



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**  
**MESTRADO PROFISSIONAL EM FARMACOLOGIA CLINICA**

**ANA LOURDES ALMEIDA E SILVA LEITE**

**PERFIL FARMACOCINÉTICO DA TALIDOMIDA NAS DOSES DE 200mg E 400mg**  
**EM VOLUNTÁRIOS SADIOS DO SEXO MASCULINO**

**Fortaleza**

**2012**

**ANA LOURDES ALMEIDA E SILVA LEITE**

**PERFIL FARMACOCINÉTICO DA TALIDOMIDA NAS DOSES DE 200mg E 400mg  
EM VOLUNTÁRIOS SADIOS DO SEXO MASCULINO**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Farmacologia Clínica.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes

**Fortaleza**

**2012**

**ANA LOURDES ALMEIDA E SILVA LEITE**

**PERFIL FARMACOCINÉTICO DA TALIDOMIDA NAS DOSES DE 200mg e 400mg  
EM VOLUNTÁRIOS SADIOS DO SEXO MASCULINO**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós Graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Farmacologia Clínica.

Aprovada em: 26 de julho de 2012

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Profa. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes – Orientadora  
Universidade Federal do Ceará – UFC**

---

**Profa. Dra. Gilmara Silva de Melo Santana  
Universidade de Fortaleza – UNIFOR**

---

**Profa. Dra. Aline Kércia Alves Soares  
Universidade de Fortaleza – UNIFOR**

## DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais (in memoriam), a quem devo minha formação moral, por continuarem sempre presentes na minha vida me guiando na conquista de todos os méritos.

## **AGRADECIMENTOS**

Devo iniciar meus agradecimentos demonstrando a minha gratidão a todos os professores, que ao longo da minha vida me ensinaram a importância do respeito e do conhecimento.

À minha família, por todas as oportunidades de mudança e amadurecimento.

Ao Professor Dr. Manoel Odorico de Moraes, pela oportunidade de trabalho na área da Farmacologia Clínica.

À Professora Dra. M<sup>a</sup> Elisabete Amaral de Moraes, minha orientadora, pela amizade, confiança, respeito e estímulo à pesquisa.

Ao Professor Dr. Fernando Antônio Frota Bezerra, por ter sido um amigo e professor.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação, por terem colaborado nessa etapa da minha caminhada pela busca de conhecimentos.

Ao Dr. Vagnaldo Fachine, pela valiosa colaboração no desenvolvimento e análise dos dados desta pesquisa.

À Professora Dra. Gilmara Silva de Melo Santana, por fazer parte da minha banca e pelo carinho.

À Professora Dra. Aline Kércia Alves Soares, pela participação na banca e amizade.

Ao Dr. Demétrius Fernandes do Nascimento, pelo trabalho conjunto, e pela amizade que cresceu baseada na sinceridade e companheirismo diário.

À Dra. Wanda Andrade e Dra. Jonaina Costa de Oliveira, pela disponibilidade durante toda a pesquisa.

Ao Dr. Ismael Leite, pela amizade, disponibilidade e por todas as contribuições feitas a este trabalho.

Ao Francisco Evanir Gonçalves de Lima e Raimundinho das Chagas Marques, pelo trabalho de laboratório preciso e dedicado.

Às Colegas do Mestrado pela convivência e momentos de descontração.

À Maria Teresa Rocha, pela ajuda inestimável na formatação deste trabalho.

À Dra. Ismenia Osório Leite Viana e Ana Paula de Macêdo Santana, pela presteza e solidariedade, que hoje me fazem falta.

Aos amigos da Unidade de Farmacologia Clínica, Fernando André Campos, Gilmara Holanda, Andréa Pontes, Marina Becker, Malu Amaral, Fábica Bezerra, Flávio Roberto Gonçalves e todos os bolsistas pela ajuda e companheirismo ao longo de 10 anos.

À Bia, Dalva e Francisco pela atenção no dia a dia.

Ao artista Duilio Galli por disponibilizar as imagens da sua série “Talidomida”, corroborando com o seu pensamento: “A arte não é para enfeitar paredes, nem para tornar o artista rico ou famoso, mas sim para legar ao mundo algo que eternamente transmita”.

A todos os voluntários que participaram desse estudo.

À Fundação Ezequiel Dias (FUNED), pela doação do padrão utilizado no desenvolvimento da metodologia bioanalítica.

Ao Ministério da Ciência e Tecnologia e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo apoio financeiro.

## RESUMO

Uma formulação de talidomida comprimido 100mg foi avaliada quanto a sua biodisponibilidade (Talidomida, Fundação Ezequiel Dias - FUNED) em 24 voluntários saudáveis do sexo masculino. O estudo realizado foi aberto, randomizado, cruzado, com dois tratamentos, dois períodos (duas sequências), nos quais os voluntários recebem, em cada período distinto, 200mg ou 400mg da talidomida com intervalo de sete dias entre os internamentos. O plasma foi obtido de um intervalo de 36 horas. As concentrações de talidomida foram analisadas por combinação de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada à espectrometria de massas (MS-MS), com ionização em *electrospray* positivo (MRM). Os dados farmacocinéticos (média  $\pm$  desvio padrão) obtidos para as formulações contendo talidomida de 200mg e 400mg foram  $12663,54 \pm 2123,99$  e  $23056,11 \pm 3437,08$  ng\*h/mL para  $AUC_{0-24}$ ,  $13282,84 \pm 2065,91$  e  $26292,67 \pm 4187,85$  ng\*h/mL para  $AUC_{0-\infty}$ ,  $861,58 \pm 187,30$  e  $1131,63 \pm 266,93$  ng/mL para  $C_{m\acute{a}x}$ ,  $4,52 \pm 1,53$  e  $6,88 \pm 4,71$  h para  $T_{m\acute{a}x}$ ,  $6,89 \pm 1,44$  e  $11,01 \pm 4,36$  h para  $t_{1/2}$ ,  $0,10 \pm 0,02$  e  $0,07 \pm 0,03$  1/h para  $K_e$ , respectivamente. A comparação dos parâmetros farmacocinéticos, nas doses de 200 e 400mg, apresentou curvas proporcionais. Quando comparado os parâmetros farmacocinéticos deste estudo e os encontrados nos estudos de TEO *et al.*, 1999, NOORMOHAMED *et al.*, 1999 e PAGANOTTO, 2002 foi evidenciado que a formulação FUNED apresenta absorção menor e mais lenta que as demais.

**Palavras-chave:** Cromatografia, talidomida, farmacocinética.

## ABSTRACT

A formulation of thalidomide 100mg tablet was evaluated for its bioavailability (Thalidomide, Fundação Ezequiel Dias - FUNED) in 24 healthy male volunteers. The study conducted was open, randomized, with two treatments, and with a two-period crossover design, during which the volunteers were administered 200mg or 400mg of thalidomide with a seven day washout period. Plasma was obtained over a 36h interval. The thalidomide concentrations were analyzed by combined reversed phase liquid chromatography and tandem mass spectrometry (LC-MS-MS) with positive ion electrospray ionization using selected daughter ion monitoring (MRM). The pharmacokinetic data (mean  $\pm$  standard deviation) obtained from the formulations containing thalidomide 200mg and 400mg were  $12663.54 \pm 23056.11$   $2123.99$  and  $3437.08 \text{ng} \cdot \text{h/mL}$  for  $\text{AUC}_{0-24}$ ,  $13282.84 \pm 2065.91$  and  $26292.67 \pm 4187.85 \text{ng} \cdot \text{h/mL}$  for  $\text{AUC}_{0-\infty}$ ,  $861.58 \pm 187.30$  and  $1131.63 \pm 266.93 \text{ng/mL}$  for  $C_{\text{m}\acute{\text{a}}\text{x}}$ ,  $4.52 \pm 1.53$  and  $6.88 \pm 4.71 \text{h}$  to  $T_{\text{m}\acute{\text{a}}\text{x}}$ ,  $6.89 \pm 1.44$  and  $11.01 \pm 4.36 \text{h}$  to  $t_{1/2}$ ,  $0.10 \pm 0.02$  and  $0.07 \pm 0.03 \text{1/h}$  for  $K_e$ , respectively. The comparison between pharmacokinetic parameters, at doses of 200 and 400mg, presented proportional curves. When comparing the pharmacokinetic parameters of this study and those found in studies of TEO *et al.*, 1999, NOORMOHAMED *et al.*, 1999 and PAGANOTTO, 2002 it was observed that the FUNED formulation presents smaller and slower absorption than the others.

**Keywords:** Chromaography, thalidomide, pharmacokinetic.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Esquema das fases de desenvolvimento de um medicamento.....23
- Figura 2:** Representação esquemática entre o fármaco liberado a partir da forma farmacêutica, os processos farmacocinéticos e o efeito farmacológico (adaptado de SHARGEL; WU-PONG; YU, 2005). .....31
- Figura 3:** Estrutura química da talidomida.....51
- Figura 4:** Estrutura química dos isômeros da talidomida.....51
- Figura 5:** Estrutura química do Anilito e do Padão Interno .....82
- Figura 6:** Massa corporal, expressa em kg, verificada nos voluntários nas fases de pré-estudo e pós-estudo. Os dados correspondem à média e desvio padrão das medições efetuadas em 24 voluntários. O teste t para variáveis emparelhadas foi usado para comparar as duas fases do estudo. Não foi constatada diferença estatisticamente significativa ( $P = 0,9555$ ) entre as fases de pré-estudo ( $76,79 \pm 10,81$ kg) e pós-estudo ( $76,82 \pm 10,96$ kg) em relação à massa corporal.....99
- Figura 7:** Índice de massa corporal (IMC), expresso em  $\text{kg/m}^2$ , verificado nos voluntários nas fases de pré-estudo e pós-estudo. Os dados correspondem à média e desvio padrão das medições efetuadas em 24 voluntários. O teste t para variáveis emparelhadas foi usado para comparar as duas fases do estudo. Não foi constatada diferença estatisticamente significativa ( $P = 0,9984$ ) entre as fases de pré-estudo ( $25,15 \pm 2,80$ kg) e pós-estudo ( $25,15 \pm 2,77$ kg) em relação ao IMC. ....99
- Figura 8:** Intensidade da sonolência, conforme o relato dos voluntários, considerando as doses de 200 e 400mg de talidomida, segundo os seguintes critérios: 0 (ausência), 1 (leve), 2 (moderada) e 3 (intensa). Dados expressos como mediana, intervalo interquartil e valores mínimo e máximo dos escores de intensidade da sonolência e analisados pelo teste de Wilcoxon. Constatou-se que a intensidade da sonolência referente à dose de 400 mg (1,00; 0,00 a 3,00) foi significativamente maior (\*\* $P = 0,0026$ ) que a relativa à dose de 200mg (0,00; 0,00 a 1,00). ..... 102
- Figura 9:** Intensidade da cefaléia, conforme o relato dos voluntários, considerando as doses de 200 e 400mg de talidomida, segundo os seguintes critérios: 0 (ausência), 1 (leve), 2 (moderada) e 3 (intensa). Dados expressos como mediana, intervalo interquartil e valores mínimo e máximo dos escores de intensidade da sonolência e analisados pelo teste de Wilcoxon. Não foi constatada diferença estatisticamente significativa ( $P = 1,0000$ ) entre as doses de talidomida de 200mg (0,00; 0,00 a 1,00) e 400mg (0,00; 0,00 a 1,00) em relação à intensidade da cefaléia. .... 103
- Figura 10:** Cromatogramas MRM de uma amostra de plasma em branco normal: canal (A) TALIDOMIDA, canal (B) FENACETINA ..... 106

**Figura 11:** Cromatogramas MRM de amostra de plasma contaminado com: canal (A) TALIDOMIDA, canal (B) FENACETINA.....106

**Figura 12:** Cromatograma representativo de uma amostra de voluntário após administração de talidomida comprimido 100mg: canal (A) TALIDOMIDA , canal (B) FENACETINA.....107

**Figura 13:** Curva de concentração plasmática (ng/mL) *versus* tempo (h) para o fármaco talidomida após a administração da formulação em 24 voluntários saudáveis, nas doses de 200 e 400mg. ....112

**Figura 14:** Curva de concentração plasmática (ng/mL) *versus* tempo (h) para o fármaco talidomida após a administração da formulação em 24 voluntários saudáveis, nas doses de 200 e 400mg – Dados Log transformados. ....112

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Alocação aleatória dos voluntários a um grupo (sequência).....97
- Tabela 2:** Dados do hemograma referentes às mensurações realizadas nos voluntários nas fases de pré-estudo e pós-estudo. Valores expressos como média e desvio padrão (dados paramétricos) ou mediana e intervalo interquartil (dados não paramétricos) das medições efetuadas em 24 voluntários. Comparações entre as duas fases do estudo foram feitas mediante o uso do teste t para variáveis emparelhadas (dados paramétricos) ou do teste de Wilcoxon (dados não paramétricos). ..... 100
- Tabela 3:** Valores dos parâmetros bioquímicos referentes às mensurações realizadas nos voluntários nas fases de pré-estudo e pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 24 voluntários. O teste t para variáveis emparelhadas foi usado para comparar as duas fases do estudo. ...101
- Tabela 4:** Valores da densidade e pH urinários referentes às mensurações realizadas nos voluntários nas fases de pré-estudo e pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 24 voluntários. O teste t para variáveis emparelhadas foi usado para comparar as duas fases do estudo. ...101
- Tabela 5:** Precisão e exatidão intralote das curvas de calibração. ....108
- Tabela 6:** Precisão e exatidão na quantificação de talidomida em amostras de plasma (análise de amostras de plasma contaminado em três concentrações diferentes). ..... 109
- Tabela 7:** Estabilidade das amostras de controle de qualidade da talidomida em plasma sob diferentes condições de estoque (n=5). ..... 110
- Tabela 8:** Média geométrica da razão e o intervalo confiança de 90% Dose 1 (talidomida 200mg) vs. Dose 2 (talidomida 400mg) .....111
- Tabela 9:** Estatística descritiva dos parâmetros farmacocinéticos resultantes após administração por via oral de 200mg de talidomida, em voluntários sadios do sexo masculino. .... 113
- Tabela 10:** Estatística descritiva dos parâmetros farmacocinéticos resultantes após administração por via oral de 400 mg de talidomida, em voluntários sadios do sexo masculino. .... 114
- Tabela 11:** Parâmetros farmacocinéticos de quatro formulações de talidomida após administração oral única de 200mg em voluntários sadios do sexo masculino..... 118
- Tabela 12:** Celgene com HIV assintomático/Tortuga com tumores sólidos 5 de reto, 4 com adenocarcinoma de cólon, 4 com melanoma e 1 com adenocarcinoma de pâncreas..... 118

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1:</b> Descrição do produto estudado.....	66
<b>Quadro 2:</b> Definição dos períodos de tratamento (RE nº 898/2003-ANVISA).....	74
<b>Quadro 3:</b> Descrição dos equipamentos .....	81
<b>Quadro 4:</b> Descrição dos Instrumentos .....	81
<b>Quadro 5:</b> Descrição dos reagentes e/ou soluções Tampão.....	82
<b>Quadro 6:</b> Descrição dos materiais utilizados .....	84
<b>Quadro 7:</b> Descrição dos padrões de referência .....	85
<b>Quadro 8:</b> Parâmetros farmacocinéticos .....	93

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>"n.c.s."</b>	Não clinicamente significativo
<b>AIDS</b>	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
<b>ANOVA</b>	Análise de Variância
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>AUC</b>	Área Under Curve
<b>CAD</b>	Collisionally Activated Dissociation
<b>CID</b>	Collision-Induced Dissociation
<b>C<sub>máx</sub></b>	Concentração Máxima
<b>CNPQ</b>	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
<b>CNS</b>	Conselho Nacional de Saúde
<b>COMEPE</b>	Comitê de Ética em Pesquisa da UFC
<b>CONEP</b>	Conselho Nacional de Saúde
<b>GCP</b>	Good Clinical Practice
<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>CV</b>	Coeficiente de Variação
<b>DECIT</b>	Departamento de Ciência e Tecnologia do Ministério da Saúde
<b>DP</b>	Desvio Padrão
<b>ECG</b>	Eletrocardiograma
<b>ENL</b>	Eritema Nodoso Hansênico
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>FUNED</b>	Fundação Ezequiel Dias
<b>HIV</b>	Vírus da Imunodeficiência Humana
<b>HPLC</b>	High Performance/Pressure Liquid Chromatography
<b>IATA</b>	Air Transport Assotiation
<b>ICH</b>	International Conference on Harmonisation
<b>IES</b>	Ionização por Electrospray
<b>IMC</b>	Índice de Massa Corporal

<b>ISO</b>	Internacional Standard Organization
<b>IV</b>	Intravenosa
<b>Ke</b>	Constante de eliminação
<b>L</b>	Litro
<b>LQ</b>	Limite de Quantificação
<b>MCT</b>	Ministério da Ciência e Tecnologia
<b>MRM</b>	Monitoramento de reação múltipla
<b>MS</b>	Ministério da Saúde
<b>MS</b>	Espectrometria de massas
<b>MS/MS</b>	Mass spectrometry
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>PNM</b>	Política Nacional de Medicamentos
<b>RDC</b>	Resolução de Diretoria Colegiada
<b>RPM</b>	Rotações por minuto
<b>SCTIE</b>	Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos
<b>T<sub>máx</sub></b>	Tempo necessário para atingir a concentração máxima
<b>t<sub>1/2</sub></b>	Tempo da meia-vida plasmática
<b>TCLE</b>	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<b>UFC</b>	Universidade Federal do Ceará
<b>UNIFAC</b>	Unidade de Farmacologia Clínica
<b>USP</b>	United States Pharmacopeia
<b>UTI</b>	Unidade de Terapia Intensiva
<b>V<sub>da</sub></b>	Volume aparente de distribuição
<b>VEV</b>	Via extravenosa
<b>VIV</b>	Via intravenosa

## SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	22
AGRADECIMENTOS .....	23
RESUMO.....	25
ABSTRACT .....	26
LISTA DE FIGURAS .....	27
LISTA DE TABELAS .....	29
LISTA DE QUADROS .....	30
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	31
1 INTRODUÇÃO .....	19
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	23
2.1 Desenvolvimento de um medicamento .....	23
2.1.1 Fase de Investigação Físico-Química e Farmacotécnica .....	23
2.1.2 Fase Pré-Clínica .....	24
2.1.3 Fase Clínica.....	24
2.2 A pesquisa clínica e seus aspectos éticos.....	24
2.2.1 Classificação dos Ensaio s Clínicos .....	26
2.2.1.1 Quanto à Investigação.....	26
2.2.1.2 Quanto à Metodologia .....	26
2.2.1.3 Quanto à Alocação de Tratamento.....	27
2.2.1.4 Quanto à Finalidade.....	28
2.3 Estudos de farmacocinética .....	30
2.3.1 Processos Farmacocinéticos.....	31
2.3.1.1 Absorção.....	32
2.3.1.2 Distribuição.....	33
2.3.1.3 Metabolismo ou Biotransformação.....	34
2.3.1.4 Excreção.....	35
2.4 Modelos farmacocinéticos .....	36
2.4.1 Modelos Compartimentais.....	37
2.4.1.1 Modelo Aberto de Um Compartimento .....	37
2.4.1.2 Modelos Multicompartimentais.....	38
2.4.1.3 Modelo de Dois Compartimentos.....	39
2.4.1.4 Modelos Não Compartimentais.....	39
2.5 Parâmetros farmacocinéticos.....	40
2.5.1 Meia-vida de Eliminação ( $t_{1/2}$ ).....	40
2.5.2 Volume Aparente de Distribuição (Vda).....	41
2.5.3 Clearance ou Depuração (Cl) .....	42
2.5.4 Área sob a Curva de Concentração Plasmática versus Tempo (ASC) ..	43
2.5.5 Concentração Máxima ( $C_{máx}$ ) .....	44
2.5.6 Tempo da Concentração Máxima ( $T_{máx}$ ).....	44
2.5.7 Constante de Eliminação ( $K_e$ ).....	44
2.5.8 $ASC_{inf}$ .....	45
2.5.9 $ASC_{último}$ .....	45
2.5.10 $ASC_{tudo}$ .....	45
2.5.11 $C_{último}$ .....	45
2.5.12 $T_{último}$ .....	45
2.6 Talidomida.....	45
2.6.1 A Tragédia.....	45

2.6.2	<i>Aspectos da Legislação Brasileira</i> .....	48
2.6.3	<i>Química</i> .....	51
2.6.4	<i>Mecanismo de Ação</i> .....	52
2.6.5	<i>Toxicologia</i> .....	53
2.6.6	<i>Apresentação Farmacêutica</i> .....	55
2.6.7	<i>Farmacocinética</i> .....	56
2.6.7.1	<i>Dados Farmacocinéticos em Populações Especiais</i> .....	57
2.6.8	<i>Farmacologia Clínica / Novas Aplicações</i> .....	57
3	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	60
4	<b>OBJETIVOS</b> .....	63
4.1	<i>Geral</i> .....	63
4.2	<i>Específicos</i> .....	63
5	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	65
5.1	<i>Etapa clínica</i> .....	65
5.1.1	<i>Local de Confinamento dos Voluntários</i> .....	65
5.1.2	<i>Delimitação do Estudo</i> .....	65
5.1.2.1	<i>Seleção dos Voluntários</i> .....	67
5.1.2.2	<i>Critérios de Inclusão do Voluntário</i> .....	68
5.1.2.3	<i>Critérios de Exclusão do Voluntário</i> .....	69
5.1.2.4	<i>Critérios de Retirada dos Voluntários</i> .....	70
5.1.2.5	<i>Inclusão do Voluntário no Estudo</i> .....	71
5.1.2.6	<i>Restrições</i> .....	72
5.1.2.7	<i>Internamento</i> .....	73
5.1.3	<i>Esquema Experimental</i> .....	74
5.1.3.1	<i>Tratamento</i> .....	74
5.1.3.2	<i>Coletas de Amostras</i> .....	75
5.1.3.3	<i>Processamento das Amostras</i> .....	76
5.1.3.4	<i>Armazenamento e Transporte de Amostras</i> .....	76
5.1.3.5	<i>Avaliação da Segurança</i> .....	76
5.1.3.6	<i>Avaliação Pós-estudo</i> .....	78
5.1.4	<i>Aspectos Éticos</i> .....	79
5.1.5	<i>Termo de consentimento livre e esclarecido</i> .....	79
5.1.6	<i>Confidencialidade</i> .....	80
5.1.7	<i>Manuseio dos dados e manutenção dos registros</i> .....	80
5.1.8	<i>Materiais</i> .....	81
5.2	<i>Etapa analítica</i> .....	82
5.2.1	<i>Protocolo experimental para quantificação do analito</i> .....	83
5.2.1.1	<i>Substâncias químicas e materiais utilizados</i> .....	84
5.2.1.2	<i>Padrões de Referência</i> .....	84
5.2.1.3	<i>Condições de Detecção no Espectrômetro de Massa no Modo MS/MS</i> .....	85
5.2.1.4	<i>Critérios para Validação do Método Bioanalítico</i> .....	86
5.2.1.5	<i>Extração das Amostras (extração líquido-líquido)</i> .....	89
5.2.1.6	<i>Validação do Método Bioanalítico</i> .....	90
5.2.1.7	<i>Aplicação dos Métodos Propostos em Estudos Farmacocinéticos</i> .....	91
5.3	<i>Etapa estatística</i> .....	92
5.3.1	<i>Modelagem análise farmacocinética</i> .....	92
5.3.2	<i>Software</i> .....	92
5.3.3	<i>Parâmetros</i> .....	92
5.3.4	<i>Apresentação dos dados, e estatística descritiva</i> .....	93

6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	95
6.1	Etapa clínica.....	95
6.2	Etapa analítica .....	104
6.2.1	Método Bioanalítico.....	104
6.2.1.1	Validação pré-estudo.....	104
6.2.1.2	Otimização dos procedimentos gerais.....	105
6.2.1.3	Linearidade do Método.....	108
6.2.1.4	Precisão e Exatidão do Método.....	108
6.2.1.5	Recuperação do Método.....	109
6.2.1.6	Estudos de Estabilidade do Método.....	109
6.3	Etapa estatística.....	111
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	120
8	CONCLUSÃO .....	122
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	124
	ANEXO 1.....	134
	TERMO DE ESCLARECIMENTO PARA O USUÁRIO DA TALIDOMIDA .....	134
	ANEXO 2.....	135
	CERTIFICADO PADRÃO SECUNDÁRIO .....	135
	ANEXO 3.....	136
	CERTIFICADO PADRÃO INTERNO.....	136
	ANEXO 4.....	137
	CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS INDIVIDUAIS .....	137
	ANEXO 5.....	161
	CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA MÉDIA.....	161
	ANEXO 6.....	162
	RAZÃO T/R.....	162
	ANEXO 9.....	165
	PARECER COMITÊ DE ÉTICA.....	165
	APÊNDICE 1 .....	167
	TERMO DE RECRUTAMENTO .....	167
	APÊNDICE 2 .....	169
	TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	169



## **INTRODUÇÃO**

## 1 INTRODUÇÃO

O século XX foi notável pelas inúmeras conquistas e avanços tecnológicos. A sofisticação tecnológica revolucionou os meios de transporte, os meios de comunicação e a ciência. O homem pisou na Lua e viajou pelas estrelas, dominou a técnica de substituir um órgão doente por um sadio e parecia um “todo poderoso” a conquistar a natureza e a dominar o mundo parecendo ter o controle bem equacionado dos riscos.

Mas, grandes tragédias como a do Titanic e da talidomida são registros de desastres tecnológicos. Cada uma destas tragédias teve um enorme impacto no mundo, refletido pela perda de vidas e má formações congênitas que passaram a representar o desastre causado por uma combinação de ganância e excesso de confiança na tecnologia. A tragédia da talidomida na Saúde, em meados do século, mais recente que a tragédia do Titanic (1912), já representa todas as deformidades e "monstros" que podem ser inadvertidamente ou por negligência, criados pela medicina moderna (BERNSTEIN, 1997).

Os efeitos desastrosos provocados pelo uso da talidomida chocou o mundo, alertou a comunidade científica e os governos para os riscos dos medicamentos. A tragédia despertou para necessidade de estudos mais rigorosos, com um extenso e minucioso sistema de testes na produção dos fármacos, antes da sua comercialização. A partir daí, métodos de pesquisa e políticas de aprovação de novos fármacos foram revistos.

Claude Bernard, no século XIX, formalizou os critérios para reunir informações baseadas na experimentação transformando a prática da medicina em uma prática científica. Mesmo assim, a aplicação destes critérios à terapêutica vinha sendo, até recentemente, lenta e inconsistente. Embora os aspectos diagnósticos da medicina fossem abordados com sofisticação científica, o valor terapêutico dos medicamentos era determinado pela tradição de uso e o testemunho dos médicos. Em função disto, a avaliação da descoberta e do aperfeiçoamento de novos medicamentos teve como história um processo de risco e ineficiência (MORAES; MORAES, 2000). O sucesso terapêutico do tratamento de doenças em humanos depende de bases farmacológicas que permitam a escolha do medicamento correto, de forma científica e racional. Mais do que escolher o fármaco adequado ("certo")

visando reverter, atenuar ou prevenir um determinado processo patológico; o clínico, ao prescrever, também precisa selecionar o mais adequado às características fisiopatológicas, idade, sexo, peso corporal e raça do paciente. Como a intensidade dos efeitos, terapêuticos ou tóxicos, dos medicamentos depende da concentração alcançada em seu sítio de ação, é necessário garantir que o medicamento escolhido atinja, em concentrações adequadas, o órgão ou sistema suscetível ao efeito benéfico requerido. Para tal é necessário escolher doses que garantam a chegada e a manutenção das concentrações terapêuticas, junto aos sítios moleculares de reconhecimento no organismo, também denominados sítios receptores. Se quantidades insuficientes estão presentes no sítio receptor, o medicamento pode parecer ser ineficaz mesmo sendo o "certo", falseando, assim, a eficácia do fármaco escolhido; em uma situação como esta, o fármaco pode ser descartado erroneamente, sendo que o sucesso terapêutico poderia ser alcançado se a dose e/ou o intervalo de administração (posologia) correta fossem prescritos. Do mesmo modo, esquemas posológicos inapropriados podem produzir concentrações excessivas no sítio receptor, o que acarretaria a produção de toxicidade e, mais uma vez, o medicamento "certo" pode erroneamente ser descartado, por apresentar excessivas concentrações no organismo (BARCELLOS, 2012).

Hoje as falhas na segurança e eficácia do medicamento podem ser evitadas ou minimizadas, pela aplicabilidade de conhecimentos e protocolos de uma ciência denominada "Farmacologia Clínica", que trata da investigação de fármacos em seres humanos, e que segundo (LEITÃO, 2001) só foi introduzida no meio científico em 1952, apesar de estudos, com pesquisa clínica controlada, terem sido iniciados por Harry Gold em 1930.

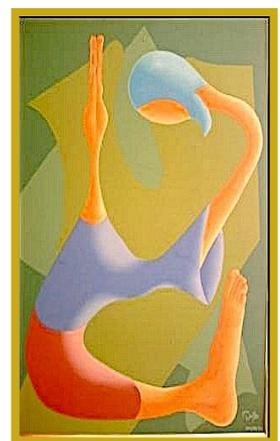
As pesquisas farmacoclínicas, aqui desenvolvidas, tiveram início com o estudo de psicotrópicos, na década de 80, pelo Professor Elisaldo Carlini, no Departamento de Psicobiologia da Escola Paulista de Medicina, atual Universidade Federal de São Paulo. Entretanto, somente com os estudos de biodisponibilidade, bioequivalência e de interações medicamentosas, realizados pelos Professores Dr. Gilberto de Nucci (USP), Dra. Maria Elisabete Amaral Moraes, Dr. Manoel Odorico de Moraes e Dr. Fernando Antônio Frota Bezerra (UFC), no início da década de noventa, é que a pesquisa com medicamentos no nosso país começou a ser amplamente divulgada no meio científico nacional e internacional (MORAES; MORAES, 2000).

Nesse contexto, a nossa Política Nacional de Medicamentos (PNM) aprovada pela Portaria 3.916/98, é considerada o primeiro posicionamento formal e abrangente do governo brasileiro sobre a questão dos medicamentos no contexto da reforma sanitária. Formulada com base nas diretrizes da Organização Mundial da Saúde, a PNM expressa as principais diretrizes para o setor com o propósito de garantir a necessária segurança, eficácia e qualidade desses produtos, a promoção do uso racional e o acesso da população àqueles considerados essenciais (OLIVEIRA; LABRA; BERMUDEZ, 2006; BRASIL, 1998). As oito diretrizes fixadas, são: adoção de relação de medicamentos essenciais; regulamentação sanitária de medicamentos; reorientação da assistência farmacêutica; promoção do uso racional de medicamentos; desenvolvimento científico e tecnológico; promoção da produção de medicamentos; desenvolvimento e capacitação de recursos humanos e por último, a garantia da segurança, eficácia e qualidade dos medicamentos (REVISTA DE SAÚDE PÚBLICA, 2000).

É inquestionável que nos últimos 14 anos, o Brasil vem amadurecendo e evoluindo nos aspectos técnicos da regulamentação na área de medicamentos e promovendo condições básicas de infraestrutura o que, certamente, está favorecendo o estabelecimento de um importante polo farmacêutico no país e criando condições para o exercício de uma de suas principais responsabilidades, que é garantir o atendimento das necessidades básicas de saúde da população.

Apesar de fazer parte da história da medicina há mais de 50 anos, a talidomida, considerada a droga maldita na década de 60, ressurge nos últimos 15 anos, com um enorme potencial terapêutico, trazendo grandes esperanças principalmente no tratamento da hanseníase, mieloma múltiplo, doenças crônico-degenerativas e algumas oportunistas que afetam portadores de HIV. Mas, a talidomida continua a desafiar a ciência pelas lacunas no conhecimento do seu mecanismo de ação. É preciso, portanto, cautela no uso até que se consiga melhor compreender a sua atividade e clarear a sua real vantagem terapêutica para não correremos o risco de perder os benefícios deste fármaco.

Por tudo que foi abordado, ressalto o valor dessa pesquisa que foi delineada com o intuito de obter os parâmetros farmacocinéticos da talidomida produzida pela Fundação Ezequiel Dias (FUNED) a partir de sua forma farmacêutica, uma vez que não há dados farmacocinéticos, na literatura, relativos a esta formulação brasileira.

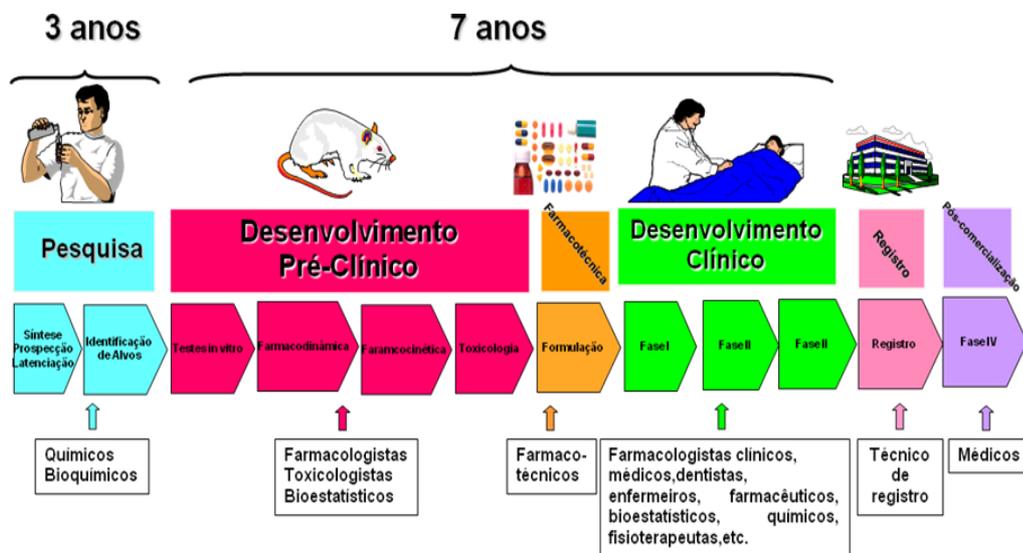


**REVISÃO DA LITERATURA**

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Desenvolvimento de um medicamento

O processo de desenvolvimento de um medicamento é longo, em média 10 anos, e implica em investimentos altos e de risco. Em geral, de cada 10.000 moléculas identificadas com potencial terapêutico, somente 1000 chegam à fase de investigação pré-clínica. Dessas, apenas 10 serão estudadas em seres humanos e só uma delas chegará ao mercado, após aprovação e registro para uso terapêutico.



**Figura 1: Esquema das fases de desenvolvimento de um medicamento**

Fonte: Aula Desenvolvimento Novos Medicamentos - Prof. Odorico de Moraes

#### 2.1.1 Fase de Investigação Físico-Química e Farmacotécnica

Envolve a exploração e/ou criação de novas substâncias fisiologicamente ativas, a seleção dos compostos prováveis e investigação de suas eficácia e propriedades físico-químicas a avaliação de segurança e farmacodinâmica (mecanismo de ação) do composto selecionado e ainda a formulação e produção, estabelecimento da metodologia de produção em larga escala, formulações e especificações de aplicações do novo fármaco.

### **2.1.2 Fase Pré-Clínica**

Estabelece as propriedades farmacodinâmicas, farmacocinéticas, toxicológicas e possíveis efeitos teratogênicos, mutagênicos e carcinogênicos em diversas espécies de animais. Visa conhecer a farmacologia do composto para previsão de uma faixa posológica segura para o início dos estudos em humanos

### **2.1.3 Fase Clínica**

Compreende estudos sistemáticos que seguem métodos científicos aplicáveis aos seres humanos, denominados voluntários ou “sujeitos” da pesquisa, sadios ou enfermos, de acordo com a fase da pesquisa. Esta fase, somente ocorre após a aprovação das etapas anteriores e, objetiva caracterizar os aspectos farmacocinéticos, farmacodinâmicos, eficácia terapêutica, segurança e reações adversas relacionadas ao fármaco (MORAES; MORAES, 2000).

## **2.2 A pesquisa clínica e seus aspectos éticos**

Pesquisa clínica, ensaio clínico ou estudo clínico são termos utilizados para designar um processo de investigação científica envolvendo seres humanos com o objetivo de avaliar (observar) o comportamento de uma nova medicação ou um novo procedimento.

Os ensaios clínicos seguem princípios éticos e científicos de experimentação, e são os responsáveis pelas bases da avaliação de eficácia e segurança de fármacos ou medicamentos. Os primeiros estudos de pesquisa clínica controlada foram iniciados por Harry Gold em 1930, seguido por Amberson, MacMahon e Pinner (1931), que introduziram os ensaios clínicos “simples cegos” randomizados e controlados. Posteriormente, Harry Gold (1950) passou a adotar os ensaios clínicos “duplos cegos”. Apesar disso, o termo Farmacologia Clínica, referindo-se à investigação de fármacos em seres humanos somente foi introduzido nos meios científicos em 1952 (FACKLAND; FACKLAND, 1992).

Hoje a pesquisa clínica é fundamentada, orientada e fiscalizada por instituições, normas e códigos: como o de Nuremberg, elaborado em 1947 na Alemanha, após o julgamento dos médicos nazistas pelos crimes cometidos, durante

a Segunda Grande Guerra Mundial, em pesquisas experimentais envolvendo seres humanos; a Declaração dos Direitos do Homem de 1948; a Declaração de Helsinque em 1964, e suas versões posteriores, que se refere à criação de comitês independentes para análise ética de projetos de pesquisa com seres humanos; o Acordo Internacional sobre Direitos Civis e Políticos (ONU, 1966, aprovado pelo Congresso Nacional Brasileiro em 1992); as Propostas de Diretrizes Éticas Internacionais para Pesquisas Biomédicas Envolvendo Seres Humanos (CIOMS/OMS 1982 e 1993); as Diretrizes Internacionais para Revisão Ética de Estudos Epidemiológicos (CIOMS, 1991); o Estatuto da Criança e do Adolescente; a Lei Orgânica da Saúde 8.080, de 19/09/90 (dispõe sobre as condições de atenção à saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes); a Lei 8.489, de 18/11/92, e Decreto 879 de 22/07/93 (dispõem sobre retirada de tecidos, órgãos e outras partes do corpo humano com fins humanitários e científicos); a Lei 8.501, de 30/11/92 (utilização de cadáver); a Lei 8.974 de 05/01/95 (uso das técnicas de engenharia genética e liberação, no meio ambiente, de organismos geneticamente modificados); a Lei 9.279, de 14/05/96 (regula direitos e obrigações relativos à propriedade industrial), dentre outras ((BRASIL, 1996). Temos também a Resolução RE nº 1170, de 19 de abril de 2006, Guia para provas de Biodisponibilidade Relativa/Bioequivalência de Medicamentos. Todos eles são recursos que visam a proteção, a integridade e privacidade dos sujeitos da pesquisa, bem como a minimização de riscos e desconforto, a busca de benefícios, a não discriminação e a proteção de grupos de pessoas vulneráveis (BRASIL, 2006).

As duas principais estratégias que têm sido utilizadas no intuito de proteger os indivíduos estudados são: a utilização do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e a avaliação do protocolo de pesquisa por um Comitê de Ética em Pesquisa (CEP). Este comitê, devido a sua independência e representatividade acadêmica e social, deve garantir que as pesquisas tenham um aval institucional, além da responsabilidade já assegurada pelo pesquisador. O TCLE permite à pessoa, que está sendo convidada a participar de um projeto de pesquisa, compreender os procedimentos, riscos, desconforto, benefícios e direitos envolvidos, visando permitir uma decisão consciente e autônoma, e para tanto podem ser usados recursos didáticos, mas é fundamental assinatura do consentimento escrito. Este é o documento mais importante no processo de

salvaguarda do ser humano participante da pesquisa clínica (HYDE; WALI, 2006; BHAN; AJD; DEJUMO, 2006).

Na atualidade, a Farmacologia Clínica desenvolve principalmente duas atividades: Estudos farmacocinéticos e estudos de elaboração, execução e análise de ensaios clínicos para verificar a segurança, qualidade e eficácia dos medicamentos em seres humanos (MORAES; MORAES, 2000).

### **2.2.1 Classificação dos Ensaio s Clínicos**

Em todos os estágios do desenvolvimento clínico, os critérios para que se continue investigando o medicamento candidato incluem segurança, tolerabilidade, farmacocinética, duração de ação, eficácia, aceitabilidade pelo paciente e viabilidade comercial.

Existem várias formas de classificar os desenhos de estudo dependendo da característica em que esteja sendo avaliado. Podem ser classificados em quatro aspectos: quanto à investigação, metodologia, alocação de tratamento e finalidade.

#### *2.2.1.1 Quanto à Investigação*

Podem ser Unicêntricos quando desenvolvidos em um único local, ou Multicêntricos quando realizados por vários investigadores ou grupo de investigadores, em centros independentes, efetuando a investigação em conjunto e adotando um protocolo comum. Os ensaios multicêntricos são mais vantajosos do que os Unicêntricos porque o recrutamento de indivíduos é facilitado e as conclusões são mais representativas, e válidas (MORAES; MORAES, 2000; WORTHINGTON, 2004).

#### *2.2.1.2 Quanto à Metodologia*

Os Controlados são caracterizados por permitirem uma comparação estatisticamente aceitável entre resultados obtidos em um grupo tratado com a substância em experimentação e grupo controle com a substância de referência ou placebo. Os “Não Controlados” podem levar a conclusões errôneas sobre o

medicamento em estudo por falta do grupo controle (MORAES; MORAES, 2000; WORTHINGTON, 2004).

Existem quatro tipos principais de estudos controlados. São eles:

- Estudos Abertos - onde tanto o participante do estudo quanto o investigador conhecem o tipo de tratamento ou intervenção à qual foi selecionado.
- Estudos Simples Cegos - estudos nos quais o sujeito da pesquisa (voluntário) desconhece a alocação dos grupos. O objetivo é neutralizar o efeito placebo, pois o indivíduo não sabe se está tomando o medicamento novo, placebo ou medicamento de referência.
- Estudos Duplos Cegos - nesse caso, tanto o observador quanto o participante desconhecem o grupo de estudo em que se está trabalhando. São bem utilizados em estudos de eficácia (MORAES; MORAES, 2000).
- Estudos Triplos Cegos - são estudos sobre os quais o participante, o observador e o investigador não conhecem os tratamentos. Somente o setor de produção da indústria promotora da pesquisa conhece o conteúdo das formas farmacêuticas. Tem com finalidade neutralizar o efeito placebo, a subjetividade do observador e do investigador. Na análise dos resultados o investigador utilizará letras sem saber a que tratamento se refere (MORAES; MORAES, 2000).

### *2.2.1.3 Quanto à Alocação de Tratamento*

Os Ensaio Randomizados são estudos nos quais o paciente é alocado ao grupo controle ou experimental através de métodos estatísticos de randomização e nos Ensaio Não Randomizados a alocação do participante é realizada por método sistemático predeterminado, ou por decisão do investigador ou do próprio participante (MORAES; MORAES, 2000).

#### 2.2.1.4 Quanto à Finalidade

- **Ensaio Clínico de Fase I**

Primeiro teste, em humanos, de um novo princípio ativo, ou nova formulação. Usualmente realizado com 20 a 100 voluntários sadios ou em alguns estudos, por questões éticas ou por considerações científicas, são feitos em pacientes, como no caso de fármacos antineoplásicos. Nesta etapa são realizados fundamentalmente estudos de farmacocinética e farmacodinâmica do medicamento, avaliando a tolerância, evidência de ações farmacológicas e segurança dos esquemas posológicos. Estes estudos proporcionam informações preliminares sobre o efeito e a segurança do produto e orientam as etapas posteriores da pesquisa (GUIDANCE FOR INDUSTRY, 1997a).

