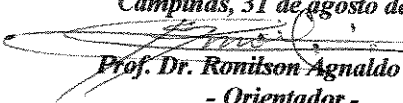


HAMILTON MODESTO RIGATO

**ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA ENTRE
DUAS FORMULAÇÕES DE MELOXICAM EM
VOLUNTÁRIOS SADIOS DE AMBOS OS SEXOS**

*Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado,
apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas -
UNICAMP, para obtenção do Título de Mestre em Farmacologia do
Cirurgião Dentista - Hamilton Modesto Rigato.*

Campinas, 31 de agosto de 2005.


Prof. Dr. Ronilson Agnaldo Moreno
- Orientador -

CAMPINAS

2005

HAMILTON MODESTO RIGATO

**ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA ENTRE
DUAS FORMULAÇÕES DE MELOXICAM EM
VOLUNTÁRIOS SADIOS DE AMBOS OS SEXOS**

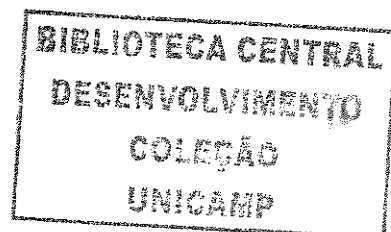
*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção de Título de
Mestre em Farmacologia.*

Orientador: Prof. Dr. Ronilson Agnaldo Moreno

CAMPINAS

2005

ii



UNIDADE BC
Nº CHAMADA UNICAMP
R448e
V _____ EX _____
TOMBO BC/ 30365
PROC 16.123-06
C _____ D 2
PREÇO 11,00
DATA 27/09/06
Nº CPD _____
Bib ID 388037

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

R448e Rigato, Hamilton Modesto
Estudo de bioequivalência entre duas formulações de
meloxicam em voluntários sadios de ambos os sexos / Hamilton
Modesto Rigato. Campinas, SP : [s.n.], 2005.

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

1. Biodisponibilidade. 2. Agentes antiinflamatórios.
3. Cromatografia líquida de alta eficiência. I. Moreno, Ronilson
Agnaldo. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Ciências Médicas. IV. Título.

**Título em ingles: Bioequivalence evaluation of two formulations of meloxicam in
healthy volunteers of both sexes**

Keywords: • Bioavailability

- Anti-inflammatory
- High-performance liquid chromatography

Titulação: Mestrado

Banca examinadora: Prof Dr Ronilson Agnaldo Moreno

Prof Dr Alberto dos Santos Pereira

Profa. Dra. Gun Birgitta Bergsten Mendes

Data da defesa: 31/08/2005



Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador:

Prof. Dr. Ronilson Agnaldo Moreno

Membros:

Prof. Dr. Ronilson Agnaldo Moreno

Prof. Dr. Alberto dos Santos Pereira

Profa. Dra. Gun Birgitta B. Mendes

**Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas
da Universidade Estadual de Campinas.**

Data: 31/08/2005

*Dedico este trabalho a todos os profissionais
com quem tive a oportunidade de trabalhar e que buscam
através da ética e da informação a
melhoria da qualidade de vida das pessoas.*

Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho em especial ao meu orientador, Dr. Ronilson Agnaldo Moreno pela confiança, oportunidade e paciência.

Aos doutorandos Gustavo Duarte Mendes e Bruno Schneider Herrera e ao Dr. José Cássio de Almeida Magalhães, que me auxiliaram e motivaram durante esses anos e a Graziela de Oliveira Semenzati pelo carinho e companheirismo.

Agradeço a todas as pessoas que participaram deste estudo de bioequivalência, ao Departamento de Farmacologia, ao Wanderley e a equipe da Synchronphar.

A todos o mais sincero muito obrigado.

*“Terapêutica é ciência e arte.
Para bem aplicá-la é necessário aliar
evidências científicas e experiência clínica,
com sabedoria e bom senso”*

Michel Batlouni

	<i>Pág.</i>
RESUMO.....	<i>x</i>
ABSTRACT.....	<i>xii</i>
INTRODUÇÃO.....	14
Agentes antiinflamatórios e inflamação.....	15
Apresentação do grupo farmacológico e terapêutico.....	16
Estrutura química.....	17
Mecanismo de ação.....	17
Propriedades farmacológicas.....	17
Farmacocinética.....	18
Reações adversas e interações medicamentosas.....	19
Apresentação comercial e usos em terapêutica.....	21
Apresentação farmacêutica.....	21
Dosagem.....	21
Administração.....	22
Medicamento referência, genérico e bioequivalência.....	22
Fator econômico.....	24
OBJETIVO.....	25
CAPÍTULO.....	27
CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

ANEXOS.....	56
Anexo 1- Parecer do comitê de ética em pesquisa.....	57
Anexo 2- Termo de consentimento livre e esclarecido.....	59
Anexo 3- Tabela de randomização.....	64
Anexo 4- Parâmetros farmacológicos dos 24 voluntários após a administração das formulações de Meloxicam.....	65
Anexo 5- Aceite do manuscrito.....	67

AINE	Antiinflamatório não esteroideal
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASC	Área sob a curva
ASC_{último}	Área sob a curva ao tempo da última concentração acima do limite de quantificação
ASC_{inf}	Área sob a curva extrapolada ao infinito
BPFC	Boas práticas de fabricação e controle de qualidade
BPL	Boas práticas de laboratório
CATEME	Câmara técnica de medicamentos
CEP	Comitê de ética em pesquisa
C_{max}	Concentração máxima do fármaco
COX - ()	Ciclooxigenase (tipo 1 ou 2)
FDA	Food and Drug Administration
TGI	Trato gastro-intestinal
K_e	Coeficiente de eliminação
LC-MS-MS	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao espectrômetro de massa.
LOQ	Limite de quantificação
Min	Minuto
MRM	Monitoramento de reações múltiplas
QC	Controle de qualidade (A, B ou C)
T_{1/2}	Tempo de meia-vida
T_{max}	Tempo em que ocorre a concentração máxima da droga
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas

RESUMO

Objetivo: Neste estudo a biodisponibilidade de duas formulações de meloxicam (comprimidos de 15mg) foram comparadas. Uma dose de cada formulação foi administrada em 24 voluntários sadios de ambos os sexos.

Materiais e métodos: O estudo foi do tipo aberto, aleatório, cruzado, em dois períodos. As amostras de sangue foram colhidas em intervalos de até 96 horas e as concentrações de meloxicam foram analisadas em cromatografia líquida de alta performance (Agilent), acoplada ao espectrômetro de massa (API 2000) equipadas com fonte de ionização do tipo *electrospray* operando no modo positivo (ES+) com monitorização de reações múltiplas (MRM). O precipitado plasmático protéico foi reconstituído com uma solução de acetonitrila/água + ácido acético 10mM (20/80; v/v) e injetados na coluna analítica {(Prevail C₈ 5µm (150mm x 4.6 mm i.d.))} do cromatógrafo de fase líquida. O tempo de retenção observado para o meloxicam e tenoxicam (padrão interno) foi de 1.8 e 1.4 min respectivamente. A média de recuperação do meloxicam foi 95.9% e o limite de quantificação foi de 0.02 µg/mL.

Resultados: As razões geométricas para o Meloxicam/Movatec® 15 mg foram 101.3% para a ASC_{último}; 99.9% para a ASC_{inf} e 107.7% para a C_{max}. Os intervalos de confiança de 90% foram 97.3-105.4%; 96.0 – 104.0% e 98.8 – 117.4% respectivamente.

Conclusão: Considerando que 90% dos intervalos de confiança das razões de ASC_{último}, ASC_{inf} e C_{max} se encontram dentro de 80-125% do intervalo proposto pela Agência Americana de Alimentos e Medicamentos (US FDA) e aceita pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), concluiu-se que a formulação de meloxicam elaborado pela Merk S.A. Indústrias Químicas é bioequivalente a formulação do Movatec® em relação à taxa e extensão de absorção. Esse método de ensaio é o mais rápido, simples, específico, preciso e com acurácia, para os estudos de bioequivalência, que os previamente descritos.

ABSTRACT

Objective: In this study, the bioavailability of 2 meloxicam 15 mg tablet formulations was compared. A single dose of each formulation was administered to 24 healthy volunteers (12 males and 12 females).

Material and Methods: The study was conducted using an open, randomized and crossover design with a 2-week washout interval. The Plasma samples were obtained over 96-hour interval and meloxicam concentrations were analyzed by high performance liquid chromatography (an Agilent) coupled to a API 2000 turboionspray tandem mass spectrometry (LC-MS-MS) equipped with an electrospray ionization (ESI) source operating in the positive ion mode using a cross flow counter electrode and set for the multiple reaction monitoring (MRM). The plasma protein precipitated was reconstituted with acetonitrile/water + 10mM acetic acid (20/80; v/v), and inject in a Prevail C₈ 5 μ m (150mm x 4.6 mm i.d.) analytical column reverse phase liquid chromatography. The retention time observed for meloxicam and tenoxicam (Internal Standard) was 1.8 and 1.4 min, respectively. The mean recovery of meloxicam was 95.9% and the Limit of Quantification was 0.02 μ g/mL.

Results: Geometric mean of Meloxicam/Movatec[®] 15 mg individual percent ratio was 101.3% for AUC_{last}, 99.9% for AUC_{0- ∞} and 107.7% for C_{max}. The 90% confidence interval was 97.3-105.4%; 96.0 – 104.0% and 98.8 – 117.4%, respectively.

Conclusion: Since the 90% CI for both AUC_{last}, AUC_{0- ∞} and C_{max}, ratios were all inside the 80-125% interval proposed by the US Food and Drug Administration Agency and accept by Brazilian ANVISA (Sanitary Surveillance Agency), it was concluded that meloxicam formulation elaborated by Merck S.A. Indústrias Químicas is bioequivalent to Movatec[®] formulation for both the rate and the extent of absorption. This assay method was a fast, simple, specific, precise and accurate for the bioequivalence study of meloxicam than has previously been described.

INTRODUÇÃO

Agentes antiinflamatórios e inflamação

Os principais agentes antiinflamatórios são divididos em dois grupos distintos: os antiinflamatórios esteróides, representado pelos glicocorticóides e pelos agentes antiinflamatórios não esteroidais (AINES)

Os glicorticóides são esteróides secretados pelo córtex da glândula supra-renal que desempenham efeitos metabólicos em carboidratos e nas proteínas. Devido à atividade antiinflamatória e imunossupressora são comumente utilizados em terapêutica. (Rang et al., 2004)

Os AINES são os agentes terapêuticos mais amplamente utilizados no mundo. Muitos desses fármacos apresentam três tipos de efeitos principais: os *efeitos antiinflamatórios*, que modificam a reação inflamatória; os *efeitos analgésicos*, que reduzem certos tipos de dores e os *efeitos antipiréticos*, que reduzem a temperatura corpórea elevada. (Rang et al., 2004).

O processo inflamatório é desencadeado normalmente pela ação de um estímulo nocivo externo ou um “corpo estranho” que, causando uma injúria tecidual, resulta na liberação de ácido araquidônico, através da ação da enzima fosfolipase A2 nos fosfolípidios de membrana. Posteriormente, o ácido araquidônico é convertido em prostaglandinas através da ação de um complexo enzimático denominado ciclooxigenase (COX). A ação das prostaglandinas no processo inflamatório agudo é responsável pelos sinais cardinais de rubor, calor, tumor e dor. Uma inflamação pode ser resolvida por mecanismos biológicos ou com a utilização da terapêutica medicamentosa através da inibição da COX e consequentemente da formação das prostaglandinas.

