perfil mercadológico dos medicamentos genéricos. 2001.
44. Oliveira MS. Capitação e inclusão de voluntários. In: Lousana G, organizador. Pesquisa clínica no Brasil. Rio de Janeiro: Revinter; 2002. Cap. 7, p.61-63.
45. Brasil. Resolução RE n° 896, de 29 de maio de 2003. Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência de medicamentos. Diário Oficial da União, 2 de junho de 2003.
46. Santos MSG. Pesquisa clínica com voluntários sadios: uma experiência brasileira [dissertação]. São Paulo: Pontifícia Universidade Católica de São Paulo; 2007. p. 17-70.
47. Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo. Medicamentos genéricos. Informações para médicos, farmacêuticos e profissionais de saúde. São Paulo, 2001.
48. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 391, de 09 de agosto de 1999. Aprova o Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos. *Diário Oficial da União*; Poder Executivo, de 10 de agosto de 1999.
49. Brasil. Resolução RDC n° 133, de 2 de junho de 2003a. Estabelece o regulamento técnico para medicamentos similares e dá outras providências. Diário Oficial da União, 2003.
50. Brasil. Resolução RDC n° 901, de 29 de maio de 2003. Estabelece o regulamento técnico para medicamentos similares e dá outras providências, 29 de maio de 2003.

51. Brasil. Resolução RE n° 898, de 29 de maio de 2003. Guia para planejamento e realização da etapa estatística de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência. Diário Oficial da União, 2 de junho de 2003.
52. Prógenéricos 2009. Fonte: Adaptado de:  
[http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/estatistica/1\\_valoresacumulados\\_novo.pdf](http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/estatistica/1_valoresacumulados_novo.pdf)  
disponível em 23/03/2010
53. Capanema X L; Palmeira F, Pedro L; Pieron, J P. Apoio do BNDS ao complexo industrial da saúde: A experiência do Profarma e seus desdobramentos. Publicações Informes Setoriais, BNDES. 2008.
54. IMS Intercontinental Medical Statistcs. Base de dados Performance, 2006. 2 CD-ROM.
55. Magalhães J, ANTUNES A, BOECHAT, N. Laboratórios farmacêuticos oficiais e sua relevância para saúde pública do Brasil. RECIIS, Brasil, 5, mar. 2011. Disponível em:  
<http://www.reciis.iciet.fiocruz.br/index.php/reciis/article/view/367>. Acesso em: 07 Mai. 2011.
56. Queiroz, S. R. R.. Estudo da competitividade de indústria brasileira: competitividade da indústria de fármacos. *Estudo da competitividade da indústria brasileira*. Campinas, 1993. Disponível em:  
[http://www.ivfrj.ccsdecania.ufrj.br/download/est\\_compert.pdf](http://www.ivfrj.ccsdecania.ufrj.br/download/est_compert.pdf). Acesso em 02 mai.2011.
57. Velázquez G, Alexis J. A indústria farmacêutica brasileira na década de 90: mudanças na pesquisa & desenvolvimento na produção de fármacos e medicamentos [dissertação] Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 999.
58. Pinto, M. Relatório Setorial - Final. FINEP – Financiadora de Estudos e Projetos, Brasília, 09 fev. 2004. Disponível em:  
[http://www.finep.gov.br/PortalDPP/relatorio\\_setorial\\_final/relatorio\\_setorial\\_final\\_imprensaas\\_p?lst\\_setor=22](http://www.finep.gov.br/PortalDPP/relatorio_setorial_final/relatorio_setorial_final_imprensaas_p?lst_setor=22) Acesso em 30 jan.2007.
59. Silva, J.F.; Cohen, F. D. O advento dos genéricos e seu impacto nas estratégias competitivas da indústria farmacêutica brasileira. In: Encontro nacional da ANPAD, 28. Curitiba, 2004. Disponível em: <<http://www.anpad.org>>. Acesso em 20 set.2008.

60. Lisboa, M. et al. Política governamental e regulação do mercado de medicamentos. Secretaria de Acompanhamento Econômico do Ministério da Fazenda (SEAE/MF). Documento de trabalho no 8, Brasília, 2001. Disponível em: <[www.seae.fazenda.gov.br/central\\_documentos/documento\\_trabalho/2001-1/doctrab08.pdf](http://www.seae.fazenda.gov.br/central_documentos/documento_trabalho/2001-1/doctrab08.pdf)>. Acesso em 10 jan. 2011.
61. Godoy M. R, Maria R A, Nascimento S P. Efeito de entrada dos medicamentos genéricos nos preços dos medicamentos de referência e similar. In: *ENCONTRO NACIONAL DA ANPAD*, 28., Curitiba, 2004. Disponível em: <[http://www.anpad.org.br/evento.php?acao=trabalho&cod\\_edicao\\_subsecao=39&cod\\_evento\\_edicao=8&cod\\_edicao\\_trabalho=1529](http://www.anpad.org.br/evento.php?acao=trabalho&cod_edicao_subsecao=39&cod_evento_edicao=8&cod_edicao_trabalho=1529)>. Acesso em 02 set.2006.
62. Lousana G, Acceturi C. Pesquisa clínica no Brasil. Rio de Janeiro: Revinter, 2002
63. Vieira F, Zucchi P. Diferenças de preços entre medicamentos genéricos e de referência no Brasil. *Rev Saúde Pública*. 2006; 40(3):444-9.
64. Quental C, Abreu JC, Bomtempo JV, Gadelha CAG. Medicamentos genéricos no Brasil: impactos das políticas públicas sobre a indústria nacional. *Ciênc Saúde Coletiva*. 2008; 13(Supl):619-28.
65. Relatório Anual, 2008. ACHÉ. Disponível em: [http://www.ache.com.br/RelatorioAnual-2008/ache\\_ra\\_2008.pdf](http://www.ache.com.br/RelatorioAnual-2008/ache_ra_2008.pdf)
66. Relatório Institucional, 2011. Eurofarma. Disponível em: <http://www.eurofarma.com.br/versao/pt/institucional/historico.asp> Acesso em: 02 mai 2011.
67. Salazar A, Rodrigues KG, Silver L, Scheffer M, organizadores. O SUS pode ser seu melhor plano de saúde [Internet]. Brasília, DF: IDEC; 2003 [acesso em 17 abr. 2011]. Disponível em: [http://www.conselho.saude.gov.br/biblioteca/livros/sus\\_plano\\_saude.pdf](http://www.conselho.saude.gov.br/biblioteca/livros/sus_plano_saude.pdf).
68. Consultaremedios, 2011. Site consulta remédios. Disponível em: [www.consultaremedios.com.br](http://www.consultaremedios.com.br) acesso em: 01/05/2011
69. Aquino Neto FR, Nunes DSS. *Cromatografia: princípios básicos e técnicas afins*. Rio de Janeiro: Interciência; 2003. 187 p.
70. Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. *Princípios de análise instrumental*. 5ª ed. Porto Alegre: Bookman; 2002. 863 p.

71. Gonçalves TM. Desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para estudo farmacocinético comparativo de duas classes de fármacos (anti-retroviral e penicilínico) em indivíduos sadios [dissertação]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2005.
72. Bressole F, Bromet-Petit M, Audran M. Validation of liquid chromatographic and gas chromatographic methods: applications to pharmacokinetics. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1996; 686(1):3-10.
73. Causon R. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis: view point and discussion. *J Chromatogr B Biomed Appl.* 1997; 689(1):178-80.
74. Queiroz MEC, Lanças FM. Analysis of drugs em biological samples: automated “Intube”: solid-phase microextraction and high performace liquid chromatography. *Quím Nova.* 2005; 28(5):880-6.
75. Queiroz SNC, Collins CH, Jardim ICSF. Methods of extraction and/or concentration of compounds found in biological fluids for subsequent chromatographic determination. *Quím Nova.* 2001; 24(1):68-76.
76. Barrionuevo WR, Lanças FM. Solid-phase extraction (Spe) and Solid-phase microextraction of pyrethroids in water. *Quím Nova.* 2001; 24(2):172-5.
77. Lanças FM. *Extração em fase sólida (SPE).* São Carlos: Rima; 2004. p. 96.
78. Ardrey RE. *Liquid chromatography: mass spectrometry: an introduction.* Chichester: Wiley; 2003.
79. Nascimento, Iolanda. Genéricos já vendem U\$\$ 203 milhões. *Gazeta Mercantil (São Paulo)*, 5 ago. 2004.
80. Lingeman H, Hoekstra-Oussoren SJF. Particle-loaded membranes for sample concentration and/or clean-up in bioanalysis. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1997; 689(1):221-37.
81. Lough, WJ; WAINER, I.W. *High Performance Liquid Chromatography, Fundamental Principles and Practice.* Glasgow: Blackie Academic e Professional; 1995, p. 1-276.
82. Akisue G, Oliveira. F, Oksue MK. *Curso de análise cromatográfica em camada delgada.* São Paulo; 1983.
83. Neverova I, Van Eykb, J E. Role of chomatographic techniques in proteomic analysis. *J. Chrom B*, v. 815, p. 51-63, 2005.