Nesta fase da pesquisa são utilizadas e avaliadas diferentes vias de administração e diferentes doses.

Conforme Lloyd e Raven, o termo voluntário normal ou voluntário sadio deve ser interpretado como indivíduo adulto, sem anormalidades clínico-laboratoriais capazes de prejudicar a interpretação do experimento ou aumentar a sensibilidade do indivíduo ao potencial tóxico da droga em estudo (LLOYD, 1994).

- **Ensaio Clínico de Fase II**

Ensaio Clínico que têm por objetivo avaliar a eficácia terapêutica de um novo medicamento em indivíduos que têm a doença ou condição para a qual o procedimento está sendo estudado avaliando simultaneamente a sua segurança.

Os Estudos são realizados para promover a definição do regime de dosagem mais seguro e eficaz. São selecionados cerca de 200 pacientes portadores de uma determinada enfermidade ou condição patológica de interesse. Os resultados desta fase determinam o seguimento ou o abortamento da fase seguinte (GUIDANCE FOR INDUSTRY, 2003).

- **Ensaio Clínico de Fase III**

Estudos comparativos, geralmente multicêntricos, têm características em comum com o Estudo Fase II, porém, de maneira mais ampliada. A amostra de pacientes deve ser maior, representando a população geral que irá utilizar o medicamento quando estiver no mercado. Os dados são obtidos por ensaios de comparação do medicamento teste com um medicamento de referência ou com um placebo.

Por ser a última fase antes da comercialização do medicamento, procura-se explorar o tipo e o perfil de reações adversas que possa apresentar, como as mais frequentes, características próprias do fármaco como: interações clinicamente relevantes, grupos de pacientes com risco para desenvolver efeitos secundários e fatores que possam alterar o seu efeito farmacológico (GUIDANCE FOR INDUSTRY, 2003). Procura-se, ainda o estabelecimento do perfil terapêutico, demonstrar as vantagens terapêuticas, farmacoeconomia, qualidade de vida e estratégias de publicação e comunicação. Serão acompanhados de 800 até 3.000 indivíduos com a doença em questão, por um período maior de tempo, geralmente sendo comparados a outros tratamentos existentes para o mesmo problema.

- **Ensaio Clínico de Fase IV**

Estudos realizados após a obtenção da Autorização de Introdução no Mercado e relacionados com a indicação aprovada. Após a liberação para comercialização o medicamento deve ainda ser continuamente avaliado, para avaliação de interações medicamentosas adicionais, avaliação dose-resposta, detecção de reações adversas previamente desconhecidas ou inadequadamente quantificadas.

Essa fase também chamada de Farmacovigilância ou Pesquisa Pós-Comercialização é responsável por aprofundar conhecimentos a respeito da segurança e eficácia do produto em milhares de pessoas, e assim sendo, em um processo não seletivo, pouco homogêneo e que propicia a inclusão de doentes que raramente seriam recrutados durante as Fases I, II ou III.

No Brasil, depois que um medicamento já vem sendo comercializado, as pesquisas clínicas desenvolvidas para explorar novas indicações, novos métodos de

administração ou novas associações deste medicamento, são consideradas como pesquisas de um novo medicamento, sendo necessário realizar, novamente, as fases que sejam necessárias (MORAES; MORAES, 2000).

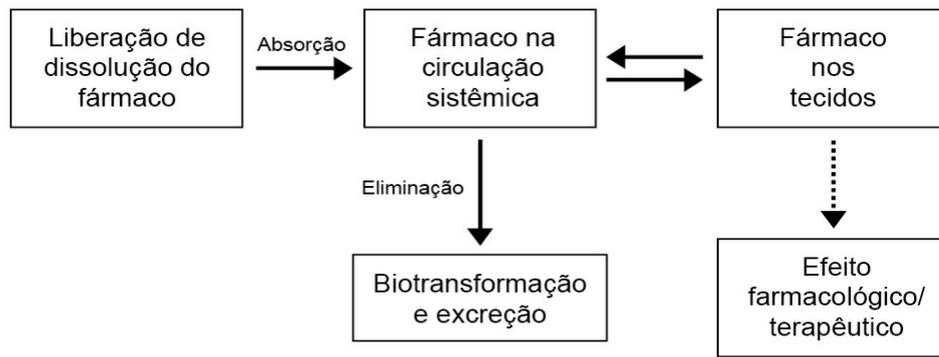
### **2.3 Estudos de farmacocinética**

O termo, CINÉTICA, refere-se a um objeto em movimentação. Farmacocinética é a disciplina que usa modelos matemáticos para descrever e prever a quantidade dos medicamentos e suas concentrações em vários fluidos do organismo e as mudanças nestas quantidades com o tempo. (BARCELLOS, 2012). Isto significa estudar as ações do organismo sobre a droga através da análise dos fenômenos envolvidos nos processos de absorção (A), distribuição (D), metabolismo (biotransformação) (M) e excreção (E) de um fármaco.

Cada um desses processos apresenta dois componentes: um cinético (refere-se à velocidade do movimento) e outro relacionado à extensão, ou quantidade do fármaco envolvido no processo ou, ainda, à fração da dose absorvida, distribuída, metabolizada ou excretada (SCHOENWALD, 2002).

Desse modo, a Farmacocinética pode ser entendida como o estudo e a caracterização, em função do tempo, dos processos ADME e sua relação com os efeitos terapêuticos e tóxicos do organismo (GIBALDI, 1991).

Posteriormente, este conceito foi ampliado, empregando-se a expressão sistema LADMER para descrever a sequência de eventos que podem ocorrer após a administração do medicamento ao organismo (Figura 2). Dependendo da forma farmacêutica empregada e da via de administração, a liberação do fármaco da forma farmacêutica pode ou não ocorrer. Quando um fármaco está presente em uma solução, já está dissolvido e em condições de ser absorvido, como nos casos das soluções administradas por via oral ou pelas vias intramuscular e subcutânea. No caso das soluções injetáveis, a dose do fármaco é introduzida diretamente na corrente sanguínea, não ocorre o processo de absorção e o fármaco já está disponível para a distribuição (RITSCHER, 1986).



**Figura 2: Representação esquemática entre o fármaco liberado a partir da forma farmacêutica, os processos farmacocinéticos e o efeito farmacológico (adaptado de SHARGEL; WU-PONG; YU, 2005).**

Cabe ressaltar que as formas farmacêuticas sólidas de uso oral e as suspensões requerem cuidados especiais em termos de desenvolvimento farmacotécnico, uma vez que há vários fatores que podem alterar a liberação e a dissolução do fármaco a partir da forma farmacêutica, campo de estudo da Biofarmácia ou Biofarmacotécnica, ciência que avalia a inter-relação entre as propriedades físico-químicas do fármaco, a forma farmacêutica e a via de administração e sua influência sobre a velocidade e extensão de absorção do fármaco (SHARGEL; WU-PONG; YU, 2005; STORPIRTIS *et al.*, 2011).

De um modo geral, os principais objetivos da Farmacocinética podem ser: desenvolver modelos e expressões matemáticas que descrevam o destino dos fármacos no organismo; determinar constantes de velocidade envolvidas nos processos cinéticos de transferência dos fármacos no organismo; quantificar parâmetros relacionados à quantidade de fármaco no organismo e aos espaços líquidos nos quais ele se distribui e efetuar previsões e extrapolações com base nos modelos farmacocinéticos.

### **2.3.1 Processos Farmacocinéticos**

Até mesmo a mais promissora das terapias farmacológicas irá fracassar se o fármaco for incapaz de alcançar o seu órgão-alvo numa concentração suficiente para exercer um efeito terapêutico. Muitas das características que tornam o corpo humano resistente a danos causados por invasores estranhos e substâncias tóxicas também limitam a capacidade dos fármacos de combater os processos patológicos

no paciente. O reconhecimento dos numerosos fatores que afetam a capacidade de um fármaco de atuar em determinado paciente, bem como da natureza dinâmica desses fatores com o transcorrer do tempo, é de suma importância para a prática clínica da medicina.

Todos os fármacos devem satisfazer certas exigências mínimas para ter efetividade clínica. Um fármaco, para ser bem sucedido, deve ser capaz de atravessar as barreiras fisiológicas que existem no corpo para limitar o acesso das substâncias estranhas. A absorção dos fármacos pode ocorrer através de vários mecanismos desenvolvidos para explorar ou romper essas barreiras. Uma vez absorvido, o fármaco utiliza sistemas de distribuição dentro do organismo, como os vasos sanguíneos e os vasos linfáticos, para alcançar o seu órgão-alvo numa concentração apropriada. A capacidade do fármaco de ter acesso a seu alvo também é limitada por diversos processos:

#### *2.3.1.1 Absorção*

Absorção é o processo pelo qual os fármacos atravessam as membranas biológicas do local de administração até a corrente sanguínea (BALTHASAR, 1999).

A velocidade e a eficiência da absorção dependem da via de administração. Com exceção da via intravenosa, na qual o fármaco é introduzido diretamente na corrente sanguínea, todas as demais vias de administração, para as quais seja requerida uma ação sistêmica, implicam em absorção do fármaco. A liberação do fármaco por estas outras vias pode resultar em absorção parcial e, conseqüentemente, em menor biodisponibilidade. Por exemplo, a via oral exige que o fármaco se dissolva nos líquidos GI e, então, penetre as células epiteliais da mucosa intestinal; doenças ou a presença de alimentos podem afetar esse processo.

A importância do processo de absorção reside essencialmente, na determinação do período entre a administração do fármaco e o aparecimento do efeito farmacológico, bem como na determinação das doses e escolha da via de administração do medicamento.

As substâncias administradas em solução aquosa são absorvidas mais rapidamente que aquelas administradas em soluções oleosas, suspensões ou forma sólida; porque se misturam mais facilmente com a fase aquosa no local de absorção.

No caso de substâncias administradas na forma sólida, a velocidade de dissolução será o fator limitante da sua absorção (PRESCOTT; NIMMO, 1981).

A concentração de um fármaco influencia a velocidade de sua absorção. Os agentes ingeridos ou injetados em soluções de concentração elevada são absorvidos mais rapidamente do que aqueles em solução de baixa concentração. A circulação para o local da absorção também afeta a absorção do fármaco. O maior fluxo sanguíneo aumenta a velocidade de absorção do fármaco, enquanto a redução do fluxo sanguíneo diminui a absorção (PRESCOTT; NIMMO, 1981).

A área de superfície absorvente à qual um fármaco é exposto é um dos determinantes mais importantes da velocidade de absorção. As substâncias são absorvidas muito rapidamente a partir de grandes superfícies, como a mucosa intestinal. Como a maior parte da absorção do trato gastrointestinal ocorre através de processos passivos, a absorção é favorecida quando o fármaco se encontra na forma não ionizada, que é mais lipofílica (BRODIE, 1964).

Ainda podemos citar o pH no local de absorção, interação de fármaco com alimentos e forma farmacêutica como fatores de importância no processo de absorção de fármacos.

#### *2.3.1.2 Distribuição*

O termo distribuição se refere à transferência reversível do fármaco de um local a outro dentro do organismo. Este processo permite que o fármaco abandone o leito vascular e atinja o tecido alvo de sua ação terapêutica

O coração, o fígado, os rins, o cérebro e outros órgãos bem perfundidos recebem maior parte dos fármacos durante os primeiros minutos após sua absorção. O aporte do fármaco à musculatura, à maioria das vísceras, à pele e ao tecido adiposo é mais lento, e estes tecidos exigem de minutos a algumas horas para atingir o estado de equilíbrio (BENET, 1978).

Uma segunda fase de distribuição do fármaco pode então ser percebida e está também limitada pelo fluxo sanguíneo; envolvendo uma fração muito maior da massa corporal do que a primeira. Os fármacos, que não são lipossolúveis e penetram mal nas membranas têm sua distribuição limitada e, portanto, seus locais de ação potenciais também limitados. Além disso, a distribuição pode ser limitada por uma ligação dos fármacos às proteínas plasmáticas, sobretudo à albumina (no

caso dos fármacos ácidos) e à glicoproteína ácida (no caso de substâncias básicas). Um agente que apresenta ligação extensa e forte com as proteínas plasmáticas tem acesso limitado aos locais de ação celulares e é metabolizado e eliminado lentamente. Os fármacos podem acumular-se nos tecidos em concentrações maiores do que o esperado nos equilíbrios de difusão, como resultado do gradiente de pH, ligação com componentes intracelulares ou distribuição em lipídios (ROBERTS; DONALDSON; ROWLAND, 1988). Os fármacos que se acumulam em determinado tecido podem servir como reservatório que prolonga suas ações no mesmo tecido ou num local distante atingido através da circulação (NEBERT; GOZALEZ, 1987).

Uma terceira fase de distribuição destes fármacos origina-se da lenta captação do fármaco pelo tecido adiposo (limitada pelo fluxo sanguíneo). Esses pontos podem tornar-se reservatórios para a manutenção da concentração plasmática (BENET, 1978).

### *2.3.1.3 Metabolismo ou Biotransformação*

A biotransformação é o processo que submete o fármaco a reações químicas, geralmente mediadas por enzimas, que o converte em um composto diferente do originalmente administrado (metabólito). A biotransformação enzimática de fármacos em metabólitos mais polares e menos lipossolúveis aumenta sua excreção e reduz seu volume de distribuição. Tal biotransformação alivia a carga de substâncias químicas estranhas e é essencial à sobrevivência do organismo (GOLDSTEIN; ARONOW; KALMAN, 1974).

A biotransformação de alguns fármacos pode ser influenciada pela via de administração. Os fármacos administrados por via oral ganham acesso à circulação sistêmica, quase sempre, pelo sistema porta-hepático (primeiro apresentador do fármaco ao fígado). Os sistemas enzimáticos responsáveis pela biotransformação de muitos fármacos estão localizados no retículo endoplasmático liso dos hepatócitos no fígado (fração microssômica), mas essas enzimas também são encontradas em outros órgãos como rins, pulmões e epitélio gastrointestinal. Os fármacos absorvidos pelo intestino estão, portanto, sujeitos ao efeito de primeira passagem. Isto representa a ação combinada de enzimas epiteliais gastrointestinais e hepáticas, que algumas vezes impedem que concentrações efetivas do fármaco ativo atinjam a

circulação sistêmica, após a administração oral (NEBERT; GOZALEZ, 1987; RANG; DALE, 2007).

As reações químicas da biotransformação enzimática são classificadas como reações em fase I ou II. As reações de fase I convertem o fármaco original em um metabólito mais polar através de oxidação, redução ou hidrólise. O metabólito resultante pode ser farmacologicamente inativo, menos ativo ou mais ativo que a molécula original. Quando o próprio metabólito é a forma ativa, o composto original é denominado de pró-fármaco. As reações de fase II, que também são denominadas reações de conjugação ou de síntese, envolvem a ligação do fármaco ou de seu metabólito polar a um substrato endógeno como glicuronato, sulfato, acetato ou um aminoácido (PAGE *et al.*, 2002).

#### 2.3.1.4 Excreção

A excreção é caracterizada como a remoção irreversível do fármaco do organismo e ocorre principalmente pela via urinária. Outros órgãos de excreção de fármacos incluem os pulmões, suor, glândulas lacrimais e salivares, mama (leite materno) e tubo digestivo (fezes e secreção biliar). Meios não naturais de excreção de fármacos incluem a hemodiálise e diálise peritoneal (DORCE, 2004). Os mecanismos que asseguram a excreção renal de fármacos são os mesmos envolvidos na formação da urina, na qual são excretadas substâncias polares e hidrossolúveis, e compreendem a filtração glomerular, a secreção tubular e a reabsorção tubular.

Os fármacos são eliminados do organismo tanto na forma inalterada como na forma de metabólitos. Os órgãos excretores, com a exclusão dos pulmões, eliminam os compostos polares de forma mais eficientes do que as substâncias com lipossolubilidade elevada. Os fármacos lipossolúveis, portanto, não são eliminados até serem metabolizados em compostos mais polares. O rim é o órgão mais importante de eliminação de fármacos e metabólitos (GUYTON; HALL, 2011).

## 2.4 Modelos farmacocinéticos

Em Farmacocinética são propostos modelos matemáticos para interpretar os dados obtidos após a administração de um medicamento ao organismo. Vários modelos matemáticos podem ser usados para simular a velocidade ou taxa dos processos de absorção, distribuição e eliminação, sendo denominados, modelos farmacocinéticos. Estes modelos possibilitam o desenvolvimento de equações para descrever concentrações do fármaco no organismo em função do tempo, as quais permitem caracterizar com reprodutibilidade o ambiente e o destino de um fármaco no sistema biológico, após sua administração por uma determinada via de administração e forma farmacêutica (ROWLAND; TOZER 1995).

O modelo corresponde a uma hipótese de trabalho e não se constitui como um espaço definido no organismo. É uma representação arbitrária, que auxilia na interpretação do destino do fármaco no organismo, permitindo o cálculo dos parâmetros farmacocinéticos de interesse (STORPIRTS *et al.*, 2011). Devemos sempre lembrar que os parâmetros farmacocinéticos são adaptados de modelos e, por isto, são sujeitos a erros de estimativa que podem variar com as concentrações obtidas, técnicas analíticas de dosagens e metodologias utilizadas na interpretação dos dados (ROWLAND; TOZER, 1995).

Encontram-se descritos, na literatura, modelos compartimentais (abordagem clássica) e não compartimentais. Neste momento é importante saber que o conceito de compartimento em farmacocinética é essencial e foi desenvolvido para fornecer as bases para quantificação dos processos farmacocinéticos; ele representa um espaço imaginário matemático, usualmente representado na literatura farmacológica como uma "caixa" reservatório, onde o medicamento quando introduzido é rápida e homogeneamente distribuído em todo o espaço. Os compartimentos são frequentemente designados como compartimento "vascular" ou compartimento "tecidual", mas estas correlações são frágeis e, portanto, a interpretação dos modelos farmacocinéticos deve ser feita com cautela por serem derivados de modelos matemáticos e não da anatomia e fisiologia (BARCELLOS, 2012).

### 2.4.1 Modelos Compartimentais

O corpo pode ser representado como uma série ou sistemas de compartimentos que se comunicam reversivelmente entre si. Um compartimento não é uma região anatômica ou fisiológica real, mas é considerada como um tecido ou grupo de tecidos que devem possuir fluxo sanguíneo e afinidade pelo fármaco similar. Dentro de cada compartimento considera-se que o fármaco distribua-se uniformemente; a mistura do fármaco dentro do compartimento é rápida e homogênea, tanto que sua concentração é representada como uma concentração média e cada molécula do fármaco possui igual probabilidade de sair do compartimento. Modelos compartimentais são baseados em hipóteses lineares, usando equações diferenciais e, embora os compartimentos farmacocinéticos não corresponda a nenhuma das entidades anatômicas atuais, o compartimento, todavia, apresenta dimensões numéricas de volume (mililitro, litro) como se fossem um volume real (ROWLAND; TOZER, 1995).

A cinética de primeira ordem implica que a velocidade na qual se produz um processo é proporcional à quantidade ou concentração do fármaco existente no compartimento no qual se desenvolve. Assim, se é grande a quantidade de medicamento no organismo também é, ou será, alta a velocidade de eliminação. Por outro lado a eliminação diminuirá proporcionalmente com a redução da quantidade ou concentração (ROWLAND; TOZER, 1995).

Assim, podemos dizer que os processos farmacocinéticos correspondem a uma cinética linear. Uma consequência desta linearidade é o fato de que a área sob a curva (ASC) de concentração plasmática *versus* tempo, após injeção por via intravenosa, é uma função linear da dose administrada (ROWLAND; TOZER, 1995).

#### 2.4.1.1 Modelo Aberto de Um Compartimento

É o modelo compartimental mais simples e pode representar fármacos que, após administração, se distribuem através da via circulatória para todos os tecidos e se equilibra rapidamente em todo o organismo. Esta administração pode ser na forma de injeção intravenosa rápida (IV *bolus*), através da qual toda a dose do fármaco entra imediatamente no organismo e, portanto, a velocidade de absorção

é negligenciada nos cálculos; ou ainda por via extra venosa (VEV), onde a etapa de absorção deve ser considerada (ROWLAND; TOZER, 1995).

O modelo monocompartimental descreve, muitas vezes adequadamente, as alterações sofridas ao longo do tempo, na concentração plasmática ou na excreção urinária de fármacos que após a administração, se distribuem rapidamente entre o plasma e os tecidos. Admitir a existência de tal modelo não implica necessariamente presumir que as concentrações plasmática e tissular do fármaco sejam as mesmas, porém é essencial que as alterações que ocorrem no plasma reflitam aquelas nos níveis tissulares do fármaco, ou seja, que exista uma relação constante entre estas duas variáveis (ROWLAND; TOZER, 1995).

#### 2.4.1.2 Modelos Multicompartimentais

Estes modelos são necessários para explicar a observação de que após uma rápida administração IV a curva de nível plasmático *versus* tempo não declina linearmente como uma única velocidade de primeira ordem. Em um modelo multicompartimental o fármaco se distribui a várias velocidades dentro de diferentes grupos de tecidos. Aqueles que apresentam elevado fluxo sanguíneo podem equilibrar-se com o compartimento plasmático, assim somado ao sangue compõem o compartimento central. Enquanto esta distribuição inicial do fármaco é efetuada, o fármaco é liberado para um ou mais compartimentos periféricos compostos de grupos de tecidos com menor fluxo sanguíneo e afinidade pelo fármaco. Esta diferença é que leva à aparência não linear da curva de concentração sanguínea do fármaco em escala logarítmica *versus* tempo. Após equilíbrio do fármaco nestes tecidos periféricos a curva reflete, então, eliminação de primeira ordem do fármaco para fora do organismo (ROWLAND; TOZER, 1995).

Com o objetivo de aplicar análise cinética em modelos multicompartimentais, devemos assumir que a velocidade geral do processo de passagem do fármaco entre os compartimentos é de primeira ordem. Com base nesta suposição a curva de nível plasmático por tempo para um fármaco que segue um modelo multicompartimental é, melhor, descrito pelo somatório de vários processos com velocidade de primeira ordem (ROWLAND; TOZER, 1995).

#### 2.4.1.3 *Modelo de Dois Compartimentos*

Apesar extremamente útil para muitos objetivos, o modelo de um compartimento muitas vezes não se aplica ao perfil do movimento de fármacos pelo organismo. A maioria destes casos pode ser resolvida aplicando-se um modelo um pouco mais complexo, porém mais realístico, o modelo de dois compartimentos (ROWLAND; TOZER, 1995).

Neste quando o fármaco é introduzido diretamente no compartimento central (VIV) o nível sanguíneo cai de maneira bifásica. A rápida queda inicial representa a distribuição do fármaco do compartimento central para o periférico, embora sua eliminação comece a ocorrer desde que é introduzido no organismo. Em certo momento, é atingido um "pseudoequilíbrio" de distribuição entre o compartimento central e o periférico; isto ocorre quando a razão do fármaco entre os compartimentos se aproxima de um valor constante, mantido durante a segunda fase, mais lenta do declínio da concentração sanguínea do fármaco, a qual reflete principalmente sua eliminação. Durante essa segunda fase, a perda do fármaco pelo organismo é descrita por um processo monoexponencial indicativo da homogeneidade cinética entre os níveis do fármaco em todos os líquidos e tecidos do organismo (ROWLAND; TOZER, 1995).

#### 2.4.1.4 *Modelos Não Compartimentais*

Como sabemos os modelos compartimentais são uma simplificação do organismo e por isto deve ser aplicado com cautela. Além disso, esses modelos são altamente dependentes da espécie e, embora tenham muitos usos clínicos, a quantidade de informações básicas fornecidas, é limitada, isto é especialmente verdadeiro para a previsão de níveis tissulares. Os modelos compartimentais não consideram a ligação fármaco-proteína, embora possa ser afetado por ela (ROWLAND; TOZER, 1995).

Devido a todas as limitações referidas dos modelos compartimentais e visando a obtenção de dados, cada vez mais fidedignos, modelos não compartimentais tem sido desenvolvidos e avaliados.

Estes modelos são anatômica e fisiologicamente realistas, e desenvolvidos com base nos fluxos sanguíneos e volumes reais dos órgãos,

considerando-se tanto o fármaco ligado, quanto o livre no sangue, ou tecidos. Assim, descrevem mais realisticamente a disposição do fármaco em cada tecido ou órgão, no entanto, estes modelos são demasiadamente complexos a nível matemático, perdendo universalidade (ROWLAND; TOZER, 1995).

A principal vantagem destes modelos é a possibilidade de prever o comportamento farmacocinético de um determinado fármaco no homem, a partir de dados obtidos em animais e adaptados matematicamente para tal aplicação.

## 2.5 Parâmetros farmacocinéticos

Uma hipótese fundamental da farmacocinética clínica é que existe uma correlação entre a resposta farmacológica ou tóxica a um fármaco e a sua concentração na circulação sistêmica e que está relacionada à sua concentração nos seus locais de ação (ROWLAND; TOZER, 1995; PAGE *et al.*, 2002).

As inúmeras variáveis fisiológicas e fisiopatológicas que ditam os ajustes posológicos em pacientes, frequentemente o fazem como resultado de uma modificação dos parâmetros farmacocinéticos. Assim os conhecimentos farmacocinéticos permitem que sejam evitadas administrações de concentrações subterapêuticas ou potencialmente tóxicas. Além disso, permitem o ajuste de esquemas de administração na presença de situações fisiológicas, hábitos do paciente e em casos de anormalidades nos processos de absorção, distribuição e eliminação. (FUCHS; WANNMACHER, 1998).

Os principais parâmetros para que se estabeleça o perfil farmacocinético de um fármaco são: meia-vida de eliminação ( $t_{1/2}$ ), volume aparente de distribuição ( $V_{da}$ ), *clearance* ou depuração (Cl), área sob a curva de concentração plasmática *versus* tempo (ASC) (STORPIRTS *et al.*, 2011), e ainda concentração máxima ( $C_{máx}$ ), e constante de eliminação ( $K_e$ ) (GIBALDI; LEVY, 1976).

### 2.5.1 Meia-vida de Eliminação ( $t_{1/2}$ )

A meia vida de eliminação é muitas vezes referida como meia-vida biológica e representa o tempo requerido para que a metade do fármaco seja eliminada do organismo. A  $t_{1/2}$  é um parâmetro dependente da depuração e do volume aparente de distribuição (SCHOENWALD, 2002).

Sabendo-se que, por definição, a  $t_{1/2}$  corresponde ao tempo necessário para que 50% da dose administrada sejam eliminados do organismo, estudos observaram que após ter decorrido um tempo equivalente a 10 vezes a meia vida de eliminação, a quantidade de fármaco restante no organismo corresponde aproximadamente a 0,1% da dose administrada, o que não tem qualquer importância em termos do efeito farmacológico, considerando-se, assim, que toda a dose foi eliminada. Com essa constatação convencionou-se que, em Farmacocinética, um tempo igual a  $10 t_{1/2}$  pode ser considerado como tempo infinito ( $t_{\infty}$ ). Na prática clínica é comum considerar que após 5 a 7 meias-vidas praticamente todo fármaco foi eliminado do organismo, considerando-se que é altamente improvável que a permanência de cerca de 3% a 8% da dose administrada, respectivamente, possam exercer qualquer efeito clinicamente relevante (STORPIRTS *et al.*, 2011).

### **2.5.2 Volume Aparente de Distribuição (Vda)**

O volume aparente de distribuição (Vda) é um volume hipotético e relaciona a concentração de fármaco no organismo com a concentração de fármaco no sangue e no plasma, dependendo do líquido medido. Este volume não se refere necessariamente a um volume fisiológico identificável, mas apenas ao volume de líquido que seria necessário para conter todo o fármaco no organismo, na mesma concentração em que se encontra no sangue ou no plasma (BENET; GALEAZZI, 1979; ROWLAND; TOZER, 1995).

$$C = D/Vda$$

onde: C = concentração plasmática do fármaco; D = dose administrada e Vda = volume aparente de distribuição.

O fator mais importante que determina a magnitude do Vda é a relação entre a ligação do fármaco às proteínas plasmáticas e a ligação do fármaco às proteínas dos tecidos. A maior, ou menor afinidade do fármaco por uma destas estruturas determina o volume necessário para a dissolução total da dose o que

resulta num maior ou menor valor numérico para o Vda. Entretanto, não é possível afirmar que um fármaco que se liga muito às proteínas plasmáticas não se liga, também, às estruturas teciduais. Deve-se lembrar de que esta ligação é reversível, e está em equilíbrio dinâmico (STORPIRTS *et al.*, 2011).

Uma das principais aplicações do volume aparente de distribuição é o cálculo da dose de ataque (do inglês *loading dose*) a ser administrada no início do tratamento com um determinado fármaco, com o objetivo de alcançar o estado de equilíbrio mais rapidamente. Para isso, utiliza-se a expressão:

$$DA = Vda \times Cp$$

onde: DA = dose de ataque; Vda = volume aparente de distribuição e Cp = concentração plasmática de fármaco desejada (concentração terapêutica).

A dose de ataque é calculada para “preencher” o volume de distribuição, de modo a alcançar, rapidamente, a concentração terapêutica que será mantida, posteriormente, pela dose de manutenção (BIRKETT, 2002).

### **2.5.3 Clearance ou Depuração (Cl)**

O conceito de *clearance* é extremamente valioso na farmacocinética clínica, porque a eliminação de determinado fármaco costuma ser constante na amplitude de concentrações encontradas clinicamente. Em níveis simples, a depuração de um fármaco é a taxa de eliminação por todas as vias normalizadas de acordo com a concentração do fármaco (C) em algum líquido biológico (ROWLAND; TOZER, 1995).

$$CL = \text{Taxa de eliminação} / C$$

onde: CL = *clearance*; C = concentração do fármaco

É importante observar que a depuração não indica quanto do fármaco está sendo eliminado, mas sim, o volume de líquido biológico, como o sangue e o

plasma, que precisa estar completamente livre do agente para contribuir para sua eliminação. A depuração é expressa como volume por unidade de tempo. Em geral, a depuração costuma ser definida como depuração sanguínea (CLb), depuração plasmática (CLp) ou depuração baseada na concentração de fármaco livre (CLu), dependendo da concentração medida ( $C_b$ ,  $C_p$  ou  $C_u$ ) (BENET, 1984; ATKINSON *et al.*, 2001).

A depuração através de vários órgãos de eliminação é aditiva. A eliminação do fármaco pode ser decorrente dos processos que ocorrem nos rins, no fígado e em outros órgãos. A depuração renal é um fenômeno em que a fração filtrada do plasma é transformada em filtrado glomerular e depois em urina. Sendo assim, em relação à concentração plasmática, substâncias eliminadas pelo rim apresentam um *clearance* maior do que as não eliminadas, por outro lado, substâncias pouco ou não eliminadas na urina, como os metabólitos em geral, possuem baixo *clearance*, uma vez que sua concentração plasmática é superior à concentração de substâncias presentes na urina.

#### **2.5.4 Área sob a Curva de Concentração Plasmática versus Tempo (ASC)**

A ASC de um gráfico de concentração *versus* tempo representa a quantidade total de fármaco absorvida depois da administração de uma dose, ou seja, é a fração da dose que se encontra no compartimento circulatório após administração da medicação.

Sua aplicação abrange a avaliação da biodisponibilidade absoluta de caso de medicamentos inovadores ou da biodisponibilidade relativa (bioequivalência) para medicamentos genéricos e similares (STORPIRTIS *et al.*, 2011).

O modo mais comumente empregado para estimar a ASC utiliza os valores de concentrações plasmáticas do fármaco ( $C_{pl}$ ) determinadas experimentalmente e seus respectivos tempos de coleta, aplicando-se o chamado método dos trapézios. O procedimento consiste em plotar os valores de  $C_{pl}$  *versus* os valores de tempo, construindo-se a curva por meio da simples união dos pontos resultantes, em seguida divide-se a curva em trapézios, calcula-se a áreas de cada trapézio e faz-se a somatória (GIBALDI, 1991).

Esse método corresponde a uma boa estimativa da ASC, uma vez que as áreas dos trapézios somadas se aproximam muito da área real. Entretanto, quanto

maior o número de pontos disponíveis para o cálculo, maior será a aproximação e, portanto, menor o erro (STORPIRTS *et al.*, 2011). A área de cada trapézio é calculada pela expressão:

$$(B + b) / 2 \cdot h$$

onde: B = base maior; b = base menor e h = altura

### **2.5.5 Concentração Máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ )**

É a concentração mais elevada do fármaco observada na matriz biológica depois da administração de uma dose do medicamento, e é diretamente proporcional ao montante total de droga absorvida pelo organismo. O  $C_{m\acute{a}x}$  ideal deve estar dentro da janela terapêutica.

### **2.5.6 Tempo da Concentração Máxima ( $T_{m\acute{a}x}$ )**

Reflete a velocidade de absorção do fármaco em uma determinada forma farmacêutica. É a sua velocidade de absorção que determina o tempo necessário para que a concentração máxima efetiva seja atingida e, assim, tenha início o efeito farmacológico desejado. A velocidade de absorção também influencia o tempo em que o fármaco entra na corrente sanguínea. Este parâmetro é um importante dado para se avaliar possíveis riscos de reações tóxicas.

### **2.5.7 Constante de Eliminação ( $K_e$ )**

Conceitualmente, os fármacos movem-se para dentro e para fora dos compartimentos. Velocidades constantes são usadas para representar a velocidade total do processo de entrada e saída do fármaco do compartimento. Esta constante serve para determinar a concentração da droga em um tempo t. É inversamente relacionada à meia vida do fármaco:  $K = 0,693/t_{1/2}$ .

### 2.5.8 $ASC_{inf}$

Área sob a curva de concentração da droga *versus* tempo do tempo 0 (zero) extrapolada ao infinito, calculada pelo método linear trapezoidal.  $ASC_{[0-\infty]} = ASC_{[0-\text{último}]} + C_t/K_e$ , onde  $C_t$  é a última concentração quantificável.

### 2.5.9 $ASC_{último}$

Área sob a curva de concentração da droga *versus* tempo, do tempo 0 (zero) ao tempo da última concentração acima do Limite de Quantificação (LOQ) comum a todos os períodos, calculada pelo método linear trapezoidal;

### 2.5.10 $ASC_{tudo}$

Área sob a curva de concentração da droga *versus* tempo do tempo 0 (zero) até o tempo da última observação.

### 2.5.11 $C_{último}$

Concentração correspondente ao  $T_{último}$ .

### 2.5.12 $T_{último}$

Tempo da última concentração

## 2.6 Talidomida

### 2.6.1 A Tragédia

A talidomida foi descoberta por uma série de fatores fortuitos e primeiramente relatada por Wilhelm Kunz, em 1953. Sua síntese foi realizada na indústria farmacêutica alemã “Chemie Grünenthal”, objetivando a preparação de pequenos peptídeos úteis na produção de novos antibióticos. Entretanto, durante a

rota sintética proposta inicialmente, Wilhelm Kunz isolou um produto secundário, racêmico, não peptídico (SNEADER, 1985) e que foi reconhecido pelo farmacologista da “Chemie Grünenthal”, Herbert Keller, como um análogo estrutural da glutetimida (RANDALL, 1990).

A talidomida não possuía as características antibacterianas desejadas. Nos testes realizados em animais não demonstrou possuir nenhum efeito antitumoral ou sedativo; mostrava-se também atóxica, mesmo em doses muito elevadas. Herbert Keller, farmacologista da Grünenthal, levantou a hipótese de que mesmo não exibindo efeitos sedativos nos animais, a talidomida poderia funcionar no Homem, e ainda que também neste não funcionasse como não revelou toxicidade, não poderia trazer prejuízos. Em ensaios clínicos, os investigadores da Grünenthal verificaram que a talidomida apresentava a capacidade de induzir um sono profundo nos indivíduos testados. Estes resultados foram estrondosos porque os fármacos sedativos eram um grande negócio na Europa no pós-guerra, mas tinham o inconveniente de serem tóxicos. Em pouco tempo a talidomida já estava sendo comercializada em 46 países também para o tratamento de enjoo matinal em gestantes (MATTHEWS; McCOY, 2003; OLIVEIRA; BERMUDEZ; SOUZA, 1999).

A talidomida foi introduzida no mercado no ano de 1956 com o nome comercial de Contergan®. Para além de um potente efeito sedativo e hipnótico, apresentava também características antieméticas, revelando através de experiências com animais uma toxicidade aguda muito baixa. Dadas as suas características farmacológicas, no início da década de 60, a talidomida foi prescrita mundialmente como sedativo e agente antináuseas, e como tal indicada no combate às insônias, ansiedade e no alívio dos enjoos matinais comuns em gestantes (CERNY, *et al.*, 2003; PERRI; HSU, 2003). A sua ação terapêutica permitiu que rapidamente fosse um êxito no mercado farmacêutico, atingindo grande popularidade particularmente na Europa e no Canadá, mas também na Ásia, Austrália, América e África, podendo ser encontrada com pelo menos 40 designações comerciais como: Contergan®; Distaval®; Talimol®; Kevadon®; Nibrol®; Sedimide®; Quietoplex® e Neurosedyn® entre outras (MATTHEWS; McCOY, 2003; OLIVEIRA; BERMUDEZ; SOUZA, 1999).

Embora com ampla comercialização no continente Europeu e Asiático, a talidomida não obteve licença do *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos da América devido ao limitado conhecimento sobre o seu metabolismo e pelo

risco de neuropatia periférica relatos em pacientes tratados por períodos mais longos (MELLIN; KATZENSTEIN, 1963; STIRLING, 1995; McBRIDE, 1961). Por esse motivo, a agência saiu fortalecida desse episódio passando, a partir de então, a coordenar todas as atividades relativas à política regulatória de medicamentos daquele país (OLIVEIRA; BERMUDEZ; SOUZA 1999).

A partir de 1959, inicialmente na Alemanha, começaram os relatos sobre o nascimento de crianças com malformação congênita, cujas mães tinham utilizado a durante a gestação. Essa malformação apresentava-se sob a forma de comprometimento do desenvolvimento dos ossos longos dos membros inferiores e superiores, sendo chamada de focomelia pela semelhança com as focas. Algumas crianças apareceram com deformidades ainda mais severas, pela ausência total dos membros, denominada amelia. Foram relatadas deformidades também no coração, rins e olhos, ausência ou desenvolvimento anormal da porção externa do ouvido, fissura palatina ou labial, defeitos do cordão espinhal e defeito no desenvolvimento do trato gastrintestinal. Um total de 8.000 a 12.000 crianças foram afetadas pelos efeitos teratogênicos da talidomida na década de 60 (MATTHEWS; McCOY, 2003; OLIVEIRA; BERMUDEZ; SOUZA, 1999). Segundo Oliveira *et al.*, 1999, esse número foi de 10.000 a 15.000 crianças em todo o mundo. O número de abortos espontâneos em consequência do uso da droga não é conhecido, mas estima-se que 40% das vítimas da talidomida morreram no primeiro ano de vida (PANNIKAR, 2003).

Como consequência do que foi exposto até aqui, a talidomida foi retirada do mercado em novembro de 1961 pela Chemie Grunental, pela Distillers Biochemicals Ltda. em dezembro de 1961 e pela William S. Merrel Company em março de 1962 (OLIVEIRA; BERMUDEZ; SOUZA, 1999). Em função do efeito teratogênico em milhares de crianças, a talidomida começou a despertar nos órgãos de regulamentação a necessidade de aumentar as exigências no que tange à comprovação da segurança para comercialização de um fármaco. (MATTHEWS; McCOY, 2003).

Ainda em 1965 o dermatologista israelense Jacob Sheskin relatou a administração da talidomida em um paciente com Eritema Nodoso Hansênico (ENL), a princípio com o intuito de tratar a insônia e acabou obtendo como resposta a melhora do quadro inflamatório com cicatrização total das feridas em três dias de terapia. Estudos realizados posteriormente comprovaram a ação anti-inflamatória da

droga. No Brasil e no México a talidomida voltou a ser comercializada com indicação no tratamento do ENL (MATTHEWS; McCOY, 2003).

Após a descoberta de sua aplicação terapêutica no tratamento da reação hansênica do tipo II (ENL), a talidomida voltou a ser comercializada em alguns países incluindo o Brasil, que reiniciou sua produção em um dos laboratórios da rede oficial (MATTHEWS; McCOY, 2003; OLIVEIRA; BERMUDEZ; SOUZA, 1999).

Em julho de 1998, o *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou a liberação da droga no tratamento do ENL de moderado a grave e na terapia de manutenção para supressão de manifestações recorrentes do ENL. Ainda neste ano foi implementado um programa para evitar o risco de exposição embrionária, o *System for Thalidomide Education and Prescribing Safety* (S.T.E.P. S), e programas similares foram implementados internacionalmente pela Pharmion®, que comercializa a talidomida nos EUA, e através de uma licença internacional com a Celgene® na Austrália, Nova Zelândia e Turquia.

O STEPS é um programa intensivo que restringe o uso da talidomida somente para médicos, farmacêuticos e pacientes registrados nesse programa. Os pacientes devem preencher questionários e formulários que garantam o completo entendimento dos riscos eminentes do uso da talidomida. Além disso, qualquer mulher em idade fértil que necessite de tratamento com o fármaco, deve utilizar dois métodos contraceptivos simultaneamente (por quatro semanas antes e durante o tratamento e por quatro semanas após o tratamento, enquanto homens casados com mulheres em idade fértil devem usar preservativo masculino como método de contraceptivo). De qualquer forma, essas mulheres também devem apresentar exames periódicos de gravidez, antes e durante o tratamento, e se algum destes testes for positivo, a paciente é retirada imediatamente do programa e encaminhada a um serviço especializado do STEPS (UHL *et al.*, 2006).

### **2.6.2 Aspectos da Legislação Brasileira**

No Brasil, esse fármaco começou a ser comercializado em 1958. Os primeiros casos de malformação foram relatados em 1960. Apesar de ser banida dos mercados alemão e inglês em 1961, a talidomida continuou sendo comercializado no Brasil até 1965 (OLIVEIRA; BERMUDEZ; SOUZA, 1999).

A Portaria nº 354/97 regulamenta o registro, a produção, a fabricação, a comercialização, a exposição à venda, a prescrição e a dispensação dos produtos à base de talidomida. Esta portaria determina, no seu artigo 5º, que a talidomida só pode ser indicada e utilizada no âmbito de programas governamentais de prevenção e controle da:

- Hanseníase (reação hansênica, tipo eritema nodoso ou tipo II);
- DST/AIDS (úlceras aftoide idiopática em pacientes portadores de HIV/AIDS);
- Doenças crônico-degenerativas (lúpus eritematoso, doença enxerto contra hospedeiro).

Quaisquer outras indicações somente serão autorizadas pela Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (BRASIL, 1997).

No artigo 6º, desta portaria, fica proibido o uso da talidomida por mulheres em idade fértil, compreendida da menarca à menopausa. Nos casos excepcionais de indicação da talidomida para mulheres, em idade fértil, e quando esgotado todos os outros recursos terapêuticos, deverão ser cumpridas as seguintes exigências: cadastramento nas Secretarias Estaduais ou Municipais de Saúde, relatório devidamente justificado do médico responsável, avaliação pelos comitês de ética e que sejam assegurados o uso de métodos contraceptivos que impeçam a ocorrência de gravidez durante a utilização da droga.

Constam também os procedimentos obrigatórios para a escrituração em Livros de Registros, Relação Mensal de Vendas, Balanços mensais, trimestrais e anuais, e documentos comprovantes da movimentação de estoque.