Em 1991 foi descoberto em estudos com embriões de galinhas, uma forma indutível da COX (COX-2) que, apesar de similar à forma constitutiva (COX-1), apresentava uma estrutura diferente e era codificada por um gene diferente. (Xie et al. 1991) Deste momento em diante, foi atribuída a enzima COX-1 a responsabilidade em liberar prostaglandinas protetoras e fisiológicas, e que sua inibição resultaria nos efeitos adversos dos AINES como sangramento e ulceração no trato gastrointestinal (TGI), broncoconstrição, diminuição função plaquetária e dos efeitos uterotônicos e da função renal. (Vane, 1994)

Por sua vez a enzima COX-2 seria responsável em liberar prostaglandinas relacionadas ao processo inflamatório, e que resultaria em dor, febre e inflamação, ficando sua inibição como benéfica no processo inflamatório, não interferindo na função plaquetária. (Vane, 1994) A partir disto, iniciou-se uma corrida industrial para síntese de AINES inibidores seletivos para COX-2, evitando os efeitos colaterais que a inibição da COX-1 traz. (Hawkey, 2002)

Assim, com a presença deste novo tipo de droga, surgiu a classificação de seletividade entre os medicamentos inibidores da COX sendo ela: seletivos para COX-1, não-seletivos para COX-1, seletivos para COX-2 e altamente seletivos para COX-2. (Silva, 2005)

No entanto, com o passar do tempo vários estudos demonstraram que a COX-2 também possui funções fisiológicas, não tendo papel somente em estados patológicos como se pensava (Fitzgerald, 2003), passando os medicamentos altamente seletivos para COX-2 a serem prescritos seguindo recomendações da Câmara Técnica de Medicamentos - CATEME. (Brasil, 2005a)¹.

Apresentação do grupo farmacológico e terapêutico

O meloxicam é um AINE que atua nos processos inflamatórios e de dor, indicada para doenças como a osteoartrite, artrite reumatóide e da espondilite anquilosante, (Dequeker et al., 1998; Hawkey et al., 1998), sem contudo, interferir na evolução da doença.

O meloxicam pertence à classe farmacológica do ácido enólico, um dos derivados do grupo das oxicanas, que nos estudos farmacológicos em animais (ratos, camundongos, coelhos, porcos da Índia, gatos e cães) apresentou propriedades antiinflamatórias, analgésicas e antipiréticas. (Engelhardt, 1996)

¹http://anvisa.gov.br/farmacovigilancia/informes/2005/informe_1.htm

Estrutura química

Quimicamente conhecido como [4-hidroxi-2-metil-N-(5-metil-2-tiazol)-2H-1,2 benzotiazina-3-carboxamida-1,1-dióxido] (Hassan, 2002), o meloxicam foi lançado na Inglaterra em dezembro de 1996, (Noble e Balfour, 1996) e apresenta a seguinte estrutura molecular. (Fig 1)

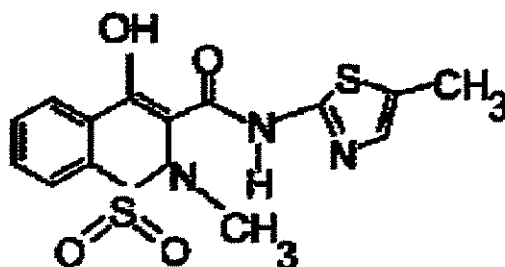


Figura 1- Estrutura molecular do meloxicam

Mecanismo de ação

O mecanismo de ação do meloxicam está em sua capacidade de inibir a biossíntese de prostaglandinas, via ciclooxigenase. Difere-se dos AINES tradicionais por desempenhar uma seletividade preferencial na inibição da enzima COX-2. (Vane e Botting, 2000)

Propriedades farmacológicas

Em estudos sobre osteoartrite e artrite reumatóide o uso de comprimidos de 7,5 mg e 15 mg de meloxicam, mostraram menores efeitos gastrointestinais adversos, (graves e não graves) que os comprimidos de piroxicam (20mg), diclofenaco de liberação lenta (100mg) e de naproxeno (750 e 100mg). (Distel et al, 1996)

Tal vantagem terapêutica se justifica pela sua ação de inibição preferencial da enzima COX-2, mostrando ser aproximadamente 10 vezes mais potente contra COX-2 que COX-1, em experimentos *in vitro* e *ex vivo*. (Hawkey et al.,1998)

Busch et al. (1996) mostrou que o meloxicam não sofreu qualquer mudança nas curvas plasmáticas de concentração e concentração plasmática máxima quando administrado juntamente com cimetidina ou maalox. Sua associação com aspirina aumentou as concentrações plasmáticas do medicamento. Este estudo concluiu que essas diferenças não deveriam ser consideradas relevantes e nenhuma modificação na dose de meloxicam deveria ser feita quando este fosse administrado juntamente com aspirina, maalox ou cimetidina.

O tempo médio da ação analgésica não se mostrou significativamente diferente entre as formulações intramusculares e orais, demorando uma média de 80 minutos e 89 minutos, respectivamente. (Euller-Ziegler et al.,2001)

Como é de se esperar de uma droga de ação seletiva sobre COX-2, o meloxicam não interferiu na função plaquetária, não prolongou o tempo de sangramento e também não demonstrou efeitos nos estudos de agregação e nas taxas de tromboxano-B₂, (Knijff-Dutmer et al., 2002). Diante do exposto, ela pode ser empregada como medicação pré-operatória para controle de dor e edema em procedimentos cirúrgicos odontológicos.

O compartimento sinovial é o local de ação destas drogas, desta forma as concentrações da droga no fluido sinovial tornam-se mais relevantes que as concentrações plasmáticas. A sua ação antiinflamatória crônica nas artropatias podem ser explicadas pelas concentrações substanciais de meloxicam encontradas no fluido sinovial. Devido a essas características é uma droga que pode ser bem empregada no controle da dor de disfunções da articulação têmporo mandibular (ATM).

Farmacocinética

O meloxicam é bem absorvido tanto pelo trato gastrointestinal como pelo retal, demonstrando sua biodisponibilidade absoluta em 90% (Marcelín-Jiménez et al., 2005). As concentrações plasmáticas de meloxicam 15 mg atingem os níveis máximos (C_{max})

em 1,5 horas após a administração intramuscular e em 6 horas quando administrado oralmente. (Euller-Ziegler et al., 2001)

Este medicamento é rapidamente e completamente absorvido após administração intramuscular de 15 mg, proporcionando uma biodisponibilidade absoluta de 102%. (Narjes et al.,1996) Conseqüentemente, a biodisponibilidade do meloxicam após administração intramuscular e oral são comparáveis.

O meloxicam liga-se às albuminas plasmáticas em mais de 99% e rapidamente penetra nos espaços perivasculares, demonstrando um volume de distribuição entre 0.1 e 0.2 L/Kg. (Degner et al.,1994). Seu Clearance se faz de 0,4 à 0,7 L/h enquanto sua meia vida plasmática varia de 13 a 20 h. (Schmid et al., 1995; Davies e Skjodt ,1999)

O meloxicam é metabolizado em 4 metabólitos farmacologicamente inativos, antes de ser excretado em igual extensão na urina e nas fezes. (Panara et al., 1999)

Reações adversas e interações medicamentosas

Reações adversas

O uso de AINES está associado a uma grande incidência de efeitos adversos no TGI, dentre eles: dispepsia, náusea, vômito, dor abdominal, constipação, flatulência e diarreia são as ocorrências mais comuns. Em um estudo com 9323 pacientes portadores de osteoartrite, 4635 foram tratados diariamente com 7,5mg de meloxicam por 28 dias, comparados a 4688 tratados com diclofenaco em comprimidos de 100mg de liberação lenta, incidiram 27% e 32% de efeitos adversos, desses 13% e 19% respectivamente, se relacionavam ao TGI. (Hawkey et al., 1998)

Neste mesmo ano, em um outro estudo com pacientes portadores de osteoartrite, 4320 receberam 7,5 de meloxicam por 28 dias e outros 4336 receberam 20mg de piroxicam pelo mesmo período, resultando em 22,5% e 27,9% de efeitos adversos, desses 10,3% e 15,4% se relacionavam ao TGI, respectivamente. (Dequeker et al.,1998)

Laporte et al., (2004), em um estudo multicêntrico em 18 hospitais da Espanha e Itália, avaliou que 38% dos casos de sangramento no TGI superior em pacientes com mais de 18 anos, estavam relacionados ao uso de AINES. Desses, o meloxicam representou 5,7% dos casos, que entre os AINES inibidores seletivos de COX-2 estudados, ficou somente atrás do rofecoxib, que acometeu 7,2% dos mesmos. O trabalho não confirmou que quanto maior a seletividade para COX-2 dos AINES, menor risco de sangramentos no TGI superior.

Outros efeitos adversos foram observados em uma frequência acima de 1% como anemia, prurido e erupção cutânea, escotomas e cefaléias e edema no sistema circulatório. (PDR, 2001)

Interações medicamentosas

A administração de meloxicam com outros antiinflamatórios, incluindo derivados do ácido salicílico podem aumentar o risco de úlceras e sangramentos gastrintestinais, bem como o uso concomitante com anticoagulantes orais, ticlopidina, heparina parenteral, trombolíticos: aumenta o risco de hemorragia no TGI.

Há relatos de que os antiinflamatórios aumentam a concentração de lítio no sangue, aumentam a toxicidade no sangue do metotrexato e aumentam a toxicidade causada pela ciclosporina aos rins.

O uso concomitante de antiinflamatórios com beta-bloqueadores, inibidores da enzima conversora de angiotensina, vasodilatadores e diuréticos pode diminuir o efeito desses anti-hipertensivos, porém sua administração concomitante com antiácidos, cimetidina, digoxina ou furosemida não revelou interações farmacocinéticas significativas.

Em caso de superdosagem devem ser tomadas as medidas padrão de esvaziamento gástrico e de suporte geral. Desconhece-se um antídoto específico para meloxicam. Foi demonstrado que a colestiramina acelera a eliminação do meloxicam.

Apresentação comercial e usos em terapêutica

Apresentação farmacêutica

O meloxicam encontra-se no mercado brasileiro em embalagens de Movatec® comprimidos de 7,5 mg e de 15 mg dispostos em caixas de 5; 10; 20; 30; 200 e 500 unidades e na forma de solução injetável de 5 ampolas com 10 mg/mL. (Brasil, 2004a)².

Os comprimidos são redondos de coloração amarelo pastel, tendo uma das faces uma convexidade na qual está impressa o símbolo da empresa e na outra face há um código e uma ranhura de partição. A solução injetável é uma solução clara de coloração amarelo-esverdeada. (Brasil, 2005b)³.

As formulações genéricas apresentam comprimidos de 7,5 mg e de 15 mg em embalagens com 10 comprimidos, ou 5 ampolas com 15 mg/mL, sendo a EMS, Eurofarma, Medley e Merk seus principais produtores. (Brasil, 2004b)⁴

Cada comprimido contém o princípio ativo meloxicam e os seguintes excipientes: citrato de sódio diidratado, lactose, celulose microcristalina, povidona, dióxido de silício, estearato de magnésio. Cada ampola de 1,5 ml contém 15 mg de meloxicam e os seguintes excipientes: meglumina, glicofurol, pluronic F68, cloreto de sódio, glicina, hidróxido de sódio, água bidestilada. (Brasil, 2005b)⁵

Dosagem

O meloxicam está indicado para o alívio da dor e inflamação no tratamento de osteoartrite, na posologia de 7,5 mg ao dia; caso necessário, a dose pode ser aumentada para 15 mg. Já para o tratamento da artrite reumatóide seu emprego deve se dar em 15 mg ao dia, sendo favorável sua resposta terapêutica, a dose pode ser reduzida para 7,5 mg.

²<http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/lista/classe.pdf>

³<http://bulario.bvs.br>

⁴<http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/lista/comparativa.pdf>

⁵<http://bulario.bvs.br>

Em pacientes com insuficiência renal grave, sob tratamento com hemodiálise, a dose diária não deve exceder 7,5 mg e no tratamento prolongado da poliartrite reumatóide nos pacientes idosos, a posologia recomendada é de 7,5 mg ao dia.

Administração

O meloxicam está contra indicado para pacientes que apresentaram hipersensibilidade ao meloxicam ou aos excipientes de sua fórmula. Não deve ser administrado em pacientes que apresentaram asma, urticária ou reações alérgicas após o uso de ácido acetilsalisílico ou outros AINES.

Para pacientes com úlcera péptica, insuficiência hepática grave ou insuficiência renal grave não dialisada, o emprego de meloxicam está contra indicado, bem como durante a gravidez ou na lactação.

A dose diária total de meloxicam não deve exceder 15 mg. Os comprimidos devem ser ingeridos com um pouco de água ou com outro líquido, podendo ser administrados juntamente com alimentos sem ter sua absorção comprometida, sendo contra indicado na faixa etária de 0 a 12 anos de idade.

O meloxicam injetável deve ser administrado na dose de uma ampola ao dia (15mg) por via intramuscular profunda, nunca utilizando a via intravenosa. Como a posologia em crianças e adolescentes ainda não foi estabelecida, o uso da solução injetável deve ser restrita aos adultos, e contra indicada em pacientes tratados com anticoagulantes, já que podem ocorrer hematomas intramusculares.

