



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

**MARINUS DE MORAES LIMA**

**IMPORTÂNCIA CLÍNICA DE UM ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA ENTRE DUAS  
FORMULAÇÕES DE DICLOFENACO SÓDICO DE LIBERAÇÃO PROLONGADA**

**FORTALEZA**

**2013**

**MARINUS DE MORAES LIMA**

**IMPORTÂNCIA CLÍNICA DE UM ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA ENTRE DUAS  
FORMULAÇÕES DE DICLOFENACO SÓDICO DE LIBERAÇÃO PROLONGADA**

*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.*

**Orientadora:** *Profa. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes*

**FORTALEZA-CEARÁ**

**2013**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências da Saúde

---

L699i Lima, Marinus de Moraes.  
Importância clínica de um estudo de bioequivalência entre duas formulações de diclofenaco sódico de liberação prolongada / Marinus de Moraes Lima. – 2013.  
139f. : il. color., enc. ; 30 cm.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Mestrado em Farmacologia, Fortaleza, 2013.  
Área de concentração: Ciências da Saúde/Medicina.  
Orientação: Profa. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes.

1. Disponibilidade Biológica. 2. Ensaio Clínico. 3. Farmacologia. I. Título.

---

CDD 615.1

**MARINUS DE MORAES LIMA**

**IMPORTÂNCIA CLÍNICA DE UM ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA ENTRE DUAS  
FORMULAÇÕES DE DICLOFENACO SÓDICO DE LIBERAÇÃO PROLONGADA**

Dissertação de Mestrado apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, do Departamento de Farmacologia e Fisiologia da Universidade Federal do Ceará como requisito para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

**Aprovada em:** 09/08/2013

**BANCA EXAMINADORA:**

---

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

---

Profa. Dra. Daniele Macedo Gaspar  
Universidade Federal do Ceará – UFC

---

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

## **DEDICATÓRIA**

**As mulheres da minha vida: minha mãe  
Maria, minha esposa Wanderleya e  
minha princesa Ana Cecília, luzes que  
iluminam minha existência.  
Amo vocês.**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus, inteligência suprema, que me deu a oportunidade de viver e me fortalece a cada dia com desafios impostos na batalha da minha existência.

Aos meus pais, Dr. Antônio Nustenil de Lima e Maria de Moraes Fernandes Lima, meus exemplos de luta e determinação, hoje sou o reflexo de suas ações, sinto-me honrado por ser filho de vocês.

A minha esposa amada Dra. Maria Wanderleya de Lavor Coriolano-Marinus, minha companheira para toda hora. Você é uma luz que preenche minha vida; contigo quero viver cada momento por toda essa e as próximas existências.

Ao meu maior presente, minha filha Ana Cecília. Hoje não entendo como conseguia viver sem a tua presença, tu és um marco da minha existência, meu bem mais precioso.

Aos meus irmãos Ms. João Vilian de Moraes Lima Marinus e Ms. Nustenil Segundo de Moraes Lima Marinus, meus amigos, companheiros, colaboradores; muito obrigado pelo apoio e pela ajuda. Agradeço em especial o João pela colaboração na parte estatística.

A minha sobrinha e afilhada Mariana, que chegou ao mundo durante essa fase final do meu mestrado (em suas primeiras horas, estava fazendo o teste de proficiência), trazendo alegria para toda família.

Aos meus orientadores: Profa. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes e Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes. Muito obrigado por acreditarem em mim e por me aceitarem nessa jornada, mesmo com todas as situações que vivi. Os conhecimentos foram importantes, mais os exemplos de pesquisadores e profissionais éticos foram extremamente importantes para o desenho final de como quero ser como profissional.

A Profa. Dra. Gisela Costa Camarão, por ter aceitado participar no meu exame de qualificação e pela colaboração dada para o término dessa dissertação.

A Profa. Dra. Daniele Macedo Gaspar, por ter aceitado participar no meu exame de qualificação, defesa e pela colaboração dada para o término dessa dissertação.

A Profa. Dra. Aline Kércia Alves Soares, por ter aceitado participar no meu exame de qualificação, defesa e pela colaboração dada para o término dessa dissertação.

Aos colegas da UNIFAC, em especial ao Demétrius e Ana Leite, pelo apoio que me deram na concretização dessa dissertação.

A Fábria e a Maria Teresa, pela ajuda (sem “pestanejar”) dada por esses meses de pós-graduação.

A minha “amiguinha” Cristiane, mesmo que não saiba, foi a voz que me “trouxe a luz” para realização dessa dissertação.

As minhas companheiras de trabalho na sala de parada do HGF: Michelly, Aline e Erika, que me deram cobertura nos plantões enquanto cursava as disciplinas do mestrado.

Aos amigos que adquiri nessa jornada de pós-graduação.

Aos professores da pós-graduação pelos conhecimentos transmitidos.

Aos meus familiares, em especial a tia Marilian, a quem sou grato pelo apoio no início da minha vida profissional e a tia Leonilda que me recebeu com muito carinho em sua residência durante essa fase final da pós-graduação.

À coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) e Instituto Claude Bernard (InCB) pela colaboração financeira e incentivo ao desenvolvimento da pesquisa no Brasil.

Agradeço a Medicina, minha profissão que tanto amo e que tento praticá-la de forma ética, com muito amor e luz.

Agradeço a espiritualidade amiga, meus guias, que me intuem a sempre fazer o que é certo, apesar da minha teimosia.

*"Deus nos fez perfeitos e não escolhe os capacitados, capacita os escolhidos. Fazer ou não fazer algo, só depende de nossa vontade e perseverança."*

Albert Einstein

## RESUMO

Lima, Marinus de Moraes. **Importância Clínica de um Estudo de Bioequivalência entre Duas Formulações de Diclofenaco Sódico de Liberação Prolongada de 100 mg em Voluntários Sadios em Jejum e Alimentados.** Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Elisabete Amaral de Moraes. [Dissertação de Mestrado]. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, 2013.

O diclofenaco sódico é um fármaco anti-inflamatório não esteroide, que exerce seus efeitos por meio da inibição da ciclooxigenase e modulação do ácido araquidônico; apresenta propriedades analgésicas, sendo utilizado para tratamento sintomático de dores, principalmente relacionadas à inflamação. É um fármaco de amplo uso e de fácil acesso para o usuário. Um estudo de bioequivalência refere-se à comparação estatística das principais medidas farmacocinéticas observadas no experimento, relativas aos produtos a serem testados. Este estudo teve o objetivo de avaliar a bioequivalência entre uma formulação de diclofenaco sódico cápsulas de liberação prolongada de 100 mg, chamada formulação teste, *versus* uma formulação de diclofenaco sódico cápsulas de liberação prolongada de 100 mg, produto de referência, em voluntários sadios de ambos os sexos, em jejum e alimentados, conforme recomendação da Anvisa. Ensaio clínico do tipo aberto, randomizado, cruzado, com quatro períodos, duas sequências, nos quais os voluntários receberam em cada período distinto em jejum ou alimentados, 01 cápsula de liberação prolongada da formulação teste ou 01 cápsula de liberação prolongada de diclofenaco sódico 100 mg da formulação de referência. Em cada internação, os voluntários receberam a formulação teste ou referência acompanhada ou não de uma dieta padrão específica. As formulações foram administradas em dose única, via oral, seguida de coletas de sangue, de pelo menos quatro meias-vidas do fármaco em estudo. Os períodos de tratamento obedeceram a um intervalo de sete meias-vidas, entre eles (*washout*). As concentrações em plasma do Diclofenaco foram dosadas por método analítico específico e validado, baseados em cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa (LC-MS/MS). Os resultados mostraram que em relação à  $ASC_{inf}$  (área sobre a curva), os fármacos não foram bioequivalentes para a extensão da absorção. O pico de concentração plasmática (concentração máxima), que indica velocidade de absorção do fármaco, não foi bioequivalente entre a formulação teste e a formulação referência, estando fora do intervalo de confiança de 80-125%. Considerando o uso amplamente aberto do diclofenaco, ressalta-se a importância em avaliar custo-eficiência versus custo-efetividade quando se orienta o uso de determinada formulação do mercado. A não equivalência terapêutica pode comprometer o tratamento de um determinado sintoma, ou mesmo de uma doença, podendo levar ao descrédito o fármaco escolhido. É relevante observar que cada fármaco responde a um indivíduo de maneiras distintas, de acordo com as variações biológicas do mesmo, podendo ambas as formulações testadas ser eficaz, mesmo não sendo bioequivalentes.

**Palavras-chave:** Bioequivalência, Disponibilidade Biológica, Ensaio Clínico, Diclofenaco, Variabilidade

## ABSTRACT

Lima, Marinus de Moraes. **Clinical Importance of a Bioequivalence study of two formulations of Diclofenac Sodium Extended-release 100 mg in Healthy Volunteers in Fasting and Fed Conditions.** Advisor: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Elisabete Amaral de Moraes. [Dissertation]. Graduate Program in Pharmacology. Department of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine, Federal University of Ceará, 2013

Diclofenac sodium is a non-steroidal anti-inflammatory drug that exerts its effects through inhibition of cyclooxygenase and modulation of arachidonic acid; it has analgesic properties and is used for symptomatic treatment of pain, mainly related to inflammation. It is a drug widely used and easily accessible to the user. A bioequivalence study refers to the statistical comparison of the main pharmacokinetic measures observed in the experiment concerning to the products to be tested. This study aimed to evaluate the bioequivalence between a formulation of diclofenac sodium extended-release 100 mg capsules, called test formulation, versus a formulation of diclofenac sodium extended-release 100 mg capsules reference product, in healthy volunteers of both sex, fasted and fed, as recommended by ANVISA. Open-type Clinical trial, randomized, crossover, with four periods, two sequences, in which participants received in each distinct period in fasting or fed, 01 extended-release capsule of the test formulation or 01 extended release 100 mg capsule of diclofenac sodium of the reference formulation. In each hospitalization, the volunteers received the test or reference formulation with or without a specific diet pattern. The formulations were administered in a single oral dose, followed by blood sampling, at least four half-lives of study drug. Treatment periods obey an interval of seven half-lives, between then (washout). The diclofenac concentrations in plasma were dosed by a specific and validated analytical method based on liquid chromatography high efficiency coupled to mass spectrometry (LC-MS/MS). The results showed that with regard to  $AUC_{inf}$  (area under the curve), the drugs were not bioequivalent to the extent of absorption. The peak plasma concentration (maximum concentration), which indicates the rate of absorption of the drug, was not bioequivalent between the test formulation and reference formulation, being outside the confidence interval of 80-125%. Considering the wide open use of diclofenac, it emphasizes the importance of evaluate cost-efficiency versus cost-effectiveness when it guides the use of certain formulation of the market. The non therapeutic equivalence can compromise the treatment of a particular symptom, or even a disease, which may lead to discrediting the drug chosen. It is important to note that each individual responds to a drug in different ways, according to biological variations thereof, both formulations tested may be effective, although not bioequivalent.

Keywords: Bioequivalence, Biological Availability, Clinical Trial, Diclofenac, Variability

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01</b>	<b>Estrutura química do diclofenaco .....</b>	<b>29</b>
<b>Figura 02</b>	<b>Cascata do Ácido Araquidônico (simplificada).....</b>	<b>33</b>
<b>Figura 03</b>	<b>Esquema do procedimento de coleta de sangue e separação de amostras plasmáticas.....</b>	<b>60</b>
<b>Figura 04</b>	<b>Concentração plasmática X tempo entre a formulação teste diclofenaco 100 mg- cápsulas de liberação prolongada e a fórmula de referencia Diclofenaco 100 mg- cápsulas de liberação prolongada em condição de jejum (n=36). Figura 04A - escala linear. Figura 04B - escala logarítmica.....</b>	<b>84</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01</b>	<b>Características Químicas do Diclofenaco.....</b>	<b>29</b>
<b>Tabela 02</b>	<b>Parâmetros Farmacocinéticos do Diclofenaco.....</b>	<b>32</b>
<b>Tabela 03</b>	<b>Definição dos Períodos de Tratamento (RE nº 898/2003- ANVISA).....</b>	<b>43</b>
<b>Tabela 04</b>	<b>Principais Parâmetros de Validação.....</b>	<b>71</b>
<b>Tabela 05</b>	<b>Dados Antropométricos – DICLOFENACO 1ª TURMA - UNIFAC 50/12.....</b>	<b>80</b>
<b>Tabela 06</b>	<b>Dados Antropométricos – DICLOFENACO 2ª TURMA - UNIFAC 50/12.....</b>	<b>81</b>
<b>Tabela 07</b>	<b>Parâmetros laboratoriais dos voluntários submetidos ao estudo. Média dos resultados laboratoriais e variação entre o mínimo e máximo. Avaliação pré e pós-estudo.....</b>	<b>83</b>
<b>Tabela 08</b>	<b>Parâmetros Farmacocinéticos e comparação estatística entre a formulação teste diclofenaco 100 mg- cápsulas de liberação prolongada e a formulação de referência Diclofenaco 100 mg- cápsulas de liberação prolongada em condição de jejum (n=36).....</b>	<b>86</b>
<b>Tabela 09</b>	<b>Parâmetros Farmacocinéticos e comparação estatística entre a formulação teste diclofenaco 100 mg- cápsulas de liberação prolongada- e a formulação de referencia Diclofenaco 100 mg- cápsulas de liberação prolongada- em condição de alimentação (n=36).....</b>	<b>87</b>
<b>Tabela 10</b>	<b>Parâmetros Farmacocinéticos da formulação teste diclofenaco 100 mg - cápsulas de liberação prolongada- em condição de jejum (n=36).....</b>	<b>88</b>
<b>Tabela 11</b>	<b>Parâmetros Farmacocinéticos da formulação referência diclofenaco 100 mg - cápsulas de liberação prolongada — em condição de jejum (n=36).....</b>	<b>89</b>
<b>Tabela 12</b>	<b>Parâmetros Farmacocinéticos da formulação teste diclofenaco 100 mg - cápsulas de liberação prolongada - em condição de alimentação (n=36).....</b>	<b>90</b>

<b>Tabela 13</b>	<b>Parâmetros Farmacocinéticos da formulação referência diclofenaco 100 mg- cápsulas de liberação prolongada- em condição de alimentação (n=36).....</b>	<b>91</b>
<b>Tabela 14</b>	<b>Comparação das médias e dos desvios padrões dos principais parâmetros farmacocinéticos entre as formulações teste e referência na condição de jejum em relação ao sexo (n=18).....</b>	<b>92</b>
<b>Tabela 15</b>	<b>Comparação das médias e dos desvios padrões dos principais parâmetros farmacocinéticos entre as formulações teste e referência na condição de alimentação em relação ao sexo (n=18).....</b>	<b>93</b>
<b>Tabela 16</b>	<b>Comparação das médias e desvios padrões dos principais parâmetros farmacocinéticos entre as formulações teste e referência na condição de jejum em relação ao IMC (Índice de Massa Corpórea).....</b>	<b>94</b>
<b>Tabela 17</b>	<b>Comparação das médias e dos desvios padrões dos principais parâmetros farmacocinéticos entre as formulações teste e referência na condição de alimentação em relação ao IMC (Índice de Massa Corpórea).....</b>	<b>95</b>
<b>Tabela 18</b>	<b>Eventos Adversos ocorridos durante estudo.....</b>	<b>96</b>

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 01</b>	<b>Desenho amostral para ensaio de bioequivalência de cápsulas contendo diclofenaco – 1ª Turma.....</b>	<b>44</b>
<b>Quadro 02</b>	<b>Desenho amostral para ensaio de bioequivalência de cápsulas contendo diclofenaco – 2ª Turma.....</b>	<b>45</b>
<b>Quadro 03</b>	<b>Identificação dos Medicamentos.....</b>	<b>46</b>
<b>Quadro 04</b>	<b>Inventário dos medicamentos estudados.....</b>	<b>46</b>
<b>Quadro 05</b>	<b>Itens da História Médica e Exame físico.....</b>	<b>48</b>
<b>Quadro 06</b>	<b>Exames vinculados ao Processo de Seleção dos Voluntários.....</b>	<b>50</b>
<b>Quadro 07</b>	<b>Tempo de coleta.....</b>	<b>61</b>
<b>Quadro 08</b>	<b>Ítems para validação da Metodologia empregada.....</b>	<b>69</b>
<b>Quadro 09</b>	<b>Padrões de referência do analito e controle.....</b>	<b>72</b>
<b>Quadro 10</b>	<b>Parâmetros gerais do método .....</b>	<b>73</b>
<b>Quadro 11</b>	<b>Parâmetros de detecção do fármaco testado e do controle.....</b>	<b>73</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

AINE	Anti-inflamatório não esteroidal
ANOVA	Análise de Variância
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASC	Área sobre a curva
AU	Ácido úrico
BD	Biodisponibilidade
Beta-HCG	Gonadotrofina coriônica
BLIQ	Abaixo do limite inferior de quantificação
BPFC	Boas práticas de fabricação e controle de qualidade
bpm	Batimentos por minuto
BQ	Bioequivalência
BT	Bilirrubina total
CHMP	Comitê de medicamentos de uso humano
$C_{max}$	Concentração Máxima
CNS	Conselho Nacional de Saúde
COMEPE	Comitê de Ética em Pesquisa da UFC
COX	Ciclooxigenase
CQ	Controle de Qualidade
CQA	Controle de Qualidade Alto
CQB	Controle de Qualidade Baixo
CQM	Controle de Qualidade Médio
Cr	Creatinina
CRF	Formulário de relato de caso
CV	Coeficiente de Variação
dL	Decilitro
DL <sub>50</sub>	Dose letal média
DP	Desvio Padrão
DPR	Desvio Padrão Relativo
ECG	Eletrocardiograma
EMA	Agência Europeia de Medicina

F	Feminino
FA	Fosfatase alcalina
FDA	Food and Drug Administration
Glic	Glicose
h	Hora
H+	Íon hidrogênio
Hb	Hemoglobina
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HPLC	High Performance/Pressure Liquid Chromatography
IC	Intervalo de confiança
ICH	International Conference on Harmonization
IMC	Índice de Massa Corporal
ISO	Internacional Standard Organization
Ke	Constante de eliminação
LD	Limite de detecção
LIQ	Limite inferior de quantificação
LP	Liberação prolongada
LQ	Limite de Quantificação
LSQ	Limite superior de quantificação
M	Masculino
Min	Minuto
mmHg	Milímetros de mercúrio
MRM	Monitoramento de reação múltipla
MS	Ministério da Saúde
MS/MS	Mass spectrometry
Na+	Íon sódio
ncs	Não clinicamente significativa
Nº	Número
OMS	Organização Mundial da Saúde
PG	Prostaglandina
PGI	Prostaciclina
PKa	Coeficiente de acidez
rpm	Rotação por minuto

$t_{1/2}$	Tempo da meia-vida plasmática
TGO	Transaminase oxalacética
TGP	Transaminase pirúvica
TXA <sub>2</sub>	Tromboxano A <sub>2</sub>
UFC	Universidade Federal do Ceará
UNIFAC	Unidade de Farmacologia Clínica
Ur	Ureia
USP	United States Pharmacopeia

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>20</b>
1.1	Considerações iniciais sobre os ensaios de bioequivalência	21
1.2	Fatores que interferem na biodisponibilidade dos fármacos	26
1.3	Considerações sobre o Diclofenaco Sódico	27
1.3.1	Características Químicas	28
1.3.2	Características Farmacológicas	29
1.3.3	Farmacocinética	31
1.3.4	Usos Terapêuticos	33
1.3.5	Contraindicações	34
1.3.6	Reações Adversas	35
1.4	Considerações sobre formulações de diclofenaco de liberação prolongada	36
1.5	Relevância do estudo de bioequivalência do diclofenaco de sódio	38
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>39</b>
2.1	Objetivo Geral	40
2.2	Objetivos Específicos	40
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>41</b>
3.1	Delineamento do estudo	42
3.2	Desenho do estudo	42
3.2.1	Lista de randomização	43
3.2.2	Medicamentos estudados	45
3.2.2.1	Descrição dos produtos estudados	46
3.2.2.2	Inventário das amostras	46
3.3	População do estudo	47
3.3.1	Seleção	47
3.3.1.1	Avaliação clínica	48
3.3.1.2	Exames clínicos e laboratoriais	49
3.3.2	Critérios de inclusão	51
3.3.3	Critérios de exclusão	51
3.3.4	Restrições e proibições	54
3.3.5	Critérios para descontinuação ou retirada de voluntário	56

3.3.6 Relato dos casos de retirada ou desistência .....	57
3.4 Confinamento dos voluntários .....	57
3.4.1 Local .....	57
3.4.2 Período de internação .....	57
3.4.3 Horários de jejum e alimentação .....	58
3.5 Administração dos medicamentos.....	59
3.5.1 Posologia .....	59
3.5.2 Cronograma de coleta das amostras .....	60
3.5.3 Horários das coletas de sangue .....	61
3.6 Sinais vitais .....	62
3.7 Horário e composição das refeições .....	62
3.8 Reações adversas e procedimentos de emergência .....	62
3.8.1 Especificação dos Parâmetros de Segurança .....	62
3.8.2 Métodos de determinação, registro e análise dos Parâmetros de Segurança .....	64
3.8.2.1 Procedimentos Durante o Estudo .....	64
3.8.2.2 Procedimentos pós-estudo .....	64
3.8.2.3 Procedimentos para Obter Relatos, Registrar e Comunicar Eventos Adversos e Doenças Intercorrentes .....	65
3.9 Desvios de protocolo .....	66
3.10 Considerações éticas .....	66
3.10.1 Princípios Básicos .....	66
3.11 Método Bioanalítico .....	68
3.11.1 Descrição .....	68
3.11.2 Sistema da garantia da qualidade e biossegurança .....	68
3.11.3 Protocolo de validação .....	70
3.12 Tratamento estatístico .....	74
3.12.1 Desenho estatístico .....	74
3.12.2 Intervalo de aceitação dos parâmetros farmacocinéticos .....	74
3.12.2.1 Análise farmacocinética .....	74
3.12.2.2 Critérios de aceitação dos desvios de protocolo.....	77
4 RESULTADOS .....	78
5 DISCUSSÃO .....	97

<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>108</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>111</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>113</b>
<b>9</b>	<b>APÊNDICES .....</b>	<b>125</b>
	<b>Apêndice 01 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....</b>	<b>126</b>
	<b>Apêndice 02 – Horário e composição das refeições .....</b>	<b>132</b>
<b>10</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>134</b>
	<b>Anexo 01 – Resumo da metodologia utilizada na determinação de     diclofenaco em plasma humano .....</b>	<b>135</b>
	<b>Anexo 02 – Carta de aprovação do CEP.....</b>	<b>137</b>
	<b>Anexo 03 – Folha de registro de Eventos Adversos .....</b>	<b>138</b>
	<b>Anexo 04 – Definições de experiências (evento) adversas .....</b>	<b>139</b>

# **INTRODUÇÃO**

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Considerações iniciais sobre os ensaios de bioequivalência

Os crescentes custos com a saúde em todo o mundo demandou esforços de todos os países na busca de alternativas para a redução destes. Sabendo-se que os medicamentos ocupam lugar significativo neste custo crescente, várias iniciativas têm sido feitas na introdução de medicamentos genéricos que sejam compatíveis com os seus medicamentos correspondentes. Esta estratégia tem se mostrado eficaz, na medida em que nos Estados Unidos entre os anos de 1997-2000, a poupança média com o uso de medicamentos genéricos em substituição aos fármacos correspondentes foi de cerca de 09 milhões de dólares (MIDHA; MCKAY, 2009). Em 1999, os medicamentos genéricos representaram cerca de 47% de todas as receitas, com aumento no ano de 2006 (61%) e em 2008, 69% (VAN DER MERSCH; DECHARTRES; RAVAUD, 2011).

A introdução dos medicamentos genéricos no mercado mundial visou ofertar um medicamento equivalente terapêutico com menores preços. Esse fato impactou em um aumento progressivo no consumo, tornando assim, necessário e imperativo o desenvolvimento de métodos que possam assegurar a qualidade farmacêutica desses fármacos, o que tem sido feito por meio dos estudos “in vivo” de bioequivalência. Esses estudos tem se desenvolvido nas últimas quatro décadas para a avaliação de novos fármacos no mercado, bem como medicamentos genéricos.

Medicamentos genéricos e medicamentos de marca contém o mesmo princípio ativo, mas podem diferir nos seus excipientes, corantes e processo de fabricação. Para aprovar novos medicamentos genéricos, o *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos e a Agência Europeia de Medicina (EMA) dependem dos resultados de ensaios de bioequivalência com base nos critérios de farmacocinética: taxa de absorção, conforme determinado pelo pico de Concentração Plasmática ( $C_{max}$ ), área sob a curva de concentração plasmática *versus* tempo, desde o tempo zero até o tempo  $t$  ( $ASC_t$ ), podendo ser o último tempo de um estudo, e extrapolado para o infinito ( $ASC_{inf}$ ). O FDA requer os intervalos de

confiança de 90% (IC) da razão entre o medicamento genérico e o medicamento de marca para estes três critérios (VAN DER MERSCH; DECHARTRES; RAVAUD, 2011), parâmetros esses adotados de forma universal.

O termo biodisponibilidade é definido como sendo a taxa e a extensão na qual uma molécula ativa é absorvida e torna-se disponível no sítio de ação do fármaco. Considerando-se que a quantidade do fármaco contida no fluido biológico está em equilíbrio com o sítio de ação, a biodisponibilidade é determinada através da medida da concentração do princípio ativo do fármaco em sangue total, soro ou outro fluido biológico apropriado, em função do tempo (BRASIL, 2002).

A avaliação da bioequivalência de formulações diferentes baseia-se no pressuposto de que dois produtos sejam equivalentes quando a taxa e a extensão de absorção do fármaco teste e o fármaco correspondente não mostram uma diferença significativa em relação à taxa e a extensão da absorção da droga quando administradas na mesma dose molar do ingrediente terapêutico, sob condições experimentais similares em dose única ou doses múltiplas, o que pode ser demonstrado por estudos “in vivo” (bioequivalência) e “in vitro” (MIDHA; MCKAY, 2009).