Fazem parte desta Portaria:

- I. Folheto Informativo para o Profissional de Saúde;
- II. Notificação de receita da talidomida;
- III. Termo de Responsabilidade;
- IV. Termo de Esclarecimento para o usuário da talidomida;
- V. Balanço Trimestral / Anual do medicamento;
- VI. Relação de vendas / Guia de retirada de substância e medicamento talidomida;

- VII. Autorização de Importação;
- VIII. Autorização de Exportação;
- IX. Relatório de encaminhamento para mulheres em idade fértil, com indicação para o uso de talidomida;
- X. Mapa de consolidação de Notificação de Receita de talidomida.

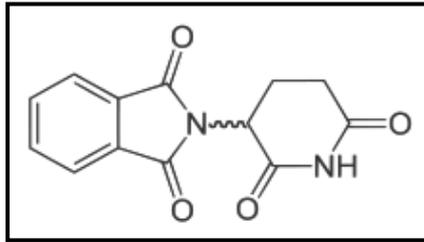
A Resolução RDC nº 34, de 20 de abril de 2000, autoriza a utilização da talidomida no tratamento de mieloma múltiplo refratário a quimioterapia, considerando a crescente demanda da utilização da talidomida no tratamento de neoplasias e que também foram desenvolvidos estudos com a aplicação nestas patologias com resultados satisfatórios (BRASIL, 2000).

Pela eficácia terapêutica demonstrada no tratamento de determinadas patologias prevalentes no país, a Portaria Conjunta nº 25/02 aprova os Protocolos Clínicos, e as Diretrizes Terapêuticas para as seguintes patologias: doença enxerto contra hospedeiro (DECH), lúpus eritematoso sistêmico e mieloma múltiplo (BRASIL, 2002a).

Em 2011 foi publicada a RDC 11, de 22 de março de 2011, para melhorar e complementar o controle sobre a talidomida e ainda incluir normas, como a informatização no controle e dispensação. Esta resolução acrescenta o mieloma múltiplo na prescrição da talidomida, possibilita a utilização desse fármaco em mulheres em idade fértil desde que haja dois métodos anticoncepcionais, incluindo um de barreira, restringe a utilização da receita na região onde foi prescrita, muda a validade da receita de 15 dias para 20 dias, institui os órgãos oficiais como os únicos que podem fabricar o medicamento e acrescenta o termo de responsabilidade que deve ser assinado pelo paciente e pelo médico (três vias: prontuário, unidade pública dispensadora e paciente), devendo ficar arquivado por um período de 10 anos. O prescritor deve avaliar os benefícios da utilização da talidomida, informar os efeitos adversos ao paciente e informar que as mudanças da resolução objetivam a racionalização do uso de medicamentos que apresentam margem de segurança pequena.

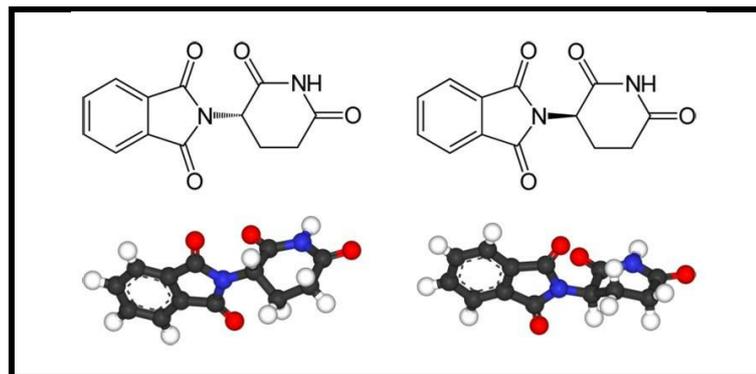
### 2.6.3 Química

A talidomida, ou 2-ftalimidoglutarimida, é considerada um derivado do ácido glutâmico que possui uma estrutura com dois anéis amida e a ftalimida do lado esquerdo e a glutarimida do lado direito com um carbono assimétrico (Figura 3).



**Figura 3: Estrutura química da talidomida**

Existem duas formas de talidomida com estruturas espaciais diferentes (isômeros), que apresentam propriedades biológicas diferenciadas. Os isômeros S(-) e R(-) que se interconvertem rapidamente em condições fisiológicas. O enantiômero S (enantiômeros sinister) está relacionado com os efeitos teratogênicos da talidomida, enquanto o enantiômero R (enantiômeros *rectus*) é responsável pelas propriedades sedativas da mesma.



**Figura 4: Estrutura química dos isômeros da talidomida**  
Fonte: Ben Mills

No entanto, a tragédia da década de 60 não poderia ter sido evitada se fosse usada apenas a forma R, uma vez que este mesmo estudo mostrou que ocorre uma rápida inversão quirálica entre os enantiômeros em humanos em pH fisiológico (ERIKSSON; BJORKMAN; HOUGLUND, 2001).

A talidomida tem peso molecular de 258,23 g/mol, é insolúvel em éter e benzeno, pouco solúvel em água, metanol, etanol e acetona, e prontamente solúvel em clorofórmio. É um composto cristalino branco, inodoro e insípido com ponto de fusão de 271°C. É um composto estável a temperatura ambiente, e não é afetado pela luz. Todas as quatro pontes amidas são susceptíveis à clivagem hidrolítica *in vitro* em pH maiores do que 6 (seis). Sofre rápida degradação em pH fisiológico e em soluções alcalinas. Métodos alternativos para a sua análise descrevem o uso da acidificação das amostras de soro que serão utilizadas para estabilizar a talidomida durante o processo de estocagem (WNENDT *et al.*, 1996).

#### **2.6.4 Mecanismo de Ação**

A compreensão dos mecanismos de ação da talidomida é dificultada devido à bioquímica complexa e às ações múltiplas dessa droga. O exato mecanismo ainda não é conhecido, mas as hipóteses incluem uma diminuição dos níveis do fator de necrose tumoral (TNF), a inibição da interleucina 12 e produção e coestimulação de linfócitos CD818. Segundo ERIKSON *et al.*, 2001 não há diferenças significativas entre os isômeros isolados e a mistura racêmica em suprimir o TNF alfa.

Relatos sugerem também que a talidomida tem um papel na regulação dos linfócitos auxiliares (Th2). Esta aumentaria a produção de Th2, das citocinas IL4 e IL5 e inibiria a produção dos linfócitos inflamatórios (Th1) e da citocina IFN gama em células periféricas de sangue, estimuladas por antígenos e mitógenos (MARRIOT; MULLER; DALGLEISH, 1999). O mecanismo de ação da talidomida no mieloma também não é conhecido. Estudos de laboratório, feitos com córnea de coelhos, mostram que a talidomida tem propriedades antiangiogênicas, provavelmente por bloquear a ação de potentes fatores angiogênicos como o fator de crescimento fibroblástico (bFGF) e o fator de crescimento endotelial vascular (VEFG) (RAJKUMAR, *et al.*, 2000). De acordo com Rowland, 1998, a determinação de seu mecanismo de ação *in vitro* é complicada, devido a sua baixa solubilidade e alta velocidade de hidrólise em solventes aquosos. Para alcançar concentrações *in vivo* com sucesso é necessário dissolver o fármaco em um solvente orgânico, como o dimetil sulfóxido (DMSO). De acordo com Shannon e Haslet a talidomida tem uma baixa absorção após a administração oral. O tempo de meia-vida é em torno de 6h e

é degradada por hidrólise enzimática (ROWLAND *et al.*, 1998; SHANNON; MORALES; SANDOVAL, 1997; HASLET *et al.*, 1998).

Para ser ativada, a talidomida precisa ser quebrada por diversas enzimas do grupo citocromo P450, o que gera cerca de 20 subprodutos metabólicos. Apesar de existirem indícios de que esses compostos estão associados a diversos eventos fisiológicos, ainda se conhece muito pouco sobre eles.

Um paralelo entre as ações terapêutica e teratogênica da talidomida sempre foi tentado, quer a nível molecular, quer a nível imunológico. Até o momento, o que se sabe é que nenhum dos metabólitos conhecidos da talidomida mostrou-se teratogênico em animais, e que todos os seus derivados sintéticos, que apresentam ação terapêutica na reação hansênica, apresentam também ação teratogênica em animais (SANTOS; LOMBARDI; BELDA, 1981).

### **2.6.5 Toxicologia**

O principal evento adverso da talidomida é a teratogenicidade. Deve-se ter precauções durante a exposição, que poderá ser utilizada somente na falência de outros esquemas terapêuticos (LIMA *et al.*, 2001). O efeito teratogênico geralmente ocorre entre 34 a 50 dias após a concepção, mesmo com uma única dose de 100 mg. Os principais danos são alterações no desenvolvimento neural, focomelia, hipoplasia ou aplasia óssea, paralisia facial, pavilhão auricular pequeno ou ausente, má formação ocular, cardíaca, gastrointestinal e renal (ARGILES; CARBO; LÓPEZ-SORIANO, 1998). Diante de tais riscos, recomenda-se que, quando mulheres férteis estiverem usando talidomida que façam uso de dois métodos contraceptivos eficazes.

A talidomida destrói vasos sanguíneos imaturos e impede a extensão de vasos já formados, dois fatores devastadores para tecidos em crescimento acelerado e que precisam formar e ampliar sua irrigação sanguínea para nutrir as células em mitose. Esse é o caso dos braços e pernas durante a 4ª e a 9ª semana de desenvolvimento embrionário.

Doenças cardíacas congênitas; anomalias oculares, intestinais e do trato geniturinário; hipoplasia óssea; paralisia facial; e malformações no ouvido externo e interno estão também envolvidas (PERRI; HSU, 2003, 2003; KLAASSEN, 2003).

Embora várias hipóteses tenham sido postuladas para explicar os efeitos teratogênicos da talidomida, o mecanismo bioquímico responsável pela resposta

embriotóxica em humanos e cobaias permanece obscuro e contraditório (GORDON *et al.*, 1981). A dificuldade de se concluir sobre o mecanismo de indução de teratogenicidade *in vitro* e *in vivo* é, entre outros fatores, reflexo da sua baixa solubilidade e instabilidade na biofase, por outro lado, as distinções interespecies quanto aos processos farmacocinéticos de absorção, metabolização, bioativação e eliminação a despeito do comportamento diferenciado, dependente do modelo animal empregado, o que dificulta a extrapolação para humanos, dos processos farmacocinéticos, explicam as diferenças de sensibilidade aos seus efeitos teratogênicos. Dentre as diversas hipóteses relatadas na literatura para explicar o mecanismo de teratogenicidade da talidomida (STEPHENS; BUNDE; FULLMORE, 2000), encontra-se a hipótese descrita por Arlen; Wells, que sugere o envolvimento da enzima prostaglandina endoperóxido sintase (PGHS) na bioativação do grupamento toxicofórico. Esta hipótese fundamenta-se na atividade catalítica hidropoxidase da PGHS. É amparada em observações experimentais, evidenciando que o tratamento de cobaias com ácido acetilsalicílico, um conhecido inibidor pseudoirreversível da PGHS, é capaz de prevenir, *in vivo*, as manifestações dos efeitos teratogênicos (ARLEN; WELLS 1996).

A revista *Science* publica, em 12 de março de 2010, que cientistas japoneses desvendaram como a talidomida interfere no desenvolvimento de fetos e provoca má-formação. A pesquisa realizada pela equipe médica liderada por Takumi Ito, do *Tokyo Institute of Technology*, mostrou como a talidomida liga-se a uma enzima chamada “Cereblon”, muito importante para o desenvolvimento dos membros nos dois primeiros meses do feto (KATIE, 2012).

Na década de 50, os testes pré-clínicos do medicamento foram realizados com ratos e camundongos que se mostraram imunes ao efeito teratogênico da talidomida. Takumi Ito e seus colaboradores utilizaram galinha e peixe, e mostraram que a ligação entre talidomida e cereblon causou má formação na nadadeira peitoral do peixe-zebra e a ausência completa dos membros anteriores nos pintos. Os pesquisadores concluíram que a talidomida exerce esses efeitos devido à inibição de cereblon, pois indução desta proteína impediu que ocorressem más formações. A função natural dessa proteína ainda permanece desconhecida, mas as mutações, no gene que codifica, estão relacionadas ao retardo mental leve (KATIE, 2012).

Estudos anteriores sugerem que efeitos terapêuticos da talidomida na inflamação, na formação de vasos sanguíneos e nas células de estresse possam ser

parcialmente responsáveis por sua teratogenicidade, ou seja, eliminar os seus efeitos secundários tóxicos também pode reduzir sua eficácia.

São também conhecidos vários outros efeitos secundários à talidomida, desde efeitos neurológicos, gastrointestinais, dermatológicos, cardiovasculares, hematológicos, etc (RICHARDSON; HIDESHIMA; ANDERSON, 2002). Os efeitos mais comuns são a sonolência ou cansaço, obstipação, vertigens, pele seca ou rash, diminuição no número de leucócitos, e neuropatia periférica. A sonolência e a neuropatia periférica são aqueles que mais frequentemente levam ao abandono da terapêutica. Efeitos mais raros como enxaquecas, hipotensão, edema, neutropenia, aumento do apetite e do peso, náuseas e pruridos, também podem decorrer do uso da talidomida (WU *et al.*, 2005).

As propriedades clínicas da neuropatia induzida pela talidomida são bem caracterizadas pelas parestesias simétricas dolorosas das mãos e pés, frequentemente associadas à perda sensorial em membros inferiores (De LONGH, 1990). Relatos iniciais de neuropatia periférica em pacientes usando talidomida descreveram principalmente sintomas sensitivos, às vezes acompanhados por fraqueza muscular proximal ou evidência de dano do trato piramidal. Embora a fraqueza muscular diminua rapidamente após a descontinuação da droga, os déficits, sensitivos remitem mais lentamente, e podem até piorar quando o paciente não está mais em uso da talidomida (CLEMMENSEN; OLSEN; ANDERSEN, 1984; FULLERTON; O'SULLIVAN, 1968).

Alguns autores sugerem o desenvolvimento dose-dependente da neuropatia, com sintomas surgindo após dose cumulativa de 40 a 50g, embora alguns estudos mostrem que não há relação com a dose (CLEMMENSEN; OLSEN; ANDERSEN, 1984; De LONGH, 1990). Considerações especiais devem ser feitas em pacientes infectados com HIV, porque a incidência maior de neuropatia prévia nesse grupo (15 a 50%) os torna particularmente sensíveis aos neurotóxicos da talidomida (HENDLER; McCARTY, 1983).

#### **2.6.6 Apresentação Farmacêutica**

A talidomida está disponível em forma de comprimidos para administração oral, em caixas com 30 comprimidos contendo 100mg do ingrediente ativo (talidomida) e excipientes: manitol oral, celulose microcristalina, estearato de

magnésio, amido, polividona, glicolato amido sódico e álcool etílico. A formulação brasileira é fabricada pela FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS-FUNED, em Belo Horizonte.

### **2.6.7 Farmacocinética**

O estudo de farmacocinética da talidomida está limitado pela ausência de uma formulação apropriada para administração IV, dada à baixa solubilidade em água e a instabilidade deste fármaco. Desta forma, a sua farmacocinética tem sido conhecida através de estudos realizados em animais e no homem apenas quando administrada por via oral. Os resultados obtidos são muito variáveis e por isso, o perfil farmacocinético da talidomida ainda não foi totalmente caracterizado (CERNY *et al.*, 2003).

Pela reduzida hidrossolubilidade a absorção da talidomida pelo trato gastrointestinal é lenta, tem capacidade de se distribuir extensivamente por todos os fluidos e tecidos biológicos e o volume aparente de distribuição em voluntários saudáveis é aproximadamente 120 litros (CHEN *et al.*, 1989), sugerindo que o fármaco circulante é altamente ligado às proteínas plasmáticas. No plasma humano, o grau de ligação às proteínas plasmáticas é de 55% e 66%, respectivamente, para (+) - (R) - e (-) - (S) – talidomida. Em estudo farmacocinético da talidomida em pacientes do sexo masculino portadores do vírus HIV, que recebem a talidomida 100mg/dia, o fármaco foi detectável no sêmen (TEO *et al.*, 2001).

A via metabólica exata da talidomida não foi determinada em humanos. O metabolismo hepático parece ser pequeno; entretanto, a talidomida parece sofrer hidrólise não enzimática no plasma (DRUGDEX, 2003). No único estudo farmacocinético bem conduzido, nenhum metabólito da droga foi observado em amostras de urina ou plasma (CHEN *et al.*, 1989 apud DRUGDEX, 2003). Estudos adicionais são necessários para determinar em qual extensão a talidomida é metabolizada em humanos (DRUGDEX, 2003).

A via precisa de eliminação da talidomida em humanos ainda não foi estabelecida. No entanto, a depuração renal é baixa (1,15mL/min), e apenas 0,7% de uma dose de talidomida administrada por via oral é recuperada na urina como fármaco inalterado nas primeiras 24 horas, sugerindo uma via de eliminação predominantemente não renal (CHEN *et al.*, 1989). Embora se acredite que a

talidomida possa ser hidrolisada em numerosos metabólitos, somente 0,02% da dose administrada é recuperada na urina como 4-hidroxi-talidomida no período 12/24 horas pós-dose (PEUCKMANN; FISCH; BRUERA, 2000).

#### *2.6.7.1 Dados Farmacocinéticos em Populações Especiais*

Não há evidências de diferenças significantes entre a farmacocinética da talidomida em homens e mulheres, entre raças, como também entre voluntários saudáveis e pacientes HIV positivos após administração oral única de talidomida. No entanto, dados preliminares sugerem que pacientes portadores de hanseníase tem um aumento na biodisponibilidade da talidomida comparada com voluntários saudáveis. O aumento é refletido em uma área sob a curva aumentada e em picos aumentados no plasma. O significado clínico deste aumento é desconhecido (PEUCKMANN; FISCH; BRUERA, 2000).

Uma comparação de dados farmacocinéticos da talidomida em voluntários sadios e pacientes com hanseníase com idade variando entre 20-69 anos não revelou nenhum efeito relacionado com a idade (PEUCKMANN; FISCH; BRUERA, 2000). Não há evidências de dados farmacocinéticos em crianças ou adolescentes menores que 18 anos de idade.

A farmacocinética da talidomida em pacientes com insuficiência renal ou hepática não foram determinados.

#### **2.6.8 Farmacologia Clínica / Novas Aplicações**

Hoje, quase 40 anos depois, a talidomida ressurge como um fármaco com boa atividade imunomoduladora e anti-inflamatória, com potencial para o tratamento de uma variedade de condições, incluindo AIDS, algumas neoplasias e como imunossupressora no tratamento de pacientes submetidos a transplante renal e de medula. Sua eficácia clínica na doença crônica enxerto-*versus*-hospedeiro também foi estudada. Há relatos também de seu uso, com algum sucesso, no tratamento da artrite reumatoide, tuberculose crônica, doença de Behcet e doença de Crohn. Muito do recente interesse no uso clínico da talidomida provém de seu uso no tratamento de pacientes com AIDS. Estudos mostram o benefício da talidomida no tratamento da úlcera aftosa, caquexia e no tratamento do sarcoma de Kaposi, todos associados

à AIDS. Estudos também demonstram a capacidade da talidomida em inibir a replicação do in vitro. A talidomida também tem despertado interesse por suas propriedades antiangiogênicas. Relatos incluem o seu uso, com sucesso, em pacientes com câncer de próstata e, além disso, é considerada por muitos pesquisadores como o fármaco com maior atividade antimieloma dos últimos 30 anos (FDA, 2012). O uso da talidomida também tem se destacado em várias condições dermatológicas e por este motivo é o fármaco de escolha para o tratamento do eritema nodoso leproso (ENL), uma séria condição inflamatória em pacientes com Hanseníase.

A talidomida pode apresentar interação medicamentosa com algumas drogas como o aumento da atividade de barbitúricos, álcool, clorpromazina e reserpina também antagonizam a ação da histamina, serotonina, acetilcolina e prostaglandinas (TESENG *et al.*, 1996). Os únicos fármacos que sistematicamente são avaliados quanto a possíveis interações com a utilização da talidomida são os contraceptivos orais, e não têm demonstrado qualquer tipo de interação significativa (RICHARDSON; HIDESHIMA; ANDERSON, 2002).



**JUSTIFICATIVA**

### 3 JUSTIFICATIVA

A talidomida (alfa-N-pthali-midoglutirimida) foi descoberta na Alemanha Oriental, em 1954, e utilizada como sedativo, hipnótico e indicada como tratamento antiemético das náuseas matinais do primeiro trimestre da gravidez. Esta última indicação resultou em teratogênese (focomelia) em cerca de 12.000 crianças nascidas entre 1959 e 1961, sendo retirada do mercado em 1962. Em 1997, a agência regulatória americana *Food and Drug Administration* – FDA permitiu o seu uso no eritema nodoso leprótico (ENL) graças ao trabalho de Sheskin em 1965. Nas últimas décadas o seu uso foi ampliado para outras doenças, como artrite reumatoide, AIDS, Doença de Crohn, Doença de Behçet, Lúpus Eritematoso e Mieloma Múltiplo, em consequência da descoberta de seu potencial antiangiogênico e múltiplos efeitos anti-inflamatório e imunomodulador.

Apesar de seus mais de 50 anos na história da medicina, a talidomida permanece como uma importante fonte de pesquisa uma vez que persistem lacunas sobre sua compreensão. Seu mecanismo teratogênico é parcialmente conhecido e parece envolver a inibição da angiogênese e ou geração de radicais livres que levariam a dano oxidativo no DNA. O mecanismo de ação anti-inflamatória da talidomida envolve a inibição da expressão gênica seletiva do TNF-alfa. Entretanto, existem resultados conflitantes na resposta terapêutica de diversas doenças tratadas com talidomida; alguns pacientes apresentando uma boa resposta, enquanto outros não respondem de maneira satisfatória. Fica, assim, estabelecida a necessidade de mais estudos para compreensão da eficácia terapêutica, segurança, monitorização terapêutica e qualidade do fármaco.

Este estudo clínico vai avaliar os parâmetros farmacocinéticos da talidomida produzida pela Fundação Ezequiel Dias, uma vez que não há dados farmacocinéticos relativos a esta formulação brasileira na literatura.

Neste sentido esperamos que os resultados (interpretação quantitativa dos fenômenos biológicos que acontecem ao fármaco desde a sua administração até ao seu efeito final) possam caracterizar previsões de eficácia terapêutica e assim proteger os doentes dos efeitos adversos de medicamentos, cada vez mais potentes e com menor margem de segurança. Esperamos que a determinação dos níveis plasmáticos permita a individualização e ajustamento de dose, de forma a corrigir a

variação dos fenômenos farmacocinéticos, no mesmo indivíduo em diferentes momentos, e a variação existente entre diferentes indivíduos.



**OBJETIVOS**

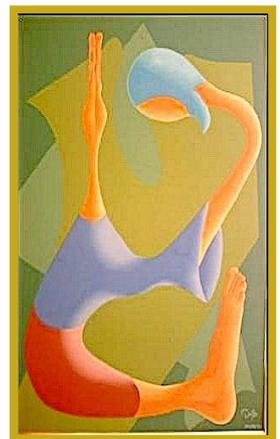
## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 Geral**

Este estudo teve por objetivo determinar o perfil farmacocinético de uma Formulação de talidomida (comprimidos de 100mg), produzida pela Fundação Ezequiel Dias (FUNED), Brasil, em voluntários sadios do sexo masculino.

### **4.2 Específicos**

- Avaliar os parâmetros farmacocinéticos da talidomida nas doses de 200 e 400mg, a partir de sua forma farmacêutica.
- Avaliar a segurança da talidomida administrada por via oral, em voluntários sadios do sexo masculino nas doses de 200 e 400mg, através do levantamento de reações adversas.
- Fazer análise comparativa entre os parâmetros farmacocinéticos da talidomida produzida pela FUNED e os encontrados na literatura.



**PARTE EXPERIMENTAL**

## 5 PARTE EXPERIMENTAL

### 5.1 Etapa clínica

O protocolo do estudo foi preparado de acordo com os padrões estabelecidos pela Resolução nº 894, de 29 de maio de 2003 - ANVISA, pelo I.C.H. *Harmonized Tripartite Guideline for Good Clinical Practice* (1996) e resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde sobre pesquisa envolvendo seres humanos (BRASIL, 1996) e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, sob o nº 245/1 (Anexo 7).

Para garantir que os estudos realizados atendam às expectativas e exigências das autoridades regulamentadoras e das organizações que fornecem reconhecimento, a Unidade de Farmacologia Clínica tem seu escopo de trabalho e Sistema de Qualidade baseados nas Normas: NBR ISO/IEC 17025:2001; Resolução ANVISA nº 41, de 28 de abril de 2003; Procedimento GGLAS nº 02/BPL e Procedimento GGLAS 02/17025

#### 5.1.1 Local de Confinamento dos Voluntários

A etapa clínica deste estudo foi conduzida pela equipe técnica da Unidade de Farmacologia Clínica, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará (UNIFAC). Esta unidade de ensaios clínicos dispõe de uma estrutura assistencial própria com 25 leitos.

A UNIFAC dispõe de equipamentos materiais e medicações de urgência para atender qualquer eventualidade. Além disso, conta com apoio de uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI) do Hospital de Messejana. Sua estrutura laboratorial possui equipamentos para processamento e armazenamento de amostras biológicas.

#### 5.1.2 Delineamento do Estudo

Estudo aberto, randomizado, cruzado, com dois tratamentos, dois períodos (duas sequências), nos quais os voluntários recebem, em cada período distinto, 02 comp. de 100mg ou 04 comp. de 100mg da talidomida produzida pela

Fundação Ezequiel Dias (FUNED), Brasil, seguido por 220mL de água mineral sem gás.

Depois da seleção e observado um período de pelo menos três meses sem fazer qualquer tratamento farmacológico, os voluntários qualificados para participar do estudo foram internados por dois períodos variando de 36 horas, com intervalo de sete dias entre os internamentos (*washout*), a fim de evitar efeitos residuais (*carry-over*). Os voluntários apresentaram-se para internamento na UNIFAC, entre 20:00 e 22:00 horas da noite anterior à administração da medicação. Em cada internamento, os voluntários receberam a formulação contendo talidomida.

No quadro 01 observa-se uma descrição detalhada da formulação de talidomida submetida ao estudo.

**Quadro 1: Descrição do produto estudado.**

Nome do fármaco	Talidomida
Forma Farmacêutica	Comprimidos
Dose/unidade	100mg
Lote	10080550
Fabricação	08/2010
Validade	08/2012
Fabricante	Fundação Ezequiel Dias (FUNED)
Endereço do Fabricante	Rua Conde Pereira Carneiro nº 80 Gameleira Belo Horizonte - Minas Gerais CEP 30510. 010

A formulação da talidomida foi administrada em dose única, por via oral, em jejum, seguida de coletas de sangue, de pelo menos 3,5 meias-vidas do fármaco em estudo. Os voluntários qualificados para participar do estudo foram internados por dois períodos de aproximadamente 36 horas. Os períodos de tratamento obedeceram a um intervalo mínimo de cinco a sete meias-vidas entre eles (período de *washout* da droga). Considerando-se que a meia-vida da talidomida é de cerca de 5 a 7 h, planejou-se um intervalo de sete dias entre as internações (BRASIL, 2006).

### 5.1.2.1 Seleção dos Voluntários

Os voluntários participaram inicialmente de um processo de recrutamento, para o qual assinaram o termo de recrutamento (Apêndice 1) após um esclarecimento inicial sobre os procedimentos e as condições nas quais são desenvolvidas as pesquisas clínicas.

Após os esclarecimentos iniciais, os voluntários que se candidataram ao estudo participaram de uma avaliação clínica inicial (pré-estudo), conduzida por um profissional médico, a fim de pesquisar sintomas relativos a alergias, manifestações relativas aos olhos, nariz, ouvidos, orofaringe, sistema respiratório, cardiovascular, gastrointestinal, geniturinário, sistema nervoso central, linfo-hematopoiético, endócrino e metabólico, musculoesquelético e dermatológico. Aspectos relativos à estabilidade emocional, antecedente de hipersensibilidade à medicamentos, antecedentes cirúrgicos, antecedentes patológicos familiares e outros, considerados importantes no momento, também foram investigados.

No exame físico foram registrados: a altura (em centímetros), o peso corporal (em kilogramas), com posterior cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC), e a temperatura axilar (em graus Celsius). Exame dos segmentos corporal foi efetuado, avaliando-se o aspecto geral, a pele, cabeça e pescoço, olhos, ouvidos, nariz, boca, orofaringe, tórax e pulmões, coração, abdômen, coluna vertebral, genitália, linfonodos, extremidades. A frequência de pulso, a pressão arterial diastólica e sistólica e a temperatura axilar foram aferidas.

Após consulta, quando todas as dúvidas esclarecidas, os voluntários assinaram o Termo de Esclarecimento para o Usuário de Talidomida (Anexo 1).

Eletrocardiograma convencional com 12 derivações foi realizado. Os parâmetros: SÂP (vetor resultante da despolarização atrial), SÂQRS (vetor resultante da despolarização ventricular), SÂT (vetor resultante da repolarização ventricular), ritmo e frequência cardíaca, duração do complexo QRS e dos intervalos P-R e Q-T, foram registrados. Foi observada também a presença de distúrbios da condução intraventricular e atrioventricular, sinais de sobrecargas de câmaras atriais e ventriculares. O laudo final era referido como: normal, anormal não clinicamente significante ou anormal com significado clínico.

Os exames laboratoriais, que seguem descritos, foram realizados no período pré-estudo (período de avaliação para seleção de voluntários saudáveis) e pós-estudo (período após o último internamento).

- Análise Hematológica: Eritrócitos, Hemoglobina, Hematócrito, Contagem total e diferencial de leucócitos, Contagem de plaquetas;
- Análise bioquímica: Glicose em jejum, Creatinina, Ureia, Colesterol total, Aspartato-amino-transferase (AST), Alanina-amino-transferase (ALT) e Fosfatase alcalina;
- Análise sorológica: Hepatite B, Hepatite C, HIV 1 + HIV2 (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida - AIDS). Realizada somente no pré-estudo e
- Sumário de urina.

Os resultados dos exames foram considerados “normais” quando dentro da faixa de valores fornecidos pelo laboratório de patologia clínica, Laboratório Louis Pasteur, responsável por estas análises. Os parâmetros de normalidade para a análise sorológica para hepatite B, C e HIV devem ser negativos.

Todas as informações colhidas foram explicitamente documentadas no Formulário de Relato do Caso (CRFs), ficha clínica de cada voluntário. No que se refere aos resultados dos exames clínicos, laboratoriais e eletrocardiográficos, o médico registrou os achados como normal; anormal ou anormal não clinicamente significativo ("n.c.s").

#### *5.1.2.2 Critérios de Inclusão do Voluntário*

Os seguintes critérios devem ser satisfeitos para que o voluntário possa participar do estudo:

- Homem, com idade entre 18 a 50 anos;
- Voluntário com índice de massa corpórea  $\geq 19$  e  $\leq 30$ ;
- Boas condições de saúde ou sem doenças significativas, a juízo médico, de acordo com as regras definidas no Protocolo, e avaliações a que foi submetido: história clínica, exame físico, medidas de sinais vitais, ECG e exames laboratoriais complementares;

- Ser capaz de compreender os riscos e efeitos adversos relacionados com uso da talidomida, bem como ser capaz de empregar medidas contraceptivas específicas para o homem.
- Ser capaz de compreender a natureza e objetivo do estudo, cooperar com o pesquisador e agir de acordo com os requerimentos de todo o ensaio, o que vem a ser confirmado mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

### 5.1.2.3 Critérios de Exclusão do Voluntário

A resposta positiva a qualquer um dos seguintes critérios excluirá o voluntário do estudo:

#### **Problemas relacionados com o fármaco:**

- Tem sabidamente uma hipersensibilidade ao fármaco estudado, talidomida, ou a compostos quimicamente relacionados; história de reações adversas sérias;
- História ou presença de doenças hepáticas ou gastrintestinais, ou outra condição que interfere com a absorção, distribuição, excreção ou metabolismo do fármaco;
- Uso de terapia de manutenção com qualquer fármaco.
- Incapaz de compreender os riscos e efeitos adversos relacionados com uso da talidomida, bem como ser contrário ao uso de medidas contraceptivas específicas para o homem.

#### **Doenças ou problemas de saúde:**

- Tem história de doença hepática, renal, pulmonar, gastrintestinal, epiléptica, hematológica ou psiquiátrica; tem hipo ou hipertensão de qualquer etiologia que, no momento, necessite de tratamento farmacológico; tem história ou teve infarto do miocárdio, angina e/ou insuficiência cardíaca; associação com outras doenças graves como HIV/AIDS, Tuberculose, Malária, Leishmaniose Tegumentar Americana, Calazar, Linfomas, Leucemias, Imunossupressões, etc.;

- Achados eletrocardiográficos não recomendados, a critério do investigador, para participação no estudo;
- Os resultados dos exames laboratoriais complementares estão fora dos valores considerados normais, de acordo com as normas deste protocolo, a menos que sejam considerados clinicamente irrelevantes pelo investigador.

**Hábitos e Dependências:**

- Fuma mais de 10 cigarros por dia;
- Ingerir mais do que 06 xícaras de café ou chá por dia;
- Tem história de abuso de álcool ou drogas;

**Outras condições encontradas nos dias/meses que antecedem o estudo:**

- Internado por qualquer motivo durante as oito semanas que antecedem o início do primeiro período de tratamento deste estudo;
- Tratamento dentro dos três meses prévios ao estudo com qualquer fármaco conhecido de ter um potencial tóxico bem definido nos grandes órgãos;
- Participou de qualquer estudo experimental ou ingeriu qualquer fármaco experimental dentro dos seis meses que antecedem o início deste estudo;
- Doou ou perdeu 450mL ou mais de sangue dentro dos três meses que antecedem o início do tratamento deste estudo ou que doou mais de 1500mL dentro dos 12 meses anteriores ao início do tratamento deste estudo;
- Tem qualquer condição que o impede de participar do estudo pelo julgamento do investigador.

**5.1.2.4 Critérios de Retirada dos Voluntários**

Os voluntários poderão ter sua participação no estudo encerrada, antecipadamente, em função dos “Critérios de Retirada” descritos abaixo. Além disto, com o objetivo de garantir o bem-estar dos voluntários, o estudo poderá ser interrompido

como um todo caso, a juízo do Investigador Clínico ou do Patrocinador, fique estabelecido que os riscos a que os voluntários estão sendo submetidos, sejam superiores aos antecipadamente previstos.

**Por solicitação do voluntário:**

- Por razões pessoais (ou mesmo sem razão);
- Devido aos eventos adversos do fármaco do estudo (efeitos não desejáveis, possivelmente relacionados ao fármaco em estudo).
- Por razões outras que não efeitos adversos, por exemplo, indisponibilidade, intolerância aos procedimentos do estudo.

**Por determinação do Investigador :**

- Não aderência às exigências do protocolo;
- Eventos adversos sérios ou sintomas ou sinais de possível toxicidade;
- Doença intercorrente requerendo medicação;
- Resposta positiva à reavaliação de qualquer um dos critérios de exclusão, no momento da admissão ao primeiro período de tratamento ou em ocasião subsequente;
- Qualquer outra condição que, a juízo do investigador, seja do interesse para manutenção da saúde do voluntário.

Todos os detalhes e razões da retirada do voluntário do estudo serão anotados na parte do CRF e relatados aos monitores.

*5.1.2.5 Inclusão do Voluntário no Estudo*

Uma vez avaliada a higidez e todas as dúvidas terem sido esclarecidas aos voluntários, eles foram informados quanto a sua aptidão para participação no estudo ou receberam as orientações pertinentes em caso contrário.

Os voluntários que concordaram com o protocolo clínico, assinaram o Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), para participação no estudo (Apêndice 2).

### 5.1.2.6 Restrições

#### **Medicamentos**

- Uso de medicação regular dentro das duas semanas que antecederam o início do tratamento do estudo;
- Uso de qualquer medicação dentro de uma semana antes do início do tratamento do estudo;
- Uso de talidomida a menos de 01 mês do início do estudo
- Uso de medicações concomitantes foi evitado quando possível. Mas em caso de necessidade o investigador clínico deverá avaliar se com base na meia-vida do fármaco e/ou metabólitos ativos (pelo menos  $5 t_{1/2}$ ) pode ser assumida a completa eliminação da medicação e, por conseguinte, a não interferência com a condução do estudo).

#### **Dieta**

- Consumo de cafeína; bebidas que contenham xantina (chá, café, cola); e bebidas alcoólicas desde 12 horas antes de cada internamento, durante o internamento e até da última coleta de sangue de cada fase;
- Ingestão de qualquer outro alimento (incluindo doces, pastilhas, gomas, chicletes, pastilhas para garganta, salgadinhos ou biscoitos de qualquer tipo), além dos programados.

#### **Outras restrições e obrigações**

- Nos dias de confinamento, da noite anterior à administração até 3 horas após a administração, o voluntário deverá reduzir as suas atividades físicas ao mínimo;
- Não será permitida a doação de sangue durante o estudo e por pelo menos 03 meses após;
- Não será permitido fumar durante o período do internamento;
- Não será permitido consumo de bebidas alcoólicas durante as 48 horas que antecederam cada coleta de sangue;
- Não será permitida a participação em qualquer estudo clínico com medicamentos que envolva a coleta de amostra por pelo menos 6 meses;

- Relações sexuais sem medidas contraceptivas de barreira durante todo o estudo e até pelo menos 30 dias após a administração da última dose do medicamento.
- Os voluntários permanecerão internados durante todo o tempo previsto (doze horas antes da administração do medicamento até vinte e quatro horas após), em cada internação, devendo retornar à unidade para coletas das amostras de sangue correspondente ao tempo de 36:00 horas após a administração da medicação;
- É obrigada a participação nos exames pós-estudo mesmo em caso de desistência do voluntário (a não ser que ele tenha desistido antes de tomar a medicação), já que está vinculada à avaliação de segurança do uso do medicamento; as voluntárias devem comunicar o não cumprimento de qualquer restrição mencionada.

#### 5.1.2.7 Internamento

Os voluntários foram internados na Unidade de Farmacologia Clínica – UNIFAC – da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, por dois períodos de aproximadamente 36 horas cada, com sete dias de intervalo entre as internações. Apresentaram-se para internamento, aproximadamente às 20:00 horas da noite anterior à administração do medicamento, e permaneceram por 24 horas internados, após a administração da medicação.

A partir das 21:00 horas, da noite do dia do internamento, os voluntários ficaram em jejum até 3 horas após a administração da medicação quando um desjejum foi servido. O almoço foi servido entre 5 e 6 horas após a administração e o jantar após 12 horas. Após 8-9 horas da administração foi oferecido o lanche da tarde. Um jantar foi servido após 10-12 horas da administração, após 14 -15 horas foi servida a ceia, e na manhã seguinte, após 24 horas da administração foi oferecido um café da manhã.

Não foram permitidos outros alimentos no período de internação. Nos dois períodos os voluntários tiveram as refeições padronizadas, e a ingestão de líquidos (sem cafeína) ad libitum foi permitida até 3 horas antes da administração do fármaco e após 3 horas da dose.

### 5.1.3 Esquema Experimental

#### 5.1.3.1 Tratamento

O estudo foi realizado utilizando a formulação de talidomida (comprimidos de 100mg) da FUNED, em duas diferentes doses. A “Dose 1” correspondia à dois comprimidos (200mg) e a “Dose 2” à quatro comprimidos (400mg). A sequência de tratamento atribuída a cada voluntário nos períodos de estudo foi determinada por uma lista de randomização, elaborada de acordo com o desenho de Williams descrito na Resolução - RE nº 898, de 29 de maio de 2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Os voluntários foram randomicamente designados a uma das seguintes sequências de tratamento (BRASIL, 2003b).

**Quadro 2: Definição dos períodos de tratamento (RE nº 898/2003-ANVISA).**

Sequência	Período I	Período II
1	Dose 1 (200mg)	Dose 2 (400mg)
2	Dose 2 (400mg)	Dose 1 (200mg)

Os voluntários, em jejum, receberam em cada um dos períodos de internamento 200mg ou 400mg da talidomida, por via oral, em dose única, entre 7:00 e 8:00 da manhã do dia após o confinamento. A formulação administrada foi acompanhada de 220mL de água mineral sem gás e respeitou um intervalo de tempo de 2 minutos entre um voluntário e outro.

A talidomida produzida pela FUNED foi fornecida com recursos provenientes do Edital MCT-CNPQ/MS-SCTIE-DECIT-25/2006 - Estudo de Doenças Negligenciadas, de acordo com o Plano Nacional de Eliminação da Hanseníase em Nível Municipal 2006-2010 da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde.

O patrocinador enviou quantidades extras da formulação tanto para fins de retenção de amostra como para administração da mesma. Ao final do estudo, a medicação remanescente em suas embalagens originais, incluindo as parcialmente utilizadas e as não utilizadas, foram armazenadas como amostras de retenção extra, em quantidade suficiente para a repetição do estudo.

O Centro mantém, em local próprio, amostras de retenção da formulação até o vencimento do prazo de validade mais longo. Nenhuma droga pode ser desprezada sem a comunicação por escrito do patrocinador. Cabe ao Investigador Principal ou ao responsável designado por ele manter um inventário com o registro das drogas recebidas, administradas, devolvidas, enviadas ao patrocinador ou retidas.

#### 5.1.3.2 Coletas de Amostras

As amostras de sangue para determinação das concentrações plasmáticas de talidomida foram obtidas, através de cateter venoso heparinizado introduzido em veia superficial do antebraço do voluntário. Após a coleta de cada amostra, o cateter foi lavado com 0,5mL de solução de heparina sódica. (5mL de Heparina Sódica /5UI em 500mL de Soro fisiológico a 0,9% estéril).

Após pelo menos oito horas de jejum, antes da administração do medicamento, foi feita uma coleta de sangue de 10 mL para controle individual e curvas padrões. Esta coleta pré-dose foi realizada, aproximadamente, 1 hora antes da administração da medicação.

Após a administração da medicação teve início as coletas de sangue para análise farmacocinética da droga, conforme o protocolo de coleta. Em cada período foram coletadas 16 amostras de 8mL nos seguintes intervalos, a partir da administração: 30 min; 1, 1:30; 2, 2:30; 3; 4; 5; 6; 8; 10; 12; 18; 24 e 36 horas. Um volume aproximado de 300mL de sangue foi coletado durante o estudo. As amostras coletadas eram colocadas em tubos de vidro contendo 30 $\mu$ L de heparina.

Foi registrado no CRF o tempo real absoluto de coleta da amostra de sangue. Também foi registrado o tempo real absoluto da administração da medicação, para que se possa computar o intervalo real de tempo existente entre a administração da droga e as respectivas coletas.

A definição do número e intervalo de obtenção das amostras para construção das curvas de concentração *versus* tempo é em função do perfil farmacocinético do fármaco, com base na informação de literatura. Para tanto, o tempo de coleta das amostras deverá contemplar um tempo igual a 3-5 vezes a meia-vida de eliminação do fármaco conforme norma da ANVISA (BRASIL, 2006).

### *5.1.3.3 Processamento das Amostras*

Após a coleta (máximo de cinquenta minutos), as amostras de sangue foram centrifugadas a 3.000RPM, na temperatura de 8°C, durante 12 minutos.

Imediatamente após a centrifugação, o plasma separado foi distribuído em dois tubos criogênicos (um mínimo de 1.5mL de plasma para cada tubo), o segundo tubo criogênico como uma amostra em duplicata. Os tubos, cada um deles, continha 1mL de solução tampão citrato necessária para a estabilização da amostra.

