

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM

**INTERAÇÃO ALBENDAZOL-PRAZIQUANTEL
EM VOLUNTÁRIOS SADIOS: DISPOSIÇÃO
CINÉTICA, METABOLISMO E
ENANTIOSSELETIVIDADE**

RENATA MONTEIRO LIMA

Fortaleza
-2008-

RENATA MONTEIRO LIMA

**Interação Albendazol-Praziquantel em
voluntários sadios: disposição cinética,
metabolismo e enantioseletividade.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Profa. Dra. Maria Augusta Drago Ferreira
Co-orientadora: Profa. Dra. Vera Lucia Lanchote

Fortaleza
-2008-

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Lima, Renata Monteiro

Interação Albendazol-Praziquantel em voluntários sadios: disposição cinética, metabolismo e enantiosseletividade. Fortaleza, 2008.

100f

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará

Orientadora: Ferreira, Maria Augusta Drago.

1. Praziquantel. 2. Albendazol. 3. Interação Farmacocinética. 4. Neurocisticercose.

Renata Monteiro Lima

Interação Albendazol-Praziquantel em voluntários sadios: disposição cinética, metabolismo e enantiosseletividade.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedico este estudo:
à Deus, em primeiro lugar, meu amor maior;
aos meus pais, Walter e Júlia, sem eles eu nada seria;
ao meu esposo, André, pela paciência e compreensão;
à minha irmã, Raquel, minha verdadeira amiga;
à minha afilhada, Sara, que antes mesmo de nascer já é muito amada por mim.

Meus sinceros agradecimentos...

...À professora Maria Augusta Drago Ferreira, por aceitar a orientação deste estudo, pela força e disposição em ajudar;

...À professora Vera Lúcia Lanchote, por aceitar a co-orientação deste estudo e conduzir seu desenvolvimento, com muita sabedoria e paciência;

...Aos meus voluntários da pesquisa, pela disposição em ajudar e compreensão;

...Às amigas e amigos do laboratório, pelas ajudas, conversas e pela amizade, principalmente, à amiga Natalícia, pela sua ajuda na parte prática;

...Ao Natalino, pela sua paciência com tantas vidrarias sujas;

“Estou de volta pro meu aconchego
Trazendo na mala bastante saudade
Querendo um sorriso sincero, um abraço
Para aliviar meu cansaço
E toda essa minha vontade

Que bom poder estar contigo de novo
Roçando teu corpo e beijando você
Pra mim tu és a estrela mais linda
Teus olhos me prendem, fascinam
Na paz que eu gosto de ter

É duro ficar sem você vez em quando
Parece que falta um pedaço de mim
Me alegro na hora de regressar
Parece que vou mergulhar
Na felicidade sem fim

Estou de volta pro meu aconchego
Trazendo na mala bastante saudade
Querendo um sorriso sincero, um abraço
Para aliviar meu cansaço
E toda essa minha vontade

Que bom poder estar contigo de novo
Roçando teu corpo e beijando você
Pra mim tu és a estrela mais linda
Teus olhos me prendem, fascinam
Na paz que eu gosto de ter

É duro ficar sem você vez em quando
Parece que falta um pedaço de mim
Me alegro na hora de regressar
Parece que vou mergulhar
Na felicidade sem fim”

(De volta pro aconchego-Elba Ramalho)

RESUMO

O praziquantel (PZQ), um fármaco quiral disponível como racemato, e o albendazol (ABZ), um fármaco biotransformado ao metabólito ativo quiral sulfóxido de abendazol (ASOX), tem sido empregados no tratamento da neurocisticercose humana. O estudo abrange a investigação da disposição cinética, metabolismo e enantiosseletividade na associação ABZ - PZQ em voluntários sadios. O estudo cruzado e aleatório foi desenvolvido em três fases (n=9), sendo que alguns voluntários iniciaram pela FASE 1 (400mg de ABZ), outros pela FASE 2 (1500mg de PZQ) e outros pela FASE 3 (400mg de ABZ + 1500mg de PZQ). O período de *washout* foi de no mínimo 15 dias (FASE 1 seguida da FASE 2 e FASE 1 seguida da FASE 3) ou 7 dias (FASE 2 seguida de uma das outras FASES). As amostras seriadas de sangue foram coletadas no período de 0-48h. Os metabólitos do ABZ foram analisados por HPLC com detecção por fluorescência e os enantiômeros do PZQ e do trans-4-hidroxipraziquantel (4-OHPZQ) foram analisados por LC-MS-MS. Os parâmetros farmacocinéticos foram determinados com auxílio do programa WinNonlin. O teste de Wilcoxon ($p \leq 0,05$) foi empregado para avaliar as razões enantioméricas de concentrações plasmáticas do ASOX, PZQ e 4-OHPZQ. Os dados estão expressos como medianas. A disposição cinética do PZQ, 4-OHPZQ e do ASOX é enantiosseletiva na situação de monoterapia; as razões de AUC são de 2,97 para (+)-(S)-PZQ /(-)-(R)-PZQ, 0,78 para (+)-(S)-4OHPZQ /(-)-(R)-4-OHPZQ e 7,08 para (+)-ASOX/(-)-ASOX. A administração de PZQ resulta em aumento das concentrações plasmáticas do (+)-ASOX em 264% (AUC 980,42 vs 2591,80 ng.h/ml), do (-)-ASOX em 358% (139,59 vs 500,28 ng.h/ml) e do sulfona de albendazol em 187% (170,85 vs 319,50ng.h./ml) sugerindo o PZQ como inibidor da Pgp intestinal. A administração de ABZ não altera a disposição cinética do (+)-(S)-PZQ e dos metabólitos (-)-(R)-4-OHPZQ e (+)-(S)-4OHPZQ, mas resulta em aumento das concentrações plasmáticas do (-)-(R)-PZQ em 64,77% (AUC 518,02 vs 853,57ng.h/ml) sugerindo inibição enantiosseletiva do metabolismo do ASOX. Os dados permitem sugerir a possibilidade de aumento da eficácia terapêutica na interação ABZ-PZQ, embora outros estudos sejam necessários para avaliar a segurança da interação.

Palavras-chave: albendazol, praziquantel, neurocisticercose, enantiômeros, farmacocinética.

ABSTRACT

The praziquantel (PZQ), a chiral drug available as racemic, and the albendazole (ABZ), a drug biotransformed into active metabolic chiral suphoxide of abendazole (ASOX), have been used in the treatment of human neurocysticercosis. The study covers the examination / search of the kinetic disposition, the metabolism, and the enantioselectiveness in the ABZ-PZQ association in healthy volunteers. The crossed and random study was developed in three phases (n=9), in which some volunteers started by PHASE 1 (400 mg of ABZ), others by PHASE 2 (1500mg of PZQ), and others by PHASE 3 (400 mg of ABZ + 1500mg of PZQ). The period of washout was of a minimum of 15 days (PHASE 1 followed by PHASE 2 and PHASE 1 followed by PHASE 3) or of 7 days (PHASE 2 followed by one of the other Phases). The serial blood samples were collected in a period of 0-48 hours. The ABZ metabolites were analysed by HPLC with detection by fluorescence and the PZQ enantiomers and the trans-4-hydroxypraziquantel (4-OHPZQ) were analysed by LC-MS-MS. The pharmacokinetic patterns were determined with the help of the WinNonlin program. The test of Wilcoxon ($p \leq 0.05$) was used to evaluate the enantiomer ratios of plasma concentrations of ASOX, PZQ and 4-OHPZQ. The data are shown as medians. The kinetic disposition of the PZQ, 4-OHPZQ and ASOX is enantioselective in the monotherapy situation; the ratios of AUC are of 2.97 to (+)-(S)-PZQ / (-)-(R)-PZQ, 0.78 to (+)-(S)-4-OHPZQ / (-)-(R)-4-OHPZQ, and 7.08 to (+)-ASOX / (-)-PZQ. The administration of the PZQ results in the increase of the plasma concentrations of the (+)-ASOX in 264% (AUC 980.42 vs 2591.80ng.h./ml), of the (-)-ASOX in 358% (139.59 vs 500.28ng.h./ml), and of the sulphona of albendazole in 187% (170.85 vs 319.50ng.h./ml), suggesting the PZQ as an inhibiting factor of the intestinal Pgp. The administration of the ABZ does not change/ alter the kinetic disposition of the (+)-(S)-PZQ, and of the metabolic (-)-(R)-4-OHPZQ and (+)-(S)-4-OHPZQ, but it results in the increase of the plasma concentrations of the (-)-(R)-PZQ in 64.77% (AUC 518.02 vs 853.57ng.h./ml), suggesting enantioselective inhibition of the metabolism of the ASOX. The data allow us to suggest the possibility of increase of therapeutic efficacy in the ABZ-PZQ interaction; although, other studies are necessary to evaluate the safety of the interaction.

Key-words : albendazole , praziquantel , neurocysticercosis , enantiomers , pharmacokinetic

LISTA DE SÍMBOLOS

- AUC = área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo
AUC^{0-∞} = área sob a curva concentração plasmática *versus* tempo zero até o infinito
Cl/F = clearance total aparente
C_{max} = concentração plasmática máxima
CV = coeficiente de variação
F = biodisponibilidade
h = horas
Ka = constante de velocidade de absorção
Kel = constante de velocidade de eliminação
t = tempo
t_{1/2} = meia-vida de eliminação
t_{max} = tempo necessário para atingir a C_{max}
Vd/F = volume aparente de distribuição
λ = comprimento de onda

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- CYP = citocromo P450
HPLC = cromatografia líquida de alta eficiênciac
IC 95% = intervalo de confiança 95%
IMC =índice de massa corpórea
ABZ =albendazol
ASOX =sulfóxido de albendazol
ASON =sulfona de albendazol
PZQ =praziquantel
4-OHPZQ =trans-4-hidroxipraziquantel
p.o. = *per oral*
UV = ultravioleta
vs = *versus*
v/v = volume/volume

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Características demográficas dos voluntários investigados.....	01
TABELA 2- Tabela de aleatorização para a sequência de administração dos fármacos.....	
TABELA 3- Limites de quantificação do ASON e dos enantiômeros do ASOX.....	
TABELA 4- Linearidade do método de análise dos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ.....	
TABELA 5- Recuperação absoluta dos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ.....	
TABELA 6- Precisão intra-ensaio para os enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ.....	
TABELA 7- Precisão interensaios para os enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ.....	
TABELA 8- Exatidão intra-ensaio para os enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ.....	
TABELA 9- Exatidão interensaios para os enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ.....	
TABELA 10-Limite de quantificação dos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ.....	
TABELA 11- Estabilidade dos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ.....	
TABELA 12- Efeito da matriz na análise dos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ.....	
TABELA 13- Disposição cinética dos enantiômeros (+) e (-)-ASOX (FASE 1).....	
TABELA 14- Disposição cinética dos enantiômeros (+) e (-)-ASOX (FASE 3).....	
TABELA 15- Disposição cinética do enantiômero (+)-ASOX (FASE 1 e FASE 3).....	
TABELA 16- Disposição cinética do enantiômero (-)-ASOX (FASE 1 e FASE 3).....	
TABELA 17- Disposição cinética do enantiômero ASON (FASE 1 e FASE 3).....	
TABELA 18- Disposição cinética dos enantiômeros (+)-(S) e (-)-(R)-PZQ (FASE 2).....	
TABELA 19- Disposição cinética dos enantiômeros (+)-(S) e (-)-(R)-PZQ (FASE 3).....	
TABELA 20- Disposição cinética dos enantiômeros (+)-(S) e (-)-(R)-4-OHPZQ (FASE 2)...	
TABELA 21- Disposição cinética dos enantiômeros (+)-(S) e (-)-(R)-4-OHPZQ (FASE 3)....	
TABELA 22- Disposição cinética do enantiômero (+)-(S)-PZQ (FASE 2 e FASE 3).....	
TABELA 23- Disposição cinética do enantiômero (-)-(R)-PZQ (FASE 2 e FASE 3).....	
TABELA 24- Disposição cinética do enantiômero (-)-(R)-4-OHPZQ (FASE 2 e FASE 3).....	
TABELA 25- Disposição cinética do enantiômero (+)-(S)-4-OHPZQ (FASE 2 e FASE 3)....	

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1- Metabolismo do praziquantel no homem.....
- FIGURA 2 - Metabolismo do albendazol no homem
- FIGURA 3- Cálculo do número de voluntários
- FIGURA 4 - Fluxograma do Protocolo clínico
- FIGURA 5-Fluxograma do procedimento de extração dos metabólitos do albendazol
- FIGURA 6- Fluxograma do procedimento de extração dos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ
- FIGURA 7- Cromatogramas referentes aos metabólitos do albendazol
- FIGURA 8- Cromatogramas referentes aos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ
- FIGURA 9-Concentrações plasmáticas *versus* tempo dos metabólitos do albendazol
- FIGURA 10- Concentrações plasmáticas *versus* tempo dos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO
2. OBJETIVOS
- 2.2 Objetivo Geral
- 2.2 Objetivos Específicos
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS
 - 3.1 Casuística
 - 3.2 Protocolo Clínico
 - 3.3 Métodos Analíticos
 - 3.3.1 Análise do ASON e dos enantiômeros do ASOX em plasma
 - 3.3.1.1 Soluções padrão e reagentes
 - 3.3.1.2 Análise Cromatográfica
 - 3.3.1.3 Método de preparo das amostras
 - 3.3.1.4 Curva de calibração
 - 3.3.1.5 Validação
 - 3.3.2 Análise dos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ em plasma humano
 - 3.3.2.1 Soluções padrão e reagentes
 - 3.3.2.2 Análise Cromatográfica
 - 3.3.2.3 Método de preparo das amostras
 - 3.3.2.4 Validação
 - 3.3.2.4.1. Linearidade
 - 3.3.2.4.2. Recuperação
 - 3.3.2.4.3 Precisão e Exatidão
 - 3.3.2.4.4. Limite de Quantificação
 - 3.3.2.4.5. Estabilidade
 - 3.3.2.4.6. Efeito da matriz
 - 3.3.2.5 Análise farmacocinética
 - 3.3.2.6. Análise estatística
 4. RESULTADOS
 - 4.1 Validação método de análise do ASON e dos enantiômeros do ASOX
 - 4.1.1 Limite de quantificação
 - 4.2. Validação do método de análise dos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ

- 4.2.1. Linearidade
- 4.2.2. Recuperação
- 4.2.3. Precisão intra-ensaio e interensaios
- 4.2.4. Exatidão intra-ensaio e inter-ensaio
- 4.2.5. Limite de Quantificação
- 4.2.6. Estabilidade
- 4.2.7. Efeito da matriz
- 4.3. Disposição cinética do ASON e dos enantiômeros do ASOX
- 4.4. Disposição cinética e metabolismo do PZQ e 4-OHPZQ
- 5. DISCUSSÃO
- 6. CONCLUSÃO
- 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS
- 8. APÊNDICE
- 9. ANEXO

1 Introdução

Nos últimos anos tem sido observado um interesse cada vez mais acentuado na avaliação da atividade farmacológica de medicamentos possuindo um ou mais centros de assimetria. Sob o aspecto químico e biológico, um fármaco quiral comercializado sob a forma racêmica, pode apresentar após sua administração diferenças entre os enantiômeros na farmacodinâmica e/ou farmacocinética. Em outras palavras, a utilização clínica de um fármaco racêmico constitui para a terapêutica uma combinação fixa de fármacos com diferentes propriedades farmacológicas e diferentes potenciais de manifestação de toxicidade (NATION, 1994; RODEN, 1994).

A enantiosseletividade representa um importante fator na variabilidade individual da resposta terapêutica e modifica orientações nas dimensões das indústrias farmacêuticas e agências de regulamentação. A relevância clínica da enantiosseletividade se expressa particularmente para os fármacos de baixo índice terapêutico administrados sob forma de racematos (CALDWELL, 1992; KROEMER et al., 1996).

Os processos farmacocinéticos relacionados com transporte passivo através de membranas biológicas como a absorção no trato gastrintestinal, a distribuição aos tecidos e a filtração glomerular são dependentes das propriedades físico-químicas do fármaco e não são responsáveis pela expressão da enantiosseletividade. No entanto, o fenômeno é comumente observado em situações de interação do fármaco com macromoléculas quirais, tais como na absorção dependente de carreadores, na ligação às proteínas plasmáticas, nos processos de secreção biliar, secreção renal e no metabolismo (KROEMER et al., 1996; TUCKER; LENNARD, 1990).

O metabolismo é considerado um dos principais fatores responsáveis pela enantiosseletividade na disposição cinética de fármacos quirais. Entendendo e predizendo o metabolismo enantiosseletivo de um fármaco pode-se contribuir para definir a relevância da quiralidade na farmacoterapia (CALDWELL, 1992).

O praziquantel, um fármaco quiral disponível como racemato, e o albendazol, um fármaco biotransformado ao metabólito ativo quiral sulfóxido de abendazol, tem sido empregados como fármacos antiparasitários no tratamento da neurocisticercose (GARCÍA et al., 2002, NASH et al., 2006, SOTELO; JUNG, 1998).

A neurocisticercose humana (NCC), uma infecção do sistema nervoso central pela forma larval da *Taenia solium*, é um sério problema de saúde pública em várias regiões da

Ásia, África e América latina, sendo acometido, principalmente, em países em desenvolvimento onde condições sanitárias precárias e um baixo nível socioeconômico e cultural contribuem para a persistência dessa disseminação, existindo, assim, uma necessidade para a implantação imediata de medidas preventivas (TAKAYANAGUI, 1994).

O tempo entre a contaminação e o surgimento dos sinais e sintomas da NCC, bem como a gravidade da doença, dependem do número, tamanho, tipo morfológico (formas simples ou racemosa), condições e localização dos cistos no cérebro, além das reações imunológicas do hospedeiro (AGAPEJEV et al., 1996; PAL et al., 2000).

Até recentemente, não havia terapia farmacológica específica para a NCC (ESCOBEDO et al., 1987; ODASHIMA, 2003), sendo os corticosteróides a alternativa medicamentosa de caráter paliativo (ESCOBEDO et al., 1987; SOTELO et al., 1984; SOTELO; JUNG, 1998). Atualmente, a farmacoterapia da NCC envolve 3 principais linhas: fármacos cisticidas, corticosteróides para o tratamento anti-inflamatório e fármacos para o tratamento de desordens neurológicas (epilepsia, cefaléia e distúrbios comportamentais) (GARCIA et al., 2002; WHITE JR., 2000).

A introdução do praziquantel (ROBLES; CHAVARRIA, 1979) e albendazol (ESCOBEDO et al., 1987) como agentes antiparasitários (cisticidas) foi entusiasmadamente adotada por muitos segmentos da comunidade médica. No entanto, a importância desses agentes tem sido questionada por muitos autores (CARPIO et al., 1995; GOLDBERG, 1984; KRAMER, 1990; KRAMER, 1995; KRAMER et al., 1989; MOODLEY; MOOSA, 1989) e uma intensa controvérsia ainda existe.

Segundo alguns autores (CARPIO et al., 1998; CARPIO; HAUSER, 2002; PAL et al., 2000, WHITE JR., 2000), a terapia cistica parece acelerar a resolução dos cistos, mas pode estar associada à exacerbação de sintomas neurológicos, havendo, inclusive, o risco de edema cerebral generalizado e morte de pacientes com múltiplos cistos. Os autores argumentam, ainda, que os estudos para estabelecimento da terapêutica cistica falharam na seleção dos pacientes e na interpretação dos resultados obtidos, além do fato de que a evolução natural da doença revela-se habitualmente benigna. Infelizmente, estas controvérsias têm promovido confusão e decisões equivocadas no tratamento clínico da NCC, especialmente onde a doença não é diagnosticada com frequência (GARCIA et al., 2002).

Entre os cisticidas, o praziquantel (PZQ) foi o primeiro fármaco a evidenciar potencial eficácia no tratamento da NCC (SOTELO et al., 1984). É um fármaco anti-helmíntico de amplo espectro com atividade contra todas as espécies de esquistossomas patógenos para humanos bem como contra uma ampla variedade de trematódeos e cestóides (PEARSON;

GUERRANT, 1983). É um derivado da isoquinolina-pirazina (TRACY; WEBSTER JR., 1996) e tem sido usado para cisticercose humana desde 1980 (ROBLES, 1982).

Sotelo et al. (1984) relataram a eficácia do PZQ no tratamento da NCC parenquimatosa. Os autores investigaram 26 pacientes tratados com PZQ na dose de 50mg/Kg/dia durante 15 dias. Após 3 meses de tratamento, os autores reportaram remissão total dos cistos em 9 pacientes, relataram melhora clínica em 25 dos 26 pacientes investigados com observação de redução do número total dos cistos assim como redução do diâmetro médio dos cistos em relação ao início do tratamento. Embora o tratamento com doses de 50mg/Kg/dia durante 15 dias tenha sido adotado por vários grupos clínicos, o regime de dose única de PZQ também tem mostrado similaridade ao regime anterior de dose múltipla em termos de desaparecimento dos cistos (CORONA et al., 1996), embora ainda hajam discussões em relação ao regime de dosagem (PRETELL et al., 2001).

Na administração de PZQ são observados efeitos adversos geralmente leves e transitórios em uma porcentagem relativamente alta de pacientes (30-60%) (JAOKO et al., 1996; BERHE et al., 1999). Os efeitos adversos mais relatados são dor de cabeça, náuseas, anorexia, vômito, dor abdominal, dor epigástrica, diarréia com ou sem sangue e/ou muco, febre, mialgia, tontura, insônia, sonolência e, mais raramente, rash cutâneo com edema (CIOLI; PICA-MATTOCCIA, 2003).

O PZQ é absorvido rapidamente e completamente pelo trato gastrintestinal após a administração do fármaco sob forma de comprimidos (LEOPOLD et al., 1978). Jung et al. (1990) relataram grande variabilidade farmacocinética na administração oral de PZQ. Leopold et al. (1978) reportaram que a concentração plasmática máxima é atingida 1,5 - 2 horas após a administração de uma variedade de doses, de 6,25 - 50mg/Kg, embora exista uma considerável variabilidade interindividual devido as diferenças no metabolismo. O PZQ quando administrado com alimentos, principalmente ricos em carboidratos, resulta em aumento significativo nos níveis plasmáticos (CASTRO et al., 2000; HOMEIDA et al., 1994). A biodisponibilidade do PZQ é aumentada pela cimetidina, 17 α -etinilestradiol e difenilhidramina, enquanto o efeito oposto é observado na administração de carbamazepina, fenitoína ou dexametasona (SOTELO; JUNG, 1998).

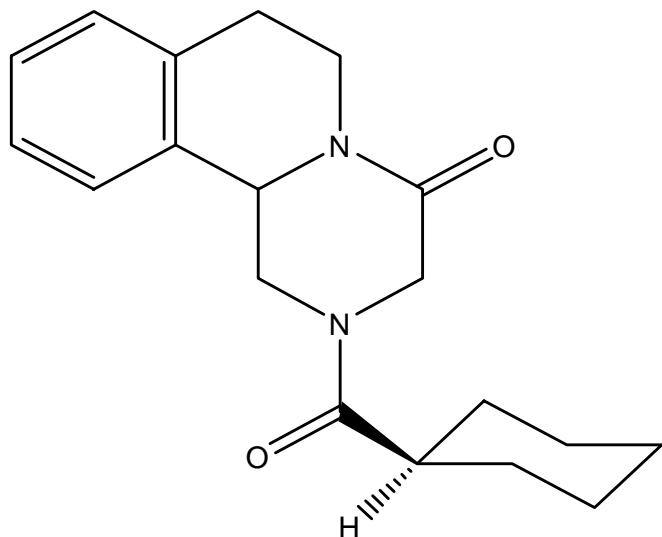
O PZQ é rapidamente distribuído nos tecidos devido a alta lipossolubilidade, a ligação às proteínas plasmáticas é de aproximadamente 80 à 85% (BITTENCOURT et al., 1990) e a meia-vida de eliminação varia entre 1,7 e 2,7 horas (KING; MAHAMOUD, 1989).

O PZQ sofre extenso metabolismo de primeira passagem (PATZSCHKE et al., 1979). Os principais metabólitos do PZQ são representados pelos compostos mono, di e tri-

hidroxilados dependentes do CYP2B e CYP3A (MASIMIREMBWA; HASLER, 1994; GIORGI et al., 2001). O metabólito encontrado no plasma humano em maior proporção é o trans-4-hidroxipraziquantel (4-OHPZQ), o qual representa cerca de 2/3 dos metabólitos totais excretados na urina.

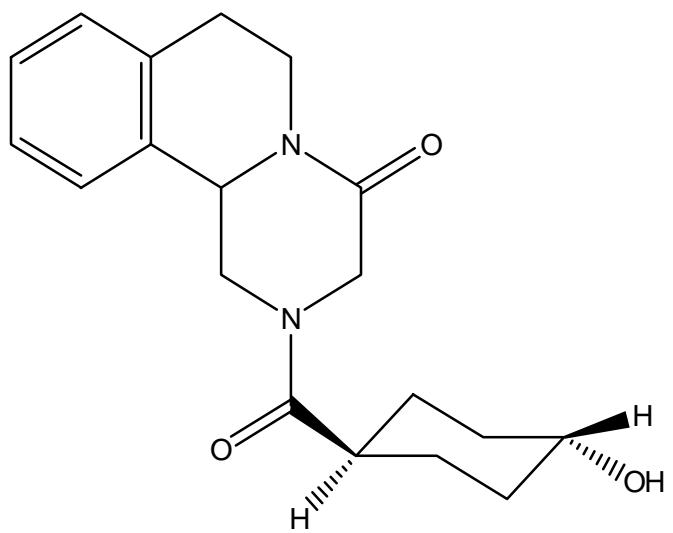
O PZQ é disponível na clínica como mistura racêmica, embora o enantiômero $(-)(R)$ -PZQ seja considerado o eutômero em termos de atividade antiesquistossomal, como é mostrado por experimentos *in vivo* e *in vitro* (XIAO; CATTO, 1989; WU et al., 1991). Os dois enantiômeros, entretanto, apresentam a mesma toxicidade (LIU et al., 1986). Wu et al.(1991) relataram que pacientes tratados com 20mg/Kg de $(-)(R)$ -PZQ apresentaram a mesma eficácia, embora com menor incidência de efeitos adversos do que pacientes tratados com 40 mg/Kg da mistura racêmica.