A equivalência farmacêutica entre dois medicamentos comprovada nos estudos “in vitro” refere-se à comprovação de que ambos contêm o mesmo fármaco (mesma base, sal ou éster da mesma molécula terapeuticamente ativa), na mesma dosagem e forma farmacêutica, podendo ser considerada como um indicativo da bioequivalência entre os medicamentos em estudo, sem, contudo, garanti-la. A legislação brasileira, tendo como base a regulamentação técnica e a experiência de diversos países na área de medicamentos genéricos, estabelece que para um medicamento ser registrado como genérico é necessário que se comprove sua equivalência farmacêutica e bioequivalência (mesma biodisponibilidade) em relação ao medicamento de referência (STORPIRTIS *et al.* 1999).

A Anvisa (1999) define bioequivalência como a demonstração da equivalência terapêutica entre dois produtos apresentados sob a mesma forma farmacêutica, contendo idêntica composição qualitativa e quantitativa de princípio(s)

ativo(s), e que tenham comparável biodisponibilidade, quando estudados sob um mesmo desenho experimental.

Os estudos de bioequivalência são relativamente recentes, tem se desenvolvido nas últimas quatro décadas e tem sido um tema bastante explorado pela indústria farmacêutica, acadêmicos e cientistas desde 1960. Na década de 60, o Congresso Americano explorou a ideia de obrigatoriedade sempre que possível de prescrição de medicamentos genéricos (AMIDON *et al.* 2011).

Na década de 70, o FDA, interessou-se pela disponibilidade de os fármacos. Nesse período, um grupo de estudo foi formado para compreender a equivalência química e terapêutica de produtos de fármacos. Com base nesses resultados, iniciou-se a regulamentação de dados de biodisponibilidade (MIDHA; MCKAY, 2009).

Em 1977, foi confeccionada a primeira regulamentação técnica para realização de estudos de biodisponibilidade e bioequivalência pelo FDA. Os produtos inovadores deveriam comprovar a biodisponibilidade e os genéricos comprovariam a bioequivalência com inovadores que tivesse comprovada a sua eficácia (BUENO, 2005).

No início da década de 80, foi dada atenção aos métodos estatísticos para apresentação dos dados dos estudos de bioequivalência, com ênfase no poder do estudo e intervalo de confiança (MIDHA; MCKAY, 2009).

Em 1984, o Congresso Americano aprovou o uso dos medicamentos genéricos, por meio de autorização do FDA, através dos resultados de estudos de Bioequivalência. Em 1986, emergiu a preocupação para com a qualidade terapêutica de medicamentos genéricos que tinham sido aprovados. A questão estava relacionada não apenas à equivalência farmacêutica dos produtos, mas também com a equivalência terapêutica. Em vista desses fatos, o FDA realiza uma audiência sobre bioequivalência de formas sólidas orais (MIDHA; MCKAY, 2009).

A partir dessa data, deu-se início uma força tarefa para examinar os procedimentos e abordagens estatísticas utilizados nos estudos de bioequivalência. Desde então, esforços tem sido feitos tanto pelo FDA como por outras agências

reguladoras, pela indústria farmacêutica e academia, no intuito de padronizar as abordagens realizadas nos estudos de bioequivalência (MIDHA; MCKAY, 2009).

No Brasil, a discussão de intercambialidade de medicamentos com base em estudos de bioequivalência remonta o início da década de 90, quando da publicação do Decreto 793/93, que estabelecia a obrigatoriedade de utilização das denominações genéricas (Denominação Comum Brasileira) em: todas as prescrições de profissionais autorizados no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS); nos editais, propostas licitatórias, contratos e notas fiscais; nos registros e autorizações relativos à produção, fracionamento, comercialização e importação de medicamentos; e nas embalagens, rótulos, bulas, prospectos, textos, ou qualquer outro tipo de material de divulgação e informação médica. No entanto, naquele período o Brasil não reconhecia patentes de medicamentos e o comércio de cópias era permitido sem qualquer exigência de testes de equivalência farmacêutica e/ou terapêutica. Desta forma, nesse período não houve desenvolvimento de medicamentos genéricos, nem tampouco de estudos de Bioequivalência (SOUSA, 2010).

A realização de estudos de biodisponibilidade e bioequivalência, de forma rotineira, pode ser creditada à Lei dos Genéricos Nº 9787/99, sendo regulamentados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) (BRASIL, 2002).

Medicamento genérico é definido como sendo um medicamento similar (que contém o mesmo ou mesmos princípios ativos, apresenta a mesma concentração, forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica, preventiva, ou diagnóstica do medicamento de referência, podendo diferir somente em características relativas ao tamanho e forma do produto, prazo de validade, embalagem, rotulagem e excipientes) a um produto de referência ou inovador, que se pretende ser com esse intercambiável (BUENO, 2005).

A Anvisa, por sua vez regulamentou os ditames previstos em lei, o que gerou uma enorme demanda por instituições capacitadas à realização dos estudos de biodisponibilidade/bioequivalência. Para suprir esta questão, nos anos de 2000 a 2001 a Anvisa financiou cerca de 18 instituições públicas, estruturando-as com desenvolvimento técnico e científico com o objetivo de que estas investissem na

pesquisa e prestassem serviços às indústrias farmacêuticas. No período inicial da Política de Genéricos, mesmo com o investimento na estruturação de centros nacionais, 90% dos estudos eram realizados no exterior, enquanto atualmente cerca de 80% dos estudos são realizados no Brasil (SOUSA, 2010).

A legislação brasileira tem como parâmetro a regulamentação técnica, atualizada em 02 de junho de 2003, através da Resolução RDC nº 135, além da experiência de diversos países na área de medicamentos genéricos, estabelecendo que para um medicamento ser registrado como genérico é necessário que se comprove sua equivalência farmacêutica e bioequivalência (mesma biodisponibilidade) em relação ao medicamento de referência (BRASIL, 2003a).

STORPIRTIS *et al.* (1999) ressaltam que possíveis diferenças entre o medicamento genérico e o medicamento de referência em relação a características físicas e físico-químicas do fármaco e demais componentes da formulação, bem como nos processos de fabricação, podem gerar diferenças na biodisponibilidade que, no caso do genérico, podem comprometer a bioequivalência e, conseqüentemente, a intercambialidade. Entretanto, tal fato pode ser evitado realizando-se o desenvolvimento farmacotécnico do produto de forma adequada, sendo comprovados em estudos “in vitro” e “in vivo”. Desse modo, atenção maior deve ser dada às formas sólidas, cuja dissolução pode ser afetada pelas características inerentes ao próprio fármaco.

Desta premissa, constatam-se os casos de isenção de testes de bioequivalência para o registro de determinados medicamentos genéricos, como por exemplo, soluções aquosas injetáveis por via intravenosa. Nessas formas farmacêuticas, o fármaco já está dissolvido e toda a dose será administrada diretamente na corrente circulatória do paciente, o que implica em 100% de biodisponibilidade. Para um genérico desse tipo, a comprovação da equivalência farmacêutica e das Boas Práticas de Clínica são suficientes para garantir a intercambialidade com o medicamento de referência (BRASIL, 2003b).

Dessa forma, as preocupações em termos de biodisponibilidade, bioequivalência e intercambialidade recaem sobre medicamentos apresentados sob formas farmacêuticas para as quais existem muitos fatores que podem alterar a

liberação, a dissolução e a absorção do fármaco no organismo. (STORPIRTIS *et al.* 1999), dentre os quais se destacam as preparações para administração oral.

Os estudos de biodisponibilidade apresentam vários objetivos: 1) avaliação da bioequivalência de medicamentos; 2) avaliação de medicamentos que contém princípios ativos novos na terapêutica; 3) avaliação de novas formulações contendo fármacos já conhecidos; 4) avaliação de formas farmacêuticas de liberação modificada; 5) avaliação de medicamentos com vários princípios ativos; 6) avaliação de alterações na formulação de um medicamento; 7) avaliação de alterações de posologia/esquema terapêutico (STORPIRTIS E CONSIGLIERI, 1995 *apud* BUENO, 2005).

## **1.2 Fatores que interferem na biodisponibilidade dos fármacos**

Atualmente dispomos de medicamentos mais específicos, mais potentes e de manejo mais delicado, como consequência direta da descoberta de novos mecanismos fisiológicos, bioquímicos e farmacológicos e do desenvolvimento de novas formulações. Além disso, novos conceitos sobre farmacocinética e biodisponibilidade, como também a descrição de reações adversas e interações medicamentosas cada vez mais complexas, as interferências dos medicamentos na homeostase e nos resultados de exames de laboratório exigem do prescritor uma atualização constante (VIDOTTI, 1999).

Como definido anteriormente, a biodisponibilidade refere-se à taxa e a extensão na qual uma molécula ativa é absorvida e torna-se disponível no sítio de ação do fármaco. Considerando-se que a quantidade do fármaco contida no fluido biológico está em equilíbrio com o sítio de ação, a biodisponibilidade é determinada através da medida da concentração do princípio ativo do fármaco em sangue total, soro ou outro fluido biológico apropriado, em função do tempo (BRASIL, 2002).

Na administração de fármacos, diversos fatores podem interferir na biodisponibilidade, tais como características físico-químicas dos fármacos (solubilidade, peso molecular e coeficiente de partição), processos de

industrialização (liberação rápida ou retardada), forma farmacêutica, características próprias do indivíduo, como efeito de primeira passagem, esvaziamento gástrico, ingesta alimentar e de medicamentos, pH gástrico e urinário, dentre outros (RANG; DALE, 2012).

Na administração oral, o ingrediente ativo passa da luz do intestino delgado para a circulação sistêmica. Nesse percurso, o fármaco não deve apenas atravessar a mucosa, estando sujeita à ação de enzimas da parede intestinal ou do fígado, onde será inativada ou desviada antes de atingir a circulação sistêmica, tratando-se do mecanismo de primeira passagem. Outro fator importante consiste na velocidade do esvaziamento gástrico, a qual sofre interferências com a presença de alimento. Acredita-se que esta poderá retardar, reduzir a absorção, não interferir ou mesmo aumentar a quantidade de fármaco absorvido (GILMAN, 2012).

A constituição dos alimentos também é um fator importante, tendo em vista que eles podem interferir no esvaziamento gástrico, interagir diretamente com o fármaco ou alterar a produção de secreções como a bile, que quando presente no trato gastrointestinal aumenta a absorção de fármacos pouco solúveis em meio aquoso (KATZUNG, 2008).

A observação de pacientes com comprometimento de suas funções hepático-renal é fundamental para o ajuste de doses a serem administradas, uma vez que esses pacientes sabidamente terão, em diferentes graus, uma metabolização e eliminação diminuídas (KATZUNG, 2008).

### **1.3 Considerações sobre o Diclofenaco Sódico**

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) são fármacos largamente utilizadas em clínica. O diclofenaco é o AINE mais frequentemente prescrito em todo o mundo, classificado como o 8º medicamento mais comercializado no mundo, tendo sido utilizado por mais de um bilhão de pacientes desde a primeira aprovação pelas autoridades sanitárias (IMS, 2007).

O diclofenaco sódico é normalmente administrado para o tratamento de dores agudas e crônicas de diferentes etiologias e exerce seus efeitos por meio da inibição da ciclo-oxigenase e modulação do ácido araquidônico. As suas reações adversas são dose dependentes, incluindo sintomas gastrintestinais, cardiovasculares e renais (BRUNNER *et al.*, 2011).

### 1.3.1 Características Químicas

O primeiro agente anti-inflamatório não esteroide introduzido depois de ácido salicílico foi fenilbutazona, em 1952. Uma década mais tarde, outros compostos, tais como ácido mefenâmico, ibuprofeno, indometacina, foram introduzidos. Naquela época, decidiu-se desenvolver um medicamento anti-inflamatório novo que teria alta atividade e tolerabilidade. Para fazer isso, primeiro avaliou as características estruturais e físico-químicas dos agentes anti-inflamatórios disponíveis nesse momento. Foram considerados os seguintes fatores: transporte de fármacos através das membranas biológicas, a estrutura atômica e espacial da molécula, que rege o seu ajuste ao receptor; e a estrutura eletrônica, que controla a interação específica entre o fármaco e o receptor. Foi postulado que um agente anti-inflamatório eficaz deve ter as seguintes características: uma constante de acidez compreendido entre 4 e 5, um coeficiente de partição (tampão n-octanol/aquoso, pH 7,4) aproximadamente de 10, e dois anéis aromáticos, torcidos em relação ao outro (SALLMANN, 1986).

O coeficiente de partição de um ácido depende do grau de dissociação, isto é, a constante de ionização da substância e do pH do meio (por exemplo, intestino, ou o sangue). É o coeficiente que determina em grande parte o comportamento farmacocinético de qualquer fármaco, incluindo a sua absorção, a ligação às proteínas do plasma e os receptores, e excreção (SALLMANN, 1986).

O Diclofenaco tem um coeficiente de acidez de 4,0 e um coeficiente de partição de 13,4. Eles incluem um grupo ácido fenilacético, um grupo amino secundário, um anel de fenil e duas orto posições dos quais são ocupados por

átomos de cloro. Os átomos de cloro causam torção máxima do anel fenil (SALLMANN, 1986).

A estrutura química do sal monossódico do ácido 2-[(2,6-diclorofenil) amino] benzeno acético ( $C_{14}H_{10}NO_2Cl_2Na$ ) é apresentada na figura 01. Suas características químicas encontram-se na tabela 01. O fármaco encontra-se disponível nas formas livre, de dietilamônio, de sal potássico, de resinato e associado à colestiramina (KOROLKOVAS e BURCKHALTER, 1988; KOROLKOVAS e FRANÇA, 2004; PARFITT, 1999; FERRAZ *et al*, 2000).

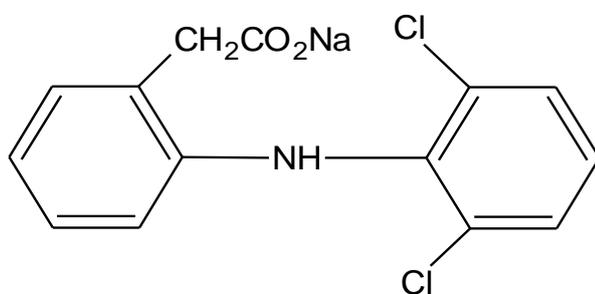


Figura 01: Estrutura química do diclofenaco

**Tabela 01: Características Químicas do Diclofenaco**

Peso Molecular	318,1
Coeficiente de acidez	4,0
Solubilidade	
Em álcool	Alta
Em água	-
Permeabilidade	Alta
Coeficiente de partição octanol/água	13,4

### 1.3.2 Características Farmacológicas

O Diclofenaco é um fármaco anti-inflamatório não esteroide com propriedade analgésica e antipirética. Além disso, possui também um efeito

uricosúrico. Esse fármaco tem sua ação baseada na inibição da enzima cicloxigenase, em particular as isoenzimas COX-1 e COX-2, que demonstraram ação catalítica, resultando na redução da síntese de prostaglandinas, que são mediadores biológicos envolvidos em diversas funções fisiológicas, bem como em condições patológicas (TANG, 2003; VANE, 2003).

A COX-1 é normalmente encontrada em plaquetas, células endoteliais vasculares, no estômago e rins, onde está envolvida na produção de prostaglandinas, que são responsáveis pela proteção da parede gástrica ( $\text{PGE}_2$ ), agregação plaquetária ( $\text{TXA}_2$ ) e função renal ( $\text{PGI}_2$ ). A COX-2 é geralmente produzida em resposta à inflamação, mas pode também ser encontrada em tecidos cerebrais e renais, na ausência de inflamação. A suprarregulação da COX-2 em algumas áreas do sistema nervoso central (SNC) leva à produção de prostaglandinas (tais como  $\text{PGE}_2$ ), que estão envolvidas na dor, febre e inflamação (VANE, 2003).

Acredita-se que a inibição da COX-2 no local da inflamação é responsável pela ação terapêutica do diclofenaco, enquanto que a inibição da COX-1 pode contribuir para os efeitos adversos no trato gastrointestinal, bem como para a inibição da agregação plaquetária. O diclofenaco está classificado entre os mais eficazes inibidores da prostaglandina  $\text{E}_2$  ( $\text{PGE}_2$ ) e é declaradamente de 3 a 1000 vezes mais potente quando comparado com outros AINES, na inibição da atividade da COX-2 (GELLER *et al.* 2012).

O diclofenaco não age diretamente sobre a hiperalgesia e não afeta o limiar de dor. Seu efeito é indireto, decorrente da inibição da produção adicional das prostaglandinas responsáveis pela sensibilização dos nociceptores. As ações anti-hiperalgesia do diclofenaco são obtidos por meio da hiperpolarização glicinérgica de neurônios pós-sinápticos. Apesar de o mecanismo exato ser desconhecido, diclofenaco poderia também suprimir a síntese de prostaglandinas (principalmente  $\text{PGE}_2$ ) no hipotálamo. Esta supressão explicaria sua ação antipirética (ZEILHOFER, 2007; GELLER *et al.* 2012).

O efeito anti-inflamatório, mensurado em modelo de artrite é maior do que a aspirina e similar à indometacina. O Diclofenaco causa erosões gástricas e inibe a

agregação plaquetária, prolongando o tempo de sangramento. A inibição da síntese de prostaglandinas no útero de mulheres grávidas pode atrasar o início do trabalho de parto. Não possui efeito sobre a função renal em indivíduos normais, mas pode piorar a função renal em pacientes cujo fluxo sanguíneo renal é dependente da  $PGE_2$  vasodilatadora (por exemplo, na hipertensão, diabetes, cirrose hepática e outras condições). As lesões gastrintestinais causadas por este fármaco são atribuídas à irritação direta da mucosa gástrica ou pela inibição da síntese de prostaglandinas citoprotetoras.

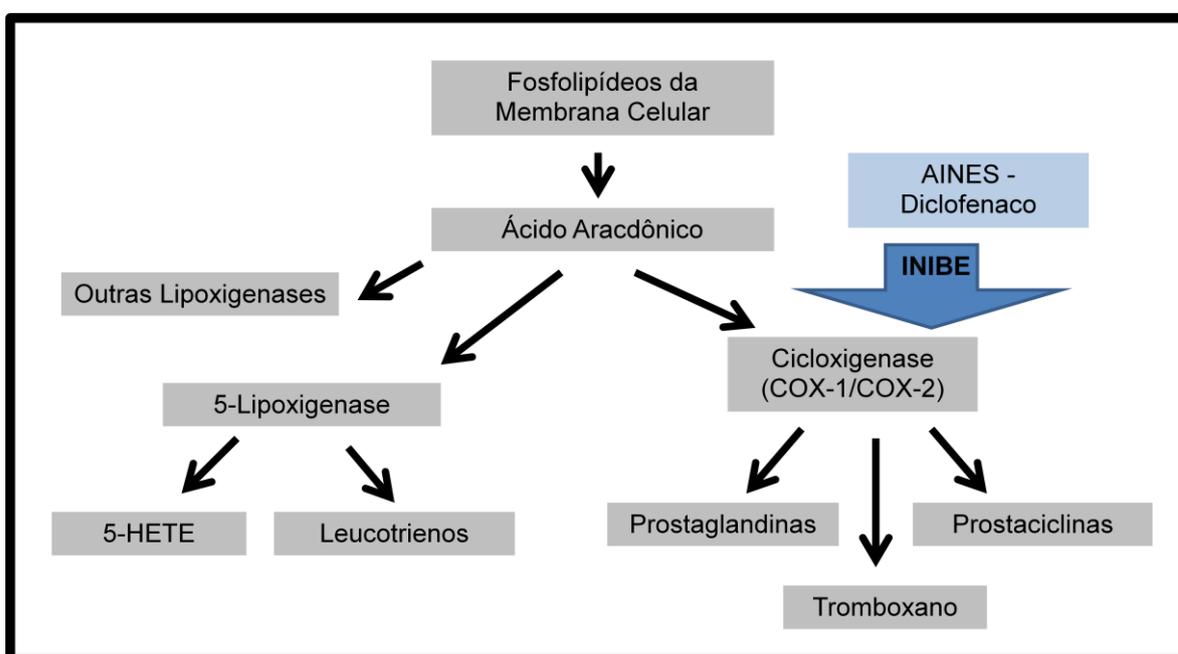


Figura 02: Cascata do ácido araquidônico (simplificada).

### 1.3.3 Farmacocinética

O Diclofenaco é bem absorvido após administração oral, mas com a administração de preparações com revestimento entérico o tempo para se atingir a concentração máxima pode ser variável. Cerca de 60% da dose oral atinge a circulação sistêmica. Um aumento linear da área sob a curva (ASC), em humanos, foi observado em doses de 25-150 mg. Como os outros anti-inflamatórios não

esteroidais, o Diclofenaco possui uma alta ligação às proteínas plasmáticas (>99,5%), principalmente a albumina. As concentrações plasmáticas máximas são atingidas cerca de 30 minutos após a administração. Sua meia-vida terminal no plasma é de cerca de 1-2 horas. O diclofenaco é capaz de entrar no líquido sinovial, onde as concentrações podem persistir e continuar a exercer uma resposta terapêutica, apresentando meia-vida aparente no líquido sinovial de 03 a 06 horas (LIAUW, 1985; GELLER *et al.* 2012). Duas horas após atingir os níveis de pico plasmático, as concentrações de substância ativa já são mais altas no líquido sinovial do que no plasma e permanecem mais altas por até 12 horas (CHMIELEWSKA, 2006).

Um dos primeiros métodos para quantificação de Diclofenaco em fluidos biológicos foi a cromatografia gasosa com detecção por captura de elétrons. Atualmente, técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência, com diferentes métodos de detecção (ultravioleta, fluorescência, detecção eletroquímica, acoplada ao espectômetro de massas) têm sido utilizadas para quantificação deste fármaco em matrizes biológicas.

**Tabela 02: Parâmetros Farmacocinéticos do diclofenaco**

Absorção oral	>90%
Metabolismo pré-sistêmico	40%
Meia-vida plasmática (liberação imediata)	1-2h
Meia-vida plasmática (liberação prolongada)	4-4,8h
Volume de distribuição	0,12 L/kg
Ligação às proteínas plasmáticas	99,5%

O Diclofenaco é metabolizado extensivamente por animais e humanos no fígado por um membro da família CYP2C, em vários compostos fenólicos e excretados como conjugados glucuronídeos e sulfato (GILMAN, 2012). Em humanos o metabólito principal é um composto 4-hidroxidiclofenaco e 20-30% de uma dose oral é excretada nesta forma na urina e cerca de 10-20% na bile. A meia vida de

eliminação em humanos é de 1-2 horas. Alguns dos metabólitos mostram atividade anti-inflamatória, analgésica e antipirética. Não existem evidências de circulação entero-hepática em humanos. Alguns métodos têm sido publicados para a quantificação de seus metabólitos (DOLLERY, 1999).

### **1.3.4 Usos Terapêuticos**

O Diclofenaco de sódio é indicado para um tratamento de curto prazo para dores (principalmente agudas) brandas a moderadas e inflamação no âmbito clínico e inflamatório. As seguintes condições apresentam benefício com o uso desse fármaco: distúrbios osteomusculares, articulares e periarticulares (artrite soropositiva, artrite soronegativas, osteoartrose, entesite, gota aguda); estado de dor inflamatória pós-traumática (causadas por entorses) e pós-operatória (cirurgias ortopédicas ou odontológicas, por exemplo); condições inflamatórias e/ou dolorosas em ginecologia (dismenorreia primária); nas crises de enxaqueca, cefaleia tensional; dor visceral (tal como cólica nefrética); inflamação e febre que acompanham os processos infecciosos de ouvido, naso e orofaringe (faringoamigdalites e otites) (PHYSICIANS' DESK REFERENCE, 1997; DRUGDEX, 2003; UPTODATE, 2013).

O diclofenaco de sódio (DS) pode ser administrado por via oral, nas formas farmacêuticas de comprimidos, cápsulas, drágeas, comprimidos de cronoliberação, comprimidos de liberação instantânea, comprimidos revestidos entéricos, comprimidos revestidos de ação prolongada, comprimidos de ação retardada e comprimidos de liberação gradativa (KOROLKOVAS e FRANÇA, 2004). O Diclofenaco sódico também é usado como solução parenteral, solução oftálmica e gel para uso tópico, sendo ainda empregado, em alguns países, por via oral como ácido livre em preparações sólidas dispersíveis e em associação com o misoprostol para pacientes com risco de ulceração péptica (PARFITT, 1999).

A terapia com Diclofenaco de Sódio na forma comprimidos é feita administrando-se oralmente, antes ou após a alimentação. As formulações de liberação prolongada são indicadas para aqueles indivíduos que apresentaram

intolerância (principalmente gástrica) prévia. A dose inicial diária recomendada é de 100-150mg. Em casos mais leves bem como em pacientes acima de 14 anos de idade, 75-100mg/dia são suficientes. Em formulações de liberação imediata, a dose diária prescrita deve ser fracionada em duas a três tomadas. Nas fórmulas de liberação prolongada, deve ser ingerido um comprimido ao dia. No tratamento da dismenorreia primária, a dose diária deve ser individualmente adaptada, geralmente é de 50-150mg. Na enxaqueca, deve-se tomar uma dose inicial de 50mg nos primeiros sinais de uma crise iminente. Em casos em que o alívio da dor não for suficiente dentro de um período de 2 horas após a primeira dose deve-se tomar uma dose adicional de 50mg. Quando necessário pode-se administrar doses adicionais de 50mg em intervalos de 4 a 6 horas, desde que não exceda dosagem total de 200mg por dia (PHYSICIANS' DESK REFERENCE®, 1997).

O diclofenaco de Sódio nas doses de 50 e 100mg tem demonstrado alívio efetivo na enxaqueca, foi mais bem tolerado e reduziu os sintomas como náusea e vômitos que acompanha a enxaqueca em comparação ao sumatriptan e ergotamina mais cafeína (BUSSONE *et al*, 1999; DAHLÖF AND BJÖNKMAN, 1993; MC NEELY W, GOA K.L, 1999).

Nos quadros de cefaleia tensional, baixas doses de diclofenaco de potássio (12,5 e 25 mg) na forma de comprimidos revestidos de liberação imediata são utilizados e são mais eficientes que o ibuprofeno na dose de 400mg (UP TO DATE, 2013).

### **1.3.5 Contraindicações**

Suspeita ou confirmação de úlcera péptica, hipersensibilidade ao diclofenaco sódico, uso concomitante de outros agentes anti-inflamatórios não esteroidais (intravenoso) ou anticoagulantes, história de diátese hemorrágica ou história confirmada ou suspeita de hemorragia cerebrovascular (uso intravenoso), operações associadas com alto risco de hemorragia (uso intravenoso), história de

Asma (uso intravenoso), insuficiência Renal moderada ou severa (creatinina > 1,5 mg/dL), hipovolemia ou desidratação (DRUGDEX, 2003; UPTODATE, 2013).