84. Leslie J. Analytical aspects of bioequivalency testing. In: Jackson AJ. Generics and bioequivalence. Salem: CRC; 1994. p. 69-86.
85. Farmacopeia Brasileira. 5ª Ed. São Paulo: Fiocruz, 2010 v I,II.
86. Corne V, Govaert Y, Moens G, Van Loco J, Degroodt JM. Development of a fast analytical method for the determination of Sudan dyes in chilli and curry-containing foodstuffs by high performance liquid chromatography photodiode array detection. J Agric Food Chem. 2006; 54:639-44.
87. Vogel AI. Análise química quantitativa. 6ª ed. Rio de Janeiro: LTC; 2002.
88. Schuler A. Cromatografia a gás e a líquido. 11ª ed. Recife: UFPE; 2009. 78 p.
89. Brasil. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial da União, 2 de junho de 2003.
90. Ligon BL. Penicillin: its discovery and early development. Sem Pediatr Infect Dis. 2004;15(1):52-7.
91. Cruieger W, Cruieger A. Biotechnology: a textbook of industrial microbiology. Sunderland: Sinauer; 1984. chap. 13.
92. Rossi F, Andreazzi DB. Resistência bacteriana: interpretando o antibiograma. São Paulo: Atheneu; 2005.
93. Sanders CC, Sanders WE Jr.  $\beta$ -lactam resistance in gram-negative bacteria: global trends and clinical impact. Clin Infect Dis. 1992; 15:824-39.
94. Livermore DM. Mechanisms of resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics. Scand J Infect Dis. 1991; 78:7-16.
95. Tripathi KD. Farmacologia Médica. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
96. Hillenga DJ, Versantvoort HJM, Van Der Molen S, Driesses A. *Penicillium chrysogenum* takes up the penicillin G precursor phenylacetic acid by passive diffusion. Appl Environ Microbiol. 1995; 61:2589-95.
97. Whiteman PA, Abraham EP. Phenoxyethylpenicillin amidohydrolases from *Penicillium chrysogenum*. Fed Eur Biochem Soc. 1996; 394:31-3.



98. Pelkzar JR, Chan E, Krieg NR. Microbiology. 5<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill; 1986.
99. Silva P. Farmacologia. 7<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.
100. Borges ADL, Ponte GD, Federman NA, Carvalho I. Síntese de sulfadiazina e sulfadiazina de prata em escala semi-micro: prática experimental em síntese de fármacos. Quím Nova. 2005; 28(4):727-31.
101. Sugarman J. Ethics in the design and conduct of clinical trials. Epidemiol Rev. 2002; 24(1):54-8.
102. Dainesi SM. Como melhorar o recrutamento de pacientes em estudos clínicos. Rev Assoc Med Bras. 2004; 50(3):241.
103. Brasil. Resolução RDC n° 135, de 29 de maio de 2003. Regulamento técnico para medicamentos genéricos. Diário Oficial da União, Brasília, 2 junho, 2003.
104. Conre. Lei e realidade. A estatística nos centros de bioequivalência [Internet]. 2007 [acesso em 17 abr. 2011]. Disponível em: <http://www.conre3.org.br/forum/viewtopic.php?p=28&sid=6ebef713cb23859a1fb51ea547b217c8>. 2007.
105. PróGenéricos – Associação Brasileira das Indústrias de Medicamentos Genéricos. São Paulo: pró-genérico. Disponível em: [www.progenericos.org.br](http://www.progenericos.org.br). Acesso em 13/01/2011.
106. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. [acesso em 20 maio 2011]. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/28b3bd00439b97f3858eb507ebd78d7a/8\\_sumario.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/28b3bd00439b97f3858eb507ebd78d7a/8_sumario.pdf?MOD=AJPERES).
107. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Número de registros de medicamentos genéricos [http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/6a136380439b965f8584b507ebd78d7a/7\\_teste\\_realizados.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/6a136380439b965f8584b507ebd78d7a/7_teste_realizados.pdf?MOD=AJPERES). Acesso em 18 de maio de 2011.
108. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em [http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/bioequivalencia/estatisticas/relatorio\\_2002\\_2007\\_consolidado.pdf](http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/bioequivalencia/estatisticas/relatorio_2002_2007_consolidado.pdf). Acesso em 20 mai 2011.
109. Frick A, Möller H, Wirbitzki E. Biopharmaceutical characterization of oral immediate release drug products. In vitro/in vivo comparison of phenoxymethylpenicillin potassium, glimepride and levofloxacin. Eur J Pharm Biopharm. 1998; 46:305-11.


110. Quiding H, Arwidsson GH, Hakansson GE, Grahnén A, Holm S. Saliva-resistant coating of tablets prevents oral release of penicillin. *Eur J Clin Pharmacol.* 1998; 54:749-52.
111. Krauwinkel JJW, Volkers-Kamermans JN. Determination of penicillin-V in human plasma by high-performance liquid chromatography and solid-phase extraction. *J Chromatogr B.* 1995; 679:129-35.
112. Dolezalová M, Cápová H, Jobánek R. Determination of the purity of phenoxymethylpenicillin by micellar electrokinetic chromatography and reversed phase liquid chromatography on a monolithic column. *J Sep Sci.* 2003; 26:701-8.
113. Pajchel G, Michalska K, Tyski S. Analysis of phenoxymethylpenicillin potassium by capillary electrophoresis. *J Chromatograph A.* 2005; 1087:197-202.
114. Hilder FE, Klampfl WC, Buchberger W, Haddad RP. Comparison of aqueous and nonaqueous carrier electrolytes for the separation of penicillin V and related substances by capillary electrophoresis with UV and mass spectrometric detection. *Electrophoresis.* 2002; 23:414-20.
115. Medvedovici A, Ionescu M, Mircioiu C, David V. Optimization of a liquid-liquid extraction method for HPLC-DAD determination of penicillin-V in human plasma. *Microchem J.* 2001; 72:85-92.
116. Lindberg PLR, Huupponen KR, Huovinen P. Rapid high-pressure liquid chromatographic method for analysis of phenoxymethylpenicillin in human serum. *Antimicrob Agents Chemother.* 1984; 26:300-2.
117. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007 Jul;20 (3):440-58.
118. Barros ANC. Purificação de penicilina G por adsorção em resinas hidrofóbicas [dissertação]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2008. p. 4.

**9 – ANEXOS**



## ANEXO 1:

### PARECER COMITÊ ÉTICA

 <p>UNICAMP</p>	<p><b>FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS</b> <b>COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA</b> ✉ Caixa Postal 6111, 13083-970 Campinas, SP ☎ (0_19) 3788-8936 FAX (0_19) 3788-8925 🌐 <a href="http://www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html">www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html</a> ✉ <a href="mailto:cep@fcm.unicamp.br">cep@fcm.unicamp.br</a></p>
<p>CEP, 11/05/05. (Grupo III)</p>	<p><b>PARECER PROJETO: N° 230/2005</b></p>
<p><b>I-IDENTIFICAÇÃO:</b></p>	
<p>PROJETO: “ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA DE DUAS FORMULAÇÕES DE FENOXIMETILPENICILINA COMPRIMIDO DE 500.000 UI, EM VOLUNTÁRIOS SADIOS DE AMBOS OS SEXOS, SENDO A FORMULAÇÃO TESTE (MERACILINA) PRODUZIDA PELO ACHÉ LABORATÓRIOS FARMACÊUTICOS S.A E A FORMULAÇÃO REFERÊNCIA (PEN-VE-ORAL®) PELA EUROFARMA LABORATÓRIOS - SPH 012/05 - VERSÃO 1.0 DE 04/05/05” PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Ronilson Agnaldo Moreno INSTITUIÇÃO: SYNCHROPHAR APRESENTAÇÃO AO CEP: 10/05/2005</p>	
<p><b>II - OBJETIVOS</b></p>	
<p>Avaliar se a formulação de fenoximetilpenicilina comprimido de 500.000 UI, produzida pelo Aché atinge níveis plasmáticos equivalentes aos da formulação referência.</p>	
<p><b>III - SUMÁRIO</b></p>	
<p>É um estudo monocêntrico, aberto, randomizado, cruzado, com dois tratamentos, onde 26 voluntários sadios de ambos os sexos, recebem, em cada período distinto, a formulação teste ou a formulação referência, havendo, por conseguinte, dois períodos de tratamento. As formulações são administradas em dose única por via oral seguidos de coletas de sangue de pelo menos 3 meias-vidas. Os períodos de tratamento devem obedecer um intervalo mínimo de 7 meias-vidas entre eles. Serão coletadas 32 amostras de sangue, totalizando 336 ml de sangue por voluntário.</p>	
<p><b>IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES</b></p>	
<p>O estudo está bem estruturado. O Termo de Consentimento é adequado e contém todas as informações para que o voluntário decida se quer ou não participar do estudo. Os critérios de inclusão e exclusão são adequados, bem como a forma de recrutamento dos voluntários.</p>	

## V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

## VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).


O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

## VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na V Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 24 de maio de 2005.

  
**Prof. Dra. Carmen Silya Bertuzzo**  
PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
FCM / UNICAMP



CEP, 25/04/06  
(PARECER PROJETO 230/2005)

## PARECER

### I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA DE DUAS FORMULAÇÕES DE FENOXIMETILPENICILINA COMPRIMIDO DE 500.000 UI, EM VOLUNTÁRIOS SADIOS DE AMBOS OS SEXOS, SENDO A FORMULAÇÃO TESTE (MERACILINA) PRODUZIDA PELO ACHÉ LABORATÓRIOS FARMACÊUTICOS S.A E A FORMULAÇÃO REFERÊNCIA (PEN-VE-ORAL®) PELA EUROFARMA LABORATÓRIOS - SPH 012/05”

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Ronilson Agnaldo Moreno

### II - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP aprovou o Relatório Final, apresentado em março de 2006, do protocolo de pesquisa supracitado.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

Recomendação: quando da publicação enviar cópia ao CEP/FCM.