O metabolismo do PZQ é enantiosseletivo (LERCH; BLASCHKE, 1998; MEIER; BLASCHKE, 2001; WESTHOFF; BLASCHKE, 1992). Em voluntários sadios, o enantiômero $(+)(S)$ -PZQ é preferencialmente metabolizado, sendo que as razões de concentrações plasmáticas $(-)(R)$ -PZQ / $(+)(S)$ -PZQ variam entre 0,44 e 0,33, enquanto as razões de concentrações plasmáticas $(-)(R)$ -4-OHPZQ / $(+)(S)$ -4-OHPZQ variam entre 2,6 e 1,79 (WESTHOFF; BLASCHKE, 1992). O enantiômero $(-)(R)$ -4-OHPZQ parece possuir atividade farmacológica similar ao $(-)(R)$ -PZQ (STAUDT et al., 1992).



praziquantel

↓
CYP 2 B1
CYP 3 A



4-hidroxipraziquantel

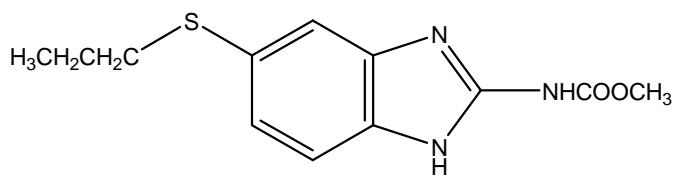
FIGURA 1- Metabolismo do praziquantel no homem (GIORGI et al., 2001; MASIMIREMBWA; HASLER, 1994).

O albendazol (ABZ) é um anti-helmíntico potente de amplo espectro efetivo contra vários nematóides e cestóides (HORTON, 2000) e tem sido mostrado ser mais efetivo que o PZQ no tratamento da NCC (GARCÍA et al., 2002). O estudo do ABZ para a medicina humana foi iniciado em 1979. Em 1983, foi usado para tratamento da doença hidática (SAIMOT et al., 1983). Em 1987, foi mostrado ser efetivo no tratamento da neurocisticercose (ESCOBEDO et al., 1987).

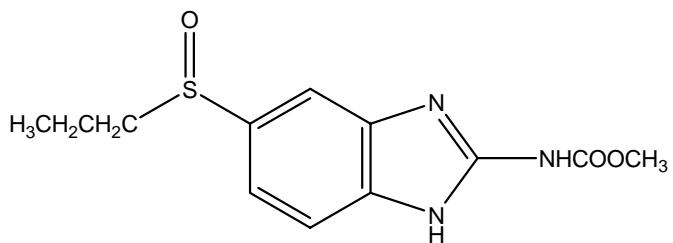
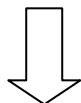
A principal evidência da melhora clínica do paciente com NCC parenquimatosa após terapia com ABZ foi relatada por dois estudos retrospectivos publicados em 1992. Vazquez e Sotelo (1992) reportaram que 100% dos pacientes não tratados (49 de 49) apresentaram crises convulsivas comparados a 46% (54 de 118) dos pacientes tratados com ABZ com segmento médio durante 3 anos. Del Brutto et al. (1992) reportaram que 74% (20 de 27) dos pacientes não tratados apresentaram crises convulsivas quando comparados com apenas 17% (16 de 95) dos pacientes tratados com ABZ com seguimento médio de 2,5 anos. Recentemente, Garcia et al.(2004) num estudo randomizado, duplo cego, controlado com placebo, concluíram que a terapia parasiticida com ABZ é eficaz, proporcionando melhor controle de crises epilépticas generalizadas, resultando em melhor qualidade de vida em relação aos pacientes recebendo apenas tratamento sintomático.

Steiger et al.(1990) reportaram dados relativos à toxicidade do ABZ. Segundo os autores, pode ocorrer elevação das transaminases, independentemente do esquema posológico, indicando o potencial hepatotóxico do fármaco inalterado. Neutropenia e alopecia também tem sido relatadas.

O ABZ é metabolizado para o metabólito ativo sulfóxido de albendazol (ASOX) o qual é metabolizado para o sulfona de albendazol (ASON) que é inativo (VILLAVERDE et al., 1995). Devido ao extenso metabolismo pré-sistêmico do albendazol, as concentrações plasmáticas do fármaco inalterado são geralmente baixas e os estudos farmacocinéticos são desenvolvidos usando as concentrações de ASOX e ASON (LANCHOTE et al., 2004).



albendazol



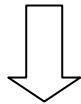
sulfóxido de albendazol
(atividade anti-helmíntica)

(+)-ASOX
(-)-ASOX

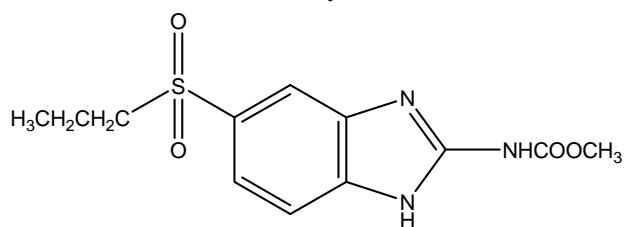
FMO

CYP2D6

CYP2A1



CYP1A



sulfona de albendazol

FIGURA 2 - Metabolismo do albendazol no homem (RAWDEN et al., 2000; VILLAVERDE et al., 1995).

Marriner et al. (1986) descreveram a disposição cinética do ASOX em voluntários sadios tratados com 400 mg (dose única) de ABZ p.o. Os valores de Cmax encontrados oscilaram entre 0,04 a 1,24 µg/ml, confirmando a variabilidade interindividual descrita na literatura. Jung et al. (1992) investigaram a disposição cinética do ASOX em 8 pacientes com NCC tratados diariamente com 15 mg/Kg de ABZ durante 8 dias. Os valores de Cmax e a meia-vida de eliminação do ASOX variaram entre 0,5-3,0 µg/ml e 6-15 h, respectivamente.

Rawden et al. (2000) analisando a participação do CYP e da Flavina monoxigenase (FMO) no metabolismo do albendazol em microssomas de fígado humano, verificaram a participação de ambos sistemas hepáticos, mas com predomínio de 70% do CYP, principalmente do CYP3A4. O átomo de enxofre do grupo benzimidazol representa um centro de assimetria, o que implica na formação dos enantiômeros (+)-ASOX e (-)-ASOX durante a reação de sulfoxidação do albendazol. Não há dados na literatura relativos a qual enantiômero, ou se ambos, tem atividade biológica no tratamento da NCC e qual a concentração efetiva. Moroni et al. (1995) reportaram que em microssomas de fígado de rato a FMO favorece a formação do enantiômero (+)-ASOX, enquanto que o CYP2D6 e/ou CYP2A1 formam predominantemente o (-)-ASOX. O CYP3A, segundo os autores, promove a formação de quantidades equivalentes de ambos enantiômeros. Rawden et al. (2000) reportaram que a sulfoxidação do albendazol em microssomas de fígado humano parece ser mediada em proporções semelhantes pela FMO3 e pelo CYP, principalmente o CYP3A4. Amri et al. (1988) reportaram o envolvimento do CYP na sulfonação do abendazol em ratos. No homem, não há dados relativos às isoformas envolvidas na sulfonação do ASOX.

Marques et al. (1999) investigaram a enantiosseletividade na disposição cinética do ASOX em pacientes com diagnóstico de NCC tratados com ABZ em regime de dose múltipla (5 mg/Kg/8h durante 8 dias). Os resultados demonstraram aumento na razão enantiomérica (+)-ASOX/(-)-ASOX em função do tempo, sugerindo sulfonação preferencial do enantiômero (-)-ASOX e consequente acúmulo do seu antípoda (+)-ASOX.

Lanchote et al. (2002) investigaram o efeito da fenitoína, da carbamazepina e do fenobarbital no metabolismo enantiosseletivo do ABZ em pacientes com NCC recebendo antiepilépticos há, pelo menos, 3 meses. Os autores reportaram redução nas concentrações plasmáticas de ambos os enantiômeros, sugerindo que a fenitoína, a carbamazepina e o fenobarbital induziram o metabolismo oxidativo do ABZ de forma não enantiosseletiva.

Embora ambos PZQ e ABZ sejam fármacos comprovadamente cisticidas, suas eficácia são variáveis e nem todos os cistos morrem após o tratamento, sugerindo

necessidade de otimização dos regimes de dosagens, dos fármacos utilizados ou ainda combinação de fármacos. Embora o tratamento reduza significativamente o número de cistos, alguns sobrevivem e aumentam a possibilidade de crises convulsivas. A filosofia do tratamento farmacológico tem sido usar o mínimo de quantidade de fármacos e tempo de tratamento para a obtenção de cura da maioria dos pacientes. Entretanto, considerando a existência de correlação entre a manifestação de crises convulsivas e a presença de cistos viáveis e em degeneração, o tratamento individualizado deve ser dirigido no sentido de eliminar todos ou quase todos os cistos viáveis (NASH et al., 2006).

A administração simultânea de PZQ e ABZ relatada como segura e eficaz (OLDS et al., 1999) tem sido sugerida para aumentar o custo-benefício do tratamento da neurocisticercose (HOMEIDA et al., 1994; SOTELO; JUNG, 1998). Palomares et al. (2006) avaliavam *in vitro* a eficácia da associação de PZQ e ABZ em cistos de *Taenia crassiceps*. Os autores reportaram que a associação era mais efetiva do que quando os fármacos eram usados isoladamente e concluíram que o aumento da eficácia da combinação pode permitir uma redução na dose e tempo de tratamento da NCC.

Homeida et al. (1994) relataram que em voluntários adultos sadios a área sob a curva concentração plasmática *vs* tempo do ASOX é 4,5 vezes maior na situação de administração do ABZ associado ao PZQ do que quando a mesma dose de ABZ é administrada isoladamente. Na-Bangchang et al.(2006) também observaram aumento nas concentrações plasmáticas de ASOX em voluntários sadios tratados com ivermectina e PZQ. Os autores ressaltam que a disposição cinética do PZQ não é modificada em função da associação com o ABZ. No entanto, Pengsaa et al. (2004) avaliaram os parâmetros farmacocinéticos na administração de dose única de ABZ isoladamente ou em associação com dose única de PZQ em crianças com infecção causada por Giárdia e concluíram que não existem interações farmacocinéticas entre o ABZ e o PZQ.

Justificativa

Considerando que a associação PZQ e ABZ vem sendo relatada como de maior eficácia no tratamento da NCC (OLDS et al., 1999) e considerando que os dados até então existentes na literatura em relação a disposição cinética da interação farmacocinética ABZ - PZQ são contraditórios e baseados nas concentrações plasmáticas da mistura enantiomérica tanto do ASOX quanto do PZQ (HOMEIDA et al., 1994; NA-BANGCHANG et al., 2006; PENGSA et al., 2004), o presente estudo visa investigar em voluntários sadios a enantiosseletividade na interação ABZ-PZQ .

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a interação albendazol-praziquantel em voluntários sadios com ênfase na disposição cinética, metabolismo e enantiosseletividade.

2.2 Objetivos Específicos

- a. Desenvolver e validar método de análise dos enantiômeros do praziquantel e seu metabólito trans-4-hidroxipraziquantel em plasma com aplicação em estudo de dose única de disposição cinética e metabolismo.
- b. Avaliar a enantiosseletividade na farmacocinética do praziquantel e seu metabólito trans-4-hidroxipraziquantel em voluntários sadios tratados com dose única de praziquantel racêmico.
- c. Avaliar a enantiosseletividade no metabolismo do albendazol em voluntários sadios tratados com o fármaco em dose única.
- d. Avaliar a influência do praziquantel na farmacocinética dos enantiômeros do sulfóxido de albendazol em voluntários sadios.
- e. Avaliar a influência do albendazol na farmacocinética dos enantiômeros do praziquantel e seu metabólito trans-4-hidroxipraziquantel em voluntários sadios.

3 Casuística e Métodos

3.1. Casuística

Foram investigados 09 voluntários sadios (4 homens e 6 mulheres), com idade superior a 18 anos e com peso dentro do limite de $\pm 15\%$ do peso considerado normal. Não participaram do estudo voluntários fumantes e com histórico de abuso de álcool ou drogas. Foram excluídas mulheres grávidas e voluntários em uso de medicamentos ou plantas medicinais nos 15 dias que antecederam o início da investigação.

O cálculo do número de voluntários investigados foi realizado com auxílio do programa PS Power and Sample Size Calculation (versão 2.1.30, Vanderbilt, EUA) e baseado na variabilidade farmacocinética do praziquantel e do albendazol em voluntários sadios (HOMEIDA et al., 1994). Para detectar uma diferença $\geq 30\%$ no parâmetro AUC (área sob a curva concentração plasmática *vs* tempo) do praziquantel na associação com albendazol, com poder de 80% e erro tipo I de 5%, são necessários 09 voluntários. Para detectar uma diferença $\geq 30\%$ no parâmetro AUC do sulfóxido de albendazol na associação com praziquantel, com poder de 80% e erro tipo I de 5%, são necessários 05 voluntários. Os gráficos que relacionam o número de voluntários com o poder do teste estão apresentados abaixo na FIGURA 3.

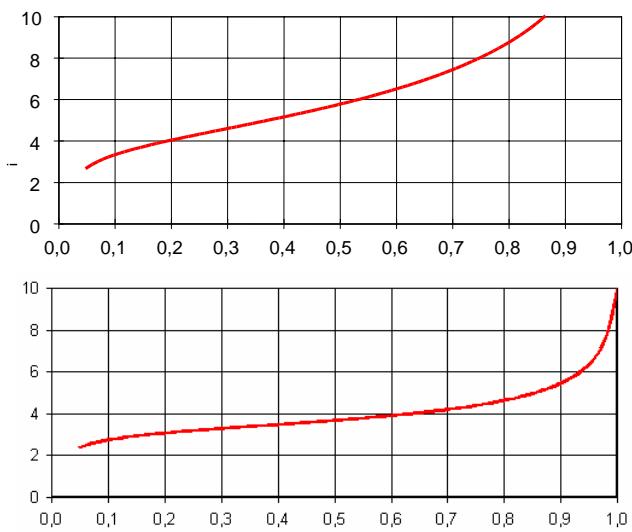


FIGURA 3- Cálculo do número de voluntário

Os voluntários incluídos na investigação foram submetidos a exame físico e provas laboratoriais para a comprovação da normalidade das funções hepática (dosagem sérica de bilirrubinas, TGO, TGP, fosfatase alcalina, γ -GT, proteína total e albumina) e renal (exame de urina tipo I e pelo clearance de creatinina maior que 80 mL/min por $1,73m^2$ de superfície corporal).

O protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP) e da FMRP-USP, sendo garantido o sigilo dos voluntários envolvidos no estudo (ANEXO A). O voluntário recebeu explicação detalhada dos procedimentos, assim como dos possíveis riscos, e foi incluído no estudo após a obtenção da assinatura no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A). Foi garantida a liberdade do voluntário se recusar a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa. Nas situações de intercorrências tais como o aparecimento de efeitos colaterais foi garantido o afastamento do voluntário do protocolo de pesquisa e o tratamento apropriado na Instituição. Os voluntários incluídos no estudo foram internados no HCFMRP-USP, na Unidade de Pesquisa Clínica durante parte da investigação.

TABELA 1 - Características demográficas dos voluntários investigados (n=9)

Voluntário	Sexo	Idade (anos)	Peso (Kg)	Altura (m)	IMC (kg/m²)
1	Feminino	34	56,5	1,69	19,78
2	Masculino	30	81,1	1,83	24,21
3	Masculino	20	78,6	1,73	26,26
4	Feminino	28	64,2	1,64	23,86
5	Masculino	26	70,6	1,85	20,62
6	Feminino	24	55,0	1,57	22,31
7	Masculino	26	68,7	1,80	21,20
8	Feminino	22	51,4	1,55	21,39
9	Feminino	27	50,8	1,64	18,88
mediana		26,33	64,1	1,7	22,05
média		26	64,2	1,69	21,39
IC 95%		23,11	55,33	1,61	20,25
		29,54	72,87	1,78	23,86

3.2. Protocolo Clínico

O estudo cruzado e aleatório foi desenvolvido em três fases, sendo que alguns voluntários iniciaram pela FASE 1 (albendazol), outros pela FASE 2 (praziquantel) e outros pela FASE 3 (albendazol + praziquantel), conforme tabela de aleatorização (TABELA 2). O período de *washout* foi de no mínimo 15 dias (fase 1 seguida da fase 2 e fase 1 seguida da fase 3) ou 7 dias (fase 2 seguida de uma das outras fases).

Na FASE 1, os voluntários foram internados na Unidade de Pesquisa Clínica do HCFMRP-USP para as coletas seriadas de sangue. Os voluntários em estado de jejum de 12 horas receberam pela manhã, via oral, dose única de 400 mg de albendazol (Zentel® comprimidos, Glaxo Smithline) com 200mL de água. A dieta padrão do hospital foi servida após 2h da administração do albendazol. As amostras de sangue (5mL) foram coletadas em seringas heparinizadas (Liquemine® 5000UI, Roche) nos tempos 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 6; 8; 10; 12; 24; 36 e 48 h.

Na FASE 2, os voluntários foram internados na Unidade de Pesquisa Clínica do HCFMRP-USP para as coletas seriadas de sangue. Os voluntários em estado de jejum de 12 horas receberam pela manhã, via oral, dose única de 1500 mg de praziquantel (Cisticid® comprimidos de 500 mg, Merck) com 200mL de água. A dieta padrão do hospital foi servida após 2h da administração do praziquantel. As amostras de sangue (5mL) foram coletadas em seringas heparinizadas (Liquemine® 5000UI, Roche) nos tempos 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 6; 8 e 10 h.

Na FASE 3, os voluntários foram internados na Unidade de Pesquisa Clínica do HCFMRP-USP para as coletas seriadas de sangue. Os voluntários em estado de jejum de 12 horas receberam pela manhã, via oral, dose única de 400 mg de albendazol e 1500 mg de praziquantel racêmico com 200mL de água. A dieta padrão do hospital foi servida após 2h da administração do albendazol e do praziquantel. As amostras de sangue (5mL) foram coletadas em seringas heparinizadas (Liquemine® 5000UI, Roche) nos tempos 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 6; 8; 10; 12; 24; 36 e 48 h.

Os plasmas para análise cromatográfica foram obtidos por centrifugação (2000g x 10min) das amostras de sangue e armazenados a -20°C até o momento da análise.

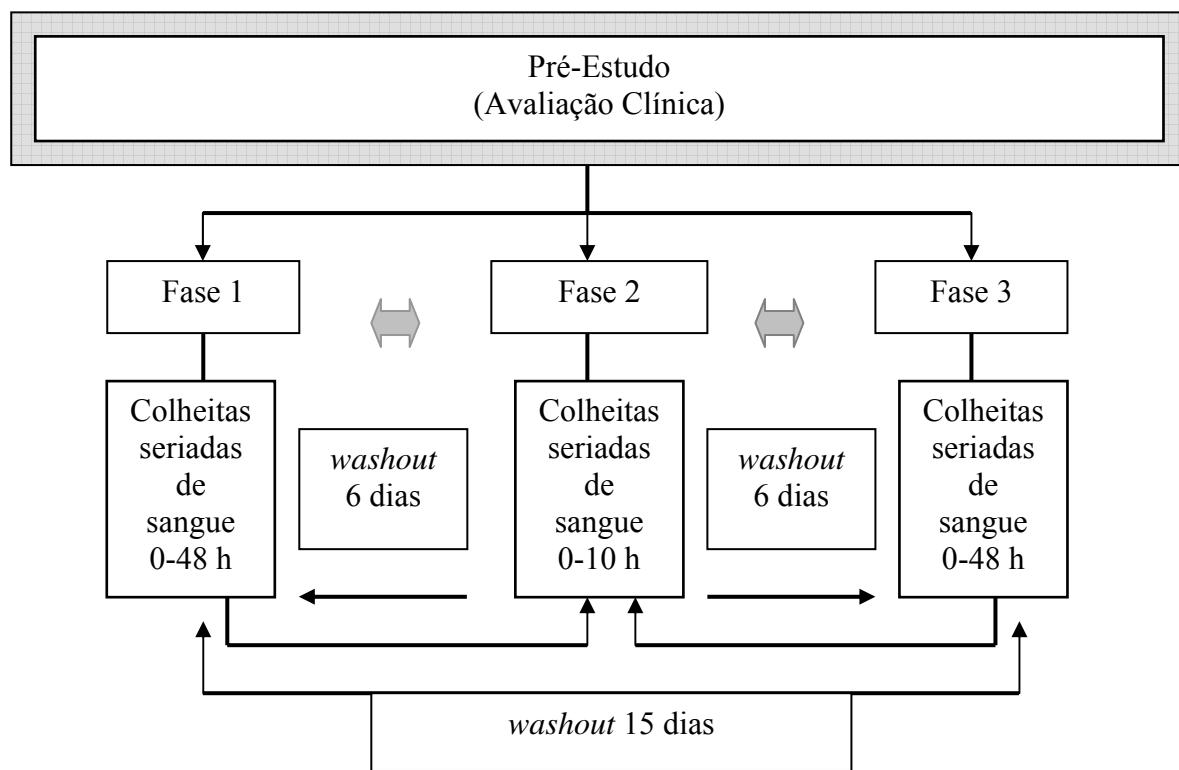


FIGURA 4 - Fluxograma do Protocolo clínico

TABELA 2 – Tabela de aleatorização para a sequência de administração dos fármacos (n=9)

VOLUNTÁRIO	SEQUÊNCIA DAS FASES		
1	2	3	1
2	2	1	3
3	1	2	3
4	2	3	1
5	1	3	2
6	1	2	3
7	1	2	3
8	1	3	2
9			

FASE 1 albendazol; FASE 2 praziquantel; FASE 3 albendazol + praziquantel

3.3 Métodos Analíticos

3.3.1 Análise do sulfona de albendazol e dos enantiômeros do sulfóxido de albendazol em plasma

3.3.1.1 Soluções padrão e reagentes

As soluções estoque de ASOX (sulfóxido de albendazol, TRC, Canada) e ASON (sulfona de albendazol, TRC, Canada) racêmicos foram preparadas em metanol na concentração de 1 mg/ml e 0,1 mg/ml, respectivamente. A solução de ASOX foi diluída para obtenção das concentrações de 0,4; 1; 4; 12; 16 e 20 µg/ml de metanol e da solução de ASON obteve-se as concentrações de 0,04; 0,1; 0,4; 1,2; 1,6 e 2 µg/mL de metanol.

A solução de metabissulfito de sódio grau analítico (Reagen) foi preparada em água na concentração de 4 mg/ml. O tampão acetato de sódio 0,75 M (pH 7,0) foi preparado utilizando ácido acético (J. T. Baker, México) e acetato de sódio (J. T. Baker, México).

O diclorometano foi obtido da Merck (Darmstadt, Alemanha) e o n-hexano, constituinte da fase móvel do sistema HPLC, foi obtido da Acros (Nova Jersey, EUA). Os outros solventes utilizados no preparo das soluções e da fase móvel foram obtidos da J. T. Baker (México) como grau cromatografia. A água passou pelo processo de purificação através do sistema Milli-Q Plus (Millipore, Bedford, MA, EUA).

3.3.1.2 Análise Cromatográfica

O sistema HPLC foi constituído por cromatógrafo Shimadzu (Kyoto, Japão) composto por bomba (modelo LC-10 AD), forno de coluna à temperatura de 23°C (modelo CTO-10 AS), auto-injetor à temperatura de 4°C (modelo SIL-10 AD), detector de fluorescência (modelo RF -10AXL) operando no comprimento de onda de excitação de 280 nm e de emissão de 320 nm e integrador C-R6A Chromatopac. Foi utilizado um sistema de injeção Rheodyne (Cotati, CA, EUA), modelo 7125, com amostrador de 20 µl.

Os metabólitos do albendazol foram separados em coluna de fase quiral Chiraldak® AD, partículas de 10 µm, 250 x 4,6 mm (Chiral Technologies Inc, Exton, PA, EUA) com pré-coluna LiChrospher® 100 CN, partículas de 5 µm, 4 x 4 mm (Merck, Damstadt, Alemanha).

A eluição dos metabólitos do albendazol na coluna Chiralpak® AD foi obtida com fase móvel constituída por n-hexano/isopropanol/etanol (82:13:5, v/v/v), na vazão de 1,2 ml/min.

3.3.1.3 Método de preparo das amostras

A uma alíquota de 500 μ l de plasma foram adicionados 200 μ l de solução de metabissulfito de sódio (4 mg/ml), 100 μ l de tampão acetato de sódio 0,75 M (pH 7,0) e 5 ml de diclorometano. A extração foi realizada através de agitação mecânica por 20 minutos (agitador horizontal, 300 ± 10 ciclos/min), seguida de centrifugação (2000 g por 10 minutos) e separação da fase orgânica. A fase orgânica recuperada em volume definido (4 ml) foi concentrada até a secura em tubos cônicos e a dissolução do resíduo obtido na extração foi realizada através de adição de 100 μ l da fase móvel, dos quais 60 μ l foram submetidos à análise cromatográfica (RODRIGUES, 2004).

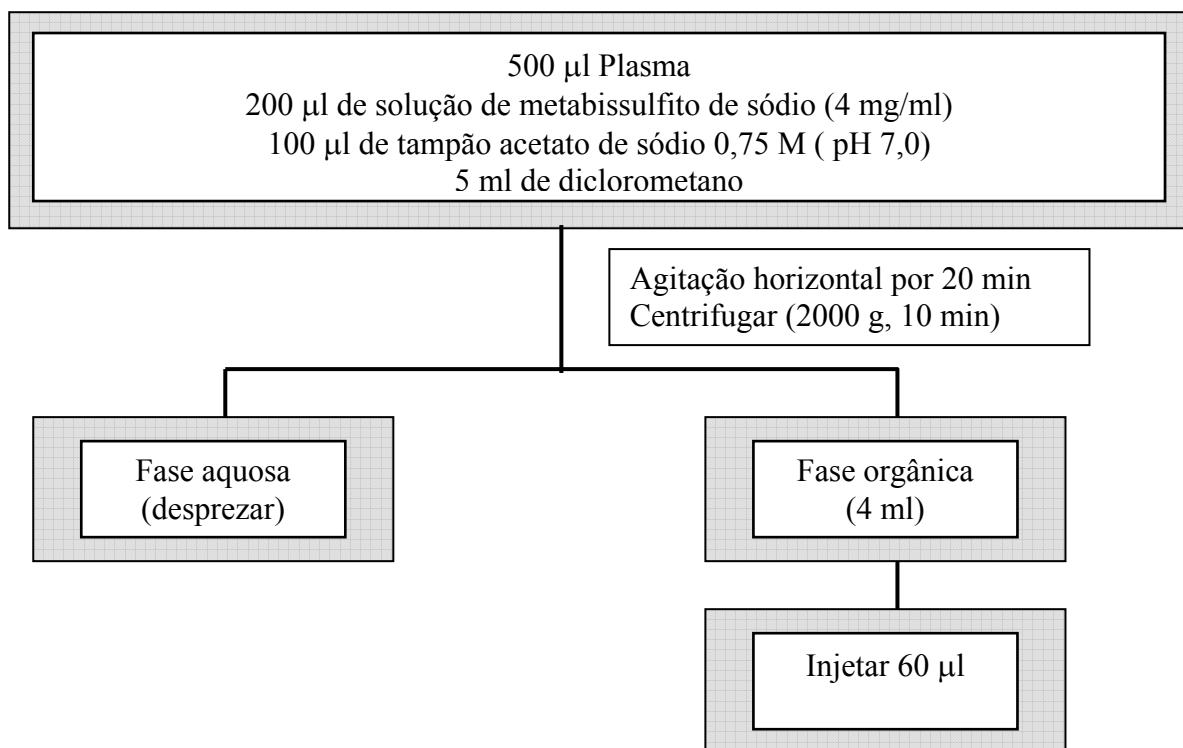


FIGURA 5-Fluxograma do procedimento de extração para análise dos metabólitos do albendazol em plasma humano.