### **1.3.6 Reações Adversas**

Não se deve ingerir bebidas alcoólicas durante o tratamento com diclofenaco. Não foram estabelecidas a segurança e a eficácia em pacientes abaixo de 14 anos, portanto não é recomendada a sua administração nos pacientes com esta faixa etária. Mutagenicidade, carcinogenicidade e toxicidade sobre reprodução nos estudos conduzidos não mostrou efeitos carcinogênicos, mutagênicos ou teratogênicos (UPTODATE, 2013).

O diclofenaco somente deve ser empregado durante a gravidez quando houver indicação formal, utilizando-se a menor dose eficaz. Pela possibilidade de ocorrer inércia uterina e/ou fechamento prematuro do canal arterial, essa orientação aplica-se particularmente, aos três últimos meses de gestação (DRUGDEX, 2003).

Inicialmente, alguns pacientes podem se queixar de dor epigástrica, náusea, diarreia, vômitos, cólicas abdominais, dispepsia, flatulência, anorexia, vertigem, cefaleia e tontura leve. Esses sintomas são geralmente leves e transitórios e desaparecem com a descontinuação da medicação..

Elevação das transaminases, rash ou erupção de pele, sonolência, urticária, edema e desordens da função hepática com ou sem icterícia ocorrem raramente e distúrbios de sensibilidade, visão, comportamento e audição ou convulsões, pancreatite, constipação, parestesia, distúrbios de memória, desorientação, insônia, irritabilidade, depressão, ansiedade, pesadelos, tremor, reações psiquiátricas, insuficiência renal aguda, anormalidades urinárias, nefrite intersticial, síndrome nefrótica, necrose papilar, vasculite, palpitações, hipertensão e insuficiência cardíaca congestiva tem sido relatado em casos isolados. Existem também casos isolados de reações de pele severas tais como: eritema multiforme, síndrome de Stevens-Johnson, síndrome de Lyell, reações bolhosas, eczema, e púrpura (UPTODATE, 2013).

#### 1.4 Considerações sobre formulações de diclofenaco de liberação prolongada

Cápsulas resistentes ao trato gastrintestinal são frequentemente usadas com diversos propósitos. Entre estes, estão: (1) a proteção de fármacos instáveis em meio ácido à ação dos fluídos gástricos (eritromicina, pantoprazol, entre outros); (2) quando o fármaco produz náuseas ou vômitos ao ser liberado no estômago (ácido nicotínico); (3) quando for importante que a substância ativa não seja liberada antes de atingir o intestino (mesalazina, sulfassalazina, entre outras); (4) quando o fármaco é irritante para a mucosa gástrica (anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) como o diclofenaco); (5) quando o fármaco só deve produzir o seu efeito máximo no duodeno ou no jejuno (pancreatina); (6) quando se deseja fazer com que as substâncias ativas estejam disponíveis após um período de tempo (ação prolongada) (FERREIRA, 2002). Em suma, as cápsulas gastrorresistentes promovem eficácia farmacológica e farmacocinética de substâncias que são instáveis ou irritantes para mucosa gástrica (PINA *et al.*, 1996).

O revestimento entérico de formas farmacêuticas sólidas contendo diclofenaco de sódio é recomendado para evitar os efeitos secundários indesejáveis, tais como indigestão, erosão e ulceração da mucosa tais efeitos secundários, sem afetar negativamente a disponibilidade do fármaco, mas essa não é a única razão para justificar o uso de formulações de liberação entérica (UPTODATE, 2013).

YANG E FASSIHI (1997) mostraram que o diclofenaco de sódio é um derivado de ácido fenilacético com o pKa de 4,0, cuja solubilidade (tão baixa quanto 1 mg/mL em soluções ácidas) é marcadamente dependente do pH do meio. Tal característica pode levar a um desconforto do indivíduo que ingere o fármaco, quando este não se apresenta em uma fórmula de liberação prolongada.

PALOMO *et al.* (1999) demonstraram que a exposição a condições ácidas substitui alguns dos íons  $\text{Na}^+$  por  $\text{H}^+$  e que a mudança molecular reduz consideravelmente a solubilidade em água. Embora o sal inicial seja recuperado quando o pH é elevado, o tempo que demora a reversão, afeta de modo significativo a liberação do fármaco.

A ação terapêutica de um medicamento depende da liberação da substância ativa, de sua absorção e da manutenção de níveis plasmáticos efetivos (FERRAZ, 2000). Segundo a Farmacopeia Francesa, uma forma farmacêutica de liberação modificada é uma preparação cuja velocidade de liberação da substância ativa é diferente da velocidade de liberação desta em uma forma farmacêutica com liberação convencional destinada à mesma via. Essa modificação é realizada voluntariamente utilizando-se um método apropriado e reproduzível (LE HIR, 1997). Cápsulas de “liberação prolongada” são formuladas de maneira a tornar o conteúdo medicamentoso disponível por um longo período de tempo após a ingestão (THE UNITED, 2005).

Estudos de biodisponibilidade e bioequivalência têm papel fundamental no desenvolvimento de produtos farmacêuticos e correspondem ao padrão aceito para assegurar o desenvolvimento terapêutico de medicamentos que passaram por alterações em processos de fabricação, modificações de formulação e também para aprovação de medicamentos genéricos. Esses padrões estão baseados em assegurar que tanto o produto de referência, como o produto teste, apresente o mesmo perfil de concentração plasmática pelo tempo (TAKAGI *et al.*, 2006).

Segundo diretrizes do Comitê de medicamentos de uso humano (CHMP), a norma orientadora sobre fármacos de liberação modificada oral, requer a investigação de bioequivalência de produtos genéricos de liberação prolongada em um estudo de dose única em jejum e após ingestão alimentar ou um estudo de doses múltiplas em estado de jejum e na presença de uma refeição rica em gorduras nos casos em que o produto pode ser administrado independentemente da ingestão de alimentos, ou apenas um estudo de dose única, em estado de jejum alimentado, e um estudo de doses múltiplas em estado alimentado em os produtos onde os produtos de referência indicam a ingestão apenas em condições de alimentação para as questões de segurança / tolerabilidade ou por razões farmacocinéticas (GARCIA *et al.* 2012).

## 1.5 Relevância do estudo de bioequivalência do diclofenaco de sódio

O crescente uso de medicamentos genéricos em todo o mundo, na perspectiva de redução de custos para benefício da população assistida, traz novas demandas para as pesquisas clínicas, com uso de fármacos.

A criação de medicamentos genéricos deverá corresponder aos mesmos efeitos terapêuticos dos seus fármacos de referência, quando administrados nas mesmas condições, fundamentalmente para os parâmetros de velocidade e extensão da absorção, com eventos adversos também similares.

A escolha pelo tema estudado deu-se a partir da escolha da avaliação de bioequivalência de um medicamento de uso bastante rotineiro pela população (às vezes indiscriminado), o diclofenaco sódico, devido suas propriedades anti-inflamatórias e analgésicas. Adicionalmente, o uso da fórmula de liberação prolongada, objetiva a redução das principais reações adversas sobre o trato gastrointestinal, oferecendo um maior conforto e segurança por parte do usuário. Para esse tipo de formulação, é normativo pela Anvisa, a avaliação da bioequivalência tanto em jejum como pós-alimentação.

Deste modo, mostra-se a relevância do presente ensaio clínico, que objetivou testar a bioequivalência entre uma Formulação de Diclofenaco Sódico cápsulas de liberação prolongada de 100 mg, chamada formulação teste, versus uma Formulação de Diclofenaco Sódico cápsulas de liberação prolongada de 100 mg de referência no mercado em Voluntários Sadios de Ambos os Sexos, em jejum e alimentados, tendo em vista que a partir dos resultados encontrados, um fármaco genérico poderá ser utilizado ou não com eficácia e segurança, tanto por parte do profissional prescritor, como do usuário de tais medicações.

**OBJETIVOS**

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

- Avaliar a bioequivalência entre uma formulação de diclofenaco sódico cápsulas de liberação prolongada de 100 mg chamada formulação teste), *versus* uma formulação de diclofenaco sódico cápsulas de liberação prolongada de 100 mg, produto de referência do mercado em voluntários sadios de ambos os sexos, em jejum e alimentados.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar parâmetros farmacocinéticos do diclofenaco em voluntários sadios em condição de jejum e pós-alimentação.
- Avaliar a variabilidade entre os indivíduos para os parâmetros farmacocinéticos em grupos biológicos diferentes, relacionados ao gênero e ao IMC.

**METODOLOGIA**

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 Delineamento do estudo**

O estudo foi delineado, de forma a permitir que se obtenham os parâmetros farmacocinéticos relevantes para a comparação estatística, visando à comparação de biodisponibilidades/bioequivalências. No caso em estudo, tais parâmetros são obtidos diretamente a partir da determinação da concentração plasmática do princípio ativo do medicamento Diclofenaco, baseado na aplicação de um modelo não comportamental próprio para avaliação destas concentrações, após a administração do medicamento por via oral.

Por conseguinte, a finalidade primária da Etapa Clínica é a coleta de amostras de sangue dos voluntários para medição (na Etapa Analítica) de níveis plasmáticos dos fármacos após sua administração oral.

#### **3.2 Desenho do estudo**

Trata-se de um estudo aberto, randomizado, cruzado, com quatro períodos, duas sequências, nos quais os voluntários receberam em cada período distinto em jejum ou alimentados, 01 cápsula de liberação prolongada da formulação teste do diclofenaco sódico 100 mg ou 01 cápsula de liberação prolongada de Diclofenaco sódico 100 mg da formulação de Referência conforme tabela de randomização. Por conseguinte, há quatro braços de tratamento.

Os voluntários foram submetidos a quatro internações, por quatro semanas consecutivas, onde receberam a formulação teste ou referência. Em dois das quatro internações foi administrado Diclofenaco Sódico após o desjejum, sendo uma internação com a formulação teste e na outra com a formulação de Diclofenaco Sódico referência de acordo com a tabela de randomização. Tal desjejum era composto de alimentos isentos de agentes estimulantes, tal como xantinas (dieta descrita no apêndice 02).

As formulações foram administradas em dose única, por via oral, seguida de coletas de sangue, de pelo menos quatro meias-vidas do fármaco em estudo. Os períodos de tratamento obedeceram a um intervalo de sete meias-vidas, entre eles (*washout*). Considerando-se a meia-vida do Diclofenaco Sódico de cerca de 2 h, realizou-se um intervalo mínimo de sete dias entre as internações.

**Tabela 03: Definição dos períodos de tratamento (RE nº 898/2003-ANVISA).**

Sequência	Período I	Período II	Período I	Período II
1	Referência	Teste	Teste	Referência
2	Teste	Referência	Referência	Teste

A sequência de tratamento atribuída a cada voluntário nos períodos de estudo foi determinada por uma lista de randomização. O número apropriado do voluntário foi alocado sequencialmente para cada voluntário considerando de antemão a divisão por sexo e cuja entrada na parte aleatorizada do ensaio foi confirmada.

### 3.2.1 Lista de randomização

O desenho amostral para ensaio de bioequivalência de cápsulas contendo 100 mg de diclofenaco sódico está apresentado nos Quadros 1 e 2.

**Quadro 01: Desenho amostral para ensaio de bioequivalência de cápsulas contendo diclofenaco – 1ª Turma**

Nº	INICIAIS	SEQUÊNCIA	PERÍODO I	PERÍODO II	PERÍODO III	PERÍODO IV
01	RS301265	1	Referência	Teste	Teste	Referência
02	GF230385	2	Teste	Referência	Referência	Teste
19	MM230487	1	Referência	Teste	Teste	Referência
20	CG270284	2	Teste	Referência	Referência	Teste
21	JS271090	2	Teste	Referência	Referência	Teste
22	AN190986	1	Referência	Teste	Teste	Referência
04	AS260489	2	Teste	Referência	Referência	Teste
05	GF121190	2	Teste	Referência	Referência	Teste
06	FC080381	1	Referência	Teste	Teste	Referência
07	TM060985	1	Referência	Teste	Teste	Referência
08	FS210885	2	Teste	Referência	Referência	Teste
09	FR160990	1	Referência	Teste	Teste	Referência
10	EO201091	2	Teste	Teste	Teste	Teste
23	SM280292	1	Referência	Teste	Teste	Referência
24	AC140981	2	Teste	Referência	Referência	Teste
25	LM070592	2	Teste	Referência	Referência	Teste
26	RC150687	1	Referência	Teste	Teste	Referência
27	FO110588	2	Teste	Referência	Referência	Teste
28	DF090388	1	Referência	Teste	Teste	Referência

**Quadro 02: Desenho amostral para ensaio de bioequivalência de cápsulas contendo diclofenaco – 2ª Turma**

Nº	INICIAIS	SEQUÊNCIA	PERÍODO I	PERÍODO II	PERÍODO III	PERÍODO IV
03	FB291288	1	Referência	Teste	Teste	Referência
11	JG180791	1	Referência	Teste	Teste	Referência
12	MS060585	2	Teste	Referência	Referência	Teste
13	PL141180	1	Referência	Teste	Teste	Referência
14	AP251280	2	Teste	Referência	Referência	Teste
15	FC250185	1	Referência	Teste	Teste	Referência
16	LC020291	2	Teste	Referência	Referência	Teste
29	MS170473	2	Teste	Referência	Referência	Teste
30	BS040490	1	Referência	Teste	Teste	Referência
31	KM261088	1	Referência	Teste	Teste	Referência
17	GC280993	1	Referência	Teste	Teste	Referência
18	MD070784	2	Teste	Referência	Referência	Teste
32	AF110465	2	Teste	Referência	Referência	Teste
33	RF300394	1	Referência	Teste	Teste	Referência
34	FC231064	2	Teste	Referência	Referência	Teste
35	MA170479	2	Teste	Referência	Referência	Teste
36	IA300970	1	Referência	Teste	Teste	Referência

### 3.2.2 Medicamentos estudados

Os voluntários receberam, conforme a randomização, 01 cápsula de diclofenaco teste e uma cápsula de diclofenaco de referência em cada um dos períodos, como dose única, entre 7 h e 8 h da manhã do dia após o confinamento (o tempo foi anotado no CRF), acompanhado de 200 mL de água mineral sem gás.

### 3.2.2.1 Descrição dos produtos estudados

**Quadro 03: Identificação dos Medicamentos**

	<b>FORMULAÇÃO TESTE</b>	<b>FORMULAÇÃO REFERÊNCIA</b>
<b>NOME DO FÁRMACO</b>	Diclofenaco	Diclofenaco
<b>FORMA FARMACÊUTICA</b>	Cápsula de Liberação prolongada	Cápsula de liberação prolongada
<b>DOSE/UNIDADE</b>	100mg	100mg
<b>NÚMERO DO LOTE</b>	P110804221	BR37256
<b>DATA DE FABRICAÇÃO</b>	08/2011	03/2012
<b>PRAZO DE VALIDADE</b>	08/2015	02/2016

### 3.2.2.2 Inventário das amostras

**Quadro 04: Inventário dos medicamentos estudados.**

	<b>FORMULAÇÃO TESTE</b>	<b>FORMULAÇÃO REFERÊNCIA</b>
<b>Medicamentos estudados</b>	Diclofenaco	Diclofenaco
<b>Amostras recebidas</b>	<b>160 cápsulas</b>	<b>150 cápsulas</b>
<b>Amostras utilizadas</b>	<b>72 comprimidos</b>	<b>72 comprimidos</b>
<b>Amostra perdida</b>	<b>02 comprimidos</b>	<b>00 comprimidos</b>
<b>Amostras de retenção</b>	<b>86 comprimidos</b>	<b>78 comprimidos</b>

### **3.3 População do estudo**

#### **3.3.1 Seleção**

Após um esclarecimento inicial sobre as condições nas quais são desenvolvidas as pesquisas clínicas, os voluntários participaram de um processo de seleção. Nesta etapa foi realizada consulta médica para obtenção do histórico médico e exame físico de cada voluntário (incluindo registro de ECG, pressão arterial sistólica e diastólica, frequência cardíaca e medida de temperatura corpórea) e coleta de material para análises clínicas laboratoriais (incluindo sorologia para HIV e hepatite B e C). Após os resultados dos exames, o voluntário foi informado quanto a sua aptidão física para participação no estudo ou recebeu as orientações pertinentes em caso contrário.

Por ocasião da obtenção do histórico clínico, os voluntários foram também informados sobre as restrições de uso de medicamentos e demais quesitos constantes neste Protocolo. Caso esse histórico fosse obtido há menos de 45 dias da data prevista para o primeiro período do estudo, as restrições seriam cuidadosamente verificadas através de questionamento ao voluntário. Os voluntários também foram continuamente avaliados quanto às condições emocionais, para participação no estudo.

Após terem sido prestadas informações adicionais relativas ao estudo e esclarecidas todas as dúvidas restantes, os voluntários assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice 01) para participação no Estudo.

A seleção de voluntários foi realizada através da unidade responsável pela Etapa Clínica. Os voluntários foram aceitos no estudo somente aqueles considerados saudáveis, a juízo de profissionais legalmente habilitados, com base na história médica, exame físico e os exames laboratoriais que antecederam a admissão no estudo.

### 3.3.1.1 Avaliação clínica

Antes da admissão no estudo, os voluntários se submeteram a um exame clínico, o qual foi explicitamente documentado no Formulário de Relato do Caso (CRFs), englobando a revisão dos sistemas relacionados no quadro abaixo:

**Quadro 05: Itens da História Médica e Exame físico**

<b>Categoria</b>	<b>Exames</b>
<b>História Médica</b>	Alergias; olhos, nariz e garganta; sistemas respiratório, cardiovascular, gastrointestinal, geniturinário, neurológico, hematopoiético-linfático, endócrino; musculoesquelético; dermatológico, história familiar e cirúrgica.
<b>Exame Físico</b>	Exame: otorrinolaringológico, osteomuscular, cardiorrespiratório, abdominal, pele, linfonodos, sistema nervoso.
<b>Dados antropométricos</b>	Pressão arterial, pulso, altura, peso (roupas leves), índice de massa corpórea, temperatura em °C.

A pressão arterial foi considerada como normal dentro dos seguintes limites (salvo melhor juízo do investigador clínico): 90-139 mmHg para a sistólica e 50-89 mmHg para a diastólica. A frequência cardíaca dentro de 50-100 b.p.m. foi considerado normal (limites definidos como normais de acordo com as *VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão, 2010*). O eventual registro durante a internação de valores pressóricos fora dos limites acima citados, não se constituiu, a priori, desvio da normalidade, já que a oscilação de valores pressóricos ocorre normalmente em indivíduos saudáveis durante o decorrer do dia. Durante a internação, só foram

consideradas anormais para efeitos de avaliação como Evento Adverso, medidas sucessivas de pressão arterial fora da faixa em questão.

O Índice de Massa Corpórea foi considerado normal quando maior ou igual a 19 e menor ou igual a 30 (os limites do Índice de Massa Corpórea são definidos no *Report of the Dietary Guidelines Advisory Committee on the Dietary Guidelines for Americans, 2000, U.S. Department of Agriculture Research Service, Fifth Edition, 2000*, tendo sido considerada uma tolerância de 12% quanto ao limite superior).

O investigador anotou na ficha clínica de cada voluntário, qualquer anormalidade de história médica e exame físico considerados não clinicamente significante (n.c.s.) conforme julgamento pelo próprio investigador.

Os exames clínicos e laboratoriais foram realizados até 90 dias antes da data da primeira internação do voluntário. Após a aprovação para a participação no estudo, por ocasião da consulta médica durante o processo de seleção, o voluntário iniciou a etapa clínica num prazo máximo de 45 dias contados entre a data de aprovação e a primeira internação, respeitando-se, ainda, o prazo de validade de exames estipulados acima. Expirado este prazo, o voluntário deveria ser reprovado com base nos mesmos critérios mencionados acima.

### **3.3.1.2 Exames clínicos e laboratoriais**

Ainda para fins de avaliação das condições de saúde, durante o processo de seleção dos voluntários, foram solicitados os exames complementares listados no quadro a seguir:

**Quadro 06: Exames vinculados ao Processo de Seleção dos Voluntários**

<b>Categoria</b>	<b>Exames</b>
<b>ECG</b>	ECG padrão com 12 derivações.
<b>Exames hematológicos</b>	Hemograma completo.
<b>Exames Bioquímicos</b>	Ureia, Creatinina, Fosfatase alcalina, Glicemia, Bilirrubina, Proteínas total e frações, TGO, TGP, Ácido. Úrico, Colesterol total e Triglicérides.
<b>Urina</b>	Sumário de Urina (urina tipo I).
<b>Sorologia</b>	Sorologia para: hepatite B, hepatite C e HIV (1 e 2) e $\beta$ HCG (para as mulheres).

Os voluntários foram submetidos aos exames acima citados antes do início do estudo e após o último período de internamento. O Beta-HCG foi realizado no pré-estudo e no pós-estudo. Sorologia para a hepatite B, C e HIV foram realizadas somente no pré-estudo.

Os resultados dos exames de laboratório foram considerados “normais” quando dentro da faixa de normalidade declarada pelo laboratório. Para resultados numéricos, os valores até 10% fora da faixa de normalidade declarada foram ainda considerados como “normais”, de acordo com avaliação médica. Alterações dos kits de teste utilizado, após a aprovação deste Protocolo, resultando em novas faixas de normalidade, foram referenciadas nos CRFs ou no Relatório Clínico.

No que se refere ao eletrocardiograma, coube a avaliação do médico para determinar se os achados específicos são julgados como normais; anormal não clinicamente significativo ("ncs") ou anormais. O médico também foi responsável em informar se o voluntário é considerado como apto para participar do estudo. O relatório do ECG foi mantido como parte da documentação do estudo.

Registrou-se no Formulário de Relato de Caso (CRF) dos voluntários sempre que um resultado de exame foi considerado como “não clinicamente significativo” ("ncs"), a juízo do pesquisador.

### 3.3.2 Critérios de inclusão

Os seguintes critérios foram satisfeitos para que o voluntário pudessem participar do estudo:

- Homem e mulher, com idade entre 18 a 50 anos.
- Índice de massa corpórea (IMC) maior ou igual a 19 e menor ou igual a 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, medidas de pressão e pulso, exame físico, ECG e exames laboratoriais complementares.
- Capaz de compreender a natureza e objetivo do estudo, inclusive os riscos e efeitos adversos e com intenção de 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.

### 3.3.3 Critérios de exclusão

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

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

- O voluntário tem sabidamente uma hipersensibilidade ao fármaco estudado (Diclofenaco) 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, excetuando-se anticoncepcionais por via oral;

**- Doenças ou problemas de saúde**

- História de doença hepática, renal, pulmonar, gastrintestinal, epiléptica, hematológica ou psiquiátrica; tem hipo ou hipertensão de qualquer etiologia que necessite de tratamento farmacológico; tem história de infarto do miocárdio, angina e/ou insuficiência cardíaca;

- 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\*;

*\*Segundo as recomendações, cabe ao pesquisador clínico responsável pela condução dos estudos o julgamento médico de um resultado de exame laboratorial, sendo para tanto admitida uma discreta variação da faixa de referência estabelecida pelo laboratório, para fins de decisão quanto à inclusão do voluntário no estudo. Uma vez que, segundo as citadas recomendações, não é possível uma padronização da faixa aceitável, define-se para fins deste protocolo como discreta variação aquela que assim for julgada pelo investigador clínico, mediante especificação como "n.c.s." registrada no CRF, devendo constar também justificativa específica, nos casos em que o valor exceda um limite de cerca de 20% da faixa de referência. No caso específico do hematócrito e hemoglobina, considera-se, segundo as recomendações do Órgão Regulatório, que devem ser atendidos os limites mínimos da faixa de referência fornecida pelo laboratório. O julgamento das discretas variações como clinicamente não significantes devem considerar também os efeitos colaterais do fármaco, na dose a ser empregada no estudo, como não adjuvantes no aumento do desvio desses parâmetros.*

**- Hábitos e Dependências**

- Voluntário fuma mais de 10 cigarros por dia;
- O voluntário ingere mais do que 5 xícaras de café ou chá por dia;
- Tem história de abuso de álcool ou drogas;

**- Outras Condições**

- Foi 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 droga conhecida de ter um potencial tóxico bem definido nos grandes órgãos;
- O voluntário participou de qualquer estudo experimental ou ingeriu qualquer droga experimental dentro dos seis meses que antecedem o início deste estudo;
- O voluntário doou ou perdeu 450 mL 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;
- Gravidez e/ou amamentação
- O voluntário tem qualquer condição que o impede de participar do estudo pelo julgamento do investigador.

### 3.3.4 Restrições e proibições

#### - Medicamentos

Os voluntários foram informados que, à exceção de anticoncepcionais orais, qualquer medicamento, incluindo aqueles vendidos sem prescrição médica, não poderiam ser tomados de forma regular por no mínimo 14 dias antes do início do primeiro período do estudo e, mesmo que de forma irregular, dentro de 7 dias antes do início do primeiro período do estudo. Ou os casos em que, com base na meia-vida do fármaco e/ou metabólitos ativos, possa ser assumida a completa eliminação; com base na sua meia-vida (pelo menos cinco  $t_{1/2}$ ). Caso o processo de seleção se iniciasse menos de 14 dias antes da data programada para o primeiro período do estudo, esta restrição deveria ser cuidadosamente verificada através de questionamento ao voluntário.

Durante o intervalo entre os internações procurou ser evitado uso de qualquer medicação concomitante, inclusive aquelas vendidas sem prescrição médica. Na ocorrência de ingestão de medicamentos, o investigador clínico foi responsável em avaliar se, com base na meia-vida do fármaco e/ou metabólitos ativos, poderia ser assumida a completa eliminação da medicação e, por conseguinte, a não haveria interferência com a condução do estudo. Todavia, em caso de emergência, incluindo eventos adversos, o investigador clínico pode decidir sobre administrar medicações, as quais considerem absolutamente necessárias para o bem-estar dos voluntários. Neste caso, o uso da medicação foi registrado apropriadamente no CRF.