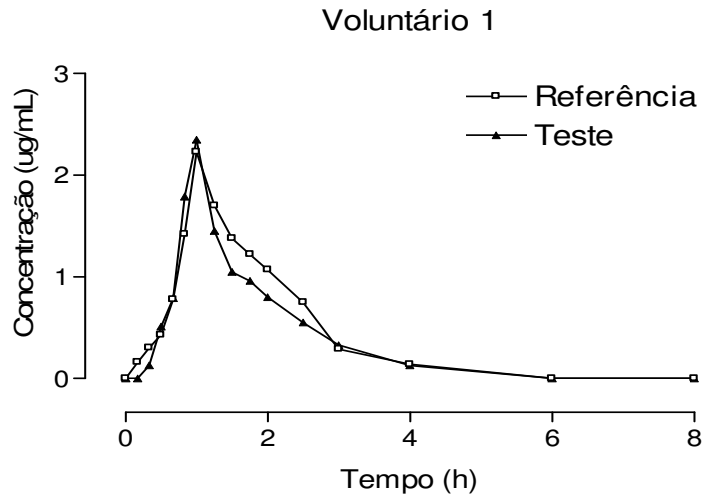
  
**Profa. Dra. Carmen Silvia Bertuzzo**  
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
FCM / UNICAMP

## Anexo 2:

### Curvas de Concentração Plasmática vs Tempo dos Voluntários, para a Fenoximetilpenicilina Referência e Teste

#### Gráficos e parâmetros farmacocinéticos

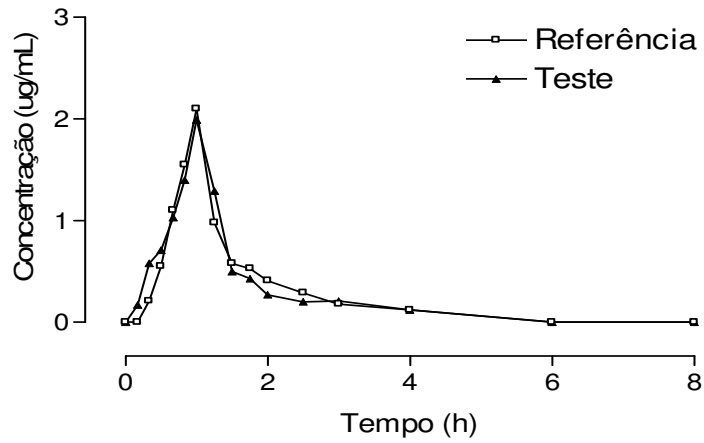
Gráficos das curvas de concentrações *versus* o tempo e os parâmetros farmacocinéticos para cada indivíduo.



Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 1	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral® (Referência)
$T_{max}$ (h)	1,00	1,00
$C_{max}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,35	2,23
$ASC_{0-ult\ h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,78	3,12
$t_{1/2}$ (h)	0,72	0,74
$ASC_{0-8h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,91	3,26
$ASC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,92	3,27

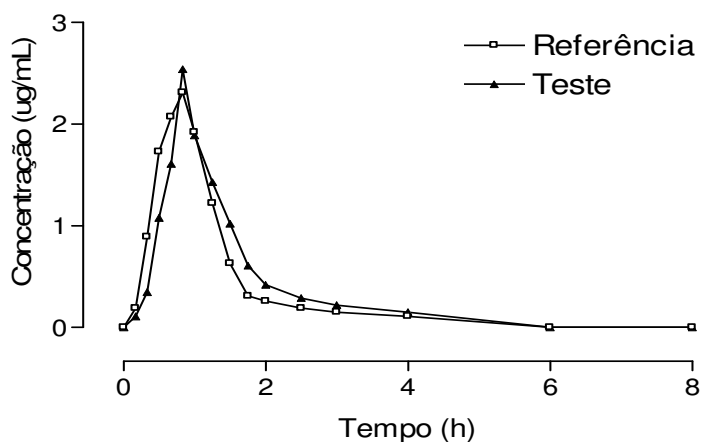


Voluntário 2



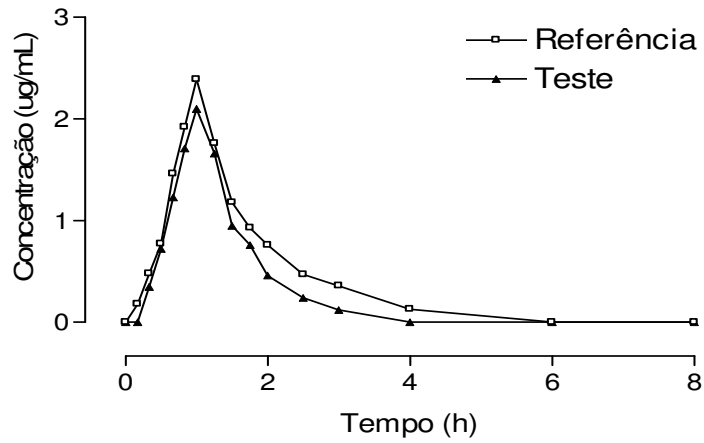
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 2	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral <sup>®</sup> (Referência)
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	1,00	1,00
<b>C<sub>max</sub> (µg·ml<sup>-1</sup>)</b>	1,99	2,10
<b>ASC<sub>0-ult h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,04	2,02
<b>t<sub>1/2</sub> (h)</b>	1,29	1,04
<b>ASC<sub>0-8h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,16	2,14
<b>ASC<sub>0-∞</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,26	2,20

Voluntário 3



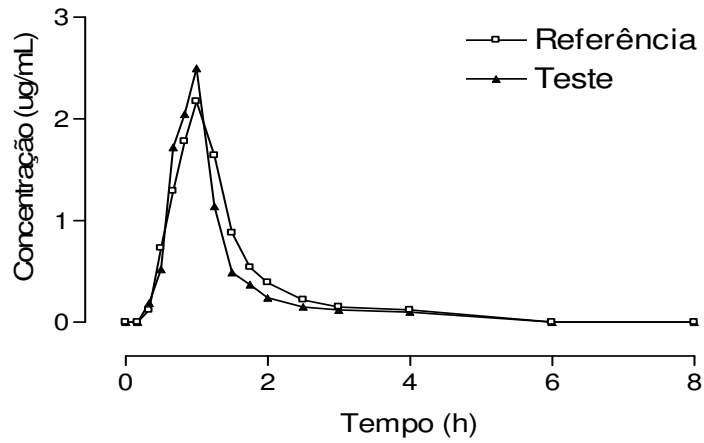
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 3	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral <sup>®</sup> (Referência)
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	0,83	0,83
<b>C<sub>max</sub> (µg·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,54	2,31
<b>ASC<sub>0-ult h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,65	2,52
<b>t<sub>1/2</sub> (h)</b>	1,61	1,97
<b>ASC<sub>0-8h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,80	2,63
<b>ASC<sub>0-∞</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	3,00	2,83

Voluntário 4



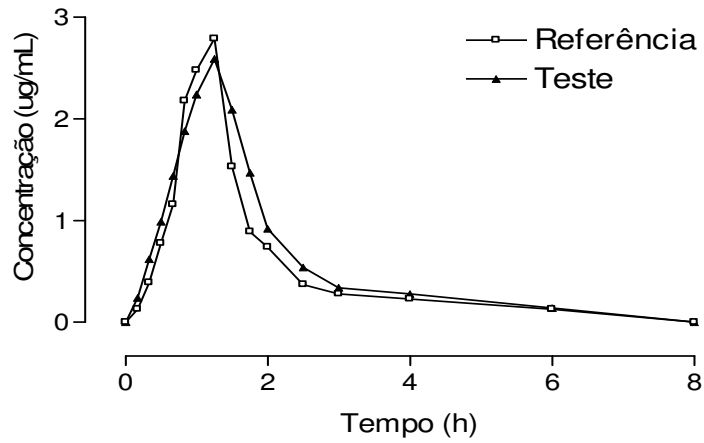
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 4	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral <sup>®</sup> (Referência)
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	1,00	1,00
<b>C<sub>max</sub> (µg·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,10	2,39
<b>ASC<sub>0-ult h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,27	3,12
<b>t<sub>1/2</sub> (h)</b>	0,52	0,80
<b>ASC<sub>0-8h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,33	3,25
<b>ASC<sub>0-∞</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,36	3,27

Voluntário 5



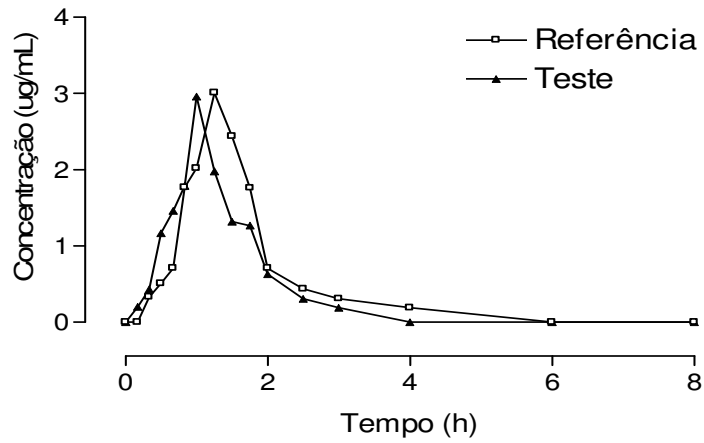
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 5	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral <sup>®</sup> (Referência)
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	1,00	1,00
<b>C<sub>max</sub> (µg·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,50	2,17
<b>ASC<sub>0-ult h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,07	2,30
<b>t<sub>1/2</sub> (h)</b>	2,69	0,69
<b>ASC<sub>0-8h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,17	2,42
<b>ASC<sub>0-∞</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,46	2,42

Voluntário 6



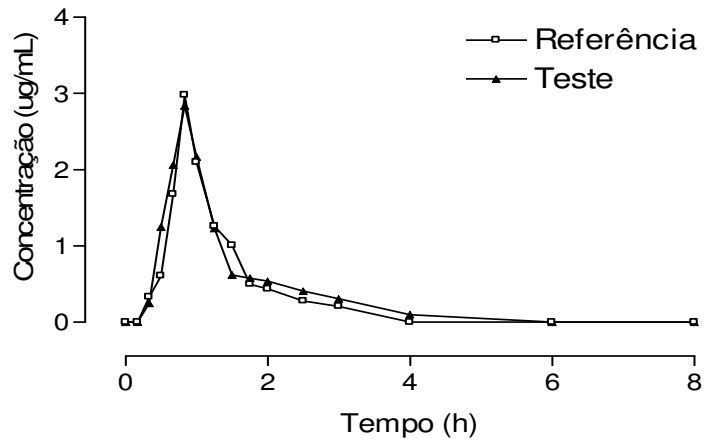
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 6	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral <sup>®</sup> (Referência)
$T_{max}$ (h)	1,25	1,25
$C_{max}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,59	2,79
$ASC_{0-ult\ h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	4,30	3,74
$t_{1/2}$ (h)	2,29	2,67
$ASC_{0-8h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	4,44	3,87
$ASC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	4,76	4,24