Não se deve misturar o meloxicam injetável com outras drogas na mesma seringa devido à possibilidade de incompatibilidade.

Medicamentos referência, genéricos e bioequivalência

A instituição de medicamentos genéricos no Brasil se fez através da Lei N 9.787 de 1999, cuja finalidade era prover medicamentos de qualidade certificada a um custo mais reduzido. (Brasil, 1999)

Definimos medicamento genérico como sendo equivalente farmacêutico em relação ao medicamento de referência ou inovador, que se pretende ser com este intercambiável, geralmente produzido após a expiração ou renúncia da proteção patentária ou de outros direitos de exclusividade, comprovada a sua eficácia, segurança, qualidade (Brasil, 1999)

O medicamento de referência é, geralmente, o inovador cuja biodisponibilidade foi determinada durante o desenvolvimento do produto e que teve sua eficácia e segurança comprovadas por meio de ensaios clínicos, antes da obtenção do registro para comercialização. Nesse caso, a empresa fabricante desenvolveu a formulação e a forma farmacêutica adequadas à via de administração e ao objetivo terapêutico do medicamento, estabelecendo e validando os processos de fabricação, bem como as especificações que deverão ser reproduzidas posteriormente, lote a lote. (Storpirtis, 1999)

Para o medicamento genérico, o fabricante deve investir no desenvolvimento farmacotécnico de um produto que cumpra com as mesmas especificações *in vitro*, em relação ao medicamento de referência. Entretanto, aceita-se que a formulação e o processo de fabricação não sejam idênticos, o que geralmente ocorre devido aos diferentes equipamentos e fornecedores de matérias-primas empregados por distintos fabricantes, desde que essas diferenças não comprometam a bioequivalência entre os produtos. (Dighe, 1999)

A equivalência farmacêutica entre dois medicamentos relaciona-se à comprovação de que ambos contém o mesmo fármaco (mesma base, sal ou éster da mesma molécula terapeuticamente ativa), na mesma dosagem e forma farmacêutica, o que pode ser avaliado por meio de testes *in vitro* (WHO, 1999). Portanto, pode ser considerada como um indicativo da bioequivalência entre os medicamentos em estudo, sem, contudo, garanti-la. (Storpirtis et al., 2004)

A legislação brasileira, tendo como base a regulamentação técnica e a experiência de diversos países na área de medicamentos genéricos, estabelece que para um medicamento ser registrado como genérico é necessário que se comprove sua equivalência farmacêutica e bioequivalência (mesma biodisponibilidade) em relação ao medicamento de referência indicado pela ANVISA (Brasil, 2003).

Tal fato, aliado ao cumprimento das boas práticas de fabricação e controle de qualidade (BPFC), fornecem as bases técnicas e científicas para a intercambialidade entre o genérico e seu medicamento de referência, uma vez que, nesse caso, ambos podem ser considerados equivalentes terapêuticos, ou seja, medicamentos que apresentam a mesma eficácia clínica e o mesmo potencial para gerar efeitos adversos (Brasil, 2002)

Desse modo, o teste de bioequivalência realizado de acordo com as boas práticas de clínica (BPC) e de laboratório (BPL), empregando-se voluntários sadios, é fundamental para garantir que dois medicamentos que comprovaram a equivalência farmacêutica apresentarão o mesmo desempenho no organismo em relação à biodisponibilidade, expressa em termos da quantidade absorvida do fármaco, a partir da forma farmacêutica administrada, e da velocidade do processo de absorção. (Brasil, 2002)

Fator econômico

A finalidade da instituição dos medicamentos genéricos no Brasil é o aumento do acesso de medicamentos à população através da redução dos preços dos medicamentos, porém este objetivo não foi plenamente atingido, uma vez que a redução ocorrida não foi suficiente para que a população mais carente pudesse vir a adquirir estas medicações. Ou seja, a população que se beneficia continua sendo aquela que já adquiria a medicação. (De Padua, 2003)

Porém os pacientes que fazem uso contínuo do meloxicam, e substituíram o medicamento referência pelo medicamento genérico dos laboratórios Merck, EMS, Eurofarma e Medley tiveram em média, segundo a ANVISA (Brasil, 2004b)⁶, uma redução de preço de 42,10%, o que representa, ao final do mês, uma economia de aproximadamente R\$ 21,00 para os comprimidos de 15 mg.

Os estudos de bioequivalência são constituídos basicamente por três etapas sendo elas: clínica, analítica e estatística. Além de comprovar a bioequivalência da formulação de meloxicam do Laboratório Merck Indústria Químicas S.A. neste estudo, buscou-se o aprimoramento da etapa analítica. No presente trabalho foi validado um método suficientemente preciso e mais rápido que os existentes na literatura.

⁶<http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/lista/comparativa.pdf>

OBJETIVO

O objetivo do trabalho foi avaliar, em voluntários sadios de ambos os sexos se a formulação de meloxicam 15 mg da Merck S.A. Indústria Químicas é bioequivalente à formulação de meloxicam 15 mg do produto de referência da Boehringer Ingelheim - Movatec®.

CAPÍTULO
(MANUSCRITO SUBMETIDO)

Meloxicam determination in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS-MS) used in bioequivalence studies in Brazilian Generic Formulations

Hamilton Modesto Rigato³, Gustavo Duarte Mendes^{2,3}, Rafael E. Barrientos-Astigarraga², Eduardo Abib Jr¹, Ronilson Moreno^{1,3 *}

¹Synchrophar Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos, Campinas, SP, Brazil

²Cartesius Analytical Unit, Department of Pharmacology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

³Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas, Campinas, SP, Brazil

Running title: Meloxicam quantification in Brazilian Generic Formulation

*Author for correspondence:

Ronilson A. Moreno,

38 Dr. Candido Gomide Street

Campinas, SP, Brazil.

Postal Code: 13070-200

Phone/Fax: 55 19 3233-6383

e-mail: synchrophar@synchrophar.com

ABSTRACT

Objective: In this study, the bioavailability of 2 meloxicam 15 mg tablet formulations was compared. A single dose of each formulation was administered to 24 healthy volunteers (12 males and 12 females). **Material and Methods:** The study was conducted using an open, randomized and crossover design with a 2-week washout interval. The Plasma samples were obtained over 96-hour interval and meloxicam concentrations were analyzed by high performance liquid chromatography (an Agilent) coupled to a API 2000 turboionspray tandem mass spectrometry (LC-MS-MS) equipped with an electrospray ionization (ESI) source operating in the positive ion mode using a cross flow counter electrode and set for the multiple reaction monitoring (MRM). The plasma protein precipitated was reconstituted with acetonitrile/water + 10mM acetic acid (20/80; v/v), and inject in a Prevail C8 5 μ m (150mm x 4.6 mm i.d.) analytical column reverse phase liquid chromatography. The retention time observed for meloxicam and tenoxicam (Internal Standard) was 1.8 and 1.4 min, respectively. The mean recovery of meloxicam was 95.9% and the Limit of Quantification was 0.02 μ g/mL.

Results: Geometric mean of meloxicam/Movatec® 15 mg individual percent ratio was 101.3% for AUClast, 99.9% for AUC0- ∞ and 107.7% for Cmax. The 90% confidence interval was 97.3-105.4%; 96.0 – 104.0% and 98.8 – 117.4%, respectively.

Conclusion: Since the 90% CI for both AUClast, AUC0- ∞ and Cmax, ratios were all inside the 80-125% interval proposed by the US Food and Drug Administration Agency and accept by Brazilian ANVISA (Sanitary Surveillance Agency), it was concluded that meloxicam formulation elaborated by Merck S.A. Indústrias Químicas is bioequivalent to Movatec® formulation for both the rate and the extent of absorption. This assay method was a fast, simple, specific, precise and accurate for the bioequivalence study of meloxicam than has previously been described.

Key Words: meloxicam - bioequivalence - high-performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry (LC-MS-MS)

INTRODUCTION

Constitutive cyclooxygenase (COX-1) enzyme is present in cells under physiological conditions, whereas COX-2 enzyme is induced by some cytokines, mitogens, and endotoxin presumably in pathological conditions, such as inflammation. [Mitchell et al. 1993] The identification and development of selective inhibitor COX-2 drugs, will lead to advances in the therapy of inflammation.

Meloxicam, is chemically designated as [4 - hydroxy -2- methyl - N - (5-Methyl-2-thiazolyl) - 2H-1,2-benzothiazine - 3 - carboxamide -1, 1-dioxide] is a new nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) belonging to the enolic acid group. An oxycam derivative with molecular weight 351.4, and empirical formula is C₁₄H₁₃N₃O₄S₂. [PDR 2001]. Figure 1-A.

Meloxicam inhibits cyclooxygenase (COX)-2 more potently than COX-1 and has been extensively evaluated in rheumatic disorders. When administered orally at a daily dose of 7.5 mg in osteoarthritis or 15 mg for chronic inflammatory rheumatism (rheumatoid arthritis or ankylosing spondylitis), meloxicam is as effective as traditional NSAIDs and is associated with superior gastrointestinal tolerability [Dequeker et al. 1998; Hawkey et al. 1998].

During acute, painful exacerbations of rheumatoid arthritis and sciatica, meloxicam has demonstrated potent analgesic and anti-inflammatory after oral administration (tablets or oral suspension). In such cases the therapy may initially be administered intramuscularly (IM) [Euller et al. 2001].

Meloxicam is twelve to fifty-fold more selectivity to COX-2 than COX-1 [Hawkey 2002; Layton et al. 2003], and lacks an inhibitory effect on platelet aggregation in therapeutic doses [Hanft et al. 2003] even at supratherapeutic doses, does not reach levels that result in decrease in vivo platelet function, as measured by bleeding time and aggregometry, did not interfere with platelet-mediated homeostasis [Rinder et al. 2002; Pairet and Ryn 1998]. This drug behaviour permits to be used as pre and post operative medication for surgical deontological procedures.

Meloxicam tablets can be administrated without regard to timing of meals and antacids, it is high absorbed, and the bioavailability is 89% [Busch et al. 1996]. It is bound to plasma proteins about 99.5% and reaches the maximum concentration in four to five hours after oral administration. meloxicam is almost completely metabolized to four pharmacologically inactive metabolites in the liver, and excreted in equal extents in the urine and feces [Panara et al. 1999].

The methods used to Bioequivalence studies are poorly sensitive for a pharmacokinetics profile of meloxicam. The first one who described a method to estimate meloxicam in biological samples was Velpadnam in 1999 [Velpadnam et al. 2000], using a HPLC and UV detection with piroxicam as the internal standard (I.S.). The analytical method were capable of detecting a minimum concentration of 0.029 µg/mL and the limit of quantification (LOQ) was 0.1 µg/mL.

Dasanti et al. using HPLC system and UV detection, developed a method without the solvent extraction procedure. 12 healthy male volunteers received an oral dose of 30 mg of meloxicam, and the pharmacokinetics parameters were made with a LOQ of 0.050 µg/mL. The retention time observed for meloxicam and piroxicam (I.S.) were 6.0 and 4.0 min, respectively. [Dasanti et al. 2001].

In 2002 developed a very sensitive and selectivity method to determination of meloxicam in human plasma using a single 15 mg oral dose, with LC-MS-MS detection with LOQ of 0.00896 µg/mL, his newly assay method construct the pharmacokinetic profile of this drug for up to 120 h, with a retention time of 2.5 min. [Wiesner et al. 2002]

In the present study, a fast, sensitive and specific LC-MS-MS method to quantify meloxicam in human plasma, using tenoxicam (Figure 1-B) as the Internal Standard, is described. LC/MS/MS is becoming one of the most common techniques employed for the quantification of drugs in biological matrices. The present method was employed in a bioequivalence study of two meloxicam 15 mg tablet formulations: meloxicam from Merck S.A. Indústria Química, as the test formulation, and Movatec® from Boehringer Ingelheim, as the reference formulation. The bioequivalence study was conducted using an open, randomized, a single crossover design with a 2-week washout interval with 24 healthy volunteers (12 males and 12 females).