A solução tampão, necessária para a estabilização da amostra, foi preparada dissolvendo 4.7674g do ácido cítrico anidro e 0,0538g de citrato de sódio em aproximadamente 900mL de água Milli-Q. A solução foi agitada até total dissolução e em seguida ajustado o pH para 1.5, com ácido clorídrico concentrado. Em seguida completávamos o volume para 1 litro. Novamente a solução foi agitada até total homogeneização. Esta preparação era realizada em capela com exaustão e armazenada em ambiente refrigerado.

As amostras de plasma, separadas nos tubos criogênicos igualmente identificados, foram armazenadas a temperatura de -20°C, em freezer específico para armazenagem de amostras biológicas, localizado na Unidade Clínica, até o encaminhamento para a unidade analítica.

### *5.1.3.4 Armazenamento e Transporte de Amostras*

Após o término do estudo, os frascos identificados individualmente foram embalados por horário e período e encaminhados à unidade analítica, Galeno Desenvolvimento de Pesquisas Ltda, nas condições exigidas pela International Air Transport Assotiation - IATA, para transporte aéreo de material biológico. As amostras em duplicata ficaram sob a responsabilidade e os cuidados da unidade clínica.

### *5.1.3.5 Avaliação da Segurança*

Os voluntários foram orientados a relatar qualquer evento adverso (EA) e a sua data de ocorrência, para o acompanhamento clínico e laboratorial até que os parâmetros alterados voltassem ao normal. Todos foram instruídos sobre a necessidade de comunicar qualquer alteração, imediatamente se durante o

internamento, e o mais breve possível caso ocorra no período entre as internações, ou até a avaliação final para a alta do estudo.

Foi também solicitada informação se houve ou não a necessidade de medicação adicional. As perguntas realizadas para saber se os voluntários tiveram algum evento adverso foram limitadas a perguntas gerais, tais como: Como vai você?

Evento Adverso (EA) é qualquer ocorrência médica desfavorável ao paciente ou sujeito da investigação clínica e que não tem necessariamente relação causal com o tratamento. Um EA pode ser qualquer sintoma ou sinal desfavorável e não intencional, ou doença temporalmente associada ao tratamento, incluindo achados laboratoriais fora da normalidade.

O estudo, na pessoa do Investigador, garantia o tratamento necessário para qualquer evento adverso. Os eventos seriam seguidos clinicamente e por estudos laboratoriais (quando indicados) até a volta à normalidade dos parâmetros avaliados.

A seguinte classificação de evento adverso foi adotada:

**Quanto à intensidade:**

- Leve: desconforto transitório leve; sem limitação em atividade; sem terapia/intervenção médica exigida. Experiência facilmente tolerada.
- Moderada: limitação leve a moderada na atividade, pode-se precisar de alguma assistência; nenhuma ou mínima terapia/intervenção médica exigida.
- Severa: limitação acentuada das atividades cotidianas normais, geralmente exige alguma assistência; terapia/intervenção médica exigida, hospitalizações possíveis.

**Quanto à relação com a droga experimental:**

- Provável: há provavelmente um relacionamento direto de causa e efeito entre a experiência e a droga em estudo.
- Possível: não foi demonstrado um relacionamento de causa e efeito direto entre a droga e a experiência adversa, porém, há uma possibilidade razoável de que a droga esteja envolvida.

- Não relacionado: a experiência adversa definitivamente não está relacionada à droga em teste.
- Desconhecido: há outras causas mais prováveis e não há suspeitas de que a droga seja a causa.

**Quanto à seriedade:**

- Sério: Um evento adverso sério é qualquer ocorrência médica desfavorável que resulta em: morte; ameaça ou risco de vida; hospitalização ou prolongamento de uma hospitalização preexistente, excetuando-se as cirurgias eletivas e as internações previstas no protocolo; incapacidade persistente ou significativa; anomalia congênita ou defeito de nascimento e ocorrência médica significativa.
- Não Sério: Um evento adverso não sério é qualquer evento adverso que não preenche os critérios de evento adverso sério

**Quanto à expectativa:**

- Esperado: existem informações científicas prévias sobre o evento
- Não esperado: Um evento adverso cuja natureza ou severidade não é consistente com as informações aplicáveis ou conhecidas do produto, e não está descrito na bula ou monografia do produto, brochura do pesquisador ou no protocolo do estudo.

Todos os eventos adversos foram registrados em detalhes, em folha(s) apropriada(s) para relato de eventos adversos, de acordo com os critérios e definições. O evento julgado como “Sério” deverá, também, ser comunicado ao patrocinador e ao Comitê de Ética.

*5.1.3.6 Avaliação Pós-estudo*

Todos os voluntários foram submetidos a uma nova avaliação clínica e dos exames laboratoriais, exceto sorologia e ECG.

Os exames laboratoriais pós-estudo foram realizados cerca de 10 dias após a última coleta de sangue do ensaio. Após o recebimento dos resultados, os

voluntários compareceram para novo exame clínico para avaliação de encerramento. Comprovada a higidez, foram dispensados. Se o voluntário apresentava algum sintoma de doença ou dano à saúde, ao final do experimento, seria alvo de acompanhamento.

Durante o exame pós-estudo, cada participante foi orientado a não doar sangue por pelo menos três meses, nem participar, por um período mínimo de seis meses após o estudo, de qualquer estudo clínico com medicamento, e manter o uso do preservativo por mais 15 dias após a última dose de talidomida.

#### **5.1.4 Aspectos Éticos**

O projeto de pesquisa, com o protocolo experimental e o termo de consentimento, foram submetidos ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Ceará, credenciado pelo CONEP - Conselho Nacional de Saúde/MS.

O Estudo foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinque (1964) e as revisões e regulamentações locais (Resoluções 196/96 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde-MS).

Antes da inclusão dos voluntários no estudo, estes foram informados a respeito da natureza do medicamento (talidomida) e foram fornecidas informações pertinentes ao objetivo pretendido, possíveis benefícios e possíveis eventos adversos. O estudo foi explicado individualmente e esclarecidas todas as dúvidas dos voluntários, ficando claro o caráter experimental. Um documento de consentimento livre e esclarecido (Apêndice 2), aprovado pelo Comitê de Ética foi lido e assinado pelo voluntário, pelo pesquisador e, quando necessário, por uma testemunha. Uma cópia deste documento foi entregue ao voluntário. O voluntário também tinha conhecimento da sua liberdade para se retirar a qualquer momento do estudo, sem que isto lhe cause qualquer prejuízo no seu atendimento junto à Unidade de Farmacologia Clínica ou ao Hospital de Messejana.

#### **5.1.5 Termo de consentimento livre e esclarecido**

O termo de consentimento livre e esclarecido é uma tradução brasileira originária do francês, "*consentement libre et éclairé*". Esta forma é utilizada nas

resoluções da Comissão Nacional de Saúde (CNS – MS), órgão que regula a ética na pesquisa em seres humanos no Brasil.

Segundo a Declaração do Congresso Nacional de Bioética (SIBI), realizado em junho de 2000, o art. 11º, dedicado aos temas da pesquisa e experimentação, relata que “os sujeitos das experimentações deverão dar seu consentimento livre e esclarecido e plenamente informado”. É condição indispensável na pesquisa com seres humanos e trata-se de uma decisão voluntária, verbal ou escrita, realizada por uma pessoa autônoma e capaz, selecionada após um processo informativo, para a experimentação consciente dos seus riscos, benefícios e possíveis consequências.

#### **5.1.6 Confidencialidade**

Todos os documentos fonte, com informações dos voluntários, estão guardados em local reservado com acesso restrito e sob a responsabilidade da equipe da UNIFAC.

#### **5.1.7 Manuseio dos dados e manutenção dos registros**

O Investigador mantém todos os documentos relacionados a este estudo pelo tempo definido nas diretrizes da RDC 135/03 (ANVISA) e ICH-GCP. Todos os dados e documentos estão disponíveis caso seja solicitado pelo patrocinador ou autoridades. Os documentos ficam por um período mínimo de 15 anos arquivados em local com porta corta-fogo e com controle de temperatura e umidade. Antes da remoção ou destruição dos documentos deste estudo, o Investigador deve informar ao Patrocinador, por escrito, sob suas intenções. Somente após obter uma permissão por escrito é que o Investigador poderá remover ou destruir os documentos do estudo. O Patrocinador deve também manter todos os documentos relacionados ao estudo, por um período de pelo menos 15 (quinze) anos ou durante o tempo em que o medicamento encontrar-se no mercado.

### 5.1.8 Materiais

No desenvolvimento do estudo foram utilizados os seguintes equipamentos, instrumentos, reagentes, soluções. Todos os equipamentos e instrumentos, etc. estavam qualificados e/ou validados, com a rotina de calibração dentro dos prazos de validade.

**Quadro 3: Descrição dos equipamentos**

<b>Equipamento</b>	<b>Fabricante</b>
Termômetro thermo flat	Becton Dickinson Ind. Cirúrgicas Ltda – Brasil
Esfignomanômetro Tycos 7050 - 14	Tycos – USA
Estetoscópio	Lytman – USA
Eletrocardiógrafo	Dixtal – Brasil
Balança	Balmak - Brasil
Centrífuga	Eppendorf
Peagômetro	Micronal
Balão	Pirex
Becker	Pirex
Pipetas de vidro	Pirex
Freezer horizontal -20°C	Eletrolux - Brasil
Pipetas ajustáveis (100, 200 e 1000µL)	Gilson Pipetman, França

**Quadro 4: Descrição dos Instrumentos**

<b>Instrumento</b>	<b>Fabricante</b>
Agulhas descartáveis 25x8	BD – USA
Agulhas 21G x 1 Vacutainer	BD – USA
Álcool 70%	HUWC-UFC
Algodão	Johnson and Johnson – USA
Heparina sódica	Cristália
Coletores de urina	Fornecido pelo Laboratório Louis Pasteur
Ponteiras plásticas para pipetas (capacidade 5-200µL)	Unilab, Brasil
Ponteiras plásticas para pipetas (capacidade 200-1000µL)	Unilab, Brasil
Seringas descartáveis de 10mL	BD – USA
Tubos Vacutainer	BD – USA
Tubos plásticos para armazenar plasma (Criotubos)	Corning Costar Corporation – Canadá
Abocath	BD – USA
Three way	Embramed
Scalp	BD – USA

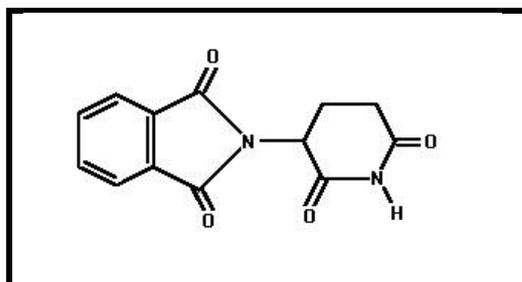
**Quadro 5: Descrição dos reagentes e/ou soluções Tampão**

Substância	Quantidade	Fabricante
Ácido cítrico anidro	4.7674g	Spectrum
Citrato de sódio	0,0538g	Sigma Aldrich
Água Milli-Q	1L	Millipore
Ácido clorídrico	q.s.p	Tedia

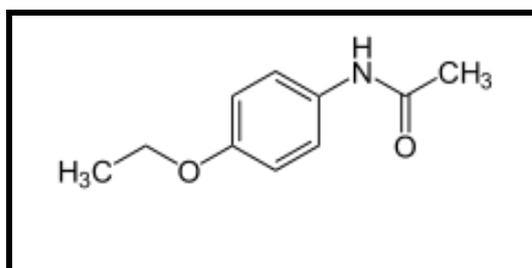
## 5.2 Etapa analítica

A etapa analítica deste estudo consiste na determinação quantitativa do fármaco e/ou metabólitos nas matrizes biológicas. Foi realizada na unidade analítica da Galeno Desenvolvimento de Pesquisas Ltda, localizada a Rua Latino Coelho, 1301 – Parque Taquaral Campinas SP, Brasil.

A farmacocinética da talidomida, após administração oral, foi determinada por cromatografia líquida de alta *eficiência* (HPLC) acoplada à espectrometria de massas (MS-MS), com ionização em *electrospray* positivo monitorando os íons resultantes da fragmentação da talidomida e da fenacetina utilizada como padrão interno.



**Talidomida**



**Fenacetina**

**Figura 5: Estrutura química do Analito e do Padrão Interno**

A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, realizada através da distribuição destes componentes entre duas fases, que estão em contato íntimo. Uma das fases permanece estacionária enquanto a outra se move através dela. Durante a passagem da fase móvel sobre a fase estacionária, os componentes da mistura são distribuídos entre as duas fases, de tal forma que cada um dos componentes é seletivamente retido pela fase estacionária, resultando em migrações diferenciais destes componentes (COLLINS; BRAGA; BONATO, 1997).

O HPLC é uma das técnicas mais empregadas nas metodologias analíticas para o acompanhamento de fármacos in vivo, pois é capaz de quantificar e identificar com precisão e exatidão os mesmos em fluidos biológicos. É o mais importante membro de uma família inteira de técnicas de separação que utiliza instrumentos muito sofisticados os quais podem ser totalmente automatizados (COLLINS; BRAGA; BONATO, 1997).

A espectrometria de massa é uma técnica analítica usada para identificar compostos desconhecidos, quantificar materiais conhecidos e elucidar as propriedades químicas e estruturais de biomoléculas tais como carboidratos, ácidos nucléicos e esteroides, no sequenciamento de biopolímeros tais como proteínas e oligossacarídeos, determinação de compostos de interesse biomédico e bioquímico em matrizes biológicas. O espectrômetro de massa é um instrumento que separa íons, positivos ou negativos, produzidos a partir de átomos ou moléculas, quer sejam das mais simples às mais complexas, de acordo com a razão massa/carga ( $m/z$ ) (SIUZDAK; HOLLENBECK; OTHNER, 1999).

### **5.2.1 Protocolo experimental para quantificação do analito**

Para garantir que os estudos realizados atendam às expectativas e exigências das autoridades regulamentadoras e das organizações que fornecem reconhecimento a Galeno Desenvolvimento de Pesquisas Ltda tem seu escopo de trabalho e Sistema de Qualidade baseados nas Normas e Resoluções: NBR ISO/IEC 17025:2001; Resolução ANVISA nº 41, de 28 de abril de 2000; Procedimento GGLAS nº 02/17025 e Procedimento GGLAS nº 02/BPL.

### 5.2.1.1 Substâncias químicas e materiais utilizados

Para o desenvolvimento, validação e aplicação das metodologias bioanalíticas propostas a qualidade e autenticidade dos padrões de referência utilizados foram verificadas. Todos com pureza maior que 98%. (Anexos 2 e 3). Os reagentes, ácido cítrico, ácido clorídrico, citrato de sódio, éter etílico e ácido fórmico foram grau analítico, a acetonitrila e o metanol com grau HPLC. Foi utilizada água purificada do sistema Milli-Q (Milipore EUA).

Para testar a especificidade, as amostras em branco do plasma humano de 6 indivíduos (normal, lipêmico e hemolizado) foram obtidas no Hemocentro de Campinas, e na Galeno Unidade Analítica, Brasil.

Os instrumentos utilizados durante os procedimentos analíticos encontram-se listados no quadro abaixo:

**Quadro 6: Descrição dos materiais utilizados**

<b>Instrumento</b>	<b>Fabricante/País</b>
Pipetas automáticas ajustáveis (P200, P1000 e P10000)	Gilson Pipetman, França
Ponteiras plásticas para pipetas ajustáveis (capacidade 5-200 µL e 200-1000 µL)	Gilson, França
Tubos de ensaio 120 x 12 mm	Laborglass, Brasil
Tubos teste de vidro descartáveis 75 x 12 mm	Costar, Brasil
Pipetas de repetição	Eppendorf, USA
Tubos teste de plástico com capacidade de de 15 e 50mL	Costar, Brasil
Vials para autoinjeter	OCP, Brazil
Misturador Vortex	Fischer, USA
Balança Analítica	AND, Japão
Centrífuga	Beckman Coulter

### 5.2.1.2 Padrões de Referência

A escolha do padrão interno utilizado no processo de validação e desenvolvimento do método bioanalítico proposto deu-se através da análise de sua

estrutura química, bem como do fármaco em estudo. Os critérios utilizados para a escolha do padrão interno foram: 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 a fenacetina foi escolhida como padrão interno.

#### Quadro 7: Descrição dos padrões de referência

Padrão	Usado como	Fabricante	Lote	Data Validade
Talidomida	Analito	FUNED	AR 2009060048	Nov/2011
Fenacetina	Padrão Interno	Aldrich	S74813	03/12/2015

#### 5.2.1.3 Condições de Detecção no Espectrômetro de Massa no Modo MS/MS

Escolhido o padrão interno, iniciou-se a avaliação das condições cromatográficas e do espectrômetro de massa ideal para o desenvolvimento do estudo.

As medidas cromatográficas foram obtidas usando um equipamento de modelo G1311A/ DE11113529 (Agilent/Alemanha), composto por uma bomba G1379A/JP0718000, um autoinjeter 110695 (CTC Analytics, Suíça). A fase móvel consistiu de Acetronila / H<sub>2</sub>O (50/50; v/v) + 0,1% Ácido Fórmico em um fluxo de 400µL/min através de uma pré-coluna Phenomenex, SecurityGuardCartridges C18 4x3mm, da coluna analítica Phenomenex, Synergi 4 µm MAX-RP 80<sup>a</sup> (50x4.6mm), em temperatura ambiente. O volume de injeção foi de 15 µl. O espectrômetro de massa (API3000/D13850408) foi equipado com uma fonte de ionização *eletrospray* no modo positivo (ES+) e configurado em monitoramento de múltiplas reações (MRM), monitorando as transições m/z 259,00 >186,00 para monitoramento da talidomida e 180,00 > 110,10 para a fenacetina. O fluxo do gás de dessolvatação (N<sub>2</sub>) foi de 400µL/min. O dwell time foi configurado em 300msec, o valor da energia de colisão foi de 29kV ou V, para a talidomida e fenacetina, com pressão de gás (argônio) de 45 bar. A aquisição e análise dos dados foram obtidas usando o programa Analyst 1.4.1 (*Applied Biosystems/Canada*).

#### 5.2.1.4 Critérios para Validação do Método Bioanalítico

##### I. Determinação do limite de quantificação (LQ)

O limite de quantificação do método analítico foi definido levando-se em consideração a sensibilidade, especificidade, precisão e exatidão do método.

Para a determinação do LQ, foram feitas análises da matriz biológica contendo concentrações decrescentes do fármaco até o menor nível quantificável com precisão e exatidão aceitáveis. Com isto, tentou-se assegurar que os menores valores possíveis fossem analisados, por meio de repetições de análises, com valores sucessivamente menores, quando os inicialmente escolhidos fossem quantificados com precisão e exatidão aceitáveis.

A determinação do LQ do método proposto seguiu os seguintes critérios:

- Nenhuma interferência presente nos espaços em branco no tempo de retenção do analito ou uma resposta 5 vezes maior do que a interferência presente no branco nesse mesmo tempo da retenção;
- Pico de resposta do analito identificável, discreto e com uma exatidão entre 80 – 120% em relação à concentração nominal do padrão;
- Precisão (CV%) de 20%, calculada entre as replicatas aprovadas;

Assim, o LIQ validado sob a circunstância encontrada durante a validação pré-estudo foi de 20 ng/mL para a talidomida.

##### II. Curva de calibração / linearidade

Para a determinação da curva de calibração analisaram-se amostras extraídas da matriz biológica em sete concentrações distintas. A matriz biológica utilizada durante este estudo foi preparada misturando plasma humano com a solução tampão citrato 25mM, pH 1,5 na mesma proporção em volume. No estudo em questão, o plasma se refere sempre à solução de plasma/tampão (50/50, v/v).

A Curva de Calibração incluiu a análise de duas amostras branco (amostra de matrix processadas sem padrão interno), duas amostra zero (amostra

de matrix processada com padrão interno) e amostras padrão de plasma (non-zero), em duplicata, cobrindo a faixa prevista das concentrações a serem quantificadas. A curva de calibração foi preparada com plasma humano controle e com a solução de trabalho preparada para a curva de calibração contendo o analito a ser quantificado.

As concentrações dos padrões foram definidas em testes preliminares, incluindo a primeira quantificação de amostras, levando-se em consideração a sensibilidade do método e a faixa prevista das concentrações das amostras cujos valores são 20, 40, 100, 200, 500, 1500, 3000 e 5000ng/mL.

A linearidade da curva de calibração foi avaliada dentro dos seguintes critérios:

- Desvio menor ou igual a 20% em relação à concentração nominal para o LIQ;
- Desvio menor ou igual a 15% em relação à concentração nominal para as outras concentrações da curva de calibração;
- Um mínimo de 67% dos pontos da curva de calibração deve cumprir com os critérios anteriores, incluindo pelo menos uma das réplicas do LIQ e da maior concentração da curva de calibração;
- O coeficiente de correlação linear deve ser igual ou superior a 0,98.

### **III. Precisão e exatidão**

Para avaliar a precisão e a exatidão do método analítico desenvolvido utilizaram-se três concentrações distintas, CQB, CQM, CQA, na faixa de concentrações esperadas, onde se avaliou o uso de sete determinações para cada concentração.

A precisão e a exatidão foram avaliadas com base numa mesma corrida (intracorrída) que define aqueles parâmetros, durante uma única corrida analítica; e com base em corridas diferentes (intercorrída) que mensura a variabilidade entre os dias, envolvendo possivelmente diferentes analistas, reagentes, etc.

Para aprovar a precisão e a exatidão, intra e intercorrídas, a precisão para cada nível de concentração, o coeficiente de variação (CV) não podia exceder 15% e a exatidão exigia que o valor médio das amostras em cada nível de concentração, estivesse dentro de 85 a 115% do valor real.

#### **IV. Especificidade**

Para avaliar a especificidade, foram analisadas amostras de plasma humano branco, obtidas de seis indivíduos do Hemocentro de Campinas e da Galeno Unidade Analítica, Brasil.

Cada amostra em branco foi testada quanto aos seus interferentes utilizando o procedimento proposto de extração e as condições cromatográficas ou espectroscópicas e comparada com aquelas obtidas de uma solução aquosa do analito (talidomida) em uma concentração próximo ao limite da quantificação.

#### **V. Recuperação**

O cálculo da recuperação do fármaco é feito comparando-se as áreas dos picos do analito (controles de qualidade, baixo, médio e alto) das amostras extraídas do plasma com as áreas dos picos do analito preparado em solução (solução não extraída). As áreas correlacionadas com a concentração, considerando-se que as áreas obtidas para os controles baixo, médio e alto, preparados em solução (amostras não extraídas) correspondem, respectivamente, as concentrações nominais dos analitos.

O cálculo da recuperação do padrão interno é feito de maneira análoga, ou seja, comparando-se as áreas do pico do padrão interno extraída do plasma com as áreas dos picos do padrão interno preparada em solução (amostra não extraída) na concentração definida.

#### **VI. Estudo de estabilidade do fármaco no fluido biológico**

Os procedimentos de estabilidade avaliaram a estabilidade do analito no plasma humano, em condições distintas de temperatura e acomodação, bem como sua estabilidade em soluções de estoque.

A estabilidade nos fluidos biológicos é dependente das condições de armazenamento, das propriedades químicas da droga, da matriz empregada (plasma humano) e sistema de armazenamento. O resultado do presente teste é relevante somente sob as mesmas condições e não deve ser extrapolado para outras matrizes e sistemas de armazenamento.

Para o teste de estabilidade uma série de amostras foi preparada da mesma Master e soluções de trabalho utilizadas para as amostras CQs e LIQ. As amostras das respectivas concentrações, baixa, média e alta incluindo o analito foram utilizadas. As amostras de plasma humano de cada concentração foram preparadas em um volume suficiente para obter alíquotas múltiplas para cada concentração. Cinco alíquotas de cada concentração (concentração referência) foram preparadas a fresco e imediatamente quantificadas a fim de fornecer os valores de referência (fresco) e outras cinco alíquotas de cada concentração armazenadas foram processadas para os seguintes testes (pós-processamento, ciclos de descongelamento e congelamento, curta duração, longa duração e estabilidade de soluções padrão). (BRASIL, 2002b).

#### 5.2.1.5 *Extração das Amostras (extração líquido-líquido)*

Os procedimentos de extração líquido-líquido das amostras foram aplicados não apenas para as amostras dos voluntários analisadas, mas também para os padrões das curvas de calibração e amostras de controle de qualidade. Para a extração do analito (talidomida) e do padrão interno (fenacetina) das amostras biológicas, os seguintes passos foram seguidos:

As extrações ocorreram sob uma luz amarela, e cada alíquota de 200µL da amostra de plasma, de cada tempo de coleta, foi adicionada a tubos (numerados de acordo com a folha pró-forma do ensaio) contendo 50µL do padrão interno (solução de Fenacetina 1500ng/mL). Os tubos foram agitados, em um vortex, por 10 segundos e colocados numa estante à temperatura ambiente, por 5 minutos. Adicionou-se 20uL de ácido fórmico 88% e os tubos foram novamente agitados num vortex por 10 segundos. Em seguida foi adicionado 4mL de solvente de extração Éter Etilico e homogeneizado em vortex por 40 segundos. Os tubos foram centrifugados a 4000RPM por 2 minutos. As amostras foram congeladas à -80°C. A fase orgânica superior foi removida cuidadosamente e transferida para outro jogo de tubos de vidro limpos de 12 x 75mm para evaporação sob fluxo de N<sub>2</sub> a 30°C; Os resíduos secos foram dissolvidos com 200uL de Acetonitrila/Água (50/50; v/v) + 0,1% de ácido fórmico e homogeneizado (vortex) por 10 segundos para que os resíduos fossem reconstituídos As soluções foram transferidas para *vials*, utilizando

pipetas automáticas com ponteiros de plástico descartáveis, que posteriormente foram fechados e acondicionados na bandeja do autoinjeter.

Todas as etapas de extração das amostras biológicas foram realizadas em uma capela de fluxo laminar vertical, para evitar exposição às soluções de reagentes tóxicos e voláteis.

#### 5.2.1.6 Validação do Método Bioanalítico

O procedimento descrito foi validado de acordo com recomendações internacionais para métodos bioanalíticos (HUBERT; CHIAP, 1999; SHAH *et al.*, 2000). As curvas de calibração são definidas utilizando-se quatro corridas de diferentes lotes de plasma em duplicata com amostras de plasma contaminadas nas concentrações (20, 40, 100, 200, 500, 1500, 3000 e 5000ng/mL para talidomida. As curvas de calibração foram construídas pela razão das áreas dos picos dos analitos pelo padrão interno. O menor limite de quantificação (LQ) foi definido como a menor concentração a qual pode ser quantificada com um valor de ruído abaixo de 20% e relação sinal-ruído menor que 15 (n=7). O efeito matriz foi determinado em seis diferentes lotes de plasma branco (VAN ROOYEN *et al.*, 2002). Cada amostra branco foi testada para verificar interferências utilizando o procedimento de extração e comparados com aqueles obtidos com solução aquosa do analito em uma concentração próxima do LQ. A seletividade do sistema de detecção foi verificada para avaliar a possibilidade de *cross-talk*. Este teste foi realizado com as seguintes etapas: (1) injeção de branco extraído e monitorando a resposta na transição talidomida e fenacetina; (2) injetando separadamente uma amostra de plasma contaminada somente com talidomida na concentração mais alta e monitorando a resposta na transição do padrão interno e talidomida; (3) injetando uma amostra de plasma contaminada somente com padrão interno e monitorando a transição da talidomida. A precisão e exatidão inter e intralote do método foram avaliadas realizando análises em replicatas (n=7) das amostras em plasma dos controles de qualidade com curva de calibração. O procedimento foi repetido em diferentes dias para determinar a precisão e exatidão interlote dos dados. A exatidão e precisão intralote foram determinadas pela análise de amostras contaminadas em replicatas no mesmo dia. A exatidão (percentual do erro relativo (%ER)) foi calculada pela razão da concentração experimental e a nominal das amostras de plasma

contaminadas. A precisão do método (análise inter e intralote) foi calculada pelo percentual do desvio padrão relativo (DPR%) entre as medidas repetidas.

A eficiência do método de extração para talidomida em três lotes diferentes de plasma foi determinada analisando as amostras do controle de qualidade. A recuperação relativa foi determinada comparando a média das áreas ou respostas de sete amostras de plasma de cada controle contaminadas antes da extração com as contaminadas após a extração (n=7). A recuperação do padrão foi também determinada pelo mesmo procedimento.

A estabilidade da talidomida estocado em três concentrações foi investigada sob diversas condições de tempo e temperatura. A estabilidade em amostras extraídas e estocadas no autoinjeter (temperatura ambiente) foi determinada depois de 67 h e 30 minutos. A estabilidade por congelamento e descongelamento de amostras de plasma foi conduzida com três ciclos de congelamento e degelo durante três dias. A estabilidade curta duração para amostras de controle de qualidade depois de 8 horas de armazenamento em temperatura ambiente também foi avaliada. Além disso, a estabilidade de longa duração depois de 43 dias de armazenamento (em -80°C) foi determinada. Todas as amostras (n=5) foram analisadas utilizando amostras para curva de calibração recém preparadas.

#### 5.2.1.7 Aplicação dos Métodos Propostos em Estudos Farmacocinéticos

Para avaliação dos parâmetros farmacocinéticos tais como área sob a curva do tempo zero ao infinito ( $AUC_{0-\infty}$ ), do tempo zero a última coleta ( $AUC_{0-h}$ ), concentração máxima atingida ( $C_{m\acute{a}x}$ ), tempo para atingir a concentração máxima ( $T_{m\acute{a}x}$ ), meia-vida plasmática ( $t_{1/2}$ ) foram calculados.

A meia-vida foi calculada através da fórmula, ( $t_{1/2} = \ln 2/K$ ). A concentração plasmática máxima observada ( $C_{m\acute{a}x}$ ) e o tempo para obter esta concentração ( $T_{m\acute{a}x}$ ) foram obtidos diretamente da curva. A área sob a curva de concentração plasmática *versus* tempo de ( $AUC_{0-h}$ ) foi calculada pelo método trapezoidal. A extrapolação dessa área para o infinito ( $AUC_{0-\infty}$ ) foi feita adicionando o valor da relação  $C_{0-h}/K$  (onde  $C_{0-h}$  é a concentração plasmática obtida da última coleta e K, que é a constante de eliminação) a  $AUC_{0-h}$ .

### 5.3 Etapa estatística

#### 5.3.1 Modelagem análise farmacocinética

A análise dos parâmetros farmacocinéticos foi realizada usando modelo não-compartimental adequado para concentrações de talidomida em plasma, para via extravascular. Os parâmetros foram determinados diretamente dos valores de concentração (03 dígitos significativos) reportados para cada tratamento. Integração para o cálculo de área sob a curva foi realizada usando método trapezoidal linear.

A análise estatística foi realizada com base em modelo multiplicativo para valores de  $ASC_{0-t\acute{u}ltimo}$  e  $C_{m\acute{a}x}$ . O desenho foi avaliado usando modelo apropriado (*Mixed Models Procedure*), tendo tratamento como efeito fixo e voluntário como efeito aleatório.

A avaliação de BA/BE média foi realizada pela média do intervalo de confiança, usando dois testes unicaudais. O critério estabelecido para todos os parâmetros foi intervalo de confiança de 90% dentro do intervalo de 80-125%.

#### 5.3.2 Software

Os seguintes programas foram utilizados para o cálculo dos parâmetros farmacocinéticos, estatística descritiva e apresentação dos dados:

- WinNonLin Professional Network Edition, Versão 5.3.
- Microsoft Excel 2010
- Graph Pad Prism. Version 5.0

#### 5.3.3 Parâmetros

Os seguintes parâmetros farmacocinéticos foram determinados:

**Quadro 8: Parâmetros farmacocinéticos**

<b>Parâmetro</b>	<b>Definição</b>
$ASC_{\text{último}}$	Área sob a curva de concentração da droga <i>versus</i> tempo do tempo 0 (zero) ao tempo da última concentração acima do Limite de Quantificação (LOQ), calculada pelo método linear trapezoidal;
$ASC_{\text{inf}}$	$ASC_{0\text{-último}} + ASC_{\text{extrapol}}$
% $ASC_{0\text{-inf}}$	Porcentagem de $ASC_{\text{INF}}$ que é extrapolada do $T_{\text{último}}$ para o infinito $((ASC_{\text{INF}} - ASC_{\text{último}}) / ASC_{\text{INF}}) * 100$
$C_{\text{máx}}$	Concentração máxima no plasma
$T_{\text{máx}}$	Tempo da concentração máxima
$t_{1/2}$	Tempo de meia vida, $t_{1/2} = \ln(2)/\lambda$
$t_{\text{último}}$	Tempo da última concentração quantificável
$K_e$	Constante de taxa de eliminação terminal determinada por análise de regressão log-linear
$ASC_{\text{último}}/\text{Dose}$	Área sob a curva de concentração da droga <i>versus</i> tempo do tempo 0 (zero) ao tempo da última concentração acima do Limite de Quantificação (LOQ) dividida pela dose
$ASC_{\text{inf}}/\text{Dose}$	$(ASC_{0\text{-último}} + ASC_{\text{extrapol}})/\text{Dose}$
$C_{\text{máx}}/\text{Dose}$	Concentração máxima no plasma, dividida pela dose
$V_d$	$\text{Dose}/K_e * ASC_{\text{inf}}$
$Cl$	$\text{Dose}/ASC_{\text{inf}}$

**5.3.4 Apresentação dos dados, e estatística descritiva**

As concentrações plasmáticas mensuradas para cada tratamento foram relacionadas em um capítulo a parte (concentrações plasmáticas contra o tempo teórico das amostras no sangue na escala linear), junto com os correspondentes parâmetros farmacocinéticos. As concentrações plasmáticas média contra tempo teórico das amostras no sangue na escala linear foram apresentadas, junto com a estatística descritiva dos parâmetros farmacocinéticos.



## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Etapa clínica

O protocolo experimental foi delineado com características de um estudo aberto, randomizado, cruzado, com dois tratamentos, dois períodos (duas sequências), nos quais os voluntários recebem, em cada período distinto, 02 comp. de 100mg ou 04 comp. de 100mg da talidomida em dose única conforme tabela de randomização (Tabela 1), ingeridos com 220mL de água.

Uma das vantagens do estudo cruzado, é que cada indivíduo serve como seu próprio controle, o que permite uma comparação do indivíduo com ele mesmo, para as diferentes formulações avaliadas. Além disso, este tipo de delineamento remove a variabilidade interindividual na comparação entre doses diferentes de uma mesma formulação, no caso de estudos farmacocinéticos, e entre formulações diferentes, nos estudos de bioequivalência (BRASIL, 2006).

A dose única é o esquema posológico de escolha para estudos de biodisponibilidade comparativa uma vez que favorece a detecção de diferenças no processo de absorção das formas farmacêuticas além de ser seguro aos voluntários, ter menor custo e requerer menor tempo de ensaio (BRASIL, 2006).

A talidomida, por força da Portaria 354, de 15 de agosto de 1997, é proibida para mulheres em idade fértil em todo o território nacional. A associação do fármaco com anticoncepcionais pode anular os efeitos contraceptivos. Em casos excepcionais de indicações para mulheres em idade fértil, é recomendada a abstinência sexual ou o uso de vários métodos contraceptivos aliados. Por estes motivos somente foram selecionados voluntários do sexo masculino para este ensaio clínico (BRASIL, 1977).

Foi fornecido preservativo para todos os voluntários, para uso durante o estudo e, por segurança, mais 15 dias após a última dose. Para homens em tratamento com a talidomida, a RDC 140/2003, da ANVISA, prevê que sejam informadas na bula do medicamento as seguintes recomendações: “Os homens que utilizam a talidomida e mantêm vida sexual ativa com mulheres em idade fértil, mesmo tendo sido submetidos à vasectomia, devem ser orientados a adotar o uso de preservativo, durante o tratamento” e, ainda, “sobre importância dos usuários não doarem sangue ou esperma” (BRASIL, 2003a).

Segundo a professora Lavínia Schuler Faccini, doutora em genética pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e representante da Organização Mundial de Saúde (OMS) no Brasil, a quantidade de talidomida eliminada com o sêmen de pacientes que usam essa droga é insuficiente para causar a má-formação congênita de fetos concebidos durante o tratamento masculino. Segundo ela, pesquisas científicas recentes demonstram que as quantidades de talidomida presentes no sêmen - de 10 a 250ng da substância por grama de sêmen são insuficientes para prejudicar o feto (RODRIGUES, A., 2008).

"É uma quantidade muito pequena. Se imaginarmos que isso ainda teria que passar pela mucosa e pela placenta antes de atingir o bebê, concluiremos que essas doses não são consideradas capazes de causar algum problema", diz Lavínia. Ele esclarece que, pelo conhecimento científico disponível até o momento, é possível dizer que, "com muita probabilidade, o risco não existe".

Mas, como a recomendação permanece até hoje nas bulas dos medicamentos, a exemplo do que ocorre em outros países, os voluntários receberam e foram orientados ao uso do preservativo.

Os 24 voluntários aceitos no estudo foram considerados saudáveis, a juízo de profissionais legalmente habilitados, com base na história médica, exame físico e os exames laboratoriais que antecedem a admissão no estudo. O número de voluntários sadios assegurou poder estatístico suficiente para garantir a confiabilidade dos resultados do estudo (BRASIL, 2003b). O termo voluntário normal ou sadio deve ser interpretado como indivíduo adulto, sem anormalidades clínico-laboratoriais que sejam capazes de prejudicar a interpretação do experimento ou aumentar a sensibilidade do indivíduo ao potencial tóxico do fármaco em estudo (LLOYD, 1994).

Cada internamento compreendeu um período de aproximadamente 36 horas, com sete dias de intervalo entre eles (*washout*). Este intervalo garantiu a eliminação do fármaco do organismo evitando, assim, possíveis efeitos residuais (BRASIL, 2006).

Os voluntários foram randomizados de acordo com os critérios da Resolução ANVISA 898, de 29 de maio de 2003 (BRASIL, 2003b).

**Tabela 1: Alocação aleatória dos voluntários a um grupo (sequência).**

Nº	Sexo	Iniciais	Sequência	Período I	Período II
6	♂	SS090288	2	200mg	400mg
7	♂	YA010684	1	400mg	200mg
1	♂	GA200869	2	200mg	400mg
2	♂	FC300488	1	400mg	200mg
5	♂	FM171087	1	400mg	200mg
10	♂	PC060488	2	200mg	400mg
12	♂	FS181168	1	400mg	200mg
14	♂	JN140862	2	200mg	400mg
19	♂	IS270391	2	200mg	400mg
18	♂	RP290992	1	400mg	200mg
13	♂	FN290363	2	200mg	400mg
17	♂	LA040985	1	400mg	200mg
15	♂	RB200891	2	200mg	400mg
23	♂	IC110190	1	400mg	200mg
21	♂	TM060985	2	200mg	400mg
22	♂	CA190578	1	400mg	200mg
24	♂	AS071190	1	400mg	200mg
20	♂	AM220482	2	200mg	400mg
9	♂	AP250587	1	400mg	200mg
11	♂	FP200190	2	200mg	400mg
4	♂	AS230884	1	400mg	200mg
16	♂	EN300881	2	200mg	400mg
3	♂	MM131080	1	400mg	200mg
8	♂	AO170381	2	200mg	400mg

**Formulação 1 – Talidomida (2 x 100 mg comprimido) – Fundação Ezequiel Dias (FUNED)**

**Formulação 2 – Talidomida (4 x 100 mg comprimido) – Fundação Ezequiel Dias (FUNED)**

**Códigos Iniciais: ABDDMMAAS – A = Inicial primeiro nome, B = Inicial último nome, DD = Dia, MM – Mês, AA = Ano, S = Sexo**

O medicamento foi administrado entre 07:00h e 07:46h, respeitando o intervalo de dois minutos entre um voluntário e outro e não houve atraso no procedimento em nenhum dos dois internamentos.

Todos os voluntários receberam a mesma dieta (sólidos e líquidos), nos mesmos horários. Esta ferramenta de padronização teve a finalidade de minimizar possíveis interferências da dieta na absorção.

Amostras sanguíneas para a determinação dos níveis plasmáticos de talidomida foram obtidas antes da administração (tempo zero) e após a administração da formulação (0:30, 1, 1:30, 2, 2:30 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18, 24 e 36 horas). Os tempos escolhidos para as coletas das amostras sanguíneas foram baseados na meia vida de eliminação do fármaco e no valor previsto de  $C_{m\acute{a}x}$  e  $T_{m\acute{a}x}$ . É extremamente importante a escolha correta dos tempos de coleta, pois são eles

que irão definir o formato da curva de concentração plasmática *versus* tempo e estimar com maior precisão o valor de  $C_{m\acute{a}x}$ , e  $ASC_{0-t}$ . De acordo com os órgãos regulatórios, recomenda-se que sejam feitas coletas de sangue entre 3,5 a 5 vezes a meia vida do fármaco em estudo (BRASIL, 2006).

Das 768 amostras de sangue coletadas durante o estudo, apenas 14 foram colhidas com atraso e destas, 06 aconteceram na coleta externa de 36 horas (quando os voluntários já não estavam internados). Dos atrasos que ocorreram durante os internamentos, duas atrasaram em 1 minuto, duas em 2 minutos e as outras quatro, em quatro minutos. O índice de atraso foi inferior a 0,5% refletindo a qualidade e o compromisso da equipe de trabalho.

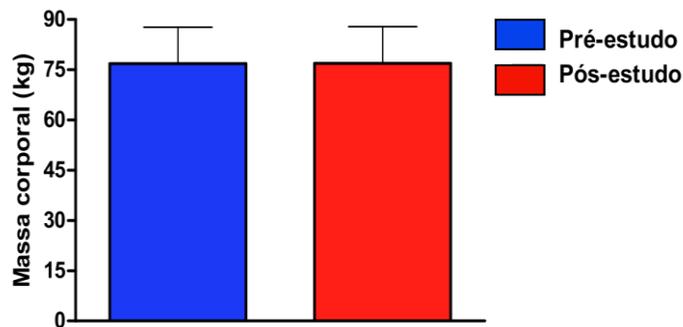
Para avaliação das variáveis quantitativas, contínuas e discretas deste estudo, inicialmente foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a normalidade da distribuição. Para a estatística descritiva, calcularam-se a média e o desvio padrão (dados paramétricos) ou a mediana, intervalo interquartil e valores mínimo e máximo (dados não paramétricos). Comparações entre as fases do estudo (pré e pós-estudo) ou entre as doses de talidomida avaliadas (200mg e 400mg) foram feitas mediante o uso do teste t para variáveis emparelhadas (dados paramétricos) ou do teste de Wilcoxon (variáveis não paramétricas) (ARMITAGE; BERRY, 1994).

Variáveis qualitativas nominais foram expressas como frequência absoluta e relativa e analisadas pelo teste de McNemar para variáveis categóricas emparelhadas. Variáveis qualitativas ordinais foram expressas como mediana, intervalo interquartil e valores mínimo e máximo, e analisadas pelo teste de Wilcoxon (ARMITAGE; BERRY, 1994).