3.3.1.4 Curva de calibração

As curvas de calibração para a análise dos metabólitos do albendazol foram construídas com dados obtidos após a análise de alíquotas de 500 µl de plasma branco enriquecido com 25µl de cada uma das soluções padrão. As amostras de plasma branco de voluntários sadios (não tratados com albendazol) foram obtidas do Hemocentro do HCFMRP-USP

3.3.1.5 Validação

A validação da metodologia utilizada na quantificação da sulfona de albendazol e dos enantiômeros do sulfóxido de albendazol foi realizada de forma parcial, já que houve apenas a mudança no limite de quantificação do método bioanalítico já validado por RODRIGUES, 2004.

3.3.2 Análise dos enantiômeros do praziquantel e do seu principal metabólito trans-4-hidroxipraziquantel em plasma humano

3.3.2.1 Soluções padrão e reagentes

As soluções estoque de praziquantel (Merck, Alemanha) e do seu principal metabólito trans-4-hidroxipraziquantel (gentilmente cedido pelo Dr. G. Blaschke e Dr. M.J. Surpili) racêmicos foram preparadas em metanol na concentração de 200 µg/ml para ambas as soluções. A solução de praziquantel foi diluída para obtenção das concentrações de 0,1; 1; 4; 12; 30 e 100 µg/ml de metanol e da solução do seu principal metabólito trans-4-hidroxipraziquantel obteve-se as concentrações de 1; 10; 20; 40; 120 e 300 µg/mL de metanol para a análise em plasma humano. O diazepam, padrão interno utilizado, foi preparado em metanol na concentração de 50 ng/ml.

Os solventes de extração (éter metil-tert-butílico e diclorometano) do praziquantel e seu principal metabólito foram obtidos da J. T. Baker (México) e Merck (Darmstadt, Alemanha), respectivamente. O n-hexano, constituinte da fase móvel do sistema de detecção por espectrometria de massas (LC-MS/MS), foi obtido da Acros (Nova Jersey, EUA). O acetato de amônio utilizado na infusão pós-coluna e os outros solventes utilizados no preparo

das soluções e da fase móvel foram obtidos da J. T. Baker (México) como grau cromatografia. A água passou pelo processo de purificação através do sistema Milli-Q Plus (Millipore, Bedford, MA, EUA).

3.3.2.2 Análise Cromatográfica

O sistema HPLC foi constituído por cromatógrafo Shimadzu (Kyoto, Japão) composto por bomba (modelo LC-10 AD), forno de coluna à temperatura de 23°C (modelo CTO-10 AS) e auto-injetor à temperatura de 12°C (modelo SIL-10 AD). O detector por espectrometria de massas (Micromass, Manchester, UK) modelo Quattro Micro operou com energia capilar, energia de cone, energia de extrator, temperatura da fonte e temperatura de dessolvatação em, respectivamente, 4,0Kv; 30V; 3,0V; 100°C e 250°C . O nitrogênio foi usado como gás nebulizador a 416L h^{-1} . O argônio foi usado como gás de colisão a uma pressão aproximada de $2,23 \times 10^{-3}$ mbar. Para registrar e integrar os picos foi empregado o software MassLynx® (Micromass, Manchester, UK), versão 3,5. Foi utilizado um sistema de injeção Rheodyne (Cotati, CA, EUA), modelo 7125, com amostrador de 20 μl .

Os enantiômeros do praziquantel e do seu principal metabólito foram separados em coluna de fase quiral Chiralpak® AD, partículas de 10 μm , 250 x 4,6mm (Chiral Technologies Inc, Exton, PA, EUA) com pré-coluna LiChrospher® 100 CN, partículas de 5 μm , 4 x 4mm (Merck, Damstadt, Alemanha). A eluição do praziquantel e do seu metabólito na coluna Chiralpak® AD foi obtida com fase móvel constituída por n-hexano/isopropanol (75:25, v/v), na vazão de 1,2ml/min. A infusão pós-coluna de solução composta de etanol:acetato de amônio 10mmol L $^{-1}$ (95:5, v/v) eluiu pelo sistema na vazão de 0,25ml/min. Foi empregado o interfaceamento por electrospray. O modo de ionização das moléculas foi positivo com o equipamento operando em modo de monitorização seletiva de íons. Desta forma foram analisadas as seguintes transições massa/carga (m/z): 313 > 203 para os enantiômeros do praziquantel, 329 > 203 para os enantiômeros do trans-4-hidroxipraziquantel e 285,20 > 154,10 para o diazepam.

3.3.2.3 Método de preparo das amostras

A alíquotas de 1 ml de plasma foram adicionados 25 μ l da solução de padrão interno diazepam (50ng/ml). As amostras foram agitadas em vórtex por 2-3 segundos e extraídas com 6 ml da mistura éter metil-tert-butílico/diclorometano (2:1, v/v). As extrações foram realizadas através de agitação mecânica por 30 minutos (agitador horizontal, 300 \pm 10 ciclos/min), seguida de centrifugação (2000mg por 10 minutos) e separação das fases orgânicas. As fases orgânicas recuperadas em volume definido (5ml) foram concentradas até a secura e os resíduos foram dissolvidos em 200 μ l da fase móvel, dos quais 130 μ l foram submetidos à análise cromatográfica.

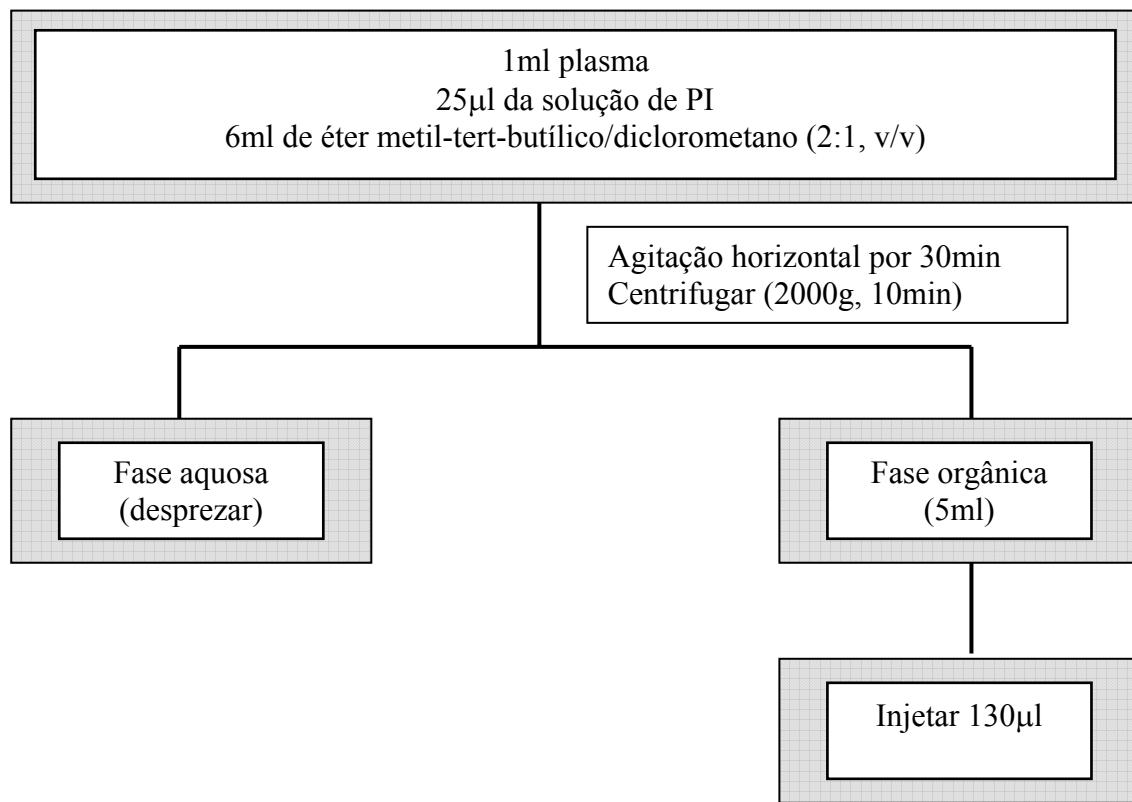


FIGURA 6- Fluxograma do procedimento de extração para análise dos enantiômeros do praziquantel e do seu principal metabólito trans-4-hidroxipraziquantel.

3.3.2.4 *Validação*

O método foi validado com base nos parâmetros analíticos linearidade, recuperação, precisão e exatidão intra e inter-ensaios, limite de quantificação, estabilidade e supressão do íon. O método de análise dos enantiômeros do praziquantel e do seu principal metabólito em plasma humano foram validados de acordo com as recomendações da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Resolução nº 899, 2003) para a análise em fluidos biológicos.

3.3.2.4.1. *Linearidade*

A linearidade foi definida como a maior concentração plasmática que apresentou relação linear com a resposta do detector. Alíquotas de 1mL de plasma humano enriquecidas com 25 μ L das soluções padrão de praziquantel e trans-4-hidroxipraziquantel e 25 μ L da solução de PI, foram submetidas aos processos de extração especificados anteriormente. As curvas de calibração foram construídas no intervalo de 1,25 a 1250ng de cada enantiômero do praziquantel e 12,5 a 3750ng de cada enantiômero do trans-4-hidroxipraziquantel por mL de plasma humano. As equações de regressão linear e os coeficientes de correlação foram obtidos das áreas dos picos plotadas em função das respectivas concentrações.

3.3.2.4.2. *Recuperação*

A recuperação do praziquantel, trans-4-hidroxipraziquantel e diazepam foi avaliada, em duplicata, nas concentrações de 3; 500 e 1000ng de cada enantiômero do praziquantel por mL de plasma, 30; 1500 e 2850ng de cada enantiômero do trans-4-hidroxipraziquantel por mL de plasma e 50ng do diazepam por ml de plasma, seguindo o protocolo descrito no preparo das amostras. As áreas dos picos das amostras extraídas foram comparadas com as áreas dos picos das soluções-padrão adicionadas a extratos de plasma branco e não submetidas ao processo de extração.

3.3.2.4.3 Precisão e Exatidão

A precisão e a exatidão foram avaliadas nas concentrações de 3, 500 e 1000ng de cada enantiômero do praziquantel por mL de plasma e 30, 1500 e 2850ng de cada enantiômero do trans-4-hidroxipraziquantel por ml de plasma. As soluções foram separadas em alíquotas e armazenadas a – 20 °C e sob a proteção da luz até a análise.

Para a avaliação da precisão intra-ensaio foram analisadas 5 alíquotas de cada amostra através de uma única curva de calibração e na avaliação da precisão inter-ensaios foram analisadas alíquotas, em duplicata, das amostras durante 5 dias consecutivos.

3.3.2.4.4. Limite de Quantificação

O limite de quantificação (LQ) foi definido como a menor concentração quantificada de cada enantiômero com coeficiente de variação (precisão) e erro (exatidão) igual ou inferior a 20 %. Foram avaliadas quintuplicatas de amostras de plasma enriquecidas com praziquantel e trans-4-hidroxipraziquantel nas concentrações de 1,25 e 12,5ng de cada enantiômero por mL de plasma, respectivamente.

3.3.2.4.5. Estabilidade

Para verificar a estabilidade em ciclos de congelamento e descongelamento, amostras de plasma enriquecidas com concentrações baixas (3ng de cada enantiômero do praziquantel e 30ng de cada enantiômero do trans-4-hidroxipraziquantel) e amostras enriquecidas com concentrações altas (1000 ng de cada enantiômero do praziquantel e 2850ng de cada enantiômero do trans-4-hidroxipraziquantel), em triplicata, foram congeladas a -20°C e após 24h foram descongeladas e novamente congeladas por 12h. Este ciclo foi repetido por mais duas vezes, analisando-se os fármacos após o término do terceiro ciclo. A estabilidade das amostras de plasma enriquecidas também foi determinada após a manutenção durante 6h em temperatura ambiente de 25°C. Os resultados dos testes de estabilidade foram comparados com os resultados de amostras recém preparadas e analisados com base na % de desvio.

3.3.2.4.6. Efeito da matriz

O efeito da matriz foi avaliado em seis diferentes lotes de plasma branco enriquecidos nas concentrações de 500ng de cada enantiômero do praziquantel por mL de plasma, 1500ng de cada enantiômero do trans-4-hidroxipraziquantel por mL de plasma e 50ng do diazepam por ml de plasma, seguindo o protocolo descrito no preparo das amostras. As áreas dos picos das amostras extraídas foram comparadas com as áreas dos picos das soluções-padrão injetadas diretamente na fase móvel e não submetidas ao processo de extração.

3.3.2.5 Análise farmacocinética

Os parâmetros farmacocinéticos foram calculados com base nas curvas de concentração plasmática do sulfona de albendazol, dos enantiômeros do sulfóxido de albendazol, dos enantiômeros do praziquantel e dos enantiômeros do trans-4-hidroxipraziquantel *versus* tempo. Foi empregado o programa WinNonlin, versão 4,0 (Pharsight Corp, Mountain View, Califórnia, EUA). Os cálculos foram realizados empregando cinética de primeira ordem, modelo monocompartimental e com *lag time*.

3.3.2.5.Análise estatística

Os testes estatísticos para a análise dos dados experimentais foram realizados com auxílio do software Graphpad Instat® para obtenção da média, mediana, desvio padrão (SD), erro padrão médio (EPM) e intervalo de confiança (IC) de 95%. Foi utilizado teste não paramétrico para dados pareados (comparação entre os enantiômeros) com nível de significância estabelecido para $p \leq 0,05$.

4 Resultados

4.1 Validação parcial do método de análise do sulfona de albendazol e dos enantiômeros do sulfóxido de albendazol em plasma humano

4.1.1 Limite de quantificação

As menores concentrações plasmáticas de (+) ASOX, (-) ASOX e ASON quantificadas no presente estudo com coeficientes de variação (precisão) e % de desvio (exatidão) iguais ou menores que 20%, estão apresentadas na TABELA 3.

TABELA 3-Limites de quantificação do ASON e dos enantiômeros do ASOX

fármaco	Concentração (ng/ml)	Precisão (%)	exatidão (%)
(+)-ASOX	2,5	18,91	87,34
(-)-ASOX	2,5	19,51	117,99
ASON	1	19,13	84,77

4.2 Validação do método de análise dos enantiômeros do praziquantel e do seu principal metabólito em plasma humano

4.2.1 Linearidade

As equações de regressão linear e os respectivos coeficientes de correlação linear (r^2) obtidos no teste de linearidade para os enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ estão apresentados na tabela abaixo.

TABELA 4- Linearidade do método de análise dos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ

fármaco	concentração (ng/ml)	equação de regressão linear (r^2)	
(+)-(S)-PZQ	1,25-1250 ng/ml	$Y= 0,003x - 0,064$	(0,9964)
(-)-(R)-PZQ	1,25-1250 ng/ml	$Y= 0,0025x - 0,0261$	(0,9943)
(-)-(R)-4-OHPZQ	12,5-3750 ng/ml	$Y= 0,0002x - 0,0095$	(0,9995)
(+)-(S)-4-OHPZQ	12,5-3750 ng/ml	$Y= 0,0002x - 0,0095$	(0,9995)

4.2.2 Recuperação

Os resultados obtidos no estudo da recuperação absoluta dos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ são apresentados na tabela 5.

TABELA 5- Recuperação absoluta dos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ em plasma humano

fármaco	concentração (ng/ml)	recuperação(%)
(+)-(S)-PZQ	3	86,99
	500	98,51
	1000	97,33
(-)-(R)-PZQ	3	83,33
	500	94,47
	1000	90,61
(-)-(R)-4-OHPZQ	30	78,26
	1500	84,56
	2850	92,97
(+)-(S)-4-OHPZQ	30	85,96
	1500	90,90
	2850	92,74

4.2.3 Precisão intra-ensaio e interensaios

Os resultados obtidos no estudo da precisão intra e interensaios, do método analítico em estudo, são apresentados nas tabelas 6 e 7, respectivamente. Os dados mostram coeficientes de variação < 20%.

TABELA 6- Precisão intra-ensaio para os enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ.

fármaco	Concentração (ng/ml)	CV (%)
(+)-(S)-PZQ	3	8,46
	500	12,88
	1000	8,90
(-)-(R)-PZQ	3	8,94
	500	4,78
	1000	9,49
(-)-(R)-4-OHPZQ	30	8,84
	1500	14,77
	2850	10,25
(+)-(S)-4-OHPZQ	30	10,30
	1500	6,07
	2850	9,13

TABELA 7- Precisão interensaios para os enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ em plasma humano

fármaco	concentração (ng/ml)	CV (%)
(+)-(S)-PZQ	3	3,25
	500	4,05
	1000	9,97
(-)-(R)-PZQ	3	4,69
	500	11,40
	1000	7,42
(-)-(R)-4-OHPZQ	30	4,78
	1500	6,5
	2850	5,83
(+)-(S)-4-OHPZQ	30	4,52
	1500	8,31
	2850	2,96

4.2.4 Exatidão intra-ensaio e inter-ensaio

Os resultados obtidos no estudo da exatidão intra e interensaios do método analítico em estudo, são apresentados nas tabelas 8 e 9, respectivamente.

TABELA 8- Exatidão intra-ensaio para os enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ em plasma humano

fármaco	concentração (ng/ml)	exatidão (%)
(+)-(S)-PZQ	3	105,4
	500	102,35
	1000	107,81
(-)-(R)-PZQ	3	99,86
	500	90,60
	1000	96,66
(-)-(R)-4-OHPZQ	30	107,47
	1500	97,39
	2850	110,74
(+)-(S)-4-OHPZQ	30	84,91
	1500	92,53
	2850	107,92

TABELA 9- Exatidão interensaios para os enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ em plasma humano

fármaco	Concentração(ng/ml)	exatidão (%)
(+)-(S)-PZQ	3	92,53
	500	108,58
	1000	103,08
(-)-(R)-PZQ	3	95,26
	500	93,87
	1000	105,05
(-)-(R)-4-OHPZQ	30	92,10
	1500	94,11
	2850	109,91
(+)-(S)-4-OHPZQ	30	87,00
	1500	93,93
	2850	112,28

4.2.5 Limite de Quantificação

As menores concentrações plasmáticas dos enantiômeros do PZQ e do 4-OHPZQ, quantificadas no presente estudo com precisão e exatidão aceitáveis, estão apresentadas na tabela 10.

TABELA 10-Limite de quantificação dos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ em plasma humano

fármaco	Concentração (ng/ml)	Precisão (%)	Exatidão (%)
(+)-(S)-PZQ	1,25	11,24	94,72
(-)-(R)-PZQ	1,25	7,01	91,50
(-)-(R)-4-OHPZQ	12,5	5,84	93,35
(+)-(S)-4-OHPZQ	12,5	12,32	98,98

4.2.6 Estabilidade

TABELA 11- Estabilidade dos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ em plasma humano

fármaco	Concentração(ng/ml)	curta duração 6 h (% desvio)	cong/descong (% desvio)
(+)-(S)-PZQ	3,0	2,76	8,20
	1000,0	8,82	2,24
(-)-(R)-PZQ	3,0	4,00	13,81
	1000,0	9,61	10,91
(-)-(R)-4-OHPZQ	30,0	9,63	11,42
	2850,0	2,41	1,20
(+)-(S)-4-OHPZQ	30,0	10,81	9,80
	2850,0	11,50	5,05

4.2.7 Efeito da matriz

TABELA 12- Efeito da matriz na análise dos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ em 6 diferentes lotes de plasma humano

fármaco	Concentração (ng/ml)	efeito da matriz (%)
(+)-(S)-PZQ	500,00	98,51
(-)-(R)-PZQ	500,00	94,47
(-)-(R)-4-OHPZQ	1500,00	84,56
(+)-(S)-4-OHPZQ	1500,00	90,90
PI (diazepam)	50,00	93,34

4.3 Disposição cinética do ASON e dos enantiômeros do ASOX em voluntários sadios

As concentrações plasmáticas do ASON e de cada enantiômero do ASOX, obtidas até 48 h após a administração de dose única de 400 mg de albendazol (n=9) a voluntários sadios, foram maiores que os respectivos limites de quantificação apresentados na TABELA 3. Os cromatogramas apresentados na FIGURA 7 confirmam a boa resolução dos picos nas condições cromatográficas descritas (FIGURA 5) e a não interferência da co-administração de praziquantel.

FIGURA 7- Cromatogramas referentes às amostras de (A) plasma branco; (B) plasma branco enriquecido com solução padrão de ASOX (ng/ml) e ASON (ng/ml); (C) plasma de voluntário após 3 h da administração oral de albendazol e (D) plasma branco enriquecido com solução padrão de ASOX , ASON , PZQ e 4-OHPZQ.

TABELA 13- Disposição cinética dos enantiômeros (+) e (-)-ASOX em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol (FASE 1). Dados expressos através da mediana e média (IC 95%).

Parâmetros	(+)-ASOX		(-)-ASOX	
	Mediana		Mediana	
	Média (IC 95%)		Média (IC 95%)	
AUC $^{0-\infty}$ (ng.h/ml)	989,42		139,59*	
	1290,30 (610,23-1970,4)		165,5 (68,30-262,71)	
Cmax (ng/ml)	40,70		20,71*	
	48,64 (19,7-77,5)		28,06 (8,02-48,10)	
Tmax (h)	3,61		1,78*	
	3,72 (2,66-4,7)		1,93 (0,88-2,99)	
t _{1/2} (h)	15,69		3,05*	
	17,31 (19,49-21,13)		3,66 (1,27-6,04)	
K ₀₁ (h ⁻¹)	0,69		0,55	
	0,85 (0,49-1,21)		1,13 (0,18-2,08)	
AUC ₍₊₎ /AUC ₍₋₎	7,08			
	7,79 (8,93-7,50)			

*p ≤ 0,05; teste de Wilcoxon

TABELA 14- Disposição cinética dos enantiômeros (+) e (-)-ASOX em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol e 1500mg de praziquantel (FASE 3). Dados expressos através da mediana e média (IC 95%).

Parâmetros	(+)-ASOX		(-)-ASOX	
	Mediana		Mediana	
	Média (IC 95%)		Média (IC 95%)	
AUC $^{0-\infty}$ (ng.h/ml)	2591,80		500,28*	
	2215,04 (1106,6-3323,5)		436,42 (198,43-674,42)	
Cmax (ng/ml)	97,27		50,30*	
	94,75 (41,99-147,51)		46,17 (24,43-67,91)	
Tmax (h)	4,93		2,88*	
	5,04 (3,41-6,67)		2,67 (1,82-3,51)	
t _{1/2} (h)	12,48		3,21*	
	12,87 (9,58-16,17)		4,09 (2,28-5,91)	
K ₀₁ (h ⁻¹)	1,33		0,80	
	1,77 (0,75-2,79)		1,30 (0,54-2,06)	
AUC ₍₊₎ /AUC ₍₋₎	5,18			
	5,07 (5,57-4,92)			

* p ≤ 0,05; teste de Wilcoxon

TABELA 15- Disposição cinética do enantiômero (+)-ASOX em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol (FASE 1) ou com dose única de 1500mg de praziquantel e 400 mg de albendazol (FASE 3). Dados expressos através da mediana e média (IC 95%).

(+)-ASOX		
Parâmetros	FASE 1 (ABZ)	FASE 3 (ABZ + PZQ)
AUC $^{0-\infty}$ (ng.h/ml)	989,42 1290,30 (610,23-1970,4)	2591,80* 2215,04 (1106,6-3323,5)
Cmax (ng/ml)	40,70 48,64 (19,7-77,5)	97,27* 94,75 (41,99-147,51)
Tmax (h)	3,61 3,72 (2,66-4,7)	4,93 5,04 (3,41-6,67)
t1/2 (h)	15,69 17,31 (19,49-21,13)	12,48* 12,87 (9,58-16,17)
K 01 (h ⁻¹)	0,69 0,85 (0,49-1,21)	1,33 1,77 (0,75-2,79)

* p ≤ 0,05; teste de Wilcoxon

TABELA 16- Disposição cinética do enantiômero (-)-ASOX em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol (FASE 1) ou tratados com dose única de 1500mg de praziquantel e 400 mg de albendazol (FASE 3). Dados expressos através da mediana e média (IC 95%).