METHODS AND MATERIAL

Clinical Protocol

Twenty-four healthy volunteers aged by 21 and 42 years and within 15% of the ideal body weight, were selected for the study. The male group was composed of 12 volunteers (30 ± 5.5 years, mean $\pm$ SD, range 22-40 years), height between 166.0 and 183.0 cm (175.0 ± 4.9 cm), weighing between 63.3 and 84.5 kg (74 ± 8.1 kg). The female group was composed of 12 volunteers (31.5 ± 5.9 years; range: 21-42 years), height between 149.0 and 170.0 cm (158.4 ± 6.9 cm), weighing between 48.0 and 69.2 kg (57.1 ± 6.6 kg).

All subjects gave written informed consent after they were able to comprehend the full nature and purpose of the study. The clinical protocol was approved by State University of Campinas ethics committee. The volunteers were free from significant cardiac, hepatic, renal, pulmonary, neurological, gastrointestinal, and hematological diseases, as assessed by general physical examination, ECG, and the following laboratory tests: blood glucose, urea, uric acid, creatinine, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase, L- γ -glutamyl-transferase (γ -GT), total bilirubin, albumin and total protein, tryglicerides, total cholesterol, hemoglobin, hematocrit, platelet count, total and differential white cell counts, feces parasitological examination and routine urinalysis. All subjects were negative for HIV, HBV (except for serological scar) and HCV. All female volunteers were negative for pregnancy test (β HCG).

The study was conducted in an open randomized a single crossover balanced design with a 2-week washout period between the doses. During each period, the volunteers were hospitalized at 8:00 p.m. having an evening meal at 8:30. At 7:00 a.m. in the following morning all volunteers received a single 15 mg meloxicam tablet of either formulation. Water (200 mL) was given immediately after drug administration. All volunteers were required to remain fasten until four hours after dose when a standard breakfast at 11:30 a.m. were available. A standard lunch was provided after six, nine (coffee break), twelve and twenty four (evening meal) hours after dosing. No other food

was permitted during the “in-house” period. Liquid consumption was permitted ad libitum but xanthine-containing drinks including tea, coffee, and cola were avoided. Food was also xanthine-free. Smoking was not allowed during the “in-house” period. All subjects were requested to stay in the clinical for a 24h period after drug administration. Systolic and diastolic arterial pressure (measured non-invasively with a sphygmomanometer), heart rate and temperature were recorded just before and hourly after drug administration.

Formulations

Meloxicam 15 mg tablet formulations: meloxicam from Merck S.A. Indústria Química, (batch number 21010, expiry date mar/2004) as the test formulation, and Movatec® from Boehringer Ingelheim (batch number 3181, expiry date jan/2004) as the reference formulation.

Drug analysis

Blood samples (6 mL) from a suitable antecubital vein were collected into EDTA-containing tubes before and 0, 2, 4, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5, 10, 11, 12, 14, 16, 18, 24, 48, 72 and 96h after the administration of each meloxicam tablet formulation. The blood samples were centrifuged at 2000 g for 10 min at room temperature and the plasma was decanted and stored at -20°C until assayed for their meloxicam content. meloxicam plasma concentrations were determined by a validated method using high-pressure liquid chromatography coupled to a mass spectrometer (LC-MS-MS). The full details of the methodology employed was disclosed on the validation procedure described on the report entitled The determination of meloxicam in Human Plasma by LC-MS-MS using Tenoxicam as the Internal Standard, elaborated by the Cartesius Analytical Unit (São Paulo, SP, Brazil). All samples from a single volunteer were analyzed in the same run in order to avoid inter-assay variations.

Sample Extraction

The procedures described here were applied not only for subject samples, but also for the extraction of calibration curve and quality control standard samples.

Frozen human plasma was thawed at room temperature and centrifuged at 2000 g for 10 minutes at 4°C to precipitate solids. A 200 µL volume of plasma were introduced into appropriate glass test tubes; with 50 µL of the internal standard solution (Tenoxicam 5 µg/mL in 50: 50 methanol:water solution) and 20 µL of formic acid (23 M), using a Eppendorf pipette, and vortex-mix the samples for approximately 10s. A mixture of Diethyl-ether / hexane (80/20; v/v, 4.0 mL), using a repeating pipette, was added to each tube and the samples were vortex-mix for 40 s. Then the samples were centrifuged (10 min at 2000 g) and the organic phase was transferred to another set of clean tubes. The organic solvents were evaporated using a flow of nitrogen at 37°C and the dry residue was reconstituted with 200 µL of Acetonitrile/water + 10 mM acetic acid (20/80; v/v) and vortex-mix for 15 s to reconstitute the residues. The extracts were transferred into individual vials, capped and placed in an autosampler rack.

Liquid chromatographic and mass spectrometric conditions

An Agilent HPLC system consisting of a liquid chromatograph (G1311A) and a solvent degasser (G1322A) was used for all analyses. The chromatographic system consisted of a Prevail C8 analytical column, 5 µm (150 mm x 4.6 mm i.d.) at a flow rate of 1.5 mL/min. The column operated at room temperature and the pressure of the system was 80-90 bar. The autosampler operated at room temperature and the injection volume was 3 µL. A split of the column eluant of approximately 01:15 was included so that only approximately 100 µL/min entered the mass spectrometer. Under these conditions, typical standard retention times were 1.4 min for the IS and 1.8 min for de meloxicam. The mobile phase was Acentonitrile/Water (70/30; v/v).

Mass spectrometry was performed using an API 2000 mass spectrometer, equipped with an turboionspray system, source operating in the positive ion mode using a crossflow counter electrode and set for the multiple reaction monitoring (MRM) mode. Data acquisition and analyses were performed using the software Analyst (v. 1.3.2) running under Windows NT (v. 4.0) on a Dell PC.

Method development

Full-scan positive mass spectra showed the protonated molecules, $[M + H]^+$, of m/z 351.9 for meloxicam and 338.0 for the IS. The most abundant ion in the product ion spectra was at m/z 115.1 for meloxicam and at m/z 121.2 for the IS. Full-Scan mass and product ion spectrograms of meloxicam and tenoxicam (IS) are illustrated in Figure 2 and Figure 3, respectively.

Suppression of the MS signal (“ion suppression”) can be caused by contaminants (e.g. salts) in the LC eluant entering the MS. Thus, a non-specific extraction procedure may produce ion suppression that could interfere with the analysis of the samples. The effects of the sample preparation method (for the matrix that is being analyzed) on the variability of the electrospray ionization response should be determined.

Ionic suppression

To assess the effect of ion suppression on the MS/MS signal of the analyte, meloxicam, and the internal standard, Tenoxicam, the extraction procedure described “Sample extraction” was evaluated. The experimental set-up consisted of an infusion pump connected to the system by a “zero volume tee” before the split and the HPLC system pumping the mobile phase, which was the same as that used in the routine analysis of meloxicam, i.e. acetonitrile/water (70:30 v/v) +50 mM acetic acid 1.5 mL/min. The infusion pump was set to transfer (50 μ L/min) of a mixture of analyte and internal standard in mobile phase (both 50 μ g/mL). A sample of human pooled blank plasma was extracted by the extraction procedure. The reconstituted extract was injected into the HPLC system while the standard mixture was being infused. In this system any ion suppression would be observed as a depression of the MS signal.

Pharmacokinetic and statistical analysis

The maximum concentration reached (C_{max}), the Area Under the Curve from the time of dosing to the last measurable concentration (AUC_{last}) and the AUC from the time of dosing extrapolated to infinity ($AUC_{0-\infty}$) were compared. The AUC were

calculated using the log-linear trapezoidal method. The maximum observed plasma concentration (C_{max}) and the time taken to achieve this concentration (T_{max}) were obtained directly from the curves. The Areas Under the Curve from the time of dosing to the last common measurable concentration for both drugs ($AUC_{last(paired)}$), the time of maximum concentration reached (T_{max}), the estimated half-life ($t_{1/2}$) and constant of elimination (k_e) were also calculated, although not used for comparison.

The 90% CI of the geometric mean for the individual test/reference ratios (Meloxicam/Movatec®) for AUC_{last} , $AUC_{0-\infty}$ and C_{max} were obtained to assess the bioequivalence between formulations. The inclusion of the 90% CI for the ratios in the 80-125% range (US Food and Drug Administration) and accept by Brazilian ANVISA, was analyzed using a parametric (ANOVA) for log-transformed data.

The software used included WinNonLin Professional Network Edition (Scientific Consulting, v. 1.5), Bioequivalence Program for Two-Period Crossover Studies (Herman P. Wijnand, v. 3.4), Microsoft Excel (v. 7.0) and GraphPad Prism (v. 3.02).

Assay performance

Specificity

To test the specificity, blank samples of human plasma were obtained from four individuals. Each blank sample were tested for interference using the proposed extraction procedure and chromatographic or spectroscopic conditions and compared with those obtained with an aqueous solution of the analyte at a concentration near to the Limit of Quantification.

Determination of the Limit of Quantification

Limit of Quantification were defined taking into account the method sensitivity, the precision and the accuracy. Three low concentration values, around the anticipated LOQ, were tested with duplicate analytes included in the curve. To evaluate precision and accuracy, specific quality control samples were also included in the validation procedure. Although sensitivity was good enough to quantify even lower values, measures were taken

to guarantee a LOQ near to 1,65% of the anticipated C_{max}. As so, the LOQ validated under the condition found during the pre-study validation was of 0.02 µg/mL. The quality control samples were fixed at concentrations of 0.06, 0.40 and 1.5 µg/mL (QCA, QCB, and QCC, respectively).

Linearity

Linearity was determined to assess the performance of the method. A linear least-squares regression with a weighting index of 1/x was performed on the peak area ratios of meloxicam and IS vs. meloxicam concentrations of the seven plasma standards (0.02, 0.05, 0.10, 0.20, 0.50, 1.00 and 2.00 µg/mL) in duplicate to generate a calibration curve.

Recovery

Preliminary experiments were conducted to evaluate the recovery with the extraction method described above. The recovery (%) was calculated as the ratio of the peak area for extracted blank plasma spiked with each standard concentrations (0.06, 0.40 and 1.5 µg/mL) relative to the peak area of the equivalent unextracted solutions in methanol/water (50/50, v/v).

Precision and accuracy

Within- and between-run precision was determined as the relative standard deviation, $RSD(\%) = 100(SD/M)$ and the accuracy as the percentage relative error, $RE(\%) = (E-T)(100/T)$, where M is the mean, SD is the standard deviation of M, E is the experimentally determined concentration and T is the theoretical concentration.

Stability

Quality control samples (QCA, QCB and QCC) were subjected to 112h-autosampler room temperature stability tests, short term (6h) room temperature and three freeze (-20°C) & thaw cycles stability tests. For long term stability were performed in

0.06 and 1.5 ug/mL for 136 days and 0.06 and 0.8 ug/mL for 372 days. Subsequently the meloxicam concentrations were measured in comparison with freshly prepared samples and the significance of the obtained results was analyzed by the Student's t-test ($p < 0.05$).

RESULTS

Assay performance

The method was linear for meloxicam from 0.02 to 2.0 $\mu\text{g/mL}$ ($r^2 > 0.9988$) on repeated calibration curves. The recovery of meloxicam for QCA, QCB and QCC was 95.0%, 96.4% and 96.2%, respectively. For the IS, QCA, QCB and QCC the recovery was 92.8%, 96.4% and 90.6%, respectively. No matrix effect was observed. The limit of quantification (LOQ) validated was 0.02 $\mu\text{g/mL}$ defined as the lowest concentration at was in accordance to the FDA Guideline (less than 20% for precision and inside 80-120% for the accuracy). Figure 4

Stability tests (Post-processing, freeze-and-thaw, short-term, long-term and master solution stability) performed indicated that there was no significant degradation under the conditions described.

In the case of meloxicam and its internal standard, Tenoxicam, there was no significant ion suppression in the region where the analyte and internal standard are eluted as shown in Figure 5.

Bioequivalence study

Both meloxicam formulations were well tolerated at the administered dose. No adverse effects were reported and the biochemical parameters remained unchanged and within the reference range.

Table 1 shows the values for AUClast, AUC0- ∞ , Cmax, T1/2 and Tmax. Table 2 summarizes the bioequivalence analysis of AUClast, AUC0- ∞ , and Cmax for meloxicam formulations and for sexes. No period effect was observed for the pharmacokinetic parameters studied (data not shown). The mean meloxicam plasma

concentration vs time curve obtained after a single oral dose of each meloxicam formulation are shown in Figure 6.