#### - Dieta

Não foi permitido, desde 12 horas antes até a última coleta de sangue de cada internação (período de tratamento), o consumo dos seguintes produtos:

- cafeína;

- bebidas que contenham xantina (chá, café, cola);
- bebidas alcoólicas

Além da proibição nos períodos mencionados, o consumo de bebidas alcoólicas foi limitado durante toda a etapa clínica.

Durante as internações, foram considerados os períodos de jejum, incluídas as restrições de líquidos. Também não foi permitida a ingestão de qualquer outro alimento (incluindo doces, pastilhas, gomas, chicletes, salgadinhos ou biscoitos de qualquer tipo), além dos programados. A não-observância destas restrições devia ser informada ao Investigador Clínico, o qual iria decidir se seria permitido que o voluntário permanecesse no estudo. O fato e suas características foram registrados no Formulário de Relato de Caso (CRF).

#### **- Outras restrições quanto a terapias e condutas**

Nos dias de confinamento da noite anterior à administração até 4 horas após a administração, o voluntário reduziu as suas atividades físicas ao mínimo.

Reiterou-se a proibição quanto ao fumo ou uso de fármacos/drogas, critério de exclusão/desligamento do Estudo. Também não foi permitida doação de sangue durante o estudo. A perda involuntária de sangue deveria ser comunicada à equipe médica, que tomaria as providências cabíveis.

Não foi permitida a participação no estudo de voluntárias que estivessem grávidas (mesmo que o fato tivesse ocorrido após a realização do exame laboratorial na fase de pré-estudo), que estivessem amamentando, que tivessem realizado parto ou sofrido aborto nas últimas 12 semanas, ou que estivessem pretendendo engravidar durante o prazo de duração do estudo. Caso, mesmo tomadas as devidas precauções, a voluntária suspeitasse de gravidez durante sua participação no estudo, deveria imediatamente comunicar o ocorrido à equipe para interromper sua participação (caso houvesse confirmação). O fato deveria ficar devidamente documentado no Formulário de Relato de Caso (CRF).

### 3.3.5 Critérios para descontinuação ou retirada de voluntário

#### - Solicitação do voluntário

- Voluntário não desejava continuar no estudo por razões pessoais (ou mesmo sem razão);
- Voluntário não desejava continuar no estudo devido aos eventos adversos do fármaco do estudo (efeitos não desejáveis, possivelmente relacionados com o fármaco em estudo);
- Voluntário não desejava continuar por razões outras que não efeitos adversos, por ex. indisponibilidade, intolerância aos procedimentos do estudo.

#### - A critério do investigador

- Não aderência às exigências do protocolo;
- Eventos adversos 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, fosse do interesse para manutenção da saúde do voluntário.

### **3.3.6 Relato dos casos de retirada ou desistência**

Não houve relato de retirada ou desistência do estudo.

## **3.4 Confinamento dos voluntários**

### **3.4.1 Local**

Os voluntários foram confinados na Unidade de Farmacologia Clínica do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina – UFC. Esta unidade dispõe de uma estrutura assistencial própria, que consiste de uma unidade para ensaios clínicos com 25 leitos e posto de enfermagem. Sua estrutura laboratorial possui equipamentos para processamento e armazenamento de amostras biológicas.

A Unidade de Farmacologia Clínica (UNIFAC) dispõe de carrinho de emergência com desfibrilador, monitor cardíaco, oxímetro, respirador, material para pequena cirurgia e com medicação de urgência para qualquer eventualidade. Além disso, conta com apoio de uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI) do Hospital Universitário da UFC.

### **3.4.2 Período de internação**

Os voluntários apresentaram-se para internamento na Unidade de Farmacologia Clínica (UNIFAC) – Departamento de Fisiologia e Farmacologia – Faculdade de Medicina – Universidade Federal do Ceará (UFC), entre 19:00 e 21:30 horas da noite anterior à administração da medicação. As datas dos internamentos com suas respectivas turmas foram:

- 1ª turma: 09/10/2012 (1º período) – 16/10/2012 (2º período) – 23/10/2012 (3º período) – 30/10/2012 (4º período) - 19 voluntários
- 2ª turma: 27/11/2012 (1º período) – 04/12/2012 (2ª período) – 11/12/2012 (3º período) – 18/12/2012 (4º período) - 17 voluntários

Os voluntários permaneceram na UNIFAC por 24 horas após a administração da medicação.

Após a coleta de sangue de 24 horas e após a avaliação médica, os voluntários foram dispensados, retornando para coleta de sangue ambulatorial de 36 horas.

### **3.4.3 Horários de jejum e alimentação**

Os voluntários permaneceram em jejum desde 08 horas antes da administração da medicação e até 2 horas após a ingestão da medicação. A fim de manter a padronização dos grupos de tratamento, a dieta (alimentos e líquidos) oferecida, obedeceu ao mesmo padrão para todos os voluntários. Todos os alimentos e bebidas servidos foram ingeridos por completo. Anotou-se o horário do início e fim de cada refeição, bem como o de início das ingestões programadas de líquidos. Foram servidas as seguintes refeições padronizadas:

- Na noite de cada confinamento (até as 22 h) foi oferecida aos voluntários uma refeição leve;
- Após 2-3 horas da administração da medicação, em dois dos quatro períodos de internamento, foi servido um desjejum leve;
- Foi servido um desjejum leve e padronizado 30 minutos antes da administração (consumido até 15 minutos antes da administração) de uma das formulações em dois dos quatro períodos do estudo; esse desjejum é isento de xantinas, sendo constituído de um copo de iogurte de morango e um sanduíche de pão-bola com queijo mussarela e “blanquet” de peru (Apêndice 02).

- Após 5-6 horas após a administração da medicação, foi servido um almoço;
- Após 8-9 horas da administração foi oferecido um lanche da tarde;
- Após 10-12 horas da administração foi servido um jantar;
- Após 14-15 horas da administração foi servida uma ceia;
- No dia seguinte (24 horas após a administração) foi oferecido um café da manhã padronizado;
- A ingestão de líquidos *ad libitum* foi permitida até 3 horas antes da administração do fármaco. Água e líquidos (sem cafeína) foram permitidos *ad libitum* após 2-3 horas da dose;
- A medicação foi administrada com 200 mL de água mineral sem gás.

### **3.5 Administração dos medicamentos**

#### **3.5.1 Posologia**

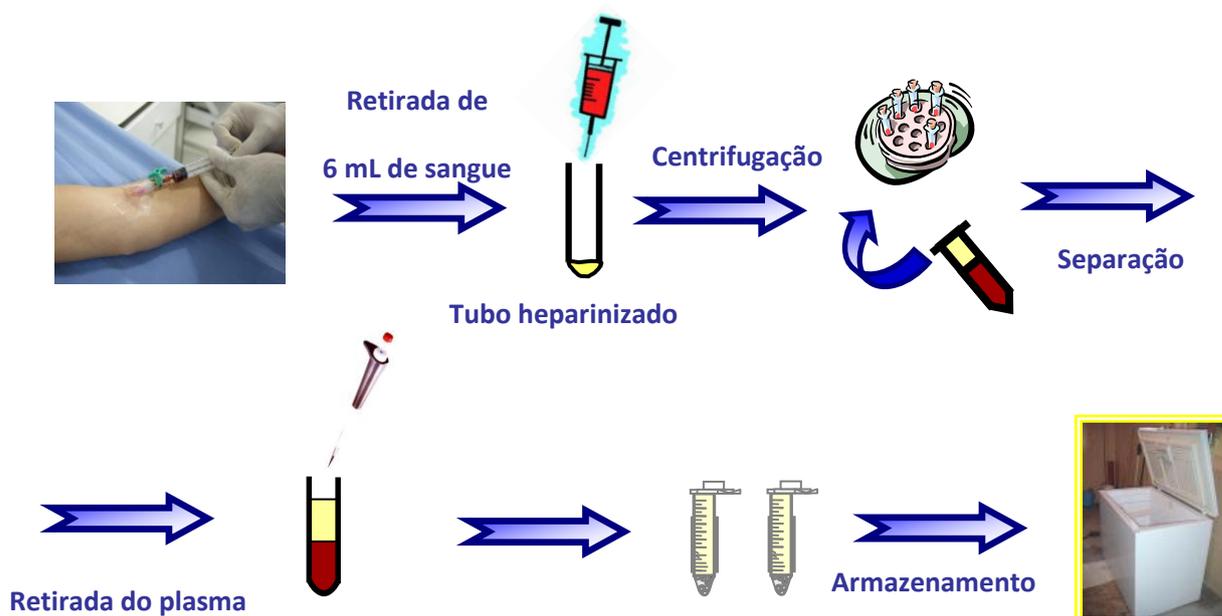
Os voluntários receberam o fármaco Diclofenaco teste 100mg e Diclofenaco referência 100mg, em administração oral, em dose única, entre 7:00 e 8:00 da manhã do dia após o confinamento em cada um dos períodos.

Após o período mínimo de jejum de oito horas e a avaliação da permanência nos critérios de exclusão, os voluntários receberam uma das formulações em estudo; tendo sido registrado o tempo real absoluto da administração da medicação.

### 3.5.2 Cronograma de coleta das amostras

Após a administração da formulação de Diclofenaco foram colhidas amostras de sangue a intervalos regulares, estabelecidos de acordo com as suas propriedades farmacocinéticas. O horário das coletas foi registrado usando um relógio de 24 horas; para que se pudesse computar o intervalo real de tempo existente entre a administração do fármaco e as respectivas coletas.

Coletas de sangue (10mL) foram realizadas antes da administração (tempo zero, para controle individual e curvas padrões) de uma das formulações em estudo, através de "cateter venoso" heparinizado introduzido em veia superficial do antebraço do voluntário, e outras coletas (6mL) nos seguintes intervalos a partir da administração de acordo com quadro 07. O tempo atual de coleta de sangue foi registrado usando um relógio digital.



**Figura 03: Esquema do procedimento de coleta de sangue e separação de amostras plasmáticas**

### 3.5.3 Horários das coletas de sangue

Após pelo menos 8 horas de jejum, o ensaio teve início com uma coleta de sangue para controle individual – tempo zero (amostra pré-administração). Após a administração, amostras de 6mL foram coletadas em cada período em tubos contendo 30 µL de heparina (5000 IU/mL), de acordo com a programação que se segue, para uso na dosagem de Diclofenaco Sódico.

**Quadro 07: Tempo de coleta**

<b>Amostras pré-administração</b>	<b>Imediatamente antes (dentro de 1 hora) da administração da medicação (10mL).</b>
<b>Amostras pós-administração</b>	<b>30 min, 1, 1:30, 2, 2:30, 3, 3:30, 4, 4:30, 5, 5:30, 6, 6:30, 7, 8, 10, 12, 16 e 24 horas após a administração do medicamento.</b>

Logo após a coleta (máximo de 30 minutos) as amostras de sangue foram centrifugadas em torno de 3000 rpm por 12 minutos, a baixa temperatura. Imediatamente após a centrifugação, o plasma foi retirado (pelo menos 1,0 mL) e armazenado em frasco adequado, igualmente identificado, à temperatura de -20°C em freezer específico para armazenagem de amostras biológicas, localizado na própria Unidade. O transporte para a Unidade Analítica deu-se assim que possível, de acordo com o procedimento operacional específico para Transporte de Amostras vigente à época de condução do estudo.

### **3.6 Sinais vitais**

A temperatura, a pressão arterial e o pulso dos voluntários foram monitorados antes da administração e nos tempos de 4, 8, 12 e 24 horas após a administração da medicação. Durante o período do estudo, não houve alteração dos sinais vitais dos voluntários.

### **3.7 Horário e composição das refeições**

O horário e a composição de cada refeição oferecida aos voluntários durante a fase clínica do estudo estão listados no apêndice 02.

### **3.8 Reações adversas e procedimentos de emergência**

#### **3.8.1 Especificação dos Parâmetros de Segurança**

Para fins de acompanhamento de segurança, os voluntários foram observados clinicamente durante o estudo, visando à detecção de eventos adversos. Um Evento Adverso é qualquer ocorrência médica não desejada em um sujeito que esteja participando de uma investigação clínica, ao qual já tenha sido administrada alguma das terapias vinculadas à investigação. Esta ocorrência não necessita ter uma relação causal com a terapia. Um Evento Adverso pode, portanto, ser um sinal (incluindo achados anormais de exames ou sinais vitais) ou sintoma desfavorável e não intencional, ou uma doença temporalmente associada à terapia, relacionada ou não à terapia.

**Um Evento Adverso é um *Evento Adverso Sério* que, independente de dose:**

- Provoca a morte; Ameaça à vida; Requer hospitalização ou prorrogação da hospitalização; Resulta em debilidade / incapacitação significativa ou persistente; Trata-se de uma anomalia congênita ou defeito ao nascimento; Trata-se de uma neoplasia maligna.

A "ameaça à vida" refere-se a condições efetivamente encontradas no momento da ocorrência do evento ou que requeiram, também, no momento do evento, intervenção para prevenir que haja "ameaça à vida"; não se refere à possibilidade de "ameaça à vida" caso o evento fosse mais intenso.

Define-se como hospitalização a admissão em um centro hospitalar, mesmo que seja por um período inferior a 24 horas. Excluem-se as admissões a) para tratar de uma condição pré-existente que esteja documentada na história clínica e que tenham sido planejadas anteriormente ao estudo; b) devido a problemas sociais; c) contempladas no protocolo como parte dos procedimentos do estudo; d) eletivas (cirurgia estética).

Além da comunicação de eventos pelo voluntário ou simples observação, os investigadores registraram e avaliaram os valores de exames físico, eletrocardiográfico e laboratoriais pós estudo em relação aos do pré estudo.

Os eventos adversos foram documentados e notificados de acordo com os critérios e definições estabelecidos (anexos 03 e 04).

### **3.8.2 Métodos de determinação, registro e análise dos Parâmetros de Segurança**

#### **3.8.2.1 Procedimentos Durante o Estudo**

Nos dias de administração da medicação, em cada período de tratamento, os voluntários permaneceram internados durante as horas subsequentes à administração dos medicamentos e foram observados pelos profissionais de saúde durante todo o estudo, visando à detecção de eventos adversos, incluindo sinais de toxicidade. Os voluntários foram instruídos sobre os efeitos adversos em potencial, bem como sobre a necessidade de comunicá-los imediatamente aos investigadores ou sua equipe. Quaisquer eventos adversos que ocorreram após o período sob supervisão médica direta deverão ser imediatamente comunicados à equipe, por telefone.

A pressão arterial, frequência cardíaca e temperatura foram monitoradas conforme especificado no protocolo. Um médico da equipe estava sempre disponível durante todo o período do estudo.

#### **3.8.2.2 Procedimentos pós estudo**

Por ocasião da alta da última internação, todos os voluntários foram novamente avisados de que não deveriam doar sangue por pelo menos 03 meses e tampouco participar de qualquer estudo clínico com medicamentos que envolvesse a coleta de amostra por pelo menos 06 meses. Todos os voluntários, inclusive os que desistiram da participação no estudo, após a administração de pelo menos uma dose de um dos medicamentos, foram reavaliados clinicamente (incluindo sinais vitais e exame físico) e por exames laboratoriais iguais aos realizados na fase pré-estudo (exclusive testes sorológicos).

Esta reavaliação ocorreu a partir do segundo dia e no mais tardar 30 dias após a última coleta de sangue, depois que os resultados dos exames laboratoriais estavam disponíveis. Independentemente de alteração, todos os resultados obtidos devem ser relatados nos CRF individuais correspondentes. A negativa ou o não comparecimento do voluntário para a realização destes procedimentos foi devidamente documentado.

### **3.8.2.3 Procedimentos para Obter Relatos e Registrar e Comunicar Eventos Adversos e Doenças Intercorrentes**

As perguntas realizadas para saber se o voluntário teve algum evento adverso deverão ser limitadas a perguntas gerais, tais como: "Como vai você?". Os voluntários foram questionados pelo menos a 0h, 4h, 8h, 12h e 24 horas após a administração das formulações.

Foi solicitado aos voluntários que relatassem qualquer evento adverso e quando isto ocorreu. Foi também solicitado que notificassem ao Investigador se foi necessário usar medicação adicional.

Qualquer evento adverso foi registrado em detalhes na(s) folhas(s) apropriada(s) para relato de evento adversos, integrante do Formulário de Relato de Caso (CRF). No caso de eventos adversos sérios, estes foram documentados através do Formulário de Relato de Evento Adverso Sério. Os detalhes incluíam a descrição do evento, utilizando terminologia médica precisa, informação sobre o momento em que começou, sua duração e as ações médicas tomadas para afastar o evento adverso, bem como informações sobre o desfecho e qualquer outro dado adicional que, a juízo do investigador, possa ser relevante.

Foram empreendidos todos os esforços, pelo Investigador clínico, para explicar cada experiência adversa e avaliar sua relação, se existisse, com o medicamento do estudo. O Investigador clínico era responsável por documentar todos os eventos adversos que ocorressem durante o estudo e comunicar oportunamente estes eventos ao patrocinador. O Investigador principal era

responsável pela notificação dos Eventos Adversos Sérios à pessoa indicada pelo patrocinador, para tomar conta dos relatórios de Eventos Adversos Sérios. Todos os casos foram imediatamente comunicados aos monitores.

É de responsabilidade do Investigador garantir que os voluntários envolvidos recebessem um tratamento definitivo para qualquer evento adverso, se necessário. Os eventos foram seguidos clinicamente e por estudos laboratoriais (quando indicados) até que os parâmetros voltassem ao normal. Estas atividades permaneceram mesmo após o estudo ter sido completado.

Em casos de emergência, a Unidade de Farmacologia Clínica tem local próprio, equipado com desfibrilador, monitor, oxímetro, respirador, material para pequena cirurgia e com medicação de urgência para qualquer eventualidade.

A formulação de Diclofenaco foi bem tolerada pelos voluntários. As reações adversas observadas durante os quatro períodos de internação de cada turma estão relacionadas nos resultados.

### **3.9 Desvios de protocolo**

O voluntário 13 completou todas as internações, mas não realizou a fase pós-estudo.

### **3.10 Considerações éticas**

#### **3.10.1 Princípios Básicos**

Este protocolo foi preparado de acordo com os padrões estabelecidos pela Resolução nº894, de 29 de maio de 2003-Anvisa, pelo I.C.H. *Harmonized*

*Tripartite Guideline for Good Clinical Practice* (1996). É confidencial por natureza e só pode ser visto por pessoas responsáveis pela sua avaliação e execução. O Estudo foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinque (1964) e suas revisões assim como a Resolução 196/96 do CNS-MS. O projeto de pesquisa, o protocolo experimental e o termo de consentimento livre e esclarecido foram submetidos ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, credenciado pelo CONEP - Conselho Nacional de Saúde/MS, sendo aprovado em 31 de maio de 2012 (anexo 02).

O ensaio clínico não foi iniciado antes que existisse um Protocolo escrito e aprovado pelo Comitê de Ética. O pesquisador foi responsável por obter aprovação do Protocolo de Pesquisa pelo Comitê de Ética. Se emendas ao Protocolo alterassem o risco potencial de segurança dos voluntários do ensaio (tais como mudança no regime de dosagem, amostras adicionais de sangue), seria necessário submetê-las à aprovação por escrito pelo comitê. As emendas só poderiam ser implementadas após sua aprovação, o que poderia implicar a interrupção temporária do estudo. Foi fornecida ao patrocinador uma cópia da carta de aprovação cobrindo tais alterações. A modificação de aspectos logísticos ou administrativos da pesquisa (ex.: mudanças de monitores, números de telefone, formatação do projeto,...) não necessitou ser submetida ao CEP.

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

Os voluntários receberam uma explanação da natureza e dos objetivos do estudo. Foi enfatizado que o estudo tinha a finalidade de pesquisa, e que o voluntário não poderia esperar que existisse qualquer efeito terapêutico. O voluntário também foi informado que era livre para retirar a qualquer momento do estudo, sem ser obrigado a fornecer o motivo de fazê-lo e sem que isto causasse qualquer prejuízo no seu atendimento junto à Unidade de Farmacologia Clínica (apêndice 01).

### **3.11 Método Bioanalítico**

#### **3.11.1 Descrição**

As concentrações em plasma do Diclofenaco foram dosadas por método analítico específico e validadas, baseadas em cromatografia líquida de alta eficiência acopladas a espectrometria de massa (LC-MS/MS), conforme metodologia descrita por Galeno Desenvolvimento de Pesquisas, sob coordenação do Prof. Dr. Gilberto Nucci, sendo utilizado como matriz biológica o plasma humano para quantificação farmacocinética dos fármacos.

Devido sua alta seletividade, especificidade e precisão atualmente é o método de quantificação mais utilizado em estudos de bioequivalência. Apesar do alto custo do CLAE-EM/EM e de sua assistência técnica é compensado pelo seu curto tempo de operação no processamento das amostras (MARZO, 2008).

A utilização do padrão interno nos estudos determina uma compensação de diferenças no comportamento do analito durante todo o processo desde sua extração, eventuais falhas no processo de injeção e em diferenças na quantificação. Padrões internos mais utilizados são fármacos de estrutura química semelhante ao analito. Nesse estudo, o padrão interno utilizado foi o naproxeno.

#### **3.11.2 Sistema da garantia da qualidade e biossegurança**

Os principais benefícios de sistemas de gestão da qualidade em laboratórios de pesquisa são: maior credibilidade nos resultados e pesquisadores, comparabilidade e reprodutibilidade de resultados publicados, aumento da confiança entre as partes envolvidas e facilidade na aquisição de financiamentos.

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 e Resoluções: NBR ISO/IEC 17025:2001; Resolução ANVISA nº 41, de 28 de abril de 2000; Resolução ANVISA nº 133, de 29 de maio de 2003; Resolução ANVISA nº 135, de 29 de maio de 2003; Procedimento GGLAS nº 02/17025 e Procedimento GGLAS nº 02/BPL; Boas Práticas Clínicas.

O objetivo da biossegurança adotada é reconhecer fontes de perigo, avaliar as situações de risco que essa fonte oferece e controlá-la, tomando decisões técnicas e/ou administrativas para promover mudanças. Ao adotarmos procedimentos específicos para evitar ou minimizar os riscos de atividades potencialmente perigosas, estamos aplicando a biossegurança.

Jaleco, óculos de segurança e luvas de procedimentos; são de uso obrigatório durante os procedimentos e quando for necessária a manipulação de soluções biológicas. Procedimentos de segurança utilizados em laboratórios bem como procedimentos adequados para descarte de lixo químico e biológico são seguidos no desenvolvimento dos ensaios.

As matrizes biológicas foram coletadas durante a Fase Clínica do estudo, o qual foi conduzido de acordo com as Boas Práticas Clínicas (BPC).

A metodologia bioanalítica usada para esse experimento foi desenvolvida e validada para os seguintes itens em teste:

#### **Quadro 08: Itens para validação da metodologia empregada**

<b>Analito para quantificação</b>	Diclofenaco
<b>Matriz biológica</b>	Plasma Humano
<b>Anticoagulante</b>	Heparina

### 3.11.3 Protocolo de validação

Os critérios adotados pela Unidade Analítica (Galeno Desenvolvimento de Pesquisa-Campinas/SP) para considerar um método como validado estão definidos no POP BAN PRO 19 – Validação de Método de Ensaio e encontram-se de acordo com os parâmetros exigidos pela Anvisa (RE 899 de 29 de maio de 2003) e pelo Guia do FDA (*Food and Drug Administration*) dos Estados Unidos. Os parâmetros avaliados são especificidade/seletividade, precisão, exatidão, *carry-over*, robustez, recuperação, linearidade e estabilidade (anexo 01).

Uma validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto é necessário que todos os equipamentos e materiais devam apresentar-se devidamente calibrados e os analistas devidamente qualificados e adequadamente treinados.

Uma completa validação pré-estudo foi realizada para validar o presente Ensaio Analítico. Os procedimentos estabelecidos, o método e suas aplicações estão baseados no *Protocolo de Estudo e no Relatório de Validação de Método número METGRU006/13v01, intitulado “Determinação de Diclofenaco em Plasma Humano por LC-MS/MS”*. Anexo 03.

A tabela a seguir resume os principais parâmetros validados para o método analítico:

**Tabela 04: Principais Parâmetros de validação**

Parâmetros Validados	
Técnica Analítica	LC-MS/MS
Tipo de Extração	Líquido - Líquido
Matriz Biológica	Plasma humano
Tipo de Ionização	Electrospray positivo
Método de Detecção	Monitoramento de Reação Múltipla (MRM)
Limite de quantificação (LIQ)	20 ng/mL
Faixa de linearidade	20 – 6500 ng/mL
Tipo de equação	$y = a + bx$ (1/x ponderado)
Controle de Qualidade baixa concentração (CQB)	60 ng/mL
Controle de Qualidade de média concentração (CQM 1)	320 ng/mL
Controle de Qualidade de média concentração (CQM 2)	3200 ng/mL
Controle de Qualidade de alta concentração (CQA)	5200 ng/mL
Controle de Qualidade diluição (CQD)	10400 ng/mL
Estabilidade de Pós - Processamento	76 horas e 30 minutos
Estabilidade de congelamento e descongelamento	3 ciclos
Estabilidade a curto prazo	7 horas e 35 minutos
Estabilidade a longo prazo	799 dias

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 foi escolhido, como padrão, interno para a quantificação simultânea do diclofenaco o naproxeno.

Para conduzir a validação e o estudo, foi verificada a qualidade dos padrões de referência utilizados, assim como a sua autenticidade.

O quadro a seguir descreve a origem / fabricante, número de lote, e a data de validade dos padrões de referência, tanto do analito como do padrão interno, utilizados durante a condução do experimento.

#### **Quadro 09: Padrões de referência do analito e controle**

<b>Padrão</b>	<b>Usado como</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Lote</b>	<b>Data de Validade</b>
Diclofenaco	<b>Analito</b>	Farmacopéia brasileira	2007	Lote corrente
Naproxeno	<b>Padrão Interno</b>	United States Pharmacopeia	J1H092	Lote corrente

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

O espectrômetro de massa foi calibrado antes do início das análises, utilizando soluções do analito diclofenaco e do padrão interno naproxeno para avaliar a integridade dos cromatogramas, os íons moleculares e a performance do espectrômetro.

Os quadros a seguir demonstram os principais parâmetros gerais do método e os parâmetros de detecção do mesmo.