Voluntário 7



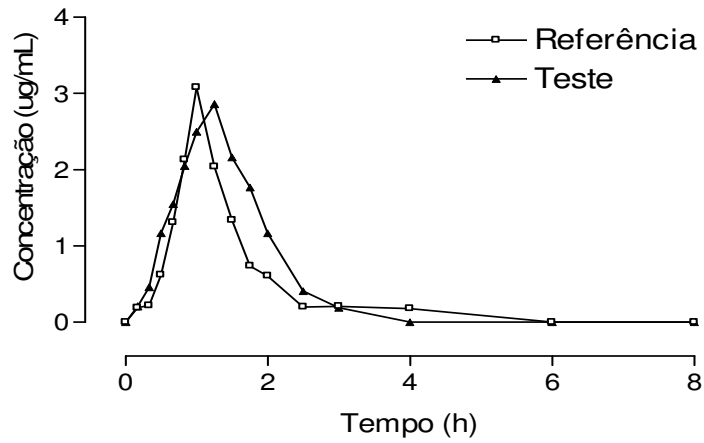
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 7	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral <sup>®</sup> (Referência)
$T_{max}$ (h)	1,00	1,25
$C_{max}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,96	3,01
$ASC_{0-ult\ h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,04	3,59
$t_{1/2}$ (h)	0,49	1,26
$ASC_{0-8h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,14	3,78
$ASC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,18	3,94

Voluntário 8



Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 8	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral® (Referência)
$T_{max}$ (h)	0,83	0,83
$C_{max}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,84	2,98
$ASC_{0-ult\ h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,82	2,43
$t_{1/2}$ (h)	0,72	0,96
$ASC_{0-8h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,92	2,54
$ASC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,92	2,72

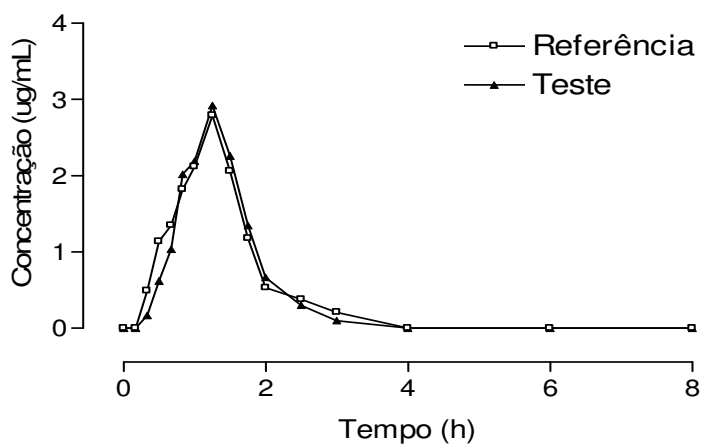
Voluntário 9



Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 9	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral® (Referência)
$T_{max}$ (h)	1,25	1,00
$C_{max}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,86	3,08
$ASC_{0-ult\ h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,82	3,06
$t_{1/2}$ (h)	0,38	0,77
$ASC_{0-8h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,91	3,21
$ASC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,92	3,26

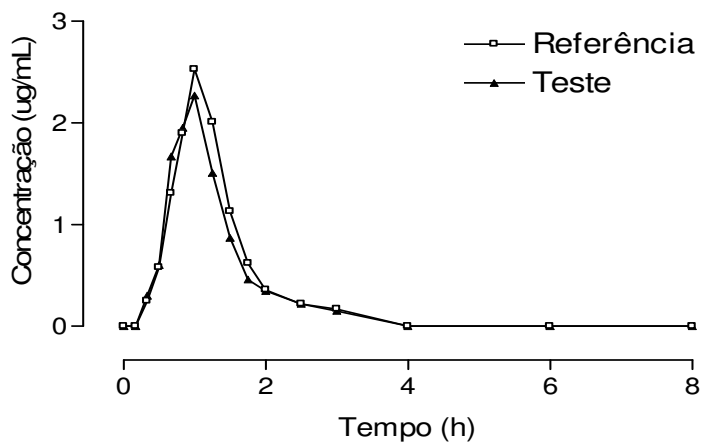


Voluntário 10



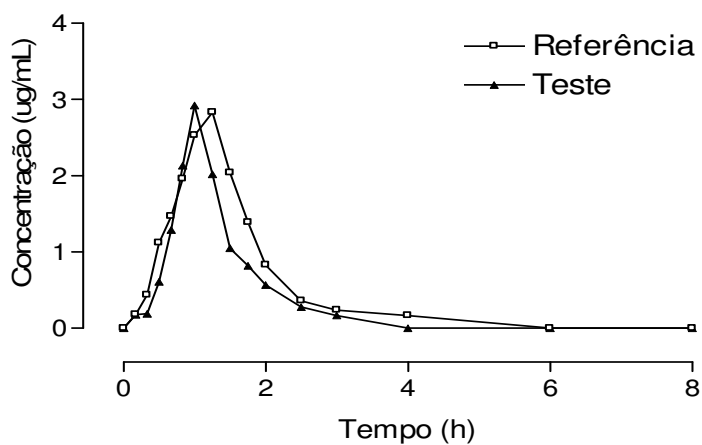
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 10	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral® (Referência)
$T_{max}$ (h)	1,25	1,25
$C_{max}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,92	2,79
$ASC_{0-ult\ h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,16	3,19
$t_{1/2}$ (h)	0,34	0,75
$ASC_{0-8h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,21	3,30
$ASC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,21	3,42

Voluntário 11



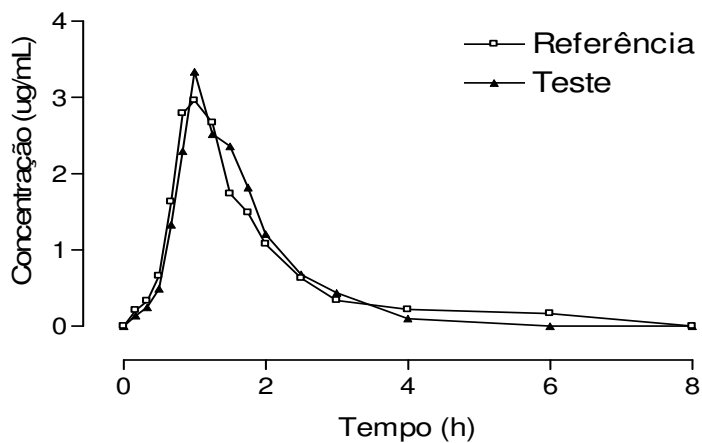
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 11	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral® (Referência)
$T_{max}$ (h)	1,00	1,00
$C_{max}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,27	2,53
$ASC_{0-ult\ h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,21	2,43
$t_{1/2}$ (h)	0,82	0,48
$ASC_{0-8h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,29	2,52
$ASC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,39	2,55

Voluntário 12



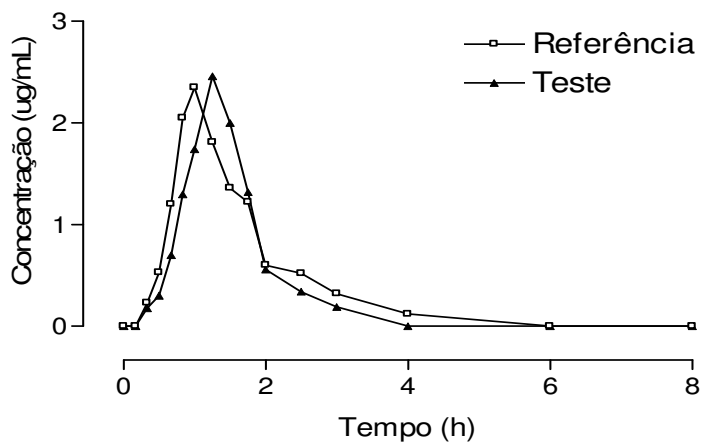
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 12	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral® (Referência)
$T_{max}$ (h)	1,00	1,25
$C_{max}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,92	2,83
$ASC_{0-ult\ h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,71	3,71
$t_{1/2}$ (h)	0,55	0,64
$ASC_{0-8h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,80	3,88
$ASC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,85	3,87

Voluntário 13



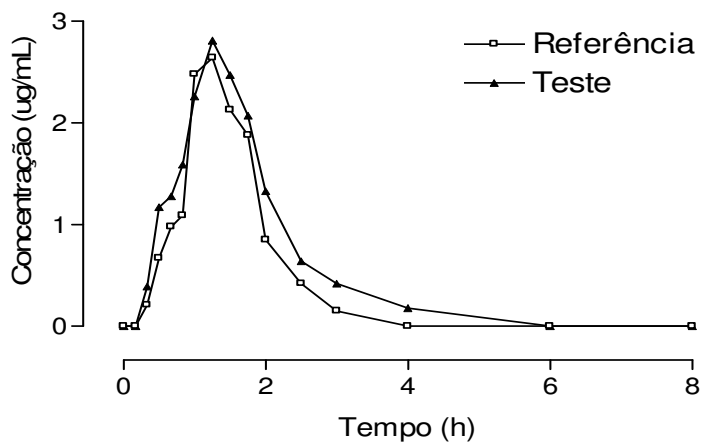
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 13	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral <sup>®</sup> (Referência)
$T_{max}$ (h)	1,00	1,00
$C_{max}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,34	2,96
$ASC_{0-ult\ h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	4,30	4,50
$t_{1/2}$ (h)	0,56	1,11
$ASC_{0-8h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	4,40	4,67
$ASC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	4,38	4,78