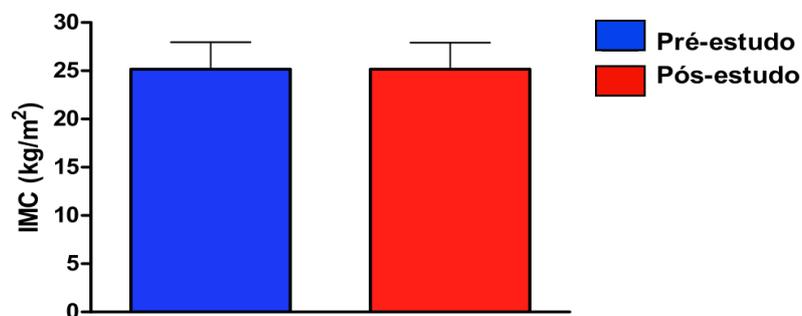
Em todas as análises, estabeleceu-se o nível de significância em 0,05 (5%), sendo considerado como estatisticamente significativo um valor P menor que 0,05. Os softwares GraphPad Prism<sup>®</sup> versão 5.00 para Windows<sup>®</sup> (GraphPad Software, San Diego, Califórnia, USA, 2007) e SPSS<sup>®</sup> versão 15.0 para Windows<sup>®</sup> (Statistical Package for the Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, 2006) foram utilizados para a realização dos procedimentos estatísticos.

A idade dos voluntários variou entre 18 e 48 anos, ( $27,75 \pm 8,74$ ), peso de 49,3 a 100,7 Kg ( $76,0 \pm 11,23$ ) e altura entre 1,58 e 1,87 cm ( $1,75 \pm 0,07$ ). Todos os voluntários tinham Índice de Massa Corpórea (IMC) maior ou igual a 19 e menor ou igual a 30; pré-estudo ( $25,15 \pm 2,80$  kg) e pós-estudo ( $25,15 \pm 2,77$  kg). Os limites do

IMC são definidos no *Report of the Dietary Guidelines Advisory Committee on the Dietary Guidelines for Americans, 2000, Department of Agriculture U.S. (USDA) - Secretary of Health and Human Services, Fifth Edition, 2000*, tendo sido aceita tolerância de 8%, quanto ao limite superior (USDA, 2000).



**Figura 6:** Massa corporal, expressa em kg, verificada nos voluntários nas fases de pré-estudo e pós-estudo. Os dados correspondem à média e desvio padrão das medições efetuadas em 24 voluntários. O teste t para variáveis emparelhadas foi usado para comparar as duas fases do estudo. Não foi constatada diferença estatisticamente significativa ( $P = 0,9555$ ) entre as fases de pré-estudo ( $76,79 \pm 10,81$ kg) e pós-estudo ( $76,82 \pm 10,96$ kg) em relação à massa corporal.



**Figura 7:** Índice de massa corporal (IMC), expresso em  $\text{kg/m}^2$ , verificado nos voluntários nas fases de pré-estudo e pós-estudo. Os dados correspondem à média e desvio padrão das medições efetuadas em 24 voluntários. O teste t para variáveis emparelhadas foi usado para comparar as duas fases do estudo. Não foi constatada diferença estatisticamente significativa ( $P = 0,9984$ ) entre as fases de pré-estudo ( $25,15 \pm 2,80$ kg) e pós-estudo ( $25,15 \pm 2,77$ kg) em relação ao IMC.

Os voluntários foram acompanhados clinicamente durante todo o período do estudo. A avaliação de sinais vitais (temperatura, pulso e pressão arterial) foi realizada antes da administração e após 4, 8, 12 e 24 horas da administração da formulação, para monitorar possíveis alterações das funções orgânicas básicas. As

aferições mostraram que os sinais vitais dos voluntários se mantiveram dentro dos limites da normalidade em todos os momentos, desde a seleção até a alta do estudo. As faixas de normalidade consideradas foram: Temperatura axilar: 35,8 a 37°C; Frequência Cardíaca: 65 a 80bpm; Frequência Respiratória: 15 a 20mm; Pressão Sistólica: 90 a 140mmHg e Pressão Diastólica 60 a 90mmHg.

Nos exames laboratoriais, houve diferenças entre as fases de pré e pós-estudo, sobretudo nos parâmetros hematimétricos, apresentados na tabela 2, que, de fato, poderiam diminuir tendo em vista a retirada de sangue. No entanto, tais diferenças não são clinicamente relevantes, pois os valores permaneceram dentro dos limites de referência. Os resultados dos demais exames encontram-se nas tabelas 3 e 4. Alterações de até 10% nos resultados dos exames laboratoriais não foram consideradas se avaliados, pelo médico, como sem significado clínico.

**Tabela 2: Dados do hemograma referentes às mensurações realizadas nos voluntários nas fases de pré-estudo e pós-estudo. Valores expressos como média e desvio padrão (dados paramétricos) ou mediana e intervalo interquartil (dados não paramétricos) das medições efetuadas em 24 voluntários. Comparações entre as duas fases do estudo foram feitas mediante o uso do teste t para variáveis emparelhadas (dados paramétricos) ou do teste de Wilcoxon (dados não paramétricos).**

Parâmetro	Pré-estudo	Pós-estudo	Significância
Hemácias (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	5,09 ± 0,33	4,92 ± 0,34	P<0,0001
Hemoglobina (g/dL)	15,23 ± 0,75	14,75 ± 0,75	P=0,0001
Hematócrito (%)	44,43 ± 2,01	43,30 ± 2,05	P=0,0028
Leucócitos (1/mm <sup>3</sup> )	7245,83 ± 1205,05	6550,00 ± 1205,06	P=0,0160
Neutrófilos (%)	52,79 ± 7,28	50,25 ± 7,25	P=0,0311
Eosinófilos* (%)	3,00 (2,00 a 4,00)	3,50 (2,25 a 4,00)	P=0,2876
Basófilos* (%)	0,00 (0,00 a 1,00)	0,00 (0,00 a 1,00)	P=1,0000
Linfócitos (%)	34,25 ± 6,23	34,92 ± 6,38	P=0,5173
Monócitos* (%)	8,50 (8,00 a 10,75)	10,00 (8,25 a 11,75)	P=0,0072
Plaquetas (1/mm <sup>3</sup> )	250250,00 ± 71330,37	252041,70 ± 67432,73	P=0,8181

\*Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) e analisados pelo teste de Wilcoxon.

**Tabela 3: Valores dos parâmetros bioquímicos referentes às mensurações realizadas nos voluntários nas fases de pré-estudo e pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 24 voluntários. O teste t para variáveis emparelhadas foi usado para comparar as duas fases do estudo.**

Parâmetro	Pré-estudo	Pós-estudo	Significância
Glicose (mg/dL)	91,38 ± 5,58	89,21 ± 5,95	P=0,1380
Creatinina (mg/dL)	0,93 ± 0,10	0,96 ± 0,16	P=0,4958
Ureia (mg/dL)	27,96 ± 5,26	22,54 ± 9,36	P=0,0049
Colesterol (mg/dL)	177,79 ± 29,51	170,43 ± 31,91	P=0,0024
TGO (U/L)	22,50 ± 4,31	23,95 ± 4,84	P=0,1630
TGP (U/L)	23,92 ± 6,92	24,29 ± 7,72	P=0,8167
Fosfatase alcalina (U/L)	73,58 ± 16,02	69,54 ± 15,35	P=0,0223

\*Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) e analisados pelo teste de Wilcoxon.

**Tabela 4: Valores da densidade e pH urinários referentes às mensurações realizadas nos voluntários nas fases de pré-estudo e pós-estudo. Dados expressos como média e desvio padrão das medições efetuadas em 24 voluntários. O teste t para variáveis emparelhadas foi usado para comparar as duas fases do estudo.**

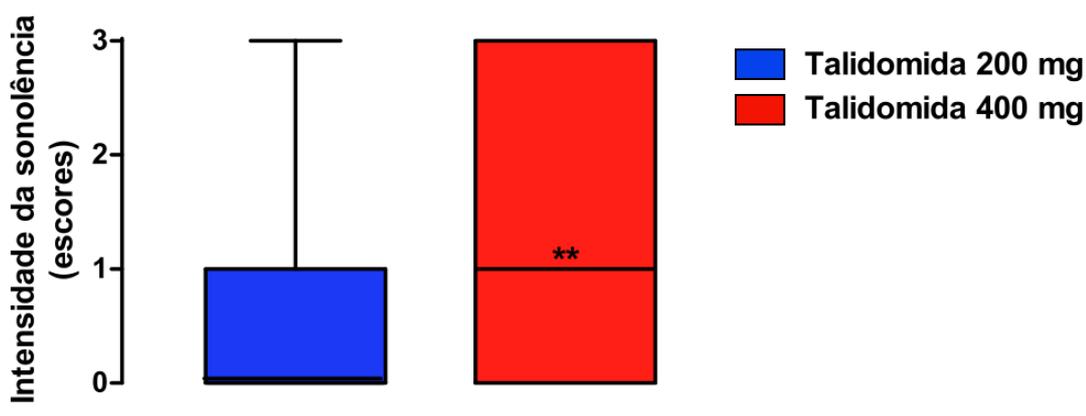
Parâmetro	Pré-estudo	Pós-estudo	Significância
Densidade	1,018 ± 0,006	1,020 ± 0,005	P=0,3724
pH	5,750 ± 0,643	5,750 ± 0,933	P=1,0000

\*Dados expressos como mediana e intervalo interquartil (percentil 25 – percentil 75) e analisados pelo teste de Wilcoxon.

Dos 24 voluntários que participaram do estudo, nove (37,5%) relataram algum evento adverso. Dos eventos relatados, três deles (dor no local do acesso venoso, dor no pescoço e dor de garganta) não foram considerados relacionados ao medicamento em estudo. A decisão do investigador foi baseada nos seguintes critérios: não há informações científicas prévias sobre o evento; não há provas com evidências objetivas (exames laboratoriais, pressão arterial, e outros parâmetros) ou subjetivas (clínicas); presença de causas alternativas que podem ter causado o evento observado; ausência de reação semelhante com o uso do mesmo

medicamento no outro internamento ou com o uso de medicamentos do mesmo grupo farmacológico e ausência de reincidência quando da nova administração do medicamento (GUZZO, 2004). Nenhum desses sintomas foi recorrente no mesmo voluntário. Nenhum voluntário necessitou de medicação adicional.

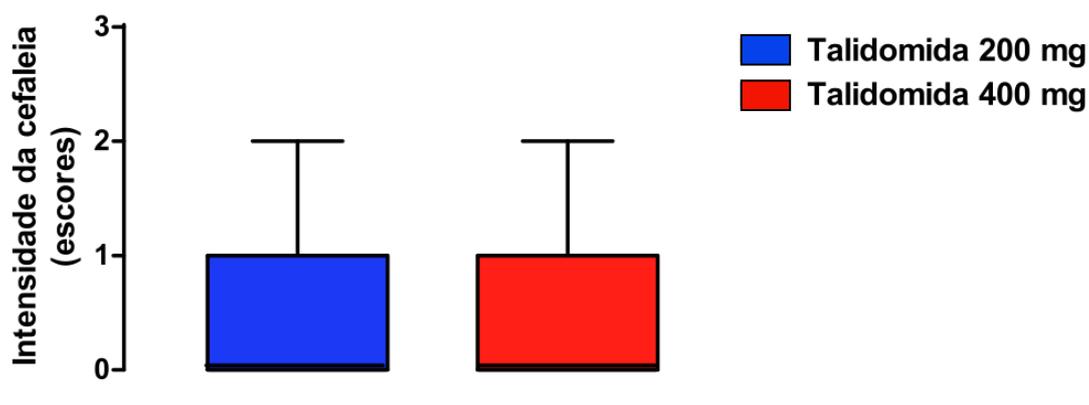
Sonolência e cefaleia foram dois dos eventos, relacionados ao fármaco, apresentados pelos voluntários.



**Figura 8: Intensidade da sonolência, conforme o relato dos voluntários, considerando as doses de 200 e 400mg de talidomida, segundo os seguintes critérios: 0 (ausência), 1 (leve), 2 (moderada) e 3 (intensa). Dados expressos como mediana, intervalo interquartil e valores mínimo e máximo dos escores de intensidade da sonolência, e analisados pelo teste de Wilcoxon. Constatou-se que a intensidade da sonolência referente à dose de 400 mg (1,00; 0,00 a 3,00) foi significativamente maior (\*\*P = 0,0026) que a relativa à dose de 200mg (0,00; 0,00 a 1,00).**

A intensidade da sonolência foi significativa quando com a dose de 400mg. Esse dado alerta para o cuidado quando do início de um tratamento. Sabe-se que com a sonolência excessiva a concentração, a atenção e a memória ficam comprometidas, os reflexos também ficam prejudicados, o que pode comprometer o desenvolvimento de atividade básicas. O fato é que a sonolência excessiva diurna deve ser levada muito a sério para evitar consequências importantes, como acidentes de trânsito e de trabalho.

De acordo com a Farmacopeia Americana, a sonolência, pelo uso da talidomida, pode desaparecer durante o tratamento à medida que o seu organismo se ajusta ao medicamento. Muitos pacientes rapidamente se ajustam à sonolência e são capazes de retomar suas atividades diárias normais (USP-DI, 2003).



**Figura 9: Intensidade da cefaleia, conforme o relato dos voluntários, considerando as doses de 200 e 400mg de talidomida, segundo os seguintes critérios: 0 (ausência), 1 (leve), 2 (moderada) e 3 (intensa). Dados expressos como mediana, intervalo interquartil e valores mínimo e máximo dos escores de intensidade da sonolência e analisados pelo teste de Wilcoxon. Não foi constatada diferença estatisticamente significativa ( $P = 1,0000$ ) entre as doses de talidomida de 200mg (0,00; 0,00 a 1,00) e 400mg (0,00; 0,00 a 1,00) em relação à intensidade da cefaleia.**

Com exceção da sonolência e cefaleia, os demais eventos adversos relacionados ao fármaco, tontura (03 relatos) e cãibra (01 relato), ocorreram apenas após a dose de 400mg, impossibilitando a aplicação do teste de McNemar, para variáveis categóricas emparelhadas tendo em vista que não houve relato de tontura nem de cãibra pelos voluntários após a dose 200mg de talidomida.

Os eventos adversos relatados pelos voluntários estão de acordo com os efeitos farmacológicos descritos na monografia do fármaco.

Os dados clínicos de cada voluntário foram registrados em ficha apropriada que consta dos critérios de admissão, história médica pré-estudo, exame físico geral pré e pós-estudo, resultado ECG pré e pós-estudo, ficha de administração, coleta de sangue e aferição de sinais vitais, registro de eventos adversos, utilização de medicamentos para os eventos adversos, término prematuro do estudo, determinações laboratoriais e comentários adicionais.

Todos os voluntários concluíram o estudo, não havendo nenhuma desistência ou retirada.

## 6.2 Etapa analítica

O Estudo Analítico foi conduzido de acordo com o *The OECD Series on Principles of Good Laboratory Practices and Compliance Monitoring. Organization for Economic Co-operation and Development*. Revisado em 1997; *The US-FDA Guidance for Industry "Bioanalytical Method Validation"* May 2001; Manual de Boas Práticas em Bioequivalência – ANVISA e RE 899/03 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (*GUIDANCE FOR GOOD LABORATORY PRACTICE, 1995; GUIDANCE FOR INDUSTRY, 2001; BRASIL, 2003c; BRASIL, 2002b*).

### 6.2.1 Método Bioanalítico

As concentrações plasmáticas de talidomida foram determinadas por meio de método analítico apropriado e validado. A determinação destas concentrações foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) acoplada à espectrometria de massa (MS-MS). A utilização de métodos bioanalíticos para a determinação qualitativa, semiquantitativa e/ou quantitativa de fármacos e outras substâncias em produtos farmacêuticos e matrizes biológicas representa um papel significativo na avaliação e interpretação dos resultados de estudos de bioequivalência, biodisponibilidade e farmacocinéticos (LINDHOLM; OHANSSON; FORNSTEDT, 2003; CAUSON, 1997; BRESSOLE; BROMET-PETIT; AUDRAN, 1996; DADGAR *et al.*, 1995; CHAMBERLAIN, 1995).

A metodologia bioanalítica desenvolvida e validada atendeu a todos os critérios exigidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, pelo Manual de Boas Práticas Clínicas em Biodisponibilidade/Bioequivalência da ANVISA, 2002, e pelas Boas Práticas Clínicas - Documento das Américas, para a realização de estudos farmacocinéticos com a utilização de equipamentos calibrados e certificados, reagentes de grau analítico, e com pessoal qualificado para esta finalidade.

#### 6.2.1.1 Validação pré-estudo

Uma completa validação pré-estudo foi realizada para atender às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados.

Para tanto, apresentou precisão, exatidão linearidade, limite de detecção e limite de quantificação, especificidade, reprodutibilidade, estabilidade e recuperação adequadas à análise (BRASIL, 2003c).

Todos os equipamentos e instrumentos estavam qualificados e/ou validados, com a rotina de calibração dentro dos prazos de validade e os analistas qualificados e adequadamente treinados.

Todas as amostras de um dado voluntário foram quantificadas na mesma corrida analítica. Devido às limitações da estabilidade, uma lista não deve possuir mais que 400 amostras.

#### *6.2.1.2 Otimização dos procedimentos gerais*

No presente trabalho foi desenvolvido e validado um método para quantificação de talidomida em plasma. As condições cromatográficas e parâmetros de espectrometria de massa foram otimizadas tal que a resultante de cromatogramas MRM extraídos apresentou todas as áreas integradas e relações sinais-ruídos consistentes ( $S/N > 15$ ) para talidomida e padrão interno. Usando uma pré-coluna Phenomenex, SecurityGuardCartridges C18 4x 3mm e uma coluna analítica Phenomenex, Synergi 4 $\mu$ m MAX-RP 80<sup>a</sup> (50 x 4.6mm), foi possível obter uma resolução de picos satisfatória para talidomida e padrão interno utilizando uma fase móvel constituída de Acetronila/H<sub>2</sub>O (50/50; v/v) + 0,1% Ácido Fórmico em um fluxo de 400 $\mu$ L/min.

Vários íons fragmento foram observados no produto dos íons para os analitos e padrão interno. Os principais íons fragmentos em  $m/z$  259,00 >186,00 e  $m/z$  180,00 > 110,10 foram escolhidos na aquisição do MRM para talidomida e padrão interno, respectivamente.

Cromatogramas MRM de amostra de plasma branco e contaminado com talidomida e padrão interno submetidos ao procedimento extração líquido-líquido estão representados na figura 10 e 11, respectivamente.

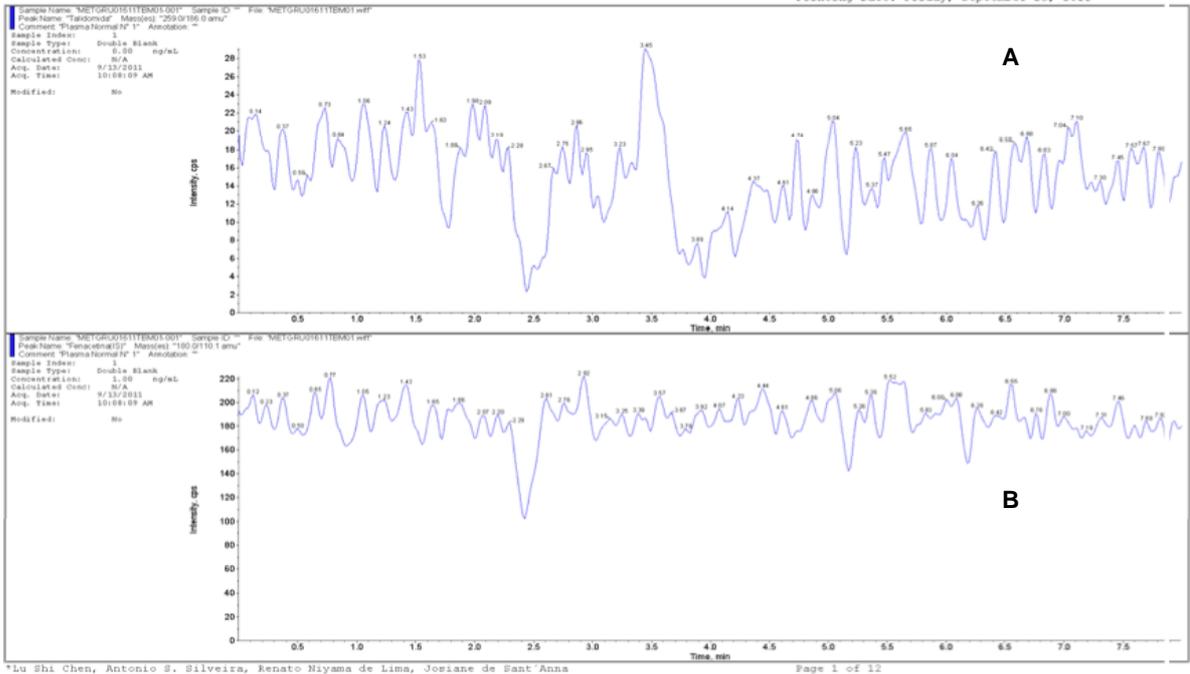


Figura 10: Cromatogramas MRM de uma amostra de plasma em branco normal: canal (A) TALIDOMIDA, canal (B) FENACETINA.

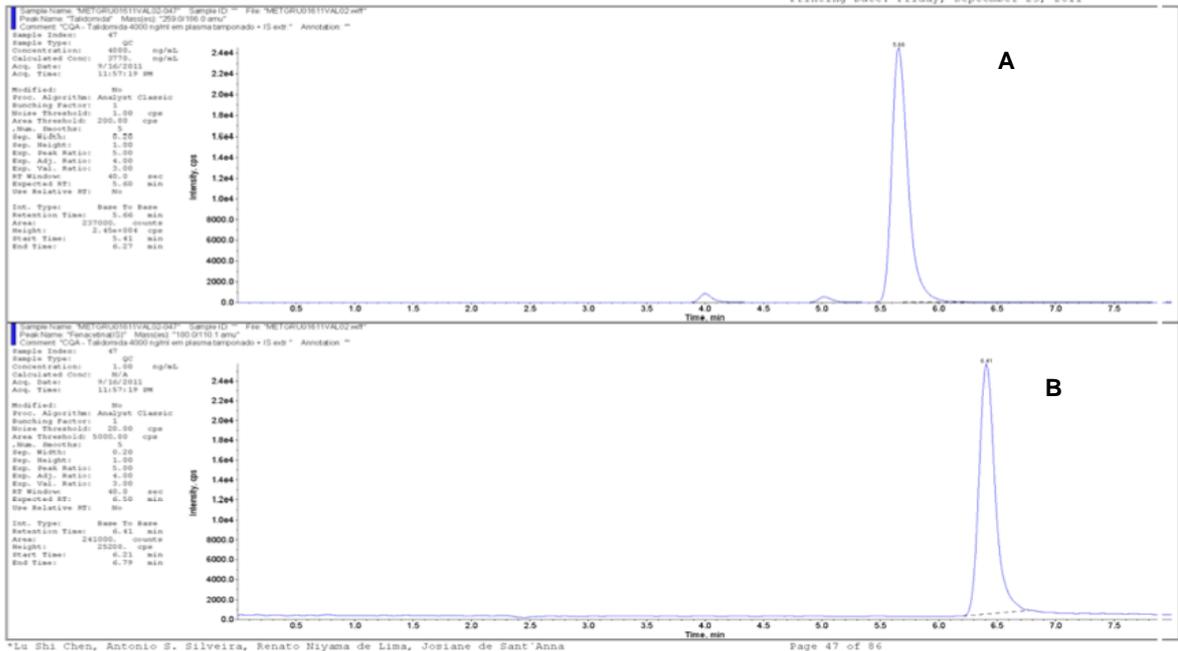
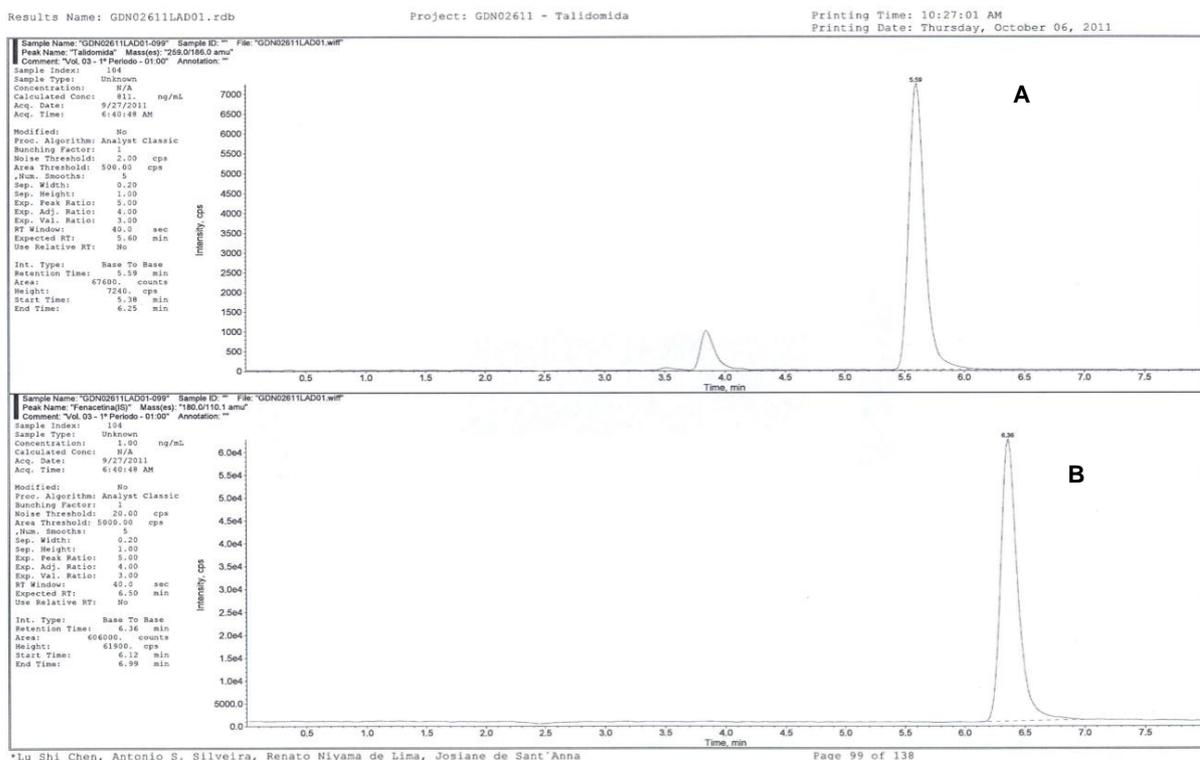


Figura 11: Cromatogramas MRM de amostra de plasma contaminado com: canal (A) TALIDOMIDA, canal (B) FENACETINA.

Os cromatogramas livres de analitos apresentaram ausência de interferentes endógenos da matriz ao longo da janela de eluição para TALIDOMIDA, e padrão interno FENACETINA.

A figura 12 representa um cromatograma de uma amostra de voluntário após administração de talidomida comprimido 100mg.



**Figura 12: Cromatograma representativo de uma amostra de voluntário após administração de talidomida comprimido 100mg: canal (A) TALIDOMIDA, canal (B) FENACETINA.**

Sob as condições do método proposto, nenhuma interferência (efeito matriz) foi observada de compostos endógenos após a extração de amostras de plasma contaminadas ao longo do tempo de eluição e encontraram-se tempos de retenção de  $5,60 \pm 0,3$  e  $6,40 \pm 0,3$  minutos para talidomida e fenacetina, respectivamente. Não se observou efeito de *cross-talk* no tempo de retenção dos compostos, demonstrado, dessa forma, boa seletividade.

Foi utilizada no estudo uma simples etapa no método de extração com ácido fórmico 88% e éter etílico antes da corrida analítica, realizada com fase móvel isocrática. Deve-se considerar que um rápido processo de extração é um fato importante para análise de rotina. Além disso, é sabido que um método isocrático é geralmente preferido por causa da sua conveniência, simplicidade e reprodutibilidade. Assim, o presente método tem suficiente seletividade e pode ser aplicado com sucesso para a quantificação da talidomida em amostras de plasma. O

procedimento relativamente simples de preparação das amostras e um curto tempo de análise cromatográfica apresentada permitem um grande número de quantificações de amostras (150 a 190 amostras por dia).

#### 6.2.1.3 Linearidade do Método

A qualidade dos dados bioanalíticos é dependente da boa obtenção e interpretação da curva de calibração. O teste de homoscedasticidade é um passo importante a ser tomado no estudo da curva de calibração para verificar variâncias dos dados (ALMEIDA *et al.*, 2002). O fator escolhido foi  $1/x^2$  (tabela 5). Assim, as curvas de calibração foram definidas pela equação:  $y = 0,000263x + 0,000119$  para talidomida, onde  $y$  é a relação das áreas dos picos do analito/padrão interno e  $x$  é a concentração (ng/mL) do analito. Todos os coeficientes de correlação ( $r^2$ ) foram próximos a 1 (0,9949 a 0,9985).

**Tabela 5: Precisão e exatidão intralote das curvas de calibração.**

Concentração plasmática (ng/mL)	Concentração calculada (Média)(ng/mL)	RSD (%) (n=3)	Intralote RE(%)
<b>TALIDOMIDA</b>			
20	20,0	0,2	5,45
40	39,95	0,05	5,4
100	98,55	1,6	3,55
200	198,5	0,85	3,65
500	521,5	4,35	3,65
1500	1565	4,2	1,6
3000	2935	2,15	2,15
5000	4695	4,2	4,6

#### 6.2.1.4 Precisão e Exatidão do Método

Os dados para precisão e exatidão intra e interlote para talidomida estão resumidos na tabela 6. Os erros relativos dos valores variam entre 2,8 e 6,5% e o desvio padrão relativo (% R.S.D.) de 0,5 a 6,5% para a talidomida e as amostras dos controles de qualidade apresentaram bom ajuste individual para a linha de regressão aplicada.

**Tabela 6: Precisão e exatidão na quantificação de talidomida em amostras de plasma (análise de amostras de plasma contaminado em três concentrações diferentes).**

Concentração Plasma (ng/mL)	Intralote	RSD (%) (n=7)	RE(%)	Interlote	RSD (%) (n=7)	RE(%)
	Concentração calculada (Média) (ng/mL)			Concentração calculada (Média) (ng/mL)		
<b>TALIDOMIDA</b>						
60	60,4	0,7	3,8	58,5	2,5	6,5
600	613	2,2	6,0	639	6,5	5,8
4000	3980	0,5	2,8	3820	4,5	6,1

O limite de quantificação baseado no R.S.D. (%) e RE (%) foi 20ng/mL para talidomida. Este limite foi próximo a 2% da concentração máxima ( $C_{\text{máx}}$ ) de talidomida, sendo suficiente para realização dos estudos de biodisponibilidade.

#### 6.2.1.5 Recuperação do Método

As recuperações relativas da talidomida determinadas em três concentrações diferentes (CQB, CQM e CQA) foram 82,8%, 91,8 e 92,5%, sendo a média geral da recuperação de 89,03% para talidomida. Assim, o método proposto apresentou uma boa recuperação para amostras de plasma através da aplicação de um simples processo de extração e com menor tamanho de amostra (0,2mL).

#### 6.2.1.6 Estudos de Estabilidade do Método

A análise da estabilidade da talidomida foi realizada analisando as soluções de trabalho, bem como, amostras imediatamente, horas ou dias subsequentes do período de estoque. Todas as amostras (n=5) foram analisadas usando amostras recém-preparadas da curva de calibração. Nenhuma alteração na concentração da talidomida foi detectada na solução de trabalho após 08 dias de armazenamento com a proteção da luz em 4°C. No estudo de estabilidade pós-processamento, nenhuma degradação significativa pode ser observada em amostras no autoinjeter (temperatura ambiente) por 67 horas e 30 minutos. Os resultados mostraram que as áreas dos picos de talidomida permaneceram praticamente

inalteradas e picos extras não foram observados no período estudado. Na análise de 03 conjuntos de amostras de plasma contaminados (CQB, CQM, CQA) de talidomida, foram preparados e estocados à -80°C e submetidos a 3 ciclos de congelamento e descongelamento. Os dados demonstraram que as amostras de plasma podem sofrer congelamento e descongelamento pelo menos 3 vezes antes das análises. Além disso, também foi avaliada a estabilidade de curta duração de amostras de plasma contaminada processadas e estocadas em temperatura ambiente por um período de 8 horas. Finalmente, para demonstrar a estabilidade de longa duração da talidomida, as amostras foram processadas e estocadas a -80°C por 43 dias. A análise das amostras de plasma contaminadas antes e após estocagem a -80°C nesse período não mostrou nenhuma perda significativa do analito. Os erros relativos (RE%) calculados para os diferentes estudos de estabilidade estão demonstrados na tabela 7.

**Tabela 7: Estabilidade das amostras de controle de qualidade da talidomida em plasma sob diferentes condições de estoque (n=5).**

	Talidomida (ng/mL)	
	60	4000
Teste de estabilidade pós-processamento (RE%)		
0h	2,8	2,5
67h 30min	4,6	3,6
Teste de congelamento e descongelamento (RE%)		
0 ciclos	2,8	2,1
3 ciclos	5,6	3,1
Teste de estabilidade de curta duração (RE%)		
0h	2,8	2,1
8h	4,6	2,0
Teste de estabilidade de longa		
0 dias	6,0	4,7
43 dias	6,3	3,5

### 6.3 Etapa estatística

O método Estatístico utilizado compreende: estatística descritiva dos parâmetros farmacocinéticos para o analito. Apresentações gráficas dos dados para cada tratamento; biodisponibilidade comparativa média (BA/BE) apropriada para 2 tratamentos sob condição de jejum; biodisponibilidade comparativa entre a “Dose 1” e “Dose 2” para determinar se o intervalo de confiança das razões formulação 1/formulação 2 de  $C_{m\acute{a}x}$ ,  $ASC_{\acute{u}ltimo}$ ,  $ASC_{inf}$ ,  $C_{m\acute{a}x}/Dose$ ,  $ASC_{\acute{u}ltimo}/Dose$ ,  $ASC_{inf}/Dose$  estão dentro do intervalo de 80-125% (intervalo clássico).

Os tempos de coleta escolhidos foram baseados na meia vida de eliminação do fármaco e no valor previsto de  $C_{m\acute{a}x}$  (1760ng/mL [200mg] e 2820ng/mL [400mg] e  $T_{m\acute{a}x}$  (3,5 horas [200mg] e 4,3 horas [400mg] (PEUCKMANN; FISCH; BRUERA 2000). É extremamente importante a escolha correta dos tempos de coleta, pois são eles que irão definir o formato da curva de concentração plasmática *versus* tempo e estimar com maior precisão o valor de  $C_{m\acute{a}x}$ , e  $ASC_{0-t}$ . De acordo com os órgãos regulatórios, recomenda-se que sejam feitas coletas de sangue entre 3,5 a 5 vezes a meia vida do fármaco em estudo (BRASIL, 2006).

A biodisponibilidade comparativa média obtida encontra-se descrita na Tabela 8.

**Tabela 8: Média geométrica da razão e o intervalo confiança de 90% Dose 1 (talidomida 200mg) vs. Dose 2 (talidomida 400mg)**

	Ponto médio [%]	90% Intervalo de Confiança [%]	Poder
$C_{m\acute{a}x}$	76.26	68.93 - 84.38	0.9749
$ASC_{\acute{u}ltimo}$	54.81	52.71 - 56.99	1.0000
$ASC_{inf}$	50.6	48.89 - 52.36	1.0000
$C_{m\acute{a}x}/Dose$	152.53	137.85 - 168.76	0.9749
$ASC_{\acute{u}ltimo}/Dose$	109.62	105.42 - 113.98	1.0000
$ASC_{inf}/Dose$	101.19	97.77 - 104.73	1.0000

A partir da determinação das concentrações plasmáticas de talidomida foi obtida uma curva aritmética média de concentração plasmática em função do tempo para cada dose utilizada. As curvas e estatística descritiva correspondente estão apresentadas abaixo. (Figuras 13 e 14, Tabelas 9 e 10)

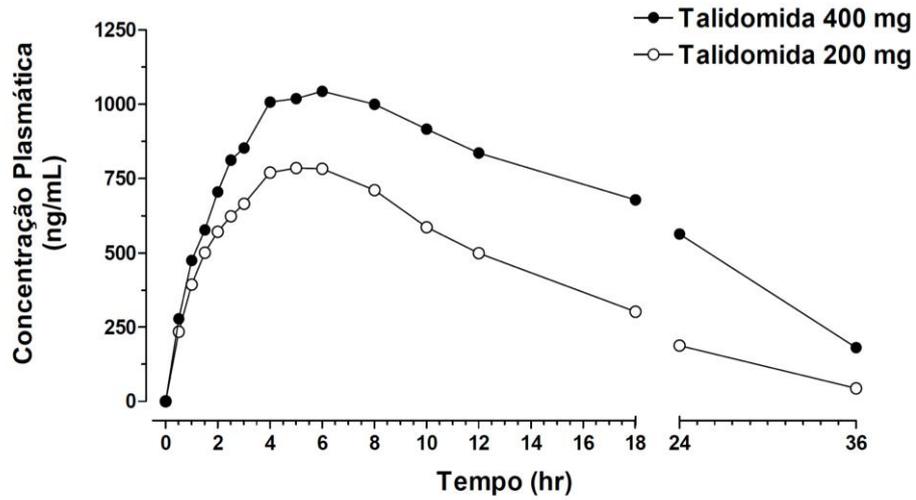


Figura 13: Curva de concentração plasmática (ng/mL) *versus* tempo (h) para o fármaco talidomida após a administração da formulação em 24 voluntários saudáveis, nas doses de 200 e 400mg.

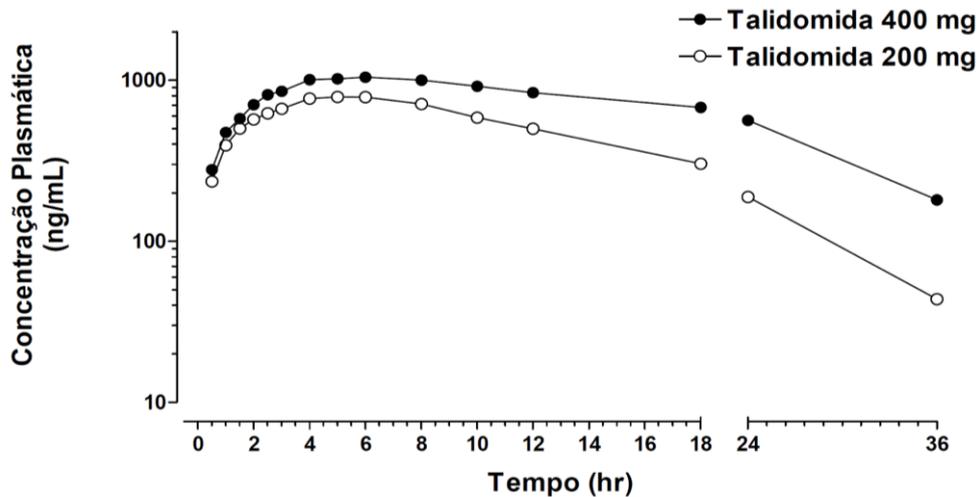


Figura 14: Curva de concentração plasmática (ng/mL) *versus* tempo (h) para o fármaco talidomida após a administração da formulação em 24 voluntários saudáveis, nas doses de 200 e 400mg – Dados Log transformados.

**Tabela 9: Estatística descritiva dos parâmetros farmacocinéticos resultantes após administração por via oral de 200mg de talidomida, em voluntários saudáveis, do sexo masculino.**

Variável	Unidade	N	Média	DP	Min	Mediana	Máx	CV%
ASC%	(%)	24	4,78	3,74	1,67	3,07	15,49	78,17
ASC <sub>inf</sub>	([ng*hr]/mL)	24	13282,84	2065,91	9847,63	13001,02	18985,21	15,55
ASC <sub>inf/Dose</sub>	([ng*hr]/mL/mg)	24	66,41	10,33	49,24	65,01	94,93	15,55
ASC <sub>tudo</sub>	([ng*hr]/mL)	24	12753,29	2019,06	9682,70	12202,58	18256,80	15,83
ASC <sub>último</sub>	([ng*hr]/mL)	24	12663,54	2123,99	8944,75	12202,58	18256,80	16,77
ASC <sub>último/Dose</sub>	([ng*hr]/mL/mg)	24	63,32	10,62	44,72	61,01	91,28	16,77
Cl	(L/hr)	24	15,38	2,22	10,53	15,38	20,31	14,41
C <sub>máx</sub>	(ng/mL)	24	861,58	187,30	519,00	841,50	1280,00	21,74
C <sub>máx/Dose</sub>	(ng/mL/mg)	24	4,31	0,94	2,60	4,21	6,40	21,74
C <sub>último</sub>	(ng/mL)	24	58,73	33,14	20,50	51,65	137,00	56,43
K <sub>e</sub>	(1/hr)	24	0,10	0,02	0,06	0,11	0,14	17,90
T <sub>1/2</sub>	(hr)	24	6,89	1,44	5,08	6,44	10,85	20,91
T <sub>máx</sub>	(hr)	24	4,52	1,53	2,00	5,00	6,00	33,81
T <sub>último</sub>	(hr)	24	34,50	4,05	24,00	36,00	36,00	11,75
V <sub>d</sub>	(L)	24	152,44	36,78	96,76	149,01	229,03	24,13

**Tabela 10: Estatística descritiva dos parâmetros farmacocinéticos resultantes após administração por via oral de 400mg de talidomida, em voluntários saudáveis, do sexo masculino.**

Variável	Unidade	N	Média	DP	Min	Mediana	Máx	CV%
ASC%	(%)	23	11,40	8,15	1,98	8,30	29,49	71,50
ASC <sub>inf</sub>	([ng*hr]/mL)	23	26292,67	4187,85	18090,38	25994,54	33772,25	15,93
ASC <sub>inf/Dose</sub>	([ng*hr]/mL/mg)	23	65,73	10,47	45,23	64,99	84,43	15,93
ASC <sub>tudo</sub>	([ng*hr]/mL)	24	23056,11	3437,08	15875,65	22950,00	31450,20	14,91
ASC <sub>último</sub>	([ng*hr]/mL)	24	23056,11	3437,08	15875,65	22950,00	31450,20	14,91
ASC <sub>último/Dose</sub>	([ng*hr]/mL/mg)	24	57,64	8,59	39,69	57,38	78,63	14,91
Cl	(L/hr)	23	15,60	2,60	11,84	15,39	22,11	16,65
C <sub>máx</sub>	(ng/mL)	24	1131,63	266,93	777,00	1030,00	1630,00	23,59
C <sub>máx/Dose</sub>	(ng/mL/mg)	24	2,83	0,67	1,94	2,58	4,08	23,59
C <sub>último</sub>	(ng/mL)	24	180,83	93,70	65,40	148,00	421,00	51,82
K <sub>e</sub>	(1/hr)	23	0,07	0,03	0,03	0,07	0,14	38,70
T <sub>1/2</sub>	(hr)	23	11,01	4,36	5,11	10,04	22,56	39,66
T <sub>máx</sub>	(hr)	24	6,88	4,71	4,00	5,50	24,00	68,54
T <sub>último</sub>	(hr)	24	36,00	0,00	36,00	36,00	36,00	0,00
Vd	(L)	23	244,19	92,47	237,99	237,99	487,86	37,87

As curvas de concentração plasmática individual contra o tempo para talidomida com o correspondente parâmetro farmacocinético são apresentadas no Anexo 4. Os dados da concentração plasmática média e razão T/R encontram-se nos Anexos 5 e 6.