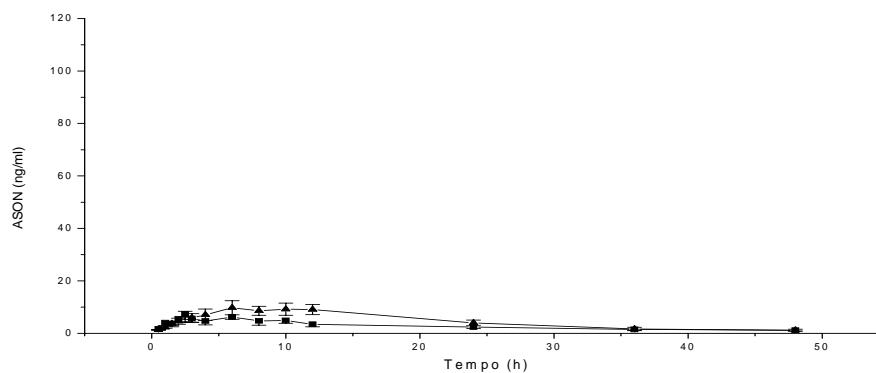
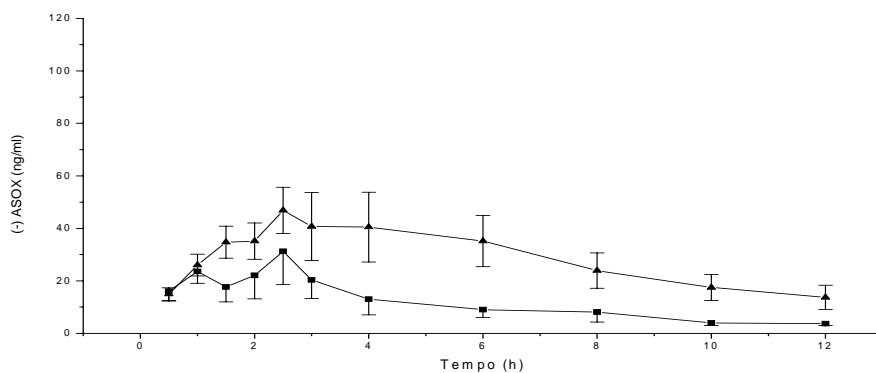
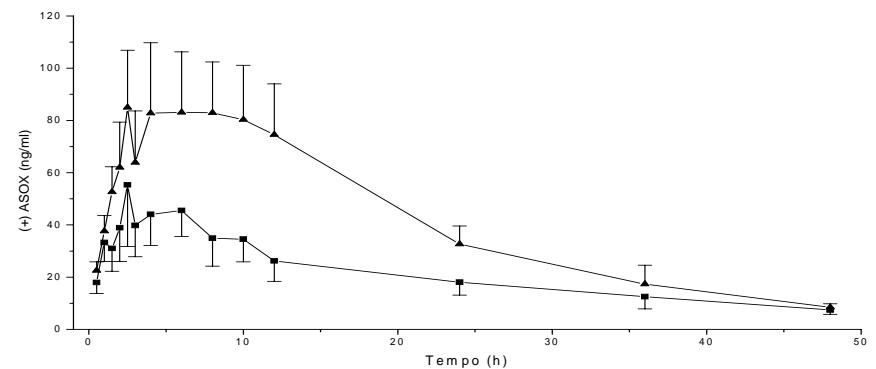
(-)-ASOX		
Parâmetros	FASE 1 (ABZ)	FASE 3 (ABZ + PZQ)
AUC $^{0-\infty}$ (ng.h/ml)	139,59 165,5 (68,30-262,71)	500,28* 436,42 (198,43-674,42)
Cmax (ng/ml)	20,71 28,06 (8,02-48,10)	50,30* 46,17 (24,43-67,91)
Tmax (h)	1,78 1,93 (0,88-2,99)	2,88 2,67 (1,82-3,51)
t1/2 (h)	3,05 3,66 (1,27-6,04)	3,21 4,09 (2,28-5,91)
K 01 (h ⁻¹)	0,55 1,13 (0,18-2,08)	0,80 1,30 (0,54-2,06)

* p ≤ 0,05; teste de Wilcoxon

TABELA 17- Disposição cinética do enantiômero ASON em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol (FASE 1) ou tratados com dose única de 1500mg de praziquantel e 400 mg de albendazol (FASE 3). Dados expressos através da mediana e média (IC 95%).

Parâmetros	ASON	
	FASE 1 (ABZ)	FASE 3 (ABZ + PZQ)
AUC $^{0-\infty}$ (ng.h/ml)	170,85 179,23 (92,43-266,03)	319,50* 261,60 (149,05-374,15)
Cmax (ng/ml)	5,89 6,18 (2,99-9,36)	10,20* 9,64 (5,03-14,25)
Tmax (h)	5,07 5,62 (3,36-7,88)	7,90 7,24 (5,08-9,40)
t _{1/2} (h)	15,47 16,45 (13,59-19,32)	10,20 13,10 (7,83-18,37)
K ₀₁ (h ⁻¹)	1,26 1,63 (0,64-2,61)	3,28 3,51 (1,74-5,29)

*P ≤ 0,05; teste de Wilcoxon



■ albendazol ▲ albendazol + praziquantel

FIGURA 8-Concentrações plasmáticas *versus* tempo do ASON e dos enantiômeros do ASOX na administração de albendazol (400 mg) ou albendazol associado ao praziquantel (1500mg). Dados expressos através da média \pm EPM (n=9).

4.4 Disposição cinética e metabolismo do Praziquantel e 4-OHPZQ

O método desenvolvido para a resolução cromatográfica dos enantiômeros do PZQ e do 4-OHPZQ descrito e validado apresentou boa resolução dos picos (FIGURA 9) nas condições cromatográficas descritas (FIGURA 6).

FIGURA 9- Cromatogramas referentes às amostras de (A) plasma branco; (B) plasma branco enriquecido com solução padrão dos enantiômeros do PZQ (ng/ml) e 4-OHPZQ (ng/ml); (C) plasma de voluntário em tratamento com PZQ.

TABELA 18- Disposição cinética dos enantiômeros (+)-(S) e (-)-(R)-PZQ em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 1500g de praziquantel (FASE 2). Dados expressos através da mediana e média (IC 95%).

Parâmetros	(+)-(S)-PZQ		(-)-(R)-PZQ	
	Mediana		Mediana	
	Média (IC 95%)		Média (IC 95%)	
AUC $^{0-\infty}$ (ng.h/ml)	1541,60		518,02*	
	2993,86 (964,46-5023,3)		865,10 (86,44-1643,8)	
Cmax (ng/ml)	354,72		98,30*	
	517,11 (181,61-852,62)		158,62 (5,97-311,26)	
Tmax (h)	2,33		2,43	
	2,55 (2,14-2,95)		2,67 (2,15-3,18)	
t1/2 (h)	1,33		1,34	
	1,46 (1,21-1,71)		1,55 (1,24-1,85)	
Cl/F (L/h/Kg)	0,65		1,93*	
	0,65 (0,22-1,08)		1,93 (0,95-2,95)	
Vd/F (L Kg $^{-1}$)	1,40		4,66*	
	1,03 (0,28-2,53)		3,74 (2,05-7,27)	
AUC ₍₊₎ /AUC ₍₋₎		2,97		
		3,46 (11,15-3,05)		

* p ≤ 0,05; teste de Wilcoxon

TABELA 19- Disposição cinética dos enantiômeros (+)-(S) e (-)-(R)-PZQ em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 1500mg de praziquantel e 400 mg de albendazol (FASE 3).

Parâmetros	(+)-(S)-PZQ		(-)-(R)-PZQ	
	Mediana		Mediana	
	Média (IC 95%)		Média (IC 95%)	
AUC $^{0-\infty}$ (ng.h/ml)	2805,50		853,57*	
	3025,43 (1445,9-4605)		1532,97 (222,64-2843,3)	
Cmax (ng/ml)	415,16		143,11*	
	449,63 (240,25-659,01)		244,60 (70,39-418,82)	
Tmax (h)	2,53		2,59	
	2,76 (2,26-3,26)		2,73 (2,13-3,32)	
t1/2 (h)	1,64		1,42*	
	1,67 (1,47-1,87)		1,49 (1,28-1,69)	
Cl/F (L/h/Kg)	0,36		1,32*	
	0,52 (0,24-0,81)		77,77 (-98,29-253,85)	
Vd/F (L Kg $^{-1}$)	1,23		2,92*	
	0,88 (0,57-1,88)		2,62 (1,09-4,74)	
AUC ₍₊₎ /AUC ₍₋₎		3,28		
		1,97 (6,49-1,61)		

* p ≤ 0,05; teste de Wilcoxon

TABELA 20- Disposição cinética dos enantiômeros (+)-(S) e (-)-(R)-4-OHPZQ em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 1500mg de praziquantel (FASE 2). Dados expressos através da mediana e média (IC 95%).

Parâmetros	(+)-(S)-4-OHPZQ	(-)-(R)-4-OHPZQ
	Mediana	Mediana
	Média (IC 95%)	Média (IC 95%)
AUC $^{0-\infty}$ (ng.h/ml)	3632,80 5599,23 (2892,4-8216,1)	4633,40* 8795,36 (3080,4-14510)
Cmax (ng/ml)	474,55 776,44 (405,44-1147,4)	835,58* 1314,84 (577,48-2052,2)
Tmax (h)	3,28 3,05 (2,64-3,46)	2,72 2,72 (2,39-3,04)
t _{1/2} (h)	2,02 1,91 (1,55-2,27)	1,77 1,70 (1,39-2,01)
AUC ₍₋₎ /AUC ₍₊₎	1,27 1,57 (1,06-1,76)	

* p ≤ 0,05; teste de Wilcoxon

TABELA 21- Disposição cinética dos enantiômeros (+)-(S) e (-)-(R)-4-OHPZQ em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 1500mg de praziquantel e 400 mg de albendazol (FASE 3). Dados expressos através da mediana e média (IC 95%).

Parâmetros	(+)-(S)-4-OHPZQ	(-)-(R)-4-OHPZQ
	Mediana	Mediana
	Média (IC 95%)	Média (IC 95%)
AUC $^{0-\infty}$ (ng.h/ml)	5044,50 9123,16 (3793-14453)	2893,20* 5381,54 (1459,3-9303,8)
Cmax (ng/ml)	811,02 1070,83 (500,92-1640,7)	372,64* 789,33 (111,54-1467,1)
Tmax (h)	2,45 3,27 (1,90-4,63)	3,07 2,77 (2,21-3,33)
t _{1/2} (h)	1,70 2,14 (1,34-2,93)	1,89 1,84 (1,51-2,18)
AUC ₍₊₎ /AUC ₍₋₎	1,74 1,69 (2,59-1,55)	

* p ≤ 0,05; teste de Wilcoxon

TABELA 22- Disposição cinética do enantiômero (+)-(S)-PZQ em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 1500g de praziquantel (FASE 2) ou com dose única de 1500mg de praziquantel e 400 mg de albendazol (FASE 3). Dados expressos através da mediana e média (IC 95%).

Parâmetros	(+)-(S)-PZQ	
	FASE 2 (PZQ)	FASE 3 (ABZ + PZQ)
AUC $^{0-\infty}$ (ng.h/ml)	1541,60 2993,86 (964,46-5023,3)	2805,50 3025,43 (1445,9-4605)
Cmax (ng/ml)	354,72 517,11 (181,61-852,62)	415,16 449,63 (240,25-659,01)
Tmax (h)	2,33 2,55 (2,14-2,95)	2,53 2,76 (2,26-3,26)
t1/2 (h)	1,33 1,46 (1,21-1,71)	1,64 1,67 (1,47-1,87)
Cl/F (L/h/Kg)	0,65 0,65 (0,22-1,08)	0,36 0,52 (0,24-0,81)
Vd/F (L Kg $^{-1}$)	1,40 1,03 (0,28-2,53)	1,23 0,88 (0,57-1,88)

* p ≤ 0,05; teste de Wilcoxon

TABELA 23- Disposição cinética do enantiômero (-)-(R)-PZQ em voluntários sadios (n=9) quando tratados com dose única de 1500mg de praziquantel (FASE 2) e quando tratados com dose única de 1500mg de praziquantel e 400 mg de albendazol (FASE 3). Dados expressos através da mediana e média (IC 95%).

Parâmetros	(-)-(R)-PZQ	
	FASE 2 (PZQ)	FASE 3 (ABZ + PZQ)
AUC $^{0-\infty}$ (ng.h/ml)	518,02 865,10 (86,44-1643,8)	853,57* 1532,97 (222,64-2843,3)
Cmax (ng/ml)	98,30 158,62 (5,97-311,26)	143,11* 244,60 (70,39-418,82)
Tmax (h)	2,43 2,67 (2,15-3,18)	2,59 2,73 (2,13-3,32)
t1/2 (h)	1,34 1,55 (1,24-1,85)	1,42 1,49 (1,28-1,69)
Cl/F (L/h/Kg)	1,93 1,93 (0,95-2,95)	1,32 77,77 (-98,29-253,85)
Vd/F (L Kg $^{-1}$)	4,66 3,74 (2,05-7,27)	2,92 2,62 (1,09-4,74)

* p ≤ 0,05; teste de Wilcoxon

TABELA 24- Disposição cinética do enantiômero (-)-(R)-4-OHPZQ em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 1500mg de praziquantel (FASE 2) ou tratados com dose única de 1500mg de praziquantel e 400 mg de albendazol (FASE 3). Dados expressos através da mediana e média (IC 95%).

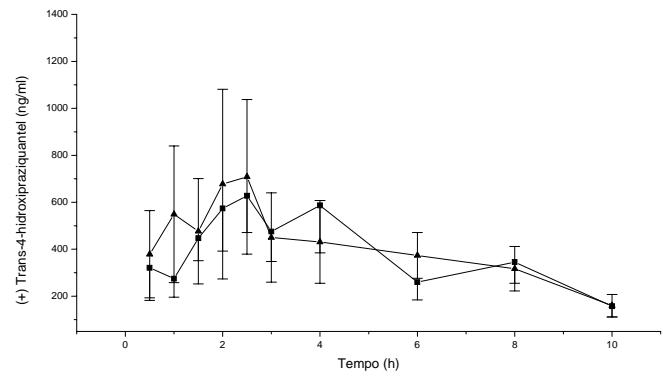
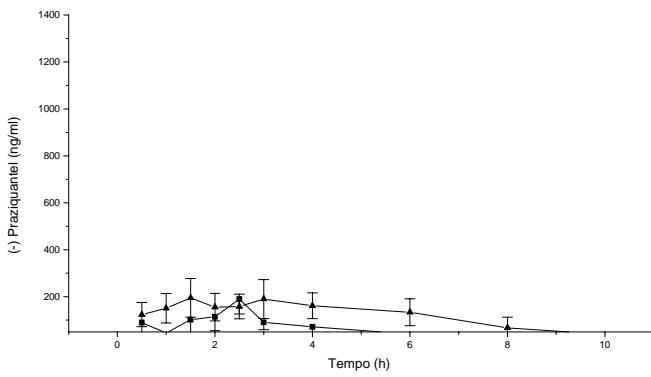
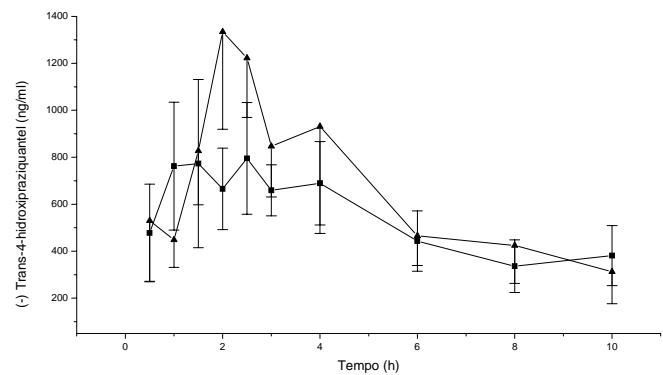
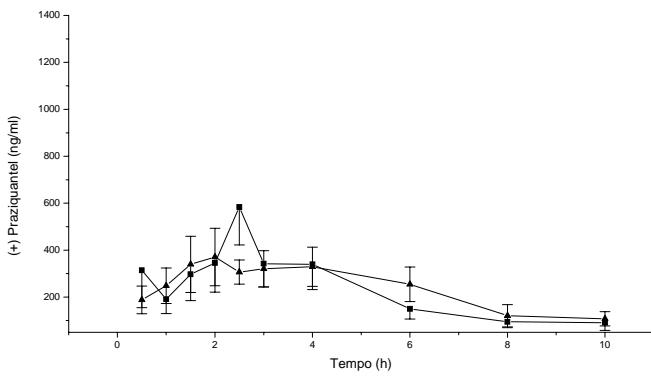
(-)-(R)-4-OHPZQ		
Parâmetros	FASE 2 (PZQ)	FASE 3 (ABZ + PZQ)
AUC $^{0-\infty}$ (ng.h/ml)	4633,40 8795,36 (3080,4-14510)	2893,20 5381,54 (1459,3-9303,8)
Cmax (ng/ml)	835,58 1314,84 (577,48-2052,2)	372,64 789,33 (111,54-1467,1)
Tmax (h)	2,72 2,72 (2,39-3,04)	3,07 2,77 (2,21-3,33)
t1/2 (h)	1,77 1,70 (1,39-2,01)	1,89 1,84 (1,51-2,18)

* p ≤ 0,05; teste de Wilcoxon

TABELA 25- Disposição cinética do enantiômero (+)-(S)-4-OHPZQ em voluntários sadios (n=9) quando tratados com dose única de 1500mg de praziquantel (FASE 2) ou tratados com dose única de 1500mg de praziquantel e 400 mg de albendazol (FASE 3). Dados expressos através da mediana e média (IC 95%).

(+)-(S)-4-OHPZQ		
Parâmetros	FASE 2 (PZQ)	FASE 3 (ABZ + PZQ)
AUC $^{0-\infty}$ (ng.h/ml)	3632,80 5599,23 (2892,4-8216,1)	5044,50 9123,16 (3793-14453)
Cmax (ng/ml)	474,55 776,44 (405,44-1147,4)	811,02 1070,83 (500,92-1640,7)
Tmax (h)	3,28 3,05 (2,64-3,46)	2,45 3,27 (1,90-4,63)
t1/2 (h)	2,02 1,91 (1,55-2,27)	1,70 2,14 (1,34-2,93)

* p ≤ 0,05; teste de Wilcoxon



■ praziquantel ▲ albendazol + praziquantel

FIGURA 10- Concentrações plasmáticas *versus* tempo dos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ na administração de PZQ (1500mg) ou PZQ associado ao albendazol (400 mg). Dados expressos através da média \pm EPM (n=9)

5 Discussão

O estudo abrange a investigação da disposição cinética, metabolismo e enantiosseletividade na associação ABZ-PZQ em voluntários sadios. O objetivo da investigação exige a disponibilidade de métodos analíticos para a quantificação dos metabólitos do ABZ, enantiômeros do PZQ e do 4-OHPZQ com capacidade de discriminação quiral e com limites de confiança compatíveis com as baixas concentrações plasmáticas encontradas em plasma humano. Os métodos analíticos utilizados foram validados com base nas normas exigidas para a aplicação em estudos de farmacocinética.

A alta eliminação pré-sistêmica do albendazol associada ao rápido e aparentemente completo metabolismo a sulfóxido de albendazol inviabilizam a possibilidade de quantificação do fármaco inalterado no plasma (LANCHOTE et al., 2004). Consequentemente, o estudo farmacocinético é limitado aos metabólitos da S-oxidação: (+)-ASOX, (-)-ASOX e ASON.

O método de análise seqüencial do ASON e dos enantiômeros do ASOX foi previamente desenvolvido e validado em estudo anterior do grupo (RODRIGUES, 2004). O método foi novamente validado quanto ao limite de quantificação com o objetivo de garantir a análise das amostras de plasma oriundas do estudo de administração de dose única de ABZ (400 mg). O limite de quantificação de 2,5 ng/ml para cada enantiômero do ASOX e 1 ng/ml para o ASON (TABELA 3) permitiu a análise do (+)-ASOX e do ASON até 48 h após a administração e do (-)-ASOX até 12 h após a administração. A figura 7 confirma a seletividade do método demonstrando que o emprego de HPLC com detecção por fluorescência é capaz de discriminar o ASON e os enantiômeros do ASOX dos enantiômeros do PZQ e do 4-OHPZQ os quais são administrados concomitantemente na fase 3 do estudo.

A disposição cinética do ASOX é enantiosseletiva nos voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol (FASE 1). As concentrações plasmáticas do (+)-ASOX são aproximadamente 7 vezes maiores do que as do (-)-ASOX ($AUC_{(+)} / AUC_{(-)} = 7,08$; TABELA 13). Marques et al. (1999) relatam razões de $AUC_{(+)} / AUC_{(-)}$ próximas a 9,3 na investigação de pacientes portadores de neurocisticercose em tratamento com ABZ em regime de dose múltipla. Lanchote et al. (2002) relatam valores para as razões de $AUC_{(+)} / AUC_{(-)}$ variando de 5,1 a 9,0 na investigação de pacientes portadores de neurocisticercose em tratamento com ABZ associado ou não a fenitoína, carbamazepina e fenobarbital.

Os voluntários sadios quando tratados com dose única de 400mg de albendazol e 1500mg de praziquantel (FASE 3) também mostraram enantiosseletividade na disposição

cinética do ASOX. A razão enantiomérica (+)-ASOX /(-)-ASOX referente ao parâmetro AUC foi de 5,18 (TABELA 14), e portanto de acordo com os estudos anteriormente citados .

A disposição cinética do (+)-ASOX, (-)-ASOX e ASON difere significativamente ($p \leq 0,05$) entre as fases 1 e 3 do estudo (TABELAS 15, 16 e 17), respectivamente, sem e com tratamento com PZQ. Os dados evidenciam que o PZQ aumenta as concentrações plasmáticas do (+)-ASOX em 264% (AUC 980,42 vs 2591,80 ng.h/ml), do (-)-ASOX em 358% (139,59 vs 500,28 ng.h./ml) e do ASON em 187% (170,85 vs 319,50 ng.h./ml). Homeida et al. (1994) observaram que o parâmetro AUC referente ao ASOX como mistura enantiomérica aumenta 4,5 vezes em voluntários sadios tratados com dose única de PZQ. Considerando que as concentrações plasmáticas de ASOX dependem da eliminação pré-sistêmica do ABZ e da velocidade de formação do ASON, os dados permitem inferir que o PZQ altera a biodisponibilidade do ASOX, considerando que as meias-vidas de eliminação de ambos os enantiômeros do ASOX ((+)-ASOX 15,69 vs 12,48 TABELA 15 e (-)-ASOX 3,05 vs 3,21h TABELA 16) e a constante de velocidade de formação (K01) do ASON não foram influenciadas pelo PZQ (1,26 vs 3,28 h^{-1} ; TABELA 17). Considerando que a sulfoxidação do albendazol em microssomas de fígado humano parece ser mediada em proporções semelhantes pela FMO3 e pelo CYP, principalmente o CYP3A4 (RAWDEN et al., 2000) e que a indução enzimática não pode ser considerada em função da administração do PZQ em dose única, os dados permitem inferir o PZQ como inibidor da Pgp intestinal desde que o ASOX possa ser referido como seu substrato. Hayashi et al. (2006) avaliando o transporte de taxol em células Caco-2 descrevem o praziquantel como inibidor de Pgp. A Pgp (produto do gene MDR1) é uma proteína de efluxo que limita a permeabilidade de fármacos através do trato gastrintestinal bombeando ativamente os seus substratos para o lúmen intestinal. Consequentemente, a inibição da Pgp pode resultar em interações de relevância clínica em função do aumento da biodisponibilidade. Não há dados na literatura relativos ao albendazol e/ou seus metabólitos como substrato da Pgp intestinal em humanos. No entanto, Leitch et al. (2001) relatam o albendazol como substrato da Pgp de espécies de *Encephalitozoon* microsporídia e observam que inibidores da Pgp como verapamil e ciclosporina-A podem melhorar a eficácia do albendazol no tratamento de infecções por espécies de microsporidíia. Outros estudos, no entanto, fazem-se necessários para comprovar o albendazol e/ou seus metabólitos como substratos da Pgp intestinal humana.

O método empregando coluna quiral e LC-MS/MS para a análise dos enantiômeros do PZQ e do 4-OHPZQ foi desenvolvido e validado para permitir a análise seqüencial até pelo

menos 10 h após administração oral de dose única de 1500mg de PZQ. A quantificação do principal metabólito do PZQ deve-se a relatos na literatura de que o enantiômero ()-(R)-4-OHPZQ parece possuir atividade farmacológica similar ao ()-(R)-PZQ (STAUDT et al., 1992).

A separação direta dos enantiômeros do PZQ e do 4-OHPZQ foi obtida na coluna de fase estacionária quiral Chiralpak AD em 18 min. A ordem de eluição dos enantiômeros como (+)-(S)-PZQ, ()-(R)-PZQ, ()-(R)-4-OHPZQ e (+)-(S)-4-OHPZQ foi definida com base em relatos na literatura de maiores concentrações plasmáticas do (+)-(S)-PZQ e ()-(R)-4-OHPZQ (WESTHOFF, 1991; WESTHOFF; BLASCHKE, 1992).

A separação dos enantiômeros do PZQ em coluna de fase quiral foi anteriormente relatada por Westhoff e Blaschke (1992) e Kelly e Stewart (1993) empregando a coluna Chiralcel OD, por Jabor et al. (1997) empregando a coluna Chiralcel OD-H e por Liu e Stewart (1997) empregando a coluna Chiralcel OJ-R. A análise do metabólito 4-OHPZQ foi descrita apenas por Westhoff e Blaschke (1992) após a coleta individual do PZQ e do 4-OHPZQ eluídos de uma coluna de fase reversa C18.

Os métodos desenvolvidos e validados para a análise dos enantiômeros do PZQ e 4-OHPZQ em plasma empregam HPLC com detector por ultravioleta (JABOR et al., 1997; KELLY; STEWART, 1993; LIU; STEWART, 1997; WESTHOFF; BLASCHKE, 1992) ou eletroforese capilar (JABOR et al., 2001). O presente estudo descreve pela primeira vez a análise seqüencial do PZQ e do 4-OHPZQ empregando LC-MS-MS e relata limites mais baixos do aqueles até então reportados na literatura.

O estudo de efeito da matriz mostrou que o plasma humano não interfere no processo de ionização dos enantiômeros do PZQ, 4-OHPZQ e do padrão interno (TABELA 12).

A extração dos enantiômeros do PZQ e do 4-OHPZQ do plasma humano em meio básico resultou em recuperações de aproximadamente 80% para todos os enantiômeros e independentes das concentrações avaliadas (TABELA 5). O método de preparo das amostras é simples e permite a análise do grande número de amostras exigido em estudos de farmacocinética. Procedimentos mais complexos de preparação das amostras de plasma foram descritos por Westhoff e Blaschke (1992) com a inclusão de separação prévia dos compostos de interesse em coluna de fase reversa, por Kelly e Stewart (1993) e por Liu e Stewart (1997) empregando extração em fase sólida ou ainda por Jabor et al. (1997) empregando etapa prévia

de purificação das amostras de plasma em meio ácido com tolueno seguida da extração propriamente dita em meio básico.

O limite de quantificação de 1,25ng/ml de cada enantiômero do PZQ e 12,5ng/ml de cada enantiômero do 4-OHPZQ é fundamental na determinação das baixas concentrações plasmáticas decorrentes de estudos de dose única, principalmente para o enantiômero (-)-(R)-PZQ presente em menores concentrações no plasma humano (TABELA 10). O método analítico de quantificação dos enantiômeros do PZQ e do 4-OHPZQ mostrou-se mais sensível do que outros descritos na literatura empregando HPLC com detector por ultravioleta (JABOR et al, 1997; LIU; STEWART, 1997; WESTHOFF; BLASCHKE, 1992) com limite de quantificação de 5ng de cada enantiômero do PZQ/mL de plasma. Jabor e Bonato (2001) relatam limite de quantificação de 50ng/ml de cada enantiômero do PZQ empregando eletroforese capilar.

O método mostrou linearidade no intervalo de concentrações plasmáticas de 1,25-1250ng/ml para cada enantiômero do PZQ e de 12,5- 3750ng/ml para cada enantiômero do 4-OHPZQ (Tabela 4), abrangendo portanto todas as concentrações plasmáticas determinadas até 10h após a administração de dose única de 1500mg de PZQ racêmico a 9 voluntários sadios tratados ou não com albendazol (Figura 10).

Os coeficientes de variação e os erros relativos menores que 15% mostram que o método é preciso e exato para a análise seqüencial dos enantiômeros do PZQ e do 4-OHPZQ em plasma (TABELAS 6, 7, 8 e 9).