Voluntário 14



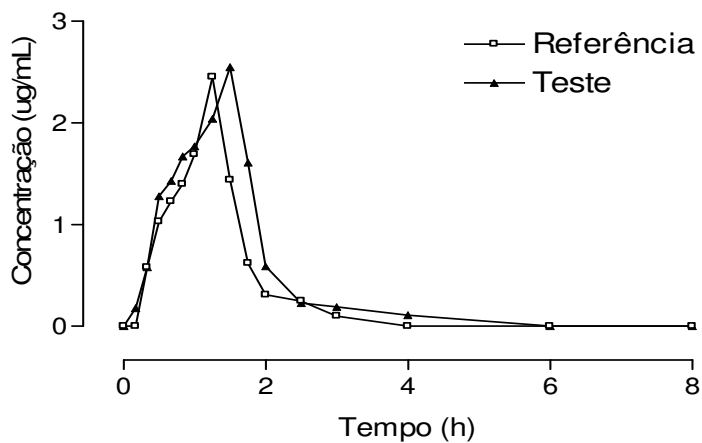
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 14	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral® (Referência)
$T_{max}$ (h)	1,25	1,00
$C_{max}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,46	2,35
$ASC_{0-ult\ h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,65	3,04
$t_{1/2}$ (h)	0,64	0,71
$ASC_{0-8h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,74	3,16
$ASC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,82	3,16

Voluntário 15



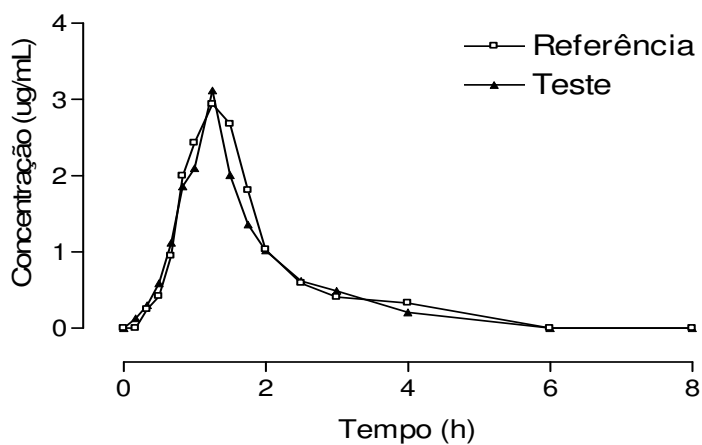
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 15	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral <sup>®</sup> (Referência)
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	1,25	1,25
<b>C<sub>max</sub> (µg·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,81	2,64
<b>ASC<sub>0-ult h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	4,27	3,24
<b>t<sub>1/2</sub> (h)</b>	0,82	0,38
<b>ASC<sub>0-8h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	4,45	3,31
<b>ASC<sub>0-∞</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	4,49	3,32

Voluntário 16



Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 16	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral <sup>®</sup> (Referência)
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	1,50	1,25
<b>C<sub>max</sub> (µg·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,55	2,45
<b>ASC<sub>0-ult h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	3,31	2,45
<b>t<sub>1/2</sub> (h)</b>	1,39	0,39
<b>ASC<sub>0-8h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	3,42	2,50
<b>ASC<sub>0-∞</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	3,53	2,51

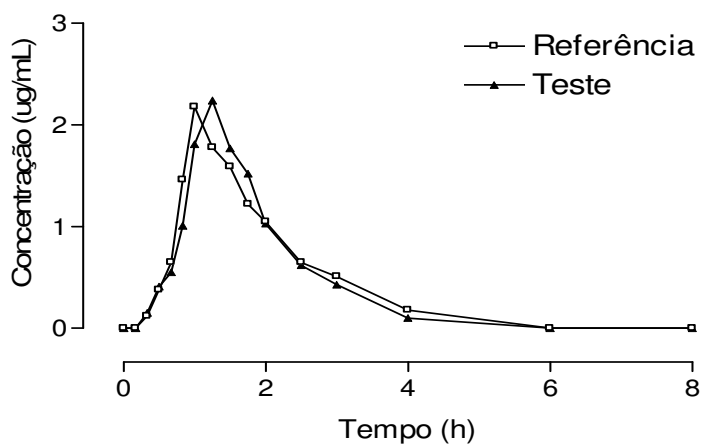
Voluntário 17



Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 17	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral® (Referência)
$T_{max}$ (h)	1,25	1,25
$C_{max}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,12	2,94
$ASC_{0-ult\ h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,89	4,13
$t_{1/2}$ (h)	0,86	0,79
$ASC_{0-8h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	4,10	4,46
$ASC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	4,15	4,51

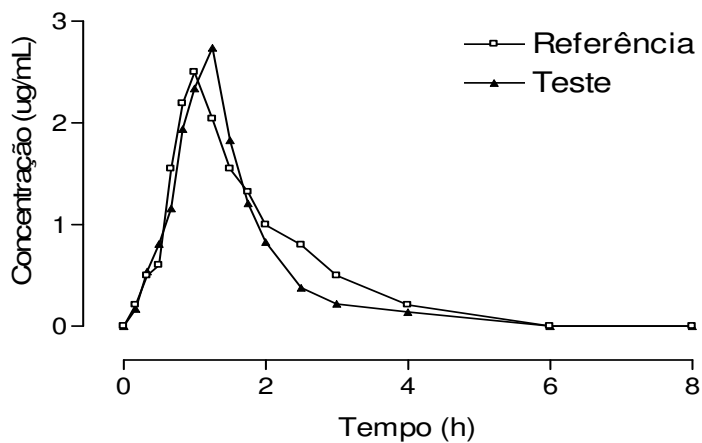


Voluntário 18



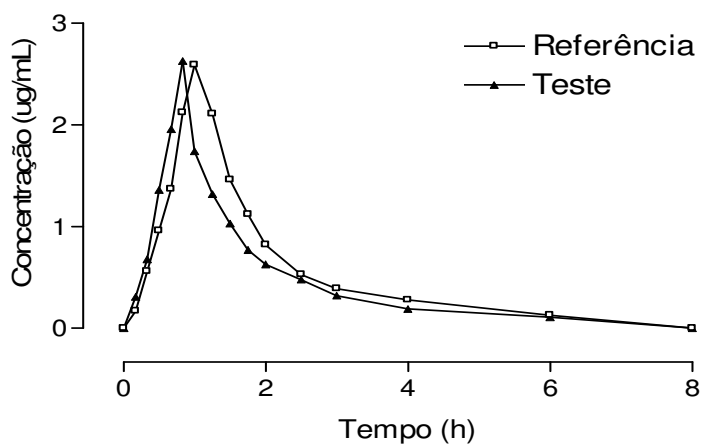
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 18	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral <sup>®</sup> (Referência)
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	1,25	1,00
<b>C<sub>max</sub> (µg·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,24	2,18
<b>ASC<sub>0-ult h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	3,18	3,23
<b>t<sub>1/2</sub> (h)</b>	0,62	0,85
<b>ASC<sub>0-8h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	3,28	3,41
<b>ASC<sub>0-∞</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	3,27	3,45

Voluntário 19



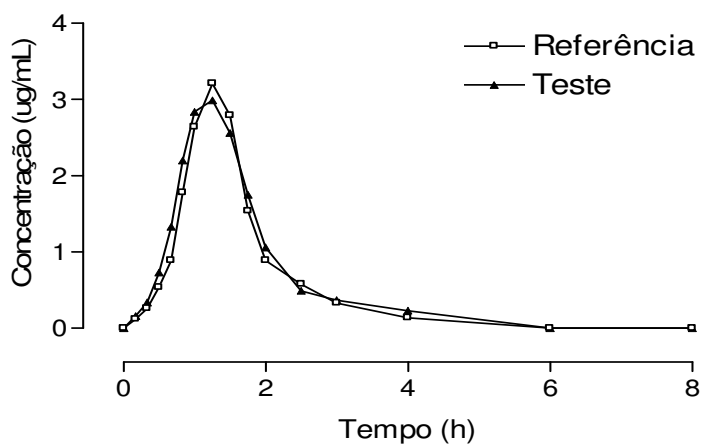
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 19	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral <sup>®</sup> (Referência)
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	1,25	1,00
<b>C<sub>max</sub> (µg·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,74	2,50
<b>ASC<sub>0-ult h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	3,43	3,84
<b>t<sub>1/2</sub> (h)</b>	0,62	0,78
<b>ASC<sub>0-8h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	3,57	4,05
<b>ASC<sub>0-∞</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	3,56	4,08

Voluntário 20



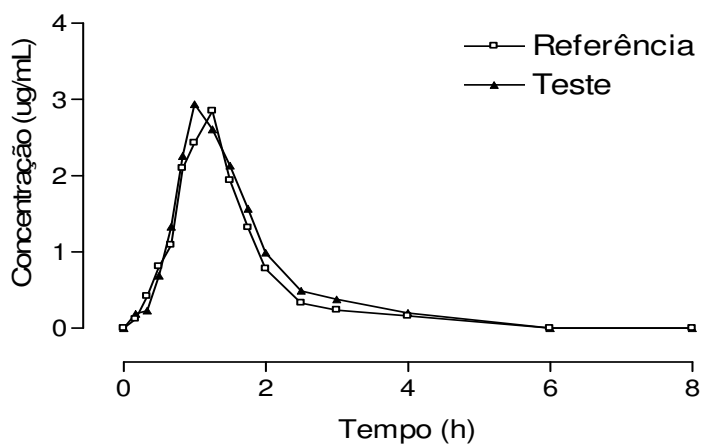
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 20	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral <sup>®</sup> (Referência)
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	0,83	1,00
<b>C<sub>max</sub> (µg·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,63	2,59
<b>ASC<sub>0-ult h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	3,41	3,99
<b>t<sub>1/2</sub> (h)</b>	1,51	1,88
<b>ASC<sub>0-8h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	3,52	4,12
<b>ASC<sub>0-∞</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	3,65	4,34