Meloxicam peak plasma concentration (C_{max}), the time to achieve this concentration (T_{max}) and the terminal half-life ($T_{1/2}$) were similar to those reported in the literature. [Euller et al. 2001; Hanft et al. 2001; Dasanti et al. 2002; Wiesner et al. 2003]

DISCUSSION

The use of this model of LC-MS-MS was undertaken to simplify and to optimize a method for the rapid estimation of meloxicam in small volume biological fluids. The LC/MS/MS method described herein agrees with the concept of high samples throughput required for pharmacokinetic assays since it has a shorter retention time (1.8 min) for meloxicam (than has previously been described) compared with those reported in the literature (2.7 min - 6.0 min range) [Velpadian et al. 2000; Dasanti et al. 2002]. Assays with a short retention time and the absence of late appearing peaks allowed the analysis of all the samples from a single volunteer within a working-day period.

The high selectivity of multiple reaction monitoring (MRM) for different compounds meant that a simple liquid-liquid extraction procedure could be used with shorter analysis times as mentioned above.

As shown in table 1, mean AUC_{last} , $AUC_{0-\infty}$, C_{max} , $T_{1/2}$ and T_{max} values were similar for both formulations, and an important degree of overlapping was observed between their 90% for the geometric means.

Table 2 summarizes that 90% CI of mean AUC_{last} , $AUC_{0-\infty}$, and C_{max} were included into the bioequivalence range, i.e. 80-125%, when analyzed by parametric analysis. These results mean that both formulations are clearly bioequivalent for the extent of absorption, as stated by the US Food and Drug Administration authorities (1985, 1993).

Comparing the relative inhibitory activities of NSAIDs against cyclooxygenase (COX)-1 and COX-2, suggests inhibitors can be classified based on their COX selectivity.

Standard non-steroidal anti-inflammatory drug can be considered nonselective; compounds such as meloxicam can be classified as COX-2 preferential; and compounds such as flosulide and Celecoxib are selective for COX-2 [Pairet et al. 1998].

COX-1 is the constitutive isoenzyme found under physiological conditions in most tissues, once inhibition is responsible for the disruption of the cytoprotection of the stomach, kidney function, and inhibition of platelet aggregation, caused by adverse effects of standard non-steroidal antiinflammatory drugs. Since the discovery of a second isoenzyme of cyclooxygenase (COX), COX-2, it has been proposed that its expression is induced, particularly during inflammatory processes, becoming the target for the selective NSAID.

The meloxicam is approved for use as anti-inflammatory agent for treatment of rheumatic disorders. When administered orally at a daily dose of 7.5 mg in osteoarthritis or 15mg for chronic inflammatory rheumatism (rheumatoid arthritis or ankylosing spondylitis)[Euller et al. 2001]

The analytical method was successfully utilized for estimating meloxicam in biological samples, and would be useful for the biopharmaceutical studies on meloxicam.

CONCLUSION

The HPLC/MS/MS method described here for meloxicam quantification in human plasma agrees with the concepts of fast, high sensitivity, specificity and high samples throughput required for pharmacokinetic assays such as bioequivalence studies.

Since the 90% CI for AUClast, AUC_{0-∞} and C_{max} (linear) ratios were all inside the 80-125 % interval proposed by the US Food and Drug Administration Agency [US FDA 1985; US FDA 1993] and accepted by Brazilian ANVISA (Sanitary Surveillance Agency) [Brasil 2003], it was concluded that meloxicam 15 mg tablet formulation elaborated by Merck S.A. Indústria Química is bioequivalent to Movatec® 15 mg tablet formulation for both the rate and the extent of absorption.

Table content

Table 1- Mean pharmacokinetic parameters for 24 volunteers after the administration of meloxicam formulations.

Table 2- Geometric mean of the individual AUC_{last}, AUC_{0-∞}, and C_{max} ratios (test/reference formulation) and the respective 90% confidence intervals (CI).

Illustrations

Figure 1- Chemical structures for the meloxicam (A) and Tenoxicam (B).

Figure 2- Full scan mass spectra of meloxicam (upper panel) and its respective product ion spectra (lower panel)

Figure 3- Full scan mass spectra of tenoxicam (upper panel) and its respective product ion spectra (lower panel)

Figure 4- Ion suppression experiment (baseline profile after blank plasma extract injection)

Figure 5- Standard peak at the LOQ level. Meloxicam (upper panel) and Tenoxicam (lower panel)

Figure 6- Meloxicam plasma mean concentration versus time profile obtained after the single oral administration of 15 mg of the meloxicam tablet formulation.

Table 1- Mean pharmacokinetic parameters for 24 volunteers after the administration of meloxicam formulations.

	Movatec®		Meloxicam	
	Mean	SD	Mean	SD
AUClast ([µg*h]/mL)	27.1	10.9	27.3	10.1
AUC0-∞ ([µg * h]/mL)	29.6	13.6	29.1	11.6
Cmax (µg/mL)	1.12	0.3	1.21	0.4
T1/2(h)	22.38	8.6	19.45	5.6
	Median	(Range)	Median	(Range)
Tmax(h) – median	4.0	2.0 16.0	4.0	2.0 7.0

Table 2- Geometric mean of the individual AUC_{0-last} AUC_{0-∞}, and C_{max} ratios (test/reference formulation) and the respective 90% confidence intervals (CI).

Meloxicam / Movatec® 15 mg	Statistical analysis		
	Power	Geom. mean	90% CI
AUClast % ratio (n=24)	0.100	101.3	97.3 - 105.4
AUC0-∞ % ratio (n=24)	0.100	99.9	96.0 - 104.0
Cmax % ratio (n=24)	0.987	107.7	98.8 - 117.4
AUClast % ratio (n=12) - Man	0.999	104.88	99.77 - 110.24
AUC0-∞ % ratio (n=12) - Man	0.100	104.46	99.93 - 109.19
Cmax % ratio (n=12) - Man	0.925	103.82	93.31 - 115.51
AUClast % ratio (n=12) - Woman	0.999	97.82	91.80 - 104.22
AUC0-∞ % ratio (n=12) - Woman	0.999	95.59	89.80 - 101.75
Cmax % ratio (n=12) - Woman	0.646	111.74	95.71 - 130.46

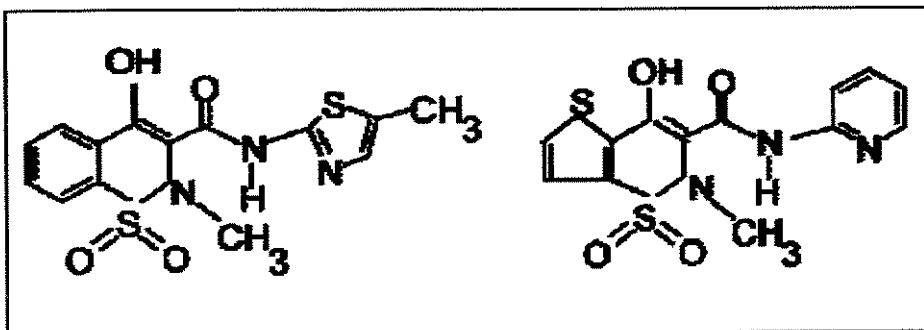


Figure 1- Chemical structures for the Meloxicam (A) and Tenoxicam (B)

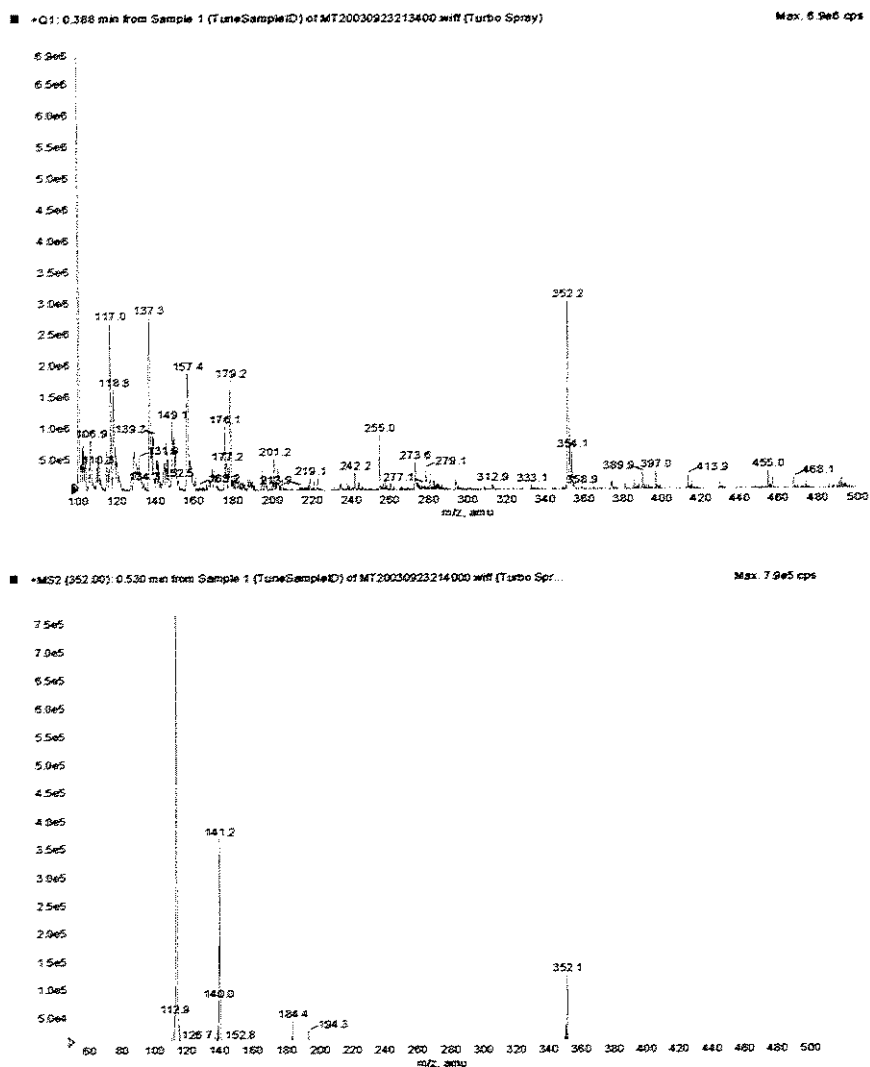


Figure 2- Full scan mass spectra of meloxicam (upper panel) and its respective product ion spectra (lower panel)

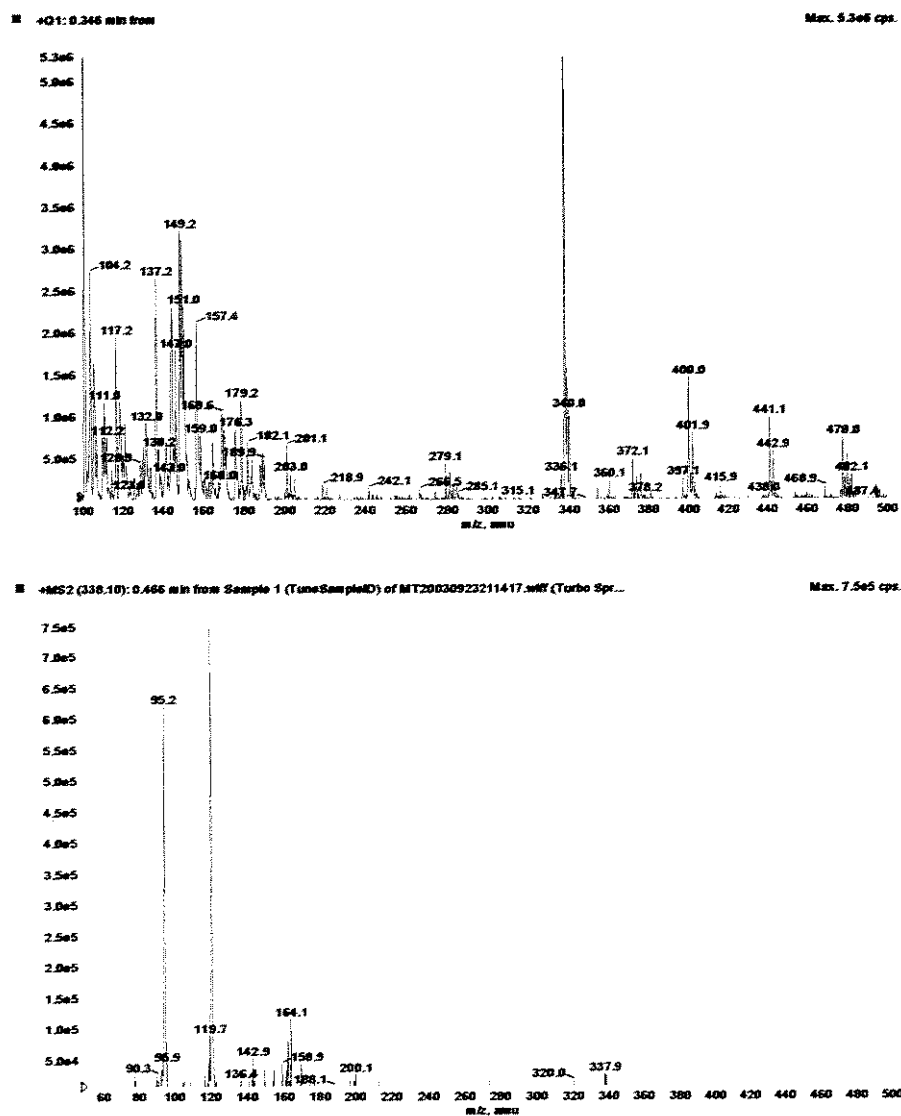


Figure 3- Full scan mass spectra of tenoxicam (upper panel) and its respective product ion spectra (lower panel)