Os testes de estabilidade do PZQ e do 4-OHPZQ em plasma humano demonstram que os fármacos são estáveis durante o procedimento analítico e sob as condições de congelamento e descongelamento (TABELA 11).

A disposição cinética do PZQ é enantioseletiva nos voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 1500mg de PZQ racêmico (FASE 2). As concentrações plasmáticas do (+)-(S)-PZQ são aproximadamente 3 vezes maiores do que as do (-)-(R)-PZQ ($AUC_{(+)-(S)} / AUC_{(-)-(R)} = 2,97$; TABELA 18). Westhoff e Blaschke (1992) relatam também diferenças significativas nas concentrações plasmáticas entre os enantiômeros do PZQ em 5 voluntários sadios tratados com dose única de PZQ. Os autores relatam razões de concentrações plasmáticas (-)-(R) / (+)-(S) variando entre 0,54 e 0,33.

Em relação ao metabólito 4-OHPZQ foram observadas maiores concentrações plasmáticas do (-)-(R)-4-OHPZQ com razões de $AUC_{(-)-(R)} / AUC_{(+)-(S)} = 1,27$. (TABELA 20).

Westhoff e Blaschke (1992) relatam maiores diferenças entre os enantiômeros do 4-OHPZQ com relatos de razões $(-)-(R) / (+)-(S)$ entre 2,6 e 1,8.

Os voluntários sadios quando tratados com dose única de 400 mg de albendazol e 1500mg de PZQ racêmico (FASE 3) também mostraram enantiosseletividade na disposição cinética do PZQ e do 4-OHPZQ. A razão enantiomérica $(+)-(S)$ -PZQ $/(-)-(R)$ -PZQ e $(+)-(S)$ -4-OHPZQ $/(-)-(R)$ -4-OHPZQ referente ao parâmetro AUC foi de 3,28 e 1,74, respectivamente (TABELAS 19 e 21).

A disposição cinética do eutômero $(-)-(R)$ -PZQ difere significativamente ($p \leq 0,05$) entre as fases 2 e 3 do estudo (TABELA 23), sem e com tratamento com ABZ. Os dados evidenciam que o ABZ aumenta as concentrações plasmáticas do $(-)-(R)$ -PZQ em 64,77% (AUC 518,02 vs 853,57 ng.h/ml). A disposição cinética do $(+)-(S)$ -PZQ (TABELA 22) e dos metabólitos $(-)$ -4-OHPZQ (TABELA 24) e $(+)$ -4-OHPZQ (TABELA 25) não difere entre as fases 2 e 3 do estudo.

O aumento das concentrações plasmáticas do $(-)-(R)$ -PZQ quando administrado concomitantemente com ABZ é satisfatória do ponto de vista clínico, já que o enantiômero $(-)-(R)$ -PZQ é considerado o eutômero em termos de atividade antiesquistossomal, como é mostrado por experimentos *in vivo* e *in vitro* (XIAO; CATTO, 1989; WU et al., 1991)

O metabolismo do PZQ é dependente do CYP2B e CYP3A (MASIMIREMBWA; HASLER, 1994; GIORGIO et al., 2001). Não há dados relativos a participação das mesmas ou de diferentes enzimas no metabolismo de ambos os enantiômeros do PZQ. Baliharová et al (2005) investigando os efeitos do ABZ e seus principais metabólitos (ASOX e ASON) na atividade do CYP em microssomas hepáticos de ratos e ovelhas relatam que tanto o ABZ quanto o ASOX, mas não o ASON, inibem o CYP1A, CYP2B e CYP3A. Portanto, o aumento das concentrações plasmáticas do $(-)-(R)$ -PZQ quando administrado concomitantemente com ABZ pode ser inferido como inibição enantiosseletiva do metabolismo. Os dados ainda permitem sugerir maior participação do CYP2B e CYP3A no metabolismo do $(-)-(R)$ -PZQ quando comparado ao metabolismo do $(+)-(S)$ -PZQ. Considerando que o PZQ é referido como inibidor e não como substrato da Pgp (HAYESHI et al., 2006), a alteração farmacocinética não pode ser explicada em função de alterações na capacidade da proteína transportadora.

Concluindo, a interação farmacocinética albendazol-praziquantel foi demonstrada em voluntários sadios com observações de aumento nas concentrações plasmáticas de ASON, de ambos os enantiômeros do ASOX e do (-)-(R)-PZQ. Os dados ainda permitem sugerir a possibilidade de aumento da eficácia terapêutica na interação albendazol-praziquantel, embora outros estudos sejam necessários para avaliar a segurança da interação.

6 Conclusões

- O método desenvolvido e validado para a análise dos enantiômeros do PZQ e do 4-OHPZQ em plasma humano com limite de quantificação de 1,25 ng/ml de cada enantiômero do PZQ e 12,5 ng/ml de cada enantiômero do 4-OHPZQ é compatível com aplicação em estudos de dose única de disposição cinética e metabolismo.

- As concentrações plasmáticas do (+)-(S)-PZQ são aproximadamente 3 vezes maiores do que as do (-)-(R)-PZQ ($AUC_{(+)-(S)} / AUC_{(-)-(R)} = 2,97$) em voluntários sadios tratados com dose única de 1500mg de PZQ racêmico. As concentrações plasmáticas do (-)-(R)-4-OHPZQ são maiores do que as do (+)-(S)-4-OHPZQ ($AUC_{(-)-(R)} / AUC_{(+)-(S)} = 1,27$).

- As concentrações plasmáticas do (+)-ASOX são aproximadamente 7 vezes maiores do que as do (-)-ASOX ($AUC_{(+)} / AUC_{(-)} = 7,08$) em voluntários sadios tratados com dose única de 400 mg de albendazol.

-A administração de dose única de 1500mg PZQ racêmico a voluntários sadios resulta em aumento das concentrações plasmáticas do (+)-ASOX em 264% (AUC 980,42 vs 2591,80 ng.h/ml), do (-)-ASOX em 358% (139,59 vs 500,28 ng.h./ml) e do ASON em 187% (170,85 vs 319,50 ng.h./ml).

- A administração de dose única de 400 mg de albendazol resulta em aumento das concentrações plasmáticas somente do (-)-(R)-PZQ em 64,77% (AUC 518,02 vs 853,57 ng.h/ml). O albendazol não altera a disposição cinética do (+)-(S)-PZQ e dos metabólitos (-)-(R)-4-OHPZQ e (+)-(S)-4-OHPZQ.

7 Referências Bibliográficas

- 1) AGAPEJEV, S.; SILVA, M.D.; UEDA, A.K. Severe forms of neurocysticercosis. **Arq. Neuropsiquiatr.**, v.54, n.1, p.82-93, 1996.
- 2) AMRI, H.S.; MOTHE, O.; TOTIS, M.; MASSON, C.; BATT, A.; DELATOUR, P.; SIEST, G. Albendazole sulfonation by rat liver cytochrome P-450c. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 246, n.2, p. 758-764, 1988.
- 3) BALIHAROVÁ, V.; VELIK, J.; FIMANOVÁ, K.; LAMKA, J.; SZOTÁKOVÁ, B.; SAVLIK, M.; SKÁLOVÁ, L. Inhibitory effect of albendazole and its metabolites on cytochromes P450 activities in rat and mouflon *in vitro*. **Pharmacol. Rep.**, v.57, p. 97-106, 2005.
- 4) BERHE, N.; GUNDERSEN, S.G.; ABEBE, F.; BIRRIE, H.; MEDHIN, G.; GEMETCHU, T. Praziquantel side effects and efficacy related to *Schistosoma mansoni* egg loads and morbidity in primary school children in north-east Ethiopia. **Acta Trop.**, v. 72, p.53-63, 1999.
- 5) BERNAREGGI, A. Farmacocinetica di principi attivi chirali. **Boll. Chim. Farm.**, v.134, p.63-68, 1995.
- 6) BITTENCOURT, P.R.M.; GRACIA, C.M.; GORZ, A.M.; OLIVEIRA, T.V. High-dose praziquantel for neurocysticercosis: serum and CSF concentrations. **Acta Neurol. Scand.**, v.82, p.28-33, 1990.
- 7) CALDWELL, J. The importance of stereochemistry in drug action and disposition. **J. Clin. Pharmacol.**, v.32, p.925-929, 1992.
- 8) CARPIO, A.; ESCOBAR, A.; HAUSER, W.A. Cysticercosis and epilepsy: A critical review. **Epilepsia**, v.39, n.10, p.1025-1040, 1998.
- 9) CARPIO, A.; HAUSER, W.A. Prognosis for seizure recurrence in patients with newly diagnosed neurocysticercosis. **Neurology**, v.59, n.11, p.1730-1734, 2002.
- 10) CARPIO, A.; SANTILLÁN, F.; LEÓN, P.; FLORES, C.; HAUSER, W.A. Is the course of neurocysticercosis modified by treatment with antihelminthic agents? **Arch. Intern. Med.**, v.155, p.1982-1988, 1995.
- 11) CASTRO, N.; MEDINA, R.; SOTELO, J.; JUNG, H. Bioavailability of praziquantel increases with concomitant administration of food. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 44, n.10, p.2903-2904, 2000.

- 12) CHUANG, V.T.G.; OTAGIRI, M. Stereoselective binding of human serum albumin. **Chirality**, v.18, p. 159-166, 2006.
- 8) CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L. Praziquantel. **Parasitol. Res.**, v.90, suppl. 1, p.53-59, 2003.
- 13) CORONA, T.; LUGO, R.; MEDINA, R.; SOTELO, J. Single-day praziquantel therapy for neurocysticercosis **N. Engl. J. Med.**, v. 334, p. 125, 1996.
- 14) DEL BRUTTO, O.H.; SANTIBANEZ, R.; NOBOA, C.A.; AQUIRRE, R.; DIAZ, E.; ALARCON, T.A. Epilepsy due to neurocysticercosis: analysis of 203 patients. **Neurology**, v. 42, n.2, p.389-392, 1992.
- 15) EICHELBAUM, M. Side effects toxic reactions of chiral drugs: a clinical perspective. **Arch. Toxicol.**, v.17, p. 514-521, 1995.
- 16) ESCOBEDO, F.; PENAGOS, P.; RODRIGUES, J.; SOTELO, J. Albendazole therapy for neurocysticercosis. **Arch. Intern. Méd.**, v.147, n.4, p.738-741, 1987.
- 17) GARCÍA, H. H.; EVANS, C.A.W.; NASH, T.E.; TAKAYANAGUI, O.M.; WHITE JR., A.C.; BOTERO, D.; RAJSHEKHAR, V.; TSANG, V.C.W.; SCHANTZ, P.M.; ALLAN, J.C.; FLISSER, A.; CORREA, D.; SARTI, E.; FRIEDLAND, J.S.; MARTINEZ, S.M.; GONZALES, A.E.; GILMAN, R.H.; DEL BRUTTO, O.H. Current consensus guidelines for treatment of neurocysticercosis. **Clin Microbiol Rev**. v. 15, n.4, p.747-756, 2002.
- 18) GARCIA, H.H.; PRETELL, E.J.; GILMAN, R.H.; MARTINEZ, S.M.; MOULTON, L.H.; DEL BRUTO, O.H.; HERRERA, G.; EVANS, C.A.W.; GONZÁLES, A.E. A trial of antiparasitic treatment to reduce the rate of seizures due to cerebral cysticercosis. **N. Engl. J. Med.**, v.350, n.3, p.249-258, 2004.
- 19) GIORGI M.; SALVATORI, A.P.; SOLDANI, G.; GIUSIANI, M.; LONGO, V.; GERVASI, P.G.; MENGONZI, G. Pharmacokinetics and microsomal oxidation of praziquantel and its effects on the P450 system in three-month-old lambs infested by *Fasciola hepatica*. **J. Vet. Pharmacol. Ther.**, v. 24, p.251-259, 2001.
- 20) GOLDBERG, M.A. Praziquantel for cysticercosis of the brain parenchyma. **N. Engl. J. Med.**, v.311, p.732-734, 1984.
- 21) HAYESHI, R.; MASIMIREMBWA, C.; MUKANGANYAMA, S., UNGELL, A.B. The potential inhibitory effect of antiparasitic drugs and natural products on P-glycoprotein mediated efflux. **Eur. J. Pharm. Sci.** v. 29, p.70-81, 2006.

- 22) HOMEIDA, M.; COPELAND, W. L. S.; ALI, M. M. M.; HARRON, D. W. G. Pharmacokinetic interaction between praziquantel and albendazole in Sudanese man. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v. 88, n.5, p.551-559, 1994.
- 23) HORTON J. Albendazole: a review of anthelmintic efficacy and safety in humans. **Parasitology**, v. 121, p.S113-S132, 2000.
- 24) In: MOLINOFF, P.B.; RUDDON, R.W. (Ed.) Goodman & Gilman's. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 9th ed. New York: McGraw-Hill, 1996.p.1020-1022.
- 25) RODRIGUES, I. **Interação de antagonistas H2 no metabolismo enantioseletivo do albendazol em pacientes com neurocisticercose. Cafeína como fármaco marcador do CYP1A2.** 2004. 150f. Tese (Doutorado em Toxicologia e Análises Toxicológicas)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, Ribeirão Preto, 2004.
- 26) JABOR, V.A.P.; ROCHA, G.M.; BONATO, P.S. Enantioselective analysis of praziquantel in plasma samples. **J. Chromatogr. B.**, v.696, p.307-311, 1997.
- 27) JABOR, V.A.P.; BONATO, P.S. Enantiomeric determination of praziquantel and its main metabolite trans-4-hydroxypraziquantel in human plasma by cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography. **Electrophoresis**, v.22, p.1399-1405, 2001.
- 28) JAMALI, F.; MEHVAR, R.; PASUTTO, F.M. Enantioselective aspects of drug action and disposition: therapeutic pitfalls. **J. Pharm. Sci.**, v.78, n.9, p.695-715, 1989.
- 29) JAOKO, W.G.; MUCHEMI, G.; OGUYA, F.O. Praziquantel side effects during treatment of *Schistosoma mansoni* infected pupils in Kibwezi, Kenya. **East Afr. Med. J.**, v. 73, n.8, p.499-501, 1996.
- 30) JUNG, H.; HURTADO, M.; SANCHEZ, M.; MEDINA, T.M.; SOTELO, J. Plasma and CSF levels of albendazole and praziquantel in patients with neurocysticercosis. **Clin Neuropharm.**, v.13, p.559-564, 1990.
- 31) JUNG, H.; HURTADO, M.; SANCHEZ, M.; MEDINA, M.T.; SOTELO, J. Clinical pharmacokinetics of albendazole in patients with brain cysticercosis. **J. Clin. Pharmacol.**, v. 32, p. 28-31, 1992.
- 32) KELLY, J.W.; HE, L.; STEWART, J.T. Liquid chromatographic separation of praziquantel enantiomers in serum using a cellulose-based chiral stationary phase. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v.11, p.1141-1144, Nov-Dec, 1993.

- 33) KING, C.; MAHAMOUD, A.A.F. Drugs five years later: praziquantel. **Ann. Intern. Med.**, v. 110, p. 290-296, 1989.
- 34) KRAMER, L.D.; LOCKE, G.E.; BYRD, S.E.; DARYABAGI, J. Cerebral cysticercosis: documentation of natural history with CT. **Radiology**, v.171, p.459-462, 1989.
- 35) KRAMER, L.D. Antihelminthic therapy for neurocysticercosis. **Arch. Neurol.** v.47, p.1059-1060, 1990.
- 36) KRAMER, L.D. Medical treatment of cysticercosis-ineffective. **Arch. Neurol.** v.52, p.101-102, 1995.
- 37) KROEMER, H.K.; FROMM, M.F.; EICHELBAUM, M. Stereoselectivity in drug metabolism and action: effects of enzyme inhibition and induction. **Ther. Drug Monit.**, v.18, p. 388-392, 1996.
- 38) KULIG, K.; NOWICKI, P.; MALAWSKA, B. Influence of the absolute configuration on pharmacological activity of antihypertensive and antiarrhythmic drugs. **Pol. J. Pharmacol.**, v. 56, p. 499-508, 2004.
- 39) LANCHOTE, V.L.; GARCIA, F.S.; DREOSSI, S.A.C.; TAKAYANAGUI, O.M. Pharmacokinetic interaction between albendazole sulfoxide enantiomers and antiepileptic drugs in patients with neurocysticercosis. **Ther. Drug Monit.**, v. 24, n.3, p.338-345, 2002.
- 40) LANCHOTE, V.L.; TAKAYANAGUI, O.M.; MATEUS, F.H. Enantioselective renal excretion of abendazole metabolites in patients with neurocysticercosis. **Chirality**, v. 16, p.520-525, 2004.
- 41) LEITCH, G.J.; SCANLON, M.; SHAW, A.; VISVESVARA, G.S. Role of P glycoprotein in the course and treatment of Encephalitozoon microsporidiosis. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 45, n.1, p.73-78, 2001.
- 42) LEOPOLD, G.; UNGETHUM, W.; GROLL, E.; DIEKMANN, H.W.; NOWAK, H.; WEGNER, D.H.G. Clinical pharmacology in normal volunteers of praziquantel, a new drug against schistosomes and cestodes. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, v.14, p.281-291, 1978.
- 43) LERCH, C.; BLASCHKE, G. Investigation of the stereoselective metabolism of praziquantel after incubation with rat liver microsomes by capillary electrophoresis and liquid chromatography-mass spectrometry. **J. Chromatogr. B.**, v. 708, p.267-275, 1998.

- 44) LIU, Y.H.; QIAN, M.X.; WANG, X.G.; JIA, J.; WANG, Q.N.; JIAN, Y.F.; WANG, R.Q.; YAN, S.W.; CHEN, B.Y.; LI, J.S.; QIU, Z.Y.; SHEN, J.K. Comparative efficacy of praziquantel and its optic isomers in experimental therapy of schistosomiasis japonica in rabbits. **Chin. Med. J.**, v. 99, p.935-940, 1986.
- 45) LIU, J.; STEWART, J.T. High-performance liquid chromatography determination of praziquantel enantiomers in human serum using a reversed-phase cellulose-based chiral stationary phase and disc solid-phase extraction. **J. Chromatogr. B**, v. 692, p.141-147, 1997.
- 46) MARQUES, M.P.C.; TAKAYANAGUI, O.M.; BONATO, P.S.; SANTOS, S.R.C.J.; LANCHOTE, V.L. Enantioselective kinetic disposition of albendazole sulfoxide in patients with neurocysticercosis. **Chirality**, v.11, n.3, p.218-223, 1999.
- 47) MARRINER, S.E.; MORRIS, D.L.; DICKSON, B.; BOGAN, J.A. Pharmacokinetics of albendazole in man. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, v.30, n.6, p.705-708, 1986.
- 48) MASIMIREMBWA, C..M.; HASLER, J.A. Characterisation of praziquantel metabolism by rat liver microsomes using cytochrome P450 inhibitors. **Biochem. Pharmacol.** v.48, n.9, p.1779-1783, 1994.
- 49) MEIER, H.; BLASCHKE, G. Investigation of praziquantel metabolism in isolated rat hepatocytes. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 26, p.409-415, 2001.
- 50) MOODLEY, M.; MOOSA, A. Treatment of neurocysticercosis: is praziquantel the new hope? **Lancet**, p.262-263, Febr, 1989.
- 51) MORONI, P.; BURONFOSSE, T.; LONGIN-SAUVAGEON, C.; DELATOUR, P.; BENOIT, E. Chiral sulfoxidation of albendazole by the flavin adenine dinucleotide-containing and cytochrome P450-dependent monooxygenases from rat liver microsomes. **Drug Metab. Dispos.**, v.23, n.2, p.160-165, 1995.
- 52) NA-BANGCHANG, K.; KIETINUN, S.; PAWA, K.K.; HANPITAKPONG, W.; NA-BANGCHANG, C.; LAZDINS, J. Assessments of pharmacokinetic drug interactions and tolerability of albendazole, praziquantel and ivermectin combinations. **Trans. Royal. Soc. Trop. Med. Hig.**, v.100, p.335-345, 2006.
- 53) NASH, T.E.; SINGH, G.; WHITE, A.C.; RAJSHEKHAR, V.; LOEB, J.A.; PROAÑO, J.V.; TAKAYANAGUI, O.M.; GONZALES, A.E.; BUTMAN, J.A.; DEGIORGIO, C.; DEL BRUTTO, O.H.; DELGADO-ESCUETA, A.; EVANS, C.A.W.; GILMAN, R.H.; MARTINEZ, S.M.; MEDINA, M.T.; PRETELL, E.J.; TEALE, J.; GARCIA, H.H. Treatment of neurocysticercosis. Current status and future research needs. **Neurology.**, V. 67, p.1120-1127, 2006.

- 54) NATION, R.L. Chirality in new drug development. Clinical pharmacokinetic considerations. **Clin. Pharmacokinet.**, v. 27, p. 249-255, 1994.
- 55) ODASHIMA, N.S. **Avaliação dos níveis de enantiômeros de sulfóxido de albendazol no LCR e plasma na eficácia terapêutica da neurocisticercose.** 2003. 64 f. Tese (Doutorado em Neurologia) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2003.
- 56) OLDS, G.R.; KING, C.; HEWLETT, J.; OLVEDA, R.; WU, G.; OUMA, J.; PETERS, P.; MCGARVEY, S.; ODHIAMBO, O.; KOECH, D.; LIU, C.Y.; ALIGUI, G.; GACHIHI, G.; KOMBE, Y.; PARRAGA, I.; RAMIREZ, B.; WHALEN, C.; HORTON, R.J.; REEVE, P. Double-blind, placebo-controlled study of concurrent administration of albendazole and praziquantel in schoolchildren with schistosomiasis and geohelminths. **J. Infect. Dis.**, v. 179, p.996-1003, 1999.
- 57) PAL, D.K.; CARPIO, A.; SANDER, J.W.A. Neurocysticercosis and epilepsy in developing countries. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.**, v.68, n.2, p. 137-43, 2000.
- 58) PALOMARES, F.; PALENCIA, G.; AMBROSIO, J.R.; ORTIZ, A.; JUNG-COOK, H. Evaluation of the efficacy of albendazole sulphoxide and praziquantel in combination on *Taenia crassiceps* cysts: *in vitro* studies. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 57, p.482-488, 2006.
- 59) PATZSCHKE, K.; PUTTER, J.; WEGNER, A.F.; DIEKMANN, W.H. Serum concentrations and renal excretion in humans after oral administration of praziquantel-results of three determination methods. **Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.**, v. 4, n.3, p.149-156, 1979.
- 60) PEARSON, R.D.; GUERRANT, R.L. Praziquantel: a major advance in antihelminthic therapy. **Ann. Intern. Med.**, v.34, p.1137-1139,1983.
- 61) PENGSA, K.; NA-BANGCHANG, K.; LIMKITTIKUL, K.; KABKAEW, K.; LAPPHRA, K.; SIRIVICHAYAKUL, C.; WISETSING, P.; POJJAROEN-ANANT, C.; CHANTHAVANICH, P.; SUBCHAREON, A. Pharmacokinetic investigation of albendazole and praziquantel in Thai children infected with Giardia intestinalis. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v. 98, n.4, p.349-357, 2004.
- 62) PRETELL, E.J.; GARCÍA, H.H.; GILMAN, R.H.; SAAVEDRA, H.; MARTINEZ, M.; PERU, C.W.G. Failure of one-day praziquantel treatment in patients with multiple neurocysticercosis lesions. **Clin. Neur. Neurosurg.**, v. 103, p.175-177, 2001.

- 63) RAWDEN, H.C.; KOKWARO, G.O.; WARD, S.A.; EDWARDS, G. Relative contribution of cytochromes P-450 and flavin-containing monooxygenases to the metabolism of albendazole by human liver microsomes. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, v.49, p.313-322, 2000.
- 64) ROBLES, C.; CHAVARRIA, M. Presentacion de un caso clinico de cisticercosis cerebral tratado medicamente con un nuevo fármaco: praziquantel. **Salud Publica Mex.**, v.21, n.5, p.603-618, 1979.
- 65) ROBLES C. Resultados tardíos en el tratamiento de la cisticercosis cerebral por praziquantel. **Salud publica Mex.**, v.24, n.6, p.625-627, 1982.
- 66) RODEN, D.M. Mirror, mirror on the wall. Stereochemistry in therapeutics. **Circulation**, v.89, p.2451-2453, 1994.
- 67) SAIMOT, A.G.; MEULEMANS, A.; CREMIEUX, A.C.; GIOVANANGELI, M.D.; HAY, J.M.; DELAITRE, B.; COULAUD, J.P. Albendazole as a potential treatment for human hydatidosis. **Lancet**, v. 17, n.2, p.652-656, 1983.
- 68) SOTELO, J.; ESCOBEDO, F.; RODRIGUES-CARBAJAL, J.; TORRES, B.; RUBIO-DONNADIEU, F. Therapy of parenchymal brain cysticercosis with praziquantel. **N. Engl. J. Med.**, v.310, n.16, 1001-1007, 1984.
- 69) SOTELO, J.; JUNG, H. Pharmacokinetic optimisation of the treatment of neurocysticercosis. **Clin. Pharmacokinet.**, v.34, n.6, p.503-515, 1998.
- 70) STAUDT, U.; SCHMAHL, G.; BLASCHKE, G.; MEHLHORN, H. Light and scanning electron microscopy studies on the effects of the enantiomers of praziquantel and its main metabolite on *Schistosoma mansoni* in vitro. **Parasitol Res.**, v. 78, p.392-397, 1992.
- 71) STEIGER, U.; COTTING, J.; REICHEN, J. Albendazole treatment of echinococcosis in humans: Effects on microsomal metabolism and drug tolerance. **Clin. Pharmacol. Ther.**, v.47, n.3, p.347-353, 1990.
- 72) TAKAYANAGUI, O.M. Neurocisticercose: quadro clínico e diagnóstico tomográfico. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v.23, suppl, p.102-104, 1994.
- 73) TUCKER, G.T.; LENNARD, M.S. Enantiomer specific pharmacokinetics. **Pharmacol. Ther.**, v. 45, p. 309-329, 1990.