Voluntário 21



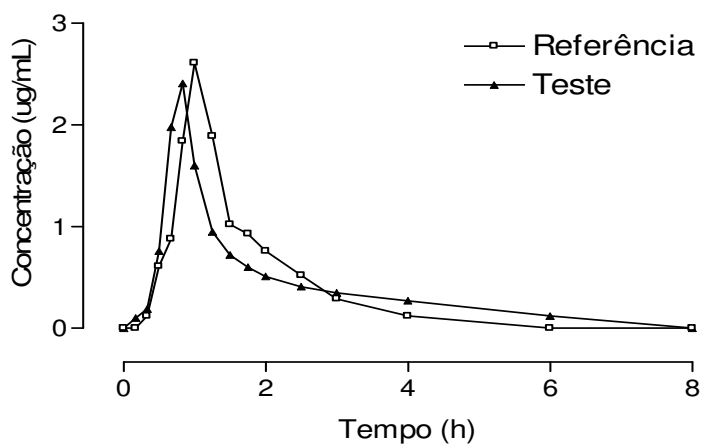
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 21	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral <sup>®</sup> (Referência)
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	1,25	1,25
<b>C<sub>max</sub> (µg·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,99	3,21
<b>ASC<sub>0-ult h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	4,25	3,98
<b>t<sub>1/2</sub> (h)</b>	1,39	0,74
<b>ASC<sub>0-8h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	4,48	4,12
<b>ASC<sub>0-∞</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	4,71	4,13

Voluntário 22



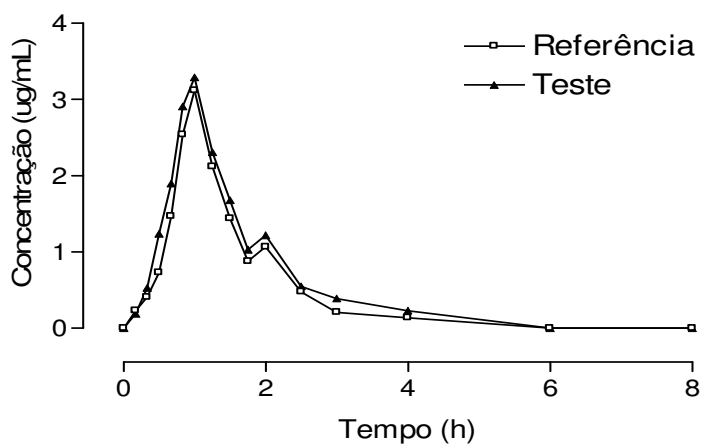
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 22	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral® (Referência)
$T_{max}$ (h)	1,00	1,25
$C_{max}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,94	2,85
$ASC_{0-ult\ h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,98	3,51
$t_{1/2}$ (h)	1,15	1,47
$ASC_{0-8h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	4,18	3,67
$ASC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	4,31	3,85

Voluntário 23



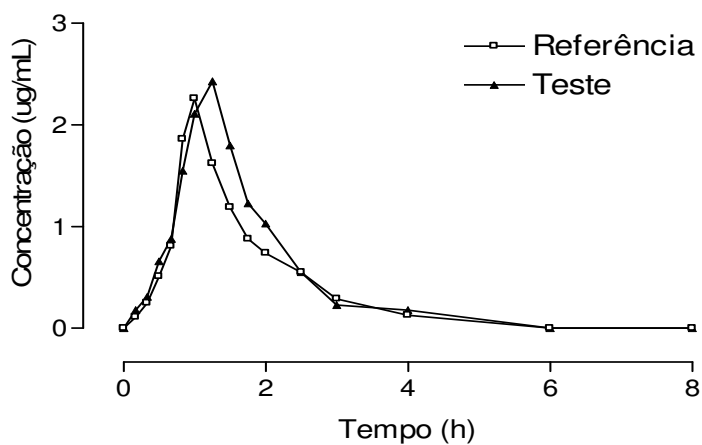
Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 23	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral <sup>®</sup> (Referência)
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	0,83	1,00
<b>C<sub>max</sub> (µg·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,41	2,61
<b>ASC<sub>0-ult h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	2,99	2,90
<b>t<sub>1/2</sub> (h)</b>	1,96	0,75
<b>ASC<sub>0-8h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	3,11	3,02
<b>ASC<sub>0-∞</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	3,33	3,03

Voluntário 24



Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 24	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral <sup>®</sup> (Referência)
<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	1,00	1,00
<b>C<sub>max</sub> (µg·ml<sup>-1</sup>)</b>	3,29	3,12
<b>ASC<sub>0-ult h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	4,21	3,52
<b>t<sub>1/2</sub> (h)</b>	1,21	0,65
<b>ASC<sub>0-8h</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	4,44	3,66
<b>ASC<sub>0-∞</sub> (µg·h·ml<sup>-1</sup>)</b>	4,61	3,65

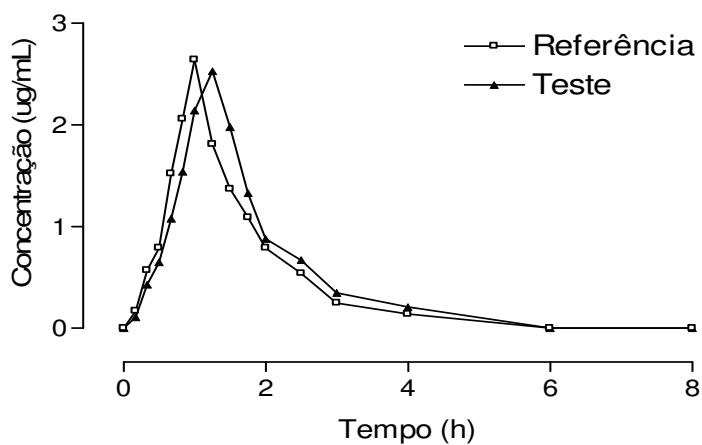
Voluntário 25



Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 25	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral® (Referência)
$T_{max}$ (h)	1,25	1,00
$C_{max}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,43	2,26
$ASC_{0-ult\ h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,33	2,82
$t_{1/2}$ (h)	0,69	0,77
$ASC_{0-8h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,51	2,95
$ASC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,50	2,96



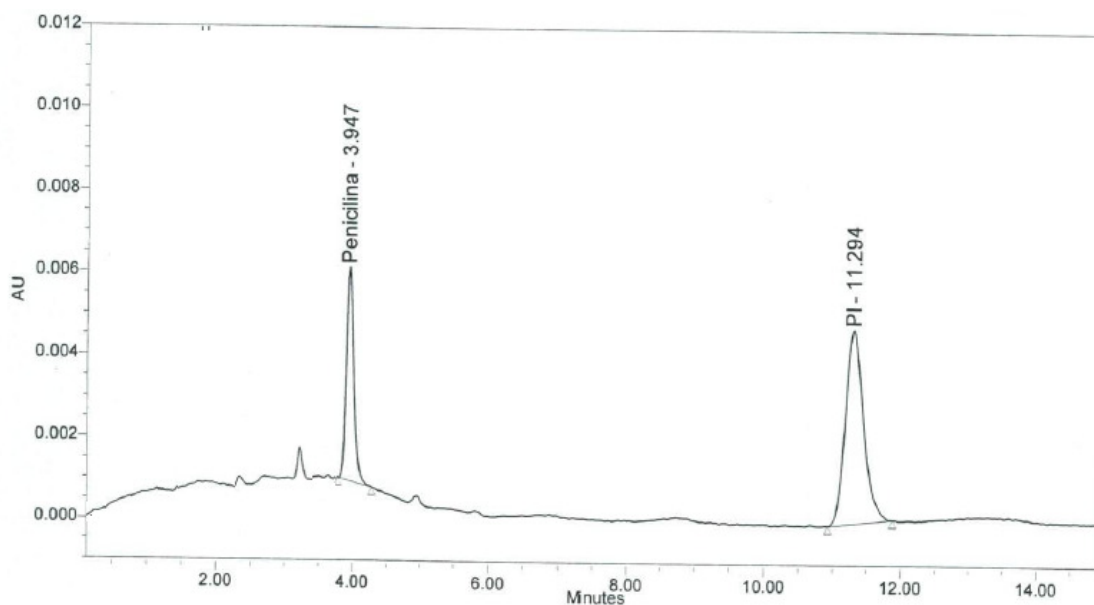
Voluntário 26



Parâmetros Farmacocinéticos Voluntário 26	Fenoximetilpenicilina	
	Meracilina (Teste)	Pen-Ve-Oral <sup>®</sup> (Referência)
$T_{max}$ (h)	1,25	1,00
$C_{max}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	2,53	2,64
$ASC_{0-ult\ h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,57	3,29
$t_{1/2}$ (h)	0,75	0,70
$ASC_{0-8h}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,78	3,43
$ASC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}$ )	3,80	3,43

### ANEXO 3:

#### CROMATOGRAMA DA FENOXIMETILPENICILINA



	Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1	Penicilina	3.947	41024	32.46	5010
2	PI	11.294	85366	67.54	7848

Figura 10: Cromatograma referente a amostra de Plasma obtido de voluntário sadio após administração oral de 500.000 UI de Fenoximetilpenicilina adicionado ao padrão interno.

## **ANEXO 4:**

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Estudo de bioequivalência de duas formulações de fenoximetilpenicilina comprimido de 500.000 UI, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste (Meracilina) produzida pela Aché Laboratórios Farmacêuticos S/A e a formulação referência (Pen-Ve-Oral<sup>®</sup>) pela Eurofarma Laboratórios Ltda.

#### **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Você está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa. Sua participação é importante, porém, você não deve participar contra a sua vontade.

Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

Responsáveis: Dr. Ney Carter do Carmo Borges e Dr. Ronilson Agnaldo Moreno

#### **NATUREZA E PROPÓSITO DO ESTUDO**

O objetivo da pesquisa é verificar se 1 comprimido de fenoximetilpenicilina – Meracilina (500.000 UI) produzido pela Aché Laboratórios Farmacêuticos S/A – *Formulação Teste* – atinge níveis do medicamento no sangue equivalente a 1 comprimido de Pen-Ve-Oral<sup>®</sup> (500.000 UI) produzido pela Eurofarma Laboratórios Ltda – *Formulação Referência*. Você receberá um comprimido de cada uma das duas medicações, cada um em um período de internação diferente. A ordem que você tomará cada medicação obedecerá a um sorteio. Este medicamento é indicado para tratamento de infecções.

## **PROCEDIMENTOS A SEREM REALIZADOS E RESPONSABILIDADES**

Antes de sua participação no estudo e após a sua participação você será convidado a ir a Synchronphar para avaliar a sua condição de saúde.

Após participar da palestra informativa e realizar o cadastro de dados pessoais, você será encaminhado para consulta de enfermagem e realização de consulta de enfermagem (história clínica, dados antropométricos, sinais vitais e eletrocardiograma. Um médico lhe fará um exame físico. Durante a visita serão coletadas amostras de sangue, urina e fezes para exames laboratoriais. Os exames laboratoriais incluem exame de sangue completo como hemograma completo, bioquímica sanguínea (glicose no sangue, proteínas totais, albumina, transaminases oxalacética e pirúvica, gamaglutamil transferase, creatinina, uréia, ácido úrico, colesterol e triglicerídeos); exame sumário de urina (Urina I). Exames para hepatite B e C e para AIDS (HIV I e HIV 2), no sangue, e exames de fezes (protoparasitológico), serão feitos somente no pré-estudo. O teste de gravidez ( $\beta$ -HCG) será feito no pré-estudo, podendo ser repetido nas noites das internações.

. Caso o voluntário seja considerado apto será encaminhado para fazer exames, segundo Resolução RE 894, de 29 de maio de 2003 (Hemograma, bioquímica, teste de gravidez (HCG) para as mulheres e sorologia para HIV, Hepatite B e C) e exames complementares, caso contrário o voluntário receberá as orientações pertinentes e se necessário será encaminhado para o serviço de saúde. Após o recebimento e avaliação dos resultados dos exames laboratoriais e complementares, o médico avaliará a aptidão do voluntário para participação no estudo ou, em caso contrário, receberá orientações pertinentes e se necessário será encaminhado para o serviço de saúde.

No dia de sua internação no Hospital você passará por um outro exame clínico e de enfermagem no qual serão verificados: seu pulso, sua temperatura e sua pressão. Caso você seja mulher, deverá fazer um exame de detecção de gravidez HCG (na urina).

Você não poderá levar consigo alimentos e bebidas e nem outros objetos que não sejam de uso pessoal (roupas íntimas, xampu, condicionador, sabonete). Você terá seus pertences revistados para checar que você está cumprindo o que foi estabelecido neste parágrafo.

Ao chegar no Hospital, você será encaminhado para um quarto, onde será realizado o jantar e depois dormirá. Você deverá ficar no quarto não podendo circular pelo Hospital. Durante o estudo, você será internado duas vezes por aproximadamente 20 horas cada período, com intervalo mínimo de 07 dias. Todas as internações serão realizadas da mesma maneira, inclusive com o mesmo cardápio.

Em cada período de internação a) Você deverá permanecer em jejum por pelo menos 10 horas antes da medicação, b) será puncionada uma veia em seu braço que deverá ficar até o final da internação, c) será retirada uma amostra de 20 mL de sangue antes da administração da medicação, d) será administrado um comprimido de Fenoximetilpenicilina (500.000 UI) acompanhado de 200 mL de água sem gás, e) serão coletadas 32 amostras (16 em cada período) de sangue de 08 mL cada, através de agulha que foi colocada na veia do seu braço, f) em intervalos regulares será verificada sua pressão, pulso e temperatura, g) serão servidas refeições padronizadas (jantar na noite da internação, almoço e lanche da tarde no dia de administração do medicamento) e bebidas em horários preestabelecidos.

Após a coleta de 08:00 horas você receberá alta do hospital.

Um total de 336 mL de sangue serão colhidos durante todo o estudo. A duração total de sua participação na pesquisa está estimada em 30 dias, a contar da primeira internação, após o processo de seleção.

## **RESPONSABILIDADES DO VOLUNTÁRIO**

É condição indispensável, para participação no estudo, que você esteja em boas condições de saúde e, portanto, não esteja no momento sob tratamento médico ou fazendo uso de quaisquer drogas ou medicações. Algumas regras deverão ser seguidas para sua participação no estudo: a) não pode ser dependente de drogas ou álcool e caso o investigador tenha alguma suspeita, poderá solicitar exame de urina para detecção do uso de drogas; b) não pode ter doado sangue ou plasma dentro dos três meses que antecedem o estudo ou ter doado 1500 mL (um litro e meio) no período de um ano antecedendo ao estudo; c) não pode tomar bebidas contendo cafeína e xantinas (café, chá, coca-cola, etc) nas 12 horas que antecedem as internações até a última coleta.

É ainda de sua responsabilidade em relação à sua participação no ensaio clínico: a) comparecer às internações na data e horários informados, b) tomar toda a medicação prevista, c) ingerir toda a alimentação e líquidos previstos, d) retornar à unidade na data e horário combinados para a realização da consulta e exames de alta, independentemente de haver sido interrompida sua participação no estudo ou de sua desistência.

Caso você seja mulher, é condição indispensável para participação no ensaio clínico que você não esteja grávida. Isso será comprovado por exame de gravidez no sangue (HCG) e por exames feitos através da urina (uofita) antes de cada uma das internações. Sua participação não será permitida caso você engravide após a realização dos exames clínico-laboratoriais, se você estiver amamentando ou se estiver pretendendo engravidar durante o prazo de duração do estudo. Caso, mesmo tendo considerado estas precauções, vier a suspeitar que engravidou durante a participação no estudo, deverá comunicar imediatamente o fato à equipe e deverá interromper sua participação sem prejuízo dos seus direitos.

## **RESPONSABILIDADES DA SYNCHROPHAR**

É de responsabilidade do nosso Investigador, garantir que você receba um tratamento definitivo para qualquer evento adverso (eventos não programados que afetam a saúde), se necessário. Os eventos adversos deverão ser seguidos clinicamente e por análises laboratoriais (quando indicados) até que os resultados dos exames voltem ao normal. Estas atividades podem permanecer mesmo após o estudo ter sido completado. A equipe da Synchronphar irá monitorar a sua segurança clínica desde a ocorrência de um evento adverso até a recuperação satisfatória. Em casos de emergência a unidade de internação tem local próprio, equipado com desfibrilador, monitor, oxímetro, respirador, material para pequena cirurgia e com medicação de urgência para qualquer eventualidade. Além disso, conta com uma unidade de Terapia Intensiva (UTI).

## **POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS**

A administração oral de fenoximetilpenicilina pode causar efeitos colaterais como: náuseas, diarréias, vômitos, dor abdominal, alteração da cor da língua, alterações na pele, crises de asma, coceira, inchaço na garganta e febre.

Entretanto o aparecimento de efeitos indesejáveis após administração de dose única de fenoximetilpenicilina tem menor probabilidade de aparecer. Além dos efeitos citados, a administração de qualquer medicamento pode causar reações imprevisíveis.

Além dos efeitos citados, a administração de qualquer medicamento pode causar reações imprevisíveis.

A retirada de sangue é um procedimento seguro. Pode causar um leve desconforto devido à picada da agulha e ocasionalmente, uma mancha roxa pequena no local da picada sem maiores problemas.

## **BENEFÍCIOS OU COMPENSAÇÕES**

A participação neste estudo, não tem o objetivo de submetê-lo a um tratamento terapêutico. Conseqüentemente, não se espera que a participação no estudo traga qualquer benefício em função do tratamento.

## **INTERCORRÊNCIAS (efeitos indesejáveis)**

Se você sofrer algum malefício em decorrência direta de sua participação no estudo, você receberá tratamento, sem qualquer custo. Não haverá, no entanto qualquer compensação de ordem financeira em função do ocorrido, a não ser que a condição faça jus à indenização prevista no Seguro de Vida em Grupo mencionado abaixo. Contudo, ao assinar este termo, você não está renunciando qualquer direito legal que você possui.

Durante o período de 180 dias a partir da data da assinatura deste termo, você estará assegurado pelo Seguro de Vida em Grupo pela empresa Executivos Seguros (Sul América Aetna).

## **RESSARCIMENTO**

Você será ressarcido no valor de R\$ 400 para as despesas e tempo despendido para a realização deste estudo. No entanto, este ressarcimento só será efetuado após a consulta de alta. Caso desista ou seja dispensado antes do estudo ser finalizado você receberá no final do estudo, o valor proporcional ao tempo despendido. A sua desistência ou dispensa antes do comparecimento para a primeira internação não dá direito a ressarcimento.

## **PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA**

Sua participação é voluntária e você tem a liberdade de desistir ou interromper a participação neste estudo no momento que desejar. Neste caso, você deve informar imediatamente sua decisão ao pesquisador ou a um membro de sua equipe, sem necessidade de qualquer explicação e sem que isto venha interferir no seu atendimento médico.

Independente de seu desejo e consentimento, sua participação no ensaio clínico poderá ser interrompida, em função: a) da ocorrência de eventos adversos; b) da ocorrência de qualquer doença que, a critério médico, prejudique a continuação de sua participação no estudo; c) do não cumprimento das normas estabelecidas; d) de qualquer outro motivo que, a critério médico, seja do interesse de seu próprio bem estar ou dos demais participantes; e) da suspensão do estudo como um todo.