Quadro 10: Parâmetros gerais do método

Parâmetros Gerais	
Fase Móvel	Acetonitrila/Água (70/30; v/v) + 0.1% Ácido Fórmico
Coluna Analítica	Genesis Lightn C18, 4um, Lot No: 9600704 100x2.1mm SN 090326537208017 (GRU2009-003)
Pré-Coluna	Phenomenex Security Guard Cartridge (C18) 4x3.0mm
Temperatura do Auto-Injetor	8°C
Fluxo	450 uL/min
Pressão Contrária	90 bar
Temperatura da Coluna	Temperatura ambiente
Volume de Injeção	10 uL
Split	1:5

Quadro 11: Parâmetros de detecção do fármaco testado e do controle

Parâmetros Individuais		
Composto	Diclofenaco	Naproxeno
MRM transição	296.2 > 214.0	230.8 > 185.0
Tempo de Retenção Típico (min)	1.40 ± 0.3	1.10 ± 0.3
Dwell Tempo (sec)	0.3	0.3
Cone (V)	20	25
Energia de Colisão (CE)	35	15

### **3.12 Tratamento estatístico**

#### **3.12.1 Desenho estatístico**

O planejamento experimental do estudo obedecerá aos seguintes critérios: Estudo aberto; Cruzado (Crossover); Randomizado; e Delineamento cruzado 2x4.

Foram recrutados 36 voluntários, com número equitativo em ambos os sexos. O número de voluntários foi planejado levando-se em conta as informações sobre a variabilidade da droga, disponível na literatura. O número de voluntários previsto já leva em conta a possibilidade de ocorrência de “dropouts” (em média 10%).

#### **3.12.2 Intervalo de aceitação dos parâmetros farmacocinéticos**

##### **3.12.2.1 Análise farmacocinética**

A análise farmacocinética foi realizada com o apoio dos seguintes softwares: *Microsoft Excel* Version 7.0; *WinNonLin Professional* Network Edition, Versão 5.0; e *Graph Pad Prism* Version 3.02.

Foi produzido um gráfico das médias das concentrações x tempo, em escala linear, para ambas formulações, juntamente com uma tabela contendo a média e desvio padrão (ou mediana e valores min/max quando apropriado) relativo aos parâmetros farmacocinéticos relevantes.

## - Parâmetros Farmacocinéticos

O tratamento dos parâmetros farmacocinéticos incluíram, pelo menos o cálculo de:

**ASC<sub>último</sub>**: Área sob a curva de concentração da droga versus tempo do tempo 0 (zero) ao tempo da última concentração acima do Limite de Quantificação (LQ), calculada pelo método linear-log trapezoidal;

**ASC<sub>inf</sub>**: Área sob a curva de concentração da droga versus tempo do tempo 0 (zero) extrapolada ao infinito, calculada pelo método linear-log trapezoidal.  $ASC_{[0-\infty]} = ASC_{[0-ultimo]} + C_t/Ke$ , onde  $C_t$  é a última concentração quantificável;

**Ke**: Constante de taxa de eliminação terminal determinada por análise de regressão log-linear;

**T<sub>1/2</sub>**: Meia-vida terminal,  $t_{1/2} = \ln(2) / \lambda$

Valores de Ke, T<sub>1/2</sub> e ASC<sub>inf</sub> não serão reportados para os casos que não apresentarem regressão linear. Além disto serão determinados:

**C<sub>max</sub>**: Maior concentração alcançada, com base nos dados experimentais;

**T<sub>max</sub>**: Tempo no qual ocorreu o C<sub>max</sub>.

A avaliação de bioequivalência será realizada com base nos parâmetros C<sub>max</sub>, ASC<sub>inf</sub> e ASC<sub>último</sub>.

## - Descrição dos métodos estatísticos e critérios

As análises estatísticas foram conduzidas após transformação logarítmica baseada em modelo aditivo para todos os valores de ASC e C<sub>max</sub>.

Foi empregada análise de variância apropriada para o modelo de 02 períodos cruzados, sob os dados de ASC e C<sub>max</sub> transformados logaritmicamente, a qual levou em conta em seu modelo os efeitos de sequencia, voluntário dentro da sequencia, tratamento e período.

A verificação de existência de efeito residual foi realizada com base nos testes de sequenciada ANOVA, utilizando-se como parâmetro o *Pvalue* obtido com base na  $F_{stat}$  do efeito de sequência (Sequence Hypothesis of Model effects).

Foram calculados os pontos paramétricos e estimativas dos intervalos da razão T/R (formulação "teste" / formulação "referência") para valores ASC e  $C_{max}$ . A biodisponibilidade relativa da formulação "Teste versus Referência" foi avaliada pelas razões das médias geométricas (pontos estimados). O intervalo de confiança de 90% serviu como estimativa de intervalo e foi determinado por análises paramétricas (dois testes t unicaudais –  $p=0.05$ ).

As formulações em estudo foram consideradas com biodisponibilidade equivalente quando o intervalo de confiança (IC) de 90% da média geométrica da ASC (no que diz respeito à extensão da absorção) e  $C_{max}$  (no que diz respeito à velocidade de absorção) estivesse dentro do intervalo de 80-125% da média geométrica da formulação referência - regras do FDA para estudos de bioequivalência e da RDC 103 de 08 de maio de 2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) e Resoluções complementares.

No que se refere aos diferentes parâmetros de ASC, para efeito de decisão de bioequivalência, no relatório final, a análise considerou como variável alvo a  $C_{max}$  e  $ASC_{último}$ , desde que a parte avaliada fosse superior a 80% da  $ASC_{inf}$  em pelo menos 90% dos voluntários.

É estabelecido pelo FDA que fármacos altamente variáveis são geralmente definidos no contexto da variabilidade intra-sujeitos em bioequivalência de acordo com os parâmetros  $C_{max}$  e ASC. É definido fármaco altamente variável aquele que apresenta uma variabilidade intra-sujeitos de 30% ou mais, nestes dois parâmetros de bioequivalência (DILIBERTI, 2004).

A avaliação da variabilidade entre os indivíduos para os parâmetros farmacocinéticos referentes a grupos biológicos diferentes, tal como gênero e o IMC, tanto em jejum, como alimentados, foi realizado através do Teste T de Student, calculado com nível de significância  $\alpha=5\%$  para comparação de médias.

Todos os valores mensurados foram apresentados em planilhas EXCEL e fornecidos de forma impressa e como arquivos eletrônicos. Os dados brutos das determinações analíticas foram fornecidos de forma impressa e de forma que permitisse a identificação retrospectiva dos valores individuais mensurados e identificação de valores integrados automaticamente e manualmente, respectivamente.

Os resultados (concentrações plasmáticas) obtidos, assim como as demais informações relacionadas ao procedimento, foram objeto dessa dissertação.

### **3.12.2.2 Critérios de aceitação dos desvios de protocolo**

Os procedimentos descritos no protocolo foram seguidos na íntegra, e tomadas às devidas providências para que não houvesse desvios do protocolo. Porém, caso ocorresse alguma intercorrência, coube aos investigadores à análise e julgamento desta, bem como as providências e justificativas para o ocorrido, sendo apresentadas no relatório final.

Os desvios de tempo de coleta das amostras foram devidamente documentados e encaminhados para o responsável pela etapa estatística, sendo que os mesmos foram considerados no cálculo dos parâmetros farmacocinéticos e análise estatística.

**RESULTADOS**

## 4 RESULTADOS

O presente estudo analisou o uso do diclofenaco sódico de liberação prolongada em voluntários saudáveis, em ambos os sexos. A intenção final é a avaliação da biodisponibilidade/bioequivalência entre o fármaco teste com o padrão do mercado.

Para avaliação adequada, o presente estudo foi composto por um “N” de 36 voluntários saudáveis, sendo 18 sujeitos do sexo masculino e 18 do sexo feminino. Em relação à faixa etária, as idades variaram de 20 a 47 anos. Sobre o IMC, 20 indivíduos apresentavam IMC de 19 a 25, considerado normal (pela Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabolismo) e 16 voluntários estavam com IMC na faixa de 25 a 30, considerado acima do peso.

Todos os voluntários recrutados foram submetidos a exames laboratoriais pré-estudo para serem aceitos para o ensaio e pós-estudo para avaliar alterações nos parâmetros hematimétricos e bioquímicos decorrentes aos procedimentos do ensaio.

Em relação aos parâmetros farmacocinéticos, dois medicamentos são considerados bioequivalentes se as suas quantidades e velocidades de absorção não apresentam diferenças estatisticamente significativas, quando administrados à mesma dose molar do princípio ativo, sob as mesmas condições experimentais. Um estudo de bioequivalência refere-se basicamente à comparação estatística das principais medidas farmacocinéticas observadas no experimento, relativas aos produtos a serem testados (BRASIL, 2002). Os principais parâmetros farmacocinéticos são: (1) área sob a curva de concentração plasmática versus tempo (ASC), (2) pico de concentração plasmática ( $C_{max}$ ) e, eventualmente, (3) tempo para se atingir  $C_{max}$  ( $T_{max}$ ). O maior objetivo dos estudos de bioequivalência é garantir fármacos com padrões farmacocinéticos semelhantes e qualidades comprovadas.

As tabelas 05 e 06 descrevem os principais dados antropométricos (sexo, altura, peso e IMC) dos 36 voluntários selecionados.

**Tabela 05: Dados Antropométricos – DICLOFENACO 1ª TURMA - UNIFAC 50/12**

<b>VOLUNTÁRIO</b>	<b>SEXO</b>	<b>IDADE</b>	<b>ALTURA (m)</b>	<b>PESO (Kg)</b>	<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>
<b>Vol.01-RS301265</b>	M	47	1,60	74,55	29,1
<b>Vol.02-GF230385</b>	M	27	1,73	70,40	23,54
<b>Vol.04-AS260489</b>	M	23	1,79	79,85	24,95
<b>Vol.05-GF121190</b>	M	21	1,76	90,15	29
<b>Vol.06-FC080381</b>	M	31	1,74	73,55	24,2
<b>Vol.07-TM060985</b>	M	26	1,80	88,5	27,3
<b>Vol.08-FS210885</b>	M	27	1,67	69	24,7
<b>Vol.09-FR160990</b>	M	21	1,70	72	24,9
<b>Vol.10-EO201091</b>	M	20	1,68	70,95	25,15
<b>Vol.19-MM230487</b>	F	25	1,61	54,35	20,98
<b>Vol.20-CG270284</b>	F	28	1,64	54,9	20,4
<b>Vol.21-JS271090</b>	F	21	1,63	59,4	22,3
<b>Vol.22-AN190986</b>	F	25	1,63	68,55	25,86
<b>Vol.23-SM280292</b>	F	20	1,63	56,8	21,35
<b>Vol.24-AC140981</b>	F	30	1,48	51,35	23,44
<b>Vol.25-LM070592</b>	F	20	1,62	57,0	21,75
<b>Vol.26-RC150687</b>	F	25	1,68	57,15	20
<b>Vol.27-FO110588</b>	F	24	1,53	68,0	29,05
<b>Vol.28-DF090388</b>	F	24	1,60	56,9	22,2

Tabela 06: Dados Antropométricos – DICLOFENACO 2ª TURMA - UNIFAC 50/12

<b>VOLUNTÁRIO</b>	<b>SEXO</b>	<b>IDADE</b>	<b>ALTURA (m)</b>	<b>PESO (Kg)</b>	<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>
<b>Vol.03-FB291288</b>	M	23	1,62	50,7	19,3
<b>Vol.11-JG180791</b>	M	21	1,84	99	29,2
<b>Vol.12-MS060585</b>	M	27	1,75	84,9	27,74
<b>Vol.13-PL141180</b>	M	31	1,76	78,75	25,4
<b>Vol.14-AP251280</b>	M	31	1,68	73,5	26,1
<b>Vol.15-FC250185</b>	M	27	1,66	55,65	20,16
<b>Vol.16-LC020291</b>	M	21	1,78	93,6	29,5
<b>Vol.17-GC280993</b>	M	18	1,61	59,1	22,81
<b>Vol.18-MD070784</b>	M	28	1,77	76,95	24,58
<b>Vol.29-MS170473</b>	F	39	1,46	50,4	23,66
<b>Vol.30-BS040490</b>	F	22	1,48	43,80	20
<b>Vol.31-KM261088</b>	F	23	1,66	76,25	27,62
<b>Vol.32-AF110465</b>	F	47	1,59	58,9	23,29
<b>Vol.33-RF300394</b>	F	18	1,67	74,15	26,58
<b>Vol.34-FC231064</b>	F	46	1,55	66,6	27,75
<b>Vol.35-MA170479</b>	F	33	1,61	71,05	27,4
<b>Vol.36-IA300970</b>	F	42	1,55	63,15	26,31

Quando se avalia o índice de massa corpórea nos voluntários do estudo, observa-se uma variação entre 19,3 a 29,5, sendo que 16 voluntários encontravam-se acima do peso, sendo permitida a inclusão de voluntários com IMC até 30.

Para considerar apto ao estudo, cada voluntário foi submetido a uma avaliação laboratorial, na qual se dosou parâmetros de função renal (ureia e creatinina), perfil hepático (TGO, TGP, bilirrubinas, fosfatase alcalina e albumina) e avaliação hematimétrica (hemograma com plaquetas) que podem indicar algum grau de toxicidade ao fármaco testado.

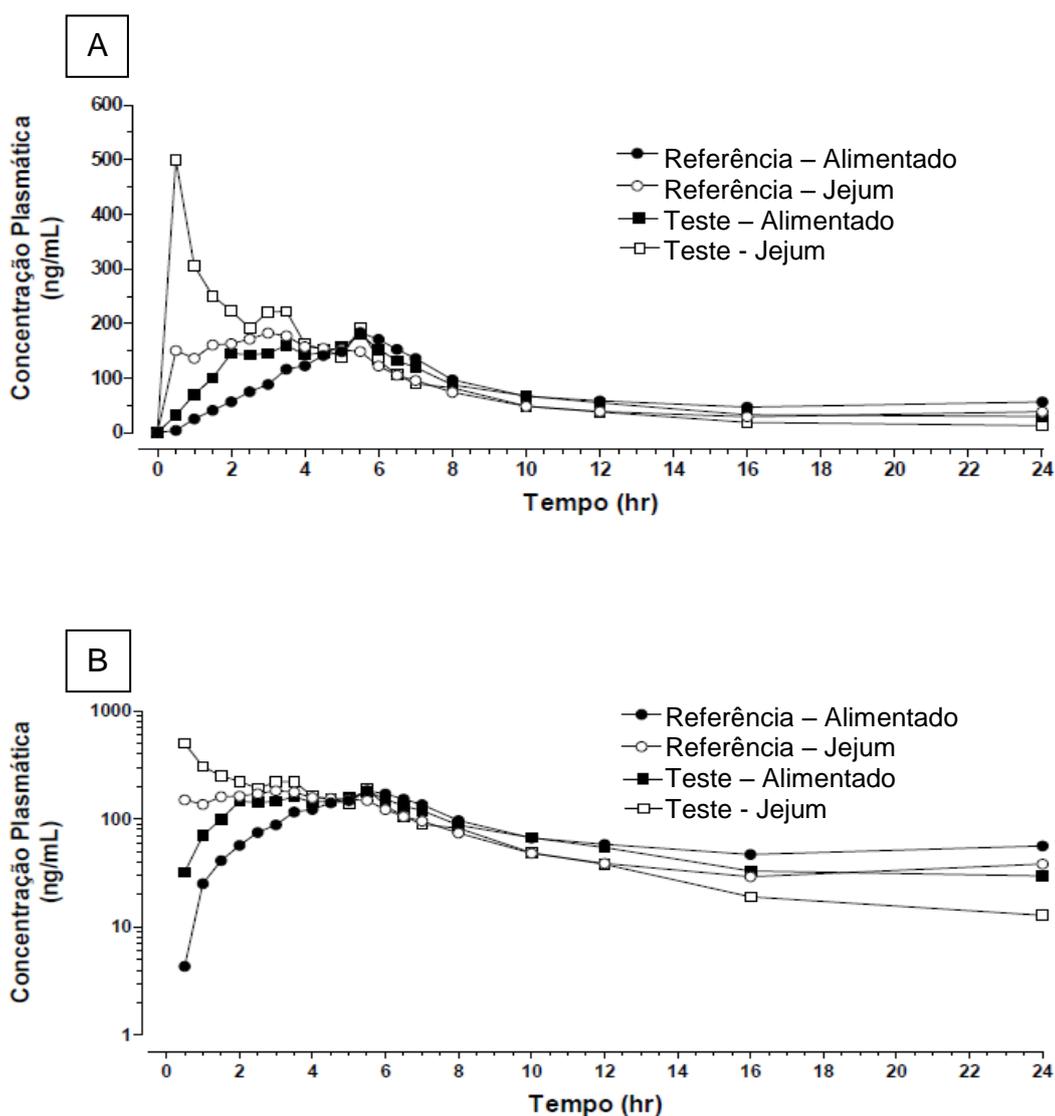
A tabela 07 mostra a média dos níveis desses exames, comparando-os pré e pós-estudo, servindo como parâmetro de validação da segurança de um teste com voluntários sadios. Vale ressaltar que o voluntário 13 não compareceu a consulta pós-estudo.

**Tabela 07: Parâmetros laboratoriais dos voluntários submetidos ao estudo. Média dos resultados laboratoriais e variação entre o mínimo e máximo. Avaliação pré e pós-estudo**

Exames	Pré-Estudo		Pós-Estudo	
	Média	Variação	Média	Variação
Hemoglobina (g/dL) <i>VR*: 0,6 – 1,2</i>	14,08	11,7 – 16,7	13,1	10,8 – 16,6
Leucócitos (u/L) <i>VR*: 3500 – 10500</i>	6600	4500 – 11500	6400	4900 -10700
Plaquetas (u/L) <i>VR*: 150 – 450 . 10<sup>3</sup></i>	253000	154000 - 390000	272000	175000 – 440000
Bilirrubina total (mg/dL) <i>VR*: 0,1 – 1,2</i>	0,63	0,34 – 1,08	0,57	0,3 – 1,03
TGO (U/L) <i>VR*: 17 – 59</i>	20,75	10 – 34	21,6	12 – 38
TGP (U/L) <i>VR*: 21 – 53</i>	21,5	09 – 43	24	8 – 74
Fosfatase Alcalina (U/L) <i>VR*: 38 – 126</i>	58,6	38 – 82	54,5	35 – 79
Ureia (mg/dL) <i>VR*: 21 – 53</i>	24,5	14 – 30	24,9	12 – 41
Creatinina (mg/dL) <i>VR*: 0,6 – 1,2</i>	0,78	0,52 – 1,08	0,74	0,51 – 1,03
Albumina (g/dL) <i>VR*: 3,5 – 5,0</i>	4,37	3,8 – 5,2	4,37	3,9 – 5,0
Ácido Úrico (mg/dL) <i>VR*: 4,0 – 8,4</i>	4,81	3,2 – 7,1	4,89	2,5 – 8,3
Glicose (mg/dL) <i>VR*: 70 – 99</i>	84,8	77 – 95	85,8	75 – 97

A figura 06 apresenta as concentrações plasmáticas das formulações teste e referência em 36 indivíduos nas condições de jejum e alimentação, mostrando um pico plasmático máximo da formulação teste atingido em um menor

tempo, tanto em jejum como em alimentação. Contudo, apresentou uma queda mais abrupta, em contraste com a formulação referência, que embora não tenha atingido a concentração plasmática máxima em um menor tempo, manteve-se em níveis mais constantes. Observa-se também uma discrepância entre os picos de concentração plasmática da formulação teste ao comparar jejum e alimentado, com comportamento aberrante da fórmula na condição de jejum, mostrando que houve problema de formulação referente a sua dissolução.



**Figura 04- Concentração plasmática X tempo entre a formulação teste diclofenaco 100 mg- cápsulas de liberação prolongada e a fórmula de referência Diclofenaco 100 mg- cápsulas de liberação prolongada em condição de jejum (n=36). Figura 04A – escala linear. Figura 04B – escala logarítmica.**

A tabela 08 e 09 apresenta a comparação entre os parâmetros farmacocinéticos  $ASC_{inf}$ ,  $ASC_{tudo}$ ,  $ASC_{último}$ ,  $ASC_{\%}$  extrapolada,  $C_{max}$ ,  $C_{última}$ ,  $K_e$ ,  $T_{1/2}$ ,  $T_{max}$ ,  $T_{último}$  entre o fármaco teste diclofenaco 100 mg - cápsulas de liberação prolongada e o fármaco de referencia Diclofenaco 100 mg- cápsulas de liberação prolongada em condição de jejum e pós alimentação, respectivamente. Ao observar o parâmetro  $ASC_{inf}$  (área sob a curva), a qual representa a quantidade de fármaco que penetra na circulação sanguínea e expressa pela fórmula matemática do produto da concentração pelo tempo que quando em jejum a  $ASC_{inf}$  foi equivalente entre o fármaco teste e o fármaco de referência. Entretanto, na presença de alimentos, os fármacos não foram equivalentes, com intervalo de confiança fora do intervalo de 80-125%, indicando que os fármacos não são bioequivalentes para a extensão da absorção.

A concentração máxima, que indica velocidade de absorção do fármaco não foi bioequivalente entre a formulação teste e a formulação referência, estando fora do intervalo de confiança de 80-125%. Ao observar os valores do pico de concentração plasmática do fármaco, evidencia-se níveis séricos maiores para formulação teste, mostrando que este dissolve mais rápido que a formulação de referência.

A concentração medida no tempo de 24 horas, tanto do fármaco teste como do fármaco de referência foram maiores após a ingesta alimentar, quando comparados a condição de jejum respectivamente. Visto que são cápsulas de liberação prolongada, a administração concomitante a alimentos causa retardo da absorção do fármaco e reduz efeito de metabolismo de primeira passagem, causando uma maior disponibilidade do fármaco por um tempo maior.

**Tabela 08: Parâmetros Farmacocinéticos e comparação estatística entre a formulação teste diclofenaco 100 mg- cápsulas de liberação prolongada e a formulação de referencia Diclofenaco 100 mg- cápsulas de liberação prolongada em condição de jejum (n=36)**

Parâmetro	Média (DP)		Média geométrica da razão T/R (IC 90%)	P(0,080000<r<1,25000)
	Formulação teste	Formulação Referência		
ASC <sub>inf</sub> (ng.h/mL)	2269,6 (788,3)	2382,4(885,7)	89,44-104,38	0,9999
ASC <sub>tudo</sub> (ng.h/mL)	1971,4(591,3)	1720,6(508,4)		
ASC <sub>ultimo</sub> (ng.h/mL)	1924,7(603,4)	1712,2(507,7)	105,88-119,32	0,9975
ASC_% extrapolada	13,1 (13,6)	25,1(14,3)		
C <sub>max</sub> (ng/mL)	639,4(285,5)	311,7(189,9)	180,93-239,44	0,0000
C <sub>ultimo</sub> (ng/mL)	29,3 (8,8)	41,9(21,3)		
Ke	0,2(0,1)	0,1(0,1)		
T <sub>½</sub> (h)	7,3(9,3)	10,7(8,8)		
T <sub>Max</sub> (h)	1,8(2,0)	3,4(2,0)		
T <sub>ultimo</sub> (h)	17,7(5,4)	22,4(4,2)		

**Tabela 09: Parâmetros Farmacocinéticos e comparação estatística entre a formulação teste diclofenaco 100 mg- cápsulas de liberação prolongada- e a formulação de referencia Diclofenaco 100 mg- cápsulas de liberação prolongada- em condição de alimentação (n=36)**

Parâmetro	Média (DP)		Média geométrica da razão T/R (IC 90%)	P(0,080000<r<1,25000)
	Formulação teste	Formulação Referência		
ASC <sub>inf</sub> (ng,h/mL)	2416,3 (1124,7)	3374 (2309,7)	64.52 - 91.98	0.3603
ASC <sub>tudo</sub> (ng,h/mL)	1690,6 (578,3)	1726,4 (601,3)		
ASC <sub>ultimo</sub> (ng,h/mL)	1658 (593,3)	1716,5 (601,5)	88.29 - 107.28	0.9991
ASC_% extrapolada	25,8 (20,2)	39 (20,2)		
C <sub>max</sub> (ng/mL)	293,6 (176,8)	240 (104,6)	103.09 - 136.63	0.7313
C <sub>ultimo</sub> (ng/mL)	41,6 (21,3)	59,5 (24,2)		
Ke	0,1 (0,1)	0,1 (0,1)		
T <sub>½</sub> (h)	10,4 (10,3)	16 (15)		
T <sub>Max</sub> (h)	4,3 (2,3)	5,2 (1,3)		
T <sub>ultimo</sub> (h)	19,9 (5,3)	23,4 (2,7)		

A tabela 10 apresenta os parâmetros farmacocinéticos da formulação teste diclofenaco 100 mg em condição de jejum, com respectivos valores mínimos e máximos atingidos, mediana e o coeficiente de variação em porcentual, o qual representa a variabilidade dos parâmetros entre indivíduos.

Ressalta-se que para todos os parâmetros representativos de bioequivalência a variação inter-indivíduos foi maior do que 30%.

**Tabela 10: Parâmetros Farmacocinéticos da formulação teste diclofenaco 100 mg - cápsulas de liberação prolongada- em condição de jejum (n=36)**

Parâmetro	Mediana	Valor mínimo	Valor máximo	CV(%)
ASC <sub>inf</sub> (ng.h/mL)	2161,9	942,9	4813,1	34,7
ASC <sub>tudo</sub> (ng.h/mL)	1904,9	901,8	3120,8	30,0
ASC <sub>último</sub> (ng.h/mL)	1820,1	866,3	3120,8	31,4
ASC_% extrapolada	9,1	3,7	67,4	103,7
C <sub>max</sub> (ng/mL)	644,0	76,7	1540,0	44,7
C <sub>último</sub> (ng/mL)	26,2	20,0	56,8	30,1
Ke	0,1	0,0	0,5	58,9
T <sub>½</sub> (h)	5,1	1,5	53,9	128,0
T <sub>Max</sub> (h)	0,5	0,5	8,0	110,3
T <sub>último</sub> (h)	16,0	8,0	24,0	30,8

A tabela 11 apresenta os parâmetros farmacocinéticos da formulação referência em condição de jejum, com respectivos valores mínimos e máximos atingidos, mediana e o coeficiente de variação em porcentual, o qual representa a variabilidade dos parâmetros entre indivíduos. Ressalta-se que na condição de jejum, para todos os parâmetros representativos de bioequivalência ASC<sub>tudo</sub> e ASC<sub>último</sub>, que representam a extensão da absorção do fármaco, a variação inter-indivíduos foi menor que 30% enquanto a ASC<sub>inf</sub> e C<sub>max</sub> tiveram valores maiores que 30%.