- 74) VAZQUEZ, V.; SOTELO, J. The course of seizures after treatment for cerebral cysticercosis. **N. Engl. J. Med.**, v. 327, n.10, p.696-701, 1992.
- 75) VILLAVERDE, C.; ALVAREZ, A.I.; REDONDO, P.; VOCES, J.; DEL ESTAL, J.L.; PRIETO, J.G. Small intestinal sulphoxidation of albendazole. **Xenobiotica**, v. 25, n.5,p.433-441, 1995.
- 76) XIAO, S.H.; CATTO, B.A. Comparative in vitro and in vivo activity of racemic praziquantel and its levorotated isomer on *Schistosoma mansoni*. **J. Infect. Dis.** v. 159, n.3, p.589-592, 1989.
- 77) ZHOU, Q.; YAO, T.-W.; ZENG, S. Effects of stereochemical aspects on drug interaction in pharmacokinetics. **Acta Pharmacol. Sin.**, v.23, n.5, p. 385-392, 2002.
- 78) WESTHOFF, F.; BLASCHKE, G. High-performance liquid chromatographic determination of the stereoselective biotransformation of the chiral drug praziquantel. **J.Chromatogr.**, v. 578, p.265-271, 1992.
- 79) WHITE JR., A.C. Neurocysticercosis: update on epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and management. **Annu. Rev. Med.** v.51, p. 187-206, 2000.
- 80) WU, M.H.; WEI, C.C.; XU, Z.Y.; YUAN, H.C.; LIAN, W.N.; YANG, Q.J.; CHEN, M.; JIANG, Q.W.; WANG, C.Z.; ZHANG, S.J.; LIU, Z.D.; WEI, R.M.; YUAN, S.J.; HU, L.S.; WU, ZS. Comparasion of the therapeutic efficacy and side effects of a single dose of levo-praziquantel with mixed isomer praziquantel in 278 cases of schistosomiasis japonica. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 45, n.3, p.345-349, 1991.
- 81) ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE 899 DE 29 de maio de 2003.http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03.htm

9. Apêndice

APÊNDICE A- Termo de consentimento livre e esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO
PRETO - UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Campus Universitário Monte Alegre – RIBEIRÃO PRETO – SP

PESQUISA CIENTÍFICA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

NOME DO PACIENTE / IDADE:...../.....

REGISTRO E/OU DOCUMENTO DE IDENTIFICAÇÃO.....

NOME DA PESQUISA: “INTERAÇÃO FARMACOCINÉTICA ENTRE OS ENANTIÔMEROS DO SULFÓXIDO DE ALBENDAZOL E OS ENANTIÔMEROS DO PRAZIQUANTEL EM VOLUNTÁRIOS SADIOS”

RESPONSÁVEL CLÍNICO: Prof. Dr. Osvaldo Massaiti Takayanagui (FMRP-USP).

OBSERVAÇÕES: Projeto Integrado da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP e Faculdade de Farmácia da UFC-CE.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A cisticercose é uma doença causada pela presença de larva da *Taenia solium*. O tratamento da cisticercose pode ser feito por dois tipos de medicamentos: albendazol ou praziquantel. Até agora esses dois medicamentos tem sido úteis, mas no caso da neurocisticercose (cisticercose no cérebro) a resposta não é tão boa. Estamos querendo verificar se o uso dos dois medicamentos ao mesmo tempo pode funcionar melhor que cada um deles. Para isso precisamos saber se um medicamento interfere no outro. Isto pode ser feito medindo a quantidade dos medicamentos quando tomados de forma separada e, depois, em conjunto.

Convidamos o Sr(a) a participar desta pesquisa e garantimos a sua liberdade de retirar seu consentimento em qualquer momento da pesquisa.

Esta pesquisa é composta de três períodos, dois deles com duração de 2 dias e um com duração de 10 horas. O intervalo entre cada período será de no mínimo 7 dias. Para que você possa participar dela nós iremos colher, caso você concorde, 3 tubos de sangue de 5 mL cada um (uma colher de sopa) da veia do seu braço para verificar se as funções do seu fígado e dos seus rins estão normais e se seu organismo é capaz de eliminar o remédio para tratar a cisticercose. No dia da internação, você deverá comparecer ao Hospital em jejum de 12 horas. Ao ser internado, você irá tomar 400 mg de albendazol por boca. Após isso, nós vamos fazer alguns exames de sangue, durante a sua internação, para dosar o remédio. Nós iremos coletar amostras de 5 ml de sangue várias vezes (cerca de 15 vezes) com seringa da veia do seu braço. Um tubinho de plástico será colocado dentro da sua veia, assim nós iremos picar você uma única vez. A picada causa leve dor, de curta duração, e o local da picada pode ficar com a cor arroxeadas. Pode acontecer de aparecerem efeitos não desejados como diarréia, dor de cabeça, náuseas, dor abdominal, tontura e vômitos. Se isso ocorrer, nós iremos tratá-lo aqui mesmo no hospital e iremos interromper a pesquisa. Numa segunda fase você deverá comparecer ao Hospital em jejum de 12 horas. Ao ser internado, você irá tomar 1500 mg de praziquantel por boca. Após isso, nós vamos fazer alguns exames de sangue, durante a sua internação, para dosar o remédio. Nós iremos coletar amostras de 5 ml de sangue várias vezes (cerca de 11 vezes) com seringa da veia do seu braço. Um tubinho de plástico será colocado dentro da sua veia, assim nós iremos picar você uma única vez. A picada causa leve dor, de curta duração, e o local da picada pode ficar com a cor arroxeadas. Pode acontecer de aparecerem efeitos não desejados como dor de cabeça, náuseas, diminuição do apetite, vômito, dor abdominal, diarréia com ou sem sangue e/ou catarro, febre, dor no músculo, tontura, perda do sono, sonolência e, mais raramente, alergia na pele. Se isso ocorrer, nós iremos tratá-lo aqui mesmo no hospital e iremos interromper a pesquisa. E finalmente numa terceira fase, você deverá comparecer ao Hospital em jejum de 12 horas. Ao ser internado, você irá tomar 400 mg de albendazol e 1500 mg de praziquantel por boca. Após isso, nós vamos fazer alguns exames de sangue, durante a sua internação, para dosar o remédio. Nós iremos coletar amostras de 5 ml de sangue várias vezes (cerca de 15 vezes) com seringa da veia do seu braço. Um tubinho de plástico será colocado dentro da sua veia, assim nós iremos picar você uma única vez. A picada causa leve dor, de curta duração, e o local da picada pode ficar com a cor arroxeadas. Pode acontecer de aparecerem efeitos não desejados como os

relatados nas duas fases anteriores. Se isso ocorrer, nós iremos tratá-lo aqui mesmo no hospital e iremos interromper a pesquisa.

A sua colaboração vai aumentar o nosso conhecimento de como os remédios para tratar a neurocisticercose são eliminados pelo corpo e o que acontece quando são usados em conjunto. Isto poderá ajudar no melhor tipo de tratamento para os pacientes.

1- Não sou obrigado a continuar participando do projeto e posso, a qualquer momento sair do mesmo.

2- A pesquisa não será feita se houver, relacionados à mesma, grandes riscos para mim. Da mesma forma, caso algum risco proibitivo venha a se revelar no decurso do estudo, o pesquisador se compromete a me alertar sobre o fato e a suspender de imediato minha participação como voluntário.

3- A garantia de que meu nome será mantido em segredo.

4- A garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida relativa aos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa e o tratamento a que serei submetido.

5- Se surgir qualquer efeito não desejado pelo uso dos medicamentos, nós iremos tratá-lo aqui mesmo no hospital e iremos interromper a pesquisa.

6- Caso haja dano comprovadamente decorrente da pesquisa você terá direito à indenização.

7- Você será ressarcido dos eventuais decorrentes da pesquisa

Ribeirão Preto,.....de.....de.....

Assinatura do voluntário

ou de seu responsável

Prof. Dr. Osvaldo Massaiti Takayanagui

Pesquisador Responsável

Cremesp 20.980

Telefones para contato: Renata Monteiro Lima

3602-4195 e 91475588

TESTEMUNHAS NÃO LIGADAS À PESQUISA:

1-.....

assinatura

identificação

2-.....

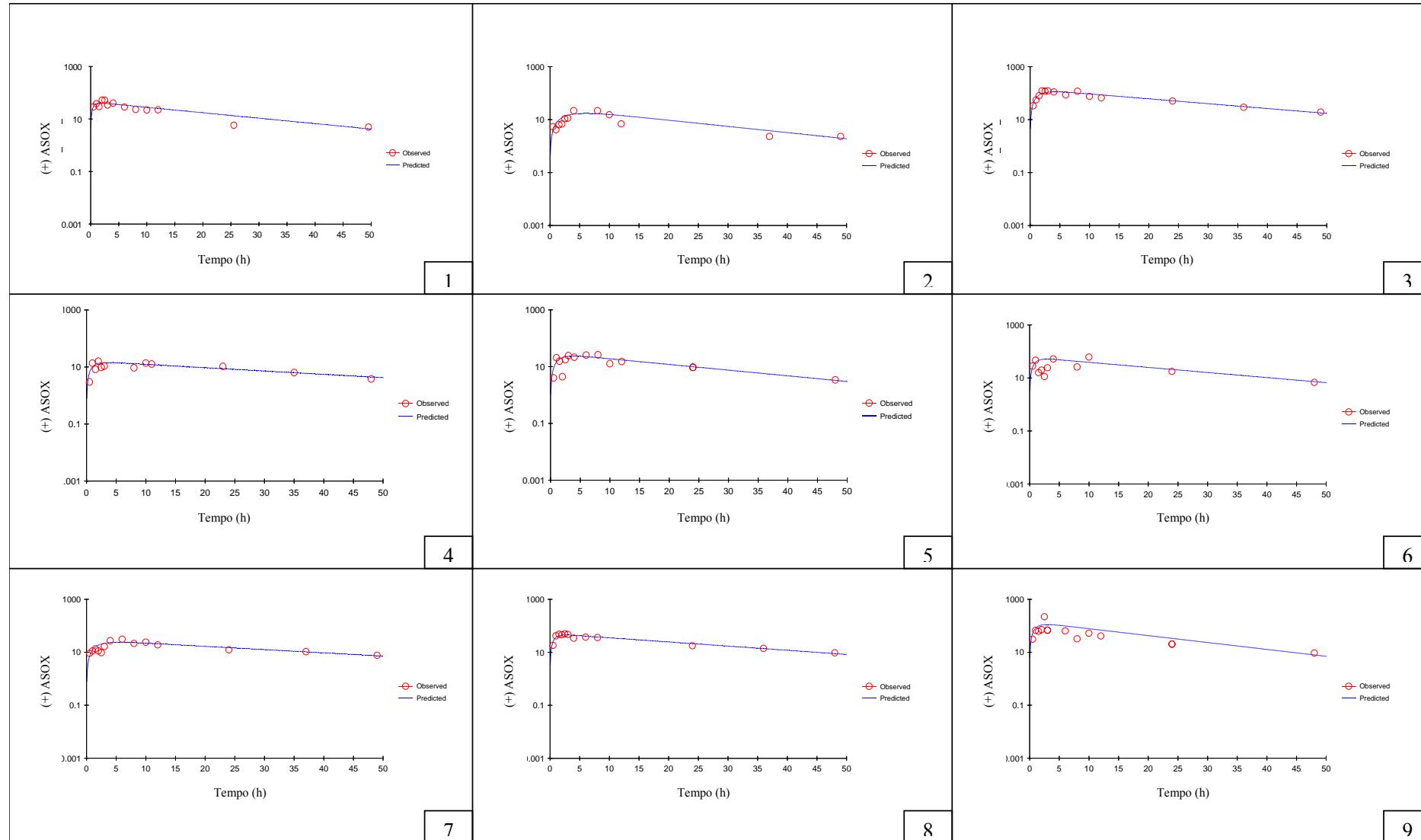
assinatura

identificação

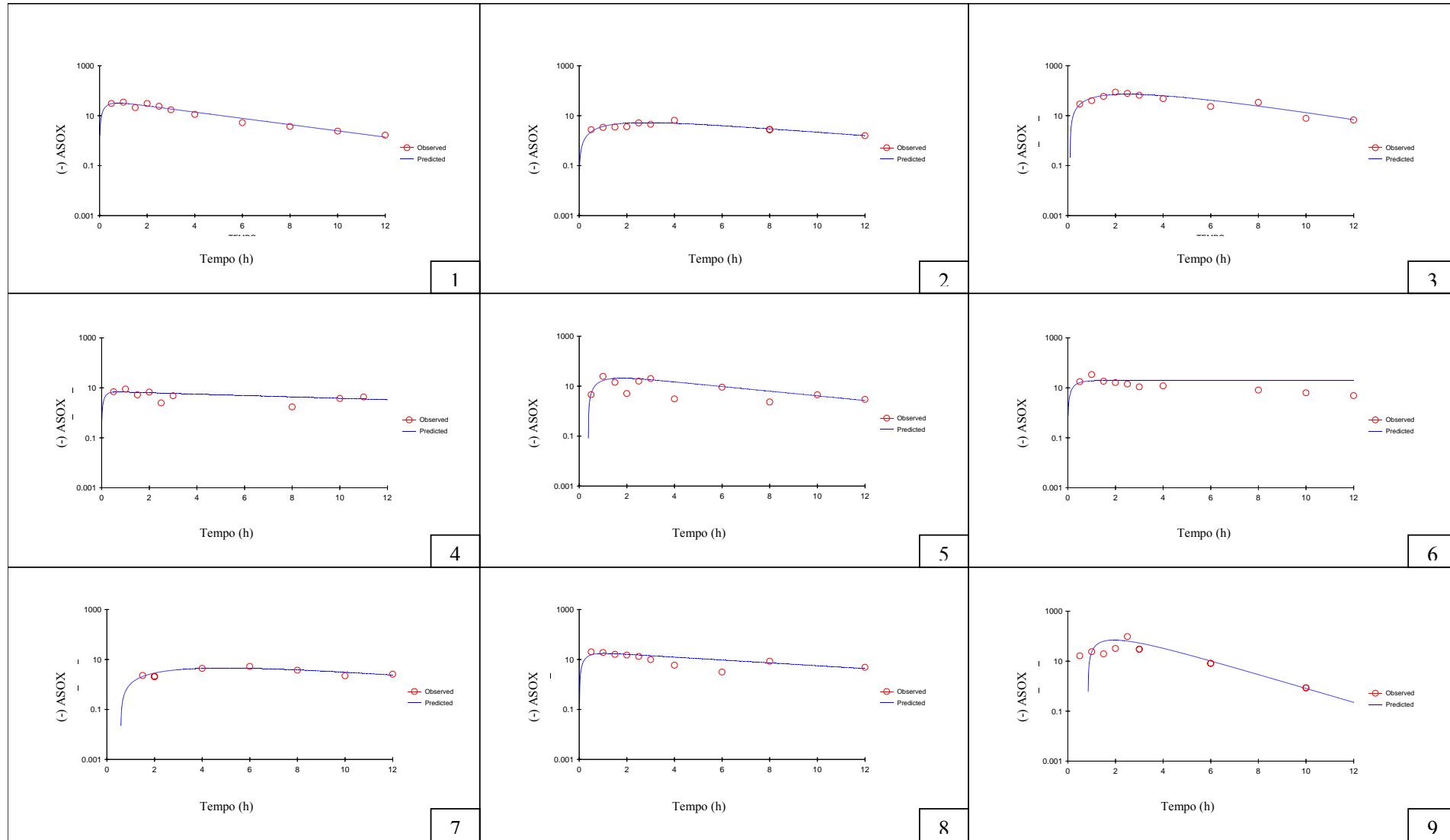
APÊNDICE B- Exames laboratoriais para a comprovação da normalidade das funções hepática e renal.

Voluntários	Bilirrubinas Total/Direta/indireta	TGO	TGP	Fosfatase alcalina	γ-GT	proteína total	albumina	clearance de creatinina
1	1,00/0,52/0,70 MG/DL	20 U/L	30 U/L	141 U/L	22U/L	7,2 G/DL	4,8 G/DL	115ml/min/1,73m ²
2	0,86/0,07/0,80 MG/DL	35 U/L	33 U/L	223 U/L	37U/L	8 G/DL	4,5 G/DL	120 ml/min/1,73m ²
3	1,07/0,24/0,83 MG/DL	34 U/L	40 U/L	287 U/L	48U/L	7,6 G/DL	4,9 G/DL	132 ml/min/1,73m ²
4	0,6/0,29/0,77 MG/DL	30 U/L	20 U/L	144 U/L	20U/L	6,7 G/DL	4,3 G/DL	103 ml/min/1,73m ²
5	1,75/0,52/1,23 MG/DL	32 U/L	39 U/L	170 U/L	43U/L	8,2 G/DL	4,0 G/DL	99 ml/min/1,73m ²
6	1,02/0,29/0,72 MG/DL	28 U/L	12 U/L	200 U/L	40U/L	6,6 G/DL	4,7 G/DL	92 ml/min/1,73m ²
7	1,00/0,30/0,70 MG/DL	21 U/L	38 U/L	188 U/L	31U/L	7,6 G/DL	4,4 G/DL	119 ml/min/1,73m ²
8	0,92/0,24/0,83 MG/DL	30 U/L	26 U/L	175 U/L	19U/L	7,0 G/DL	3,9 G/DL	120 ml/min/1,73m ²
9	1,02/0,39 /0,64 MG/DL	20 U/L	29 U/L	130 U/L	25U/L	7,5 G/DL	4,8 G/DL	101 ml/min/1,73m ²
Valores de Referência		H 0,2-1,2MG/DL / até 0,3MG/DL/ até 0,9MG/DL M 0,2-1,2MG/DL/ até 0,3MG/DL/ até 0,9MG/DL	H ATÉ 38 U/L M ATÉ 32 U/L	H ATÉ 41 U/L M ATÉ 31 U/L	H 65-300 U/L M 65-300 U/L	H 11-50 U/L M 11-50 U/L	H 6-8,5 G/DL M 6-8,5 G/DL	H 3,5-4,8 G/DL M 3,5-4,8 G/DL
								H 97-137 ML/MIN/1,73 m ² M 88-128 ML/MIN/1,73 m ²

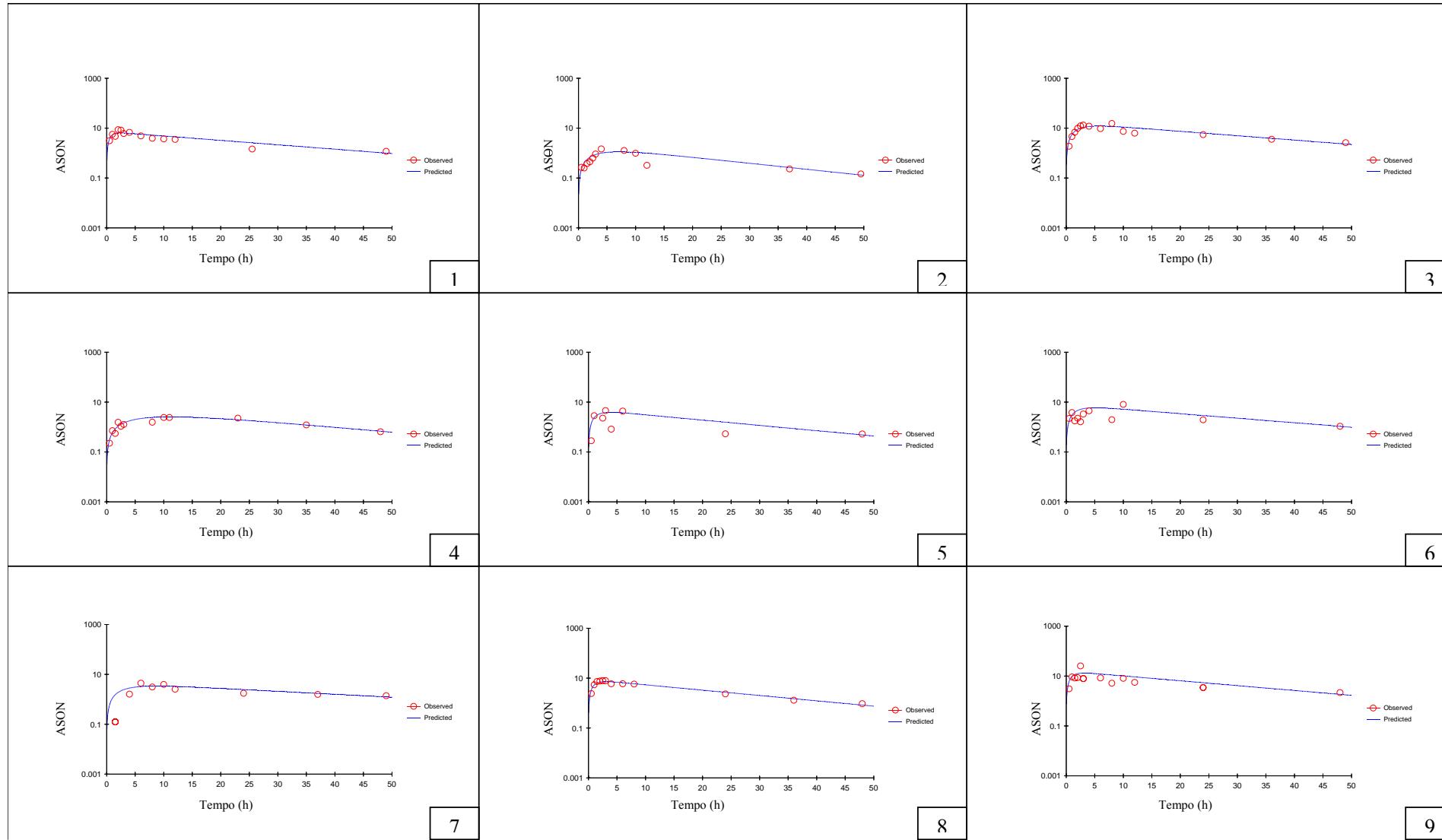
**APÊNDICE C- Concentração plasmática de (+) ASOX vs tempo em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol.
Dados individuais.**



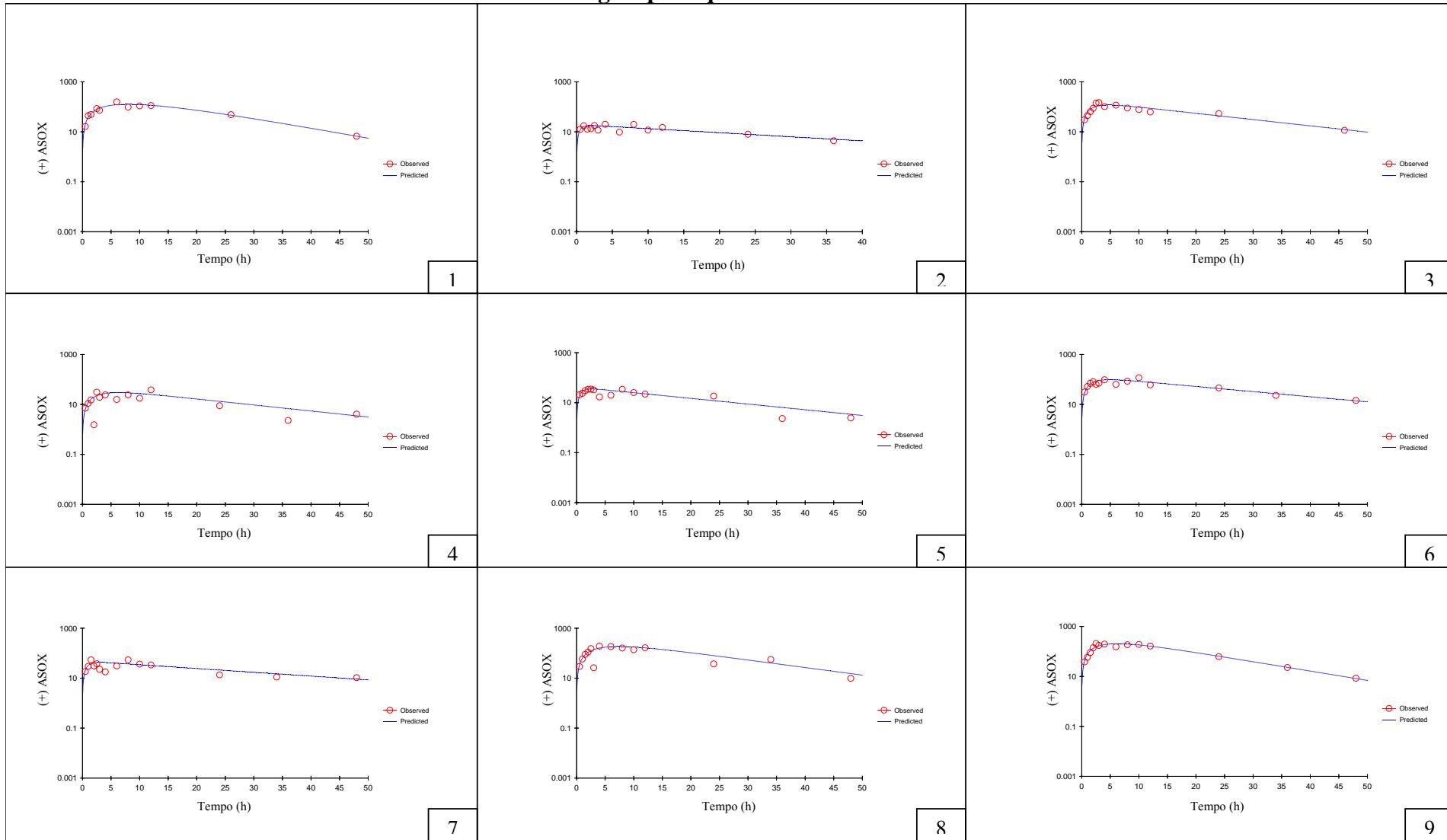
**APÊNDICE D- Concentração plasmática de (-) ASOX vs tempo em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol.
Dados individuais.**