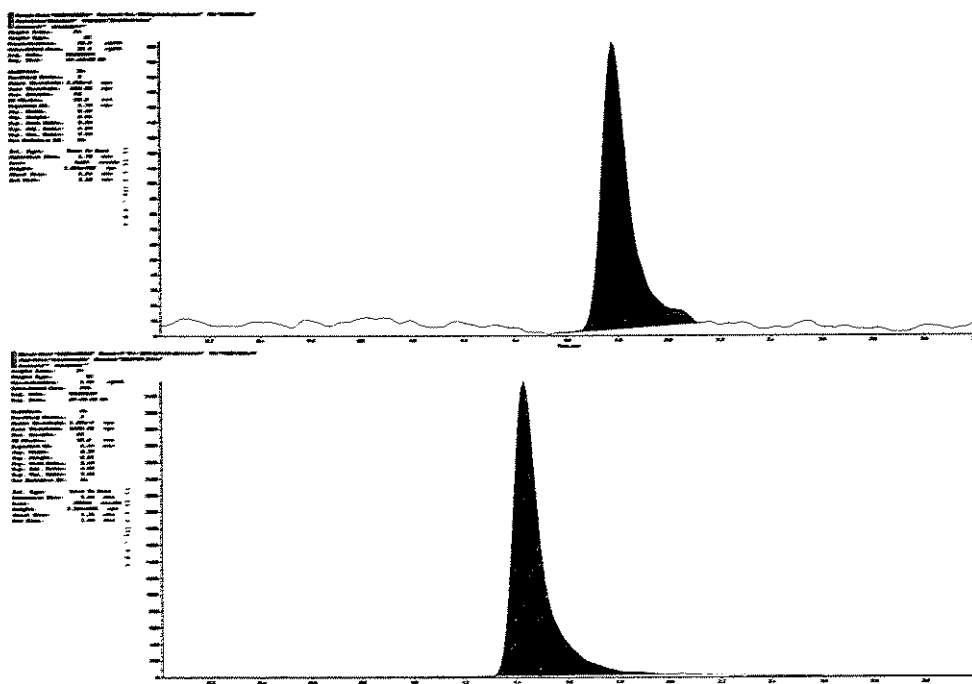


Figure 4- Standard peak at the LOQ level. Meloxicam (upper panel) and Tenoxicam (lower panel)

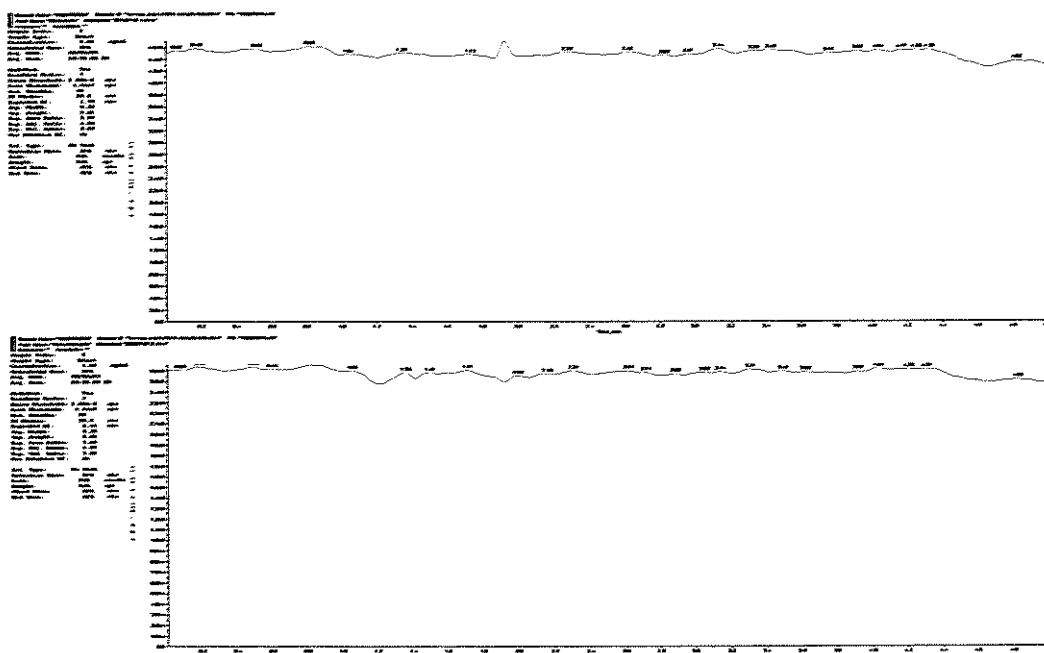


Figure 5- Ion suppression experiment (baseline profile after blank plasma extract injection)

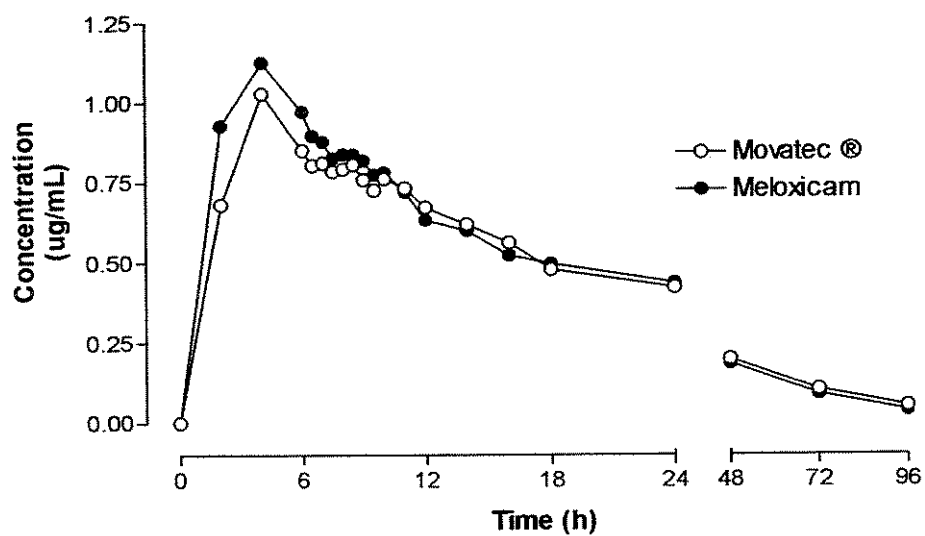


Figure 6- Meloxicam plasma mean concentration versus time profile obtained after the single oral administration of 15 mg of the meloxicam tablet formulation.

REFERENCES

Brasil. Sanitary Surveillance Agency. (2003) Resolution - RDC nº 135, of May 29, Technical Regulation for Generic Drugs. OJU, Brasilia

Busch U, Heinzl G, et al. (1996) Interaction of meloxicam with cimetidine, Maalox, or aspirin. *J Clin Pharmacol* 36(1):79-84.

Dasandi B, Shivaprakash, et al. (2002) LC determination and pharmacokinetics of meloxicam. *J Pharm Biomed Anal* 28(5):999-1004.

Dequeker J, Hawkey C, Kahan A, et al. (1998) Improvement in gastrointestinal tolerability of theselective cyclooxygenase (COX)-2 inhibitor, meloxicam, compared with piroxicam: results of the safety and efficacy large-scale evaluation of COX-inhibiting therapies (SELECT) trial in osteoarthritis. *Br J Rheumatol* 37:946–51.

Euller-Ziegler L, Velicitat P, Bluhmki E, et al. (2001) Meloxicam: a review of its pharmacokinetics, efficacy and tolerability following intramuscular administration. *Inflamm Res* 50: Suppl 1 S5-S9.

Hanft G, Turck D, et al. (2001) Meloxicam oral suspension: a treatment alternative to solid meloxicam formulations. *Inflamm Res* 50: Suppl 1 S35-7.

Hawkey C, Kahan A, Steinbrück K, et al. and the international MELISSA Study Group (1998) Gastrointestinal tolerability of meloxicam compared to diclofenacin osteoarthritis patients. *Br J Rheumatol* 37:937–45.

Hawkey C J (2002) Cyclooxygenase inhibition: between the devil and the deep blue sea. *Gut*. May 50: Suppl 3:III 25-30.

Layton D, Heeley E, Hughes K, et al. (2003) Comparison of the incidence rates of selected gastrointestinal events reported for patients prescribed rofecoxib and meloxicam in general practice in England using prescription-event monitoring data. *Rheumatology* 42:622-631.

Mitchell JA, Akarasereemont P, Thiemermann C, et al. (1993) Selectivity of non-steroidal anti-inflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proc. Natl Acad Sci USA* 90:11693-7.

Pairet M and Ryn JV (1998). Experimental models used to investigate the differential inhibition of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Inflamm Res* 47:Suppl 2: S93-101.

Panara MR, Renda G, Sciulli MG, et al. (1999) Dose-dependent inhibition of platelet cyclooxygenase-1 and monocyte cyclooxygenase-2 by meloxicam in healthy subjects. *J Pharmacol Exp Ther* 290:276–80.

Physicians' Desk Reference - PDR. 981 (2001). Medical Economics Company (55th ed), Montvale, NJ.

Rinder HM; Tracey JB; Souhrada M; et al. (2002) Effects of meloxicam on Platelet Function in Healthy Adults: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J. Clin Pharmacol* 42:881- 886.

US Food and Drug Administration (1985) Federal Register Part 320: Bioavailability and Bioequivalence Requirements: Washington, DC,154-173.

US Food and Drug Administration (1993). In vivo bioequivalence guidances. *Pharmacopeial Forum*.19: 6501-6508.

Velpandian T, Jaiswal J, et al. (2000) Development and validation of a new high-performance liquid chromatographic estimation method of meloxicam in biological samples." *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 738(2):431-6.

Wiesner JL; Jager AD; Sutherland FCW; et al. (2003) Sensitive and rapid liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of meloxicam in human plasma. *J Chromatography B*. 785:115-121.

CONCLUSÕES

Depois da administração oral dos comprimidos de meloxicam aos voluntários, os valores observados do pico da concentração de meloxicam no sangue (C_{max}) e os valores de tempo alcançados (T_{max}) foram similares àqueles relatados previamente e equivalente entre as duas formulações. Considerando que os intervalos de 90% para as razões geométricas de C_{max} , AUC_{last} e AUC_{inf} estavam dentro do intervalo de 80-125% estabelecido pela Food and Drug Administration (US FDA, 1993) e aceita pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil, 2003) concluiu-se que:

- 1- A formulação do comprimido de meloxicam 15 mg elaborada pela Merck S.A. Indústria Químicas é bioequivalente a cápsula de meloxicam 15 mg do produto de referência da Boehringer Ingelheim – Movatec[®] tanto para a velocidade quanto para o grau de absorção.
- 2- Obteve-se bioequivalência para ambos os sexos, excetuando-se para C_{max} das mulheres.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brasil. Lei n 9.787, de 10 de fevereiro de 1999. Dispõe sobre a Vigilância Sanitária, estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 1999.