**Tabela 11: Parâmetros Farmacocinéticos da formulação referência diclofenaco 100 mg- cápsulas de liberação prolongada — em condição de jejum (n=36)**

Parâmetro	Mediana	Valor mínimo	Valor máximo	CV(%)
ASC <sub>inf</sub> (ng.h/mL)	2118,4	644,9	4365,0	37,2
ASC <sub>tudo</sub> (ng.h/mL)	1716,1	555,1	2781,3	29,5
ASC <sub>ultimo</sub> (ng.h/mL)	1716,1	528,0	2781,3	29,7
ASC_% extrapolada	22,0	4,2	57,6	56,8
C <sub>max</sub> (ng/mL)	275,5	99,4	1100,0	60,9
C <sub>ultimo</sub> (ng/mL)	34,9	20,4	102,0	50,7
Ke	0,1	0,0	0,5	80,4
T <sub>½</sub> (h)	10,7	1,4	43,4	81,8
T <sub>Max</sub> (h)	3,4	0,5	8,0	58,3
T <sub>ultimo</sub> (h)	22,4	8,0	24,0	19,0

A tabela 12 apresenta os parâmetros farmacocinéticos da formulação teste diclofenaco 100 mg em condição de alimentação, com respectivos valores mínimos e máximos atingidos, mediana e o coeficiente de variação em porcentual, o qual representa a variabilidade dos parâmetros entre indivíduos. Ressalta-se que para todos os parâmetros representativos de bioequivalência a variação inter-indivíduos foi maior do que 30%, semelhante à condição de jejum.

**Tabela 12: Parâmetros Farmacocinéticos da formulação teste diclofenaco 100 mg- cápsulas de liberação prolongada- em condição de alimentação (n=36)**

Parâmetro	Mediana	Valor mínimo	Valor máximo	CV(%)
ASC <sub>inf</sub> (ng.h/mL)	2073,3	1018,7	5285,0	46,5
ASC <sub>tudo</sub> (ng.h/mL)	1525,5	775,8	3055,4	34,2
ASC <sub>ultimo</sub> (ng.h/mL)	1525,5	775,8	3055,4	36,0
ASC_% extrapolada	16,2	5,4	84,7	81,5
C <sub>max</sub> (ng/mL)	245,0	95,6	1070,0	60,2
C <sub>ultimo</sub> (ng/mL)	36,1	21,6	112,0	51,4
Ke	0,1	0,0	0,3	69,2
T <sub>½</sub> (h)	6,6	2,1	54,4	99,1
T <sub>Max</sub> (h)	5,0	0,5	10,0	54,2
T <sub>ultimo</sub> (h)	24,0	10,0	24,0	26,7

A tabela 13 apresenta os parâmetros farmacocinéticos da formulação referência em condição de alimentação, com respectivos valores mínimos e máximos atingidos, mediana e o coeficiente de variação em porcentual, o qual representa a variabilidade dos parâmetros entre indivíduos.

Ressalta-se que na condição de alimentação, para todos os parâmetros representativos de bioequivalência, a variação inter-indivíduos foi maior que 30%.

**Tabela 13: Parâmetros Farmacocinéticos da formulação referência diclofenaco 100 mg- cápsulas de liberação prolongada- em condição de alimentação (n=36)**

Parâmetro	Mediana	Valor mínimo	Valor máximo	CV(%)
ASC <sub>inf</sub> (ng.h/mL)	2668,8	933,3	11523,9	69,0
ASC <sub>tudo</sub> (ng.h/mL)	1685,0	568,7	2880,6	34,8
ASC <sub>ultimo</sub> (ng.h/mL)	1643,3	568,7	2880,6	35,0
ASC_% extrapolada	35,4	8,1	89,3	51,8
C <sub>max</sub> (ng/mL)	229,0	78,7	464,0	43,6
C <sub>ultimo</sub> (ng/mL)	53,7	23,6	110,0	40,6
Ke	0,1	0,0	0,3	80,7
T <sub>½</sub> (h)	11,3	2,0	74,7	93,5
T <sub>Max</sub> (h)	5,5	2,5	8,0	25,2
T <sub>ultimo</sub> (h)	24,0	10,0	24,0	11,3

A meia vida do fármaco estudado foi maior que a relatada na literatura, em ambas as condições testadas (jejum e pós-alimentação), sendo que após alimentação, há um aparente retardo na absorção do fármaco (média de 11,3 horas de meia-vida para formulação de referência). A análise por cromatografia líquida de alta eficiência apresenta maior sensibilidade na detecção de menores quantidades do fármaco, o que pode influenciar no aumento da meia-vida do fármaco.

Para análise de dados e observação de variações biológicas, foram comparados a partir da média e do desvio padrão dos parâmetros farmacocinéticos os voluntários em grupos por sexo. As tabelas 14 e 15 demonstra os valores obtidos da média (desvio padrão) dos parâmetros farmacocinéticos entre os voluntários do sexo masculino e sexo feminino para o uso da formulação teste e referência, nas condições de jejum e alimentados. Nota-se que em jejum, os sujeitos do sexo feminino apresentam maiores picos de concentração máxima e da área sobre a curva, o que não se repete sob condição de alimentação, onde os parâmetros

farmacocinéticos entre homens e mulheres se comportam da mesma forma. Foi aplicado o teste "t" de Student com nível de significância de 5%, para avaliação das médias entre as formulações teste e referência para o gênero. Há diferença apenas para a formulação teste em voluntários em jejum. Com esse comportamento, não há diferença de absorção referente ao gênero.

**Tabela 14: Comparação das médias e dos desvios padrões dos principais parâmetros farmacocinéticos entre as formulações teste e referência na condição de jejum em relação ao sexo (n= 18)**

Parâmetro	Média (DP)		T(alfa/2)* α: 5% -2,03<t<2,03	Média (DP)		T(alfa/2)* α: 5% -2,03<t<2,03
	Formulação Teste			Formulação Referência		
	Homens	Mulheres		Homens	Mulheres	
ASC <sub>inf</sub> (ng.h/mL)	1904,3 (490,4)	2634,8 (869,6)	3,10	2073,7 (742,6)	2691 (928,3)	2,20
ASC <sub>tudo</sub> (ng.h/mL)	1731,1 (481,4)	2211,6 (604,9)		1364,4 (414)	1976,8 (470,9)	
ASC <sub>ultimo</sub> (ng.h/mL)	1672 (478,5)	2177 (621)		1458,4 (413,6)	1965,9 (472,4)	
ASC_% extrapolada	12,0 (10,9)	14,1 (16)		27,3 (12,8)	22,9 (15,6)	
C <sub>max</sub> (ng/mL)	590 (260,8)	688,8 (307,6)	1,04	282,9 (227,4)	341,3 (143,9)	0,93
C <sub>ultimo</sub> (ng/mL)	27,5 (7,2)	31,1 (10,1)		36,4 (11,7)	47,5 (27)	
Ke	0,1 (0,1)	0,1 (0,1)		0,1 (0,1)	0,1 (0,1)	
T <sub>½</sub> (h)	5,4 (3,6)	9,1 (12,6)		11,3 (7,8)	10,2 (9,9)	
T <sub>Max</sub> (h)	1,6 (2,1)	2 (2)		3,2 (1,9)	3,6 (2,1)	
T <sub>ultimo</sub> (h)	16 (4,7)	19,3 (5,7)		22,7 (4,1)	22,1 (4,5)	

\*Teste "t" de Student, calculado com nível de significância α=5% (-2,03 < T < 2,03) para comparação de médias.

**Tabela 15: Comparação das médias e dos desvios padrões dos principais parâmetros farmacocinéticos entre as formulações teste e referência na condição de alimentação em relação ao sexo (n= 18)**

Parâmetro	Média (DP)		T(alfa/2)*	Média (DP)		T(alfa/2)*
	Formulação Teste			Formulação Referência		
	Homens	Mulheres		Homens	Mulheres	
ASC <sub>inf</sub> (ng.h/mL)	2414,9 (1204,9)	2418,5 (1073,4)	0,01	3357,1 (2249,6)	3336,9 (2433,6)	-0,02
ASC <sub>tudo</sub> (ng.h/mL)	1564,3 (539,5)	1816,93 (603,1)		1657,5 (673,6)	1795,3 (572,6)	
ASC <sub>ultimo</sub> (ng.h/mL)	1534,2 (552,5)	1781,8 (628,1)		1639,6 (637,6)	1793,4 (575,8)	
ASC_% extrapolada	27,4 (22,8)	22,3 (17,6)		44,23 (18,13)	33,8 (21,3)	
C <sub>max</sub> (ng/mL)	270,2 (40,7)	317,1 (217,3)	0,79	213,7 (110,7)	266,4 (94,5)	1,54
C <sub>ultimo</sub> (ng/mL)	40,7 (17,1)	42,4 (25,3)		59,4 (20,7)	59,6 (27,8)	
Ke	0,1 (0,1)	0,1 (0,1)		0,0 (0,0)	0,1 (0,1)	
T <sub>½</sub> (h)	12,2 13,28	8,5 (5,8)		18,1 (15,4)	14 (14,7)	
T <sub>Max</sub> (h)	3,7 (2,0)	4,8 (2,5)		5,1 (1,3)	5,3 (1,4)	
T <sub>ultimo</sub> (h)	19 (5,9)	20,9 (4,7)		23,7 (1,9)	23,2 (3,3)	

\*Teste "t" de Student, calculado com nível de significância  $\alpha=5\%$  ( $-2,03 < T < 2,03$ ) para comparação de médias.

Ainda buscando diferenças biológicas entre os participantes do estudo, comparou-se a média (desvio padrão) dos parâmetros farmacocinéticos entre grupos com faixas diferentes de IMC (índice de massa corpórea). Foi categorizado em voluntários com IMC entre 18 a 24,44 (considerado normal) e voluntários com IMC entre 25 a 29,99 (considerado acima do peso). Foi realizada a análise tanto em jejum como pós-alimentado, podendo ser visto nas tabelas 16 e 17. Ao analisar os parâmetros farmacocinéticos obtidos nesses grupos, observa-se um comportamento diferente entre aqueles com IMC normal e IMC acima do peso. A área sobre a curva e a concentração máxima encontram-se maiores tanto na formulação teste como na referência nos voluntários com IMC normal, apesar de que o desvio padrão desses resultados também são elevados, demonstrando uma variabilidade da amostra. Foi aplicado o teste "t" de Student com nível de significância de 5%, para avaliação das

médias entre as formulações teste e referência para o peso. Há diferença significativa para velocidade de absorção na formulação teste, não havendo para extensão de absorção. Não há diferença para formulação de referência. Como há comportamento distinto entre as formulações teste e referência, não há diferença de absorção relacionada a variável relacionada a peso.

**Tabela 16: Comparação das médias e desvios padrões dos principais parâmetros farmacocinéticos entre as formulações teste e referência na condição de jejum em relação ao IMC (Índice de Massa Corpórea)**

Parâmetro	Média (DP)		T(alfa/2)*	Média (DP)		T(alfa/2)*
	Formulação Teste			Formulação Referência		
	IMC 18 a 25 n: 20	IMC 25 a 30 n: 16		IMC 18 a 25 n: 20	IMC 25 a 30 n: 16	
ASC <sub>inf</sub> (ng.h/mL)	2335,7 (487,4)	2187 (999,8)	-0,55	2567,8 (835,8)	2150,6 (917,7)	-1,42
ASC <sub>tudo</sub> (ng.h/mL)	2153,6 (593,4)	1743,8 (519,8)		1905,6 (471,8)	1489,3 (468,9)	
ASC <sub>ultimo</sub> (ng.h/mL)	2112,8 (604)	1698,5 (530,1)		1898 (475,9)	1479,9 (459,9)	
ASC_% extrapolada	9,9 (10,3)	17 (16,3)		23,7 (13,9)	26,8 (15,6)	
C <sub>max</sub> (ng/mL)	783,7 (285,9)	459,1 (155,8)	-4,08	344,1 (205,4)	271,2 (166,1)	-1,15
C <sub>ultimo</sub> (ng/mL)	26,8 (6,7)	32,4 (10,3)		47,6 (25,5)	34,8 (11,4)	
Ke	0,1 (0,1)	0,1 (0,1)		0,1 (0,0)	0,1 (0,1)	
T <sub>1/2</sub> (h)	5,4 (3,1)	9,5 (13,4)		9,9 (4,7)	12,8 (12)	
T <sub>Max</sub> (h)	1,4 (2,9)	2,4 (1,9)		3,2 (2,0)	3,7 (2,0)	
T <sub>ultimo</sub> (h)	18,4 (5,4)	16,7 (5,5)		23 (3,1)	21,6 (5,3)	

\*Teste T de Student, calculado com nível de significância  $\alpha=5\%$  ( $-2,03 < T < 2,03$ ) para comparação de médias.

**Tabela 17: Comparação das médias e dos desvios padrões dos principais parâmetros farmacocinéticos entre as formulações teste e referência na condição de alimentação em relação ao IMC (Índice de Massa Corpórea)**

Parâmetro	Média (DP)		T(alfa/2)*	Média (DP)		T(alfa/2)*
	Formulação Teste			Formulação Referência		
	IMC 18 a 25 n: 20	IMC 25 a 30 n: 16		IMC 18 a 25 n: 20	IMC 25 a 30 n: 16	
ASC <sub>inf</sub> (ng.h/mL)	2536,2 (1097,9)	2266,5 (1175,3)	-0,70	3991,7 (2841,9)	2541,1 (987,8)	-1,94
ASC <sub>tudo</sub> (ng.h/mL)	1967,8 (598,5)	1344,1 (310,2)		1926,36 (619,8)	1476,5 (488)	
ASC <sub>ultimo</sub> (ng.h/mL)	1943,6 (614,2)	1301,1 (327,6)		1910,3 (622,4)	1474,4 (490,8)	
ASC_% extrapolada	18,6 (16,2)	32,6 (22,5)		39,4 (22,4)	38,5 (17,8)	
C <sub>max</sub> (ng/mL)	361,9 (201,6)	208,2 (86,3)	-2,84	268 (112,1)	205,1 (85,3)	-1,85
C <sub>ultimo</sub> (ng/mL)	39,7 (23,7)	43,8 (18,5)		64,8 (27,2)	52,8 (18,4)	
Ke	0,1 (0,1)	0,1 (0,1)		0,1 (0,0)	0,1 (0,1)	
T <sub>½</sub> (h)	7,9 (5,6)	13,4 (13,7)		18,1 (18,9)	13,4 (7,7)	
T <sub>Max</sub> (h)	4,3 (2,5)	4,2 (2,1)		5,3 (1,2)	5,1 (1,4)	
T <sub>ultimo</sub> (h)	20,9 (5,0)	18,7 (5,6)		23,6 (1,8)	23,1 (3,5)	

\*Teste T de Student, calculado com nível de significância  $\alpha=5\%$  ( $-2,03 < T < 2,03$ ) para comparação de médias.

A tabela 18 descreve os eventos adversos que ocorreram durante o estudo, o tipo, a intensidade, a duração e a medida adotada. Observa-se que apenas 01 dos eventos registrados foi relacionado diretamente ao uso do fármaco.

Tabela 18: Eventos Adversos ocorridos durante estudo

Voluntário	Queixa / Diagnóstico	Intensidade	Atribuição ao fármaco	Duração	Ação Adotada / uso Medicação
07-TM060985	Cólica Abdominal	Leve	Não relacionada	15 min	Observação
07-TM060985	Diarreia	Leve	Não relacionada	50 min	Observação
08-TM060985	Elevação de TGP	Leve	Relacionada	20 dias	Observação
20-CG270284	Anemia	Leve	Não relacionada	90 dias	Sulfato ferroso, VO, 01 cp ao dia
23-SM280292	Ardor na garganta	Leve	Não relacionada	5h	Observação
	Obstrução Nasal	Leve	Não relacionada	5h	Observação
24-AC1470981	Anemia	Leve	Não relacionada	120 dias	Sulfato ferroso, VO, 01 cp ao dia
25-LM070592	Anemia	Leve	Não relacionada	90 dias	Sulfato ferroso, VO, 01 cp ao dia
28-DF090388	Nitrito positivo e intensa bacteriúria no Sumário de Urina	Leve	Não relacionada	98 dias	Observação
36-IA300970	Anemia	Leve	Não relacionada	70 dias	Sulfato ferroso, VO, 01 cp ao dia

**DISCUSSÃO**

## 5 Discussão

Os resultados do nosso estudo apontaram em relação à  $ASC_{inf}$  (área sob a curva), a qual representa a quantidade de fármaco que penetra na circulação sanguínea e expressa pela fórmula matemática do produto da concentração pelo tempo que quando em jejum a  $ASC_{inf}$  foi equivalente entre o fármaco teste e o fármaco de referência. Entretanto, na condição de alimentação os fármacos não foram equivalentes, com intervalo de confiança fora do intervalo de 80-125%, indicando que os fármacos não são bioequivalentes para a extensão da absorção.

Em estudo de LISSY *et al.* (2009), a análise da bioequivalência de formulações orais de diclofenaco de rápida dispersão em indivíduos saudáveis atingiu os valores de ASC de 577 e 585 ng-h/mL; valores bem inferiores aos encontrados no presente estudo, tendo em vista que no nosso estudo trabalhou-se com formulações de liberação prolongada, as quais tem o objetivo de retardar a absorção, mantendo níveis séricos mais duradouros do fármaco e prolongamento do seu efeito anti-inflamatório.

A absorção de um fármaco como o diclofenaco, de administração oral, depende de uma combinação de processos complexos, que incluem os processos de desintegração, dissolução, degradação, esvaziamento gástrico, trânsito intestinal, permeabilidade intestinal e transporte, metabolismo intestinal e metabolismo hepático. O mecanismo de absorção é regulado por propriedades físico-químicas do fármaco, solubilidade em diferentes valores de pH e outras condições existentes no trato gastrointestinal (HENIN *et al.* 2012). O diclofenaco tem 100% de absorção após administração oral (comparando com a administração venosa). Apenas 60% do fármaco atinge circulação sistêmica, devido o metabolismo de primeira passagem (CHUASUAWAN *et al.*, 2008). Segundo GILMAN (2012), o diclofenaco tem rápida absorção a depender do meio (maior solubilidade em meios não ácidos), com ampla ligação a proteínas plasmáticas (99%).

O tempo de meia vida do diclofenaco foi maior para os dois fármacos, tanto para o fármaco teste como referência, quando os indivíduos estavam alimentados (contrastando com dados da literatura vigente – média de duas horas,

chegando até cinco horas em formulações de liberação prolongada), indicando o retardo na absorção do fármaco quando oferecida junto com alimentos. É importante ressaltar que o tempo de meia-vida dos fármacos testados sofre alteração devido ao método de análise; quando mais sensível o método (como o caso da CLAE-EM/EM), maior será a meia-vida (pois apresenta um limite de quantificação muito pequeno, mesmo com o passar do tempo do fármaco) (Silva, 1999).

A concentração plasmática máxima foi atingida em maior quantidade pela formulação teste (639,4 ng/mL), e num tempo mais rápido (1,8h versus 3,4h) na condição de jejum e na condição sob alimentação (4,3h versus 5,2h), entretanto a queda dos níveis séricos foi mais abrupta na formulação teste do que na formulação de referência, indicando que apesar da formulação de referência ter tido uma menor concentração máxima, obteve o maior valor de concentração no último tempo de mensuração (41,9 ng/dL), conseqüentemente, maior estabilidade do nível sérico do fármaco ativo.

Ao observar o pico de concentração plasmática de forma quantitativa entre as formulações, vê-se uma discrepância entre os níveis de  $C_{max}$  entre as fórmulas teste e referência, como também entre o estado de jejum e o a condição de pós-alimentado da formulação teste, o que pode ser indicativo de alteração da formulação, havendo problema na dissolução do fármaco. Esse fato pode levar a diminuição da eficácia do medicamento, visto que, quanto mais rápida é a dissolução, menor será o tempo de concentração do mesmo e o pico mais elevado da concentração plasmática pode levar a aumento dos efeitos adversos do fármaco.

GARCIA *et al.* (2012), realizou uma metanálise onde avaliou estudos de bioequivalência em fármacos de liberação prolongada que ocorreram na Espanha de 2000 a 2011 que não foram bioequivalentes (teste *versus* referência). Uma das observações realizadas foi que mesmo que a variabilidade em alguns dos parâmetros farmacocinéticos de não-bioequivalência fosse elevada, a razão da falha não foi devido à variabilidade, mas sim as diferenças entre as formulações, uma vez que, em quase todos os casos as diferenças estatisticamente significativas com IC de 90% estavam fora da variação preconizada (80 a 125%).

A concentração medida no tempo de 24 horas, tanto da fórmula teste como da fórmula de referência foram maiores na condição sob alimentação. A administração de fármacos após ingesta alimentar, diminui o efeito do metabolismo de primeira passagem (metabolismo intestinal e hepático) (NAVARRO, 2010). Essa redução leva o aumento da biodisponibilidade do fármaco, o que justifica uma concentração sérica maior do fármaco no último tempo de mensuração. Tal fator indica que a administração junto a alimentos, pode prolongar o efeito desejado do fármaco, além de reduzir o desconforto gástrico (efeito colateral mais relatado pelos usuários em geral).

Os parâmetros de bioequivalência observados para a formulação teste e a formulação de referência, com respectivos valores dos CV (%) demonstram que tendo em vista a variabilidade intrasujeitos (% CV) foi de 30% ou mais, tanto na condição de jejum (tabelas 09 e 10) como de alimentação (tabelas 11 e 12). Devido a esta alta variabilidade, os estudos destinados a mostrar se os fármacos altamente variáveis genéricas são bioequivalentes aos seus respectivos medicamentos de referência pode precisar registrar um grande número de indivíduos (DAVIT *et al.* 2012).

BRUNNER *et al.* (2009), comparou a bioequivalência entre formulações tópicas e orais do diclofenaco e ressalta as diferenças inter-individuais entre os voluntários saudáveis estudados, e que os mesmos tem dificuldades em ser padronizados, devido as variações biológicas individuais, tal como as barreiras naturais da pele humana, as diferenças de metabolismo o fluxo sanguíneo sistêmico e local, grau de hidratação, temperatura. Esse contexto não torna o fármaco intercambiável; sendo assim, é necessário aumentar o número de sujeitos em um estudo de bioequivalência e o grupo formado seja o mais homogêneo possível.

Foram comparadas neste estudo algumas variáveis biológicas (sexo, índice de massa corpórea) nos voluntários aptos a participar do estudo. Quando comparamos a variável relacionada a gênero, observa-se uma maior área sobre a curva e pico de concentração plasmática em ambas as formulações no sexo feminino, na condição de jejum, o que não ocorre no estado de pós-alimentação, demonstrando que não há diferença de absorção quando se compara o sexo. Já a avaliação dos parâmetros farmacocinéticos relacionados ao índice de massa

corpórea, houve um maior pico de concentração plasmática e maior área sobre a curva, tanto em jejum como pós-alimentação, naqueles que tem o IMC entre 19 a 25 (considerado como normal). Apesar desse dado indicar que pode haver alteração de biodisponibilidade relacionado ao peso, apenas a formulação teste mostrou diferença significativamente estatística, atribuindo a problemas de formulação do diclofenaco teste. Segundo dados da literatura (UPTODATE, 2013; FDA, 1998) não há diferenças na extensão e velocidade da absorção do diclofenaco em detrimento as variáveis de gênero e peso.

O FDA conclui que um medicamento genérico (produto de teste) e o seu correspondente (produto de referência) são bioequivalentes se, nos estudos de bioequivalência, os intervalos de confiança de 90% das razões de ensaio / média de referência geométrica, se os parâmetros farmacocinéticos  $C_{max}$  e ASC estão dentro dos limites de bioequivalência de 80-125% (DAVIT *et al.* 2008).

Neste contexto, na avaliação de bioequivalência, fármacos altamente variáveis são geralmente definidos no contexto da variabilidade intrasujeito para os parâmetros de bioequivalência  $C_{max}$  e ASC. A definição mais frequentemente utilizada de um fármaco altamente variável é aquele que tem uma variabilidade intrasujeito de 30% ou mais, nestes dois parâmetros de bioequivalência, o que pode ser uma das explicações para não mostrar a intercambialidade entre os fármacos nesse estudo (DAVIT *et al.* 2008).

Dentre os fatores responsáveis pela alta variabilidade de alguns fármacos, tais como o diclofenaco, os autores relatam fatores relacionados ao trato gastrointestinal, trânsito intestinal, pH luminal, concentrações de bile e fosfolípidios e presença ou ausência de alimentação. A alta variabilidade dos parâmetros de bioequivalência pode ser devido à ocorrência de metabolismo extensivo, quer no interior do lúmen do trato gastrointestinal ou devido ao metabolismo hepático de primeira passagem (DAVIT *et al.* 2008).

O parâmetro da  $C_{max}$  para a formulação teste do diclofenaco não se enquadrou dentro do intervalo de confiança aceito pela ANVISA (2003), desta forma não foi atestada sua bioequivalência. Para atestá-la, 90% do IC devem se encontrar dentro da faixa de 80–125%. Dentro do Sistema de Classificação Biofarmacêutica

(SCB) o diclofenaco é um fármaco que tem baixa solubilidade e alta permeabilidade, com alta ligação proteica, podendo gerar problemas para suas formulações comprometendo sua biodisponibilidade.

A biodisponibilidade e o bioequivalência entre duas formulações, e a seleção das formulações, emergiram como temas críticos na medicina durante os últimos anos em nosso país. O interesse em baixar custos do cuidado de saúde resultou em um aumento substancial no uso de genéricos; atualmente aproximadamente mais da metade de todas as prescrições escritas é para os fármacos que podem ser substituídos com um produto genérico (MILLER e STROM, 1990).