Outros estudos disponíveis para observação destes parâmetros foram feitos em voluntários sadios (CHEN *et al.*, 1989; TEO *et al.*, 1999), pacientes portadores do vírus HIV (PISCITELLI *et al.*, 1997; YOULE *et al.*, 1999; WOHL *et al.*, 2002; NOORMOHAMED *et al.*, 1999), pacientes com hanseníase (CRAWFORD, 1994; VALENTE; VIEIRA, 2010) e pacientes com tumores refratários (PAGANOTTO, 2002). O resultado destes estudos mostra o pico das concentrações plasmáticas variando de 1-2 $\mu$ g/mL dentro de 3-5 horas.

Chen e colaboradores publicaram resultados em 08 voluntários sadios que ingeriram 200mg de talidomida; nestes a média de concentração foi de  $1,15 \pm 0,20$   $\mu$ g/mL, atingida em  $4,39 \pm 1,27$  horas. O estudo realizado em 17 voluntários sadios com três formulações (tratamento A, B e C) diferentes, em doses orais de 200mg, apresenta concentrações plasmáticas variando entre 1,05 e 2,0 $\mu$ g/mL, em um tempo máximo de aproximadamente 3 horas.

Chen observou que o volume de distribuição e a depuração corporal total, baseados na biodisponibilidade foram  $120,69 \pm 45,36$ L e  $10,41 \pm 2,04$ L/h, no estudo de Teo os volumes de distribuição se apresentaram em  $89,3 \pm 25,7$  (A);  $77,0 \pm 13,5$  (B) e  $240 \pm 79$  (C) e os valores de *clearance* em  $10,50 \pm 2,10$ ,  $10,00 \pm 1,40$ , e  $11,40 \pm 3,05$  para tratamentos A, B e C respectivamente.

Em estudos realizados com pacientes portadores do vírus HIV, citaremos Noomohamed e Piscitelli que utilizaram doses únicas. Noomohamed utilizou 100 e 200mg em voluntários assintomáticos e registra uma absorção rápida e meia-vida média de 0,95h (0,16-2,49h) e 1,19hr (0,33-3,53h) depois de 100 e 200mg de doses, respectivamente. Os correspondentes valores de  $C_{m\acute{a}x}$  médios foram  $1,15 \pm 0,24$  $\mu$ g/mL (100mg) e  $1,92 \pm 0,47$  $\mu$ g/mL (200mg; p, 0,001), que foram alcançados ( $T_{m\acute{a}x}$ ) com  $2,5 \pm 1,5$  h, e  $3,3 \pm 1,4$  h, respectivamente. Os volumes aparentes de distribuição ( $V_{da}/F$ ) foram de  $69,9 \pm 15,6$  litros (100mg) e  $82,7 \pm 34,9$  litros (200mg), enquanto *clearances* (CL/F) foram de  $10,4 \pm 2,1$  e  $10,8 \pm 1,7$  litros/hr, respectivamente. Piscitelli reportou a farmacocinética da talidomida nas dosagens de 100 e 300mg/dia, caracterizada por lenta absorção, meia-vida  $6,5 \pm 3,4$  h no grupo de 100mg e  $5,7 \pm 0,6$  nos pacientes que recebera 300mg. A concentração máxima

de  $1,17 \pm 0,21 \mu\text{g/mL}$  atingidos em  $3,4 \pm 1,8\text{hs}$  para o grupo de 100mg, e uma concentração máxima de  $3,47 \pm 1,14 \mu\text{g/mL}$  em  $3,4 \pm 1,5\text{h}$  para o grupo de 300mg/dia o valor de *clearances* foi de  $9.2 \pm 1.2$  litros/h com 100mg e  $7.8 \pm 1.8$  litros/h para o grupo de 300mg.

Nos estudos coordenados pelo AIDS *Clinical Trials Group* ficou evidenciado que a concentração sérica da talidomida aumenta com o escalonamento da dose, porém o tempo máximo de concentração e o *clearance* não diferiram. Para todos os estudos citados, com exceção do estudo de Crawford, a dose de talidomida usada não foi maior que 300mg (PAGANOTTO, 2002).

Em um estudo do uso da talidomida em 20 pacientes com eritema nodoso hansênico, com dose diária de 100mg/dia, e divididos em dois grupos: durante e após a terapia medicamentosa os resultados mostraram que os níveis plasmáticos médios de talidomida no dia 7 e no dia 14 foram de  $0,82 \pm 0,4 \mu\text{g/mL}$  e  $0,79 \pm 0,3 \mu\text{g/mL}$  no grupo 1 e de  $0,82 \pm 0,4$  e  $1,55 \pm 1,0$  para o grupo 2, respectivamente. Não foram observadas diferenças significativas nos teores plasmáticos médios do fármaco intragrupos e intergrupos nos dias avaliados ( $p > 0,05$ ). (VALENTE; VIEIRA, 2010). Os níveis plasmáticos de talidomida de cada grupo nos dias avaliados não apresentaram diferença significativa e se assemelham com estudo prévio de dose oral única de 100mg em pacientes infectados com o vírus da imunodeficiência humana, nos quais o teor médio foi  $1.17 \pm 0.21 \mu\text{g/mL}$  (PISCITELLI *et al.*, 1997). Também podem ser comparados aqueles realizados em voluntários saudáveis após doses orais únicas de 50 e 200mg do fármaco, no qual as concentrações máximas alcançadas foram  $0.62 \pm 0,24$  e  $1.76 \pm 0.52 \mu\text{g/mL}$  (TEO *et al.*, 1999). A ausência de diferença nos níveis séricos de talidomida em no dia 7 e 14 justifica-se pela reduzida meia vida terminal do fármaco, como demonstrado em estudo de doses múltiplas, via oral de talidomida em dose de 200mg/dia, no qual a meia vida terminal foi de  $7.08 \pm 1.87$  e  $6.17 \pm 2.56$  horas, respectivamente (TEO *et al.*, 1999). Não foi observada diferença significativa nos teores de talidomida entre os grupos, o que pode estar relacionado ao fato do metabolismo enzimático e a excreção renal desempenharem importância secundária na eliminação do fármaco (ERIKSSON; BJORKMAN; HOUGLUND, 2001; PISCITELLI, *et al.*, 1997; TEO *et al.*, 1999).

No estudo que Paganotto realizou em pacientes com adenocarcinoma de cólon e reto, adenocarcinoma de pâncreas, e melanoma, os parâmetros farmacocinéticos evidenciados foram semelhantes aos obtidos na literatura

conforme os estudos descritos acima, sendo que as amostras foram coletadas no primeiro dia de administração de talidomida, na dose de 200mg com pontos de coleta de sangue imediatamente antes a primeira dose e 1 h, 2 h, 2,5 h, 3h, 3,5 h, 4 h, 5 h, 7h e 24h após a administração. Todos os pacientes submeteram-se a um estudo de fase II com escalonamento de dose de talidomida. Os parâmetros farmacocinéticos alcançados foram: média da  $C_{m\acute{a}x}$  de  $1,48 \pm 0,56\mu\text{g/mL}$  obtidos em  $4,4 \pm 0,5\text{h}$ , com uma média da ASC de  $17,7 \pm 8,4\mu\text{g} \times \text{h/mL}$  para a dose de 200mg de talidomida, uma média de  $k_e$  de  $0,083 \pm 0,019\text{h}^{-1}$ , um tempo de permanência média de  $13 \pm 3,4\text{h}$  e um  $V_d/f$  de  $138,2 \pm 55,7\text{L}$ . O período de  $t_{1/2}$  observado foi de  $6,5 \pm 3,0\text{h}$ .

Reiriz no seu estudo clínico, de fase II e farmacocinética para o uso de talidomida em pacientes com melanoma metastático, administrou a talidomida em cápsulas de 200 e 400mg, administrada por via oral inicialmente na dose de 20mg /dia à noite, com um aumento de 200mg a cada 02 semanas até a dose máxima de 800mg, conforme tolerância dos pacientes. Os resultados farmacocinéticos foram avaliados em 04 pacientes a partir de dados obtidos nas primeiras 24 horas após uso da talidomida na dose de 200mg. A área sob a curva (0-24) foi de  $15,2 \pm 1,6\mu\text{g} \times \text{h/mL}$ . O  $C_{m\acute{a}x}$  médio foi de  $1,29\mu\text{g/mL}$ , variando de 1,05 a  $1,75\mu\text{g/mL}$  e foi atingido em aproximadamente  $4,3 \pm 0,3$  horas após a dose. A meia vida de eliminação variou de 5,9 a 9,8 horas, com valor médio de  $8,1 \pm 1,7$  horas. O  $V_d$  e  $Cl$  médio foram 132,3L e 11,4L/h, respectivamente.

A seguir estão apresentados nas tabelas, 11 e 12, os resultados do estudo realizado com a talidomida da FUNED comparados com os resultados apresentados por TEO *et al.*, 1999, PAGANOTTO, 2002 e NOOMOHAMED *et al.*, 1999.

**Tabela 11: Parâmetros farmacocinéticos de quatro formulações de talidomida após administração oral única de 200mg em voluntários sadios do sexo masculino**

Parâmetro	Celgene 1 Nº 17	Celgene 2 Nº 17	Tortuga Nº 17	Funed Nº 24
	***	***		*
C <sub>máx</sub> (µg/mL)	2,00 ± 0,55	2,10 ± 0,54	1,05 ± 0,26	0,86 ± 0,19
	***		*	*
T <sub>máx</sub> (h)	3,20 ± 1,40	3,50 ± 1,10	3,40 ± 1,40	4,52 ± 1,53
	***	***		***
ASC <sub>0-∞</sub> (µg/h/mL)	19,80 ± 3,61	20,30 ± 2,87	18,70 ± 4,70	13,28 ± 2,07
		**		***
T <sub>1/2</sub> (h)	6,17 ± 2,56	5,42 ± 1,33	15,30 ± 5,99	6,89 ± 1,44

\*P< 0,05    \*\*P< 0,01    \*\*\*P= 0,001

**Tabela 12: Celgene com HIV assintomático/Tortuga com tumores sólidos 5 de reto, 4 com adenocarcinoma de cólon, 4 com melanoma e 1 com adenocarcinoma de pâncreas**

Parâmetro	Celgene 1 Nº 14	Tortuga Nº 17	Funed Nº 24
		***	***
C <sub>máx</sub> (µg/mL)	1,92 ± 0,47	1,48 ± 0,56	0,86 ± 0,19
		*	
T <sub>máx</sub> (h)	3,20 ± 1,40	4,40 ± 0,50	4,52 ± 1,53
	***		***
ASC <sub>0-∞</sub> (µg/h/mL)	19,00 ± 4,00	21,10 ± 2,40	13,28 ± 2,07
		*	**
T <sub>1/2</sub> (h)	5,30 ± 2,20	8,80 ± 2,40	6,89 ± 1,44

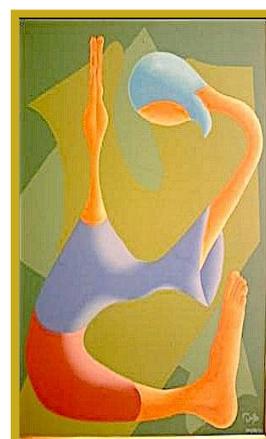
\*P< 0,05    \*\*P< 0,01    \*\*\*P= 0,001



**CONSIDERAÇÕES FINAIS**

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O estudo permitiu a quantificação da talidomida, na formulação produzida pela FUNED, para a determinação do seu perfil farmacocinético.
- A comparação dos parâmetros farmacocinéticos, nas doses de 200 e 400mg, apresentou curvas proporcionais.
- O *Clearance* da talidomida (CL) foi mantido nas doses de 200 e 400mg (CL (200mg) - 15,3L/h e CL (400mg) - 15,6L/h).
- As doses em estudo apresentaram perfil de segurança descrito na literatura, sendo cefaléia e sonolência os efeitos adversos mais frequentes.
- Quando comparado os parâmetros farmacocinéticos do nosso estudo e os encontrados nos estudos de TEO *et al.*, 1999, NOORMOHAMED *et al.*, 1999 e PAGANOTTO, 2002 evidenciamos que a formulação FUNED apresenta absorção menor e mais lenta que as demais.



## CONCLUSÃO

## 8 CONCLUSÃO

Os parâmetros farmacocinéticos da formulação FUNED em estudo, nas doses de 200 e 400mg, foram determinados e apresentaram a proporcionalidade esperada nas curvas de concentração *versus* o tempo.



**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARGILES, J.M.; CARBO, N.; LÓPEZ-SORIANO, F.J. Was tumor necrosis factor alpha responsible for the fetal malformations associated with thalidomide in the early 1960s? *Medical Hypotheses*, v.50, p.313-8, 1998.

ARLEN, R. R.; WELLS, P. G.; Inhibition of thalidomide teratogenicity by acetylsalicylic acid: evidence for prostaglandin H synthase-catalyzed bioactivation of thalidomide to a teratogenic reactive intermediate. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v.277, n.3, p. 1649-58, jun.1996.

ARMITAGE, P.; BERRY, G. *Statistical Methods in Medical Research*. 3.ed. Oxford: Blackwell, 1994. 620 p.

ATKINSON, J. A.; DANIELS, C. E.; DECRICK, R. L.; GRUDZINSKAS, C. V.; MARKEY, S. P. *Principles of Clinical Pharmacology*. London: Academic Press,2001. 460p.

BALTHASAR, J. P. Bioequivalence and bioequivalency testing. *American Journal of Pharmaceutical Education*, v. 63, p.194-99,1999.

BARCELLOS, N.M.S. Farmacocinética. Disponível em: <http://www.farmacia.ufmg.br/cespmed/text7.htm>. Acesso em: 22 de março de 2012.

BENET, L. Z. Effect of route of administration and distribution on drug action. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, v.6, p.559-585,1978.

BENET, L. Z. Pharmacokinetic parameters: which are necessary to define a drug substance? *European Journal of Scientific Research Diseases*, v.65, p.45-61, 1984.

BENET, L. Z.; GALEAZZI, R. L. Noncompartmental determination of the steady-state volume of distribution. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.6, p.1971-1974, 1979.

BERNSTEIN, A. Formed by thalidomide: mass torts as a false cure for toxic exposure. *Columbia Law Review*, v.97, p.2153-2176, 1997.

BHAN, A.; MAJD, M.; ADEJUMO, A. Informed consent in international research: perspectives from India, Iran and Nigeria. *Journal of Medical Ethics*; v.3, p.36-41, 2006.

BIRKETT, D.J. *Pharmacokinetics Made Easy*. 2.ed. Sydney: McGraw-Hill, 2002. 131p.

BRASIL. Resolução do Conselho Nacional de Saúde, de 10 de outubro de 1996. Publica as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, n. 201, p.21082, 16 de outubro de 1996.

BRASIL. Portaria nº 354, de 15 de agosto de 1997. Regulamenta o registro, a produção, a fabricação, a comercialização, a exposição, a venda, a prescrição e a dispensação dos produtos a base de talidomida. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 18 de agosto de 1997.

BRASIL. Portaria nº 3916/MS/GM, de 30 de outubro de 1998. Aprova a política nacional de medicamentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 10 de novembro de 1998.

BRASIL. Resolução-RDC nº 34, de 20 de abril de 2000. Autoriza a utilização da Talidomida no tratamento de mieloma múltiplo refratário a quimioterapia. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 24 de abril de 2000.

BRASIL. Portaria Conjunta nº 25, de 30 de janeiro de 2002. Aprova os Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas contidas nos anexos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 05 de fevereiro de 2002a.

BRASIL. Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade/Bioequivalência. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária 2002b. 146p.

BRASIL. Resolução-RDC nº 140, de 29 de maio de 2003. Adota definições, instruções ou avisos que favorecem o uso correto, prudente e seguro do medicamento, para prevenir um agravamento à saúde, mas que, não necessariamente, o contra-indique. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 02 de junho de 2003a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE n. 898, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do Guia para planejamento e realização da etapa estatística de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de junho de 2003b.

BRASIL. Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 02 de junho de 2003c.

BRASIL. Resolução Nº 1170, de 19 de abril de 2006. Determina a publicação do Guia para provas de biodisponibilidade relativa/bioequivalência de medicamentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 24 de maio de 2006.

BRESSOLE, F.; BROMET-PETIT, M.; AUDRAN, M. Validation of liquid chromatographic and gas chromatographic methods. Applications to pharmacokinetics. *Journal of Chromatography B*, v.686, p.3-10, 1996.

BRODIE, P. Physicochemical factors in drug absorption. In: BINNS, T. B. (Ed.). *Absorption and distribution of drug*. Baltimore: The Williams & Wikins Co., *Clinical Chemistry*, 1964. 270p.

CAUSON, R. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis. Viewpoint and discussion. *The Journal of Chromatography*, v.689, p.175-180, 1997.

CERNY, T.; GILLESSEN, S.; VON MOOS, R.; STOLZ, R. Thalidomide: from tragedy to promise. *Swiss Medical Weekly*, v.133, p.77-87, 2003.

CHAMBERLAIN, J. Special problems with biological fluids, the analysis of drugs in biological fluids. 2.ed. USA: CRC PRESS INC, p. 35–66, set.1995. 368p.

CHEN, T.L.; VOGELSANG, G.B.; PETTY, B.G.; BRUNDRETT, R.B.; NOE, D.A.; SANTOS, G.W.; COLVIN, O.M. Plasma pharmacokinetics and urinary excretion of thalidomide after oral dosing in healthy male volunteers. *Drug Metabolism and Disposition*, v.17, p.402-5, jul.1989.

CLEMMENSEN, O.J.; OLSEN, P.Z.; ANDERSEN, K.E. Thalidomide neurotoxicity. *Archives of Dermatology*, v.120, p.338-41, 1984.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. *Introdução a métodos cromatográficos*. 7.ed. Campinas, SP: UNICAMP, 1997.

DADGAR, D.; BURNETT, P.A.; CHOC, M.G; GALLICANO, K.; HOOPER, J.W. Application issues in biological method validation, sample analysis and data 132 reporting. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.13, p.89-97, 1995.

De LONGH, R.U. A quantitative-ultrastructural study of motor and sensory lumbosacral nerve roots in the thalidomide-treated rabbit fetus. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, v.49, n.6, p.564-81, 1990.

DORCE, V.A.C., *Excreção de fármacos*. In: DeLUCIA, R.; OLIVEIRA-FILHO, R.M. *Farmacologia Integrada*. 2.ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2004. cap.9, p.67-80.

ERIKSSON, T.; BJORKMAN, S.; HOUGLUND, P. *Clinical Pharmacology of Thalidomide*. *European journal of clinical pharmacology*, v.57, n.5, p.365-76, 2001.

FACKLAND, M.; FACKLAND, H. *Healing drugs: The history of pharmacology*. New York: Facts on File Incorporated, 1992.

FDA-Food and Drug Administration. Thalidomide promising for multiple myeloma. Disponível em: URL: <http://www.cancer.gov/clinicaltrials/results/thalidomide-and-multiple-myeloma>, Acesso em: 22 de março de 2012.

FUCHS D.F.; WANNMACHER L. - Farmacologia Clínica: Fundamentos da Terapêutica Racional. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 1282p.

FULLERTON, P.M.; O'SULLIVAN D.J. Thalidomide neuropathy: a clinical, electrophysiological and histological follow-up study. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, v.31, p.543-51, 1968.

GIBALDI, M.; LEVY, G. Pharmacokinetics in Clinical Practice - I. Concepts. *The Journal of the American Medical Association*, v.235, p.1864-1867, 1976.

GIBALDI, M. Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics. 4.ed. Pennsylvania: Lea & Febiger, 1991. p.1-13, 14-23.

GOLDSTEIN, A.; ARONOW, L.; KALMAN, S.M. Principles of drug action: The Basis of Pharmacology, 2.ed. New York: John Wiley & Sons Inc., 1974.

GORDON, G. B.; SPIELBERG, S. P.; BLAKE, D. A.; BALASUBRAMANIAN, V. Thalidomide teratogenesis: evidence for a toxic arene oxide metabolite. USA: *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v.78, n.4, 2545-48, 1981.

GUIDANCE FOR GOOD LABORATORY PRACTICE, Principles and Guidance for Compliance Procedures for Good Laboratory Practice, Organisation for Economic Co-Operation and Development , Environment Monograph n. 110, (OECD), n. 2 (Revised), 1995.

GUIDANCE FOR INDUSTRY, Bioanalytical Method Validation, US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), May. 2001.

GUIDANCE FOR INDUSTRY, General Considerations for the Clinical Evaluations of Drugs, US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), February 1997a.

GUIDANCE FOR INDUSTRY, INDs for Phase 2 and Phase 3 Studies, US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), May 2003.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. Tratado de Fisiologia Médica. 12<sup>a</sup>ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

HASLETT, P.A.; CORRAL, L.G.; ALBERT, M.; KAPLAN, G. Thalidomide costimulates primary human T lymphocytes, preferentially inducing proliferation, cytokine production, and cytotoxic responses in the CD8 + subset. *The Journal of Experimental Medicine*, v. 187, n. 11, p.1885-92, 1 jun.1998.

HENDLER, S.; McCARTY, M. Thalidomide for autoimmune disease. *Medical Hypotheses*, v.10, p.437-43, 1983.

HYDER, A.A.; WALI, S.A. Informed consent and collaborative research: perspectives from the developing world. *Developing World Bioethics*, v.6, n. 1, p. 33-40, mar. 2006.

KATIE, Scientific American Brasil. Pesquisadores identificam proteína alvo da talidomida. Disponível em: [http://www2.uol.com.br/sciam/noticias/pesquisadores\\_identificam\\_proteina\\_alvo\\_da\\_talidomida.html](http://www2.uol.com.br/sciam/noticias/pesquisadores_identificam_proteina_alvo_da_talidomida.html). Acesso em: 16 mai.2012.

UHL, K.; COX, E.; ROGAN, R.; ZELDIS, J.B.; HIXON, D.; FURLONG, L.A.; SINGER, S.; HOLLIMAN, T.; BEYER, J.; WOOLEVER, W. Thalidomide Use in the US: experience with pregnancy testing in the S.T.E.P.S. programme. *Drug Safety*, v. 29, p. 321-329, 2006.

KLAASSEN, C.D.; In: CASARETT & DOULL'S. *Essentials of Toxicology*. New York: McGraw-Hill, 2003, p 353-4.

LEITÃO, A. P. A. Avaliação Farmacocinética de duas formulações de minociclina em condições de jejum e após dieta rica em cálcio. 2001. 212 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2001; p 33-40.

LIMA, L.M.; Castro, P.; Souza, S. D.; Verli, H.; MENEZES, C.M.S.; FRAGA, C.A.M.; RODRIGUES, C.R.; Moraes, V.L.G.; BARREIRO, E.J. Síntese, avaliação farmacológica e desenvolvimento de modelo farmacofórico de novos análogos da talidomida. In: 24a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2001, Poços de Caldas, MG, Livro de Resumos (MD-022), 24a. RASBQ. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2001.

LINDHOLM, J.; JOHANSSON, M.; FORNSTEDT, T. Guidelines for analytical method development and validation of biotechnological synthesis of drugs production of a hydroxyprogesterone as model. *Journal of Chromatography B*, v.791, p.323-336, 2003.

LLOYD, J. Clinical trial design In: LLOYD, J.; RAVEN, A. *Handbook of clinical research*. 2.ed. London: Churchill Livingstone, 1994.

MARRIOT, J.B.; MULLER, G.; DALGLEISH, A.G. Thalidomide as an emerging immunotherapeutic agent. *Immunology Today*, v.20, n.12, p.538-40, 1999.

MATTHEWS, S.J.; McCOY, C. Thalidomide: A Review of Approved and Investigational Uses. *Clinical Therapeutics*, v. 25, n. 2, p.342-395, 2003.

McBRIDE, W.G. Thalidomide and congenital abnormalities. *The Lancet*, v.2, p.1358, Dec. 1961.

MELLIN, G.W.; KATZENSTEIN, M. The saga of thalidomide: neuro- pathy to embryopathy, with case reports and congenital abnormalities. *The New England Journal of Medicine*, v.267, p.1184-93, 1963.

MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. Ensaios clínicos de medicamentos no Brasil. *Fármacos e Medicamentos*, v.6, n.1, p.35-40, 2000.

NEBERT, D.W.; GONZALEZ, F.J. P450 genes: structure, evolution and regulation. *The Annual Review of Biochemistry*, v.56, p.945-993, 1987.

NOORMOHAMED, F.H.; YOULE, M.S.; HIGGS, C.J.; KOOK, K.A.; HAWKINS, D.A.; LANT, A.F.; THOMAS, S.D. Pharmacokinetics and hemodynamic effects of single oral doses of thalidomide in asymptomatic human immunodeficiency virus-infected subjects. *AIDS Research and Human Retroviruses*. v.15, n.12, p.1047-1052, Aug.1999.

OCHONISKV, S.; VERROUST, J.; BASTUJI-GARIN, S.; GHERARDI, R.; REVUZ, J. Thalidomide neuropathy incidence and clinico-electrophysiologic findings in 42 patients. *Archives of Dermatology*, v.130, n.1, p. 66-69, jan. 1994.

OLIVEIRA, M.A.; BERMUDEZ, J.A.Z.; SOUZA, A.C.M. Talidomida no Brasil: vigilância com responsabilidade compartilhada? *Cadernos de Saúde Pública*, v.15, n.1, p.99-112, 1999.

OLIVEIRA, E.A.; LABRA, M.E.; BERMUDEZ, J. A produção pública de medicamentos no Brasil: uma visão geral. *Cadernos de Saúde Pública*, v.22, n.11, p.2379-89, 2006.

PAGANOTTO, E. C. F. Estudo da Farmacocinética da Talidomida em Pacientes Com Tumores Sólidos Refratários. 2002. 97f. Dissertação (Mestrado em Medicina: Gastroenterologia) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2002.

PAGE, C.; CURTIS, M.; SUTTER, M.; WALKER, M.; HOFFMAN, B. *Integrated Pharmacology*. 2. ed. Mosby, Edinburgh: Mosby, 2002. p.343–53.

PANNIKAR, V. The return of thalidomide: new uses and renewed concerns. *WHO Pharmaceutical Newsletter*, n.2, p.11-12, 2003.

PERRI, A. J. 3rd; HSU, S. A review of thalidomide's history and current dermatological applications. *Dermatology Online Journal*, v.9, n.3, p.5, 2003.

PEUCKMANN, V.; FISCH, M.; BRUERA, E. Potential novel uses of thalidomide: focus on palliative care. *Drugs*, v.60, n.2, p. 273-92, Aug. 2000.

PISCITELLI, T.C.; FIGG, W.D.; HAHN, B.; KELLY, G.; THOMAS, S.; WALKER, R.E. Single-dose pharmacokinetics of thalidomide in human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 41, n.12, p. 2797- 9, 1997.

PRESCOTT, L.F.; NIMMO, W.S. Drug absorption. New York; Sydney: ADIS Press, 1981. 353 p.

RAJKUMAR, S.V.; FONSECA, R.; DISPENZIERI, A.; LACY, M.Q.; LUST, J.A.; WITZGI, T.E. Thalidomide in the treatment of relapsed multiple myeloma. *Mayo Clinic Proceedings*, v.75, p.897-901, 2000.

RANDALL, T.; Thalidomide has 37-year history. **Journal of the American Medical Association**, v.263, n.11, p.1474, 16 mar. 1990.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J. *Farmacologia*. 6.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. 829p.

REIRIZ, A.B. Estudo Clínico de Fase II e Farmacocinética para o uso de Talidomida em Pacientes com Melanoma Metastático. 2003. 110f. Dssertação (Mestrado em Medicina) - Faculdade de Medicina Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2003.

REVISTA DE SAÚDE PÚBLICA. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo: v.34, n.2, p. 206-9, abr. 2000.

RICHARDSON, P.; HIDESHIMA, T.; ANDERSON, K. Thalidomide: Emerging Role in Cancer Medicine. *Annual Review of Medicine*, v. 53, p. 629-57, feb. 2002.

RITSCHER, W.A. *Handbook of basic pharmacokinetics*. 3.ed. Hamilton, Illinois, USA: Drug Intelligence Publication, Inc. Hamilton Press, 1986. 544p.

ROBERTS, M.S.; DONALDSON, J.D.; ROWLAND, M. Models of hepatic elimination: Comparison of stochastic models to describe residence time distributions and to predict the influence of drug distribution, enzyme heterogeneity, and systemic recycling on hepatic elimination. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, v.16, p. 41-83, 1988.

RODRIGUES, A. Talidomida presente no sêmen é insuficiente para prejudicar feto, afirma geneticista. Extraído de: Direito do Estado - 16 de Outubro de 2008. Disponível em: <http://direito-do-estado.jusbrasil.com.br/noticias/143176/talidomida-presente-no-semen-e-insuficiente-para-prejudicar-feto-afirma-geneticista>. Acesso em: 22 de mar. 2012, 19;08;02.

ROWLAND, T.L.; MCHUGH, S.M.; DEIGHTON J.; DEARMAN, R.J; EWAN, P.W.; KIMBER, I. Differential regulation by thalidomide and dexamethasone of cytokine expression in human peripheral blood mononuclear cells. *Immunopharmacology*, v. 40, p. 11-20, 1998.

ROWLAND, M.; TOZER, T.N. *Clinical Pharmacokinetics. Concepts and Applications*. 3.ed. London: Lea & Febiger, 1995.

SANTOS, M.F.Q.; LOMBARDI, C.; BELDA, W. Talidomida: uma revisão da literatura. *Hansenologia Internationalis*, v.6, n.2, p.136-145, 1981.

SCHOENWALD, R.D. *Pharmacokinetics in Drug Discovery and Development*. London: CRC Press, mar, 2002. 440p.

SHANNON, E.J.; MORALES, M.J.; SANDOVAL F. Immunomodulatory assays to study structure-activity relationships of thalidomide. *Immunopharmacology*, v.35, p. 203-12, 1997.

SHARGEL, L.; WU-PONG, S.; YU, A.B.C. *Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics*. 5.ed. New Baskerville: McGraw Hill, 2005.

SHEKIN, J. Thalidomide in lepra reactions. *Clinical Pharmacology Therapy*, v.6, p.303-306,1965.

SIUZDAK, G.; HOLLENBECK, T.; BOTHNER, B. Preparative Mass Spectrometry with Electrospray Ionization. *Journal of Mass Spectrometry*, v.34, p.1087-1088, 1999.

SNEADER, W.; *Drug Discovery: The evolution of modern medicines*. Chichester, Great Britain: John Wiley & Sons. 1985. 435p.

STEPHENS, T. D.; BUNDE, C. J. W.; FUILLMORE, B. J. Mechanism of action in thalidomide teratogenesis. *Biochemical Pharmacology*, v.59, n.12, p.1489-1499, jun. 2000.

STIRLING, S. D. Potential use of Thalidomide in HIV - AIDS. *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, v.30, p.319-327, 1995. cap.32.

STORPIRTS, S.; GAI, M.N.; CAMPOS, D.R.; GONÇALVES, J.E. Farmacocinética Básica e Aplicada. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.13-33, 2011.

TEO, S.K.; COLBURN, W.A.; THOMAS, S.D. Single-Dose Oral Pharmacokinetics of Three Formulations of Thalidomide in Healthy Male Volunteers. *The Journal of Clinical Pharmacology*, v. 39; n.11, p. 1162-8, nov. 1999.

TEO, S.K.; HARDEN, J.L.; BURKE, A.B.; NOORMOHAMED, F.H.; YOULE, M.; JOHNSON, M.A.; PETERS, B.S.; STIRLING, D.I.; THOMAS, S.D. Thalidomide is distributed into human sêmen after oral dosing. *Drug Metabolism and Disposition*, v. 29, n.10, p.1355-57, oct. 2001.

TESENG, S.; PAK, G.; WASHENIK, K.; POMERANZ, M.K.; SHUPACK, J. L. Rediscovery thalidomide: a review of its mechanisms of action, side effects and potential uses. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v.35, n.6, p.969-79, 1996.

U.S.D.A. (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE) and Dietary Guidelines Advisory Committee. *The Dietary Guidelines for Americans, 2000*. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture: 2000

USP-DI (United States Pharmacopeia – Drug Information) Advice for the Patient (CD-ROM Micromedex, versão). Twinbrook Parkway Rockville: United States Pharmacopeial Convention; 3º trim/2003.

VALENTE, M.S.S.; VIEIRA, J.L.F. Talidomida usada por pacientes com eritema nodoso hansênico. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v. 43, n.2, p. 201-204, mar-abr. 2010.

WNENDT, S.; FINKAM, M.; WINTER, W.; OSSIG, J.; RAABE, G.; ZWINGENBERGER, K. Enantioselective inhibition of TNF-alpha release by thalidomide and thalidomide-analogues. *Chirality*, v.8, p.390-6, 1996.

WORTHINGTON, H. Methods for pooling results from multi-center studies. *Journal of Dental Research*, v. 83, n.1, p.119-21, jul. 2004.

WU, J.J.; HUANG, D.B.; PANG, K.R.; HSU, S.; TYRING, S.K. Thalidomide: dermatological indications, mechanisms of action and side-effects. *British Journal of Dermatology*, v.153. p.254-273, 2005.



**ANEXOS**

## ANEXO 1

### TERMO DE ESCLARECIMENTO PARA O USUÁRIO DA TALIDOMIDA

Caberá ao (à) médico (a) ler e explicar este Termo de Esclarecimento ao paciente que for fazer uso da Talidomida, preenchendo e assinando o campo que lhe foi destinado ao final da folha. O paciente deverá ler com atenção este documento, levando uma das vias, com assinatura do(a) médico(a), juntamente com a receita e/ou medicamento.

#### OBSERVAÇÕES IMPORTANTES:

VOCÊ SABIA QUE A TALIDOMIDA, ALÉM DE CAUSAR PROBLEMAS COM SONOLÊNCIA, NEUROPATIA PERIFÉRICA e PSEUDO ABDOMEN AGUDO:

- É PROIBIDO PARA MULHERES EM IDADE DE TER FILHOS (DA PRIMEIRA À ÚLTIMA MENSTRUACÃO)
- PODE CAUSAR O NASCIMENTO DE CRIANÇAS SEM PERNAS, QUANDO TOMADA POR MULHER GRÁVIDA.
- NÃO PROVOCA ABORTO.
- NÃO EVITA FILHOS. É SÓ SUA. NÃO DEIXE NINGUÉM TOMÁ-LA EM SEU LUGAR.

#### PORTANTO:

- I. O(A) Sr.(a), poderá ser RESPONSABILIZADO (A) NA JUSTIÇA, caso repasse a TALIDOMIDA a outra pessoa ou deixe alguém tomar este medicamento no seu lugar;
- II. É DEVER DO(A) MÉDICO(A) que lhe receitou a TALIDOMIDA explicar todos os efeitos desse medicamento;
- III. É SEU DIREITO:
  - a) conhecer como uma criança pode nascer se a mãe tomar TALIDOMIDA na gravidez. Para isso, é necessário que o(a) médico(a) lhe mostre folhetos sobre o assunto, com textos e fotos;
  - b) saber que certos medicamentos anulam os efeitos da pílula e que não existe método anticoncepcional totalmente seguro para evitar o nascimento de filhos;
  - c) recusar o uso da TALIDOMIDA.

---

NOME COMPLETO DO USUÁRIO

---

ENDEREÇO COMPLETO

---

IDENTIDADE N.º

---

ÓRGÃO EXPEDIDOR

---

ASSINATURA DO USUÁRIO

---

NOME COMPLETO DO MÉDICO

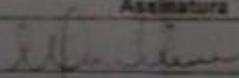
---

ASSINATURA DO MÉDICO

---

Nº CRM

**ANEXO 2**  
**CERTIFICADO PADRÃO SECUNDÁRIO**

 FUNED Fundação Ezequiel Dias	TALIDOMIDA AR 2009060048 PADRONIZAÇÃO	
<p><b>FUNED - Fundação Ezequiel Dias</b> Diretoria Industrial Divisão de Controle da Qualidade Serviço de Controle Físico-Químico</p>		
<p><b>CERTIFICADO DE PADRÃO SECUNDÁRIO</b></p>		
Matéria-prima:	TALIDOMIDA	
Lote:	AR 2009060048	
Teor:	100,04%	
Fabricante:	Microbiológica	
Validade da matéria-prima:	Maio/2012	
Validade da padronização:	Novembro/2011	
Substância Química de Referência utilizada: Talidomida (Farmacopéia Americana USP); lote F0C107, teor: 100,00%		
Referência: Protocolo PPPS SCFQ 27 – Edição 03 e Relatório de Padronização RPPS SCFQ 27 – Edição 03.		
Aprovação da padronização na Divisão de Controle de Qualidade		
Nome	Assinatura	Data
Marie Carolina Andrade Guerra		27 / 10 / 09

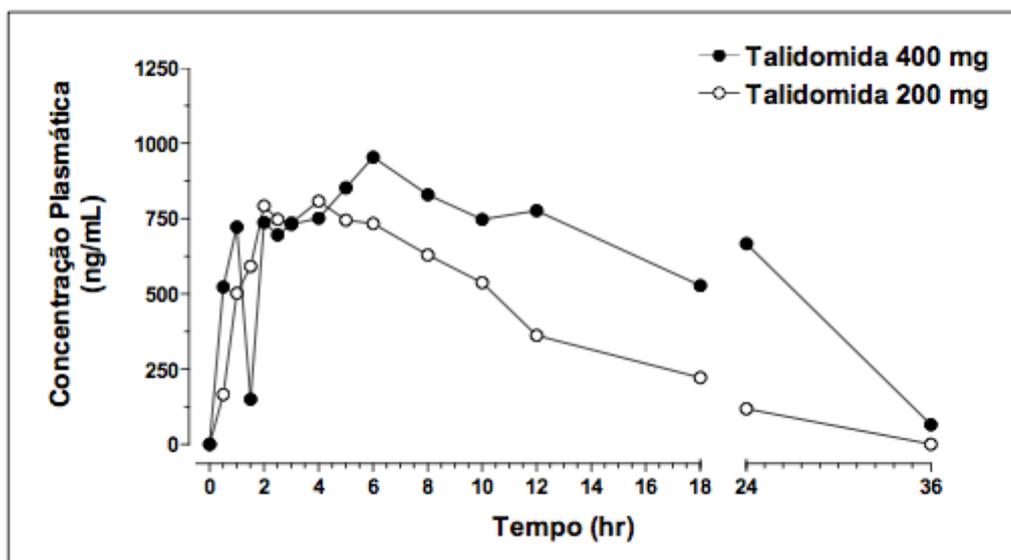
**ANEXO 3**  
**CERTIFICADO PADRÃO INTERNO**

<b>SIGMA-ALDRICH</b>		<b>ALDRICH</b>
		Reichartstr. 1 D-69126 Heidelberg Germany Tel: +49 71 2967 2000 Fax: +49 71 2967 2007
<b>Certificate of Analysis</b>		
<b>Product Name:</b>	<b>PHENACETIN</b>	
	purum. = 98.0 % HPLC, fine crystals	
<b>Product Number:</b>	77440	
<b>Product Brand:</b>	ALDRICH	
<b>Molecular Formula:</b>	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	
<b>Molecular Mass:</b>	179.22	
<b>CAS Number:</b>	62-44-2	
<b>TEST SPECIFICATION LOT S74813 RESULTS</b>		
<b>APPEARANCE (COLOR)</b>	WHITE/COLORLESS	WHITE
<b>APPEARANCE (FORM)</b>	POWDER TO POWDER WITH LUMPS	POWDER
<b>PURITY (HPLC AREA %)</b>	≥ 98.0 %	99.6 %
<b>MELTING POINT</b>	133 - 136 C	135 C
<b>SOLUBILITY (COLOR)</b>	COLORLESS	COLORLESS
<b>SOLUBILITY (TURBIDITY)</b>	CLEAR TO FAINTLY TURBID (< 29.0 NTU)	VERY FAINTLY TURBID (5.6-12.5 NTU)
<b>SOLUBILITY (METHOD)</b>	-	0.5 G IN 10 ML ETOH (HOT)
<b>RESIDUE ON IGNITION</b>	≤ 0.1 %	< 0.1 %
<b>INFRARED SPECTRUM</b>	CONFORMS TO STRUCTURE	CONFORMS TO STRUCTURE
<b>QC RELEASE DATE</b>	29JAN09	
 Julia Mayer, Manager Quality Control Steinheim, Germany		

## ANEXO 4

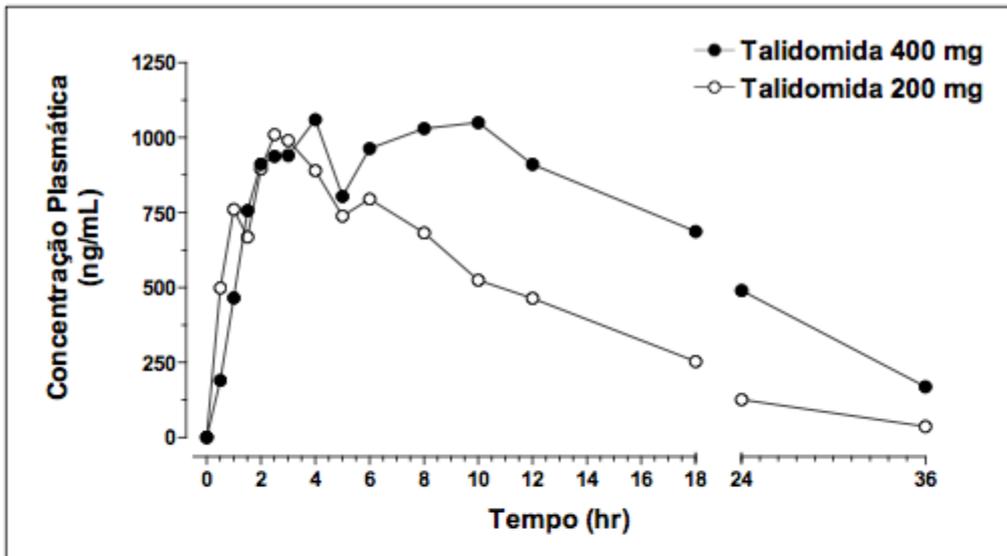
## CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS INDIVIDUAIS

Voluntário 1 - GA200869



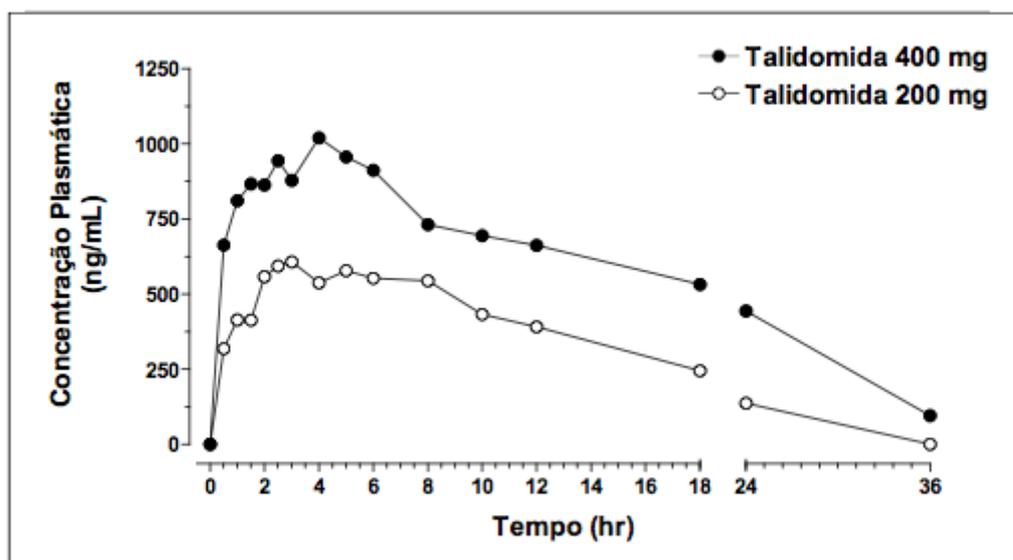
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	24.00
$ASC_{0-T_{\text{último}}}$	([ng*hr]/mL)	20819	10070
$ASC_{0-inf}$	([ng*hr]/mL)	21662	11217
$ASC_{0-inf}$ extrapolado	%	3.89	10.23
$ASC_{0-T_{\text{último}}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	52.05	50.35
$ASC_{0-inf}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	54.15	56.09
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	954.00	808.00
$C_{\text{max}}/\text{dose}$	(ng/mL/mg)	2.39	4.04
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	65.40	118.00
$V_d$	(L)	237.99	173.33
$Cl$	(L/hr)	18.47	17.83
$T_{\text{max}}$	(hr)	6.00	4.00
$T_{1/2}$	(hr)	8.93	6.74
$K_e$	(1/hr)	0.08	0.10