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

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

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. [acesso em 23 set. 1994a] Disponível em: URL: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/lista/classe.pdf>

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. [acesso em 23 set. 1994b] Disponível em: URL: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/lista/comparativa.pdf>

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. [acesso em 13 mar. 2005a] Disponível em: URL: http://anvisa.gov.br/farmacovigilancia/informes/2005/informe_1.htm

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Bulário Eletrônico da ANVISA. [acesso em 15 mai. 2005b] Disponível em: URL: <http://bulario.bvs.br>

Busch U, Heinzl G, Narjes H, Nehmiz G. Interaction of meloxicam with cimetidine, maalox, or aspirin. J Clin Pharmacol 1996; 36(1):79-84.

Davies NM, Skjodt NM. Clinical pharmacokinetics of meloxicam. A cyclo-oxygenase-2 preferential NSAID. Clin Pharmacokinet 1999; 36:115-26.

De Padua AAF. Estudo de bioequivalência entre duas formulações farmacêuticas (comprimidos) contendo 20 mg de Lisinopril, em voluntários sadios de ambos os sexos [Tese - Mestrado]. Campinas-SP: Universidade Estadual de Campinas; 2003.

Degner F, Heinzel G, Busch U. Transsynovial kinetics of meloxicam. *Scand J Rheumatol* 1994; S98:A121.

Dequeker J, Hawkey C, Kahan A, Steinbrück K, Alegre C, Baumelou E, et al. Improvement in gastrointestinal tolerability of the selective cyclooxygenase (COX)-2 inhibitor, meloxicam, compared with piroxicam: results of the safety and efficacy large-scale evaluation of COX-inhibiting therapies (SELECT) trial in osteoarthritis. *Br J Rheumatol* 1998; 37:946–51.

Dighe SV. A review of the safety of generic drugs. *Transplant Proc* 1999; 31 (Suppl 3A):235-45.

Distel M, Mueller C, Bluhmki E, Fries J. Safety of meloxicam: A global analysis of clinical trials. *Br J Rheumatol* 1996; 35(Suppl 1):68–77.

Engelhardt G. Pharmacology of meloxicam, a new non-steroidal anti-inflammatory drug with an improved safety profile through preferential inhibition of COX-2. *Br J Rheumatol* 1996; 35(Suppl 1):4–12.

Euller-Ziegler L, Velicitat P, Bluhmki E, Turck D, Scheuerer S, Combe B. Meloxicam: a review of its pharmacokinetics, efficacy and tolerability following intramuscular administration. *Inflamm Res* 2001; 50(Suppl 1):S5-S9.

FitzGerald GA. COX-2 and beyond: Approaches to prostaglandin inhibition in human disease. *Nat Rev Drug Discov.* 2003 Nov;2(11):879-90. Review.

Hassan EM. Spectrophotometric and fluorimetric methods for the determination of meloxicam in dosage forms. *Pharm Biomed Anal* 2002; 27:771–7.

Hawkey C, Kahan A, Steinbrück K, Alegre C, Baumelou E, Bégaud B, et al. Gastrointestinal tolerability of meloxicam compared to diclofenacin osteoarthritis patients. *Br J Rheumatol* 1998; 37:937–45.

Hawkey CJ. Cyclooxygenase inhibition: between the devil and the deep blue sea. *Gut* 2002; 50(Suppl III):iii25-30.

Knijff-Dutmer EAJ, Kalsbeek-Batenburg EM, Koerts J, van de Laar MAFJ. Platelet function is inhibited by non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs but not by cyclo-oxygenase-2-selective inhibitors in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2002; 41:458-61.

Laporte JR, Ibáñez L, Vidal X, Vendrell L, Leone R. Upper Gastrointestinal Bleeding Associated with the Use of NSAIDs: Newer Versus Older Agents. *Drug Saf* 2004; 27(6):411-20.

Marcelín-Jiménez G, Hernández JA, Ángeles AP, Contreras L, García A, Hinojosa M, et al. Bioequivalence Evaluation of Two Brands of meloxicam Tablets (Promotion1 and Mobicox1): Pharmacokinetics in a Healthy Female Mexican Population. *Biopharm Drug Dispos* 2005; 26:167-71.

Narjes H, Türck D, Busch U, Heinzl G, Nehmiz G. Pharmacokinetics and tolerability of meloxicam after IM administration. *Br J Clin Pharmacol* 1996; 41:135-9.

Noble S, Balfour AJ. Meloxicam. *Drugs* 1996; 51:424-30.

Panara MR, Renda G, Sciulli MG, Santini G, Di Giamberardino M, Rotondo MT, et al. Dose-dependent inhibition of platelet cyclooxygenase-1 and monocyte cyclooxygenase-2 by meloxicam in healthy subjects. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 290:276-80.

Physicians' Desk Reference PDR. 981 (2001). Medical Economics Company (55th ed), Montvale, NJ.

Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. *Farmacologia*. 5.ed. Elsevier; 2004.

Schmid J, Busch U, Heinzl G. Pharmacokinetics and metabolic pattern after intravenous infusion and oral administration of meloxicam to healthy subjects. *Drug Metab Dispos* 1995; 23:1206-13.

Silva P. *Farmacologia*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.

Storpiotis S. *Biofarmacotécnica: Fundamentos de biodisponibilidade, bioequivalência, dissolução e intercambialidade de medicamentos genéricos*. São Paulo. 1999. 78p.

Storpirtis S, Marcolongo R, Gasparotto FS, Vilanova CM. A equivalência farmacêutica no contexto da intercambialidade entre medicamentos genéricos e de referência: bases técnicas e científicas. *Infarma* 2004; 16(9-10):51-6.

US Food and Drug Administration. In vivo bioequivalence guidances. *Pharmacopeial Forum*: US FDA 1993; 19:6501-8.

Vane JR. Towards a better aspirin. *Nature* 1994; 367:215-6.

Vane JR, Botting RM. The future of NSAID therapy: selective COX-2 inhibitors. *Int J Clin Pract* 2000; 54:7-9.

World Health Organization. Marketing authorization of pharmaceutical products with special reference to multisource (generic) products: a manual for a drug regulatory authority. Geneva: WHO, [s.n.], 1999.

Xie W, Chipman JG, Robertson DL, Erikson RL, Simmons DL. Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:1692-6.

ANEXOS

Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

☒ Caixa Postal 6111

13083-970 Campinas-S.P.

☎ 0 19 7888936

fax 0 19 7888925

📧 cep@fmed.unicamp.br

CEP, 15/02/02
(Grupo II)

PARECER PROJETO: Nº 095/2002

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: "ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA DE UMA FORMULAÇÃO DE MELOXICAM COMPRIMIDO DE 15 MG DA MERCK SA VERSUS UMA FORMULAÇÃO DE MELOXICAM COMPRIMIDO DE 15 MG DO PRODUTO DE REFERÊNCIA DA BOEHRINGER INGELHEIM (MOVATEC) EM VOLUNTÁRIOS SADIOS DE AMBOS OS SEXOS"

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Eduardo Abib Junior

INSTITUIÇÃO: Synchrphar e Hospital Clínica São Lucas S/A de Americana (SP)

APRESENTAÇÃO AO CEP : 08/02/2002

II - OBJETIVOS

Avaliar se a formulação de Meloxicam comprimido de 15 mg produzida pela Merck SA atinge nível plasmático equivalente ao Meloxicam comprimido de 15 mg do produto de referência elaborado pela Boehringer Ingelheim (Movatec), quando administrada em 24 voluntários sadios adultos de ambos os sexos.

III - SUMÁRIO

Estudo aberto, randomizado, cruzado, dose única onde 24 voluntários, adultos de ambos o sexos com idade de 18 a 50 anos, recebem os medicamentos teste e referência em dois períodos.

Depois da seleção e observado um período de pelo menos 2 semanas sem fazer uso de qualquer medicação, os voluntários que forem considerados qualificados para participar do estudo, serão internados por dois períodos de aproximadamente 36 horas cada, com pelo menos cinco meia vidas (mínimo de 14 dias) de intervalo entre as internações.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

O protocolo do projeto é bem completo, estruturado e claro.

Como toda droga, esta também pode apresentar algum risco para o indivíduo, embora pareça ser muito pequeno. Os benefícios trazidos pela pesquisa pode ser o da confiabilidade em outro laboratório que produz a mesma droga, deixando o mercado mais competitivo e podendo haver uma redução do preço dos medicamentos.

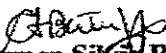
O termo de consentimento é claro, podendo ser entendido por qualquer pessoa, apresentando tudo aquilo que o indivíduo precisa saber. Projeto de pesquisa APROVADO.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e 251/97, bem como ter aprovado todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

VI - DATA DA REUNIÃO

Homologado na II Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 19 de fevereiro de 2002.


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

Termo de consentimento livre e esclarecido

Estudo de Bioequivalência de uma Formulação de meloxicam comprimido de 15 mg da Merck S. A versus uma Formulação de meloxicam comprimido de 15 mg do Produto de Referência da Boehringer Ingelheim - Movatec® em Voluntários Sadios de Ambos os Sexos

SPH 07/02

Termo de consentimento livre e esclarecido

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

Responsáveis: Drs Eduardo Abib Júnior, Moisés Luis Pirasol Vanuncci e Ronilson Agnaldo Moreno.

O abaixo-assinado, _____, _____ anos, RG nº _____ declara que é de livre e espontânea vontade que está participando como voluntário do projeto de pesquisa supracitado, de responsabilidade dos médicos/pesquisadores: Eduardo Abib júnior, Moisés Luis Pirasol Vanuncci, Ronilson Agnaldo Moreno e Silvana Fidelis de Souza da Synchrophar Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos. O abaixo-assinado está ciente que:

I- O objetivo da pesquisa é verificar se 15 mg de meloxicam produzido pela Merck S.A - (formulação teste) atingem níveis no sangue equivalentes a 15 mg de meloxicam (Movatec®) – da Boehringer Ingelheim - formulação referência. Você receberá duas medicações diferentes em duas ocasiões diferentes. A ordem que você tomará cada medicação obedecerá a uma lista chamada de randomização. Deste estudo participarão 24 voluntários sendo 12 homens e 12 mulheres.

II- Antes de sua participação no estudo e após a sua participação você será convidado a ir na Synchronphar Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos S/C Ltda para verificação da sua condição de saúde. Você será examinado por um médico que lhe fará um exame completo, medindo o seu pulso, sua temperatura, sua pressão arterial. Um exame eletrocardiográfico também será feito. O médico lhe perguntará se você teve ou tem alguma doença e se você faz uso de algum medicamento. Exames laboratoriais serão realizados durante esta visita. Os exames laboratoriais incluem hemograma completo (hemoglobina, hematócrito, contagem diferencial de glóbulos brancos, contagem de glóbulos vermelhos e plaquetas.); bioquímica sanguínea (glicose no sangue, proteínas totais, albumina, transaminases oxalacética e pirúvica, gamaglutamil transferase, creatinina, uréia, ácido úrico, colesterol e triglicérides). Exames para a hepatite B e C e para AIDS (HIV 1 e HIV2) no sangue e protoparasitológico (nas fezes) serão feitos somente no pré estudo.

III- Durante o estudo, será internado duas vezes por aproximadamente 36 horas cada período, com intervalo mínimo de 14 dias. Em cada internamento, serão administrados 15 mg de meloxicam na forma de comprimido (01 comprimido) Serão coletadas 21 amostras de sangue de 6 mL cada através de agulha introduzida em veia superficial em cada internamento para a dosagem do medicamento e mais uma amostra de 25 mL antes da administração da medicação para o controle de qualidade do método analítico (método que dosa a medicação no sangue) .Um total de 350 mL de sangue será colhido durante todo o estudo.

IV- A participação neste estudo não tem objetivo de submetê-lo a um tratamento terapêutico.

V- A administração por boca de meloxicam de maneira continuada pode causar reações como plenitude gástrica (peso no estômago), perda de apetite, dispepsia (azia), náuseas, dor abdominal e diarreia, lesões de pele tipo urticária, exantema (manchas vermelhas), dor muscular e nas articulações.

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

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

VI- Obteve todas as informações necessárias para poder decidir conscientemente sobre a participação no referido ensaio clínico.

VII- Tem a liberdade de desistir ou interromper a participação neste estudo no momento que desejar, sem necessidade de qualquer explicação e sem que isto venha interferir no seu atendimento médico desta Instituição.

VIII- A interrupção não causará prejuízo ao seu atendimento, cuidado e tratamento pela equipe da Synchrophar Assessoria e Desenvolvimento de projetos Clínicos S/C Ltda .