Os estudos de bioequivalência são obrigatórios para as formulações genéricas desde sua criação em 1999 (ANVISA, 1999), também passaram a ser obrigatórios para as formulações de similares em 2003 (ANVISA, 2003), estima-se que até 2014 todos os fabricantes de medicamentos similares já terão atendidos aos critérios de adequação (STORPIRTIS, 2008), ou seja, tenham comprovação da biodisponibilidade relativa, através do estudo de bioequivalência. Com isso teremos disponíveis em médio prazo mais medicações de confiabilidade comprovada, evitando que uma medicação referência ou genérica sejam substituídas erroneamente por uma formulação que não seja considerada equivalente terapêutico.

A equivalência farmacêutica entre dois medicamentos relaciona-se à comprovação de que ambos contêm o mesmo fármaco (mesma base, sal ou éster da mesma molécula terapeuticamente ativa), na mesma dosagem e forma farmacêutica, o que pode ser avaliado por meio de testes *in vitro* (SHARGEL e YU, 1999; WHO, 1999). Portanto, pode ser considerada como um indicativo da bioequivalência entre os medicamentos em um estudo, entretanto não é o suficiente para garantir a bioequivalência.

A legislação brasileira, tendo como base a regulamentação técnica e a experiência de diversos países na área de medicamentos genéricos, estabelece que, para um medicamento ser registrado como genérico, é necessário que se comprove sua equivalência farmacêutica e bioequivalência (mesma

biodisponibilidade) em relação ao medicamento de referência indicado pela Anvisa (RDC no135, de 29 de maio de 2003). Tal fato, aliado ao cumprimento das Boas Práticas de Fabricação e Controle de Qualidade (BPFC), fornece as bases técnicas e científicas para a intercambialidade entre o genérico e seu medicamento de referência, uma vez que, nesse caso, ambos podem ser considerados equivalentes terapêuticos, ou seja, medicamentos que apresentam a mesma eficácia clínica e o mesmo potencial para gerar efeitos adversos (AMIDON *et al.*, 2011; BENET, 1999; MARZO, 1999; MEYER, 1999).

O medicamento de referência é, geralmente, o inovador cuja biodisponibilidade foi determinada, durante o desenvolvimento do produto, e que teve sua eficácia e segurança comprovada por meio de ensaios clínicos, antes da obtenção do registro para comercialização (STORPIRTIS, 1999). Para o medicamento genérico, o fabricante deve investir no desenvolvimento farmacotécnico de um produto que cumpra com as mesmas especificações *in vitro*, em relação ao medicamento de referência.

Segundo DIGHE (1999), a formulação e o processo de fabricação não necessitam ser idênticos, já que são utilizados diferentes equipamentos e há divergências entre os fornecedores de matérias-primas empregados. No entanto, essas diferenças não podem comprometer a bioequivalência entre os produtos. Nesse contexto, é fundamental ressaltar que diferenças em relação a características físicas e físico-químicas do fármaco e demais componentes da formulação, bem como nos processos de fabricação, podem gerar diferenças na biodisponibilidade que, no caso do genérico, podem comprometer a bioequivalência. Portanto, as preocupações em termos de biodisponibilidade, bioequivalência, recaem sobre medicamentos apresentados sob formas farmacêuticas para as quais existem muitos fatores que podem alterar a liberação, a dissolução e a absorção do fármaco no organismo (MARQUES *et al.*, 2002).

O incentivo pelo uso dos medicamentos genéricos, substituindo às formulações de referência, representa um impacto na redução de custos para o sistema de saúde de vários países que adotaram esta prática. Por exemplo, nos Estados Unidos, os medicamentos genéricos representaram em 1999, 47% de todas as receitas, resultando em uma economia de 77% do custo do produto dentro de 01

ano. Esta substituição de medicamentos referência por medicamentos genéricos implica na bioequivalência entre fármacos, o que implica que estes devem ser em termos de qualidade (ingrediente ativo, potência, pureza, uniformidade do conteúdo, taxas de desintegração e de dissolução) (SIMOENS, 2011).

Do ponto de vista econômico, fala-se de um bem substituto à altura dos concorrentes, tendo sua intercambialidade garantida pelos estudos de bioequivalência, com preços competitivos e que podem mudar o cenário atual de consumo da população brasileira, principalmente referindo-se aos menos favorecidos (RIBEIRO, 2000).

Desde a criação da lei dos genéricos, seu emprego pelos prescritores e pela população tem sido cada vez maior, gerando uma grande economia com gastos com medicamentos. Após 03 anos decorridos dos primeiros registros, observou-se que o preço dos genéricos era cerca de 40% menor em comparação aos medicamentos referência (HASENCLAVER, 2004). Atualmente a biodisponibilidade e a bioequivalência entre as formulações genéricas são vistos como temas mais comuns e a sua confiabilidade aumenta diretamente com o aumento de sua produção e consumo. Os AINEs são fármacos de tratamento sintomático não interferindo diretamente na evolução da doença, desta forma sua equivalência terapêutica não é tão crítica quanto os medicamentos de ação cardiovascular (FOSTER, 1991).

Em contraste com o grande avanço da qualidade e confiabilidade das formulações genéricas o controle sobre sua dispensação ainda é motivo de preocupação, pois em sua maioria podem ser facilmente adquiridos nas farmácias sem receituário, permitindo que a população leiga faça uso de AINEs sem ao menos ter passado por orientação de um profissional habilitado.

Com a disponibilidade e o uso crescentes de produtos genéricos, os profissionais de saúde são confrontados com uma disposição sempre maior dos genéricos produzidos por vários laboratórios nacionais e internacionais, tendo como principal tarefa a de selecionar aqueles que são terapeuticamente equivalentes. Este crescimento fenomenal da indústria farmacêutica dos genéricos e da abundância de produtos oriundos de diferentes laboratórios chamou a atenção para algumas

perguntas que muitos profissionais e cientistas de saúde têm a respeito da equivalência terapêutica destes produtos, particularmente daqueles em determinadas categorias terapêuticas, críticas tais como os genéricos como os de ação cardiovascular (MILLER e STROM, 1990).

Inerente aos guidelines nacionais e internacionais, atualmente aceitos, para a substituição de uma formulação inovadora, é a suposição de que o fármaco genérico seja considerado bioequivalente a formulação inovadora ou de marca, produzirá o mesmo efeito clínico. Tão direto como esta indicação a respeito da bioequivalência, parece ser que gerou a controvérsia de muitos entre os cientistas e profissionais no campo do cuidado a saúde. As numerosas publicações indicam que há um interesse de que os padrões atuais para a aprovação de fármacos genéricos não podem sempre assegurar a equivalência terapêutica (MEYER, 1985; LAMY, 1986; DETTELBAACH, 1986; SCHWARTZ, 1985; GOTTSCHALK, 1986; STROM, 1987).

Porém, a indicação do tipo de fármaco, posologia e tempo de tomada não está diretamente relacionada somente ao profundo conhecimento do profissional sobre sua farmacocinética e a sua relação de inibição da enzima Cox1/Cox2. Nos dias atuais uma das maiores preocupações com relação ao emprego dos AINEs está relacionada com a “segurança farmacológica” na qual se busca uma melhor ação farmacológica, com uma menor reação adversa.

O diclofenaco é um fármaco amplamente utilizado e com boa resposta terapêutica. Por ser um analgésico/anti-inflamatório eficaz, o uso do mesmo torna-se indiscriminado (uso sem prescrição médica). O genérico do diclofenaco o deixa mais acessível e com menor custo, porém não se pode garantir sua bioequivalência. É importante o uso com após refeições para redução de efeitos colaterais relacionados a ingesta.

Os AINEs têm sido associados à ocorrência de hepatotoxicidade idiossincrática em pacientes susceptíveis, entretanto, o mecanismo envolvendo sua toxicidade ainda não está totalmente elucidado. Os modelos experimentais sugerem que esses mecanismos estejam associados ao aumento da concentração do fármaco no compartimento hepatobiliar, formando metabolitos reativos que

modificam covalentemente as proteínas produzindo estresse oxidativo e injúria mitocondrial (XU, *et al.*, 2008, BOELSTERLI, 2002).

Os AINEs podem induzir insuficiência renal aguda (IRA) de duas diferentes maneiras: hemodinamicamente-mediada ou por nefrite intersticial (frequentemente acompanhada de síndrome nefrótica). Esses efeitos estão diretamente relacionados à redução da síntese de PGs induzida pelos AINEs (ROSE, 2007).

A toxicidade hematológica é uma complicação infrequente com o uso de AINEs, ocorrendo em menos de 1% dos pacientes. O principal problema hematológico relacionado ao uso de AINEs é sangramento, por alteração da hemostasia primária. Por isso, os AINEs devem ser evitados em pacientes com defeitos plaquetários prévios (secundários a uremia ou doença de von Willebrand) e naqueles com trombocitopenia (contagem < 50.000/ $\mu$ L). Há orientação relativa de suspender no período pré-operatório por um tempo equivalente a quatro a cinco vezes o tempo de meia-vida (PATRONO, 1994).

No processo de seleção, para considerar o voluntário apto ao estudo, foram avaliados parâmetros laboratoriais relacionados ao perfil hepático, renal e hematológico. Houve o cuidado de verificar esses parâmetros após a finalização do estudo, sendo que não tiveram alterações laboratoriais significativamente clínicas entre as médias dos resultados dos exames laboratoriais. Observa-se um reflexo das coletas de sangue ao comparar os níveis de hemoglobina, onde evidenciou queda de 1,0 g/dL entre as médias dos resultados pré e pós-estudo (14,08 a 13,1 g/dL). Tais valores não apresentam repercussão clínica e ainda se encontram dentro dos valores de normalidade preconizados pela Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. A exceção foram quatro voluntárias que o nível de hemoglobina foi abaixo ao recomendado (sendo as mesmas tratadas com reposição de ferro exógeno por via oral) e um voluntário de apresentou elevação do nível de TGP, este mantido em observação, com normalização do nível após 20 dias do estudo. Todos os participantes realizaram coleta de sorologias para hepatite B, C e HIV 1 e 2 (os voluntários consentiram a aferição desta sorologia), como proteção ao voluntário e aos examinadores que manipularam sangue desses indivíduos; todas as sorologias foram negativas, sendo um critério de exclusão a positividade de alguma delas.

Todas as mulheres participantes foram submetidas à dosagem de gonadotrofina coriônica (beta-HCG) para ter certeza do estado não-gestacional das mesmas. Apenas o voluntário 13 não foi possível essa checagem, pois o mesmo não compareceu a consulta pós-estudo.

Também se monitorizou possíveis eventos adversos relacionados ao fármaco testado. A formulação de diclofenaco foi bem tolerada pelos voluntários. As reações adversas observadas durante os quatro períodos de internação de cada turma foram consideradas não-relacionadas ao uso da medicação, exceto uma, onde o aumento da TGP (de 43 a 74U/L) encontrado no voluntário 08 foi relacionado ao uso do diclofenaco; como não teve repercussão clínica e houve normalização espontânea após 20 dias do término do estudo, sendo considerado um evento adverso leve. O evento com mais ocorrências foi a presença de anemia (queda da hemoglobina), evidente em 04 voluntárias (provavelmente relacionado a quantidade de coletas e menstruação, sem aumento do fluxo). Para este evento foi adotada como medida, a administração de sulfato ferroso.

**CONSIDERAÇÕES  
FINAIS**

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Retomando o objetivo principal do estudo, qual foi avaliar a bioequivalência entre uma formulação teste de diclofenaco sódico cápsulas de liberação prolongada de 100 mg, *versus* uma formulação de referência de diclofenaco sódico cápsulas de liberação prolongada de 100 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, em jejum e alimentados, serão tecidas algumas considerações.

Com base na análise estatística e considerando que o intervalo de confiança de 90% para a razão geométrica de  $C_{max}$  está fora do intervalo (80-125%) estabelecido pelas Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Food and Drug Administration Agency (FDA), conclui-se que a formulação teste não é bioequivalente a formulação de referência para velocidade de absorção.

Considerando que o intervalo de confiança de 90% para a razão geométrica de  $ASC_{último}$  está dentro do intervalo (80-125%) estabelecido pelas Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Food and Drug Administration Agency (FDA), conclui-se que a formulação teste é bioequivalente em relação a formulação de referência para extensão de absorção.

Considerando que o intervalo de confiança de 90% para a razão geométrica de  $ASC_{inf}$  está fora do intervalo (80-125%) estabelecido pelas Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Food and Drug Administration Agency (FDA), conclui-se que a formulação teste não é bioequivalente em relação a formulação de referência para extensão de absorção.

Considerando que o fármaco testado trata-se de uma forma de liberação prolongada e o mesmo apresenta um pico de concentração plasmática precoce e aberrante na formulação teste e em condição de jejum, quando comparado às outras linhas de tratamento, pode atribuir a problemas relacionados à formulação a não-bioequivalência entre os fármacos.

Considerando o uso amplamente aberto do diclofenaco, ressalta-se a importância em avaliar custo-eficiência versus custo-efetividade quando se orienta o uso de determinada formulação do mercado. A não equivalência terapêutica pode

comprometer o tratamento de um determinado sintoma, ou mesmo de uma doença, podendo levar ao descrédito o fármaco escolhido. É relevante observar que cada fármaco responde a um indivíduo de maneiras distintas, de acordo com as variações biológicas do mesmo, podendo ambas as formulações testadas serem eficazes, mesmo não sendo bioequivalentes.

Há uma dificuldade de padronização na realização de um estudo com voluntários saudáveis. Para tentar diminuir as discrepâncias decorrentes da variação biológica, buscar no recrutamento, voluntários com perfil fenotípico semelhante (faixas etárias pouco variantes; mesmo IMC; preferencialmente mesma etnia), visando tornar o mais homogêneo possível os dois grupos, que estão fazendo uso dos fármacos a serem testados.

Ressalta-se que um dos possíveis fatores implicados na não equivalência entre o fármaco de referência e o fármaco teste, poderá ser o fato do diclofenaco ser um fármaco altamente variável, com uma variabilidade intrasujeito de 30% ou mais, implicando na dificuldade de realização do estudo com um pequeno número de indivíduos, bem como em dificuldades operacionais para realizar um ensaio desta natureza.

Confirma-se deste modo, a importância dos ensaios clínicos de bioequivalência na atual conjuntura nacional de uso de medicamentos genéricos, de modo a testar as novas formulações com as correspondentes de referência, verificando a intercambialidade entre fármacos, visando garantir e maximizar a segurança por parte do prescritor e do usuário de tais formulações.

**CONCLUSÃO**

## 7 CONCLUSÃO

A formulação teste não foi bioequivalente com a formulação de referência para velocidade de absorção. Da mesma forma, para o parâmetro farmacocinético representativo da extensão da absorção o fármaco teste não foi bioequivalente ao fármaco de referência. Ressalta-se deste modo, a importância dos ensaios clínicos de bioequivalência, no intuito de testar as novas formulações com as de referência, verificando a intercambialidade entre fármacos, com a perspectiva de maximizar a segurança por parte do prescritor e do usuário de tais formulações.

**REFERÊNCIAS**

## REFERÊNCIAS

AMIDON, K.S.; LANGGUTH, P.; LENNERNÄS, H.; YU, L.; AMIDON, G.L. Bioequivalence of Oral Products and the Biopharmaceutics Classification System: Science, Regulation, and Public Policy. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**; v. 90(3). p. 467–470. 2011.

ARCELLONI, C.; LANZI, R.; PEDERCINI, S. High-performance liquid chromatographic determination of diclofenac in human plasma after solid-phase extraction. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**; v. 763, p.195–200. 2001.

BENTO, P.L.M.G. **Estudo de bioequivalência de três formulações de ácido ascórbico em voluntários sadios**. 105f. Dissertação {Mestrado}. Faculdade de Ciências Médicas. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 6 de 29 de janeiro de 1999**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 1999.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ Gerência-Geral de Inspeção e Controle de Medicamentos e Produtos. **Manual de boas práticas em biodisponibilidade: bioequivalência**. Brasília, 2002.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 133, de 29 de maio de 2003. Dispõe **sobre o registro de Medicamento Similar e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Brasília, 29 de maio. 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n.135, de 29 de maio de 2003. **Regulamento técnico para medicamentos genéricos**. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de junho. 2003a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE nº 897, de 29 de maio de 2003. **Guia para isenção e substituição de estudos de bioequivalência**. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de junho. 2003b.

BOELSTERLI, U.A. Mechanisms of NSAID-induced hepatotoxicity: focus on nimesulide. **Drug Safety**; v. 25(9); p. 633-648. 2002.

BRUNNER, M.; DAVIES, D.; MARTIN, W. et al. A new topical formulation enhances relative diclofenac bioavailability in healthy male subjects. **British Journal of Clinical Pharmacology**; v. 71(6), p. 852–859. 2011.

BUENO, M.B. **Implantação, evolução, aspectos técnicos e perspectivas da regulamentação técnica de biodisponibilidade relativa e bioequivalência de medicamentos genéricos e similares no Brasil**. 193f. {Dissertação de Mestrado}. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2005.

BUSSONE, G.; GRAZZI, L.; D'AMICO, D. Acute treatment of migraine attacks: efficacy and safety of a non-steroidal anti-inflammatory drug, diclofenac-potassium, in comparison to oral sumatriptan and placebo. **Cephalalgia**; v. 19(4); p. 232–240. 1999.

CHUASUWAN, B.; BINJEOSH, V.; POLLI, J.E.; ZHANG, G.J.; AMIDON, H.E.; JUNGINGER, H.E.; MIDHA, K.K.; SHAH, V.P.; STAVCHANSKY, S.; DRESSMAN, J.B.; BARENDS, D.M. Biowaiver monographs for immediate releasesolid oral dosage forms: diclofenac sodium and diclofenac potassium. **Journal of Pharmaceutical Sciences**; v. 27, p. 198-204. 2008.

CROOK, P.R.; WILLIS, J.W.; KENDALL, M.J.; JACK, D.B.; FOWLER, P.D. The pharmacokinetics of diclofenac sodium in patients with active rheumatoid disease. **European Journal of Clinical Pharmacology**; v. 21, p. 331-334. 1982.

CHMIELEWSKA, A.; KONIECZNA, L.; PLENIS, A.; BIENIECKI, M.; LAMPARCZYK, H. Determination of diclofenac in plasma by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. **Biomedical Chromatography**; v. 20(1), p. 119-24. 2006.

DAHLÖF, C.; BJÖRKMAN, R.; Diclofenac-K (50 and 100 mg) and placebo in the acute treatment of migraine. **Cephalalgia**; v. 13, p. 117-123. 1993.

DAVIT, B.M.; CHEN, M.L.; CONNER, D.P. et al. Implementation of a reference-scaled average bioequivalence approach for highly variable generic drug products by the US Food and Drug Administration. **American Association of Pharmaceutical Scientists Journal**; v.14, n.4, p.915-924, 2012.

DAVIT, B.M.; CONNER, D.P.; FABIAN-FRITSCH, B. et al. Highly Variable Drugs: Observations from Bioequivalence Data Submitted to the FDA for New Generic Drug Applications. **American Association of Pharmaceutical Scientists Journal**; v. 10, n.1, p.148-156, 2008.

DETTELBACH, H.R. A Time to Speak Out on Bioequivalence and Therapeutic Equivalence. **The Journal of Clinical Pharmacology**; v. 26, p. 307-308. 1986.

DIGHE, S. V. – A review of the safety of generic drugs. **Transplantation proceedings**; New York, v. 31, suppl. 3A, p. 235-245. 1999.

DILIBERTI, C. E. Why bioequivalence of highly variable drugs is an issue. **Advisory Committee for Pharmaceutical Sciences Meeting Transcript**; 14 de abril. 2004.

DOLLERY, C.T. **Therapeutic drugs**. Churchill Livingstone, 1999.

HUTCHISON, T.A.; SHAHAN, D.R.; ANDERSON, M.L. **Drugdex**<sup>®</sup>. System. Thomson Micromedex, Greenwood Village, Colorado. 2003.

DUPLAY, D. **Physicians' desk reference**. Thomson PDR, 2004.

FERRAZ, H.G.; PINHO, J.J.R.G.; FERREIRA, C.A.M.; IKEDO, M.T.; PEREIRA, R.R.; RUSSO, R.M.; LEISTER, V.B.; SOUSA, Z.V.L. Avaliação do perfil de dissolução de especialidades farmacêuticas contendo diclofenaco sódico sob a forma de comprimidos de liberação entérica. **Revista de Ciências Farmacêuticas**; v. 21, p.191-199. 2000.

FERREIRA, A. O. **Guia Prático da Farmácia Magistral**. Juiz de Fora, Anderson de Oliveira Ferreira, p. 135-142, 2002.

FIGUEIREDO, P.; COSTA, A.; CRUZ, F.; MELO, J.; NOGUEIRA, M.; GÓES, T. . Reações Adversas a Medicamentos. **Fármacos & Medicamentos**; p. 32-39. 2005.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Bioavailability and bioequivalence requirements. **Fed Regist**; v. 320, p. 154-173. 1985.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Bioavailability and bioequivalence requirements; abbreviated applications; proposed revisions-FDA. Proposed rule. **Fed Regist**; v. 63, 64, p. 222 – 228. 1998.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, **Fed. Regist**; v. 63, 64. p. 222. 1998.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. In vivo bioequivalence guidances. **Pharmacopeial Forum**; v. 19, p. 6501-6508. 1993.

FOSTER, T.S. Drug product selection--Part 4: Selecting therapeutically equivalent products: special cases. **American pharmacy**; NS31(11), p. 49-54. 1991.

FOWLER, P.D. Voltarol: diclofenac sodium. **Clinics in Rheumatic Diseases**; v. 5, p. 427-464. 1979.

GARCÍA-ARIETA, A.; MORALES-ALCELAY, S.; HERRANZ, M.; LA TORRE-ALVARADO, J.M.; BLÁZQUEZ-PÉREZ, A.; SUÁREZ-GEA, M.L.; ÁLVAREZ, C. Investigation on the need of multiple dose bioequivalence studies for prolonged-release generic products. **International Journal of Pharmaceutics**; v. 423(2), p. 321–325. 2012.

GEIGER, U.P.; DEGEN, P.H.; SIOUFI, A. Quantitative assay of diclofenac by gas-liquid chromatography. **Journal of Chromatography**; v. 111, p. 293-298. 1975.

GELLER, M.; KRYMCHANTOWSKI, A.V.; STEINBRUCH, M.; CUNHA, K.S.; RIBEIRO, M.G.; OLIVEIRA, L.; OZERI, D.; DAHER, J.P.L. Utilização do diclofenaco

na prática clínica: revisão das evidências terapêuticas e ações farmacológicas. **Revista da Sociedade Brasileira Clínica Médica**; v. 10(1), p. 29-38. 2012.

GIAGOUDAKIS, G.; MARKANTONIS, S. L. An alternative high-performance liquid-chromatographic method for the determination of diclofenac and flurbiprofen in plasma. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**; v. 17(4), p. 897-901. 1998.

GILMAN, A.G.; GOODMAN, L.S.; BRUNTON, L.L.; CHABNER, B.A.; KNOLLMANN, B.C. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 12ª ED. Rio de Janeiro: McGraw-Hill. 2012.

GOTTSCHALK, L.A. Clinical Relevance of the Bioavailability/Bioequivalence Controvers. **The Journal of clinical psychiatry**; v. 47(9, Suppl), p. 3-5. 1986.

HASENCLAVER, L. **O Mercado de Medicamentos Genéricos no Brasil**. 2004.

HENIN, E.; BERGSTRAND, M.; STANDING, J.F.; KARLSSON, M.O. A mechanism-Based Approach for Absorption Modeling: The Gastro-Intestinal Transit Time (GIT) model. **American Association of Pharmaceutical Scientists Journal**; v.14(2), p.155-163. 2012.

HYE, S.L.; CHANG, K.J.; SUNG, J.C.; SANG, B.K.; MI, H.L.; GEON, I.L.; DONG, H.S. Simultaneous determination of aceclofenac and diclofenac in human plasma by narrowbore HPLC using column-switching. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**; v. 23, p. 775-781. 2000.

IMS Health Inc. **IMS National Prescription Audit**. 2007. 12 months preceding July. 2008.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia básica e clínica**. 10ª ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill. 2008.

KOROLKOVAS, A. **Essentials of Medicinal Chemistry**. 2. ed., United States of America: A Wiley – Interscience Publication. 1988.

KOROLKOVAS, A .; FRANÇA, F. F. A. **Dicionário Terapêutico Guanabara**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2004.

LAMY, P. Critical Patients, Critical Drugs, Critical Diseases. **Maryland Pharmacist**; v. 61, p 22-25. 1985.

LAMY, P. Generic Equivalents: Issues and Concerns. **The Journal of Clinical Pharmacology**; v. 26, p. 309-316. 1986.

LE HIR, A. **Noções de Farmácia Galênica**. 6.ed. São Paulo, Andrei, p. 444. 1997.

LIAUW, H.; WALTER, S.; LEE, I. Effects of diclofenac on synovial eicosanoid product formation in arthritic patients. **The Journal of Clinical Pharmacology**; v. 25, p. 455-474. 1985.

LISSY, M.; STIFF, D.D.; KOWALSKI, M.M.; MOORE, K.A. SINGLE-DOSE PHARMACOKINETIC STUDY OF RAPIDLY DISPERSING DICLOFENAC POTASSIUM FORMULATIONS IN HEALTHY VOLUNTEERS. **Current Medical Research and Opinion**; V. 25(10), P. 2423-2428. 2009.

MC NEELY, W.; GOA, K.L. **Drugs** 57, Is 6, Jun. p. 991-100, 1999.

MARQUES, M.R.C. & BROWN, W. – Desenvolvimento e validação de métodos de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais. **Revista Analytica**; v. 1, p. 48-51. 2002.

MARZO, A. – Open questions on bioequivalence: some problems and some solutions. **Pharmacological research**; v. 40, p. 357-368. 1999.

MARZO, A., BALANT, L.P. – Bioequivalence: an updated reappraisal addressed to applications o interchangeable multisorce pharmaceutical products. **Arzneimittel-Forschung**; v. 45, p. 109-115. 1995.

MENASSE, R.; HEDWALL, P.R.; KRAETZ, J. Pharmacological properties of diclofenac sodium and its metabolites. **Scandinavian Journal of Rheumatology**; Suppl. 22, p. 5-16. 1978.

MENDES, G.D., SANFELICE, A.T.D., BORGES,N.C.C., CAVEDAL, L.E., MODOLO,J.H., De NUCCI,G. Comparative bioavailability of two ramipril formulations in healthy human volunteers after a single dose administration. **International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics**; v. 44(2), p. 93-98. 2006.