A Synchronphar o manterá informado sempre que houver alguma informação adicional que possa influenciar seu desejo de continuar participando no estudo e prestará qualquer tipo de esclarecimento em relação ao progresso da pesquisa, conforme sua solicitação.

A interrupção não causará prejuízo ao seu atendimento, cuidado e tratamento pela equipe da Synchronphar.



## **DIVULGAÇÃO DE INFORMAÇÕES QUANTO À PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO**

Os registros que possam identificar sua identidade serão mantidos em sigilo mesmo por ocasião da publicação dos resultados obtidos desta pesquisa.

Contudo, o(s) monitor(es) do Estudo, auditor(es), membros do Comitê de Ética e Pesquisa Clínica, ou autoridades do(s) órgão(s) governamentais envolvido(s) na fiscalização e acompanhamento do estudo terão direito de ter acesso aos registros originais de dados clínicos de sua pessoa, coletados durante a pesquisa, na extensão em que for permitido pela Lei e regulamentações aplicáveis, com o propósito de verificar os procedimentos e dados do ensaio, sem, no entanto violar a condição de que tais informações são confidenciais. Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, você está também autorizando tal acesso, mesmo se você se retirar do estudo.

## **CONTATOS E PERGUNTAS**

Caso surja alguma intercorrência você deverá procurar a Synchronphar (Fone 3233-7300) e pedir que façam contato com os médicos responsáveis pelo ensaio clínico ou então entrar em contato diretamente com os responsáveis nos telefones indicados no final deste Termo de Consentimento.

Você pode contatar o Dr. Ney Carter do Carmo Borges para receber informações adicionais, relacionadas à pesquisa ou quanto aos seus direitos como voluntário, e também a secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa da Unicamp (Fone 3521-8936) para apresentar recursos ou reclamações em relação ao estudo.

Após a reunião e leitura deste documento junto com a enfermeira responsável, e o médico disponível, no momento da assinatura do TCLE, caso ocorram dúvidas, você obteve todas as informações e esclarecimentos necessários para poder decidir conscientemente sobre a participação no referido ensaio clínico.

Se você concorda com as condições do estudo, leia e assine o documento abaixo.

Eu, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ anos, RG \_\_\_\_\_, declaro que li cuidadosamente todo este documento denominado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que tive oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo e também sobre o Estudo. Recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas e reafirmo estar livre e espontaneamente decidindo participar do Estudo, sob responsabilidade do Dr. Ney Carter do Carmo Borges, do Dr. Ronilson A. Moreno e das Enfermeiras Responsáveis da Synchronphar Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos S/S Ltda.

Ao assinar este Termo de Consentimento eu também estou certificando que toda a informação que eu prestei, incluindo minha história médica, é verdadeira e correta até onde é de meu conhecimento, e declaro estar recebendo uma cópia assinada deste documento.

Ao assinar este Termo de Consentimento estou autorizando o acesso às minhas informações de saúde aos membros da equipe e a monitores, auditores, membros do Comitê de Ética em Pesquisa e membros de órgãos regulamentares envolvidos, nas condições descritas acima.

Ao assinar este Termo de Consentimento eu não renunciei qualquer direito legal que eu venha a ter ao participar deste Estudo.

X	X	
Nome do Voluntário	Data	Assinatura
Responsável pela obtenção do termo de consentimento	Data	Assinatura
Testemunha	Data	Assinatura

(Necessário somente se o voluntário não souber ler)

**CONTATOS:**

Dr. Ney Carter do Carmo Borges e Dr. Ronilson Agnaldo Moreno

**ANEXO 5**  
**REGISTRO DE EVENTOS ADVERSOS**

Voluntário nº: \_\_\_\_\_ Iniciais do Voluntário: \_\_\_\_\_

**Eventos Adversos**

---

Efeitos adversos durante o estudo?		( ) Sim			( ) Não				Ação adotada
Descrição	Data de início	Leve	Mod.	Sev.	Atribuída ao fármaco?	Sim	Pos	Nao	
1.		( )	( )	( )	( )	( )	( )	( )	
2.		( )	( )	( )	( )	( )	( )	( )	
3.		( )	( )	( )	( )	( )	( )	( )	

Mod. = Moderada    Sev. = Severa    Pos. = Possível    Des = desconhecida

Comentários

---



---

**MEDICAÇÃO PARA TRATAMENTO DE EVENTOS ADVERSOS**

Voluntário nº: \_\_\_\_\_ Iniciais do Voluntário: \_\_\_\_\_

**Medicação**

---

**Se o voluntário teve qualquer efeito adverso que necessitou uso de fármacos para tratamento, abaixo encontra-se todas as informações correspondentes**

Nº do efeito adverso	Fármaco administrado (nome genérico ou comercial)	Via (oral, IV., IM.)	Dosagem (mg/dose, nº doses/dia)	Total dose administrada (mg)
1				
2				
3				

Comentários

---



---

## ANEXO 6

### Definições de experiências (EVENTO) adversas

#### Intensidade

Leve	Experiência adversa facilmente tolerada
Moderada	Experiência adversa desagradável o bastante para interferir na atividade cotidiana
Severa	Experiência adversa que impossibilita a realização da atividade cotidiana normal

#### Relacionamento Suposto com o Fármaco Experimental

Não	A experiência adversa definitivamente não está relacionada à droga em teste.
Desconhecida	Há outras causas mais prováveis e não há suspeitas de que o fármaco seja a causa.
Possível	Não foi demonstrado um relacionamento de causa e efeito direto entre o fármaco e a experiência adversa, porém, há uma possibilidade razoável de que a droga esteja envolvida.
Sim	Há um relacionamento direto de causa e efeito entre a experiência e o fármaco em estudo.

#### EVENTO ADVERSO SÉRIO

É qualquer experiência:

a qual é fatal

a qual põe a vida em risco

a qual debilita/incapacita

a qual resulta em hospitalização

a qual o pesquisador interpreta como séria ou que sugere um risco, contra-indicação, efeito colateral ou precaução significativa(o) que possa estar associada(o) ao uso da droga e que deve ser relatada como séria.


Quaisquer experiências (evento) adversas sérias que ocorram a qualquer tempo durante o estudo clínico dentro de cinco meia-vidas, desde a última dose da medicação em estudo, estejam ou não relacionadas com a medicação em estudo, devem ser relatadas pelo investigador clínico. Caso ocorra uma experiência adversa séria, entre em contato com o coordenador e/ou monitor do estudo imediatamente (em até 24 horas).

**ANEXO 7:**  
**PARTICIPAÇÃO EM CONGRESSO**

**38<sup>o</sup>** Congresso Brasileiro de  
*Farmacologia e Terapêutica  
Experimental*

**CERTIFICADO**

Certificamos que o trabalho 09.020  
"PHENOXYMETHYLPENICILLIN POTASSIUM  
DETERMINATION IN HUMAN PLASMA BY HIGH-  
PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY COUPLED TO  
TANDEM MASS SPECTROMETRY (LC-MS-MS) USED IN  
BIOEQUIVALENCE STUDIES IN BRAZILIAN GENERIC  
FORMULATIONS" de autoria de *Boldrina, L. W.*  
*L.; Orives, A. G.; Borges, N. C. C.; Moreno, R. A.* foi  
apresentado como pôster no 38<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de  
Farmacologia, realizado de 18 a 21 de outubro de 2006  
em Ribeirão Preto, São Paulo.

  
Regina Pekelmann Markus  
Presidente  
Sociedade Brasileira de Farmacologia  
e Terapêutica Experimental

## ANEXO 8:

### ARTIGO PUBLICADO

NCBI Resources How To

PubMed.gov  
US National Library of Medicine  
National Institutes of Health

PubMed Boldrina L Search

RSS Save search Limits Advanced

Display Settings: Abstract Send to:

*Int J Clin Pharmacol Ther.* 2007 Dec;45(12):669-76.

**Comparative bioavailability study of two phenoxymethylpenicillin potassium tablet formulations in healthy volunteers.**

Moreno RA, Boldrina L, Guermani A, Mazuchelli J, Sverdlhoff C, Borges NC.  
Synchrophar Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos, State University of Campinas, Campinas, SP, Brazil. moreno@synchrophar.com

**Abstract**

**OBJECTIVE:** The aim of this study was to evaluate the performance of 2 phenoxymethylpenicillin 500,000 UI tablet formulations in healthy human volunteers.

**MATERIAL AND METHODS:** The study was conducted using an open, randomized crossover design with a 7-day washout interval. A single dose of each formulation was administered to 28 healthy volunteers as assessed by clinical and laboratory test evaluations. The plasma samples were obtained over an 8-h interval and phenoxymethylpenicillin concentrations were quantified by a suitable and validated HPLC-UV method with detection at 220 nm. Systolic and diastolic blood pressure and pulse rate measurement were taken pre dose and at intervals up to 8 h.

**RESULTS:** Tolerance of both products was adequate. The mean of Meracilina/Pen-Ve-Oral 500,000 UI% geometric mean was 99.89% for AUC0-t, 100.88% for AUC0-infinity and 101.11% for Cmax. The 90% confidence intervals were 94.82 - 105.48%, 95.22 - 108.83% and 98.81 - 103.87%, respectively. The mean recovery of phenoxymethylpenicillin was 94.6%, while the retention time observed for phenoxymethylpenicillin and phenytoin (internal standard) was 4 and 10 min, respectively. The limit of quantification was 0.10 mg/l.

**CONCLUSION:** Since the 90% CI for AUC0-t, AUC0-infinity and Cmax ratios were all within the 80 - 125% interval proposed by the US FDA and accepted by ANVISA, it was concluded that the Meracilina formulation (manufactured by AchA(c) S.A.) is bioequivalent to Pen-Ve-Oral (manufactured by Eurofarma) for both the rate and the extent of bioavailability.

PMID: 18184538 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Publication Types, MeSH Terms, Substances

LinkOut - more resources