IX- Os resultados obtidos durante este ensaio serão mantidos em sigilo, e a Synchrophar Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos S/C Ltda não identificará o voluntário por ocasião da publicação dos mesmos.

X- Durante o período de 180 dias a partir da data da assinatura deste termo, o voluntário estará assegurado (Seguro de Vida em Grupo) pela empresa Executivos Seguros (Sul America Aetna)

XI- Caso surja alguma intercorrência, deverá procurar a Synchrophar Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos S/C Ltda e solicitar que o mesmo contate os médicos responsáveis pelo ensaio clínico, nos telefones abaixo.

XII- A Synchrophar Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos S/C Ltda o manterá informado e prestará qualquer tipo de esclarecimento em relação ao progresso da pesquisa, conforme sua solicitação.

XIII- Poderá contatar a Secretaria do Comitê de Ética em Pesquisas da UNICAMP fone 3788-8936 para apresentar recursos ou reclamações em relação ao ensaio clínico.

XIV- De acordo com valores previamente estabelecidos (R\$ 370.00), os voluntários serão ressarcidos das despesas e tempo dispendidos na realização do supracitado estudo clínico.

XV- É condição indispensável, para participação no ensaio clínico, que esteja em boa saúde e, portanto, não esteja no momento sob tratamento médico ou fazendo uso de quaisquer drogas ou medicações. Algumas regras deverão ser seguidas para minha participação no estudo: não posso ser dependente de drogas ou álcool e caso o investigador tenha alguma suspeita, poderá solicitar exame de urina para detecção do uso de drogas; não poderei ter doado sangue ou plasma dentro dos três meses que antecedem o estudo ou ter doado 1500 mL (um litro e meio) no período de um ano antecedendo o estudo; não poderei tomar bebidas contendo cafeína e xantinas (chocolate, café, chá, coca-cola etc) nas 48 horas que antecedem as internações até a última coleta.

XVI- Aos voluntários do sexo feminino é condição indispensável para participação no ensaio clínico que não estejam grávidas, comprovado por exame de gravidez (Beta-HCG).

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

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

Ao assinar este Termo de Consentimento estou autorizando o acesso às minhas informações de saúde aos membros da equipe e a monitores, auditores, membros do Comitê de Ética em Pesquisa e membros de órgãos regulamentares envolvidos, nas condições estabelecidas no item XV, acima.

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

Campinas, _____ de _____

Assinatura do Voluntário

Número do Voluntário

Nome do Voluntário

Data

Telefone

Assinatura

Dr. Eduardo Abib Júnior (19) 9792 2913; (19) 3253 6164

Data ____/____/____

Dr. Moisés Luis Pirasol Vanuncci (19) 3295 7699

____/____/____

Dr. Ronilson Agnaldo Moreno (19) 3272-0026; (19) 9773 8489

____/____/____

Tabela de randomização

Voluntários		Sequência de administração	
Número	iniciais	1	2
I	ALR	Abandonou	Abandonou
II	ABC	R	T
III	GSF	T	R
IV	SAM	R	T
V	LSC	T	R
VI	MSM	R	T
VII	OOG	R	T
VIII	ROF	T	R
IX	RHM	R	T
X	RRDS	T	R
XI	WJM	T	R
XII	JASC	R	T
XIII	AMO	R	T
XIV	BFPG	T	R
XV	DAD	R	T
XVI	HSP	T	R
XVII	IDR	R	T
XVIII	LBVS	R	T
XIX	RCM	T	R
XX	RVC	T	R
XXI	TMFS	R	T
XXII	VSTM	T	R
XXIII	ZSSN	R	T
XXIV	TCSA	T	R
XXV	CSV	T	R

T- formulação teste - meloxicam - 15 mg - Merck S.A. Indústria Químicas

R- formulação referência - Movatec® - 15 mg - Boehringer Ingelheim

Parâmetros farmacológicos dos 24 voluntários após a administração das formulações de meloxicam

A- Formulação Referência

Reference formname	subject	Tmax	Cmax	Tlast	Clast	AUClast	Ke	t1/2	AUCall	AUCINF	period	seq
movatec	2	8.5	1.0445	96.0	0.0913	29.9	0.02	32.50	30.2	34.2	1	r-t
movatec	3	11.0	1.5683	96.0	0.0519	38.0	0.03	20.55	39.0	39.6	2	t-r
movatec	4	2.0	0.8862	96.0	0.0205	20.3	0.04	18.54	20.9	20.8	1	r-t
movatec	5	4.0	0.7993	72.0	0.0418	16.8	0.04	17.75	17.8	17.9	2	t-r
movatec	6	4.0	0.8920	48.0	0.0367	12.6	0.06	10.98	13.4	13.2	1	r-t
movatec	7	2.0	1.2731	96.0	0.0709	30.6	0.02	28.89	31.1	33.6	1	r-t
movatec	8	4.0	0.9061	48.0	0.0638	15.2	0.06	12.61	16.4	16.3	2	t-r
movatec	9	4.0	1.0336	96.0	0.0939	35.2	0.03	27.36	36.1	38.9	1	r-t
movatec	10	8.5	1.1665	96.0	0.0561	32.1	0.04	18.88	32.7	33.7	2	t-r
movatec	11	6.5	0.7833	72.0	0.0267	16.1	0.05	13.94	17.0	16.6	2	t-r
movatec	12	4.0	1.0519	72.0	0.0246	15.9	0.05	15.42	16.6	16.5	1	r-t
movatec	13	4.0	0.7545	72.0	0.0252	13.6	0.04	16.62	14.3	14.2	1	r-t
movatec	14	7.0	1.2593	96.0	0.0667	34.5	0.02	33.40	36.3	37.7	2	t-r
movatec	15	4.0	1.8672	96.0	0.0260	29.7	0.04	16.94	30.8	30.3	1	r-t
movatec	16	11.0	0.9366	96.0	0.1690	36.4	0.02	44.38	36.7	47.2	2	t-r
movatec	17	4.0	1.5562	96.0	0.0738	39.7	0.03	26.64	40.9	42.5	1	r-t
movatec	18	4.0	0.8133	96.0	0.0298	25.3	0.04	17.42	26.2	26.0	1	r-t
movatec	19	16.0	1.7433	96.0	0.2407	60.6	0.02	38.76	61.4	74.0	2	t-r
movatec	20	4.0	1.2169	72.0	0.0371	20.0	0.04	16.89	21.0	20.9	2	t-r
movatec	21	7.0	0.9516	96.0	0.0281	21.9	0.03	21.45	22.6	22.7	1	r-t
movatec	22	7.5	0.8766	96.0	0.0329	23.5	0.04	17.82	24.0	24.3	2	t-r
movatec	23	4.0	1.5132	96.0	0.0444	30.9	0.03	21.02	31.4	32.2	1	r-t
movatec	24	4.0	0.9817	72.0	0.0444	21.1	0.04	17.08	22.2	22.2	2	t-r
movatec	25	4.0	0.9421	96.0	0.1004	30.9	0.02	31.21	31.5	35.4	2	t-r
Mean		5.8	1.1174	86.0	0.0624	27.1	0.04	22.38	27.9	29.6		
S.D. (±)		3.30	0.32	15.69	0.05	10.93	0.01	8.61	10.95	13.60		
CV (%)		56.92	28.50	18.25	81.52	40.32	33.91	38.48	39.19	45.90		

B- Formulação Teste

Test formname	subject	Tmax	Cmax	Tlast	Clast	AUClast	Ke	t1/2	AUCall	AUCINF	period	seq
meloxicam	2	2.0	1.1920	96.0	0.0643	32.4	0.03	26.68	33.1	34.9	2	r-t
meloxicam	3	2.0	2.3845	96.0	0.0623	44.3	0.03	22.18	45.9	46.3	1	t-r
meloxicam	4	6.0	0.9090	96.0	0.0309	20.6	0.03	22.00	21.0	21.6	2	r-t
meloxicam	5	2.0	0.9229	72.0	0.0210	17.7	0.05	13.35	18.6	18.1	1	t-r
meloxicam	6	2.0	0.8181	72.0	0.0200	14.6	0.05	14.30	15.3	15.0	2	r-t
meloxicam	7	2.0	1.0484	96.0	0.0553	29.2	0.03	20.33	29.6	30.8	2	r-t
meloxicam	8	7.0	0.8317	48.0	0.0489	14.5	0.06	10.68	15.8	15.3	1	t-r
meloxicam	9	6.0	1.3555	96.0	0.0951	41.7	0.03	20.65	42.3	44.6	2	r-t
meloxicam	10	4.0	0.9551	96.0	0.0421	32.3	0.04	17.81	33.4	33.4	1	t-r
meloxicam	11	2.0	0.9132	72.0	0.0427	17.9	0.04	18.49	18.9	19.1	1	t-r
meloxicam	12	4.0	0.8417	48.0	0.0989	14.0	0.03	21.73	15.4	17.1	2	r-t
meloxicam	13	4.0	1.0222	72.0	0.0270	17.1	0.05	15.24	17.8	17.7	2	r-t
meloxicam	14	4.0	1.7341	72.0	0.0729	33.2	0.05	14.42	35.9	34.7	1	t-r
meloxicam	15	6.0	1.3252	96.0	0.0352	32.5	0.04	18.83	33.6	33.4	2	r-t
meloxicam	16	4.0	1.6739	96.0	0.0408	36.6	0.04	19.82	37.5	37.8	1	t-r
meloxicam	17	4.0	1.6692	96.0	0.0498	39.9	0.04	19.37	41.4	41.3	2	r-t
meloxicam	18	4.0	1.4265	96.0	0.0354	24.1	0.03	20.64	24.5	25.1	2	r-t
meloxicam	19	4.0	1.4688	96.0	0.2346	47.8	0.02	38.38	49.6	60.8	1	t-r
meloxicam	20	2.0	1.1348	72.0	0.0478	20.7	0.04	16.76	21.9	21.9	1	t-r
meloxicam	21	6.0	0.9477	72.0	0.0470	21.2	0.04	16.59	22.4	22.4	2	r-t
meloxicam	22	4.0	0.9588	96.0	0.0206	18.5	0.04	18.58	19.3	19.0	1	t-r
meloxicam	23	2.0	1.3566	96.0	0.0261	28.7	0.04	17.66	29.8	29.4	2	r-t
meloxicam	24	4.0	1.0892	72.0	0.0357	21.8	0.05	14.68	22.9	22.6	1	t-r
meloxicam	25	2.0	1.0349	96.0	0.0833	32.8	0.03	27.51	33.3	36.1	1	t-r
Mean		3.7	1.2089	84.0	0.0557	27.3	0.04	19.45	28.3	29.1		
S.D. (±)		1.60	0.38	15.83	0.04	10.09	0.01	5.63	10.25	11.65		
CV (%)		43.17	31.11	18.84	79.05	37.02	25.64	28.93	36.22	40.03		

ACEITE DO MANUSCRITO

----- Mensagem Original -----

Assunto: MS CPH04-450: manuscript revision request/Rigato

De: Woodcock@t-online.de

Data: Ter, Maio 24, 2005 8:01 am

Para: synchrophar@synchrophar.com
moreno@synchrophar.com

MS CPH04-450: "Meloxicam determination in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS-MS) used in bioequivalence studies in Brazilian Generic Formulations" by Rigato et al
Dear Dr. Ronilson A. Moreno, Your above mentioned manuscript has been reviewed by the Editorial Board.

One of the reviewers has some recommendations for revision or objections (see enclosed report).

I am willing to publish your article in our journal providing you can revise the manuscript according to the enclosed comments and satisfactorily answer questions raised.

When you send a revised version of your paper please inform us of the changes you have made. Include replies to each of the points raised by the referees in a covering letter and (where relevant) in manuscript. - mark changes you have made in one version of the manuscript.

- send the revised text as email.

Please acknowledge receipt of this letter.

If you have any questions or need any help, please do not hesitate to contact me. Sincerely Yours, Office of the Editor-in-Chief, Prof. Barry G. Woodcock
Associate Professor of Clinical Pharmacology International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics Address for correspondence:

P.O. Box 20 02 32, D-63308 Roedermark, Germany and Johann Strauss Strasse 9,
63322 Roedermark, Germany

Tel: +49 6074 96183

Fax: +49 6074 6961154

Email: woodcock@em.uni-frankfurt.de