MEREDITH, P.A. Generic drugs: therapeutic equivalence. **Drug Safety**; v. 15, p. 233-242. 1996.

MEYER, M. **The Therapeutic Equivalence of Drug Products**. A Second Look, The University of Tennessee Center for the Health Sciences. Memphis. 1985.

MEYER,G. F. – History and regulatory issues of generic drugs. **Transplantation Proceedings**; v. 31, suppl. 3A, p.105-125. 1999.

MIDHA K.K.; MCKAY, G. Bioequivalence; Its History, Practice, and Future. **American Association of Pharmaceutical Scientists Journal**; v. 11(4), p. 664-670. 2009.

MILLER, S.W., STROM, J.G. Drug Product Selection: Implications for the Geriatric Patient. **The Consultant Pharmacist**; v. 5, p. 30-37. 1990.

NASCIMENTO, D.F.; **Quantificação de fármacos com atividade antimicrobiana em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa (lc-ms/ms): aplicação em estudos de farmacocinética comparada**. f 212. {Tese de Doutorado}. Faculdade de Medicina. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. 2011.

NAVARRO-FONTESTAD, C.; GONZALEZ-ALVAREZ, I.; FERNÁNDEZ-TERUEL, C.; GARCIA-ARIETA, A.; BERMEJO, M.; CASABÓ, V.G. Computer simulations for bioequivalence trials: Selection of analyte in BCS drugs with first-pass metabolism

and two metabolic pathways. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**; v. 41(5), p. 716-728. 2010.

PALOMO, M.E.; BALLESTEROS, M.P.. FRUTOS, P. Analysis of diclofenac sodium and derivatives. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**; v.21, p. 83–94. 1999.

PARFITT, K. M. The Complete Drug Reference. **Pharmaceutical**; 32 ed. London, p. 2315. 1999.

PATRONO, C. Aspirin as an antiplatelet drug. **New England Journal Medicine**; v. 330(18), p. 1287-1294, 1994.

PRISTA, L. N.; ALVES, A . C.; MORGADO, R. **Tecnologia Farmacêutica**; v. 1., 5. ed. Portugal: Calouste Gulbenkian. 1995.

PINA, M. E.; SOUSA, A. T.; BROJO, A. P. Enteric coating of hard gelatin capsules. Part 1. Application of hydroalcoholic solutions of formaldehyde in preparation of gastro-resistant capsules. **International Journal of Pharmaceutics**; v.133, p.139-148. 1996.

POPOVIC, J.; MIKOV, M.; SABO, A.; JAKOVLJEVIC, V. Evolution of statistical Power function for various diclofenac bioequivalence trials with different subject numbers. **European. Journal of Drug Metabolism Pharmacokinetics**; v. 02, p. 85-91. 2009.

RANG, H.P.; DALE, M.M. **Farmacologia**. 7<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2012.

RIBEIRO, A. N. F. **Medicamentos Genéricos - Informações para Farmacêuticos ou profissionais da Saúde**. Maio. 2000.

RIESS, W.; STIERLIN, H.; DEGEN, P.H. Pharmacokinetics and metabolism of the anti-inflammatory agent Voltaren. **Scandinavian Journal Rheumatology**; Suppl. 22, p. 17-29. 1978.

ROSE, B.D. NSAIDs: Acute renal failure and nephrotic syndrome. **UpToDate**. June 2007.

SALLMANN, A.R. The history of diclofenac. **The American Journal of Medicine**; v. 80(4B), p.29-33. 1986.

SATO, E.I.; FERRAZ, M.B.; SZEJNFELD, V.L; ATRA, E. - **Drogas básicas utilizadas em reumatologia**. In Atualização Terapêutica, 18ª edição - São Paulo, Artes Médicas, p. 487-500. 1997.

SCHNEIDER, W.; DEGEN, P.H. Simultaneous determination of diclofenac sodium and its hydroxy metabolites by capillary column gas chromatography with electron-capture detection. **Journal of Chromatography**; v. 217, p. 263-271. 1981.

SHARGEL L. & YU A.B.C. **Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics**; 4ª ed. Stamford: Appleton & Lange, p. 768. 1999.

SILVA, L.C. **Estudo de bioequivalência de duas formulações de diclofenaco em voluntários sadios**. 83f. {Dissertação de Mestrado}. Faculdade de Ciências Médicas. Universidade de Campinas. São Paulo, 1999.

SIMOENS, S. Generic and therapeutic substitution: ethics meets health economics. **International Journal of Clinical Pharmacy**; v.33(3), p.469-70. 2011.

SOUSA, V.D. **Regulação técnica e bioética da participação de seres humanos em ensaios clínicos de bioequivalência**. 138f. {Dissertação de Mestrado}. Programa de Pós Graduação em Bioética. Universidade de Brasília. Brasília, 2010.

STORPIRTIS, S.; MORI, A.; YOCHIY, A.; RIBEIRO, E.; PORTA, V. **Farmácia clínica e atenção farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2008.

STORPIRTIS, S.; OLIVEIRA, P.G.; RODRIGUES, D.; MARANHO, D. Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e a absorção de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**; v.35(1), p.1-16. 1999.

STROM B.L. Generic Drug Substitution Revisited. **New England Journal of Medicine**; v. 316, p. 1456-1462. 1987.

SWARTZ, M.E.; KRULL, I.S. Validation of chromatographic methods. **Pharmaceutical technology**; v. 22(3), p. 104-120. 1998.

TAKAGI, T.; RAMACHANDRAN, C.; BERMEJO, M.; YAMASHITA, S.; YU, L.X.; AMIDON, G.L. A provisional biopharmaceutical classification of the top 200 oral drugs products in the United States, Great Britain, Spain and Japan. **Molecular Pharmaceutics**; v. 3(6), p. 631-643. 2006.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, 24<sup>a</sup> ed. Rockville: **The United Pharmacopeia Convencional**. 2000.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, 25<sup>a</sup> ed. Rockville: **The United Pharmacopeia Convencional**. 2001.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, 25<sup>a</sup> ed. Rockville: **The United Pharmacopeia Convencional**, 2005.

UP TO DATE. **Diclofenac (systemic): Drug information**. 2013

Vane J. The mechanism of action of anti-inflammatory drugs. **Advances in Eicosanoid Research**; v.31, p. 2. 2003.

VIDOTTI, C.C.F. **Centros de Informação sobre Medicamentos no Brasil: passado, presente e perspectivas do sistema brasileiro de informação sobre medicamentos**. Campinas: UNICAMP. 1999.

WILLIAMS, H.J.; CLEGS, D.O. Basic therapy of rheumatoid arthritis; nonsteroidal anti inflammatory drugs. **Comprehensive Therapy**; v.16. 1979.

WILLIS, J.V.; KENDALL, M.J. Pharmacokinetic studies on diclofenac sodium in young and old volunteers. **Scandinavian Journal of Rheumatology**; suppl. 22, p. 36-41. 1978.

WILLIS, J.V.; KENDALL, M.J.; JACK, D.B. A study of the effect of aspirin on the pharmacokinetics of oral and intravenous diclofenac sodium. **European Journal of Clinical Pharmacology**; v. 18, p 415-418. 1980.

WILLIS, J.V.; KENDALL, M.J.; JACK, D.B. The influence of food on the absorption of diclofenac after single and multiple oral doses. **European Journal of Clinical Pharmacology**; v. 19, p. 33-37. 1981.

XU, J.J.; HENSTOCK, P.V.; DUNN, M.C.; SMITH, A.R.; CHABOT, J.R.; DE GRAAF, D. Cellular imaging predictions of clinical drug-induced liver injury. **Toxicological Sciences**; v. 105(1), p. 97-105. 2008.

YANG, L.; FASIHI, R. Modulation of diclofenac release from a totally soluble controlled release drug delivery system. **Journal of Controlled Release**; v.44, p. 135–140. 1997.

ZACHER, J.; ALTMAN, R.; BELLAMY, N. Topical diclofenac and its role in pain and inflammation: an evidence-based review. **Current Medical Research and Opinion**; v. 24(4), p. 925-950. 2008.

ZEILHOFER, H.U. Prostanoids in nociception and pain. **Biochemical Pharmacology**; v. 73(2), p. 165-174. 2007.

**APÊNDICES**

## Apêndice 1

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Estudo de Biodisponibilidade entre uma Formulação de Diclofenaco Sódico cápsulas de liberação prolongada de 100 mg, (formulação teste), versus uma Formulação de Diclofenaco Sódico cápsulas de liberação prolongada de 100 mg, em Voluntários Sadios de Ambos os Sexos, em jejum e alimentados.**

Você está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa. Sua participação é importante, porém, você não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

O abaixo-assinado, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ anos, RG nº \_\_\_\_\_ declara que é de livre e espontânea vontade que está participando como voluntário do projeto de pesquisa supracitado, de responsabilidade dos Médicos Pesquisadores Profa. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes, Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes, Prof. Dr. Fernando Antonio Frota Bezerra, Dra Jonaina Costa de Oliveira e Dr. Francisco Vagnaldo Fachine Jamacaru, dos Farmacêuticos Pesquisadores Demétrius Fernandes do Nascimento e Andréa Vieira Pontes, da Enfermeira Pesquisadora Ana Lourdes Almeida e Silva Leite e da Nutricionista Pesquisadora Marina Becker Sales Rocha da Unidade de Farmacologia Clínica (UNIFAC) da Universidade Federal do Ceará. O abaixo-assinado está ciente que:

#### NATUREZA E PROPÓSITO DO ESTUDO

O objetivo da pesquisa é verificar se o cápsula contendo 100 mg de diclofenaco sódico dito formulação teste atinge níveis no sangue equivalentes ao cápsula contendo 100 mg de diclofenaco sódico comparando com a formulação referência. Você receberá as medicações em quatro ocasiões diferentes. Em duas das quatro ocasiões você receberá as medicações após alimentação padronizada. A ordem que você tomará cada medicação obedecerá a um sorteio.

#### PROCEDIMENTOS A SEREM REALIZADOS E RESPONSABILIDADES

Antes de sua participação no estudo e após a sua participação você será convidado a ir à Unidade de Farmacologia Clínica para avaliar a sua condição de saúde. Você será examinado por um médico que lhe fará um exame completo, medindo o seu pulso, sua temperatura, sua pressão arterial. Também será feito um exame do coração (eletrocardiograma). O médico lhe perguntará se você teve ou tem alguma doença e se você faz uso de algum medicamento.

Durante a visita serão coletadas amostras de sangue e urina para exames laboratoriais. 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 (Ureia, creatinina, fosfatase alcalina, glicose no sangue, Proteínas totais, albumina, transaminases oxalacética (AST) e pirúvica (ALT), ácido úrico, colesterol total, triglicerídeos,). Sumário de urina (Urina I). Exames para a hepatite B e C; AIDS (HIV 1 e HIV 2) e  $\beta$ HCG (para as mulheres), no sangue, serão realizados no pré-estudo.

Se você for considerado sadio para realizar o estudo, você será internado duas vezes por aproximadamente 36 horas cada período, com intervalo de 7 dias. Em cada internamento:

a) será administrado 1 cápsula da formulação teste ou referência, acompanhado de 200 mL de água sem gás;

b) serão coletadas 20 amostras de sangue de 6 a 8mL, 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 de administração do medicamento; café da manhã no dia de alta] ou bebidas em horários preestabelecidos. Após a coleta de 24 horas você receberá alta da Unidade de Farmacologia Clínica (UNIFAC). Cerca de 496 mL de sangue será colhido durante todo o estudo.

A duração total de sua participação na pesquisa está estimada em 30 dias, a contar da primeira internação, após o processo de seleção.

## RESPONSABILIDADES

É condição indispensável, para participação no ensaio clínico, que esteja em boa saúde e, portanto, não esteja no momento sob tratamento médico ou fazendo uso de quaisquer fármacos ou medicações e que tampouco tenha participado de outro estudo clínico com medicamentos nos últimos 6 meses. Algumas regras deverão ser seguidas para sua participação no estudo: a) não pode ser dependente de fármacos ou álcool e caso o investigador tenha alguma suspeita, poderá solicitar exame de urina para detecção do uso de fármacos; b) não pode ter doado (ou retirado/perdido por qualquer motivo) sangue ou plasma dentro dos três meses que antecedem o estudo ou ter doado 1500 mL (um litro e meio) no período de um ano antecedendo 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.

É ainda de sua RESPONSABILIDADE em relação a sua participação no ensaio clínico: a) comparecer às internações na data e horários informados; b) **não engravidar, conforme orientação, durante a participação no estudo (desde a seleção até o pós-estudo)**; c) permanecer em jejum pelo tempo previsto (pelo menos 8 horas) em cada internação; d) tomar toda a medicação prevista; e) Ingerir toda a alimentação e líquidos que

tenham sido previstos; f) retornar à Unidade de Farmacologia Clínica na data, horário e local combinados, para realização de coleta externa, caso necessário, consulta e exames de alta, independentemente de haver sido interrompida sua participação no estudo ou de sua desistência.

### **POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS**

A administração oral de Diclofenaco Sódico de maneira continuada pode causar reações leves como: náuseas, vômitos, dores abdominais, irritação no estômago. Entretanto o aparecimento de efeitos indesejáveis após administração de dose única de Diclofenaco Sódico tem menor probabilidade de aparecer. Além dos efeitos citados, a administração de qualquer medicamento pode causar reações imprevisíveis.

A retirada de sangue é um procedimento seguro e 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 terapêutico. Conseqüentemente, não se espera que a participação no estudo resulte em benefício em função do tratamento.

### **INTERCORRÊNCIAS (efeitos indesejáveis)**

Se você sofrer algum malefício em decorrência direta de sua participação no estudo, você receberá tratamento nesta Instituição. Eventuais custos decorrentes de internamentos e tratamentos hospitalares, bem como óbito, se comprovadamente decorrentes de reações adversas provocadas pelo produto sob investigação, serão de responsabilidade do Patrocinador do Estudo.

### **RESSARCIMENTO**

De acordo com valores previamente estabelecidos os voluntários serão ressarcidos das despesas e tempo despendido na realização do supracitado estudo clínico após a consulta de alta. Caso desista, ou seja, dispensado antes do estudo ser finalizado o voluntário receberá proporcionalmente ao tempo despendido, no final do estudo. Entende também que a desistência ou dispensa antes do comparecimento para a primeira internação não dá direito a ressarcimento.

Estima-se que, durante o período de sua participação no estudo, vocês terão como despesas os gastos de deslocamento da residência ou trabalho até a Unidade de Farmacologia Clínica para internação e consultas, bem como coletas de amostras após a alta; ou ao laboratório de análises clínicas para a realização dos exames. Ainda deve ser prevista eventual visita posterior para acompanhamento de eventos adversos, se estes

ocorrerem. O ressarcimento destas despesas já está incluído no valor estabelecido no item acima.

## **PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA**

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

Você obteve todas as informações e esclarecimentos necessários para poder decidir conscientemente sobre a participação no referido ensaio clínico.

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

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

A interrupção não causará prejuízo ao seu atendimento, cuidado e tratamento pela equipe da Unidade de Farmacologia Clínica.

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

Os registros que possam identificar sua identidade serão mantidos em sigilo, a não ser que haja obrigação legal de divulgação. A Unidade de Farmacologia Clínica não identificará o voluntário por ocasião da publicação dos resultados obtidos.

Contudo, o(s) monitor(es) do Estudo, 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 ensaio, sem no entanto violar a condição de que tais informações são confidenciais. Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, você está também autorizando tal acesso, mesmo se você se retirar do Estudo.

## **CONTATOS E PERGUNTAS**

Caso surja alguma intercorrência, deverá procurar a Unidade de Farmacologia Clínica (Fone 3366-8250) e solicitar que a mesma contate os médicos responsáveis pelo

ensaio clínico ou então entrarem em contato diretamente com os mesmos nos telefones indicados no final deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Poderá contatar a Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes e Dr. Fernando Antonio Frota Bezerra para receber informações adicionais, relacionadas à pesquisa ou quanto aos seus direitos como voluntário.

Poderá contatar a Secretaria do Comitê em Pesquisa da UFC, fone 3366-8338, para apresentar recursos ou reclamações em relação ao ensaio clínico.

Se você concorda com o exposto acima leia e assine o documento abaixo.

## ASSINATURAS

Eu declaro que li cuidadosamente todo este documento denominado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após, tive nova oportunidade de fazer perguntas sobre o conteúdo do mesmo o também sobre o Estudo e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas e reafirmo estar livre e espontaneamente decidindo participar do Estudo.

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 documento.

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

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

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

--	--	--

**Nome do voluntário**

**Data**

**Assinatura**

--	--	--

**Nome da pessoa que está obtendo o termo de consentimento**

**Data**

**Assinatura**

--	--	--

**Nome da Testemunha (se o voluntário não souber ler)**

**Data**

**Assinatura**

**CONTROLE INTERNO**

**Nº do Estudo: 50/12**

**Nº do Voluntário: \_\_\_\_**

**TELEFONES PARA CONTATO**

UNIDADE DE FARMACOLOGIA CLÍNICA (85) 3366 8250

Profa. Maria Elisabete Amaral de Moraes, MD, PhD (85) 3366.8346

Prof. Manoel Odorico de Moraes, MD, PhD. (85) 3366.8346

Prof. Fernando Antônio Frota Bezerra, MD, MSc (85) 3366.8346

Demétrius Fernandes do Nascimento BPharm, PhD (85) 3366 8346

Ana Lourdes Almeida e Silva Leite RN, MSc (85) 3366 8346

Jonaina Costa de Oliveira, MD, MSc (85) 3366 8346

Andréa Vieira Pontes, BPharm, MSc (85) 3366.8346

Marina Becker Sales Rocha, Nut, MSc (85) 3366 8346

Francisco Vagnaldo Fachine MD, PhD. (85) 3366.8346

**Apêndice 02****HORÁRIO E COMPOSIÇÃO DAS REFEIÇÕES**

Dieta geral isenta de xantina em torno de 2500 a 2700 Kcal que corresponde a 6 refeições (ceia, almoço, lanche, jantar, ceia e desjejum).

**CEIA - ATÉ 21:00h**

Suco de Laranja

04 esfirras de queijo

**DESJEJUM – DUAS HORAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DO MEDICAMENTO**

1 Copo de iogurte de morango

Sanduíche de pão bola com queijo mussarela e blanquet de peru

**ALMOÇO – 05 A 06 HORAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DO MEDICAMENTO**

Suco de Manga

Frango grelhado

Arroz Branco

Salada de cenoura, chuchu

Alface e tomate

Feijão com abóbora e linguiça

Sobremesa – 150 mL de sorvete sabor creme

**LANCHE DA TARDE – 08 A 09 HORAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DO MEDICAMENTO**

Suco de Abacaxi

04 bolachas cream cracker

1 fatia de bolo de laranja

**JANTAR – 10 A 12 HORAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DO MEDICAMENTO**

Suco de Caju

Frango grelhado

Arroz Branco

Salada de cenoura, chuchu, alface e tomate

Feijão com abóbora e linguiça

Sobremesa – 150 mL de sorvete sabor creme

### **CEIA – 14 A 15 HORAS APÓS ADMINISTRAÇÃO DO MEDICAMENTO**

Suco de Abacaxi

03 esfirras de queijo

### **DESJEJUM –24:00h APÓS ADMINISTRAÇÃO DO MEDICAMENTO**

iogurte integral de morango

04 bolachas cream cracker

1 fatia de bolo de laranja

**ANEXOS**

## Anexo 01

<p><b>Resumo da Metodologia Utilizada na determinação de Diclofenaco em Plasma Humano</b></p>	
<p>Protocolo de Ensaios e Relatório de Validação de Método No. METGRU006/LAC01 aplicado ao estudo GDM-057/12</p>	

A metodologia utilizada para determinação de Diclofenaco plasmática foi cromatografia líquida de alta performance acoplada à espectrometria de massas, com ionização em Electrospray positivo monitorando os íons resultantes da fragmentação do Diclofenaco e do Naproxeno utilizado como padrão interno.

Diclofenaco e Naproxeno foram analisados após a extração tipo líquido-líquido de plasma humano. A cromatografia líquida de alta performance foi realizada utilizando-se uma pré-coluna Phenomenex Security Guard Cartridge (C18) 4x3.0 mm e uma coluna Genesis Light C18, 4µm, Lot No: 9603704 100x2.1mm SN090376537208017 (GRU2009-003) a um fluxo de 450 µL/min de fase móvel composta de: Acetonitrila/H<sub>2</sub>O (70/30, v/v) + 0,1% de Ácido Fórmico.

A detecção das massas foi realizada monitorando-se os íons resultantes no modo MRM (Monitoramento de Reações Múltiplas) e o aparelho foi ajustado para as seguintes transições: 295.2 > 214.0 no caso do Diclofenaco, 230.8 > 186.0 no caso do Naproxeno sendo que os tempos de retenção foram tipicamente de 1.40 ± 0.3 minutos para o analito e 1.10 ± 0.3 minutos para o padrão interno.

O método foi considerado preciso e robusto, conforme documentação em anexo (*Protocolo de Ensaio e Relatório de Validação METGRU00613V01 aplicado ao estudo GDN-037/12, intitulado Determinação de Diclofenaco em plasma humano por LC-MS/MS*).

**Anexo 02 - Carta de aprovação do CEP**

Universidade Federal do Ceará  
Comitê de Ética em Pesquisa

**Of. N° 238/12**

Fortaleza, 01 de junho de 2012.

**Protocolo COMEPE n°: 168/12**

**Pesquisador Responsável:** Maria Elisabete Amaral de Moraes.

**Título do Projeto:** “Estudo de Biodisponibilidade entre uma Formulação de Diclofenaco Sódico cápsulas de liberação prolongada de 100 mg, (formulação teste), *versus* uma Formulação de Diclofenaco Sódico cápsulas de liberacão prolongada de 100 mg, Produto de Referência em Voluntários Sadios de Ambos os Sexos, em jejum e alimentados”.

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 n° 196 de 10 de outubro de 1996 e complementares, aprovou o protocolo e o TCLE do projeto supracitado na reunião do dia 31 de maio de 2012.

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

Atenciosamente,

  
Dr Victor Hugo Medeiros Alencar  
Coordenador Adjunto  
COMEPE/UFC

## Anexo 03

## REGISTRO DE EVENTOS ADVERSOS

## FOLHA DE EVENTO ADVERSO

Nº de Ordem do Evento \_\_\_\_\_ Data Preenchimento \_\_\_\_\_ 

Assinale caso se trate de uma nova versão relativa ao mesmo evento.

Detalhes Evento				
Início do Evento Adverso	Data	Período _____	<input type="checkbox"/> Antes da administração do Produto sob Investigação*	
	Hora	(de tratamento)	<input type="checkbox"/> Após a administração, durante a internação <input type="checkbox"/> Após ter recebido alta da internação	
Término	Data	Hora	Duração _____	<input type="checkbox"/> Ver "Desfecho"
Queixa / Diag.				
Última Dose .	Data	Hora	Dose administrada	(unidade)

\* Ocorrências antes da administração do Produto sob Investigação no 1º Período **não** são Eventos Adversos

Classificações	
Expectativa	<input type="checkbox"/> Esperado <input type="checkbox"/> Não Esperado
Intensidade	<input type="checkbox"/> Fraco <input type="checkbox"/> Moderado <input type="checkbox"/> Intenso
Relação com a Terapia	<input type="checkbox"/> Nenhuma <input type="checkbox"/> Improvável <input type="checkbox"/> Possível <input type="checkbox"/> Provável <input type="checkbox"/> Certa
Seriedade	<input type="checkbox"/> Não Sério <input type="checkbox"/> Sério      → Nº Identificação do Ev. Adv. Sério:
Conduta	
Conduta Imediata (escolha 1 ou mais opções que se apliquem)	<input type="checkbox"/> Dose Reduzida <input type="checkbox"/> Dose Aumentada <input type="checkbox"/> Dose Interrompida <input type="checkbox"/> Dose Encerrada
	<input type="checkbox"/> Tratamento Farmacológico * <input type="checkbox"/> Outra Terapia <input type="checkbox"/> Hospitalização
	<input type="checkbox"/> Nenhuma (Observação) <input type="checkbox"/> Outros <input type="checkbox"/> Não Aplicável
Detalhes	Os Tratamentos Farmacológicos são descritos na Folha de Terapias Adicionais constante no CRF.
Próximo(s) Acomp. Clínico(s)	<input type="checkbox"/> Através dos retornos já programados <input type="checkbox"/> Solicitado retorno adicional
Exames Compl.	<input type="checkbox"/> Desnecessário <input type="checkbox"/> Solicitados Exames
Desfecho (escolha apenas 1 opção)	Recuperação: <input type="checkbox"/> Total <input type="checkbox"/> Com Sequelas
	Evento Adverso ainda presente: <input type="checkbox"/> Sob Observação <input type="checkbox"/> Sob Tratamento
	<input type="checkbox"/> Falecimento <input type="checkbox"/> Dados Não Disponíveis (Não compareceu aos retornos solicitados)
Desligamento	<input type="checkbox"/> O médico retirou o Voluntário do Estudo em função do Evento <input type="checkbox"/> O Voluntário resolveu interromper sua participação no estudo em função do Evento
Outras Informações	

\_\_\_\_\_  
Médico Responsável pelas Informações\_\_\_\_\_  
Assinatura\_\_\_\_\_  
Data

## ANEXO 04

## DEFINIÇÕES DE EXPERIÊNCIAS (EVENTO) ADVERSAS

## INTENSIDADE

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

## RELACIONAMENTO SUPOSTO COM O FÁRMACO EXPERIMENTAL

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

## EVENTO ADVERSO SÉRIO

É qualquer experiência:

- a qual é fatal
- a qual põe a vida em risco
- a qual debilita/incapacita
- a qual resulta em hospitalização
- a qual o pesquisador interpreta como séria ou que sugere um risco, contraindicação, efeito colateral ou precaução significativa(o) que possa estar associada(o) ao uso do fármaco e que deve ser relatada como séria.

*Quaisquer experiências (evento) adversas sérias que ocorram a qualquer tempo durante o estudo clínico dentro de cinco meias-vidas, desde a última dose da medicação em estudo, estejam ou não relacionadas com a medicação em estudo, devem ser relatadas pelo investigador clínico.*

**Caso ocorra uma experiência adversa séria, entre em contato com o coordenador e/ou monitor do estudo imediatamente (em até 24 horas).**