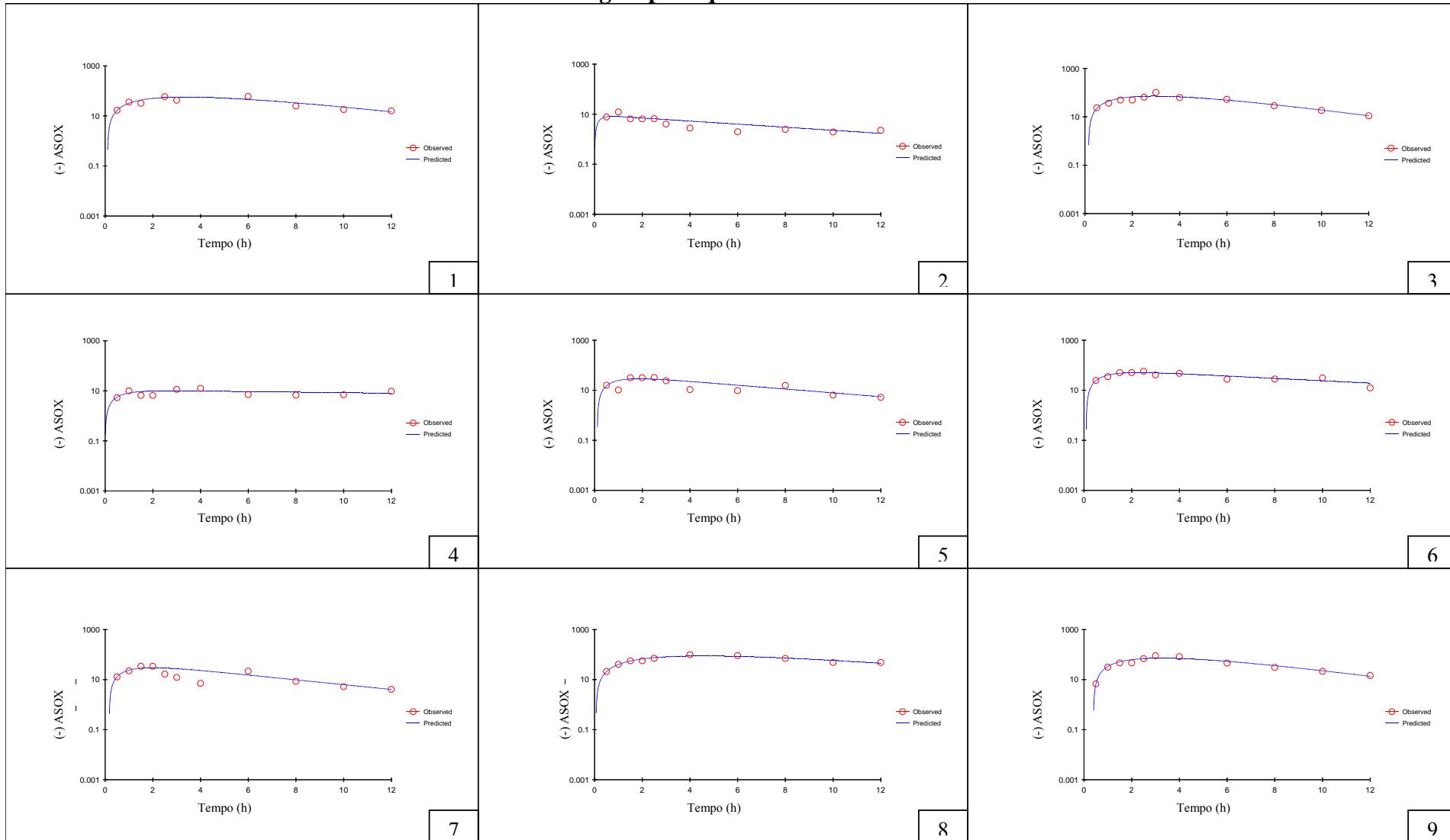
**APÊNDICE E- Concentração plasmática de ASON vs tempo em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol.
Dados individuais.**



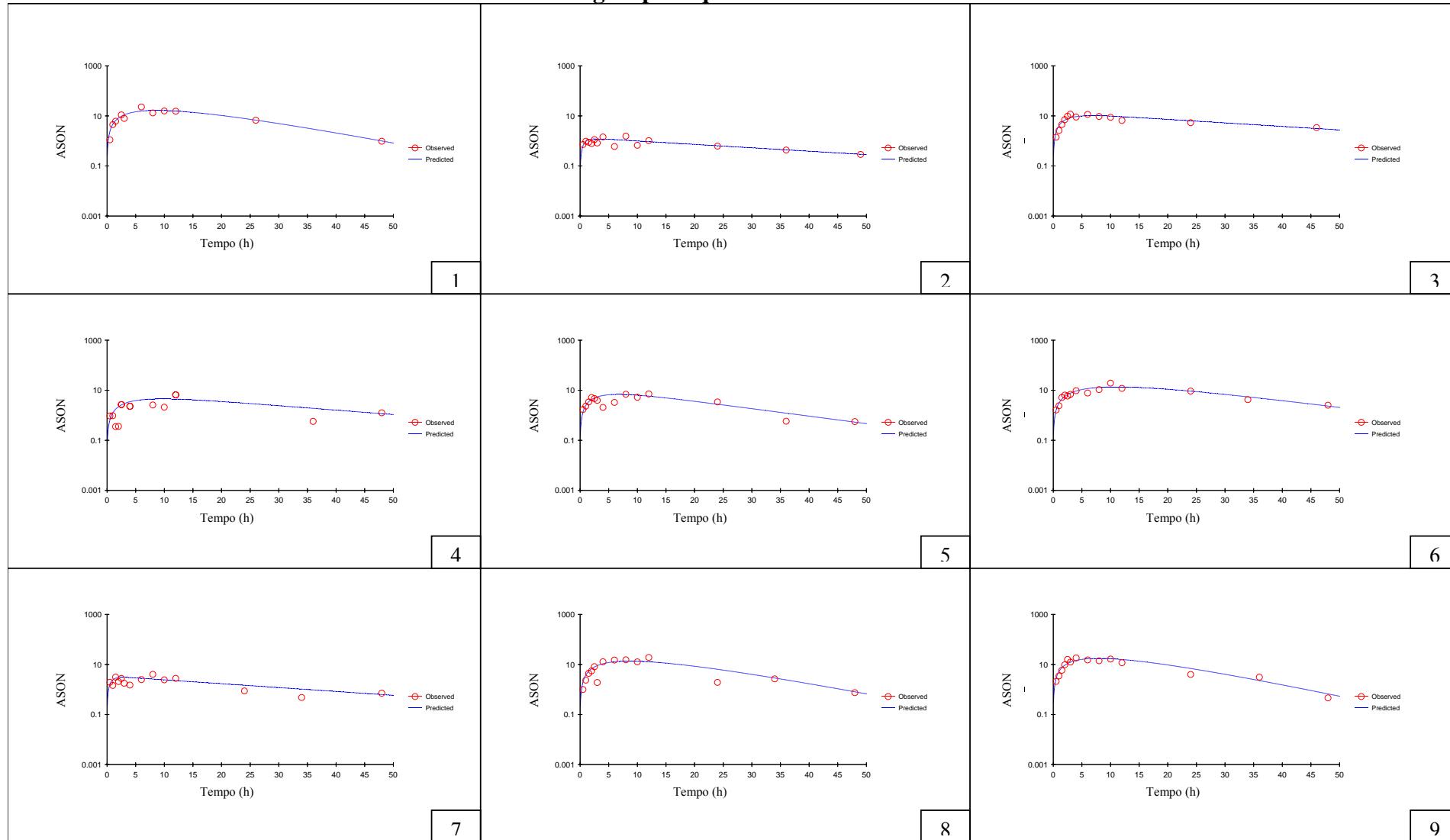
APÊNDICE F- Concentração plasmática de (+) ASOX vs tempo em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol e 1500mg de praziquantel. Dados individuais.



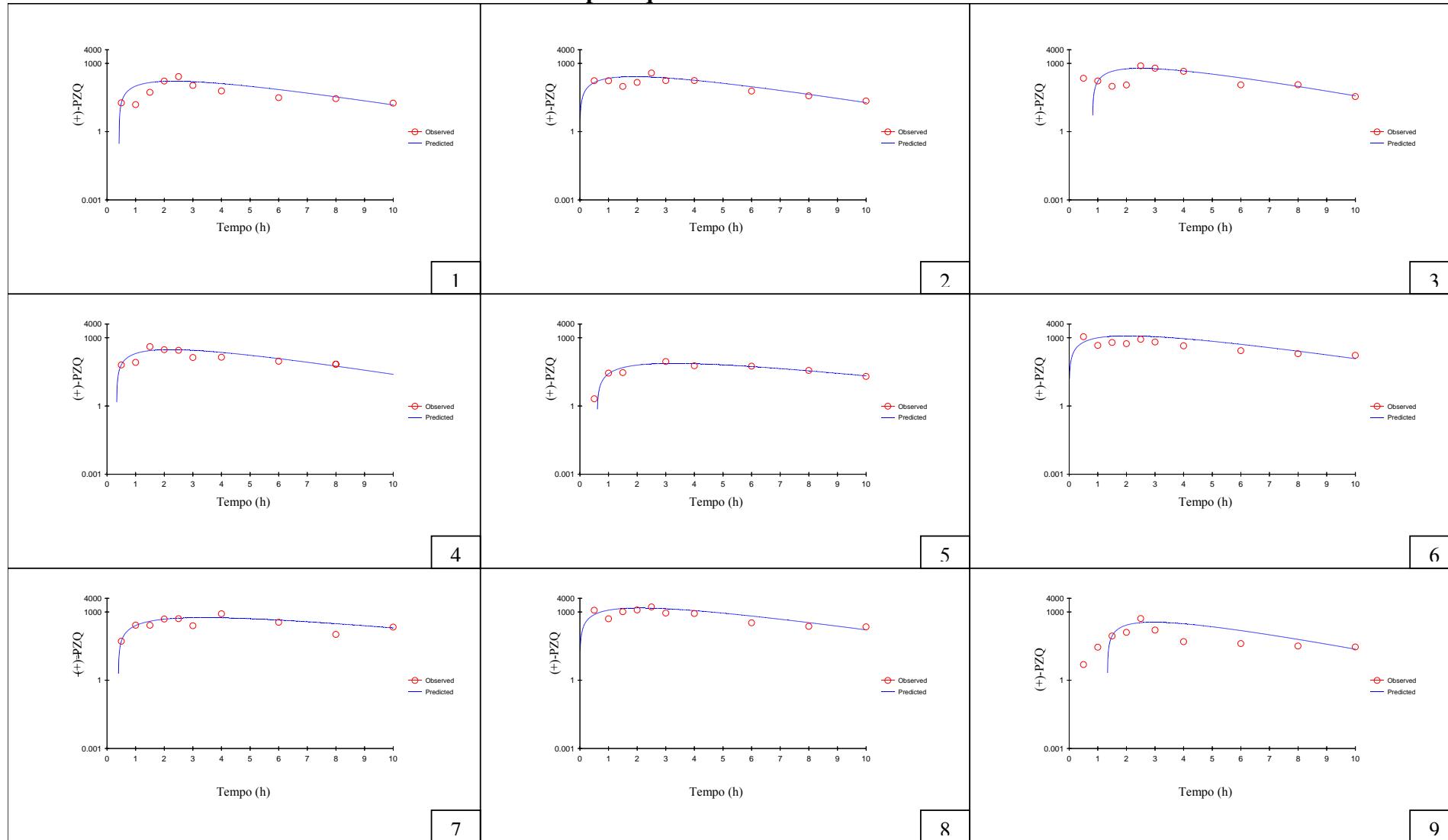
APÊNDICE G- Concentração plasmática de (-) ASOX vs tempo em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol e 1500mg de praziquantel. Dados individuais.



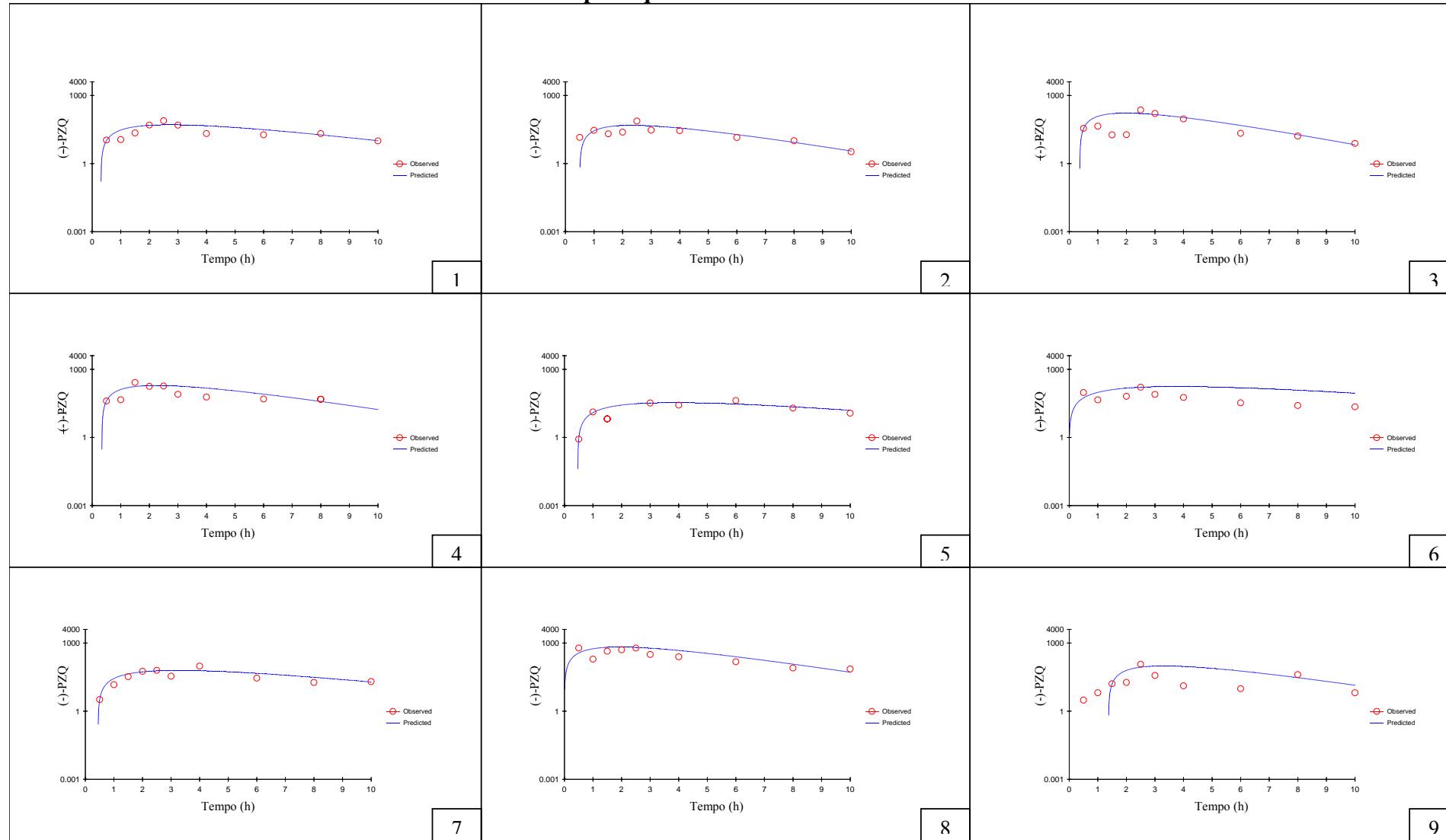
APÊNDICE H- Concentração plasmática de ASON vs tempo em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol e 1500mg de praziquantel. Dados individuais.



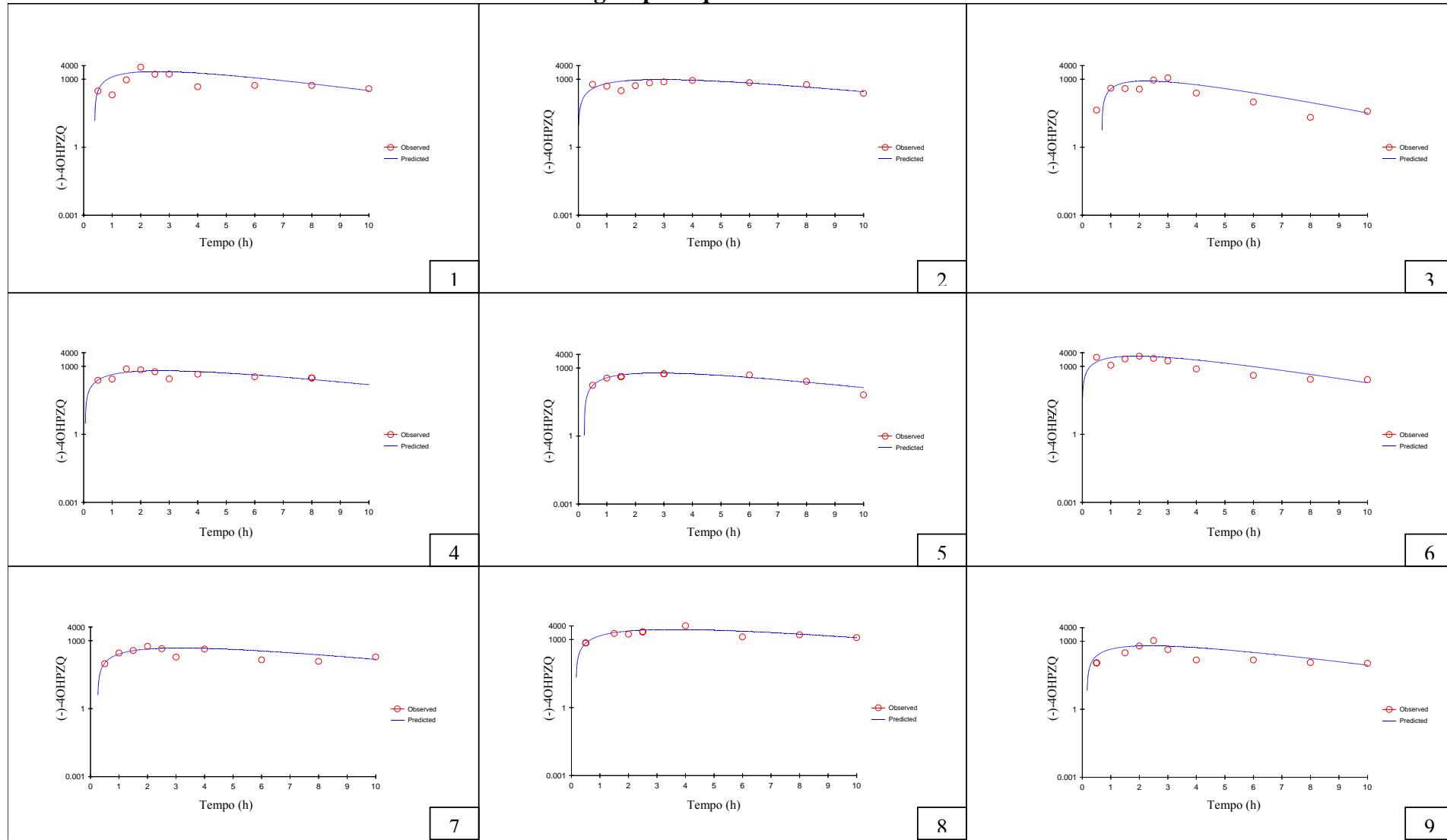
APÊNDICE I- Concentração plasmática de (+) Praziquantel *vs* tempo em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 1500mg de praziquantel. Dados individuais



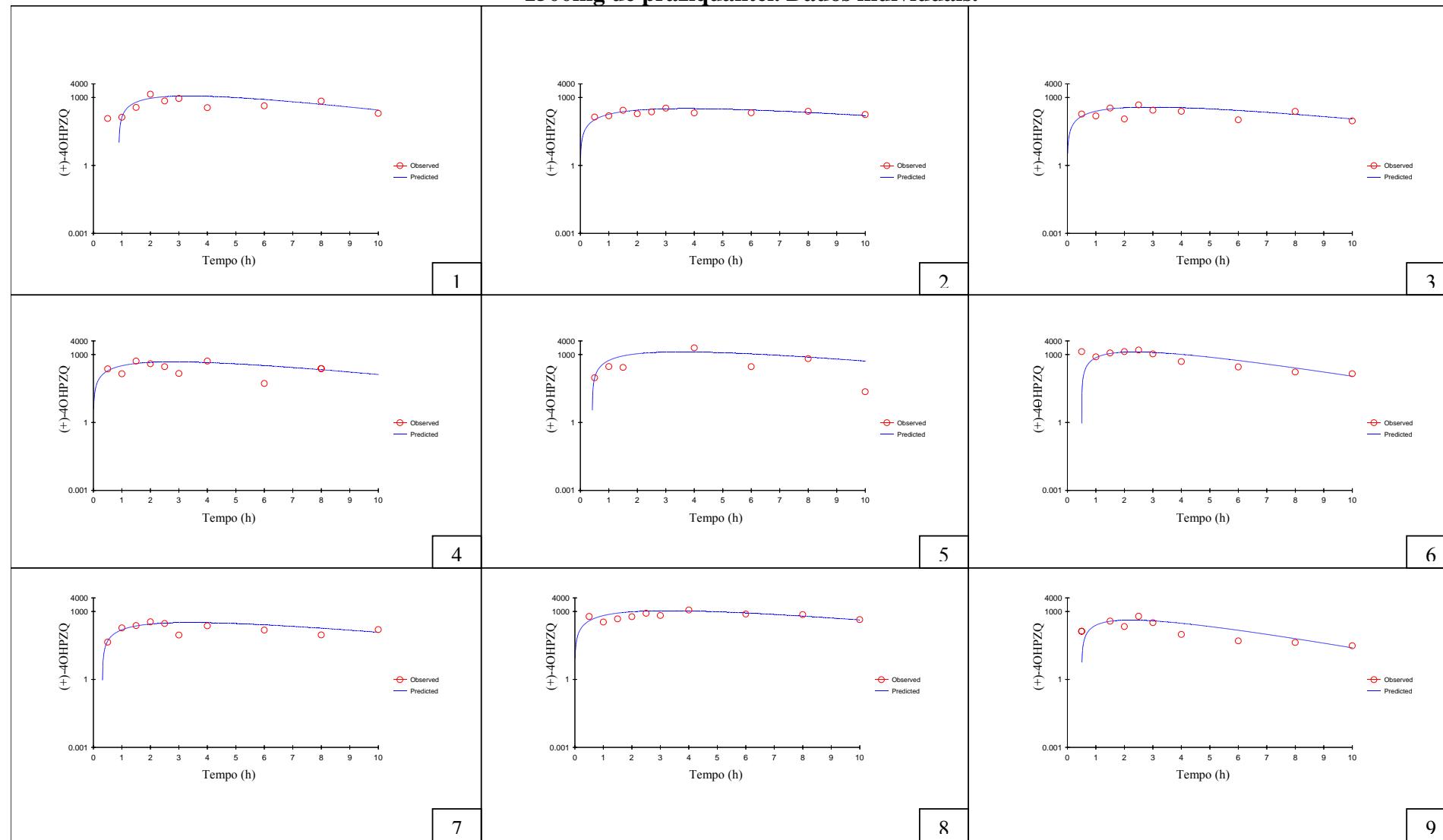
APÊNDICE J- Concentração plasmática de (-) Praziquantel *vs* tempo em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 1500mg de praziquantel. Dados individuais.



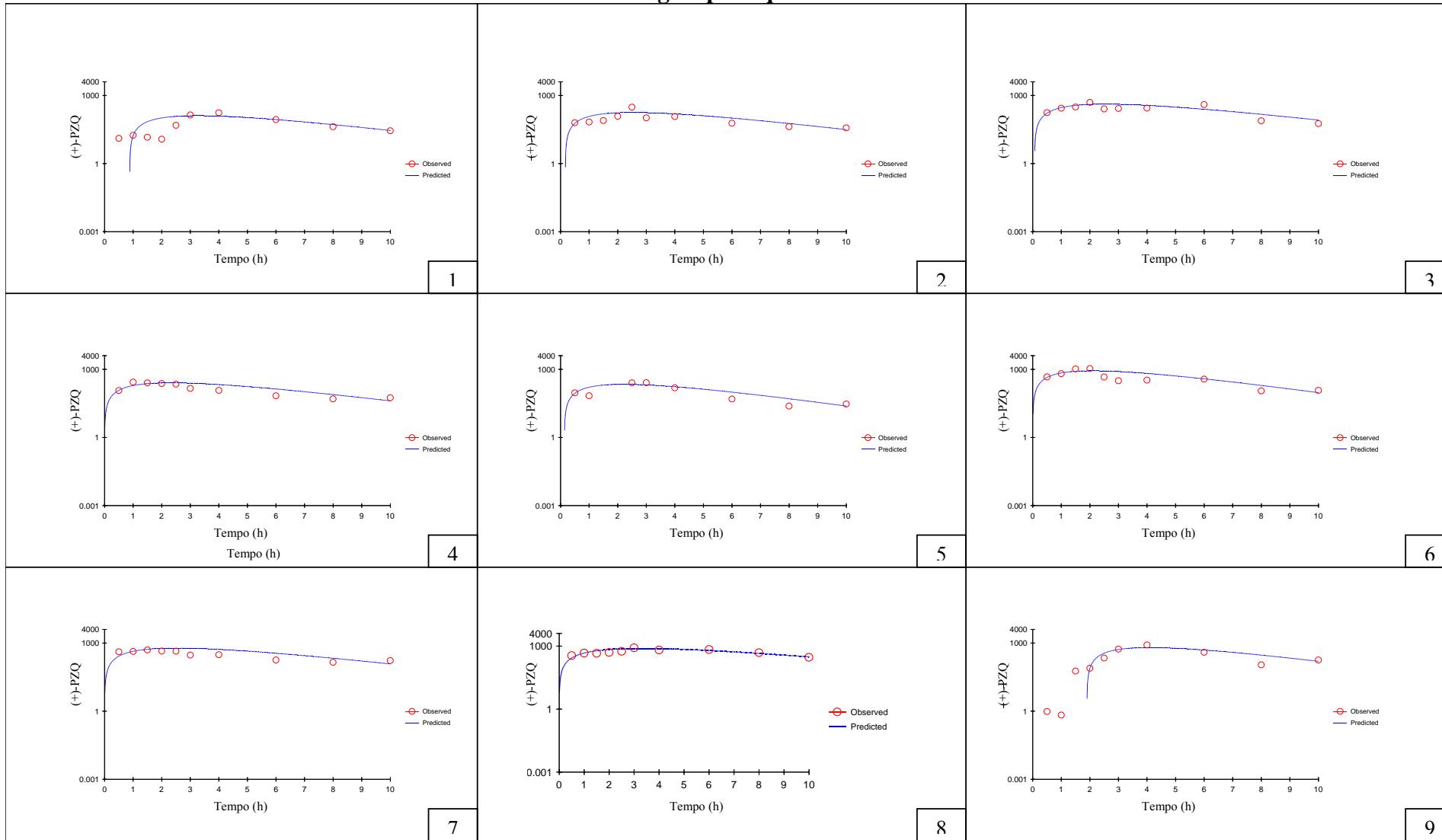
APÊNDICE K- Concentração plasmática de (-) Trans-4-hidroxipraziquantel *vs* tempo em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 1500mg de praziquantel. Dados individuais



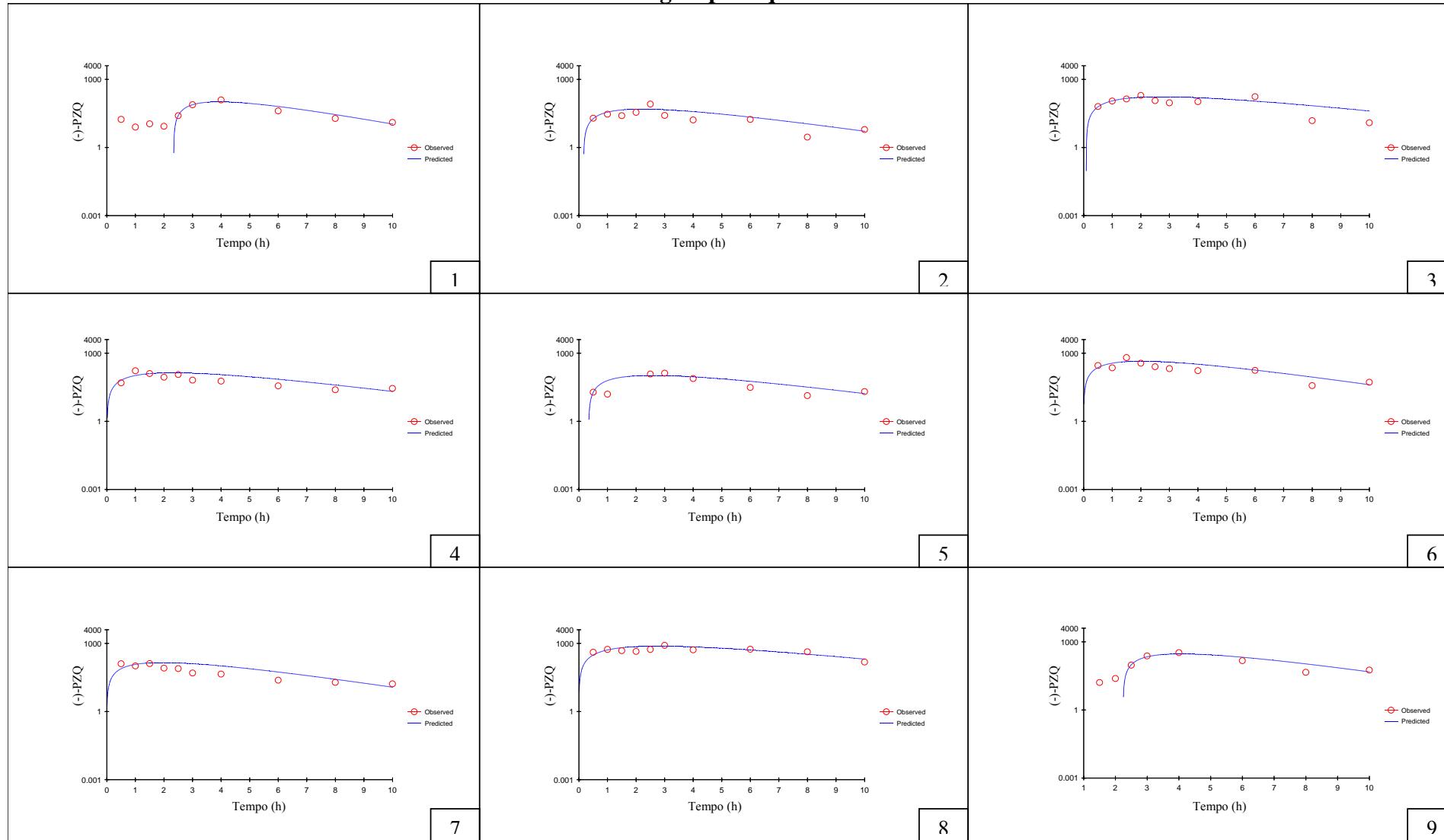
APÊNDICE L- Concentração plasmática de (+) Trans-4-hidroxipraziquantel *vs* tempo em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 1500mg de praziquantel. Dados individuais.