Voluntário 2 - FC300488



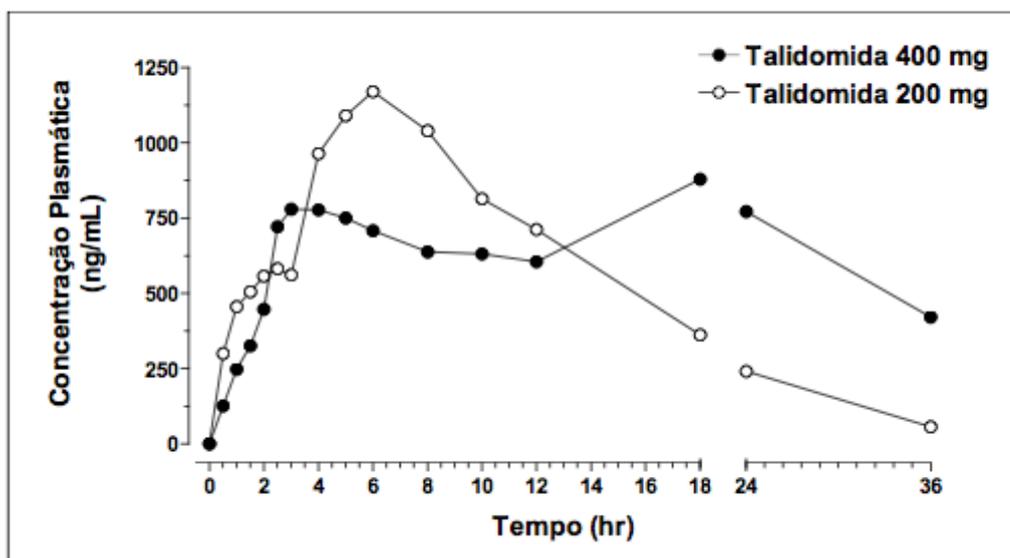
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	36.00
$ASC_{0-T_{\text{último}}}$	([ng*hr]/mL)	22989	12617
$ASC_{0-inf}$	([ng*hr]/mL)	25116	12958
$ASC_{0-inf}$ extrapolado	%	8.47	2.63
$ASC_{0-T_{\text{último}}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	57.47	63.08
$ASC_{0-inf}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	62.79	64.79
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	1060.00	1010.00
$C_{\text{max}}/\text{dose}$	(ng/mL/mg)	2.65	5.05
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	169.00	36.40
$V_d$	(L)	200.44	144.75
$Cl$	(L/hr)	15.93	15.43
$T_{\text{max}}$	(hr)	4.00	2.50
$T_{1/2}$	(hr)	8.72	6.50
$K_e$	(1/hr)	0.08	0.11

Voluntário 3 - MM131080



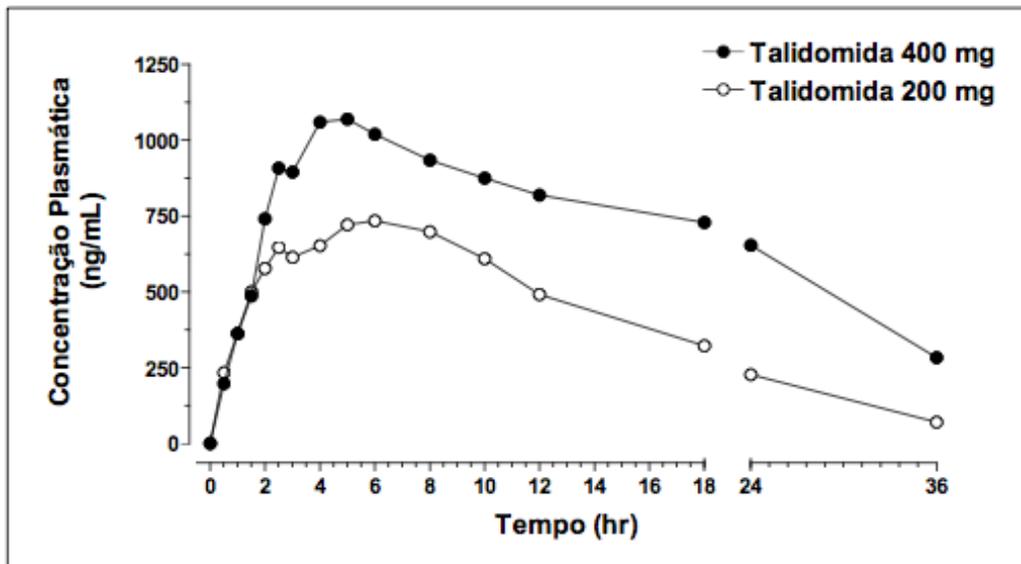
Thalidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	24.00
$ASC_{0\text{-Túltimo}}$	([ng*hr]/mL)	19334	8945
$ASC_{0\text{-inf}}$	([ng*hr]/mL)	20790	10585
$ASC_{0\text{-inf}}$ extrapolado	%	7.00	15.49
$ASC_{0\text{-Túltimo}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	48.34	44.72
$ASC_{0\text{-inf}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	51.98	52.92
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	1020.00	607.00
$C_{\text{max}}/\text{dose}$	(ng/mL/mg)	2.55	3.04
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	95.30	137.00
$V_d$	(L)	293.90	226.17
$Cl$	(L/hr)	19.24	18.90
$T_{\text{max}}$	(hr)	4.00	3.00
$T_{1/2}$	(hr)	10.59	8.30
$K_e$	(1/hr)	0.07	0.08

Voluntário 4 - AS071190



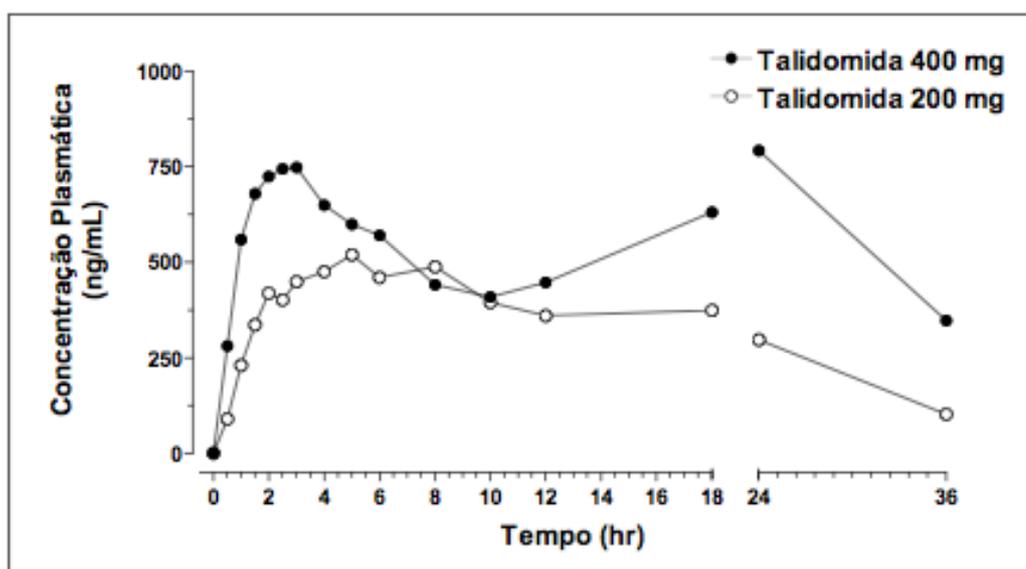
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	36.00
$ASC_{0\text{-}T_{\text{último}}}$	([ng*hr]/mL)	23813	16663
$ASC_{0\text{-}inf}$	([ng*hr]/mL)	33772	17223
$ASC_{0\text{-}inf}$ extrapolado	%	29.49	3.25
$ASC_{0\text{-}T_{\text{último}}/dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	59.53	83.32
$ASC_{0\text{-}inf}/dose$	([ng*hr]/mL/mg)	84.43	86.11
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	879.00	1170.00
$C_{\text{max}}/dose$	(ng/mL/mg)	2.20	5.85
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	421.00	56.20
$V_d$	(L)	280.18	115.58
$Cl$	(L/hr)	11.84	11.61
$T_{\text{max}}$	(hr)	18.00	6.00
$T_{1/2}$	(hr)	16.40	6.90
$K_e$	(1/hr)	0.04	0.10

Voluntário 5 - FM171087



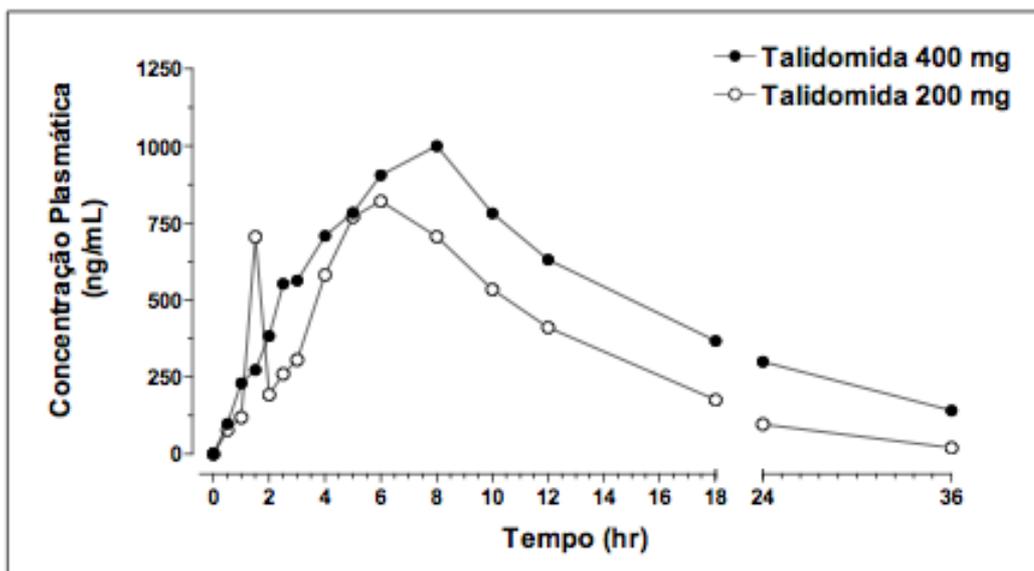
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	36.00
$ASC_{0-T_{\text{último}}}$	([ng*hr]/mL)	24531	13067
$ASC_{0-inf}$	([ng*hr]/mL)	31864	13939
$ASC_{0-inf}$ extrapolado	%	23.01	6.26
$ASC_{0-T_{\text{último}}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	61.33	65.34
$ASC_{0-inf}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	79.66	69.70
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	1070.00	734.00
$C_{\text{max}}/\text{dose}$	(ng/mL/mg)	2.68	3.67
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	283.00	70.00
Vd	(L)	325.26	178.82
Cl	(L/hr)	12.55	14.35
$T_{\text{max}}$	(hr)	5.00	6.00
$T_{1/2}$	(hr)	17.96	8.64
$K_e$	(1/hr)	0.04	0.08

Voluntário 6 - SS090288



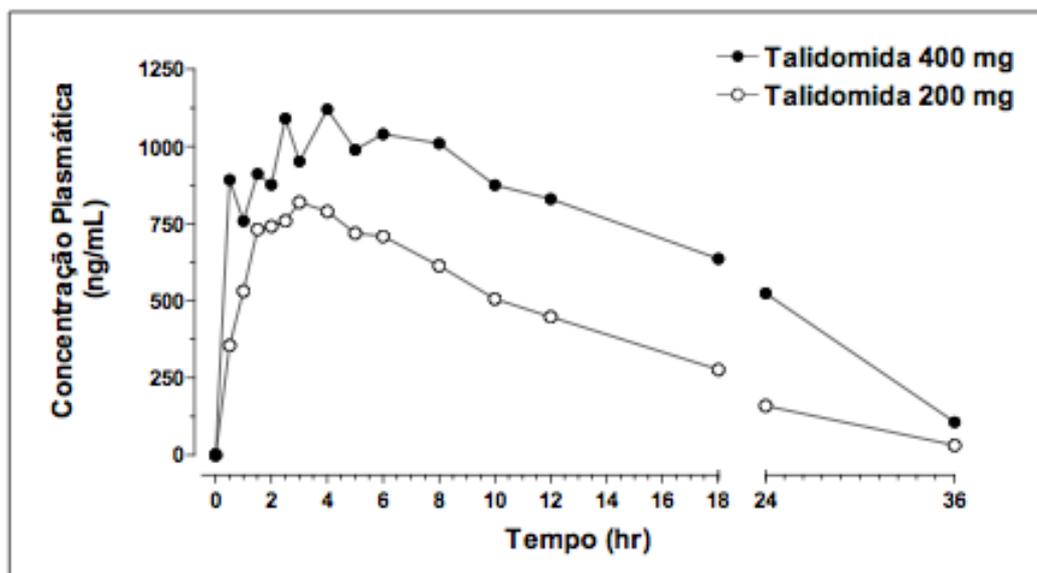
Thalidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	36.00
$ASC_{0-T_{\text{último}}}$	([ng*hr]/mL)	20642	11492
$ASC_{0-inf}$	([ng*hr]/mL)	-	12859
$ASC_{0-inf}$ extrapolado	%	-	10.63
$ASC_{0-T_{\text{último}}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	51.60	57.46
$ASC_{0-inf}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	-	64.29
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	792.00	519.00
$C_{\text{max}}/\text{dose}$	(ng/mL/mg)	1.98	2.60
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	347.00	102.00
$V_d$	(L)	-	208.51
$Cl$	(L/hr)	-	15.55
$T_{\text{max}}$	(hr)	24.00	5.00
$T_{1/2}$	(hr)	-	9.29
$K_e$	(1/hr)	-	0.07

Voluntário 7 - YA010684



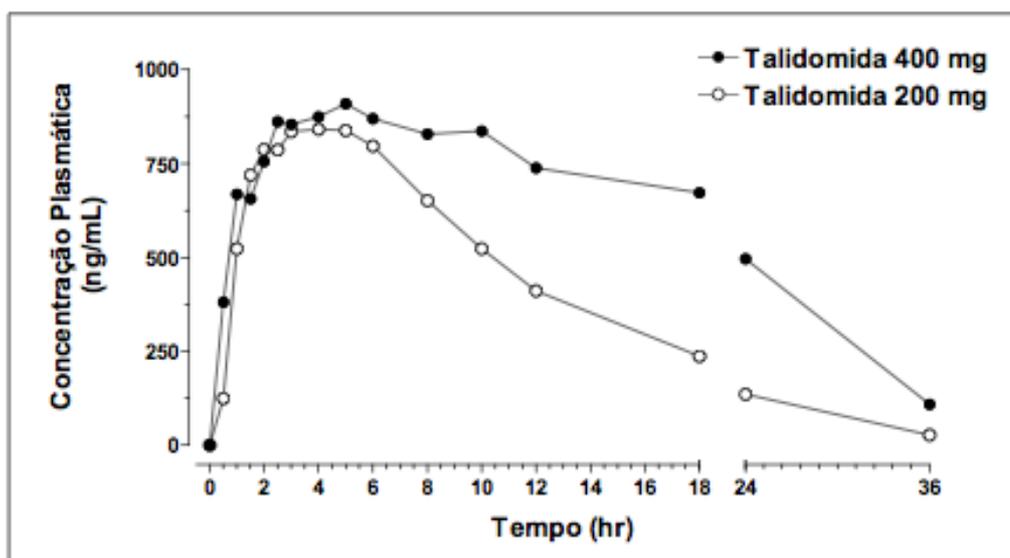
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	36.00
$ASC_{D-T_{\text{último}}}$	([ng*hr]/mL)	15876	9683
$ASC_{D-inf}$	([ng*hr]/mL)	18090	9848
$ASC_{D-inf}$ extrapolado	%	12.24	1.67
$ASC_{D-T_{\text{último}}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	39.69	48.41
$ASC_{D-inf}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	45.23	49.24
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	1000.00	821.00
$C_{\text{max}}/\text{dose}$	(ng/mL/mg)	2.50	4.11
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	141.00	20.50
$V_d$	(L)	347.31	163.40
$Cl$	(L/hr)	22.11	20.31
$T_{\text{max}}$	(hr)	8.00	6.00
$T_{1/2}$	(hr)	10.89	5.58
$K_e$	(1/hr)	0.06	0.12

Voluntário 8 - AO170381



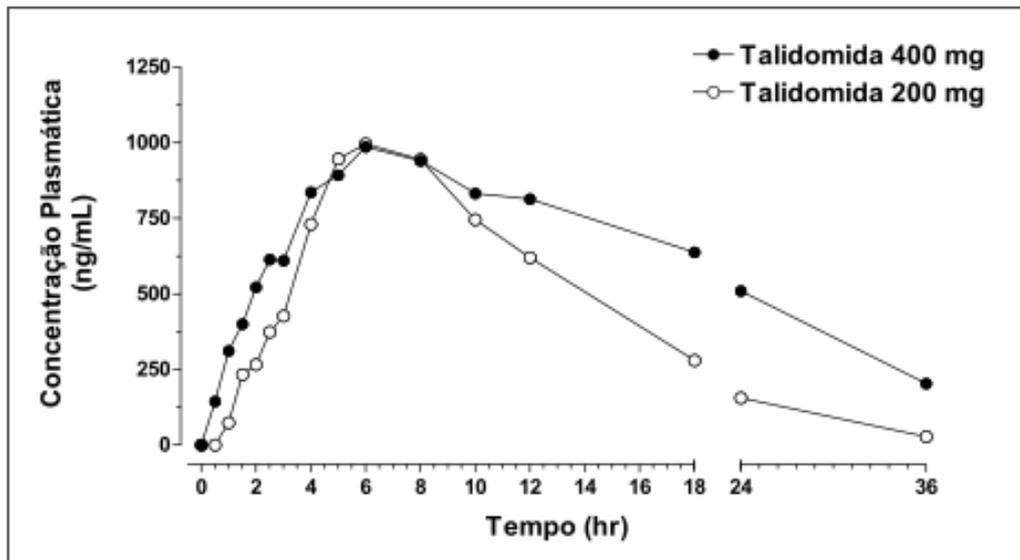
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	36.00
$ASC_{D-T_{\text{último}}}$	([ng*hr]/mL)	22911	12065
$ASC_{D-inf}$	([ng*hr]/mL)	23942	12322
$ASC_{D-inf}$ extrapolado	%	4.31	2.08
$ASC_{D-T_{\text{último}}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	57.28	60.33
$ASC_{D-inf}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	59.85	61.61
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	1120.00	819.00
$C_{\text{max}}/\text{dose}$	(ng/mL/mg)	2.80	4.10
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	107.00	31.50
$V_d$	(L)	160.97	132.10
$Cl$	(L/hr)	16.71	16.23
$T_{\text{max}}$	(hr)	4.00	3.00
$T_{1/2}$	(hr)	6.68	5.64
$K_e$	(1/hr)	0.10	0.12

Voluntário 9 - AP250587



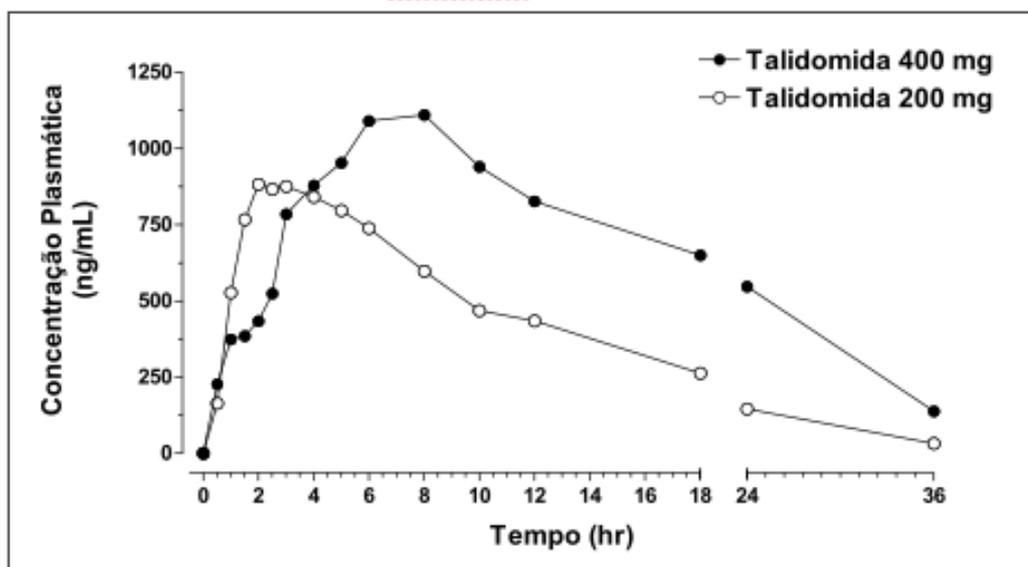
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	36.00
$ASC_{0-T_{\text{último}}}$	([ng*hr]/mL)	20818	11772
$ASC_{0-inf}$	([ng*hr]/mL)	21859	12024
$ASC_{0-inf}$ extrapolado	%	4.76	2.10
$ASC_{0-T_{\text{último}}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	52.04	58.86
$ASC_{0-inf}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	54.65	60.12
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	909.00	841.00
$C_{\text{max}}/\text{dose}$	(ng/mL/mg)	2.27	4.21
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	109.00	27.40
Vd	(L)	174.85	153.28
Cl	(L/hr)	18.30	16.63
$T_{\text{max}}$	(hr)	5.00	4.00
$T_{1/2}$	(hr)	6.62	6.39
$K_e$	(1/hr)	0.10	0.11

Voluntário 10 - PC060488



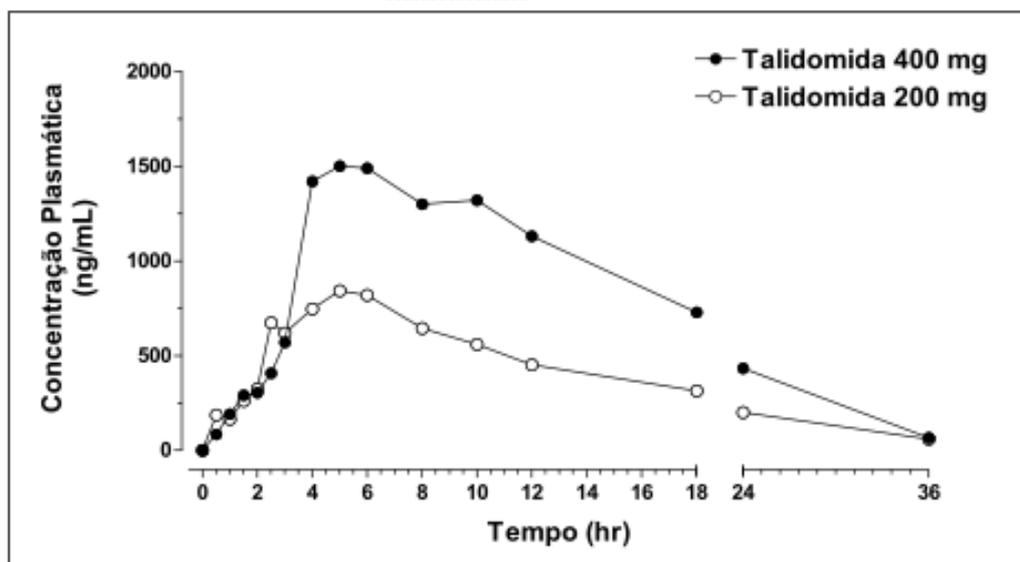
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	36.00
$ASC_{0-\text{Túltimo}}$	([ng*hr]/mL)	21097	13078
$ASC_{0-\text{inf}}$	([ng*hr]/mL)	24196	13302
$ASC_{0-\text{inf}}$ extrapolado	%	12.81	1.69
$ASC_{0-\text{Túltimo}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	52.74	65.39
$ASC_{0-\text{inf}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	60.49	66.51
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	986.00	996.00
$C_{\text{max}}/\text{dose}$	(ng/mL/mg)	2.47	4.98
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	203.00	28.00
$V_d$	(L)	252.40	120.75
$Cl$	(L/hr)	16.53	15.03
$T_{\text{max}}$	(hr)	6.00	6.00
$T_{1/2}$	(hr)	10.58	5.57
$K_e$	(1/hr)	0.07	0.12

Voluntário 11 - FP200190



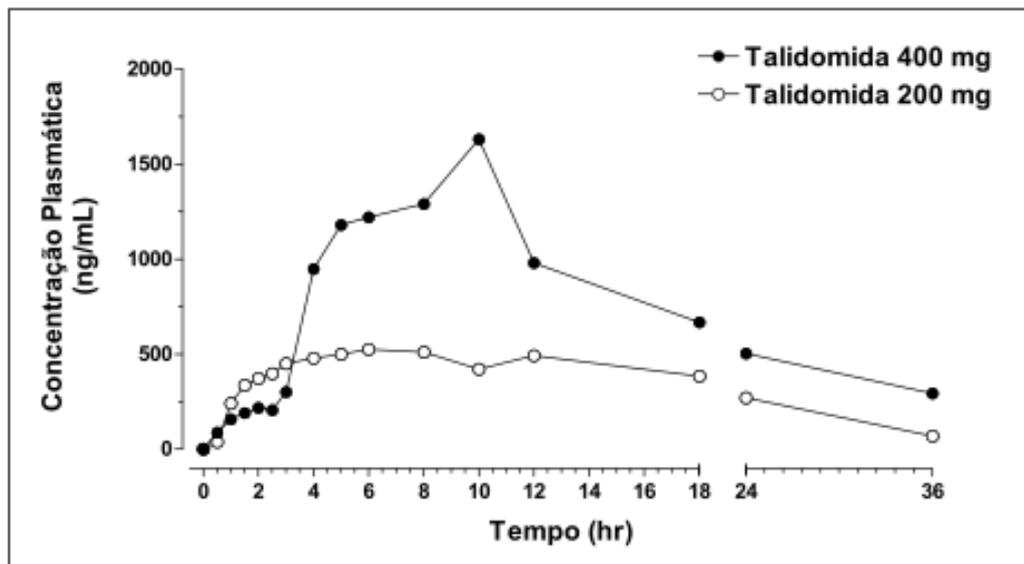
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	36.00
$ASC_{Q-T_{\text{último}}}$	([ng*hr]/mL)	22087	11965
$ASC_{Q-inf}$	([ng*hr]/mL)	24085	12238
$ASC_{Q-inf}$ extrapolado	%	8.30	2.23
$ASC_{Q-T_{\text{último}}}/dose$	([ng*hr]/mL/mg)	55.22	59.82
$ASC_{Q-inf}/dose$	([ng*hr]/mL/mg)	60.21	61.19
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	1110.00	883.00
$C_{\text{max}}/dose$	(ng/mL/mg)	2.78	4.42
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	138.00	32.20
$V_d$	(L)	240.46	138.50
$Cl$	(L/hr)	16.61	16.34
$T_{\text{max}}$	(hr)	8.00	2.00
$T_{1/2}$	(hr)	10.04	5.87
$K_e$	(1/hr)	0.07	0.12

## Voluntário 12 - FS181168



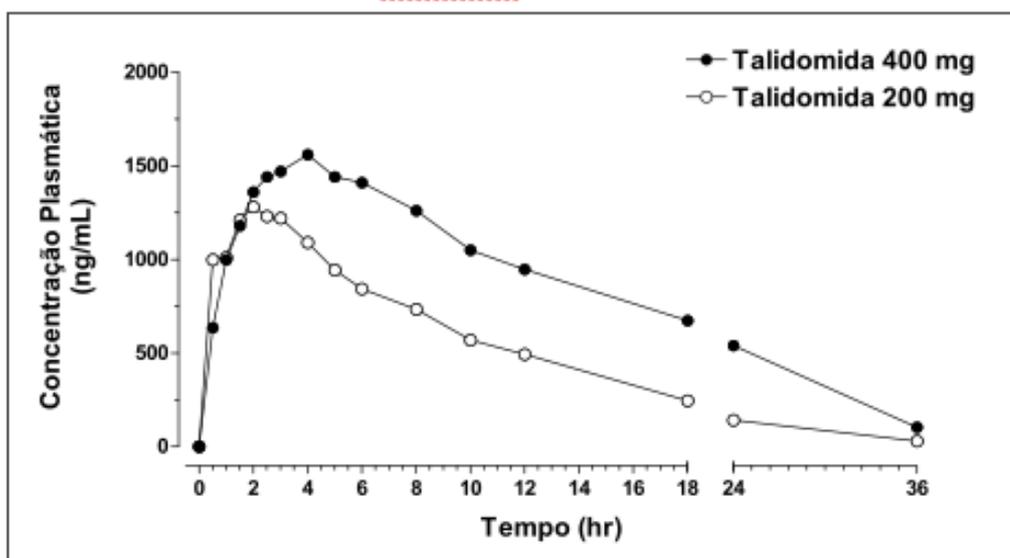
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	36.00
$ASC_{0-\text{Túltimo}}$	([ng*hr]/mL)	24659	12340
$ASC_{0-\text{inf}}$	([ng*hr]/mL)	25156	13044
$ASC_{0-\text{inf}}$ extrapolado	%	1.98	5.40
$ASC_{0-\text{Túltimo}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	61.65	61.70
$ASC_{0-\text{inf}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	62.89	65.22
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	1500.00	842.00
$C_{\text{max}}/\text{dose}$	(ng/mL/mg)	3.75	4.21
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	67.40	58.90
$V_d$	(L)	117.33	183.23
$Cl$	(L/hr)	15.90	15.33
$T_{\text{max}}$	(hr)	5.00	5.00
$T_{1/2}$	(hr)	5.11	8.28
$K_e$	(1/hr)	0.14	0.08

## Voluntário 13 - FN290363



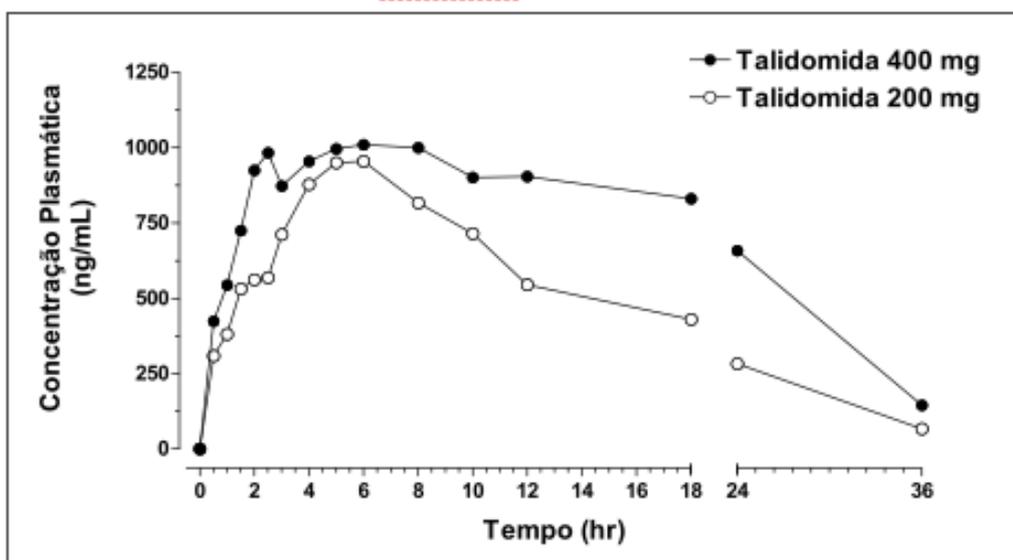
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
T <sub>último</sub>	(hr)	36.00	36.00
ASC <sub>0-Túltimo</sub>	([ng*hr]/mL)	24666	11781
ASC <sub>0-inf</sub>	([ng*hr]/mL)	31142	12498
ASC <sub>0-inf</sub> extrapolado	%	20.79	5.74
ASC <sub>0-Túltimo</sub> /dose	([ng*hr]/mL/mg)	61.67	58.90
ASC <sub>0-inf</sub> /dose	([ng*hr]/mL/mg)	77.85	62.49
C <sub>max</sub>	(ng/mL)	1630.00	525.00
C <sub>max</sub> /dose	(ng/mL/mg)	4.08	2.63
C <sub>último</sub>	(ng/mL)	294.00	69.80
V <sub>d</sub>	(L)	282.90	164.47
Cl	(L/hr)	12.84	16.00
T <sub>max</sub>	(hr)	10.00	6.00
T <sub>1/2</sub>	(hr)	15.27	7.12
K <sub>e</sub>	(1/hr)	0.05	0.10

## Voluntário 14 - JN140862



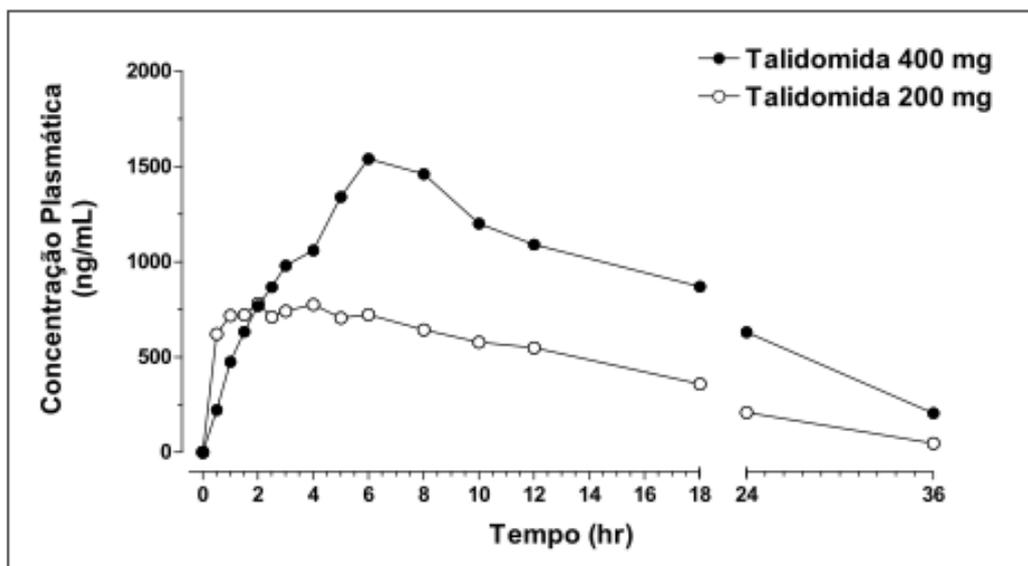
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	36.00
$ASC_{0-\text{Túltimo}}$	([ng*hr]/mL)	26955	14576
$ASC_{0-\text{inf}}$	([ng*hr]/mL)	28273	14849
$ASC_{0-\text{inf}}$ extrapolado	%	4.66	1.84
$ASC_{0-\text{Túltimo}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	67.39	72.88
$ASC_{0-\text{inf}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	70.68	74.24
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	1560.00	1280.00
$C_{\text{max}}/\text{dose}$	(ng/mL/mg)	3.90	6.40
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	103.00	29.70
$V_d$	(L)	181.04	123.92
$Cl$	(L/hr)	14.15	13.47
$T_{\text{max}}$	(hr)	4.00	2.00
$T_{1/2}$	(hr)	8.87	6.38
$K_e$	(1/hr)	0.08	0.11

## Voluntário 15 - RB200891



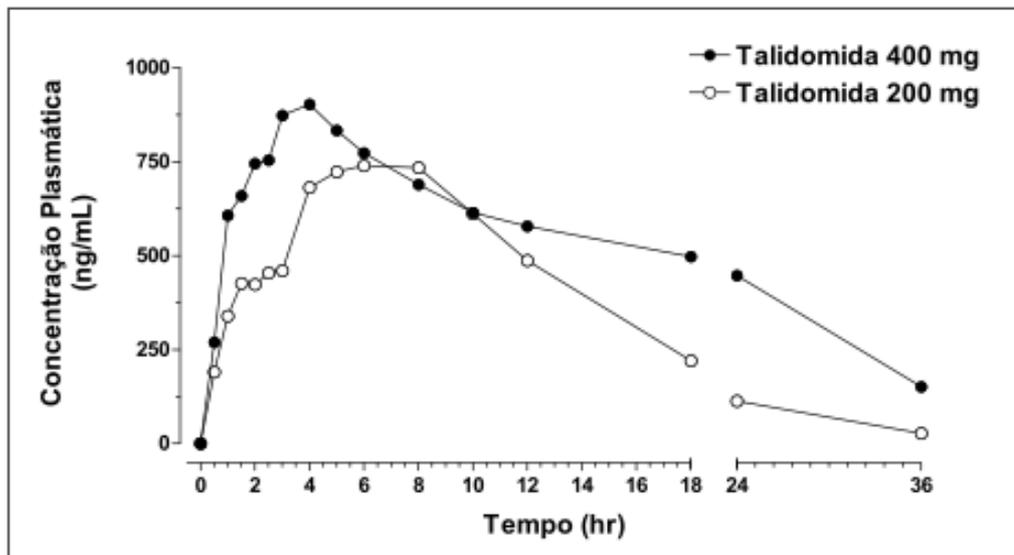
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	36.00
$ASC_{0-T_{\text{último}}}$	([ng*hr]/mL)	25117	15746
$ASC_{0-inf}$	([ng*hr]/mL)	26551	16386
$ASC_{0-inf}$ extrapolado	%	5.40	3.91
$ASC_{0-T_{\text{último}}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	62.79	78.73
$ASC_{0-inf}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	66.38	81.93
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	1010.00	955.00
$C_{\text{max}}/\text{dose}$	(ng/mL/mg)	2.53	4.78
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	145.00	67.40
$V_d$	(L)	148.95	115.89
$Cl$	(L/hr)	15.07	12.21
$T_{\text{max}}$	(hr)	6.00	6.00
$T_{1/2}$	(hr)	6.85	6.58
$K_e$	(1/hr)	0.10	0.11

## Voluntário 16 - EN300881



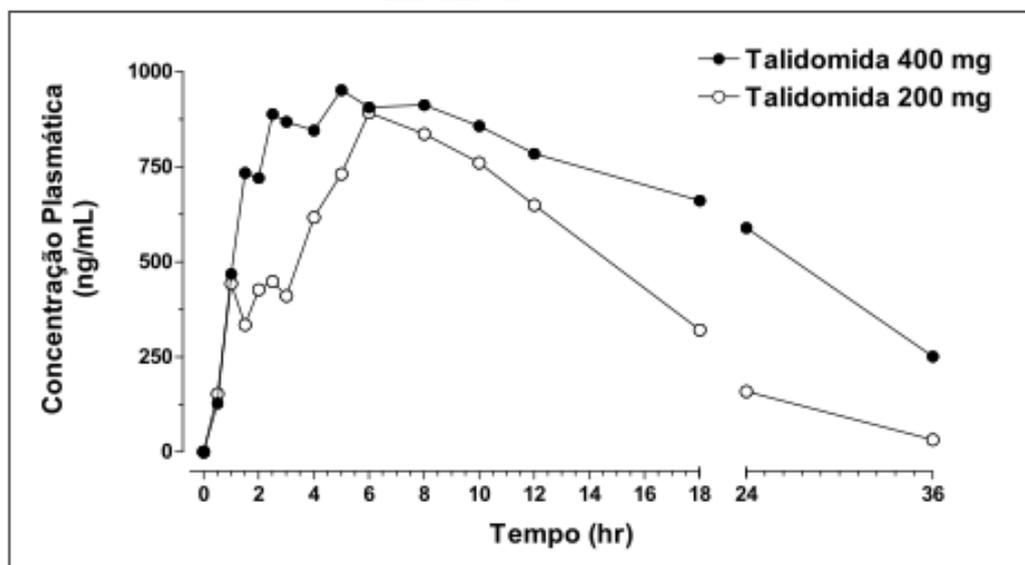
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
T <sub>último</sub>	(hr)	36.00	36.00
ASC <sub>0-Túltimo</sub>	([ng*hr]/mL)	28728	13851
ASC <sub>0-inf</sub>	([ng*hr]/mL)	31222	14262
ASC <sub>0-inf extrapolado</sub>	%	7.99	2.89
ASC <sub>0-Túltimo/dose</sub>	([ng*hr]/mL/mg)	71.82	69.25
ASC <sub>0-inf/dose</sub>	([ng*hr]/mL/mg)	78.05	71.31
C <sub>max</sub>	(ng/mL)	1540.00	781.00
C <sub>max/dose</sub>	(ng/mL/mg)	3.85	3.91
C <sub>último</sub>	(ng/mL)	205.00	47.10
V <sub>d</sub>	(L)	155.86	122.52
Cl	(L/hr)	12.81	14.02
T <sub>max</sub>	(hr)	6.00	2.00
T <sub>1/2</sub>	(hr)	8.43	6.06
K <sub>e</sub>	(1/hr)	0.08	0.11

## Voluntário 17 - LA040985



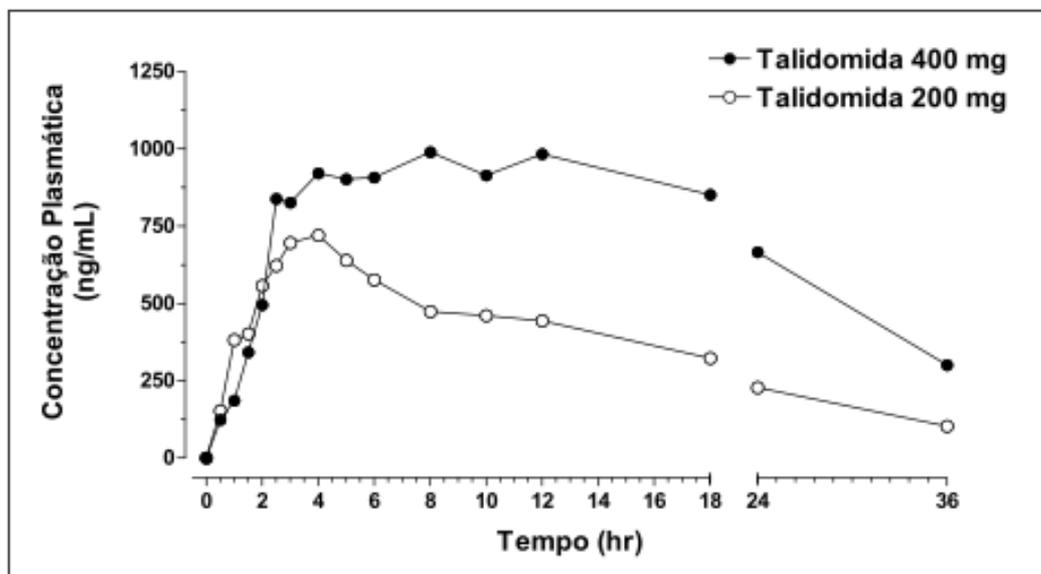
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	36.00
$ASC_{0-T_{\text{último}}}$	([ng*hr]/mL)	17895	10912
$ASC_{0-inf}$	([ng*hr]/mL)	20970	11147
$ASC_{0-inf}$ extrapolado	%	14.66	2.11
$ASC_{0-T_{\text{último}}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	44.74	54.56
$ASC_{0-inf}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	52.42	55.74
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	902.00	739.00
$C_{\text{max}}/\text{dose}$	(ng/mL/mg)	2.26	3.70
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	151.00	27.30
$V_d$	(L)	388.38	154.30
$Cl$	(L/hr)	19.08	17.94
$T_{\text{max}}$	(hr)	4.00	6.00
$T_{1/2}$	(hr)	14.11	5.96
$K_e$	(1/hr)	0.05	0.12

## Voluntário 18 - RP290992



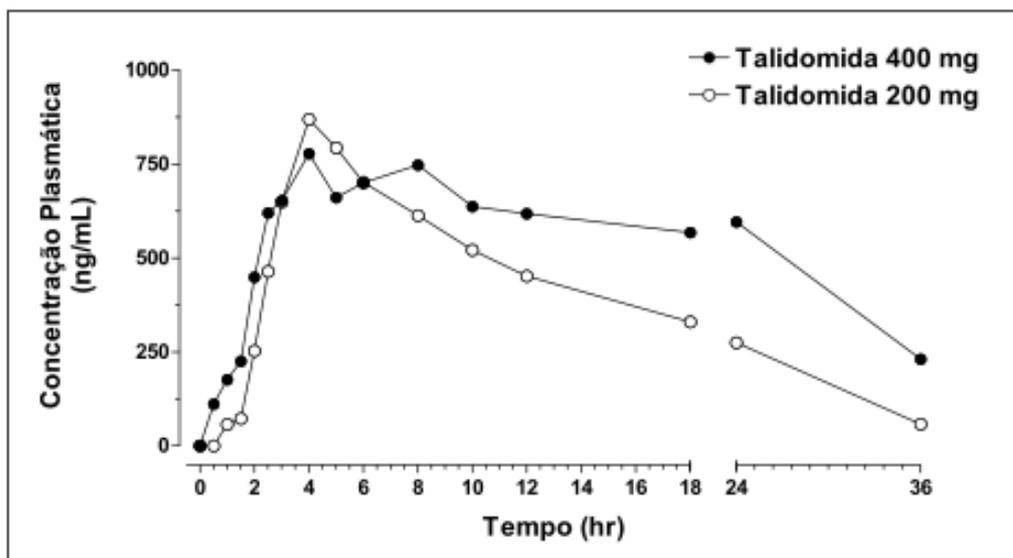
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
T <sub>último</sub>	(hr)	36.00	36.00
ASC <sub>0-Túltimo</sub>	([ng*hr]/mL)	22722	13233
ASC <sub>0-inf</sub>	([ng*hr]/mL)	28473	13488
ASC <sub>0-inf</sub> extrapolado	%	20.20	1.89
ASC <sub>0-Túltimo</sub> /dose	([ng*hr]/mL/mg)	56.81	66.17
ASC <sub>0-inf</sub> /dose	([ng*hr]/mL/mg)	71.18	67.44
C <sub>max</sub>	(ng/mL)	951.00	892.00
C <sub>max</sub> /dose	(ng/mL/mg)	2.38	4.46
C <sub>último</sub>	(ng/mL)	251.00	32.00
V <sub>d</sub>	(L)	321.87	118.03
Cl	(L/hr)	14.05	14.83
T <sub>max</sub>	(hr)	5.00	6.00
T <sub>1/2</sub>	(hr)	15.88	5.52
K <sub>e</sub>	(1/hr)	0.04	0.13

## Voluntário 19 - IS270391



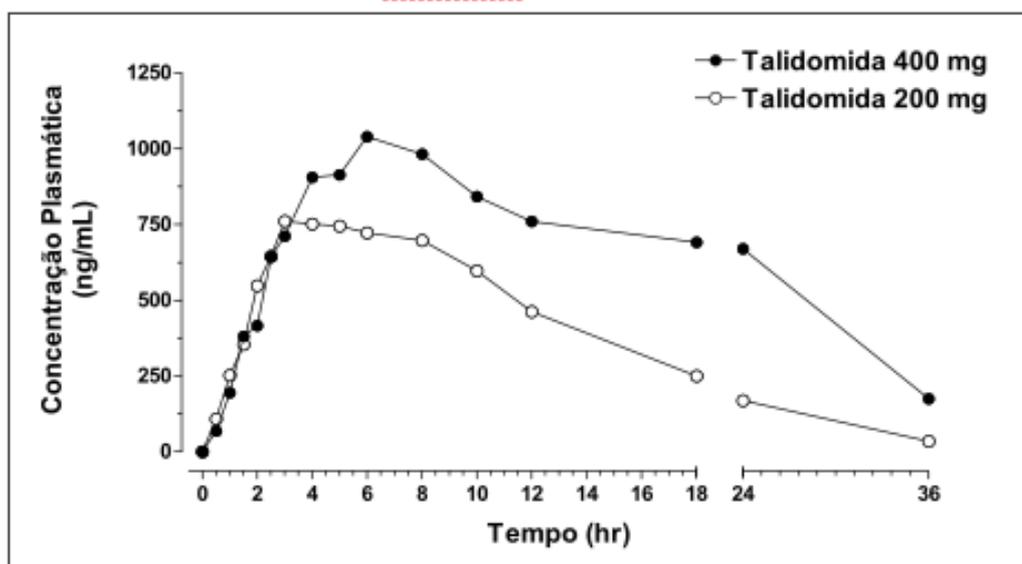
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
T <sub>último</sub>	(hr)	36.00	36.00
ASC <sub>0-Túltimo</sub>	([ng*hr]/mL)	25440	12057
ASC <sub>0-inf</sub>	([ng*hr]/mL)	30546	13669
ASC <sub>0-inf</sub> extrapolado	%	16.72	11.79
ASC <sub>0-Túltimo</sub> /dose	([ng*hr]/mL/mg)	63.60	60.29
ASC <sub>0-inf</sub> /dose	([ng*hr]/mL/mg)	76.36	68.35
C <sub>max</sub>	(ng/mL)	989.00	720.00
C <sub>max</sub> /dose	(ng/mL/mg)	2.47	3.60
C <sub>último</sub>	(ng/mL)	301.00	103.00
V <sub>d</sub>	(L)	222.16	229.03
Cl	(L/hr)	13.10	14.63
T <sub>max</sub>	(hr)	8.00	4.00
T <sub>1/2</sub>	(hr)	11.76	10.85
K <sub>e</sub>	(1/hr)	0.06	0.06

Voluntário 20 - AM220482



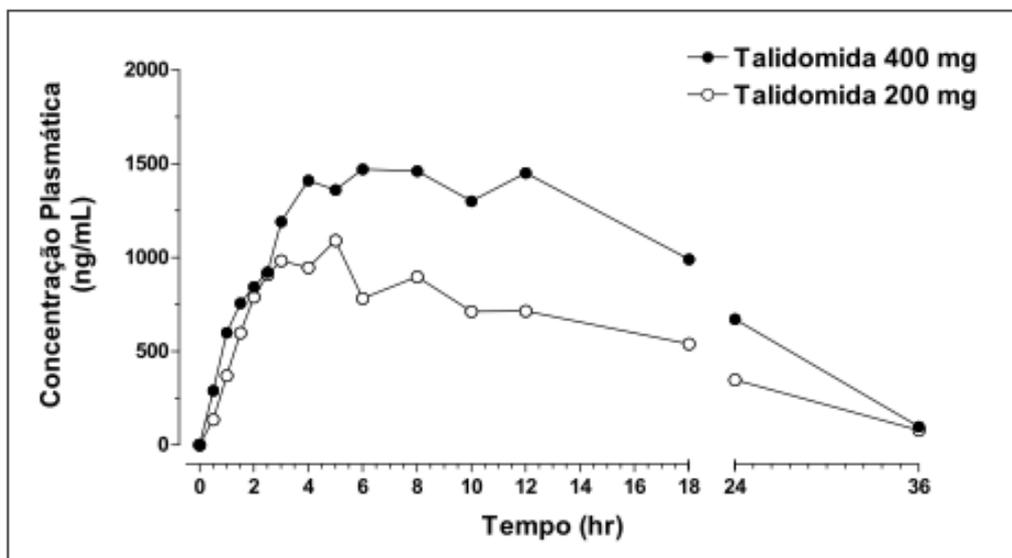
Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	36.00
$ASC_{0-T_{\text{último}}}$	([ng*hr]/mL)	19166	12503
$ASC_{0-inf}$	([ng*hr]/mL)	26683	13260
$ASC_{0-inf}$ extrapolado	%	28.17	5.71
$ASC_{0-T_{\text{último}}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	47.91	62.52
$ASC_{0-inf}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	66.71	66.30
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	777.00	869.00
$C_{\text{max}}/\text{dose}$	(ng/mL/mg)	1.94	4.35
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	231.00	58.10
$V_d$	(L)	487.86	196.40
$Cl$	(L/hr)	14.99	15.08
$T_{\text{max}}$	(hr)	4.00	4.00
$T_{1/2}$	(hr)	22.56	9.03
$K_e$	(1/hr)	0.03	0.08

Voluntário 21 - TM060985



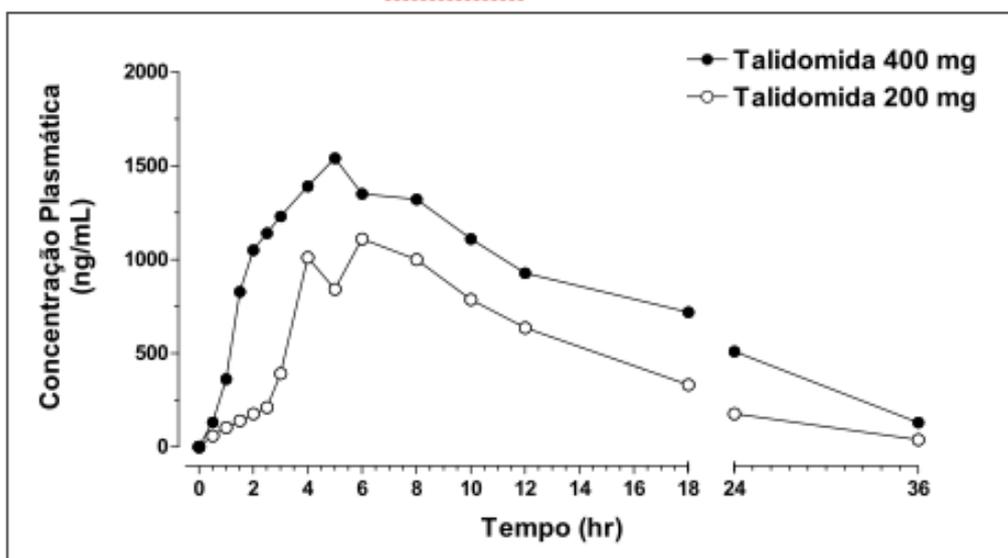
Talidomida			
<u>Parâmetros Farmacocinéticos</u>	<u>Unidade</u>	<u>Talidomida - 400 mg</u>	<u>Talidomida - 200 mg</u>
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	36.00
$ASC_{Q-T_{\text{último}}}$	([ng*hr]/mL)	22680	11770
$ASC_{Q-inf}$	([ng*hr]/mL)	25995	12100
$ASC_{Q-inf}$ extrapolado	%	12.75	2.72
$ASC_{Q-T_{\text{último}}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	56.70	58.85
$ASC_{Q-inf}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	64.99	60.50
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	1040.00	761.00
$C_{\text{max}}/\text{dose}$	(ng/mL/mg)	2.60	3.81
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	175.00	34.60
$V_d$	(L)	291.48	157.30
$Cl$	(L/hr)	15.39	16.53
$T_{\text{max}}$	(hr)	6.00	3.00
$T_{1/2}$	(hr)	13.13	6.60
$K_e$	(1/hr)	0.05	0.11

Voluntário 22 - CA190578



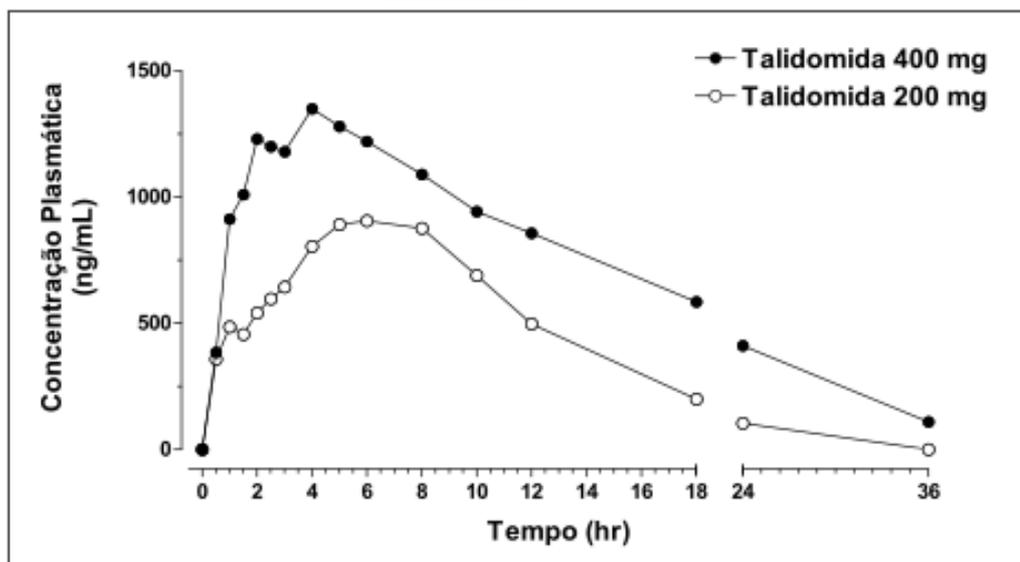
Talidomida			
<u>Parâmetros Farmacocinéticos</u>	<u>Unidade</u>	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
T <sub>último</sub>	(hr)	36.00	36.00
ASC <sub>0-último</sub>	([ng*hr]/mL)	31450	18257
ASC <sub>0-inf</sub>	([ng*hr]/mL)	32184	18985
ASC <sub>0-inf</sub> extrapolado	%	2.28	3.84
ASC <sub>0-último</sub> /dose	([ng*hr]/mL/mg)	78.63	91.28
ASC <sub>0-inf</sub> /dose	([ng*hr]/mL/mg)	80.46	94.93
C <sub>max</sub>	(ng/mL)	1470.00	1090.00
C <sub>max</sub> /dose	(ng/mL/mg)	3.68	5.45
C <sub>último</sub>	(ng/mL)	97.70	79.30
V <sub>d</sub>	(L)	93.33	96.76
Cl	(L/hr)	12.43	10.53
T <sub>max</sub>	(hr)	6.00	5.00
T <sub>1/2</sub>	(hr)	5.21	6.37
K <sub>e</sub>	(1/hr)	0.13	0.11

## Voluntário 23 - IC110190



Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	36.00
$ASC_{0-T_{\text{último}}}$	([ng*hr]/mL)	25877	14090
$ASC_{0-inf}$	([ng*hr]/mL)	27616	14431
$ASC_{0-inf}$ extrapolado	%	6.30	2.36
$ASC_{0-T_{\text{último}}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	64.69	70.45
$ASC_{0-inf}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	69.04	72.15
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	1540.00	1110.00
$C_{\text{max}}/\text{dose}$	(ng/mL/mg)	3.85	5.55
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	130.00	39.00
Vd	(L)	193.77	121.00
Cl	(L/hr)	14.48	13.86
$T_{\text{max}}$	(hr)	5.00	6.00
$T_{1/2}$	(hr)	9.27	6.05
$K_e$	(1/hr)	0.07	0.11

## Voluntário 24 - AS230884



Talidomida			
Parâmetros Farmacocinéticos	Unidade	Talidomida - 400 mg	Talidomida - 200 mg
$T_{\text{último}}$	(hr)	36.00	24.00
$ASC_{0-T_{\text{último}}}$	([ng*hr]/mL)	23077	11393
$ASC_{0-inf}$	([ng*hr]/mL)	24546	12155
$ASC_{0-inf}$ extrapolado	%	5.99	6.27
$ASC_{0-T_{\text{último}}}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	57.69	56.97
$ASC_{0-inf}/\text{dose}$	([ng*hr]/mL/mg)	61.37	60.77
$C_{\text{max}}$	(ng/mL)	1350.00	906.00
$C_{\text{max}}/\text{dose}$	(ng/mL/mg)	3.38	4.53
$C_{\text{último}}$	(ng/mL)	110.00	104.00
$V_d$	(L)	217.64	120.54
$Cl$	(L/hr)	16.30	16.45
$T_{\text{max}}$	(hr)	4.00	6.00
$T_{1/2}$	(hr)	9.26	5.08
$K_e$	(1/hr)	0.07	0.14

**ANEXO 5**  
**CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA MÉDIA**

Formulação	Tempo (h)	N	Média	SD	Min	Mediana	Máx	CV%
Talidomida - 400mg	0	24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-
Talidomida - 400mg	0.5	24	278.59	214.97	68.40	46210.92	892.00	77.16
Talidomida - 400mg	1	24	474.29	247.40	158.00	61208.74	998.00	52.16
Talidomida - 400mg	1.5	24	577.58	279.27	168.00	77993.82	1180.00	48.35
Talidomida - 400mg	2	24	704.83	284.83	218.00	81128.84	1360.00	40.41
Talidomida - 400mg	2.5	24	812.42	267.18	205.00	71387.38	1440.00	32.89
Talidomida - 400mg	3	24	852.54	247.12	301.00	61070.52	1470.00	28.99
Talidomida - 400mg	4	24	1007.42	250.02	649.00	62510.95	1560.00	24.82
Talidomida - 400mg	5	24	1018.96	264.12	599.00	69756.82	1540.00	25.92
Talidomida - 400mg	6	24	1043.88	261.47	570.00	68364.72	1540.00	25.05
Talidomida - 400mg	8	24	999.58	258.77	441.00	66960.08	1460.00	25.89
Talidomida - 400mg	10	24	916.21	264.17	409.00	69786.95	1630.00	28.83
Talidomida - 400mg	12	24	836.13	210.08	447.00	44133.94	1450.00	25.13
Talidomida - 400mg	18	24	678.33	137.62	367.00	18940.06	989.00	20.29
Talidomida - 400mg	24	24	563.29	118.41	300.00	14019.87	792.00	21.02
Talidomida - 400mg	36	24	180.83	93.70	65.40	8780.48	421.00	51.82
Talidomida -200mg	0	24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-
Talidomida -200mg	0.5	24	234.80	222.47	0.00	49494.01	998.00	94.75
Talidomida -200mg	1	24	393.46	228.52	57.30	52220.17	1010.00	58.08
Talidomida -200mg	1.5	24	501.95	246.47	72.70	60747.15	1210.00	49.10
Talidomida -200mg	2	24	570.92	262.24	177.00	68771.82	1280.00	45.93
Talidomida -200mg	2.5	24	623.21	236.27	212.00	55821.30	1230.00	37.91
Talidomida -200mg	3	24	664.83	220.13	306.00	48457.10	1220.00	33.11
Talidomida -200mg	4	24	769.88	160.13	475.00	25640.98	1090.00	20.80
Talidomida -200mg	5	24	785.54	151.54	500.00	22965.82	1090.00	19.29
Talidomida -200mg	6	24	783.29	169.41	460.00	28701.35	1170.00	21.63
Talidomida -200mg	8	24	711.17	156.35	474.00	24446.67	1040.00	21.99
Talidomida -200mg	10	24	586.13	120.59	394.00	14541.16	814.00	20.57
Talidomida -200mg	12	24	499.08	100.95	360.00	10190.86	714.00	20.23
Talidomida -200mg	18	24	302.46	81.32	176.00	6612.35	539.00	26.89
Talidomida -200mg	24	24	188.21	68.98	97.00	4757.74	348.00	36.65
Talidomida -200mg	36	24	43.77	28.39	0.00	806.26	103.00	64.88

**ANEXO 6**  
**RAZÃO T/R**

Variável	Voluntário	Seq	Referência	Teste	Teste-Ref	Razão [%Ref]
Ln(C <sub>máx</sub> )	1	t-r	954	808	-146	84.7
Ln(C <sub>máx</sub> )	2	r-t	1060	1010	-50	95.28
Ln(C <sub>máx</sub> )	3	r-t	1020	607	-413	59.51
Ln(C <sub>máx</sub> )	4	r-t	879	1170	291	133.11
Ln(C <sub>máx</sub> )	5	r-t	1070	734	-336	68.6
Ln(C <sub>máx</sub> )	6	t-r	792	519	-273	65.53
Ln(C <sub>máx</sub> )	7	r-t	1000	821	-179	82.1
Ln(C <sub>máx</sub> )	8	t-r	1120	819	-301	73.13
Ln(C <sub>máx</sub> )	9	r-t	909	841	-68	92.52
Ln(C <sub>máx</sub> )	10	t-r	986	996	10	101.01
Ln(C <sub>máx</sub> )	11	t-r	1110	883	-227	79.55
Ln(C <sub>máx</sub> )	12	r-t	1500	842	-658	56.13
Ln(C <sub>máx</sub> )	13	t-r	1630	525	-1105	32.21
Ln(C <sub>máx</sub> )	14	t-r	1560	1280	-280	82.05
Ln(C <sub>máx</sub> )	15	t-r	1010	955	-55	94.55
Ln(C <sub>máx</sub> )	16	t-r	1540	781	-759	50.71
Ln(C <sub>máx</sub> )	17	r-t	902	739	-163	81.93
Ln(C <sub>máx</sub> )	18	r-t	951	892	-59	93.8
Ln(C <sub>máx</sub> )	19	t-r	989	720	-269	72.8
Ln(C <sub>máx</sub> )	20	t-r	777	869	92	111.84
Ln(C <sub>máx</sub> )	21	t-r	1040	761	-279	73.17
Ln(C <sub>máx</sub> )	22	r-t	1470	1090	-380	74.15
Ln(C <sub>máx</sub> )	23	r-t	1540	1110	-430	72.08
Ln(C <sub>máx</sub> )	24	r-t	1350	906	-444	67.11
Ln(ASC <sub>último</sub> )	1	t-r	20819	10070	-10749	48.37
Ln(ASC <sub>último</sub> )	2	r-t	22989	12617	-10372	54.88
Ln(ASC <sub>último</sub> )	3	r-t	19334	8945	-10390	46.26
Ln(ASC <sub>último</sub> )	4	r-t	23813	16663	-7150	69.98
Ln(ASC <sub>último</sub> )	5	r-t	24531	13067	-11464	53.27
Ln(ASC <sub>último</sub> )	6	t-r	20642	11492	-9150	55.67
Ln(ASC <sub>último</sub> )	7	r-t	15876	9683	-6193	60.99
Ln(ASC <sub>último</sub> )	8	t-r	22911	12065	-10846	52.66
Ln(ASC <sub>último</sub> )	9	r-t	20818	11772	-9046	56.55
Ln(ASC <sub>último</sub> )	10	t-r	21097	13078	-8019	61.99
Ln(ASC <sub>último</sub> )	11	t-r	22087	11965	-10122	54.17
Ln(ASC <sub>último</sub> )	12	r-t	24659	12340	-12319	50.04
Ln(ASC <sub>último</sub> )	13	t-r	24666	11781	-12886	47.76
Ln(ASC <sub>último</sub> )	14	t-r	26955	14576	-12379	54.08
Ln(ASC <sub>último</sub> )	15	t-r	25117	15746	-9371	62.69
Ln(ASC <sub>último</sub> )	16	t-r	28728	13851	-14877	48.21
Ln(ASC <sub>último</sub> )	17	r-t	17895	10912	-6983	60.98
Ln(ASC <sub>último</sub> )	18	r-t	22722	13233	-9489	58.24
Ln(ASC <sub>último</sub> )	19	t-r	25440	12057	-13383	47.39
Ln(ASC <sub>último</sub> )	20	t-r	19166	12503	-6662	65.24
Ln(ASC <sub>último</sub> )	21	t-r	22680	11770	-10909	51.9
Ln(ASC <sub>último</sub> )	22	r-t	31450	18257	-13193	58.05
Ln(ASC <sub>último</sub> )	23	r-t	25877	14090	-11786	54.45
Ln(ASC <sub>último</sub> )	24	r-t	23077	11393	-11684	49.37

Variável	Voluntário	Seq	Referência	Teste	Teste-Ref	Razão [%Ref]
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	1	t-r	21662	11217	-10444	51.78
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	2	r-t	25116	12958	-12158	51.59
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	3	r-t	20790	10585	-10205	50.91
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	4	r-t	33772	17223	-16549	51
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	5	r-t	31864	13939	-17924	43.75
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	7	r-t	18090	9848	-8243	54.44
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	8	t-r	23942	12322	-11620	51.46
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	9	r-t	21859	12024	-9835	55.01
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	10	t-r	24196	13302	-10894	54.98
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	11	t-r	24085	12238	-11847	50.81
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	12	r-t	25156	13044	-12112	51.85
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	13	t-r	31142	12498	-18644	40.13
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	14	t-r	28273	14849	-13424	52.52
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	15	t-r	26551	16386	-10165	61.71
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	16	t-r	31222	14262	-16960	45.68
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	17	r-t	20970	11147	-9823	53.16
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	18	r-t	28473	13488	-14985	47.37
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	19	t-r	30546	13669	-16877	44.75
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	20	t-r	26683	13260	-13423	49.69
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	21	t-r	25995	12100	-13895	46.55
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	22	r-t	32184	18985	-13199	58.99
<u>Ln(ASCI<sub>inf</sub>)</u>	<u>23</u>	<u>r-t</u>	<u>27616</u>	<u>14431</u>	<u>-13185</u>	<u>52.26</u>
Ln(ASCI <sub>inf</sub> )	24	r-t	24546	12155	-12391	49.52
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	1	t-r	2	4	2	169.39
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	2	r-t	3	5	2	190.57
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	3	r-t	3	3	0	119.02
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	4	r-t	2	6	4	266.21
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	5	r-t	3	4	1	137.2
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	6	t-r	2	3	1	131.06
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	7	r-t	3	4	2	164.2
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	8	t-r	3	4	1	146.25
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	9	r-t	2	4	2	185.04
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	10	t-r	2	5	3	202.03
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	11	t-r	3	4	2	159.1
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	12	r-t	4	4	0	112.27
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	13	t-r	4	3	-1	64.42
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	14	t-r	4	6	3	164.1
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	15	t-r	3	5	2	189.11
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	16	t-r	4	4	0	101.43
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	17	r-t	2	4	1	163.86
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	18	r-t	2	4	2	187.59
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	19	t-r	2	4	1	145.6
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	20	t-r	2	4	2	223.68
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	21	t-r	3	4	1	146.35
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	22	r-t	4	5	2	148.3
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	23	r-t	4	6	2	144.16
Ln(C <sub>máx</sub> )/Dose	24	r-t	3	5	1	134.22

Variável	Voluntário	Seq	Referência	Teste	Teste-Ref	Razão [%Ref]
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	1	t-r	52	50	-2	96.74
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	2	r-t	57	63	6	109.76
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	3	r-t	48	45	-4	92.53
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	4	r-t	60	83	24	139.95
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	5	r-t	61	65	4	106.53
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	6	t-r	52	57	6	111.34
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	7	r-t	40	48	9	121.98
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	8	t-r	57	60	3	105.32
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	9	r-t	52	59	7	113.09
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	10	t-r	53	65	13	123.98
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	11	t-r	55	60	5	108.34
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	12	r-t	62	62	0	100.08
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	13	t-r	62	59	-3	95.52
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	14	t-r	67	73	5	108.15
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	15	t-r	63	79	16	125.38
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	16	t-r	72	69	-3	96.43
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	17	r-t	45	55	10	121.96
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	18	r-t	57	66	9	116.48
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	19	t-r	64	60	-3	94.79
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	20	t-r	48	63	15	130.48
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	21	t-r	57	59	2	103.8
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	22	r-t	79	91	13	116.1
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	23	r-t	65	70	6	108.9
Ln(ASC <sub>último</sub> )/Dose	24	r-t	58	57	-1	98.74
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	1	t-r	54	56	2	103.57
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	2	r-t	63	65	2	103.19
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	3	r-t	52	53	1	101.82
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	4	r-t	84	86	2	101.99
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	5	r-t	80	70	-10	87.49
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	7	r-t	45	49	4	108.87
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	8	t-r	60	62	2	102.93
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	9	r-t	55	60	5	110.02
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	10	t-r	60	67	6	109.95
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	11	t-r	60	61	1	101.62
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	12	r-t	63	65	2	103.7
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	13	t-r	78	62	-15	80.27
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	14	t-r	71	74	4	105.04
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	15	t-r	66	82	16	123.43
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	16	t-r	78	71	-7	91.36
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	17	r-t	52	56	3	106.32
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	18	r-t	71	67	-4	94.74
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	19	t-r	76	68	-8	89.5
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	20	t-r	67	66	0	99.39
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	21	t-r	65	60	-4	93.09
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	22	r-t	80	95	14	117.98
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	23	r-t	69	72	3	104.51
Ln(ASC <sub>inf</sub> )/Dose	24	r-t	61	61	-1	99.04

**ANEXO 9**  
**PARECER COMITÊ DE ÉTICA**



Universidade Federal do Ceará  
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. Nº 245/10

Fortaleza, 01 de outubro de 2010

Protocolo COMEPE nº 240/ 10

**Pesquisador responsável:** Maria Elisabete Amaral de Moraes

**Dept./Serviço:** Unidade de Farmacologia Clínica/ UFC

**Título do Projeto:** "Perfil farmacocinético de uma formulação contendo Talidomida (comprimidos de 100mg) produzida pela Fundação Ezequiel Dias (FUNED), Brasil, em voluntários sadios do sexo masculino"

Levamos ao conhecimento de V.S<sup>ª</sup>, que o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará – COMEPE, dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, Resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996 e complementares, aprovou o protocolo e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do projeto supracitado na reunião do dia 30 de setembro de 2010.

Outrossim, informamos, que o pesquisador deverá se comprometer a enviar o relatório final do referido projeto.

Atenciosamente,

*Mirian Parente Monteiro*

Dra. Mirian Parente Monteiro  
Coordenadora Adjunta do Comitê  
de Ética em Pesquisa  
COMEPEN/UC



**APÊNDICES**

## APÊNDICE 1

### TERMO DE RECRUTAMENTO

Você está sendo convidado a participar de um processo de recrutamento de voluntários para um projeto de pesquisa clínica. 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 deste processo sejam esclarecidos.

Coordenadores: Maria Elisabete Amaral de Moraes, Manoel Odorico de Moraes e Fernando Antônio Frota Bezerra, da Unidade de Farmacologia Clínica-UNIFAC - UFC.

O abaixo assinado, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ anos, RG: \_\_\_\_\_ declara que é de livre e espontânea vontade que está participando como voluntário de um processo de recrutamento para um projeto de pesquisa clínica a ser realizado na Unidade de Farmacologia Clínica - UNIFAC - UFC. O abaixo-assinado está ciente que:

I - A sua participação neste processo de recrutamento tem como objetivo avaliar suas condições de saúde para possível participação em um projeto de pesquisa clínica.

II - Será submetido aos seguintes procedimentos:

- 1) Participação em uma reunião onde será esclarecido como se realiza um ensaio clínico e quais os procedimentos envolvidos;
- 2) Realização de um Eletrocardiograma (ECG) para avaliação cardiológica;
- 3) Realização de exames laboratoriais: hemograma completo (hemoglobina, hematócrito, contagem diferencial de glóbulos brancos, contagem de glóbulos vermelhos e plaquetas.); bioquímica sanguínea (glicose, TGO (AST), TGP (ALT), fosfatase alcalina, creatinina e colesterol total) e sumário de urina.

III - Obteve todas as informações necessárias para decidir conscientemente sobre a participação no referido estudo.

IV - Tem a liberdade de desistir ou interromper a participação no processo no momento que desejar, sem necessidade de qualquer explicação, e que esta desistência não implicará em qualquer penalidade.

V - Os resultados obtidos durante o processo serão mantidos em sigilo.

VI - A Unidade de Farmacologia Clínica fornecerá informação ao voluntário e prestará qualquer tipo de esclarecimento em relação ao processo, quando solicitado pelo mesmo.

VII - É condição indispensável, para participação no processo, que o voluntário esteja em boa saúde e, portanto, caso durante a etapa de recrutamento, a avaliação clínica e/ou os exames laboratoriais não estiverem dentro dos limites de normalidade, você será dispensado com os devidos esclarecimentos e orientação médica.

VIII - Caso esteja sob tratamento médico no momento, ou esteja fazendo uso de quaisquer drogas ou medicações, ou tenha participado de qualquer outro ensaio clínico no período de 180 dias antes da assinatura deste termo de seleção prévia, você não poderá participar do ensaio clínico.

IX – Caso seja selecionado para participar do estudo, você fará uma nova entrevista antes da internação e nesta serão fornecidos os dados do estudo em questão. Caso você concorde em participar, deverá assinar um outro termo denominado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, antes da administração da medicação.

XI - A participação neste processo de recrutamento não dará direito a ressarcimento.

XII - A participação neste processo não implica que você será selecionado para participar do ensaio clínico, uma vez que serão reavaliados todos os critérios que permitam a sua participação ou não no estudo.

Fortaleza, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2010.

---

Assinatura do voluntário

---

Assinatura do investigador

## APÊNDICE 2

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Perfil Farmacocinético de uma formulação contendo talidomida (comprimidos de 100mg) produzida pela Fundação Ezequiel Dias (FUNED), Brasil, em voluntários sadios do sexo masculino.

Você está sendo convidado a participar como voluntário de um estudo. A sua participação neste estudo deve durar, aproximadamente 24 dias. 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.

#### OBJETIVO DO ESTUDO

O objetivo do estudo é verificar como a Talidomida produzida pela Fundação Ezequiel Dias (FUNED), Brasil se comporta no organismo. Para tanto, você receberá 200 mg e 400 mg de Talidomida em duas ocasiões diferentes. A ordem que você tomará a medicação obedecerá a um sorteio.

Este estudo é importante porque não existem estudos com a Talidomida brasileira fabricada pela FUNED (única indústria do Brasil que produz a Talidomida) utilizada atualmente no Programa Nacional de Controle da Hanseníase.

#### PROCEDIMENTOS A SEREM REALIZADOS E RESPONSABILIDADES

No momento da consulta na Unidade de Farmacologia Clínica da Universidade Federal do Ceará você receberá esclarecimentos sobre os procedimentos a serem realizados durante o estudo. Após terem sido prestadas informações relativas ao estudo e esclarecidas às dúvidas restantes, caso concorde, assinará o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para participação no Estudo.

Você será examinado por um médico que lhe fará um exame completo, verificará o seu pulso, sua temperatura, sua pressão arterial. Os exames laboratoriais incluem exame de sangue completo como hemograma completo (hemoglobina, hematócrito, contagem diferencial de glóbulos brancos, contagem de glóbulos vermelhos e plaquetas); bioquímica sanguínea (glicose no sangue, transaminases oxalacética (AST) e pirúvica (ALT), creatinina, ureia, colesterol total e fosfatase alcalina).

Dependendo do resultado desta avaliação você participará do estudo. Você será internado duas vezes por aproximadamente 48 horas cada período, com intervalo de 5 a 7 dias na Unidade de Farmacologia Clínica – UNIFAC da Universidade Federal do Ceará. Em cada internamento:

- a) será administrado 200mg ou 400mg de Talidomida, acompanhado de 200 mL de água mineral sem gás;
- b) serão coletadas 16 amostras de sangue de 8 mL, cada, através de agulha introduzida em veia superficial para a dosagem do medicamento e mais uma amostra de 10 mL antes da administração da medicação para o controle do método de dosagem do medicamento no sangue.
- c) será verificada sua pressão, pulso e temperatura, em intervalos regulares.

- d) serão também servidas refeições padronizadas [ceia, na noite da internação (se não interferir com o jejum); café da manhã, almoço, lanche da tarde, jantar e ceia no dia da administração do medicamento; café da manhã no dia de alta] ou bebidas em horários preestabelecidos. Após a coleta de 48 horas você receberá alta
- e) a duração total de sua participação na pesquisa está estimada em 24 dias, a contar da primeira internação, após o processo de seleção.

## RESPONSABILIDADES

É condição indispensável, para participação no estudo, que você esteja em boa saúde e, portanto, não esteja no momento sob tratamento médico ou fazendo uso de quaisquer fármacos ou medicações e que não tenha participado de outro estudo com medicamentos nos últimos 06 meses. Algumas regras deverão ser seguidas para sua participação no estudo: a) não pode ser dependente de drogas ou álcool; b) não pode ter doado (ou retirado/perdido por qualquer motivo) 450mL de sangue ou plasma dentro dos três meses que antecedem o 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 de sangue.

Em relação a sua participação no estudo você é responsável em: a) comparecer às internações na data e horários informados; b) permanecer em jejum pelo tempo previsto (pelo menos 08 horas) em cada internação; c) tomar a medicação prevista; d) ingerir a alimentação e líquidos que serão oferecidos durante o internamento na UNIFAC; e) retornar à Unidade de Farmacologia Clínica na data, horário e local combinado, para realização de exames clínicos e laboratoriais, independentemente de haver sido interrompida sua participação no estudo ou de sua desistência.

## SEGURANÇA E INTERCORRÊNCIAS

É ainda de sua RESPONSABILIDADE ser capaz de compreender os riscos e efeitos adversos relacionados com uso da Talidomida, bem como ser capaz de empregar medidas contraceptivas específicas para o homem, ou seja, utilizar preservativo (camisinha) durante todo o período do estudo, durante as relações sexuais para que uma gravidez seja evitada. A camisinha será fornecida gratuitamente para você. Esta medida é importante porque a Talidomida pode causar sérias malformações no recém-nascido ou mesmo a morte do feto. A Talidomida é proibida para mulheres em idade fértil (da primeira à última menstruação), porque pode causar o nascimento de crianças sem braços ou pernas quando tomada por mulher grávida; a Talidomida não provoca aborto e não evita filhos. Para evitar esses problemas, a ANVISA (um dos órgãos do governo federal responsável pelo uso seguro dos medicamentos pela população) proibiu o uso desse medicamento por mulheres grávidas.

Quando utilizada de maneira contínua, por exemplo, no tratamento da reação nodular (eritema nodoso) que ocorre na hanseníase quando a talidomida é administrada diariamente durante 30 a 120 dias (em média) pode causar outros efeitos desagradáveis (efeitos colaterais) tais como: anemia, câibras, pressão baixa, edema (usualmente suave) principalmente nas extremidades, cefaleia; tontura; fadiga; ansiedade; tremor, astenia; sonolência (muitos pacientes rapidamente se ajustam à sonolência e são capazes de retomar suas atividades diárias normais); constipação (prisão de ventre) ou diarreia; dor abdominal, enjoo, formigamento,

dormência nas mãos, braços, pés e pernas, fraqueza nos músculos. Entretanto, o aparecimento de efeitos indesejáveis após administração de dose única de Talidomida tem menor probabilidade de aparecer. Além dos efeitos citados, a administração de qualquer medicamento pode causar reações não esperadas. Se você sentir algum problema relacionado ao estudo, você será atendido por um dos pesquisadores da UNIFAC.

## OUTROS POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS

A retirada de sangue é um procedimento seguro, mas pode causar um leve desconforto, além de uma mancha roxa pequena no local da picada que frequentemente resolve sem maiores problemas.

## BENEFÍCIOS OU COMPENSAÇÕES

A participação neste estudo não tem objetivo de submetê-lo a um tratamento com a Talidomida. Conseqüentemente, não se espera que sua participação neste estudo traga benefício em função do uso dos comprimidos de Talidomida em cada internamento.

## RESSARCIMENTO

Estima-se que, durante o período de sua participação no estudo, você terá como despesa os gastos de deslocamento da residência, trabalho ou local de estudo para internação, consultas e deslocamento ao laboratório de análises clínicas que serão reembolsados.

Você não terá nenhum custo para participar neste estudo. De acordo com valores previamente estabelecidos você será ressarcido das despesas e tempo despendido na realização do supracitado estudo clínico após a consulta de alta. A desistência ou dispensa antes do comparecimento para a internação não dá direito a ressarcimento.

## PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA

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

Declaro que obtive todas as informações e esclarecimentos necessários para poder decidir conscientemente sobre a minha participação no referido estudo. Independente de seu desejo e consentimento, sua participação no estudo 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; e) da suspensão do Estudo como um todo.

A Unidade de Farmacologia Clínica o manterá informado, em tempo oportuno, sempre que houver alguma informação complementar 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 Unidade de Farmacologia Clínica.

## DIVULGAÇÃO DE INFORMAÇÕES QUANTO A PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

Os registros que possam identificar sua identidade serão mantidos em segredo. A Unidade de Farmacologia Clínica não identificará você por ocasião da publicação dos resultados obtidos. Contudo, o(s) auditor(es), membros do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, 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 estudo, 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

Se você tiver dúvidas sobre danos relacionados ao estudo ou sobre seus direitos como um participante do estudo, deverá procurar a Unidade de Farmacologia Clínica (Fone 3366-8250 / 3366-8346) para contatar os médicos responsáveis pelo estudo. Você ainda pode falar diretamente com os pesquisadores nos telefones indicados no final deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Poderá contatar a Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes (3366-8346) e o Dr Fernando Antônio Frota Bezerra (3366-8346) para receber informações complementares, relacionadas à pesquisa ou quanto aos seus direitos como voluntário.

Poderá contatar a Secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, fone 3366-8338, para solicitar informações, apresentar recursos e/ou reclamações em relação ao estudo.

## DECLARAÇÃO PÓS-ESCLARECIMENTO

Eu declaro que li cuidadosamente este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após sua leitura tive oportunidade de fazer perguntas sobre o conteúdo do mesmo, como também sobre a pesquisa e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas.

Reafirmo estar livre e espontaneamente decidido a participar da pesquisa. Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, 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 Termo.

Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, estou autorizando o acesso às minhas informações, conforme esclarecido anteriormente.

O abaixo-assinado, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_ anos, RG nº \_\_\_\_\_ declara que é de livre e espontânea vontade que está participando

como voluntário do estudo, de responsabilidade dos Médicos Pesquisadores Maria Elisabete Amaral de Moraes, Manoel Odorico de Moraes, Jonaina Costa de Oliveira, Francisco Vagnaldo Fechine, do Farmacêutico Demétrius Fernandes do Nascimento e da Enfermeira Gilmara Holanda da Cunha e da Unidade de Farmacologia Clínica – UNIFAC - Dep<sup>to</sup>. de Fisiologia e Farmacologia – Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará.

Você deve assinar o Termo de Esclarecimento para o Usuário da Talidomida, o qual segue as exigências do Ministério da Saúde e das Secretarias de Saúde.

Fortaleza, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Nome do voluntário	Data	Assinatura

Nome do investigador ou pessoa autorizada que está obtendo o termo de consentimento	Data	Assinatura

Nome da Testemunha (se o voluntário não souber ler)	Data	Assinatura

#### TELEFONES PARA CONTATO

Maria Elisabete Amaral de Moraes, MD, PhD.	(85) 3366.8346
Manoel Odorico de Moraes, MD, PhD.	(85) 3366.8201
Heitor de Sá Gonçalves, MD.	(85) 3101.8814
Maria Araci de Andrade Pontes, MD, MSc.	(85) 3101.5431
Jonaina Costa de Oliveira, MD.	(85) 3366.8346
Ana Lourdes Almeida e Silva Leite RN.	(85) 3366.8060
Demétrius Fernandes do Nascimento BsPharm, MSc	(85) 3366.8346
Francisco Vagnaldo Fechine MD, PhD.	(85) 3366 8250