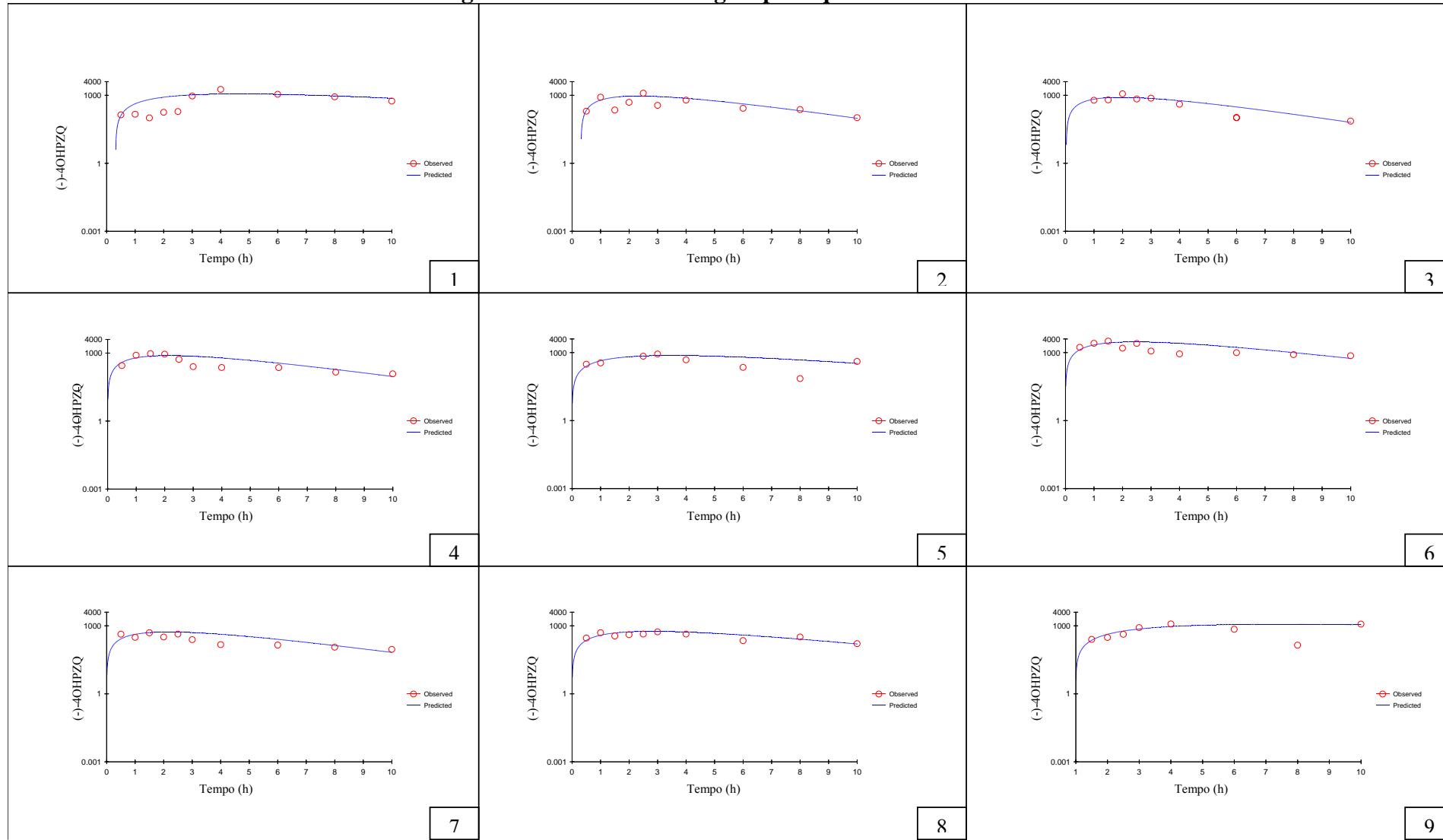
APÊNDICE M- Concentração plasmática de (+) Praziquantel *vs* tempo em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol e 1500mg de praziquantel. Dados individuais.



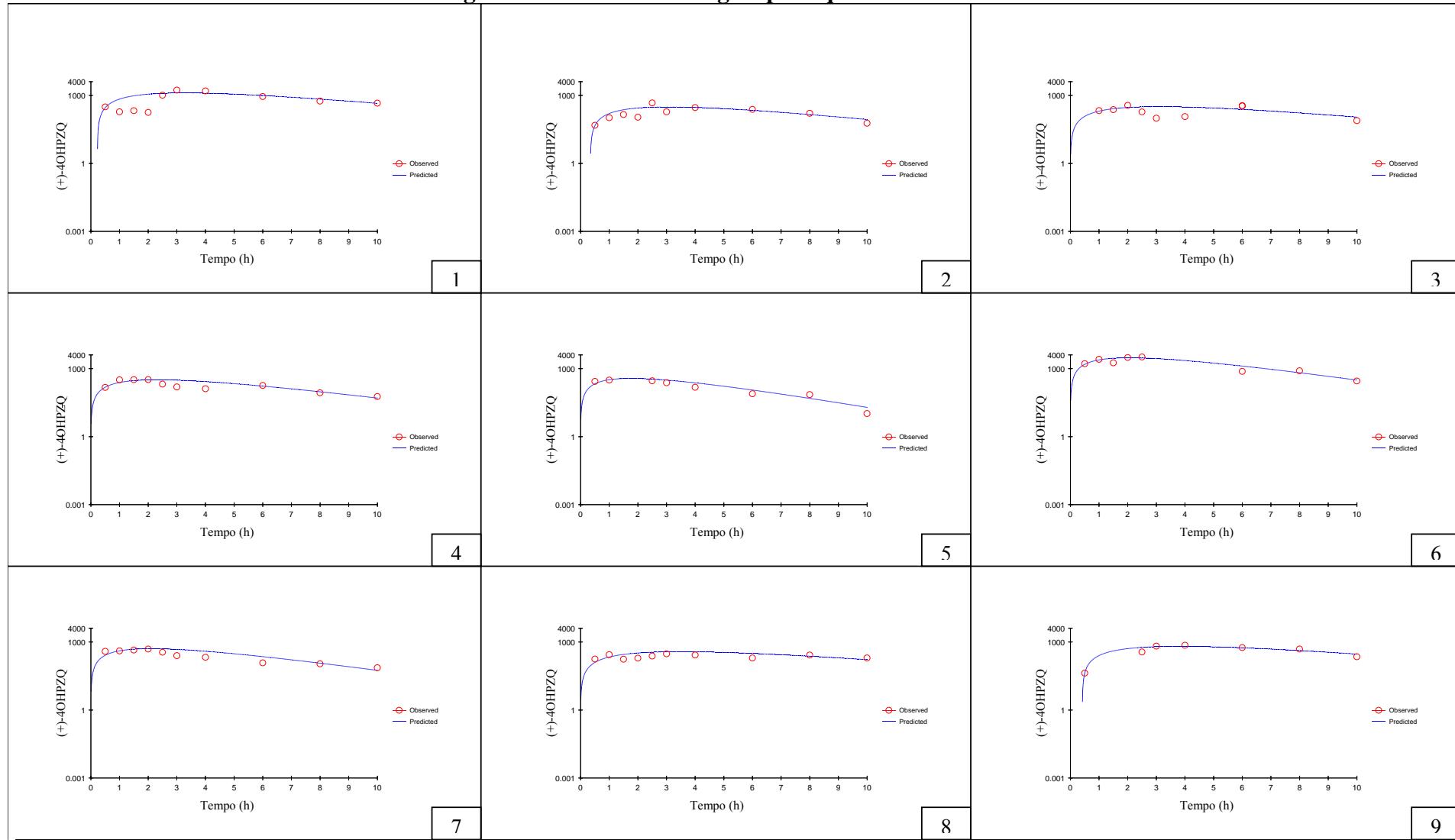
APÊNDICE N- Concentração plasmática de (-) Praziquantel *vs* tempo em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol e 1500mg de praziquantel. Dados individuais.



APÊNDICE O- Concentração plasmática de (-) Trans-4-hidroxipraziquantel *vs* tempo em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol e 1500mg de praziquantel. Dados individuais.



APÊNDICE P- Concentração plasmática de (+) Trans-4-hidroxipraziquantel *vs* tempo em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol e 1500mg de praziquantel. Dados individuais.



APÊNDICE Q- Parâmetros farmacocinéticos

TABELA 1- Parâmetros farmacocinéticos de (+) ASOX em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol. Dados individuais

Voluntários	AUC^{0-∞} (ng.h/ml)	Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	t1/2 (h)	K 01 (h⁻¹)
1	928,58	40,71	1,72	14,57	0,30
2	442,22	17,14	6,08	12,90	1,86
3	3164,95	111,85	4,20	16,43	0,97
4	586,17	14,28	3,61	25,82	0,67
5	611,36	23,50	3,94	15,04	0,92
6	1316,21	51,14	2,90	15,69	0,59
7	989,42	23,89	5,49	24,59	1,20
8	1364,60	44,71	2,61	19,26	0,48
9	2209,26	110,63	3,01	11,55	0,70
Média	1290,30	48,64	3,72	17,31	0,85
Mediana	989,42	40,70	3,61	15,69	0,69
SD	884,76	37,65	1,38	4,97	0,46
EPM	294,92	12,55	0,46	1,65	0,15
IC 95%	610,23	19,7	2,66	19,49	0,49
	1970,4	77,5	4,7	21,13	1,21

TABELA 2- Parâmetros farmacocinéticos de (-) ASOX em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol. Dados individuais

Voluntários	AUC^{0-∞} (ng.h/ml)	Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	t1/2 (h)	K 01 (h⁻¹)
1	139,59	32,11	0,78	2,41	0,20
2	51,84	5,29	2,80	4,34	1,03
3	472,32	72,17	2,50	1,69	1,65
4	111,62	6,81	0,70	10,86	0,10
5	130,42	20,72	1,79	0,41	3,23
6	168,66	23,13	0,86	4,41	0,18
7	54,00	4,53	4,97	3,06	3,03
8	140,78	17,74	1,08	4,69	0,24
9	220,34	70,09	1,94	1,08	0,55
Média	165,5	28,06	1,93	3,66	1,13
Mediana	139,59	20,71	1,78	3,05	0,55
SD	126,45	26,07	1,37	3,10	1,23
EPM	42,151	8,69	0,45	1,03	0,41
IC 95%	68,30	8,02	0,88	1,27	0,18
	262,71	48,10	2,99	6,04	2,08

TABELA 3- Parâmetros farmacocinéticos de ASON em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol. Dados individuais

Voluntários	AUC ^{0-∞} (ng.h/ml)	Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	t1/2 (h)	K 01 (h ⁻¹)
1	174,57	6,41	2,44	17,10	0,45
2	29,98	1,12	7,09	12,52	2,41
3	378,07	12,12	5,72	17,15	1,48
4	93,60	2,55	11,25	15,28	4,50
5	95,12	3,78	4,05	14,35	0,97
6	174,62	5,89	5,08	16,62	1,26
7	158,20	3,39	8,75	25,52	2,29
8	170,85	7,22	3,07	14,11	0,66
9	338,08	13,15	3,15	15,47	0,66
Média	179,23	6,18	5,62	16,45	1,63
Mediana	170,85	5,89	5,07	15,47	1,26
SD	112,92	4,14	2,94	3,72	1,28
EPM	37,64	1,38	0,97	1,24	0,42
IC 95%	92,43	2,99	3,36	13,59	0,64
	266,03	9,36	7,88	19,32	2,61

TABELA 4- Parâmetros farmacocinéticos de (+) ASOX em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol e 1500mg de praziquantel. Dados individuais

Voluntários	AUC ^{0-∞} (ng.h/ml)	Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	t1/2 (h)	K 01 (h ⁻¹)
1	2842,12	125,84	8,04	7,29	4,36
2	510,06	17,79	2,01	18,42	0,34
3	2677,15	117,29	4,76	12,03	1,33
4	756,58	29,55	6,34	12,48	2,02
5	776,06	35,28	2,71	13,23	0,57
6	2591,83	97,27	4,93	14,62	1,28
7	1354,72	42,48	3,06	19,87	0,58
8	4379,87	183,66	7,30	9,93	2,92
9	4047,00	203,63	6,24	8,05	2,58
Média	2215,04	94,75	5,04	12,87	1,77
Mediana	2591,8	97,27	4,93	12,48	1,33
SD	1442,1	68,63	2,11	4,28	1,32
EPM	480,69	22,87	0,70	1,42	0,44
IC 95%	1106,6	41,99	3,41	9,58	0,75
	3323,5	147,51	6,67	16,17	2,79

TABELA 5- Parâmetros farmacocinéticos de (-) ASOX em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol e 1500mg de praziquantel. Dados individuais

Voluntários	AUC ^{0-∞} (ng.h/ml)	Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	t1/2 (h)	K 01 (h ⁻¹)
1	500,28	56,38	3,36	2,28	2,25
2	64,42	8,19	0,74	4,91	0,14
3	531,25	71,46	2,88	1,90	1,89
4	189,32	11,41	3,08	9,09	0,80
5	220,67	28,53	1,87	3,94	0,52
6	585,70	50,30	2,29	6,35	0,58
7	199,91	29,57	2,01	3,12	0,64
8	1081,03	87,91	4,59	3,21	3,06
9	555,27	71,83	3,24	2,09	1,85
Média	436,42	46,17	2,67	4,09	1,30
Mediana	500,28	50,30	2,88	3,21	0,8
SD	309,62	28,28	1,09	2,36	0,98
EPM	103,21	9,42	0,36	0,78	0,32
IC 95%	198,43	24,43	1,82	2,28	0,54
	674,42	67,91	3,51	5,91	2,06

TABELA 6- Parâmetros farmacocinéticos de ASON em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol e 1500mg de praziquantel. Dados individuais

Voluntários	AUC ^{0-∞} (ng.h/ml)	Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	t1/2 (h)	K 01 (h ⁻¹)
1	390,67	16,53	8,69	6,11	5,95
2	42,29	1,21	2,94	22,09	0,53
3	393,08	10,20	6,86	21,38	1,74
4	162,74	4,50	9,63	16,90	3,28
5	157,42	6,82	6,74	10,07	2,53
6	419,46	13,51	10,99	10,20	5,84
7	94,76	3,05	2,79	19,48	0,52
8	319,50	13,54	8,68	6,04	6,00
9	374,49	17,43	7,90	5,68	5,28
Média	261,60	9,64	7,24	13,10	3,51
Mediana	319,50	10,20	7,9	10,20	3,28
SD	146,42	5,99	2,80	6,85	2,31
EPM	48,80	1,99	0,93	2,28	0,76
IC 95%	149,05	5,03	5,08	7,83	1,74
	374,15	14,25	9,40	18,37	5,29

TABELA 7- Parâmetros farmacocinéticos de (+) Praziquantel em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 1500mg de praziquantel. Dados individuais

Voluntários	AUC ^{0-∞} (ng.h/ml)	Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	t1/2 (h)	K 01 (h ⁻¹)
1	857,13	164,91	2,33	1,33	1,17
2	1340,82	261,18	1,89	1,31	0,75
3	2758,65	605,99	2,49	1,16	0,36
4	1536,12	300,64	2,22	1,30	0,65
5	539,60	74,35	3,27	1,85	1,85
6	5274,39	833,05	2,33	1,61	0,15
7	4588,10	564,67	3,39	2,07	0,22
8	8508,41	1494,50	2,09	1,45	0,12
9	1541,55	354,72	2,94	1,11	0,65
Média	2993,86	517,11	2,55	1,46	0,65
Mediana	1541,6	354,72	2,33	1,33	0,65
SD	2640,2	436,47	0,52	0,32	0,56
EPM	880,05	145,49	0,17	0,10	0,18
IC 95%	964,46	181,61	2,14	1,21	0,22
	5023,3	852,62	2,95	1,71	1,08

TABELA 8- Parâmetros farmacocinéticos de (-) Praziquantel em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 1500mg de praziquantel. Dados individuais

Voluntários	AUC ^{0-∞} (ng.h/ml)	Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	t1/2 (h)	K 01 (h ⁻¹)
1	337,90	51,38	2,73	1,68	2,96
2	237,60	48,39	2,31	1,25	4,21
3	730,41	167,13	1,98	1,11	1,37
4	1006,91	193,93	2,25	1,32	0,99
5	313,29	33,98	3,86	2,35	3,19
6	675,26	104,36	2,43	1,65	0,56
7	476,98	62,43	3,26	1,95	2,10
8	3489,58	667,68	1,92	1,33	0,29
9	518,02	98,30	3,32	1,34	1,93
Média	865,10	158,62	2,67	1,55	1,95
Mediana	518,02	98,30	2,43	1,34	1,93
SD	1013,0	198,58	0,67	0,39	1,30
EPM	337,67	66,19	0,22	0,13	0,43
IC 95%	86,44	5,97	2,15	1,24	0,95
	1643,8	311,26	3,18	1,85	2,95

TABELA 9- Parâmetros farmacocinéticos de (-) trans-4-hidroxipraziquantel em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 1500mg de praziquantel. Dados individuais

Voluntários	AUC ^{0-∞} (ng.h/ml)	Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	t1/2 (h)	K 01 (h ⁻¹)
1	12864,46	2175,58	2,56	1,51	0,08
2	7543,13	968,67	2,86	1,99	0,13
3	3497,67	835,58	2,23	1,07	0,29
4	4633,37	639,78	2,72	1,85	0,22
5	4187,93	602,83	2,76	1,77	0,24
6	13160,92	2711,17	2,29	1,24	0,07
7	3730,32	474,71	3,14	2,00	0,27
8	25755,99	2793,55	3,55	2,35	0,04
9	3784,53	631,75	2,37	1,53	0,26
Média	8795,36	1314,84	2,72	1,70	0,17
Mediana	4633,4	835,58	2,72	1,77	0,22
SD	7434,9	959,28	0,42	0,40	0,09
EPM	2478,3	319,76	0,14	0,13	0,03
IC 95%	3080,4	577,48	2,39	1,39	0,10
	14510	2052,2	3,04	2,01	0,25

TABELA 10- Parâmetros farmacocinéticos de (+) trans-4-hidroxipraziquantel em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 1500mg de praziquantel. Dados individuais

Voluntários	AUC ^{0-∞} (ng.h/ml)	Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	t1/2 (h)	K 01 (h ⁻¹)
1	7717,43	1169,33	3,32	1,68	0,13
2	3248,07	323,34	3,70	2,56	0,31
3	2969,60	374,98	2,91	2,02	0,34
4	3632,84	474,55	2,82	1,95	0,28
5	11185,80	1310,14	3,56	2,18	0,09
6	7337,76	1513,35	2,28	1,24	0,15
7	2730,24	324,59	3,41	2,14	0,37
8	9619,07	1079,11	3,28	2,27	0,10
9	1952,26	418,61	2,22	1,19	0,51
Média	5599,23	776,44	3,05	1,91	0,25
Mediana	3632,8	474,55	3,28	2,02	0,28
SD	3404,4	482,66	0,53	0,46	0,14
EPM	1134,8	160,89	0,17	0,15	0,04
IC 95%	2892,4	405,44	2,64	1,55	0,14
	8216,1	1147,4	3,46	2,27	0,36

TABELA 11 - Parâmetros farmacocinéticos de (+) Praziquantel em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol e 1500mg de praziquantel. Dados individuais

Voluntários	AUC ^{0-∞} (ng.h/ml)	Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	t1/2 (h)	K 01 (h ⁻¹)
1	827,61	128,24	3,25	1,65	1,21
2	1141,28	177,74	2,53	1,64	0,88
3	2805,52	415,16	2,55	1,72	0,36
4	1610,95	253,79	2,34	1,62	0,62
5	1226,13	217,60	2,21	1,44	0,82
6	4883,35	858,44	2,09	1,45	0,20
7	4077,40	597,18	2,51	1,74	0,25
8	6901,59	768,01	3,31	2,29	0,14
9	3755,11	630,55	4,09	1,52	0,27
Média	3025,43	449,63	2,76	1,67	0,52
Mediana	2805,5	415,16	2,53	1,64	0,36
SD	2055	272,39	0,65	0,25	0,37
EPM	684,98	90,79	0,21	0,08	0,12
IC 95%	1445,9	240,25	2,26	1,47	0,24
	4605	659,01	3,26	1,87	0,81

TABELA 12 - Parâmetros farmacocinéticos de (-) Praziquantel em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol e 1500mg de praziquantel. Dados individuais

Voluntários	AUC ^{0-∞} (ng.h/ml)	Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	t1/2 (h)	K 01 (h ⁻¹)
1	442,14	102,49	3,93	1,10	2,26
2	270,88	48,74	2,21	1,42	3,69
3	1220,19	170,23	2,73	1,83	0,82
4	853,57	137,08	2,30	1,59	1,17
5	641,29	104,95	2,59	1,56	1,56
6	2414,37	442,64	2,01	1,39	0,41
7	758,72	143,11	1,95	1,35	1,32
8	5743,38	758,25	2,79	1,93	0,17
9	1452,24	293,97	4,06	1,26	688,59
Média	1532,97	244,60	2,73	1,49	77,77
Mediana	853,57	143,11	2,59	1,42	1,32
SD	1704,7	226,65	0,77	0,26	229,06
EPM	568,23	75,54	0,25	0,08	76,35
IC 95%	222,64	70,39	2,13	1,28	-98,29
	2843,3	418,82	3,32	1,69	253,85

TABELA 13 - Parâmetros farmacocinéticos de (-) trans-4-hidroxipraziquantel em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol e 1500mg de praziquantel. Dados individuais

Voluntários	AUC $^{0-\infty}$ (ng.h/ml)	Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	t1/2 (h)	K 01 (h $^{-1}$)
1	10500,37	1274,99	3,26	2,10	0,10
2	2285,07	307,62	3,07	1,89	0,44
3	2666,12	317,22	3,09	2,14	0,38
4	2019,18	320,60	2,32	1,61	0,50
5	1768,79	369,27	1,76	1,22	0,57
6	16823,60	2993,41	2,07	1,43	0,06
7	2893,17	506,86	2,10	1,46	0,35
8	3548,20	372,64	3,50	2,43	0,28
9	5929,40	641,37	3,82	2,36	0,17
Média	5381,54	789,33	2,77	1,84	0,31
Mediana	2893,2	372,64	3,07	1,89	0,35
SD	5102,6	881,78	0,72	0,43	0,17
EPM	1700,9	293,93	0,24	0,14	0,05
IC 95%	1459,3	111,54	2,21	1,51	0,17
	9303,8	1467,1	3,33	2,18	0,45

TABELA 14 - Parâmetros farmacocinéticos de (+) trans-4-hidroxipraziquantel em voluntários sadios (n=9) tratados com dose única de 400 mg de albendazol e 1500mg de praziquantel. Dados individuais

Voluntários	AUC $^{0-\infty}$ (ng.h/ml)	Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	t1/2 (h)	K 01 (h $^{-1}$)
1	13450,64	1148,07	4,62	2,99	0,07
2	5044,46	925,36	2,32	1,39	0,20
3	4241,69	811,02	1,95	1,33	0,24
4	4516,57	775,26	2,14	1,49	0,22
5	7111,83	745,71	3,51	2,43	0,14
6	19678,03	2957,82	2,45	1,70	0,05
7	3155,60	534,19	2,17	1,51	0,32
8	4361,45	569,41	2,82	1,95	0,23
9	20548,24	1170,65	7,45	4,48	0,05
Média	9123,16	1070,83	3,27	2,14	0,16
Mediana	5044,5	811,02	2,45	1,70	0,20
SD	6934,3	741,43	1,78	1,03	0,09
EPM	2311,4	247,14	0,59	0,34	0,03
IC 95%	3793,0	500,92	1,90	1,34	0,09
	14453	1640,7	4,63	2,93	0,24

10. Anexo

**Anexo A- Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP**