

Hellen Dea Barros Maluly

**ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA ENTRE DUAS FORMULAÇÕES DE
CEFADROXIL – CÁPSULA (500mg) EM VOLUNTÁRIOS SADIOS DE
AMBOS OS SEXOS**

Orientador: Prof. Dr. Ronilson Agnaldo Moreno

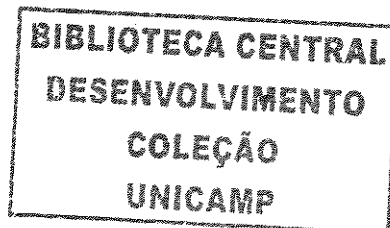
Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado, apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP, para obtenção do Título de Mestre em Farmacologia da Farmacêutica - Hellen Dea Barros Maluly.

Campinas, 18 de agosto de 2005.

Prof. Dr. Ronilson Agnaldo Moreno
- Orientador -

Campinas

2005



Hellen Dea Barros Maluly

**ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA DE DUAS FORMULAÇÕES DE
CEFADROXIL – CÁPSULA (500mg) 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 do título de Mestre em Farmacologia.*

Orientador: Prof. Dr. Ronilson Agnaldo Moreno

Campinas

2005

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	T1UNICAMP
	M299e
V	EX
TOMBO BC/	66558
PROC.	168-00086-25
C	☐
D	☒
PREÇO	11,00
DATA	14/12/05
Nº CPD	

BIB ID: 374317

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

M299e

Maluly, Hellen Dea Barros

Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil – cápsula (500mg) em voluntários sadios de ambos os sexos / Hellen Dea Barros Maluly. Campinas, SP : [s.n.], 2005.

Orientador : Romilson Agnaldo Moreno

Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Biodisponibilidade. 2. Farmacocinética. 3. Cefalosporinas.
I. Moreno, Romilson Agnaldo. II. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CT/fcm

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador: Prof. Dr. Ronilson Agnaldo Moreno

Membros:

Prof. Dr. José Luiz Donato – *Galeno Research*

Prof. Dr. Francisco Hideo Aoki – *FCM-Unicamp*

Membros Suplentes:

Prof. Dr. Gilberto De Nucci – *Galeno Research*

Prof. Dr. Stephen Hyslop – *FCM-Unicamp*

Dedicatória

*Dedico este trabalho à minha família e ao
Depto de Farmacologia da FCM-Unicamp.*

Agradecimentos

*Maria Aparecida Barros Maluly (mãe),
Jorge Simão Maluly (pai),
Luciano Victor Barros Maluly (irmão),
Christiane Julieta Barros Maluly (irmã),
Ronilson Agnaldo Moreno (orientador),
Dpto de Farmacologia FCM-Unicamp,
Centro de Controle de Intoxicações FCM-Unicamp
e a todos os amigos que me apoiaram para esta conquista.*

Epígrafe

*“Vivemos no mundo do irreal onde tudo o que vemos é somente
uma sombra imperfeita de uma realidade mais perfeita”.*

Platão

Sumário

Lista de tabelas.....	xix
Lista de figuras.....	xxiii
Lista de abreviações.....	xxv
Resumo.....	xxvii
Abstract.....	xxix
INTRODUÇÃO.....	31
REVISÃO DA LITERATURA.....	34
1. ETAPA CLÍNICA.....	34
1.1 O MEDICAMENTO.....	34
1.1.1. Estrutura Química das Cefalosporinas – <i>Cefadroxil</i>	34
1.1.2. Farmacocinética.....	35
1.1.3. Mecanismo de Ação e Mecanismo de Resistência Bacteriana.....	36
1.1.4. Indicações Clínicas.....	37
1.1.5. Testes de Sensibilidade em Disco.....	38
1.1.6. Posologia.....	39
1.1.7. Efeitos Colaterais.....	40
1.2. TESTES DE BIOEQUIVALÊNCIA E BIODISPONIBILIDADE.....	41
1.2.1. Fatores que Influenciam na Absorção e Biodisponibilidade após a Administração Enteral.....	43
1.3. ÉTICA EM ESTUDOS CLÍNICOS.....	46
2. ETAPA ANALÍTICA.....	48
2.1. TÉCNICA E VALIDAÇÃO.....	48
3. ETAPA ESTATÍSTICA.....	52
OBJETIVOS.....	54
1. OBJETIVO GERAL.....	54
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	54
OBJETOS.....	55
METODOLOGIA.....	56
1. ETAPA CLÍNICA.....	56
1.1. DESENHO DO ESTUDO.....	56
1.2. DESCRIÇÃO DOS MEDICAMENTOS.....	58

1.3. POPULAÇÃO DE ESTUDO.....	60
1.4. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO DO VOLUNTÁRIO.....	60
1.5. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO DO VOLUNTÁRIO.....	61
1.6. CRITÉRIOS DE RETIRADA DO VOLUNTÁRIO.....	63
1.7. CRITÉRIOS PARA DESCONTINUAÇÃO DO VOLUNTÁRIO NO ESTUDO.....	64
1.8. DESCRIÇÃO DO LOCAL E FORMA DE CONFINAMENTO DOS VOLUNTÁRIOS.....	65
1.9. PERÍODOS DE JEJUM E ALIMENTAÇÃO.....	66
1.10. CRONOGRAMA DE COLETA DAS AMOSTRAS.....	68
1.11. PROCESSAMENTO, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS.....	69
2. ETAPA ANALÍTICA.....	70
2.1. MATERIAIS E RESUMO DA METODOLOGIA.....	70
2.1.1. MATERIAIS.....	70
2.1.2. VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA.....	71
2.2. CONDIÇÕES PARA CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	71
2.3. VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE CEFADROXIL EM PLASMA	72
2.3.1. Seletividade e Especificidade	72
2.3.2. Preparo de Amostras de Plasma Padrão da Curva de Calibração.....	72
2.3.3. Linearidade.....	73
2.3.4. Limite de Quantificação.....	73
2.3.5. Precisão	74
2.3.6. Preparo de Amostras de Plasma de Controle de Qualidade.....	74
2.3.7. Exatidão.....	75
2.3.8. Recuperação.....	76
2.3.9. Estabilidade.....	76
2.4. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS DE PLASMA PARA QUANTIFICAÇÃO DE CEFADROXIL.....	76
3. ETAPA ESTATÍSTICA.....	78

RESULTADOS.....	79
1. ETAPA CLÍNICA.....	79
1.1. DADOS DA POPULAÇÃO.....	79
1.1.1. Histórico Descritivo.....	79
1.2.2. História Clínica Pré-Estudo.....	80
1.2.2.1. Avaliação dos Sistemas do Exame Clínico Pré-estudo.....	81
1.2.2.2. Exames Laboratoriais Pré e Pós-estudo.....	81
1.3. OCORRÊNCIA DE EVENTOS ADVERSOS.....	82
2. ETAPA ANALÍTICA.....	83
2.1. VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO.....	83
2.1.1. Especificidade.....	83
2.1.2. Curva de Calibração.....	83
2.1.2.1. Linearidade.....	83
2.1.3. Limite de Quantificação.....	84
2.1.4. Precisão e Exatidão.....	85
2.1.5. Recuperação.....	85
2.1.6. Estabilidade.....	86
2.1.6.1. Estabilidade nos Ciclos de Congelamento e Descongelamento.....	86
2.1.6.2. Estabilidade de Curta Duração.....	86
2.1.6.3. Estabilidade de Longa Duração.....	87
2.1.6.4. Estabilidade das Soluções Padrão.....	88
2.2. CONCENTRAÇÕES DO CEFADROXIL NO PLASMA DOS VOLUNTÁRIOS.....	89
3. ETAPA ESTATÍSTICA.....	92
3.1. PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS.....	92
DISCUSSÃO.....	95
CONCLUSÃO.....	106
BIBLIOGRAFIA.....	107
ANEXO I.....	111
ANEXO II.....	137
ANEXO III.....	143

Lista de Tabelas

Tabela 1: Comparação farmacocinética das cefalosporinas de primeira geração.....	36
Tabela 2: Ajuste da dose de acordo com o clearance de creatinina.....	39
Tabela 3: Lista de randomização.....	57
Tabela 4: Descrição dos medicamentos administrados.....	58
Tabela 5: Características físico-químicas dos medicamentos administrados (equivalência farmacêutica).....	59
Tabela 6: Atividades do estudo e tempos de coleta.....	69
Tabela 7: Resumo do preparo de amostras para a curva de calibração.....	73
Tabela 8: Obtenção das amostras de plasma de controle de qualidade.....	75
Tabela 9: Descrição dos voluntários.....	79
Tabela 10: Estatística descritiva dos dados da população.....	80
Tabela 11: Descrição da história clínica dos voluntários.....	80
Tabela 12: Avaliação dos Sistemas da História Clínica Pré-Estudo.....	81
Tabela 13: Reações adversas relatadas pelos voluntários durante a internação.....	82
Tabela 14: Determinação da concentração de cefadroxil em amostras de plasma padrão da curva de calibração.....	83
Tabela 15: Curva de linearidade.....	84
Tabela 16: Parâmetros relativos a curva de calibração do método analítico para a quantificação do cefradroxil em plasma por CLAE na faixa de concentração de 0,3 a 30 µg/ml.....	84
Tabela 17: Precisão e exatidão intra-dia e inter-dias referentes ao método analítico para a quantificação de cefadroxil em plasma por CLAE. Cada valor representa a média de seis e três determinações para análise intr e inter-dias, respectivamente.	85
Tabela 18: Recuperação média.....	85
Tabela 19: Estabilidade do cefadroxil em amostras de plasma mantidas à temperatura de – 20°C e submetidas a três ciclos de congelamento e descongelamento. Cada resultado representa a média de três determinações.....	86
Tabela 20: Estabilidade do cefadroxil em amostras de plasma no tempo e condições de análise. Cada resultado representa a média de três determinações.....	87
Tabela 21: Estabilidade do cefadroxil em amostras de plasma de controle de qualidade, analisadas imediatamente após o preparo. Cada resultado representa a média de três determinações.....	87
Tabela 22: Estabilidade do cefadroxil em amostras de plasma mantidas à temperatura de – 20°C por 28 dias. Cada resultado representa a média de três determinações.....	88
Tabela 23: Média das Concentrações.....	91

Tabela 24: Parâmetros farmacocinéticos relacionados ao produto de referência.	
Tabela 25: Parâmetros farmacocinéticos relacionados ao produto teste.	
Tabela 26: Média dos parâmetros farmacocinéticos obtidos de 25 voluntários após a administração de <i>Cefadroxil – cápsula de 500mg</i> .	
Tabela 27: Média geométrica das taxas de AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$ e a de C_{max} individuais (formulação teste/referência) e seus respectivos intervalos de confiança (IC).	
Tabela 28: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 1</i>	112
Tabela 29: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 2</i>	113
Tabela 30: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 3</i>	114
Tabela 31: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 4</i>	115
Tabela 32: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 5</i>	116
Tabela 33: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 6</i>	117
Tabela 34: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 7</i>	118
Tabela 35: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 8</i>	119
Tabela 36: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 9</i>	120
Tabela 37: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 10</i>	121
Tabela 38: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 11</i>	122
Tabela 39: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 12</i>	123
Tabela 40: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 13</i>	124
Tabela 41: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 14</i>	125
Tabela 42: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 15</i>	126
Tabela 43: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 16</i>	127
Tabela 44: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 17</i>	128
Tabela 45: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 18</i>	129
Tabela 46: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 20</i>	130
Tabela 47: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 21</i>	131
Tabela 48: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 22</i>	132
Tabela 49: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 23</i>	133
Tabela 50: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 24</i>	134
Tabela 51: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 25</i>	135
Tabela 52: Concentrações referentes ao <i>Voluntário 26</i>	136

Lista de Figuras

Figura 1: Estrutura Química do Cefadroxil.....	35
Figura 2: Cromatograma referente ao plasma branco (sem medicamentos).....	89
Figura 3: Cromatograma referente à dosagem dos fármacos teste e referência em plasma no tempo 1,0 h um dos voluntários.....	90
Figura 4: Médias das concentrações dosadas dos fármacos teste e referência x o tempo de coleta.	91
Figura 5: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 1</i>	112
Figura 6: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 2</i>	113
Figura 7: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 3</i>	114
Figura 8: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 4</i>	115
Figura 9: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 5</i>	116
Figura 10: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 6</i>	117
Figura 11: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 7</i>	118
Figura 12: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 8</i>	119
Figura 13: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 9</i>	120
Figura 14: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 10</i>	121
Figura 15: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 11</i>	122
Figura 16: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 12</i>	123
Figura 17: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 13</i>	124
Figura 18: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 14</i>	125
Figura 19: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 15</i>	126
Figura 20: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 16</i>	127
Figura 21: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 17</i>	128
Figura 22: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 18</i>	129
Figura 23: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 20</i>	130
Figura 24: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 21</i>	131
Figura 25: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 22</i>	132
Figura 26: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 23</i>	133
Figura 27: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 24</i>	134
Figura 28: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 25</i>	135
Figura 29: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao <i>Voluntário 26</i>	136

Lista de abreviações

CEP: Comitê de ética em pesquisa;

CONEP: Comissão Nacional de Ética em Pesquisa;

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária;

EMA: European for the Evaluation of Medical Products;

FDA: Food and Drug Administration;

ASC_{0-t} : Área sob a curva desde o tempo 0 até o tempo t;

$ASC_{0-\infty}$: Área sob a curva desde o tempo 0 e projetado até o infinito;

C_{max} : Concentração máxima da absorção do fármaco;

T_{max} : Tempo máximo de absorção do fármaco;

$T_{1/2}$: Tempo de meia-vida de eliminação;

ANOVA: Análise de variância;

HPLC-UV/VIS ou CLAE-UV/VIS: Cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado ao espectrômetro UV/Visível;

mg: miligrama

μ g: micrograma

mL: .mililitro;

L: litro

Resumo

O Objetivo deste estudo foi comparar a bioequivalência do Cefadroxil – cápsula (500mg) da Apotex do Brasil Ltda (formulação teste) and Cefamox[®] do Laboratorio Bristol-Myers Squibb (formulação de referencia) em voluntários sadios de ambos os sexos. Este estudo foi necessário para comercialização deste medicamento.

O estudo foi aleatorizado, cruzado, com dois períodos e duas seqüências (2x2) e com uma semana de intervalo entre as doses (wash out), onde os mesmos voluntaries receberam, em cada período a formulação teste e a formulação de referência. A seqüência de tratamento foi determinada por uma lista de aleatorização, automaticamente produzida pela Medicines Clinical Trials Control System. As amostras de plasma foram coletadas num intervalo de 36 horas. As concentrações de Cefadroxil foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector de UV-visível. A partir da curva da concentração de Cefadroxil no plasma vs tempo foram obtidos os parâmetros farmacocinéticos: ASC_{0-t} , $ASC_{0-\infty}$ e C_{max} .

As médias geométricas de Cefadroxil / Cefamox[®] 500 mg em porcentagem foram: 105.58% (90% CI=102.17%; 109.10%) para ASC_{0-t} , 104.74% (90% CI= 101.55%; 108.02%), para $ASC_{0-\infty}$ e 112.08% (90% CI=105.59%; 118.97%) para C_{max} . Sendo 90% o intervalo de confiança para C_{max} , ASC_{0-t} e $ASC_{0-\infty}$ estiverem entre 80-125% do intervalo proposto pela RDC 135 (ANVISA/mai 2003), conclui-se que o Cefadroxil – cápsulas (500 mg) foi bioequivalente ao Cefamox[®], de acordo com as porcentagens e extensão da absorção.

Palavras chaves – HPLC-UV, biodisponibilidade, bioequivalência, farmacocinética, cefalosporinas.

Abstract

The objective of this study is to compare the bioequivalence of Cefadroxil – capsule 500 mg – formulated by Apotex of Brazil Ltda (test formulation) and Cefamox[®] by Laboratory Bristol-Myers Squibb (reference formulation) in volunteers of both sexes. This study was necessary for the commercialization of medicines.

The study was conducted with a randomized two-period crossover design (2x2) and a one-week washout period, the same volunteers received, in each period, a test formulation or a reference formulation. The treatment sequence was determined by a randomization list, automatically produced by Medicines Clinical Trials Control System. Plasma samples were obtained over a 36-hour interval. Cefadroxil concentrations were analyzed by combined high pressure liquid chromatography and UV-visible detection (HPLC-UV). From the Cefadroxil plasma concentration vs time curves the following pharmacokinetic parameters were obtained: AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$ and C_{max} .

The Geometric mean of Cefadroxil / Cefamox[®] 500 mg for individual percentage ratio was 105.58% (90% CI=102.17%; 109.10%) for an area under the cefadroxil plasma concentration versus time curves (0-t), 104.74% (90% CI= 101.55%; 108.02%), for an area under the cefadroxil plasma concentration versus time curves (0- ∞), and 112.08% (90% CI=105.59%; 118.97%) for maximum observed plasma concentration. Conclusion: Since 90% CI for both C_{max} , AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$ were within the 80-125% interval proposed by the RDC 135 (ANVISA/may 2003), it was concluded that Cefadroxil – capsule 500 mg was bioequivalent to Cefamox[®], according to both the rate and the extension of absorption.

Key words – HPLC-UV, bioavailability, bioequivalence, pharmacokinetics, cephalosporin.

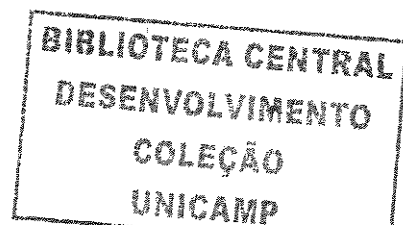
INTRODUÇÃO

Os estudos de bioequivalência consistem na demonstração da biodisponibilidade entre produtos apresentados sob a mesma forma farmacêutica, contendo idêntica composição qualitativa e quantitativa de princípio(s) ativo(s), e que tenham comparável biodisponibilidade, quando estudados sob um mesmo desenho experimental. De acordo com a Lei dos Genéricos 9787, de 10 de fevereiro de 1999, para que os medicamentos sejam comercializados, é necessário realizar estudos de biodisponibilidade e bioequivalência.

O estudo de bioequivalência para o *Cefadroxil cápsula (500 mg)* é delineado e compreende três etapas: etapa *clínica*, etapa *analítica* e etapa *estatística*, de forma a permitir que se obtenham os parâmetros farmacocinéticos relevantes para a comparação estatística. Neste estudo, tais parâmetros são obtidos diretamente a partir da determinação da concentração plasmática do princípio ativo do medicamento, baseado na aplicação de um modelo não compartimental, próprio para avaliação destas concentrações após a administração do medicamento por via oral.

A primeira etapa, chamada *Etapla Clínica* tem como finalidade o recrutamento e seleção dos voluntários, assim como a internação para coleta de amostras de sangue a serem analisadas. Esta etapa se inicia após a aprovação do protocolo experimental pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) credenciado junto à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP). O protocolo é feito de acordo com as Resoluções n. 196, de 10 de outubro de 1996 e n. 251, de 07 de agosto de 1997 do Ministério da Saúde, que estabelecem normas para a realização de pesquisa com seres humanos.

A *Etapla Analítica*, consiste em mensurar a concentração do princípio ativo do medicamento na matriz biológica, através de um método específico e validado. A técnica analítica mais utilizada para a quantificação da concentração plasmática de drogas é a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.



A *Etapa Estatística* é realizada com os dados obtidos na *Etapa Analítica*. A partir destes dados são comparados os parâmetros farmacocinéticos dos medicamentos teste e referência.

O *Cefadroxil* é um antibiótico da classe dos *Cefens* (beta-lactâmicos) e da subclasse das *Cefalosporinas* de primeira geração. Estes fármacos são muito ativos contra cocos Gram-positivos, incluindo *Pneumococos*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus haemolíticos* do grupo A e *Staphylococcus aureus*. Dentre as bactérias Gram-negativas, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis* são quase sempre sensíveis, enquanto se verifica pouca atividade contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* indol positivo, *Enterobacter*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter* e *Acinetobacter*. Em geral, os cocos anaeróbios (por exemplo, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*) são sensíveis, o que não ocorre com *B. fragilis*. (JAWETZ, 1998).

O *Cefadroxil* é absorvido em grau variável pelo intestino. Após a administração de doses orais de 0,5 g, os níveis séricos atingem 15-20 µg/ml. Em geral, a concentração na urina apresenta-se muito elevada; entretanto, na maioria dos tecidos, os níveis são variáveis e geralmente inferiores aos do soro. É um medicamento administrado em doses de 0,5 a 1,0 g, duas vezes ao dia. A excreção é efetuada por filtração glomerular e secreção tubular na urina. Em pacientes com função renal comprometida, é necessário reduzir a posologia (JAWETZ, 1998).

Este antibiótico mostra ser eficaz na erradicação de *Streptococcus* da orofaringe, sem, no entanto, ser eficaz contra a febre reumática. É também utilizado em infecções do trato urinário, não atingindo, em doses terapêuticas, o líquido cefalorraquidiano e no tratamento de pequenas infecções polimicrobianas, como celulite ou abscesso de tecido mole. (MANDEL e SANDE, 1996).

Estudos comparativos demonstraram que 81% das crianças com bacteremia em tonsilofaringite causada por estreptococo beta-hemolítico do grupo A (GABHS) obtiveram cura após o tratamento com *Cefadroxil* administrado em dose única (CURTIN et al, 2003). Outro estudo, realizado por JENNINGS et al, demonstrou que, no tratamento de infecções estafilocócicas de pele, o *Cefadroxil* foi eficaz em 100% das infecções causadas por *Staphylococcus pyogenes e agalactiae*, além do baixo índice de reações adversas. Testes de bioequivalência já realizados com formulações contendo *Cefadroxil* - cápsula de 500 mg demonstraram excelente absorção (OLIVEIRA et al, 2000).

Os medicamentos genéricos no Brasil tiveram um importante crescimento com relação ao mercado, sendo que o seu faturamento representa em média 15 a 20% do faturamento para o fator relativo à concorrência (IPCA – Índice de Preço ao Consumidor Amplo, 2004)¹. Este crescimento demonstra o maior consumo destes medicamentos pela população. Para garantir a qualidade destes medicamentos é necessário que os testes de bioequivalência sejam realizados por profissionais especializados de acordo com a ética em estudos clínicos com seres humanos e aplicação das normas de avaliação estabelecidas pelo Ministério da Saúde, FDA (Food and Drug Administration) e ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária).

¹ **IPCA – Índice de Preço ao Consumidor Amplo.** Disponível em:
Acesso em: 10/11/2004.

REVISÃO DA LITERATURA

1. ETAPA CLÍNICA

1.1 O MEDICAMENTO

1.1.1. Estrutura Química das Cefalosporinas – *Cefadroxil*

O protótipo das cefalosporinas (cefalosporina C) é produzido pelo fungo *Cephalosporium acremonium* e possuem pesos moleculares de 400-450. Os diferentes perfis farmacológicos, microbiológicos e toxicológicos entre as várias cefalosporinas semissintéticas resultam da modificação dos radicais da molécula da cefalosporina C (JAWETZ, 1998; MARSHALL e BLAIR, 1999).

O núcleo das cefalosporinas (cefalosporina C) contém uma cadeia lateral derivada do ácido D- α -aminoadípico, que sofre condensação com um sistema de anel diidrotiazínico beta-lactâmico (ácido 7-aminocefalosporânico). Os compostos que contêm o ácido 7-aminocefalosporânico são relativamente estáveis em ácido diluído e apresentam grande resistência a penicilinase, independente da natureza de suas cadeias laterais e afinidade enzimática. A cefalosporina C pode ser hidrolizada em ácido 7-aminocefalosporânico por ácido. (MANDELL e SANDE, 1996)

Esse composto foi subsequenteiramente modificado, mediante o acréscimo de diferentes cadeias laterais, criando assim toda uma família de antibióticos da cefalosporina. Parece que as modificações na posição 7 do anel beta-lactâmico R₁ (C-7) estão associadas a uma alteração da atividade antibacteriana, enquanto as substituições na posição 3 do anel diidrotiazínico R₂ (C-3) encontram-se associadas a mudança do metabolismo e às propriedades farmacocinéticas da droga. A substituição do sítio R₁ geralmente aumenta a estabilidade dos compostos contra β -lactamases; o resultado é a atividade melhorada e o espectro de antimicrobiano mais amplo.

O *Cefadroxil* é um análogo para-hidroxi da *Cefalotina*. (MANDELL e SANDE, 1996; MARSHALL e BLAIR, 1999).

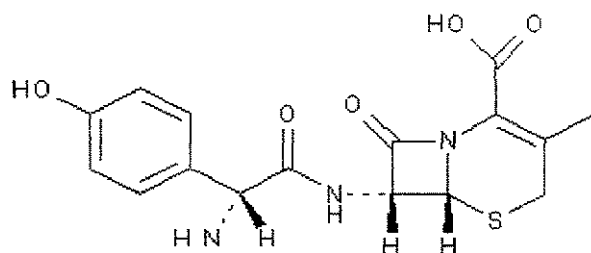


Figura 1: Estrutura química do *Cefadroxil*.

1.1.2. Farmacocinética

O *Cefadroxil* é completamente absorvido por via oral, apresentando meia-vida sérica de 1,6 hora (Tabela 1), mais prolongada que as demais cefalosporinas. Sua absorção por via oral não sofre interferência dos alimentos. Após a administração de uma dose de 500 mg, o nível sérico máximo é alcançado em torno de 1,5 hora, atingindo cerca de 16 µg/ml, caindo progressivamente, mas mantendo níveis superiores a 1 µg/ml após sete horas e 0,02 µg/ml na décima hora. A presença de níveis significativos de *Cefadroxil* no sangue por tempo mais prolongado resulta de sua absorção intestinal mais demorada e de sua excreção urinária mais lenta. Distribui-se pelos tecidos e líquidos orgânicos de maneira semelhante à cefalexina, eliminando-se por via urinária por secreção tubular. O *Cefadroxil* deve ter o ajuste do intervalo das doses na insuficiência renal leve para 12/12 horas, na moderada para 24/24 horas e na grave para 36 ou 48 horas. (MARSHALL e BLAIR, 1999; TAVARES, 1996).

Todas estas cefalosporinas atravessam em pequena proporção a barreira placentária, onde concentrações no feto correspondem a 15 a 30 % da presente no sangue materno e 10 a 20% no líquido amniótico. Estes antibióticos não dão concentrações terapêuticas no liquor (TAVARES, 1996).

Tabela 1: *Comparação farmacocinética das cefalosporinas de primeira geração (MARSHALL e BLAIR, 1999)*

Droga	t½ sérico (h)	%			
		Ligação protéica	Excreção urinária	Excreção biliar	Absorção oral
Cefaclor	0.6	25	50-60	0.05	90
Cefadroxil	1.3-1.6	20	90	2	85
Cefalexina	0.8-1.0	10	90	0.5	90
Cefradina	0.6	10	90		95
Cefazolina	1.8	80	65	0.2	
Cefalotina	0.67	70	70		
Cefapirina	0.6	50	70	1	

1.1.3. Mecanismo de Ação e Mecanismo de Resistência Bacteriana

As cefalosporinas, assim como outras drogas β -lactâmicas, exercem seus efeitos por interferência na síntese de peptidoglicano, o maior componente estrutural da parede celular bacteriana. O peptidoglicano se encontra numa ligação cruzada dentro da rede estrutural que circunda a célula bacteriana e que proporciona resistência e rigidez. Como parte da divisão e do crescimento normal da célula, os componentes pentapeptídeos peptidoglicanos são inicialmente sintetizados no citoplasma, transportados para o outro lado da membrana citoplasmática, e inserido na atual ligação cruzada pela ação das carboxipeptidases, endopeptidases e transpeptidases. Estas enzimas, situadas na membrana citoplasmática, são chamadas de proteínas ligadoras de penicilina (PBP) e são o alvo de ação das drogas β -lactâmicas (MARSHALL e BLAIR, 1999).

O mecanismo de ação das cefalosporinas é semelhante ao das penicilinas: (1) ligação a proteínas específicas de ligação da penicilina (proteína fixadora de penicilina número 3) que atuam como receptores de fármacos nas bactérias, originando bactérias filamentosas; (2) inibição da síntese da parede celular através do bloqueio da transpeptidação de peptidoglicano; e (3) ativação de enzimas autolíticas na parede celular, resultando em lesões que irão causar morte da bactéria. Portanto, em função da similaridade do grupo amino do anel β -lactâmico cefalosporínico ao pentapeptídeo peptidoglicano (PBP), as cefalosporinas se ligam covalentemente ao PBP e promovem a inibição. Assim, a integridade estrutural do peptidoglicano é substancialmente alterada. Cada uma das espécies de bactérias produz uma única PBP que diferem na importância da integridade da parede celular (JAWETZ, 1998; TAVARES, 1996).

Os três mecanismos mais comuns pelos quais as bactérias possam resistir aos efeitos das cefalosporinas e outras drogas β -lactâmicas são: (1) produção de enzimas (β -lactamases) para inativar as drogas; (2) alteração do alvo da droga, e (3) trocas na membrana externa da célula que limita a disponibilidade da droga de alcançar o seu alvo. Algumas combinações destes mecanismos de resistência podem existir em células bacterianas individuais. (MARSHALL e BLAIR, 1999).

1.1.4. Indicações Clínicas

As *Cefalosporinas* são fármacos muito ativos contra cocos Gram-positivos, incluindo *Pneumococos*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus haemolíticos* do grupo A e *Staphylococcus aureus*. Dentre as bactérias Gram-negativas, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis*, são quase sempre sensíveis, enquanto se verifica pouca atividade contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* indol positivo, *Enterobacter*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter* e *Acinetobacter*. Em geral, os cocos anaeróbios (por exemplo, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*) são sensíveis, o que não ocorre com *B. fragilis*. (JAWETZ, 1998).

Estes antibióticos mostram ser eficaz principalmente na erradicação de estreptococos da orofaringe. São também utilizados em infecções do trato urinário, não atingindo, em doses terapêuticas o líquido cefalorraquidiano. Também podem ser utilizados nos tratamentos de pequenas infecções polimicrobianas, como celulite ou abscesso de tecido mole. (MANDEL E SANDE, 1996; JAWETZ, 1998).

Estudos comparativos demonstraram que 81% das crianças com bacteremia em tonsilofaringite causada por estreptococo beta-hemolítico do grupo A (GABHS) obtiveram cura após o tratamento com *Cefadroxil* administrado em dose única. Outro estudo demonstrou que, no tratamento de infecções estafilocócicas de pele, o *Cefadroxil* foi eficaz em 100% das infecções causadas por *Staphylococcus pyogenes e agalactiae*, além do baixo índice de reações adversas (CURTIN et al., 2003; JENNINGS et al, 2003).

1.1.5. Testes de Sensibilidade em Disco

Um procedimento laboratorial recomendado utiliza disco com cefalosporina para o teste de sensibilidade. As interpretações correlacionam os diâmetros das zonas de inibição deste disco com os valores de concentração inibitória mínima (CIM) do cefadroxil. De acordo com este procedimento, um relato de "sensível" indica que o organismo da infecção provavelmente responderá à terapia. Um relato de "resistente" indica que o organismo da infecção provavelmente não responderá à terapia. Um relato de "sensibilidade intermediária" sugere que o organismo deverá ser sensível se a infecção estiver confinada em área onde concentrações adequadas da droga possam ser atingidas como, por exemplo, o trato urinário (OPLUSTIL et al, 2000).

1.1.6. Posologia

O *Cefadroxil* é administrado em doses de 0,5 a 1,0 g, uma ou duas vezes ao dia. A excreção é efetuada por filtração glomerular e secreção tubular na urina. Em pacientes com função renal comprometida, é necessário reduzir a posologia (MANDELL e SANDE, 1996).

O *Cefadroxil* é ácido estável e pode ser administrado oralmente sem levar em consideração as refeições. Adultos: 1 a 2 g por dia, fracionados em duas tomadas de 12 em 12 horas. Em algumas patologias, a critério médico, *Cefadroxil* poderá ser administrado de 1 a 2g em dose única diária. Crianças: a dose diária recomendada para crianças é de 25 - 50 mg/kg/dia (a cada 12 horas). Cuidados de administração no tratamento de infecções estreptocócicas beta-hemolíticas, a dose terapêutica de *Cefadroxil* deverá ser administrada por pelo menos dez dias. Para o tratamento de faringite ou amigdalite estreptocócicas beta-hemolíticas tanto em adultos quanto em crianças, o *Cefadroxil* pode ser administrado na dosagem usual, em doses divididas em duas tomadas a cada 12 horas ou em dose única diária. Em pacientes com disfunção renal, a dose de *Cefadroxil* deverá ser ajustada de acordo com as taxas de depuração de creatinina endógena para evitar acúmulo da droga. Em adultos, a dose inicial é 1000 mg de *Cefadroxil* e a dose de manutenção (conforme a taxa do clearance de creatinina) é 500 mg, nos intervalos de tempo abaixo (JAWETZ, 1998).

Tabela 2: Ajuste da dose de acordo com a depuração de creatinina

Clearances de depuração (ml.min/1,73 m ²)	Intervalos de doses
0 – 10	36 horas
10 – 25	24 horas
25 – 50	12 horas

Pacientes com taxas de depuração de creatinina acima de 50 ml/min/1,73m² podem ser tratados como pacientes com função renal normal. Em cinco pacientes anúricos, foi demonstrado que uma média de 63% de uma dose oral de 1g é eliminada do organismo durante uma sessão de 6 a 8 horas de hemodiálise (JAWETZ, 1998).

1.1.7. Efeitos Colaterais

A *Cefalexina*, a *Cefadrina* e o *Cefadroxil* em geral são bem tolerados por via oral. Manifestações gastrintestinais (náuseas, vômitos, dor abdominal e diarreia) ocorrem em 1 a 2% dos pacientes. Manifestações de hipersensibilidade podem surgir (*rash*, eosinofilia, febre, prurido e edemas), mas não são usuais. Já foram relatadas neutropeia, trombocitopenia e elevação de transaminases com o uso da droga. Superinfecções constituem uma eventualidade como ocorrem com outros antibióticos, especialmente os de largo espectro (MARSHALL e BLAIR, 1999).

As *Cefalosporinas* são bem toleradas em comparação com outras drogas antimicrobianas. São drogas com perfil de toxicidade e eficácia (terapêutico) favoráveis. Diferenças na estrutura química e na farmacodinâmica das espécies e *Cefalosporinas*, entretanto, influenciam o potencial de efeitos adversos (MARSHALL e BLAIR, 1999).

Reações alérgicas ou de hipersensibilidade ocorrem em 1 a 3% dos pacientes que recebem drogas cefalosporínicas. A reação mais comum está no desenvolvimento do *rash* maculopapular, alguns associados a febre, eosinofilia ou ambos. Urticária é pouco freqüente na reação cutânea. A febre induzida pela droga é provavelmente a suspeita mais comum. Mais reações são benignas e de limitação própria, e elas são resolvidas com a descontinuação da terapia com a droga. Anafilaxias após a administração de *Cefalosporinas* é extremamente rara (pouco mais de 0,02%) (MARSHALL e BLAIR, 1999).

1.2. TESTES DE BIOEQUIVALÊNCIA E BIODISPONIBILIDADE

Na década de 70, iniciaram-se as discussões sobre medicamentos genéricos no Brasil, sendo assim publicado o Decreto 793, revogado pelo Decreto n. 3181, de 23 de setembro de 1999, que regulamentou a Lei dos Genéricos². A partir daí foram instituídas várias resoluções, portarias e medidas provisórias que autorizaram e ditaram regras para a comercialização de medicamentos genéricos no país.

A FDA (United States, 2001) caracteriza a bioequivalência entre dois medicamentos como a ausência de diferença significativa na velocidade e extensão, das quais torna-se disponível no local de ação, quando administrados na mesma dose molar e nas mesmas condições de ensaio apropriadamente planejado.

A EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2000) considera dois medicamentos como bioequivalentes quando estes forem equivalentes ou alternativas farmacêuticas que apresentem biodisponibilidades, após a administração da mesma dose molar de tal forma semelhantes e que garantam os mesmos efeitos em relação à eficácia e segurança.

De acordo com a Resolução – RE n. 478/2002, os testes de bioequivalência de medicamentos genéricos deverão contemplar três etapas: *Clinica, Analítica e Estatística*. Antes do início da *Etapa Clínica*, os medicamentos de referência e sua cópia genérica deverão ser submetidos ao estudo de equivalência farmacêutica, como também deverão ser analisados segundo sua monografia inscrita na Farmacopéia Brasileira e, na falta desta, em outros códigos autorizados pela legislação vigente. A diferença de teor do fármaco entre os medicamentos teste e referência não deve ser superior a 5%. Algumas formas farmacêuticas são isentas de testes de Bioequivalência, pois possui sua intercambiabilidade com o medicamento de referência garantida pelos testes de equivalência farmacêutica. Isso ocorre porque estes produtos possuem características intrínsecas, que fazem com que o fármaco

² Lei n. 9787 de 10 de fevereiro de 1999. Estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências.

esteja 100% biodisponível. São exemplos os medicamentos administrados por via parenteral; soluções de uso oral que contém o mesmo fármaco e que não contém excipientes que afetam a motilidade gastrointestinal ou absorção do fármaco; gases; soluções aquosas otológicas e oftálmicas que contém o mesmo fármaco; medicamentos de uso tópico, não destinados a efeito sistêmico; medicamentos inalatórios ou sprays nasais, administrados com ou sem dispositivos; medicamentos de uso oral cujos fármacos não sejam absorvidos no trato gastrointestinal, além de medicamentos isentos de prescrição médica³.

O título 21 do CFR (*Code of Federal Regulations - USA*) 320.1 define o termo biodisponibilidade⁴. Os testes de Bioequivalência e Biodisponibilidade são usualmente considerados como uma necessidade para a avaliação clínica de medicamentos com base numa *tentativa de bioequivalência fundamental*, em que duas formulações de um mesmo produto ou de dois produtos (por exemplo, uma droga de referência e sua cópia genérica) são equivalentes em biodisponibilidade. Atingem assim o mesmo efeito terapêutico ou são terapeuticamente equivalentes (United States, 2001).

A intercambiabilidade entre o medicamento genérico e seu respectivo medicamento de referência baseia-se no conceito de equivalência terapêutica entre os mesmos, geralmente assegurada pela comprovação da equivalência farmacêutica, da bioequivalência e das boas práticas de fabricação e controle de qualidade (STORPIRTIS et al, 2004⁵).

Protanto, os estudos de bioequivalência estão baseados na suposição de que se dois medicamentos produzem perfis de concentrações sanguíneas significativamente semelhantes, estes apresentarão respostas, seja terapêutica ou tóxica, semelhantes (MEREDITH, 1996).

³ : <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/index.htm>

⁴ In: 21 CFR 320.1: A biodisponibilidade significa a taxa e a extensão a que o ingrediente ativo ou a molécula ativa são absorvidos de uma droga e torna-se disponível no local da ação. Para os produtos da droga que não pretendem ser absorvidos na corrente sanguínea, a biodisponibilidade pode ser avaliada pelas medidas que refletem a taxa e a extensão a que o ingrediente ativo ou molécula ativa se tornam disponível no local da ação. Disponível em: http://www.access.gpo.gov/nara/cfr/waisidx_02/21cfr320_02.html

⁵ <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/generico/profissionais/artigos>

1.2.1. Fatores que Influenciam na Absorção e Biodisponibilidade após a Administração Enteral

Primeiramente, deve-se ressaltar a diferença entre os termos “absorção” e “biodisponibilidade”, os quais não devem ser utilizados como sinônimos. A disponibilidade sistêmica ou biodisponibilidade representa a quantidade de fármaco que chega até a circulação sistêmica, já a absorção representa apenas a permeação do fármaco na mucosa do trato gastrointestinal, mas que ainda não está disponível na circulação sistêmica (LÖBENBERG e AMIDON, 2000).

Vários fatores influenciam a biodisponibilidade de fármacos: características físico-químicas do fármaco; a forma farmacêutica e seus excipientes e os processos empregados na fabricação; fatores fisiológicos relacionados ao trato gastrointestinal; além das características individuais como idade, sexo, peso corporal e fatores fisiopatológicos (SHARGEL e YU, 1992, 1999 e WELLING et al, 1985).

As características físico-químicas do fármaco e sua liberação da forma farmacêutica exercem grande influência na velocidade de absorção. As formas farmacêuticas sólidas são as que apresentam os maiores problemas na biodisponibilidade, já que o fármaco só pode ser absorvido após sua solubilização (CONSIGLIERI et al, 2000)

Dentre a influência dos fatores fisiológicos relacionados ao trato gastrointestinal (TGI) pode-se destacar: a superfície de absorção; o pH dos líquidos presentes; a velocidade de esvaziamento gástrico; motilidade intestinal; estabilidade do fármaco nos líquidos presentes e influência dos alimentos.

Os fatores relacionados à superfície de absorção resultam na incorporação do composto na circulação esplênica e passando através do fígado antes de entrar na circulação geral. A habilidade das enzimas do fígado em metabolizar compostos durante este estágio de absorção pode resultar no metabolismo considerável de compostos durante sua primeira passagem através deste órgão (WELLING et al, 1985).

O fígado não é somente um sítio de degradação ou metabolização da droga que afeta a biodisponibilidade sistêmica. Outros sítios, incluindo o lúmen gastrintestinal, a parede do intestino, e em uma menor extensão o pulmão. O impacto do metabolismo da droga nestes órgãos e tecidos, em somatória como a degradação química da droga no trato gastrintestinal, pode ter um maior efeito na disponibilidade sistêmica da droga, dependendo da extensão e eficiência como o qual uma droga é metabolizada. Embora o metabolismo de primeira passagem ou pré-sistêmica seja geralmente associado com o metabolismo hepático, a biodisponibilidade oral atual da droga inalterada F , é um produto onde contribuem todos os sistemas, como na equação 1:

$$F = F_g \cdot F_g \cdot F_p$$

F_g , F_g , F_p representam frações da droga que sobrevivem durante a passagem através do trato GI, fígado e pulmão, respectivamente. O impacto farmacológico ou terapêutico do curso destes processos metabólicos depende não somente da extensão para o qual um composto é metabolizado, mas também na atividade farmacológica de alguns metabólitos formados. Se um composto é administrado oralmente como uma pró-droga, o metabolismo pré-sistêmico para um metabólito farmacologicamente ativo pode ser um componente essencial desta administração (WELLING et al, 1985).

A absorção dos fármacos também pode ser alterada pela presença de líquidos. A presença de bile no intestino delgado resulta em uma certa concentração de sais biliares e lectina, os quais favorecem a formação de micelas, alterando a absorção dos fármacos. As proteases pancreáticas e a pepsina podem interferir na estabilidade e liberação de fármacos que se encontram na forma de peptídeos e proteínas, enquanto que as lipases podem afetar a

liberação de fármacos de formas farmacêuticas que contenham componentes graxos (DRESSMAN et al, 1998; PANCHAGNULA E THOMAS, 2000).

O pH dos líquidos do trato gastrintestinal pode variar de 1 a 7 no estado de jejum e de 3 a 7 após as refeições. Essas alterações do perfil de pH dos líquidos do trato gastrintestinal podem causar alterações na biodisponibilidade dos fármacos, uma vez que, para a maioria dos mesmos, a desintegração, dissolução e absorção são processos dependentes do pH (DRESSMAN et al, 1998)

A presença dos alimentos determina um aumento do tempo de esvaziamento gástrico. Além disso, a natureza e a quantidade de alimentos ingeridos podem influenciar nos processos de desintegração e dissolução dos medicamentos, alterando a absorção dos fármacos. A presença de alimentos exerce, também, influência sobre a velocidade de absorção, quantidade de fármaco absorvido e, conseqüentemente, na biodisponibilidade, por meio de diferentes mecanismos (DRESSMAN et al, 1998).

1.3. ÉTICA EM ESTUDOS CLÍNICOS

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

Ao longo do século XX, cientistas reconheceram a necessidade de obter um consentimento esclarecido dos sujeitos de pesquisa, por causa de uma variedade de riscos que foram identificados em testes utilizando drogas (SUGARMAN, 2002).

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

Os princípios das GCP (Good Clinical Practice) e GRP (Good Recruitment Practice) podem ajudar na conclusão de um estudo clínico bem conduzido, sendo que o seu objetivo final é o benefício dos pacientes, tanto daqueles que participam das pesquisas como os demais que, posteriormente, receberão um tratamento mais adequado, através da descoberta de novas terapêuticas. Estes princípios têm seu foco na informação e comunicação ao paciente, que deve ser clara, balanceada e não-coerciva. O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) deve ser escrito em linguagem adequada e, tão importante quanto isto, o processo de submissão do consentimento ao potencial paciente deve ser muito claro e transparente. O próprio desenho do estudo deve passar por uma avaliação de factibilidade, questionando-se se os pacientes que preencherão os critérios de inclusão e exclusão do protocolo de fato existem. Além disso, a relação médico-paciente deve ser, como em todo exercício da medicina, inquestionavelmente ética, na qual o investigador deve se sentir totalmente confortável com a

intervenção proposta. Incentivos podem, eventualmente, ser oferecidos aos pacientes, tais como vale-refeição ou vale-transporte, desde que previamente aprovados pelo respectivo CEP e obviamente dentro de critérios razoáveis, isto é, não-coercivos e balanceados versus as exigências do protocolo. O mesmo vale para anúncios, que também devem ser previamente aprovados pelo CEP local. Uma sugestão final seria "sempre ter como objetivo pessoal incluir mais pacientes do que o compromissado". Pode ser um bom conselho (DAINESE, 2004).

2. ETAPA ANALÍTICA

2.1. TÉCNICA E VALIDAÇÃO

Após o término da *Etapa Clínica*, as amostras de plasma coletadas são enviadas ao laboratório analítico. A partir da solicitação de um estudo de bioequivalência, o centro de referência informa ao laboratório analítico tal solicitação.

Neste momento, cabe ao laboratório realizar a validação da metodologia analítica a ser utilizada na dosagem dos medicamentos de teste e referência, conforme especificado na literatura.

A técnica analítica mais utilizada para determinação de medicamentos em plasma é a chamada *Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)*, que hoje é considerada uma das mais importantes técnicas de separação de substâncias, além de ser a mais utilizada em estudos de bioequivalência.

A CLAE utiliza instrumentos que podem ser totalmente automatizados, empregando pequenas colunas, recheadas de materiais especialmente preparados e uma fase móvel que é eluída sob altas pressões. A aparelhagem é composta de uma válvula de injeção, reservatório para fase móvel, sistema de bombeamento, medidor de pressão, válvula de amostragem, coluna, detector e sistema de dados para registro.

A válvula de injeção possui um *looping* com volumes que podem ser determinados de acordo com a análise a ser efetuada, pode chegar a microlitros ou nanolitros. A amostra introduzida nesse *looping* sob baixa pressão, após é introduzida na fase móvel por rotação da válvula.

O reservatório para fase móvel pode ser de vidro, aço inoxidável ou plástico inertes, com 1 a 2 litros de capacidade. Este sistema é utilizado para remover gases dissolvidos na fase

móvel, pois se esses gases se libertarem dentro do equipamento e formarem bolhas, podem afetar seriamente o funcionamento do detector e o funcionamento da coluna.

O sistema de bombeamento deve obedecer a várias exigências: uma vazão precisa e constante do tempo, para se obter uma análise quantitativa e qualitativa; um bom sistema de amortecimento das pulsações a fim de se obter uma linha de base estável, para permitir uma boa sensibilidade da detecção; a possibilidade de trocar fácil e rapidamente de solvente que é indispensável para otimização de uma separação. As bombas atualmente existentes (no presente estudo foi utilizada a bomba tipo *Shimadzu*) respondem a estas exigências. As vazões clássicas utilizadas para separações realizadas sobre colunas clássicas são da ordem de 0,5 a 2,0 ml/min.

As colunas cromatográficas clássicas são geralmente em aço inoxidável. Já o diâmetro interno mais utilizado é da ordem de 4 mm e o comprimento é da ordem de 200mm. A saída da coluna é constituída por uma ponteira de baixo volume morto, contendo uma “*fritte*” (tipo de filtro com malhas de 1 a 2 micrômetros) a fim de reter partículas de fase estacionária. A cabeça da coluna também é equipada com uma “*fritte*”. A fase estacionária é um sólido poroso: sílica, sílica modificada quimicamente, resina, polímero, etc (LEITE, 2002).

A característica da coluna escolhida para realização deste estudo foi baseada no princípio da *Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Fase Ligada*, onde a fase estacionária está quimicamente ligada à superfície de um suporte, que elimina o problema da solubilidade da fase estacionária na fase móvel. A CLAE com fase ligada é utilizada na ocorrência de uma grande variação dos grupos funcionais, onde é possível obter diferentes tipos de seletividade. Tais grupos podem ser de natureza polar, como um grupo amino ($-\text{NH}_2$) e o grupo nitrilo ($=\text{CN}$), que, funcionando similarmente às fases polares da CLS (Cromatografia Líquido-Sólido), são chamados de fase normal, ou de natureza apolar, como os grupos octil ($-\text{C}_8\text{H}_{17}$), octadecil ($-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$), fenil ($-\text{C}_6\text{H}_5$), etc..., que são fase reversa. No caso a coluna utilizada foi a Shim-pack CLC- C_{18} (M) 5μ 150 x 4,6 mm, que é caracterizada como sendo de fase reversa, pois possui fase estacionária com características apolares.

O detector utilizado neste estudo foi o chamado detector de absorção no ultravioleta (UV) e visível (VIS). São espectrômetros de comprimentos de onda variável UV/VIS, cobrindo a faixa de 190 a 800 nm, através de monocromador que seleciona o comprimento de onda desejado do feixe de luz emitido pelas lâmpadas de deutério (UV) ou tungstênio (VIS), oferecem várias vantagens sobre os instrumentos de comprimento de onda fixo: a) apresentar alta absorvância para vários componentes devido a escolha de comprimento de onda e, conseqüentemente, ter maior sensibilidade; b) permitir maior seletividade, desde que um determinado comprimento de onda pode ser escolhido, onde o soluto de interesse absorve bastante e outros não; c) promover eficiência em eluição por gradiente⁶ através da habilidade de selecionar um comprimento de onda onde os componentes da fase móvel não apresentam uma variação de absorvância para diferentes concentrações; d) permitir obter o espectro de absorvância de cada componente em separado após parar a vazão da fase móvel. Para todos os tipos de detectores por absorvância no UV ou no visível, a pureza da fase móvel é importante, especialmente quando se faz a detecção em comprimentos de onda menores do que 240 nm⁷. As fases móveis ideais são os solventes de grau cromatográfico; os de grau espectroscópicos não são recomendados porque podem conter preservativos que afetam a etapa de separação. Com estes detectores em ótimas condições, pode-se atingir sensibilidades de até 0,001 unidade de absorvância e, se os compostos absorverem intensamente, limites de detecção da ordem de nanograma. (COLLINS et al., 1997)

A partir da escolha da técnica inicia-se o processo de validação, que ocorre durante a fase de desenvolvimento e estabelecimento do ensaio químico. Segundo LEITE (2002), validar é estar com o objetivo voltado para confiabilidade analítica do laboratório e do método escolhido ou desenvolvido para se obter o resultado. Testes prévios, com o objetivo de verificar as condições ideais de ensaio, podem ser realizados livremente. Os parâmetros necessários para iniciar o processo de validação são: escolha dos padrões de referência analítica; especificidade / seletividade; curva de calibração; limite de quantificação; recuperação; linearidade; precisão e exatidão intra e inter dias; estabilidade das amostras em

¹ Neste estudo foi utilizada como fase móvel a acetonitrila que absorve em luz UV em 190 nm. In: COLLINS et al., 1997; 271.

ciclos de congelamento e descongelamento; estabilidade de curta duração; estabilidade de longa duração; estabilidade das soluções padrão.

Antes de começar o processo de validação, é preciso avaliar os padrões de referência e padrões internos que serão utilizados. As análises dos princípios ativos e seus metabólitos em matriz biológica implicam a contaminação das amostras com substâncias de referência analítica, as quais são utilizadas para preparar as curvas de calibração e controles de qualidade. A qualidade das substâncias de referência usadas pode, portanto, afetar os resultados do estudo. Por isto, as substâncias de referência devem ter identidade e pureza conhecidas, bem como controle e documentação cuidadosa.

De preferência, a substância de referência deve ser idêntica ao princípio ativo. Quando isto não é possível, uma forma química estabelecida (ácido ou base livre, sal ou éster) de pureza conhecida, pode ser usada.

Existem três tipos de substâncias de referência: padrões primários ou de referência com procedência certificada (p. ex: USP ou outra farmacopéia); de fonte comercial idônea, reconhecida internacionalmente; matérias sintetizadas por encomenda em laboratório analítico ou outro estabelecimento não comercial, com pureza documentada.

Seja qual for a origem, deve-se possuir evidências (quer geradas interna ou externamente) quanto à identidade e pureza da substância de referência. Outros dados devem estar disponíveis, como, por exemplo, a procedência, o número do lote, a validade e as condições de estocagem, bem como o certificado de análise, quando disponível.

As substâncias de referência analítica que vierem a ser empregadas exclusivamente como padrão interno devem apresentar grau analítico (P.a) ou superior e estarem dentro da validade no momento da preparação das soluções padrão.

A pesagem dos padrões e o subsequente preparo das soluções mãe e soluções de trabalho devem ser executadas de acordo com os POPs cabíveis e preparadas em quantidade suficiente para atender todo o procedimento de validação.

3. ETAPA ESTATÍSTICA

O objetivo dos estudos de biodisponibilidade é verificar se a taxa e a extensão da absorção do fármaco no sistema circulatório referentes às duas formulações teste e referência são equivalentes. Para tanto, é necessário que suas quantidades e velocidades de absorção não apresentem diferenças estatisticamente significativas, quando administrados na mesma dose molar do princípio ativo e sob as mesmas condições experimentais.

A biodisponibilidade é geralmente determinada pelas medidas farmacocinéticas, que derivam diretamente da curva de concentração do medicamento ao longo do tempo. Segundo a RE nº 478 de 19 de março de 2002, as principais medidas farmacocinéticas que são avaliadas para a determinação da bioequivalência são: ASC_{0-t} (área sob a curva desde o tempo zero até o tempo da última amostra coletada, calculada pelo método dos trapézios); $ASC_{0-\infty}$ (área sob a curva desde o tempo zero projetado até o infinito⁸); $C_{\max}$ (concentração máxima) e $T_{\max}$ (tempo decorrido até a ocorrência da concentração máxima).

Geralmente os métodos de análise para Estudos de Bioequivalência utilizam o critério de bioequivalência média, individual ou populacional. A *bioequivalência média* considera a análise sob o enfoque das médias das formulações teste e referência e geralmente utilizam o delineamento experimental *crossover 2x2* (não replicado; duas seqüências e dois períodos). Os métodos utilizados para verificar este tipo de delineamento são baseados em intervalos de confiança e testes de hipótese para a diferença ou a razão das médias.

⁸ Para o cálculo da $ASC_{0-\infty}$, foi utilizada a última concentração detectada (C_{ult}) e a constante de eliminação (K_e), calculada como o valor absoluto do coeficiente angular da reta ajustada por mínimos quadrados aos valores log-transformados (logaritmo natural) das concentrações, desde a concentração observada seguinte à concentração máxima até o último valor detectado: $ASC_{0-\infty} = ASC_{0-t} + C_{ult}/K_e t$.

A FDA (Food and Drug Administration) sugere estudos do tipo *crossover 2x4* (replicado; duas seqüências e quatro períodos e) e *4x2* (replicado; quatro seqüências e dois períodos) e *4x4* (quatro seqüências e quatro períodos). Outros modelos de testes *crossover 2x3* (duas seqüências e três períodos) também são utilizados para diminuir o custo do estudo e são sugeridos para aplicação de *bioequivalência individual*, que tem como principais obstáculos a necessidade de ensaios prolongados com três fases para a comparação de dois produtos, a necessidade de um número maior de voluntários para garantir o poder estatístico e, além disso, estes testes aumentariam o custo dos medicamentos genéricos, sem trazer grandes vantagens para os pacientes (CHOW et al, 2002 e MARZO, 1999).

De acordo com o Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade e Bioequivalência (ANVISA), considerações importantes como o período de eliminação (*washout*) e os efeitos residuais (*carry-over effects*) devem ser levados em conta para um bom planejamento *crossover*. O período de eliminação (*washout*) é definido como um intervalo de tempo suficientemente grande entre dois períodos de tratamentos para que o efeito residual de uma formulação administrada num período de tratamento seja eliminado das unidades experimentais para o próximo período. Os efeitos residuais (*carry-over effects*) são os efeitos da droga que persistem depois do fim do período da dosagem, diferentes do efeito da droga, o qual é observado durante o período o qual ela é administrada. Os efeitos residuais de primeira ordem são aqueles relativos a um único período de tratamento, enquanto que efeitos residuais de ordem C são aqueles que persistem nos últimos C períodos de tratamento.

Nos estudos de bioequivalência entre formulações de drogas encontram-se comumente problemas em algumas observações falsas (*outlier*) ou extremas contidas no conjunto de dados. Estes *outlying* podem ocorrer como qualquer observação inesperada na curva de concentração *versus* tempo ou num conteúdo incomum que tem uma biodisponibilidade alta ou baixa com a respectiva formulação referência (CHOW e TSE, 1990).

OBJETIVOS

1. OBJETIVO GERAL

Comparar a biodisponibilidade e a bioequivalência de dois produtos contendo *Cefadroxil cápsulas (500mg)*. O produto teste será o *Cefadroxil cápsulas (500mg)* produzido pela Apotex do Brasil LTDA e o produto de referência será o *Cefamox® - cápsulas de 500mg*, produzido pela Bristol-Myers Squibb.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Recrutar e selecionar voluntários de acordo com a ética estabelecida pelas Resoluções n. 196, de 10 de outubro de 1996 e n. 251, de 07 de agosto de 1997 do Ministério da Saúde;
- Realizar exames clínicos e laboratoriais para comprovação da saúde dos voluntários;
- Realizar a internação ou confinamento dos voluntários para coleta de amostras nos tempos pré-estabelecidos para demonstração da farmacocinética;
- Validar o método analítico para dosagem do *Cefadroxil cápsulas (500 mg)*;
- Dosar as concentrações de *Cefadroxil cápsulas (500mg)* dos produtos teste e referência em matriz biológica colhidas nos tempos pré –estabelecidos para fins de cálculos dos parâmetros farmacocinéticos;
- Analisar estatisticamente, através de programas específicos validados, a bioequivalência dos produtos teste e referência.

OBJETOS

Para a realização da pesquisa foram utilizados os seguintes objetos:

- Na *Etapa Clínica*: foram selecionados 26 voluntários sadios, 13 do sexo masculino e 13 do sexo feminino, com idade entre 18 e 50 anos, com índice de massa corpórea maior do que 19 e menor que 30 (Dietary Guidelines Advisory Committee, 1995)⁹
- Na *Etapa Analítica*, foi utilizada a metodologia específica e validada para determinação das concentrações de *Cefadroxil cápsulas (500mg)* no plasma dos voluntários, chamada de HPLC-UV/VIS (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada ao detector UV/VIS).
- Na *Etapa Estatística*, programas estatísticos como Excel, SAS[®] e Graph Pad Prism[®] foram utilizados para análise dos parâmetros farmacocinéticos e comparação da bioequivalência e biodisponibilidade.

⁹ Report of the Dietary Guidelines Advisory Committee on the Dietary Guidelines for Americans, 1995.
Disponível em: <http://www.dietaryguidelines.gov> Acesso em: 12/09/2003

METODOLOGIA

1. ETAPA CLÍNICA

1.1. DESENHO DO ESTUDO

A Synchronphar Assessoria e Desenvolvimento de Projetos Clínicos, localizado na cidade de Campinas – SP, foi a instituição responsável pela realização do estudo junto a FCM-Unicamp. Nesta realizou-se a *Etapa de Recrutamento de Voluntários*, a qual possui profissionais responsáveis para exame clínico dos voluntários, e, além disso, foram coletadas as amostras para exames laboratoriais. Os exames laboratoriais foram realizados no laboratório de análises clínicas Lab-Clin Laboratório Clínico, localizado na cidade de Americana – SP. A internação dos voluntários foi feita na Clínica São Lucas S/A, também localizada em Americana- SP.

O estudo foi aberto, aleatorizado (tabela 3) , cruzado, sendo 2 períodos, nos quais os voluntários receberam, em cada período, a formulação teste ou a formulação referência, havendo por conseguinte dois braços de tratamento (2 seqüências). A seqüência de tratamento atribuída a cada voluntário nos períodos de estudo foi determinada por uma lista de randomização gerada automaticamente pelo sistema SCPCM (Sistema de Controle de Pesquisas Clínicas de Medicamentos).

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

Tabela 3: *Lista de randomização*

Voluntário		Período 1	Período 2
1	FP131275M	Cefadroxil	Cefamox®
2	EM230862M	Cefadroxil	Cefamox®
3	AD260774M	Cefamox®	Cefadroxil
4	KP171069M	Cefadroxil	Cefamox®
5	HM290168M	Cefadroxil	Cefamox®
6	SS171165M	Cefadroxil	Cefamox®
7	WS200567M	Cefadroxil	Cefamox®
8	FS260672M	Cefamox®	Cefadroxil
9	JO200474M	Cefamox®	Cefadroxil
10	RT051183M	Cefadroxil	Cefamox®
11	DS230383M	Cefamox®	Cefadroxil
12	LM040158M	Cefamox®	Cefadroxil
13	RO250163M	Cefamox®	Cefadroxil
14	IF040271F	Cefadroxil	Cefamox®
15	DO100269F	Cefamox®	Cefadroxil
16	MJ210674F	Cefamox®	Cefadroxil
17	SC120978F	Cefamox®	Cefadroxil
18	SA230978F	Cefadroxil	Cefamox®
19	MM100381F	Cefadroxil	Cefamox®
20	RG040174F	Cefamox®	Cefadroxil
21	RN020583F	Cefadroxil	Cefamox®
22	SP201176F	Cefadroxil	Cefamox®
23	ZO010970F	Cefamox®	Cefadroxil
24	MS260163F	Cefamox®	Cefadroxil
25	LD290174F	Cefadroxil	Cefamox®
26	MM070275F	Cefamox®	Cefadroxil

1.2. DESCRIÇÃO DOS MEDICAMENTOS

Tabela 4: *Descrição dos medicamentos administrados*

	Produto Teste	Produto Referência
Nome Comercial:	n.a*	Cefamox [®]
Nome Genérico:	Cefadroxil	n.a*
Princípio ativo	Cefadroxil	Cefadroxil
Forma:	Cápsulas	Cápsulas
Concentração:	500 mg	500 mg
Lote nº:	GE 7720	144429
Data de fabricação:	09/2002	09/2002
Data de validade:	09/2004	09/2004
Fabricante:	Apotex	Bristol-Myers Squibb Brasil S.A.
Endereço	150 SgnetDrive Toronto, Ontário, Canadá M9L 1T9	Rua Carlos Gomes, 924 Bairro Sto Amaro São Paulo - SP
Quantidade	3 caixas com 20 cápsulas cada	8 caixas com 8 cápsulas cada
Total	60	64
Amostras de retenção	35	39
Amostras utilizadas	25	25
Amostras perdidas	00	00

Tabela 5: Características físico-químicas dos medicamentos administrados (equivalência farmacêutica).

Análise / Especificação	Teste	Referência
Descrição	Cápsula de gelatina dura. Cápsula de gelatina dura. de corpo de cor branca e tampa de cor laranja,, com as cor vermelho escura, com as inscrições “Cefamox” e inscrições “APO” e “500” no “500” no corpo e na tampa, corpo e na tampa, contendo pó contendo pó branco livre de branco livre de impurezas impurezas visíveis visíveis	
Peso médio	560,9 mg/cápsula	536,2 mg/cápsula
Desintegração: máximo 30 minutos (H₂O; 37°C)	10 minutos e 24 segundos	5 minutos e 20 segundos
Água (KF): máximo 7,0%	4,9%	5,0%
Identificação: CCD p/ Cefadroxil	Positivo	Positivo
Doseamento: HPLC		
Cefadroxil: 450,0 a 600,0 mg/cápsula ou 90,0 a 120,0% V.R.	522,3 mg/cápsula ou 104% V.R.	516,4 mg/cápsula ou 103,3% V.R.
Uniformidade de conteúdo: Cefadroxil: 88,7 a 120,0% VR; RSD_≤ 1,7%	102,4 a 106,3 % V.R.; RSD = 98,1 a 11,6 % V.R.; RSD = 4,3%	
6,0%		
Dissolução (Água /900 ml):		
Espectrofotometria UV		
Cefadroxil: mínimo 80,0% em 30 minutos		
- 15 minutos	96,5%	86,6%
- 30 minutos	98,8%	98,6%

Observações: Metodologia e especificações segundo USP 26 e FB IV; as amostras cumprem as especificações dos testes realizados e se referem ao estudo de equivalência farmacêutica

1.3. POPULAÇÃO DE ESTUDO

Foram selecionados 33 voluntários sadios, 17 do sexo masculino e 16 do sexo feminino, com idade entre 18 e 50 anos, com índice de massa corpórea maior do que 19 e menor que 30 (Dietary Guidelines Advisory Committee, 1995). O número de voluntários incluídos no estudo foi de 26 e houve “drop out” de um voluntário (número 19) antes da primeira internação, totalizando 25 voluntários no estudo.

1.4. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO DO VOLUNTÁRIO

De acordo com o *Protocolo de Estudo de Bioequivalência*, os seguintes critérios foram utilizados para que o voluntário continuasse participando do estudo:

- Homens e mulheres não grávidas e que não estejam amamentando;
- Idade entre 18 a 50 anos de idade;
- O voluntário que tenha seu índice de massa corpórea maior do que 19 e menor do que 30;
- Boas condições de saúde ou sem doenças significativas, a juízo de um profissional legalmente habilitado, de acordo com as regras definidas no Protocolo, e avaliações a que foi submetido: história clínica, medidas de pressão e pulso, exame físico e psicológico, ECG, e exames laboratoriais complementares;
- Capaz de compreender a natureza e objetivo do estudo, inclusive os riscos e efeitos adversos e com intenção de cooperar com o pesquisador e agir de acordo com os requerimentos de todo o ensaio, o que vem a ser confirmado mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

1.5. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO DO VOLUNTÁRIO

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

Problemas relacionados com a droga:

- O voluntário tem sabidamente uma hipersensibilidade a droga estudada (cefadroxil) ou a compostos quimicamente relacionados; história de reações adversas sérias ou hipersensibilidade a qualquer droga;
- História ou presença de doenças hepáticas ou gastrointestinais ou outra condição que interfere com a absorção, distribuição, excreção ou metabolismo da droga;
- Uso de terapia de manutenção com qualquer droga excetuando-se anticoncepcionais por via oral.

Doenças ou problemas de saúde:

- Tem história de doença hepática, renal, pulmonar, gastro-intestinal, epiléptica, hematológica ou psiquiátrica; tem hipo ou hipertensão de qualquer etiologia que necessite de tratamento farmacológico; tem história ou teve infarto do miocárdio, angina e/ou insuficiência cardíaca;
- Achados eletrocardiográficos não recomendados a critério do investigador para participação no estudo;
- Foram realizados os seguintes exames laboratoriais: Hematológicos: hemoglobina; eritrócitos; hematócrito; VCM; HBCM; CHBCM; RDW; leucócitos; neutrófilos; mielócitos; metamielócitos; bastonetes; segmentados; eusínófilos; basófilos; linfócitos;

monócitos; plaquetas; Urianálise: depósitos; densidade; proteínas; glicose; corpos cetônicos; pigmento biliar; nitrito; células epiteliais; filamentos de muco; leucócitos na urina; hemácias; cilindros; oxalato de cálcio; ácido úrico; fosfato triplo; uratos amorfos; fosfatos amorfos; Parasitológicos: protozoários; helmintos; Bioquímicos: colesterol total; triglicérides; uréia; creatinina; glicose jejum; ácido úrico; TGO; TGP; bilirrubina total; bilirrubina direta; bilirrubina indireta; fosfatase alcalina; gama gt; proteínas totais; albumina; globulinas; relação A/G; pH; Imunológicos: hepatite (Anti-HBs); hepatite (Anti-HBc) IgG; hepatite (Anti-HBc) IgM; hepatite (Anti-HVC); HIV-1; HIV-2; HbsAg; beta-HCG

- Os resultados dos exames laboratoriais complementares estão fora dos valores considerados normais de acordo com as normas deste protocolo, a menos que sejam considerados clinicamente irrelevantes pelo investigador.

Hábitos e dependências:

- Voluntário é fumante;
- O voluntário ingere mais do que 5 xícaras de café ou chá por dia;
- Tem história de abuso de álcool ou drogas.

Condições encontradas nos dias/meses que antecedem o estudo:

- Fez uso de medicação regular dentro das 2 semanas que antecederam o início do tratamento e a data de avaliação , ou fez uso de qualquer medicação dentro de uma semana, excetuando-se anticoncepcionais por via oral;
- Foi internado por qualquer motivo entre 8 semanas do início do primeiro período de tratamento deste estudo e a data da avaliação;

- Tratamento dentro dos 3 meses prévios ao estudo com qualquer droga conhecida de ter um potencial tóxico definido nos grandes órgãos;
- O voluntário participou de qualquer estudo experimental ou ingeriu qualquer droga experimental dentro dos três meses que antecedem o início deste estudo e a data da avaliação;
- O voluntário doou ou perdeu 450 ml ou mais de sangue dentre dos três meses que antecederam ao estudo ou que doou mais de 1500 ml dentro dos 12 meses entre o início do tratamento do estudo e a data de avaliação.

Outras condições:

- Teste positivo de gravidez para as voluntárias mulheres;
- O voluntário tem qualquer condição que o impede de participar do estudo pelo julgamento do investigador.

1.6. CRITÉRIOS DE RETIRADA DO VOLUNTÁRIO

Solicitação por parte do voluntário para se retirar do estudo a qualquer momento:

- Voluntário não deseja continuar no estudo por razões pessoais (ou mesmo sem razão);
- Voluntário não deseja continuar no estudo devido aos eventos adversos da droga de estudo (efeitos não desejáveis possivelmente relacionados a droga em estudo);

- Voluntário não deseja continuar por razões outras que não efeitos adversos por exemplo indisponibilidade, intolerância aos procedimentos do estudo, ou mesmo vontade própria.

O investigador pode retirar o voluntário do estudo por uma das seguintes razões:

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

Os detalhes e razões da retirada do voluntário do estudo foram anotados no Formulário de Relato de Caso - CRF (Seção de Término do Estudo) e relatados aos monitores.

1.7. CRITÉRIOS PARA DESCONTINUAÇÃO DO VOLUNTÁRIO NO ESTUDO

Com o objetivo de garantir o bem estar dos voluntários, o estudo poderia ser interrompido a juízo do Investigador Principal ou do Patrocinador, caso fosse estabelecido que os riscos a que os voluntários estivessem sendo submetidos fossem superiores aos antecipadamente previstos ou mesmo, a qualquer momento pelo voluntário por decisão própria.

Além disto, os voluntários poderiam ter sua participação no estudo encerrada antecipadamente em função dos "Critérios de Retirada" descritos no item anterior. Em caso de desligamento individual de um voluntário, o mesmo poderia ser substituído por um voluntário adicional a fim de manter o estudo balanceado.

1.8. DESCRIÇÃO DO LOCAL E FORMA DE CONFINAMENTO DOS VOLUNTÁRIOS

Os voluntários foram internados na Unidade de Internação (Clínica São Lucas – Americana - SP). A clínica possui uma unidade para ensaios clínicos com 26 leitos e posto de enfermagem, o qual dispõe de carrinho de emergência com desfibrilador, monitor, oxímetro, respirados, material para pequena cirurgia e com medicação de urgência para qualquer eventualidade. Além disso, conta com uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI).

Os voluntários se apresentaram na Unidade Clínica (Synchrophar – Campinas – SP) às 19:00 horas, ou seja, na noite anterior de cada período, o qual foi feita uma reunião pré-internação, além de vistoria dos pertences dos voluntários e uma avaliação médica.

Em seguida foram levados sob a responsabilidade e cuidados da Unidade Clínica para a Unidade de Internação, onde permaneceram por 20 horas. O primeiro período de internação teve início no dia 13/09/2003 às 20:00 horas e término no dia 14/09/2003 às 16:00 horas. O segundo período teve início no dia 20/09/2003 às 20:00 horas e término no dia 21/09/2003 às 16:00 horas.

1.9. PERÍODOS DE JEJUM E ALIMENTAÇÃO

Ao chegar a Clínica São Lucas, os voluntários fizeram sua última refeição do dia. Após a sua entrada no hospital, permaneceram em jejum a partir das 21:00 horas (pelo menos 10 horas de jejum) da noite do internamento até 4 horas após a ingestão da medicação.

A fim de manter a padronização dos grupos de tratamento, a dieta (alimentos e líquidos) oferecida obedeceu o mesmo padrão para todos os voluntários. O cardápio é estipulado pela Unidade Clínica e a nutricionista da Unidade de Internação (ceia padrão).

Alimentos:

Foram servidas as seguintes refeições:

- Jantar na noite da internação;
- 4 horas após a administração da medicação, sendo servido um almoço padronizado;
- Após 7-8 horas da administração foi oferecido um lanche da tarde padronizado;

Líquidos:

A ingestão de líquidos *ad libitum* foi permitida até 06 horas antes da administração da droga. Água e líquidos (sem cafeína) foram permitidos *ad libitum* após 4 horas da administração da dose.

As seguintes ingestões de líquido estão assim programadas:

- A medicação foi dada com 200ml de água mineral sem gás;
- Após 2 horas da administração da medicação foi oferecido 200 ml de água mineral sem gás.

Jejum:

Os voluntários permaneceram em jejum a partir das 21:00 horas (pelo menos 10 horas de jejum antes da medicação) da noite do internação até 4 horas após a ingestão da medicação. Os voluntários não poderiam tomar líquidos desde 06 (seis) horas pré-administração da medicação e até 4 horas após a ingestão da medicação, exceto nas ocasiões especificamente programadas.

1.10. CRONOGRAMA DE COLETA DAS AMOSTRAS.

A coleta das amostras foi feita através de cateter heparinizado introduzido em veia superficial do antebraço do voluntário. Após a coleta de cada amostra, o cateter foi lavado com 2 ml de solução de heparina sódica (5 IU/ml).

Após pelo menos 10 horas de jejum o ensaio teve início com uma coleta de sangue de 25 ml para controle individual, curvas padrões, e outra de 6 ml imediatamente antes (dentro de 30 minutos da administração da medicação - formulação teste ou referência). No total, foram coletadas 22 amostras de sangue (11 em cada período do estudo). Um total de aproximadamente 260 ml de sangue foi coletado durante os dois períodos do estudo, incluindo o volume coletado para os exames pré e pós estudo. Os tempos de coleta são mostrados na Tabela 5.

Foi ser registrado no CRF o tempo real absoluto de coleta da amostra de sangue usando-se um relógio de 24 horas. Também foi registrado o tempo real absoluto da administração da medicação, para que se possa computar o intervalo real de tempo existente entre a última administração da droga e as respectivas coletas. Eventuais perdas de coleta de amostras também foram ser registradas. As amostras coletadas permitiram a identificação inequívoca do estudo, voluntário (código de identificação), período e horário de coleta.

Tabela 6: Atividades do estudo e tempos de coleta

Períodos 1 e 2

Tempo (h:min)	Atividade	Outras atividades
00:00*	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura
00:30	Coleta de sangue	
01:00	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura
01:30	Coleta de sangue	
02:00	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura
02:30	Coleta de sangue	
03:00	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura
03:30	Coleta de sangue	
04:00	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura
06:00	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura
08:00	Coleta de sangue	PA, pulso, temperatura

*dentro dos 00:30 min. que antecede a administração.

1.11. PROCESSAMENTO, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS

Logo após a coleta (máximo de 20 minutos), as amostras de sangue foram centrifugadas em torno de 2.800 rpm 10 minutos a temperatura ambiente. Imediatamente após a centrifugação, o plasma pelo menos 2,5 ml foi retirado do tudo centrifugado e transferido para outro tubo criogênico, com tampa tipo rosca, igualmente identificado e guardados em sacos plásticos identificados por período.

Ao final de cada internação, as amostras foram armazenadas a temperatura de -20°C em freezer específico para armazenagem de amostras biológicas, localizado na própria Unidade, até serem enviadas para a Unidade Analítica (*Etapa Analítica*).

As amostras foram acondicionadas em caixa térmica de isopor identificada na parte frontal, contendo o número do estudo. Sobre os tubos foi colocado gelo seco, onde foi registrada a temperatura máxima e mínima atingida, através de um termômetro.

2. ETAPA ANALÍTICA

2.1. MATERIAIS E RESUMO DA METODOLOGIA

2.1.2. MATERIAIS

Para realização da Etapa Analítica, foram utilizados os seguintes materiais:

- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Shimadzu composto por duas bombas LC-10ADVP, desgaseificador DGU-14^A, injetor automático de amostras SIL-10ADVP, detector UV- Visível SPD-10AVVP, forno coluna CTO-10AVP;
- Balança analítica Metteler Toledo, modelo AB204-S;
- Centrífuga Heraeus, modelo Megafuge 2.0 D37520;
- Banho ultrassônico Odontobrás, modelo 2840D;
- pHmetro Micronal, modelo B474;
- Banho termostático Fisaton, modelo 577;
- Sistema de filtração a vácuo Sartorius;
- Coluna cromatográfica Shim-pack CLC-C18 (M) 5 μ 15,0 cm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno
- Pré-coluna cromatográfica cromatográfica Shim-pack CLC-C18 (M) 5 μ 15,0 cm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno
- Pipetas automáticas de volume fixo de 25, 500 e 1000 μ L Brand Transferpette;
- Pipeta automática de volume variável de 10 a 100 μ L e de 100 a 1000 μ L Eppendorf;
- Pipeta automática de volume variável de 0,5 a 5,0 mL Labsystems FinnpiPETTE;
- Pipeta automática de volume variável de 1,0 a 10,0 mL Labsystems FinnpiPETTE;

2.1.2. VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA

Antes das amostras colhidas na *Etapa Clínica* serem enviadas ao laboratório para a realização da *Etapa Analítica*, este laboratório deve validar o método que será utilizado para dosagem dos medicamentos para estudo de farmacocinética.

A realização prévia das etapas necessárias no desenvolvimento do método analítico para estudo de bioequivalência assegura ao centro analítico e ao seu contratante que os serviços contratados serão realizados no tempo previsto e com a confiabilidade necessária dos resultados, os quais serão avaliados para fins de registro do medicamento em estudo. Para tanto, deve-se realizar primeiramente uma pré validação, onde são avaliados os processos de extração, separação, purificação, identificação e quantificação do fármaco na matriz biológica.

A pesagem dos padrões e o subsequente preparo das soluções mãe e soluções de trabalho devem ser executadas de acordo com os POPs cabíveis e preparadas em quantidade suficiente para atender todo o procedimento de validação.

2.2. CONDIÇÕES PARA CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Para a determinação de Cefadroxil em plasma foi empregada para separação uma coluna da marca Shim-pack®, modelo CLC-C18 (M), de 150 mm e comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, contendo partículas de 5 µm.

A fase móvel foi constituída por mistura de solução tampão de fosfato de sódio monobásico 20 mM e metanol, na proporção de 85:15 (v/v), pH final de 3,5. O fluxo da fase móvel e a temperatura da coluna utilizadas foram de 0,8 ml/min e 40°C, respectivamente. O comprimento de onda empregado no detector foi de 230 nm, e, para análise dos extratos reconstituídos, foram injetados 25 µL no sistema cromatográfico.

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

2.3. VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE CEFADROXIL EM PLASMA

2.3.1. Seletividade e Especificidade

Neste estudo, tal parâmetro foi investigado pela análise de, no mínimo, seis amostras de plasma branco para verificação da existência de interferência por parte de componentes endógenos, sendo uma amostra de plasma lipêmico, uma amostra de plasma hemolisado e quatro amostras de plasma normal, obtidas de voluntários sadios e isentas de fármaco e padrão-interno. Interferentes no tempo de retenção foram aceitos desde que sua resposta representasse 20% da área do pico correspondente ao limite de quantificação inferior ao padrão e 5% da área do pico no caso do padrão-interno.

2.3.2. Preparo de Amostras de Plasma Padrão da Curva de Calibração

Para garantir a estabilidade das amostras de plasma padrão da curva de calibração, estas foram preparadas diariamente a partir de soluções-padrão de 5,0 µg/ml e 100 µg/ml de Cefadroxil em metanol:

- Foram tomadas alíquotas adequadas da solução padrão de Cefadroxil em metanol e 30 µL da solução-padrão de Acetaminofeno a 100µg/ml em metanol;
- Foram secadas em corrente de nitrogênio em banho-maria a 40°C;
- Foram adicionados 500µL de plasma e homogeneizadas em agitador de tubos tipo vórtex por 30 segundos. (tabela – resultados);
- As soluções-padrão de Cefadroxil em metanol, utilizadas para preparo diário das amostras de plasma padrão da curva de calibração, e de Acetaminofeno (PI) em metanol, ficaram armazenadas em freezer a -20°C e sua estabilidade foi monitorada diariamente durante a corrida analítica.

Tabela 7: Resumo do preparo de amostras para a curva de calibração

Solução-padrão de cefadroxil (Concentração - µg/ml)	Aliquota (µL)	Volume de plasma (µL)	Concentração final de cefadroxil (µg/ml)
5,0	30	500	0,3
5,0	50	500	0,5
5,0	100	500	1,0
100,0	50	500	10
100,0	75	500	15
100,0	100	500	20
100,0	150	500	30

2.3.3. Linearidade

Neste estudo, a linearidade foi definida se utilizando amostras de plasma adicionado de padrão de cefadroxil em oito concentrações diferentes (0,3; 0,4; 0,5; 1; 10; 15; 20; 30 µg/ml) e seis repetições. Estabeleceu-se a correlação linear entre concentração, considerada variável independente (x) e área do pico, considerada variável dependente (y). Os parâmetros da correlação foram estimados através do método dos mínimos quadrados. A linearidade foi avaliada pelo valor do coeficiente de correlação linear (R^2), que deve ser superior a 0,98.

2.3.4. Limite de Quantificação

De acordo com BRESSOLLE *et al* (1996), a precisão e exatidão inter e intra-dias do LOQ deve ser determinada utilizando cinco amostras de QC, de um simples *pool* de matrix, independente dos padrões. A média dos valores deve ser dentro dos limites pré-definidos, normalmente dentro de $\pm 20\%$ do valor nominal da concentração, com um coeficiente de variação $\leq 20\%$. O LOQ serve para mostrar a concentração mais baixa da curva de calibração.

2.3.5. Precisão

Esse parâmetro foi determinado pela análise de amostras de plasma de controle de qualidade em três diferentes concentrações. O valor do coeficiente de variação (CV%) não foi superior a 15%.

Foram avaliados a precisão intra-dia (análise realizada no mesmo dia em réplicas de seis) e inter-dias (análises realizadas em três dias diferentes).

2.3.6. Preparo de Amostras de Plasma de Controle de Qualidade

Após checar a especificidade do método, um volume adequado de matriz biológica deve ser reservado e usado durante a validação do método e durante o estudo de farmacocinética.

Quantidades suficientes de cada concentração de controle de qualidade (QC) foram preparadas. Um mínimo de três concentrações, representando o início da curva de calibração, foram analisadas; um próximo ao limite de quantificação (LOQ), um próximo ao centro e um próximo ao limite superior da curva padrão. Esta remessa de controles foram preparadas em alíquotas, congeladas em frascos apropriados, e utilizados no momento da validação do método e na subsequente análise do estudo de farmacocinética.

As amostras de QC, que tinham sido divididas em alíquotas, poderiam ser randomizadas para que fossem analisadas em ordem numérica e incluídas em cada sequência durante o período de estudo (BRESSOLLE *et al*, 1996).

As amostras de plasma de controle de qualidade foram preparadas em três concentrações (CQB = 0,5 µg/ml, CQM = 15 µg/ml, CQA = 25 µg/ml) no dia 10/09/03:

- Transferiram-se alíquotas das soluções-padrão de Cefadroxil em água-metanol (90:10), nas concentrações de 100 ou 1000 µg/ml, conforme descrito na Tabela 9, para baiões volumétricos de 25 ml;
- A seguir, adicionou-se lentamente o plasma branco e homogeneizou-se gentilmente para evitar a formação de espuma. Após completar o volume, agitou-se vigorosamente para garantir homogeneização.
- Após o preparo, estes padrões foram alíquotados em frascos de vidro de 3 ml, devidamente identificados, a concentração e a data de preparo, e armazenados em freezer a -20°C;
- A estabilidade das amostras foi avaliada na etapa de validação do método analítico.

Tabela 8: Obtenção das amostras de plasma de controle de qualidade.

Controle de qualidade	Solução-padrão de cefadroxil (µg/ml)	Alíquota (µL)	Volume de plasma (µL)	Concentração final de cefadroxil (µg/ml)
CQB	100	125	25	0,5
CQM	1000	375	25	15
CQA	1000	625	25	25

2.3.7. Exatidão

Este parâmetro foi determinado pela análise de amostras de plasma de controle de qualidade em três diferentes concentrações. A exatidão deve estar entre $\pm 15\%$ do valor nominal da concentração.

Foram avaliados a exatidão intra-dia (análise realizada no mesmo dia em réplicas de seis) e inter-dias (análises realizadas em três dias diferentes).

2.3.8. Recuperação

Neste estudo, a recuperação foi determinada comparando-se resultados de análises de amostras de plasma adicionado de padrão de *Cefadroxil* e padrão-interno, submetidas ao processo de extração, a resultados de análises de amostras de *Cefadroxil* e padrão-interno em metanol, não submetidas a esse processo, em três diferentes concentrações para *Cefadroxil* (alta: 25 µg/ml, média: 15 µg/ml e baixa: 0,5 µg/ml) e seis repetições. Porcentagens próximas a 100% são desejáveis, porém admitem-se valores menores (50-60%), desde que a recuperação seja precisa e exata, ou seja, admite-se uma variação menor ou igual a 15%.

2.3.9. Estabilidade

Determinou-se a estabilidade das soluções-padrão utilizadas para preparação diária da curva de calibração, de amostras de plasma mantidas a -20°C e submetidas a três ciclos de congelamento e descongelamento, além da estabilidade de curta duração (estabilidade no tempo e condições de análise), e estabilidade de longa duração, conforme recomendado na Resolução nº899 de 29 de maio de 2003. Os desvios nominais devem estar entre $\pm 15\%$ e o coeficiente de variação não deve ser superior a 15%.

2.4. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS DE PLASMA PARA QUANTIFICAÇÃO DE CEFADROXIL

Ao chegarem ao laboratório analítico para a realização da *Etapa Analítica*, as amostras de plasma dos voluntários colhidas na *Etapa Clínica* são registradas numa lista de verificação de recebimento de amostras. Além disso, também são registradas as condições de recebimento das amostras. Após este procedimento, as amostras são armazenadas até o momento da análise.

A análise iniciou-se da seguinte maneira:

- A purificação das amostras de plasma padrão da curva de calibração, amostras de plasma branco, amostras de plasma de controle de qualidade e amostras de plasma de voluntários que receberam Cefadroxil foi realizada através de precipitação das proteínas plasmáticas com acetonitrila;
- Adicionou-se 500 μL de plasma a tubos de ensaio contendo 30 μL de solução padrão-interno (Acetaminofeno) em metanol, na concentração de 100 $\mu\text{g/ml}$, homogeneizando-se em agitador de tubos por 30 segundos;
- Procedeu-se a precipitação das proteínas do plasma adicionando-se 3,0 ml de acetonitrila e homogeneizando-se em agitador de tubos por 60 segundos;
- Após a centrifugação das amostras a 3500 rpm por 10 minutos, a solução resultante foi filtrada em unidade HV Millex com membrana Durapore® de 13 mm de diâmetro de poro de 0,45 μm ;
- O filtrado foi transferido para tubo cônico e evaporado em corrente de gás nitrogênio sob aquecimento a 40°C em banho-maria;
- Ressuspendeu-se o resíduo em 250 μL de fase móvel para injeção em CLAE.
- As amostras de plasma em voluntários que receberam Cefadroxil foram analisadas paralelamente a curva de calibração com sete pontos (0,3; 0,5; 1; 10; 15; 20 e 30 $\mu\text{g/ml}$) e as amostras de plasma de controle de qualidade em triplicata e em três diferentes concentrações (alta: 25 $\mu\text{g/ml}$; média: 15 $\mu\text{g/ml}$ e baixa: 0,5 $\mu\text{g/ml}$).
 - Após a corrida analítica, todos os cromatogramas referentes a cada voluntário e foram impressos e enviados junto com os relatórios da *Etapla Analítica* para que a *Etapla Estatística* fosse realizada.

3. ETAPA ESTATÍSTICA

Após o recebimento dos relatórios da *Etapa Analítica* iniciou-se a realização da *Etapa Estatística*. Os dados das concentrações estão registrados no ANEXO.

Os dados analisados a partir das concentrações detectadas das amostras de plasma, foram de um estudo aberto, aleatório, cruzado, em dois períodos e duas seqüências. Foram analisados os parâmetros farmacocinéticos: ASC_{0-t} (área sob a curva desde o tempo 0 até o tempo t (tempo da última amostra coletada), calculada pelo método dos trapézios; $ASC_{0-\infty}$ (área sob a curva desde o tempo 0 projetado até o infinito); $C_{\max}$ (concentração máxima) e $T_{\max}$ (tempo decorrido até a ocorrência da concentração máxima).

As análises do logaritmo da área sob a curva do tempo 0 ao tempo t , da área sob a curva do tempo 0 ao infinito e da concentração máxima foram realizadas usando um modelo linear em que variáveis independentes foram a seqüência (RT e TR), período (1 e 2), produto (R e T) e voluntários dentro da seqüência. Foi utilizado o procedimento Mixed do Sistema SAS[®], versão 8.2. Para a construção dos gráficos utilizou-se o programa Excel, versão 2003 e GraphPad Prism[®].

RESULTADOS

1.10. ETAPA CLÍNICA

1.1. DADOS DA POPULAÇÃO

1.1.1.Histórico Descritivo

Tabela 9: Descrição dos voluntários

Voluntário	Sexo	Idade	Média	Peso	Altura	IMC
1	M	27	34	71,5	1,59	25,03
2	M	41	35	77,8	1,72	26,3
3	M	29	31,5	74,8	1,72	25,28
4	M	34	34,5	89,5	1,89	25,6
5	M	35	36	59,1	1,66	21,45
6	M	37	36,5	65,5	1,65	24,6
7	M	36	33,5	65,5	1,79	20,44
8	M	31	30	60,5	1,56	24,86
9	M	29	24	58,9	1,58	23,59
10	M	19	19,5	60,7	1,68	21,51
11	M	20	32,5	60,4	1,76	19,5
12	M	45	42,5	81,8	1,79	25,53
13	M	40	36	82,3	1,7	28,48
14	F	32	33	63,1	1,62	24,04
15	F	34	31,5	59,8	1,57	24,26
16	F	29	27	64,5	1,64	23,98
17	F	25	25	62,2	1,56	25,56
18	F	25	23,5	60,6	1,59	23,97
19	F	22	25,5	52	1,5	23,11
20	F	29	24,5	58,8	1,62	22,41
21	F	20	23	46	1,51	20,17
22	F	26	29,5	70,3	1,72	23,76
23	F	33	36,5	43,5	1,51	19,08
24	F	40	34,5	57,5	1,52	24,89
25	F	29	28,5	52,7	1,57	21,38
26	F	28	28	71,9	1,68	25,47

Tabela 10: Estatística descritiva dos dados da população

Variáveis	N	Média	DP	Mínimo	Mediana	Máximo
Altura	26	1.6	0.1	1.5	1.6	1.9
Peso	26	64.3	10.9	43.5	61.5	89.5
IMC	26	23.6	2.3	19.1	24.0	28.5
Idade	26	30.5	6.8	19.0	29.0	45.0

1.2.2. História Clínica Pré-Estudo

Tabela 11: Descrição da história clínica dos voluntários

Características	Ocorrências
Pressão arterial	nenhum desvio significativo
Frequência cardíaca	nenhum desvio significativo
Temperatura	nenhum desvio significativo
Abuso de álcool e drogas	não relatado por nenhum voluntário
Fumante	9 voluntários relataram ser ex-fumantes
Doador de sangue	1 voluntário relatou ter doado sangue em 01/01/2003

Tabela 12: Avaliação dos Sistemas da História Clínica Pré-Estudo

História	Ocorrências
Alergia	5 voluntários apresentaram história de alergia
Cardiovascular	não relatado por nenhum voluntário
Dermatológico	não relatado por nenhum voluntário
Endócrino	não relatado por nenhum voluntário
Estabilidade emocional	não relatado por nenhum voluntário
Gastrointestinal	2 voluntários apresentaram história de problemas gastrointestinais
Genitourinário	não relatado por nenhum voluntário
Hematopoiético – linfático	não relatado por nenhum voluntário
História cirúrgica	16 voluntários relataram ter história cirurgia
História familiar	10 voluntários relataram ter história familiar
Musculoesquelético	1 voluntário relatou
Olhos – Ouvidos – Nariz	2 voluntários
Outros	não relatado por nenhum voluntário
Respiratório	3 voluntários relataram problemas respiratórios
Sistema Nervoso Central	não relatado por nenhum voluntário

1.2.2.1. Avaliação dos Sistemas do Exame Clínico Pré-estudo

No voluntário 20, ocorreu anormalidade na pele.

1.2.2.2. Exames Laboratoriais Pré e Pós-estudo

Não foi observado nenhum desvio significativo para a realização do estudo nos resultados dos exames laboratoriais.

1.3. OCORRÊNCIA DE EVENTOS ADVERSOS

Neste estudo, foram incluídos 26 voluntários, ocorrendo “drop out” de um dos participantes. Dos voluntários participantes, 04 apresentaram eventos adversos (tabela), sendo que nenhuma das queixas clínicas foi relacionada à droga.

Essas queixas clínicas por parte dos voluntários, não apresentaram nenhuma implicação na coleta dos dados e no resultado final do estudo clínico.

Tabela 13: Reações adversas relatadas pelos voluntários durante a internação.

Voluntário	Período de internação	de Medicação	Evento adverso	Intensidade	Conduta	Tratamento
1	2	R	Cefaléia	Moderada	1	Dipirona
2	1	T	Cefaléia	Leve	1	Dipirona
15	1	R	Cefaléia	Severo	1	Dipirona
18	1	T	Vômito	Leve	0	nenhum

2. ETAPA ANALÍTICA

3.1. VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

2.1.1. Especificidade

O método desenvolvido demonstrou-se específico para cefadroxil e acetaminofeno (PI), obtendo-se boa separação destes entre si e dos componentes do plasma.(ANEXO)

2.1.2. Curva de Calibração

A tabela abaixo apresenta os valores de concentração de cefadroxil determinadso para as amostras de plasma padrão da curva de calibração com seus respectivos valores nominais e desvios percentuais.

Tabela 14: Determinação da concentração de cefadroxil em amostras de plasma padrão da curva de calibração

Concentração nominal (µg/ml)	Concentração Média	Exatidão média (%)	Desvio médio (%)
0,30	0,31	102,47	2,47
0,50	0,52	104,31	4,31
1,00	0,98	97,59	-2,41
10,00	9,67	96,74	-3,26
15,00	14,63	97,52	-2,48
20,00	21,19	105,97	5,97
30,00	29,50	98,33	-1,67

2.1.2.1. Linearidade

O método mostrou-se linear entre as concentrações de 0,3 a 30 µg/ml. A tabela apresenta os parâmetros relativos à média de 6 curvas de calibração

Tabela 15: Curva de linearidade

Concentração	Média	Concentração	Exatidão	Desvio
Nominal	P/PI	Real		
0,3	0,01	0,34	112,87	12,87
0,4	0,01	0,41	101,69	1,69
0,5	0,023	0,53	105,60	5,60
1,0	0,05	0,92	91,61	-8,39
5,0	0,34	5,11	102,25	2,25
10,0	0,67	9,93	99,32	-0,68
20,0	1,35	19,88	99,41	-0,59
30,0	2,05	31,20	104,00	4,00

Tabela 16: Parâmetros relativos a curva de calibração do método analítico para a quantificação do cefradroxil em plasma por CLAE na faixa de concentração de 0,3 a 30 µg/ml.

Parâmetros	Valor
Inclinação (a)	0,0685
Intercepto (b)	-0,0137
Coefficiente de correlação (r^2)	0,9999

2.1.3. Limite de Quantificação

O limite de quantificação do método foi de 0,3 µg/ml, com precisão de 4,43% e exatidão de 92,43%.

2.1.4. Precisão e Exatidão

A precisão variou entre 3,45 e 5,89% para amostras analisadas no mesmo dia (intra-dia) e entre 11,61 e 12,79% para amostras analisadas em dias diferentes (inter-dias). A exatidão variou entre 90,61 e 93,94% e 97,64 e 107,66% para análises intra e inter-dias respectivamente.

Tabela 17: Precisão e exatidão intra-dia e inter-dias referentes ao método analítico para a quantificação de cefadroxil em plasma por CLAE. Cada valor representa a média de seis e três determinações para análise intra e inter-dias, respectivamente.

Concentração (µg/ml)	Precisão (%)		Exatidão (%)	
	Intra-dia	Inter-dias	Intra-dia	Inter-dias
0,5	5,89	11,61	91,41	107,66
15	3,45	12,42	90,61	97,64
25	4,92	12,79	93,94	99,15

2.1.5. Recuperação

A recuperação média da extração foi de 63,7% para cefadroxil e 107,34% para acetaminofeno, com precisão e exatidão dentro dos limites especificados. (ANEXO)

Tabela 18: Recuperação média

Concentração (µg/ml)	Recuperação (%)	
	Padrão (CV%)	Padrão interno (CV%)
0,5 (CQB)	60,31 (4,38)	107,34 (1,47)
15 (CQM)	61,70 (2,35)	104,84 (1,45)
30 (CQA)	68,70 (4,20)	109,40 (1,19)
Média de recuperação (%)	63,57	107,20
Precisão da recuperação (CV%)	7,08	2,13
DP	4,50	2,28

2.1.6. Estabilidade

2.1.6.1. Estabilidade nos Ciclos de Congelamento e Descongelamento

As amostras mantiveram-se estáveis quando mantidas a -20°C e analisadas após três ciclos de congelamento e descongelamento (tabela)

Tabela 19: Estabilidade do cefadroxil em amostras de plasma mantidas à temperatura de -20°C e submetidas a três ciclos de congelamento e descongelamento. Cada resultado representa a média de três determinações.

Concentração ($\mu\text{g/ml}$)	Ciclo 1		Ciclo 2		Ciclo 3	
	Precisão	Exatidão	Precisão	Exatidão	Precisão	Exatidão
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
0,5	2,50	92,62	7,74	94,52	12,36	113,76
15	3,76	90,17	2,48	105,52	3,16	89,21
25	3,31	89,59	14,71	107,13	1,01	91,58

2.1.6.2. Estabilidade de Curta Duração

A estabilidade de curta duração, representada pela estabilidade no tempo e condições de análise, foi determinada utilizando-se amostras de plasma de controle de qualidade submetidas ao mesmo tratamento que as amostras de plasma de voluntários a serem analisadas, ou seja, descongelamento natural à temperatura ambiente e preparação conforme método validado previamente descrito. Estas mesmas amostras foram utilizadas para avaliar a estabilidade durante o período de espera no injetor automático até a introdução da amostra no sistema cromatográfico, período correspondente a 24 horas (tabela). Foi avaliada também a estabilidade por 48 horas a temperatura ambiente.

Tabela 20: Estabilidade do cefadroxil em amostras de plasma no tempo e condições de análise. Cada resultado representa a média de três determinações.

Concentração (µg/ml)	24 horas		48 horas	
	Precisão	Exatidão	Precisão	Exatidão
0,5	2,56	114,15	6,02	107,40
15	1,75	114,67	2,22	93,01
25	1,65	114,17	8,56	93,27

2.1.6.3. Estabilidade de Longa Duração

A estabilidade das amostras de plasma contendo cefadroxil foi verificada utilizando-se amostras de plasma de controle de qualidade, as quais foram preparadas na sua totalidade no dia 10 de setembro de 2003.

Já as amostras de plasma de controle de qualidade e amostras de plasma de voluntários que receberam cefadroxil mantiveram-se estáveis por pelo menos 28 dias, ou seja, de 10 de setembro de 2003 (data de preparo das amostras de plasma de controle de qualidade) a 8 de outubro de 2003 (data de análise após armazenamento de 28 dias) à temperatura de -20°C (tabelas)

Tabela 21: Estabilidade do cefadroxil em amostras de plasma de controle de qualidade, analisadas imediatamente após o preparo. Cada resultado representa a média de três determinações.

Concentração (µg/ml)	Precisão	Exatidão
0,5	7,03	94,46
15	3,34	91,90
25	7,94	94,27

Tabela 22: Estabilidade do cefadroxil em amostras de plasma mantidas à temperatura de – 20°C por 28 dias. Cada resultado representa a média de três determinações.

Concentração (µg/ml)	Precisão	Exatidão
0,5	2,3	114,99
15	2,71	98,82
25	1,41	96,80

2.1.6.4. Estabilidade das Soluções Padrão

A estabilidade das soluções estoque de padrão e padrão interno foi determinada pela análise diária das mesmas durante as corridas analíticas das amostras de plasma dos voluntários. A variabilidade apresentada foi 8,03% e 10,79% para as áreas de padrão e padrão interno, respectivamente. No Anexo II pode ser observado um gráfico representativo da avaliação de estabilidade das soluções-padrão de cefadroxil e acetaminofeno.

2.2. CONCENTRAÇÕES DO CEFADROXIL NO PLASMA DOS VOLUNTÁRIOS

As figuras 2 e 3 demonstra o cromatograma referente ao plasma branco e a figura 5, o cromatograma referente ao tempo 0,5 h de um dos voluntários, com os respectivos tempos de retenção para o Cefadroxil e o Acetaminofeno (PI).

A tabela 23 e o gráfico 4 representam as concentrações do Cefadroxil – 500mg (Teste e Referência) no plasma de voluntários sadios em função dos tempos de coleta das amostras:

No ANEXO III, pode-se observar as concentrações individuais para cada voluntário.

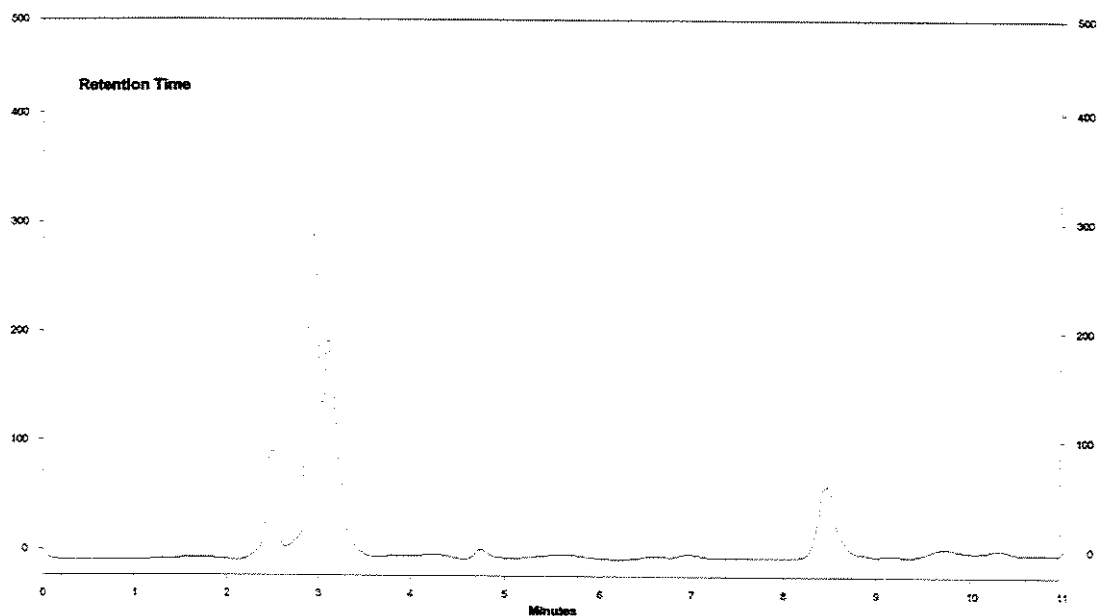


Figura 2: Cromatograma referente ao plasma branco (sem medicamentos).

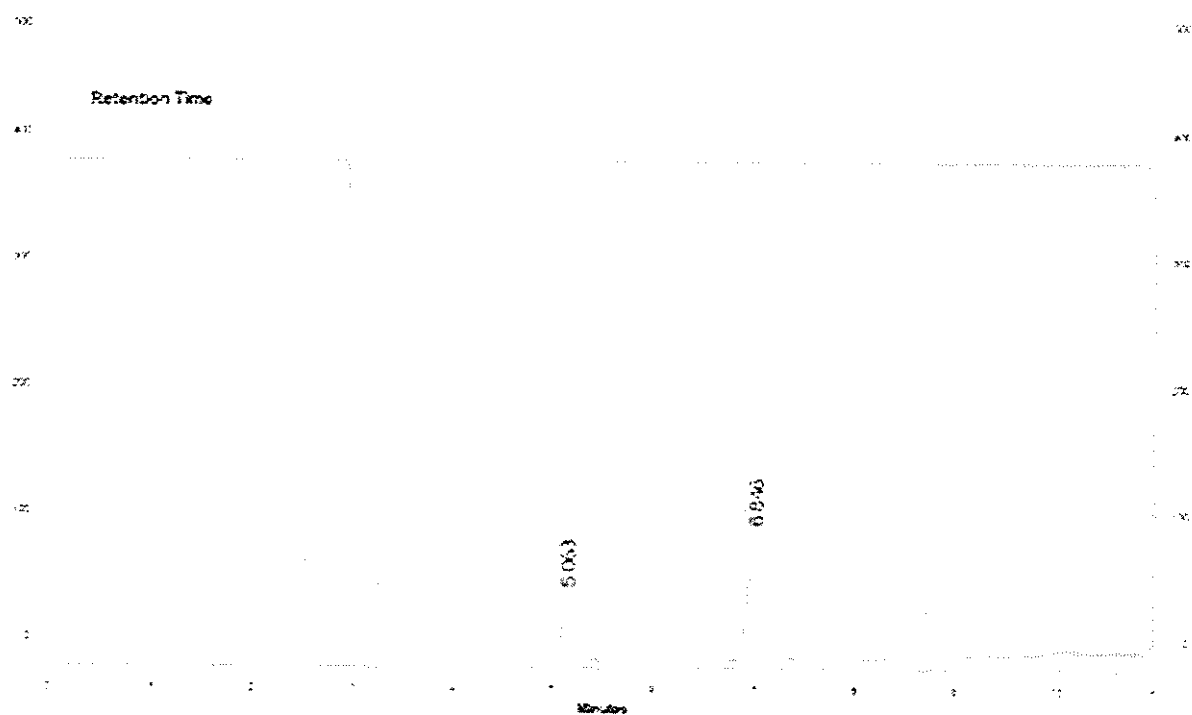


Figura 3: Cromatograma referente à dosagem dos fármacos teste e referência em plasma no tempo 1,0 h um dos voluntários.

Tabela 23: Média das Concentrações:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.00	0.00	0.00
0.50	4.68	3.06
1.00	12.56	8.95
1.50	14.61	10.96
2.00	13.93	11.77
2.50	12.22	11.64
3.00	9.82	10.28
3.50	7.54	8.46
4.00	5.93	6.67
6.00	2.21	2.78
8.00	0.89	1.11

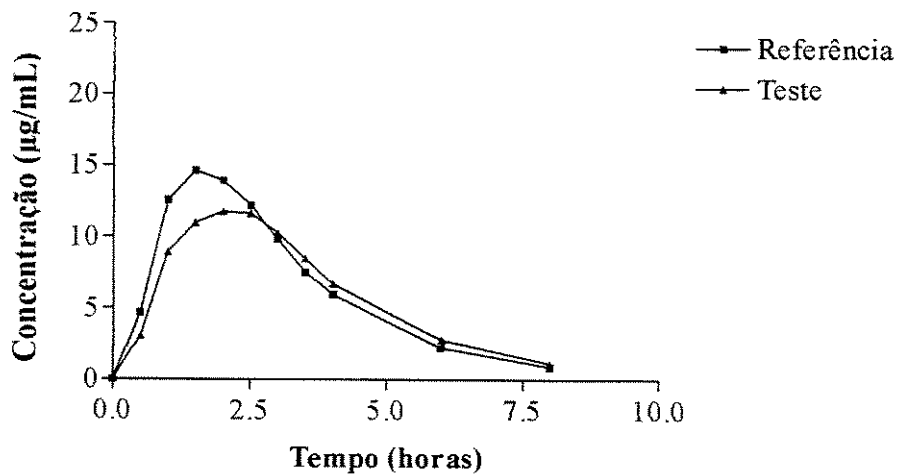


Figura 4: Médias das concentrações dosadas dos fármacos teste e referência x o tempo de coleta.

3. ETAPA ESTATÍSTICA

Os dados analisados foram de um estudo aberto, aleatorizado, cruzado, em dois períodos e duas seqüências. Os dados eram provenientes de um processo validado e calibrado.

3.2. PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS

Tabela 24: Parâmetros farmacocinéticos relacionados ao produto de referência

Vol	ASC ₀₋₇	ASC ₀₋₂₀	Relação	C _{Máx}	T _{Máx}	Kel	T _{1/2}
1	51.11	53.99	94.65	12.94	1.50	0.4153	1.6690
2	68.54	72.85	94.09	18.47	2.50	0.4389	1.5794
3	41.45	42.71	97.03	13.80	2.00	0.5290	1.3103
4	32.06	33.20	96.56	10.61	1.50	0.4817	1.4390
5	62.36	64.35	96.90	17.59	2.50	0.5118	1.3544
6	70.47	77.14	91.36	17.23	3.50	0.4397	1.5764
7	65.38	70.32	92.98	21.60	2.00	0.4051	1.7110
8	32.89	33.85	97.17	10.54	2.50	0.5747	1.2062
9	37.54	39.11	95.98	11.61	2.50	0.5025	1.3793
10	40.86	42.57	95.99	11.32	1.50	0.4689	1.4781
11	35.77	36.77	97.28	13.70	1.00	0.4997	1.3870
12	31.35	32.24	97.23	10.69	2.00	0.4591	1.5097
13	31.26	32.31	96.72	10.76	1.50	0.5000	1.3862
14	43.75	46.31	94.46	11.90	2.00	0.4287	1.6169
15	47.02	48.36	97.23	14.55	1.00	0.5008	1.3840
16	57.54	61.08	94.21	15.94	3.00	0.4692	1.4774
17	43.94	45.55	96.46	15.92	1.00	0.4710	1.4717
18	45.52	46.84	97.18	14.07	2.50	0.5522	1.2552
20	47.72	48.77	97.83	15.59	1.00	0.5285	1.3115
21	67.82	71.10	95.38	20.79	3.00	0.5174	1.3397
22	55.69	57.40	97.01	16.17	2.00	0.5239	1.3230
23	54.11	62.69	86.32	13.49	4.00	0.5004	1.3853
24	42.67	43.44	98.23	13.85	1.50	0.5455	1.2706
25	49.73	50.41	98.65	19.56	1.50	0.6149	1.1273
26	32.73	33.96	96.38	9.37	3.00	0.5444	1.2732

Tabela 25: Parâmetros farmacocinéticos relacionados ao produto teste:

Vol/Par	ASC_{0-t}	$ASC_{0-\infty}$	Relação	$C_{Máx}$	$T_{Máx}$	Kel	$T_{1/2}$
1	57.79	60.17	96.04	19.87	1.50	0.4497	1.5415
2	77.21	82.83	93.21	21.99	1.50	0.3859	1.7961
3	48.08	49.47	97.19	16.46	2.00	0.5248	1.3207
4	34.02	35.67	95.38	11.11	1.50	0.4426	1.5661
5	58.79	60.29	97.52	18.79	1.50	0.5340	1.2980
6	65.83	70.40	93.50	17.79	3.00	0.4525	1.5317
7	63.45	66.24	95.79	21.71	1.00	0.4379	1.5831
8	34.86	35.50	98.21	12.06	1.50	0.5651	1.2267
9	35.79	36.74	97.42	11.19	2.00	0.5696	1.2170
10	40.80	42.54	95.93	13.21	1.50	0.4616	1.5015
11	38.08	39.13	97.33	15.55	1.00	0.4971	1.3943
12	29.50	30.87	95.55	9.63	1.50	0.4372	1.5856
13	33.18	34.81	95.31	8.89	2.50	0.4651	1.4905
14	46.63	48.70	95.75	14.76	1.50	0.4054	1.7098
15	45.78	47.14	97.11	17.79	1.00	0.4844	1.4311
16	65.10	68.72	94.74	19.05	2.50	0.4479	1.5475
17	52.46	54.21	96.77	15.25	1.00	0.4628	1.4979
18	40.25	41.91	96.05	11.01	2.50	0.5138	1.3490
20	55.09	56.43	97.61	18.17	1.50	0.5125	1.3525
21	64.18	66.36	96.72	23.13	1.50	0.5007	1.3843
22	54.97	56.11	97.96	19.35	1.00	0.5253	1.3194
23	72.27	73.74	98.01	23.39	2.50	0.5988	1.1575
24	55.35	57.41	96.41	15.97	2.00	0.4947	1.4012
25	51.87	52.71	98.41	22.32	1.50	0.5977	1.1596
26	38.45	39.19	98.11	12.33	1.50	0.5395	1.2849

Tabela 26: Média dos parâmetros farmacocinéticos obtidos de 25 voluntários após a administração de *Cefadroxil – cápsula de 500mg*.

Parâmetros	Formulação Referência		Formulação Teste	
	Média	DP	Média	DP
AUC_{0-t}	47.57	12.45	50.39	13.23
$AUC_{0-\infty}$	49.89	13.84	52.29	14.04
C_{max}	14.48	3.37	16.43	4.41
T_{max}	2.00	3.00	1.50	2.00
Kel	0.50	0.05	0.49	0.06
$T_{1/2}$	1.39	0.58	1.40	0.64

Tabela 27: Média geométrica das taxas de AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$ e a de C_{max} individuais (formulação teste/referencia) e seus respectivos intervalos de confiança (IC).

Cefadroxil/Cefamox®	Análise estatística	
	Média geométrica com 90% de IC	
AUC_{0-t} %	105.58	102.17 – 109.10
$AUC_{0-\infty}$ %	104.74	101.55 – 108.02
C_{max} %	112.08	105.59 – 118.97

DISCUSSÃO

O Cefadroxil é um antibiótico da classe das cefalosporinas de primeira geração, administrado oralmente e comercializado no Brasil sob a forma de suspensão oral e cápsulas por diferentes fabricantes (P.R.Vade-mécum, 2004-2005). Neste estudo, foram analisadas duas formulações apresentadas sob a forma de cápsulas, contendo 500mg de *Cefadroxil*, com a finalidade de demonstração da biodisponibilidade relativa (bioequivalência) de um produto-teste produzido pela indústria farmacêutica Apotex do Brasil LTDA com relação a um produto de referência produzido pela indústria farmacêutica Bristol-Myers Squibb.

Ambos os lotes dos medicamentos testados foram inicialmente submetidos a testes físico-químicos (tabela 10) preconizados pela Farmacopéia Americana (United States Pharmacopeia, 1999), com a finalidade de verificar se estas amostras atendiam a especificações. Estes testes, realizados *in vitro*, possibilitam a obtenção de importantes informações a respeito do comportamento dos produtos, podendo comparar formulações em desenvolvimento, ou mesmo especialidades farmacêuticas já comercializadas, visando a demonstração de sua eficácia e segurança. Desta forma, os produtos teste (lote nº GE 7720) e referência (lote nº144429) podem ser considerados, segundo a FDA (Food and Drug Administration) como equivalentes farmacêuticos, por conterem o mesmo fármaco, a mesma dosagem e forma farmacêutica. Além disso, todos os testes realizados *in vitro*, demonstrados no item *resultados*, apresentaram-se adequados às normas. No entanto, este fato não garante a bioequivalência, não podendo ser intercambiáveis apenas com estes testes.

Para a avaliação da bioequivalência de ambas as formulações para, empregou-se um estudo do tipo quantitativo direto, com delineamento aberto, aleatorizado, cruzado, em dois períodos e duas seqüências (*crossover 2x2*) para cada formulação estudada. Este tipo de desenho permite administrar a todos os voluntários os dois produtos (teste e referência), em duas fases distintas. Este delineamento é comum na maioria dos estudos de bioequivalência, pois outros tipos, como por exemplo, o *crossover 2x3*, podem encarecer o medicamento genérico, não trazendo benefícios à população (MARZO, 1999).

O estudo de bioequivalência iniciou-se após o recrutamento de 35 voluntários, dos quais 26 (13 sexo masculino e 13 sexo feminino) foram incluídos no estudo após serem avaliados com exames clínicos e laboratoriais. Antes da primeira internação, houve “drop out” (abandono) do voluntário nº 19 (sexo feminino). Outro estudo realizado por OLIVEIRA et al (2000) utilizou 24 voluntários (12 do sexo feminino e 12 do sexo masculino), e seus parâmetros farmacocinéticos estavam entre 80-125% do intervalo proposto pela FDA (Food and Drug Administration). Portanto, um número um pouco menor de voluntários não interfere na *Etapa estatística*.

De acordo com os “critérios de inclusão” descritos no *Protocolo Clínico*, os voluntários devem: ser homens e mulheres não grávidas e que não estejam amamentando; com idade entre 18 a 50 anos de idade; ter índice de massa corpórea maior do que 19 e menor do que 30; ter boas condições de saúde ou sem doenças significativas, a juízo de um profissional legalmente habilitado; capaz de compreender a natureza e objetivo do estudo, inclusive os riscos e efeitos adversos e com intenção de cooperar com o pesquisador e agir de acordo com os requerimentos de todo o ensaio, o que vem a ser confirmado mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Este estudo seguiu as recomendações exigidas pelas GCP (Good Clinical Practice – Boas Práticas Clínicas) e GRP (Good Recruitment Practice – Boas Práticas de Recrutamento), além das Resoluções n.196 de 10 de outubro de 1996 e n.251 de 07 de agosto de 1999, as quais exigem a assinatura do TCLE, por causa da variedade de riscos que foram descritos em testes utilizando drogas (SUGARMAN, 2002 e DAINESE, 2004). Este termo foi formulado com linguagem clara e não coerciva, para que os voluntários estivessem cientes de tais riscos a que estariam se submetendo.

Na internação, houve um desvio de protocolo, onde os voluntários nº 08 e 10 sofreram atraso de 30 segundos no primeiro tempo de coleta. Dos voluntários participantes, 04(quatro) apresentaram eventos adversos. Geralmente, as cefalosporinas são bem toleradas, não ocorrendo eventos adversos graves De acordo com a descrição da literatura, supõe-se que a queixa clínica de cefaléia não esteja relacionada à droga, pois as contra-indicações descritas correlacionam-se com manifestações gastrointestinais e hipersensibilidade à droga. (MARSHAL e BLAIR, 1999). Sendo assim, das queixas clínicas como a cefaléia, provavelmente, pode não estar relacionadas à droga, mas a queixa do voluntário n.18, pode ter correlação com a droga. Além disso, essas queixas clínicas por parte dos voluntários, não apresentaram nenhuma implicação na coleta das amostras e no resultado final do estudo clínico. Portanto, o estudo transcorreu sem nenhum evento adverso sério.

As amostras de sangue para a determinação de *Cefadroxil* foram colhidas previamente à administração e até 8 horas após, em intervalos pré-determinados (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 6,0 e 8,0 horas). O total de 550 amostras foram submetidas à quantificação. OLIVEIRA et al (2000) utilizou tempos de coleta diferentes (0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 e 12,0 horas) totalizando 672 amostras. Após a coleta, as amostras foram processadas e armazenadas de acordo com a descrição da metodologia. As diferenças nos tempos de coleta não influenciaram na demonstração final da bioequivalência, pois está provado que em tempos menores pode-se obter intervalos de confiança confiáveis.

A bioequivalência foi avaliada quantificando-se o fármaco em plasma, através de uma metodologia analítica desenvolvida e validada, a fim de garantir a qualidade e a confiabilidade dos resultados deste estudo. As concentrações plasmáticas foram determinadas através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a um Detector UV - Visível (HPLC-UV-VIS). Este método foi escolhido por apresentar características adequadas a análise de amostras de origem biológica seja em relação à especificidade, precisão ou exatidão. Por se tratar de uma técnica rápida, específica e que permite a determinação simultânea de diferentes fármacos e seus metabólitos, sua utilização tem se mostrado vantajosa em relação a outros métodos (BOMPADRE, 1998). Estudos recentes realizados por ESHRA et al, 1993 e OLIVEIRA et al, 2000 descrevem a quantificação do fármaco por espectrometria de massa. Entretanto, apesar

da alta especificidade e sensibilidade, esta técnica tem como desvantagem seu elevado custo, o que limita sua utilização pelos laboratórios analíticos. As Figuras 4 e 5 representam os cromatogramas do plasma branco e o tempo de 1,0 hs de coleta de um dos voluntários, respectivamente. Avaliando os tempos de retenção (5,063 minutos para o Cefadroxil e 6,846 minutos para o Acetaminofeno), pode-se concluir que a espectrometria de massa influencia apenas na rapidez da análise, sendo o método utilizado neste estudo eficaz na dosagem do Cefadroxil.

De acordo com a descrição da metodologia, as amostras provenientes de matrizes biológicas necessitaram de um pré-tratamento ou purificação para serem injetados no sistema cromatográfico. Utilizou-se um tratamento comum que incluiu a precipitação de proteínas. A extração do *Cefadroxil* foi feita com acetonitrila, pois a extração com solventes orgânicos é limitada devido ao seu caráter polar e anfotérico (MCARTEER, 1987 e LINDGREN, 1987).

O método utilizado para a dosagem do *Cefadroxil* foi validado de acordo com a resolução RE n. 899/03. Segundo essa resolução a validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto, deve apresentar os seguintes parâmetros: especificidade, curva de calibração, linearidade, limite de quantificação, precisão e exatidão, recuperação e estabilidade, adequados à análise.

Segundo BRESSOLLE *et al.* (1996) os termos seletividade e especificidade intercambiáveis. Especificidade é uma habilidade de distinguir o analito dos demais compostos endógenos. A seletividade inclui a habilidade de separar o analito a partir dos produtos de degradação, metabólitos e drogas co-administradas. O método desenvolvido demonstrou-se específico para cefadroxil e acetaminofeno (PI), obtendo-se boa separação destes entre si e dos componentes do plasma.

A curva de calibração é necessária para que se use um número suficiente de padrões para definir adequadamente a relação entre a concentração e a resposta. A curva de calibração deve ser construída usando pelo menos de 5 a 8 valores (excluindo os valores dos brancos)

aproximados das concentrações esperadas. Cada padrão é preparado adicionando um volume apropriado de solução estoque; este volume deve ser sempre menor que, ou equivalente a, 2% do total do volume das amostras (BRESSOLLE *et al.*, 1996). A tabela 16 demonstrou os valores de concentração de cefadroxil determinados para as amostras de plasma padrão da curva de calibração com seus respectivos valores nominais e desvios percentuais. O nível sérico máximo é alcançado em torno de 1,5 hora, atingindo cerca de 16 µg/ml, caindo progressivamente, mas mantendo níveis superiores a 1 µg/ml após sete horas e 0,02 µg/ml na décima hora. (MARSHALL e BLAIR, 1999; TAVARES, 1996).

A linearidade do método foi representada mostrando que a inclinação da curva de calibração linear é estatisticamente diferente de 0, que o intercepto não é estatisticamente diferente de zero e que o coeficiente de regressão linear não é estatisticamente diferente de 1. Se um intercepto não-zero é obtido, ela deve demonstrar que ali está o não efeito da acurácia do método (BRESSOLLE *et al.*, 1996). O método mostrou-se linear entre as concentrações de 0,3 a 30 µg/ml. A tabela 17 apresentou os parâmetros relativos à média de 6 curvas de calibração

O limite de quantificação do método foi de 0,3 µg/ml, com precisão de 4,43% e exatidão de 92,43%. O estudo realizado por OLIVEIRA *et al.*, 2000, que dosou o mesmo medicamento em 26 voluntários sadios por Cromatografia Líquida de Fase Reversa, acoplada a um Espectrômetro de Massa (LC-MS-MS), obteve um limite de quantificação de 0,05 µg/ml. Outro estudo realizado por LINDGREN, 1987, quantificou o *Cefadroxil* pelo mesmo método deste estudo, mas em matriz biológica diferente, obteve um limite de quantificação de 1,0 µg/ml. Estas diferenças podem ser devidas a mudanças de métodos e matrizes biológicas, as quais devem ser levadas em consideração para comparação e análise das diferenças entre as metodologias analíticas.

De acordo com BRESSOLLE *et al.* (1996), a precisão e exatidão inter e intra-dias do LOQ deve ser determinada utilizando cinco amostras de QC, de um simples *pool* de matrix, independente dos padrões. A precisão de um método analítico é a medida de um erro aleatório e é definido com o acordo entre as medidas das replicatas de algumas amostras. Ela é expressa através da porcentagem do coeficiente de variação (%CV) ou com o desvio do padrão relativo

das medidas das replicatas (CAUSON, 1997). A média dos valores deve estar dentro dos limites pré-definidos, normalmente dentro de $\pm 20\%$ do valor nominal da concentração, com um coeficiente de variação $\leq 20\%$.

O LOQ serve para mostrar a concentração mais baixa da curva de calibração. A exatidão de um método analítico é uma medida do erro sistemático ou sua inclinação e é definida como o acordo entre o valor medido e o valor verdadeiro. Desde que as amostras reais com valores verdadeiros não são conhecidas, uma aproximação é obtida baseada no valor da concentração nominal da matriz sem a droga.

A exatidão de um método analítico é então determinada de cada concentração pela avaliação de acordo entre o valor da concentração nominal dos analitos nas amostras de matriz sem a droga (CAUSON, 1997). A precisão variou entre 3,45 e 5,89% para amostras analisadas no mesmo dia (intra-dia) e entre 11,61 e 12,79% para amostras analisadas em dias diferentes (inter-dias). A exatidão variou entre 90,61 e 93,94% e 97,64 e 107,66% para análises intra e inter-dias respectivamente.

A recuperação média da extração foi de 63,7% para cefadroxil e 107,34% para acetaminofeno, com precisão e exatidão dentro dos limites especificados. A recuperação deve ser documentada durante toda a extensão da curva-padrão. A recuperação absoluta é avaliada a partir da quantificação das amostras extraídas das três concentrações dos controles de (QC) e comparadas com as respostas obtidas com as soluções de padrão puro que não foram submetidos a um pré-tratamento; é expressa em porcentagem. Os valores encontrados apresentaram-se adequados para o cefadroxil, mas um pouco acima da média para acetaminofeno, sendo que para os ensaios de bioequivalência e biodisponibilidade popõe-se 50 a 90% de recuperação, no entanto os valores apresentaram-se precisos e exatos, não sendo este valor levado em consideração (BRESSOLLE *et al.*, 1996).

Segundo CAUSON (1997), os dados de estabilidade são requeridos para mostrar que a concentração do analito numa amostra durante o tempo das análises correspondem a concentração do analito no tempo da experimentação. A estabilidade de um analito na solução

de estoque, na matriz biológica e nas amostras processadas (extratos) deve ser estável. A estabilidade do analito armazenado em solução de estoque para análise é melhor investigado durante a validação, com amostras para definir os dados de término preparados imediatamente antes da validação do método, armazenando-as a temperatura apropriada e analisando-as em ensaios separados após o intervalo de tempo apropriado, por exemplo de 15 a 30 dias. A estabilidade do analito na amostra biológica deve ser conduzida na temperatura, por exemplo ambiente ou a 4°C, em um leve nível que existirá após o término do período necessário para processar a remessa das amostras em estudo, e deve incluir o efeito de congelamento-desgelo, com um mínimo de três ciclos separados pelo menos em 12 horas. A estabilidade nos ciclos de congelamento e descongelamento, de curta duração, de longa duração e das soluções padrão nas amostras processadas foi bem avaliada após 24 e 48 horas. As amostras mantiveram-se estáveis quando mantidas a -20°C e analisadas após três ciclos de congelamento e descongelamento. A estabilidade de curta duração, representada pela estabilidade no tempo e condições de análise, foi determinada utilizando-se amostras de plasma de controle de qualidade submetidas ao mesmo tratamento que as amostras de plasma de voluntários a serem analisadas, ou seja, descongelamento natural à temperatura ambiente e preparação conforme método validado previamente descrito. Estas mesmas amostras foram utilizadas para avaliar a estabilidade durante o período de espera no injetor automático até a introdução da amostra no sistema cromatográfico, período correspondente a 24 horas (tabela). Foi avaliada também a estabilidade por 48 horas a temperatura ambiente. As amostras de plasma de controle de qualidade e amostras de plasma de voluntários que receberam cefadroxil mantiveram-se estáveis por pelo menos 28 dias, ou seja, de 10 de setembro de 2003 (data de preparo das amostras de plasma de controle de qualidade) a 8 de outubro de 2003 (data de análise após armazenamento de 28 dias) à temperatura de -20°C. A estabilidade das soluções estoque de padrão e padrão interno foi determinada pela análise diária das mesmas durante as corridas analíticas das amostras de plasma dos voluntários. A variabilidade apresentada foi 8,03% e 10,79% para as áreas de padrão e padrão interno, respectivamente. No Anexo II pode ser observado um gráfico representativo da avaliação de estabilidade das soluções-padrão de cefadroxil e acetaminofeno. A estabilidade foi avaliada no mínimo em duas concentrações, refletindo a concentração esperada dos analitos e amostras em estudo, representando as altas e baixas concentrações nas regiões da curva de calibração.

Tendo em vista os resultados apresentados, pode-se afirmar que o método apresentou boa especificidade, sensibilidade, linearidade, precisão e exatidão, permitindo sua utilização em ensaios de bioequivalência.

As curvas das médias de “concentração vs tempo” de ambas formulações de cefadroxil cápsulas (500 mg) apresentaram diferenças dentro dos limites aceitáveis pelos padrões exigidos pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e FDA (Food and Drug Administration).

Como o estudo foi conduzido em dois períodos e duas seqüências, foi necessário um período de “wash out” ou período de eliminação é definido como o intervalo de tempo suficientemente grande entre dois períodos de tratamento para que o efeito residual ou “carry-over” de uma formulação administrada num período de tratamento seja eliminado das unidades experimental para o próximo período. O “carry-over” ou efeito residual é o efeito da droga que persiste depois do fim do período da dosagem. Na *Etapa Estatística*, foi observada a existência de “carry over”, embora tenha sido realizado o “wash out” de 7½ vidas. O intervalo entre as internações foi de 7 dias, portanto não tendo qualquer importância analítica, uma vez que observou-se valores de concentrações obtidos para cada voluntário no tempo zero da segunda fase, foram zero. Portanto, o efeito residual não interferiu nos cálculos estatísticos.

Vinte e cinco voluntários foram inclusos na avaliação quanto a bioequivalência. As razões das médias (teste/referência) dos parâmetros farmacocinéticos correspondentes ao intervalo de confiança de 90% foram calculadas para determinar a bioequivalência.

Foram calculadas para cada formulação, na ordem, a concentração máxima atingida $C_{m\acute{a}x}$, a área sob a curva a partir da hora da administração do medicamento até a última amostra coletada ASC_{0-t} e a área sob a curva a partir da administração do medicamento e extrapolada ao infinito ASC_{0-inf} . O valor de $T_{1/2}$ não é levado em consideração para comparação da bioequivalência, porém também é analisado em comparação de resultados.

Os valores médios dos parâmetros farmacocinéticos das formulações de referência e teste, respectivamente, foram: ASC_{0-t} (47,57 $\mu\text{g/mL}$ e 50,39 $\mu\text{g/mL}$), ASC_{0-inf} (49,89 $\mu\text{g/mL}$ e 52,29 $\mu\text{g/mL}$), C_{max} (14,48 $\mu\text{g/mL}$ e 16,43 $\mu\text{g/mL}$), T_{max} (2,0 h e 1,5 h) e $T_{1/2}$ (1,39 h e 1,40h).

Os valores de C_{max} foram semelhantes aos relatados por WELLING et al (1985). Já os resultados de C_{max} e T_{max} revelaram-se acima da média comparando-os com os estudos conduzidos por MARINO et al (1982), onde os valores de C_{max} foram de 10,1 $\mu\text{g/mL}$, T_{max} de 1,1 horas.

Comparando com os estudos conduzidos por OLIVEIRA et al (2000), todos os parâmetros relataram-se abaixo das médias, menos com relação ao T_{max} .

A análise de variância (ANOVA) foi realizada para avaliar os efeitos dos períodos, grupos e produtos, indicando se existiu ou não qualquer um desses efeitos no estudo, entre dois grupos de indivíduos do ensaio e entre os dois produtos administrados para os valores dos parâmetros farmacocinéticos C_{max} , ASC_{0-t} e ASC_{0-inf} .

A observação do efeito do período não invalida o ensaio de bioequivalência, uma vez que a ANOVA verifica a igualdade dos produtos (tratamentos), independentemente da ocorrência dos mesmos. Espera-se que um ensaio bem elaborado e consistente não apresente diferenças estatisticamente significativas. Entretanto, se as mesmas forem detectadas, o ensaio deve ser considerado inválido e a causa deve ser investigada (ORMSBY, 1994).

O efeito da sequência relaciona-se com a ordem que as formulações foram administradas aos voluntários. Este parâmetro é considerado como um obstáculo e tem pouca importância na análise, uma vez que o efeito da sequência é geralmente causado por uma diferença entre os grupos de indivíduos, sendo assim, absorvido pela fonte de variação individual (ORMSBY, 1994).

O efeito do produto indica se existe ou não igualdade entre os produtos avaliados. A constatação do efeito não significa que as formulações avaliadas não sejam bioequivalentes. O

conceito de bioequivalência está definido dentro do intervalo de confiança de 90% (IC 90%), e sob este aspecto, mesmo havendo efeito do produto, as formulações estando dentro dos limites estabelecidos pelos órgãos reguladores serão considerados bioequivalentes. Sendo assim, se o efeito do produto for observado pela análise de variância, isso significa que os produtos não são iguais, mas não implica em que os mesmos não sejam clinicamente equivalentes. Segundo a Resolução RE n. 478/2002, dois medicamentos serão considerados bioequivalentes quando o IC 90% para razões de ASC_{0-t} (produto teste)/ ASC_{0-t} (produto referência) e $C_{máx}$ (produto teste)/ $C_{máx}$ (produto referência) entre as médias dos parâmetros farmacocinéticos dos produtos teste e referência estiverem compreendidos entre 80 e 125%.

A análise de variância (ANOVA) realizada para avaliação dos efeitos de período, sequência e produto, indicou ausência de qualquer um desses efeitos para as formulações, ou seja, não houve diferença significativa entre os produtos administrados para os valores dos parâmetros farmacocinéticos $C_{máx}$, ASC_{0-t} e ASC_{0-inf} .

A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), FDA (Food and Drug Administration) e EMEA (European for the Evaluation of Medicinal Products) aprovam evidências de bioequivalência em termos de biodisponibilidade relativa, definida por meio dos parâmetros $C_{máx}$, ASC_{0-t} e ASC_{0-inf} . A biodisponibilidade média relativa pode ser expressa como razão ou como diferença entre as médias dos parâmetros farmacocinéticos dos produtos teste e referência. Os órgãos oficiais consideram, atualmente, duas formulações bioequivalentes se o intervalo de confiança de 90% (IC 90%) da razão entre as médias dos parâmetros farmacocinéticos de teste e referência, determinada a partir das transformações logarítmicas dos valores dos referidos parâmetros, estiver compreendido entre 80 e 125% (BRASIL, 2002 e USA, 2001).

As médias geométricas dos parâmetros farmacocinéticos com os respectivos intervalos de confiança foram: $C_{máx}$ (112,08, 90% IC = 105.59 – 118.97); AUC_{0-t} (105,58; 90% IC = 102,17-109,10) e ASC_{0-inf} (104, 74, 90% IC = 101.55 – 108.02). Comparando com os resultados de OLIVEIRA et al (2000), os valores da AUC_{0-t} e ASC_{0-inf} (103,97, 90% IC =

98,14-110,16 e 104,08, 90% IC = 98,37-110,12) são semelhantes, mas o valor de $C_{\text{máx}}$ (95,23, 90% IC = 85,59-105,96) encontra-se abaixo da média.

Considerando que o intervalo de confiança de 90% para a razão entre as médias geométricas de ASC_{0-4} , $ASC_{0-\infty}$ e $C_{\text{máx}}$ está dentro dos intervalos estabelecidos pela RDC 135, de maio de 2003 – ANVISA, FDA (Food and Drug Administration) e EMEA (European for the Evaluation of Medicinal Products), caracterizando a semelhança entre a formulação de *Cefadroxil – cápsula de 500mg* (Apotex do Brasil Ltda) é bioequivalente à formulação do *Cefamox[®] cápsula de 500 mg* produzida pela Bristol-Myers Squibb, quanto á taxa de absorção.

CONCLUSÃO

Analisando os itens abaixo:

- A *Etapa Clínica* do Estudo de Bioequivalência referente ao *Cefadroxil – cápsulas (500mg)* em voluntários sadios teve início após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da FCM- Unicamp. Os voluntários foram selecionados e o protocolo de estudo foi cumprido de acordo com as Resoluções 196, de 10 de outubro de 1996 e 251, de 07 de agosto de 1997 do Ministério da saúde.
- O método utilizado para dosagem das formulações de *Cefadroxil – cápsula de 500 mg* no plasma de voluntários sadios foi a *Cromatografia Líquida de Alta Eficiência* (CLAE), por apresentar características adequadas a análise de amostras de origem biológica seja em relação a especificidade, precisão ou exatidão. Esta técnica possui ainda sensibilidade suficiente para estudos de farmacocinética, biodisponibilidade e bioequivalência. Tendo em vista os resultados apresentados incluídos no ANEXO II, referente a “validação do método”, pode-se afirmar que o método apresentou boa sensibilidade, linearidade, precisão e exatidão, permitindo sua utilização em ensaios de bioequivalência.
- Para as análises estatísticas foram utilizadas as curvas de “decaimento plasmático vs tempo” de ambas as formas farmacêuticas (teste e referência). A partir destas curvas foram calculados os parâmetros farmacocinéticos, através dos programas estatísticos SAS® e Excel, sendo estes validados e específicos para análises estatísticas referentes a estudos de bioequivalência.
- Todas as transformações logarítmicas dos parâmetros farmacocinéticos avaliados estavam entre 80 e 125% do limite de intervalo de confiança (IC) estabelecido pela FDA, ANVISA e EMEA.

Conclui-se que os produtos contendo *Cefadroxil cápsulas 500mg* produzido pela Apotex do Brasil LTDA (produto teste) é intercambiável ao *Cefamox® - cápsulas de 500mg*, produzido pela Bristol-Myers Squibb (produto referência).

BIBLIOGRAFIA

- BEZERRA, A. C. C., OLIVEIRA, C. F. Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade e Bioequivalência. Anais eletrônicos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília – DF:2002. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/inspecao/bioequivalencia/index.htm>> Acesso em: 20/04/2003.
- BLAIR, D. C., BARNES, R. W., WILDNER, E. L., MURRAY, W. J. Biological availability of oxytetracycline FCl capsules: a comparison of all manufacturing sources supplying the United States market. **J Am Med Assoc**, 215: 251-4, 1971.
- BOMPADRE, S., FERRANTE, L., LEONE. L. On-line solid phase extraction of cephalosporins. **J Cromatogr**, 812: 191-196, 1998.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 196, de 10 de outubro de 1996. Estabelece os requisitos para realização de pesquisa clínica de produtos para saúde utilizando seres humanos. **Diário Oficial da União**, Brasília, out. 1996.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 251, de 07 de agosto de 1997. Aprova normas de pesquisa envolvendo seres humanos para a área temática de pesquisa com novos fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos. **Diário Oficial da União**, Brasília, ago. 1997.
- BRASIL. Lei dos Genéricos. n.9787, de 10 de fevereiro de 1999. Altera a Lei n. 6360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá suas providências. Art. 3 inciso. XXI. **Anais eletrônicos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília – DF: 1999. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/legis/leis/9787.htm>> Acesso em 10 ago., 2003.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE n.478 de 19 de março de 2002. Guia para provas de bioequivalência de medicamentos genéricos. **Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, mar. 2002
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE n. 897, de 29 de maio de 2003. Guia para isenção e substituição de estudos de bioequivalência. **Diário Oficial da União**, Brasília, mai. 2003.

- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n. 135, de 29 de maio de 2003. Aprova Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos. **Diário Oficial da União**, Brasília, mai. 2003.
- BRESSOLLE, F.; BROMET-PETIT, M.; AUDRAN, M. Validation of liquid chromatographic and gas chromatographic methods —Applications to pharmacokinetics. **J Chromatogr B**, 686: 3-10, 1996.
- CAUSON, R. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis – Viewpoint and discussion. **J Chromatogr B**, 689: 175-180, 1997.
- CHOW, S.C., TSE, S.K. Outlier detection in bioavailability/bioequivalence studies. **Statist Med**, 9: 549-558, 1990.
- CHOW, S. C., SHAO, J., WANG, H. Individual bioequivalence testing under 2x3 designs. **Statist Med**, 24: 629-648, 2002.
- COLLINS, C. H. Introdução aos métodos cromatográficos. Campinas: Editora da Unicamp: 1997.
- CONSIGLIERI, V. °, STORPIRTIS, S., FERAZ, H. G. Aspectos farmacotécnicos relacionados à biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos. **Ver Bras Cienc Farm**, 21(1): 23-41, 2000.
- CURTIN, C. D.; et all; Efficacy of Cephalexin two vs. Three times daily vs. Cefadroxil once daily for Streptococcal tonsillopharyngitis. **Clinical Pediatrics**, 42 (6): 519-526, 2003.
- DAINESI, S. M. Como melhorar o recrutamento de pacientes em estudos clínicos? **Rev Assoc Med Brás**, São Paulo, v. 50, n. 3, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010442302004000300017&script=sci_arttext&tlng=pt>42302004000300017&script=sci_arttext&tlng=pt> Acesso em 12 ago., 2004.
- DRESSMAN, J. B., AMIDON, G.L., REPPAS, C., SHAH, V.P. Dissolution testing as a prognostic tool for a oral drug absorpt: immeriate release dosage forms. **Pharm Res**: 15(1): 11-22, 1998.
- EUROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICAL PRODUCTS. Evaluation of Medicines Human Use. Committee for Proprietary Medicinal Products. *Note for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence*. London: EMEA, 2000. 18p.

- ESHRA, A.G., HASSAN, E.M., EL-WALILY, A.F.M. HPLC method of analysis of cephadroxil and its application in bioavailability studies. **J Clin Pharm Ther**, 18 (5): 331-335, 1993.
- JENNINGS, M. B.; MCCARTY, J.M.; SCHEFFLER, N. M.; PUOPOLO, A. D.; ROTHERMELL, C. D. Comparison of Azithromycin and Cefadroxil for treatment of uncomplicated skin and skin structure infections; **Cutis**, 72: 240-244, 2003.
- JAWETZ, E. Penicilinas e Cefalosporinas. In: KATZUNG, B. G. **Farmacologia básica e clínica**, 6. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 524.
- LEITE, F. **Validação em Análise Química**. 4 ed., Campinas: Editora Átomo: 2002. 17-20.
- LINDGREN, K. Determination of cefadroxil in serum by high-performance liquid chromatography with cephradine as internal standard. **J Chromatogr**, 413: 347-350, 1987.
- LÖBENBERG, R., AMIDON, G.L. Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. **Eur J Pharm Biopharm**, 50: 3-12, 2000.
- MARINO, E., DOMINGUES, G. A., MURIEL, C. Influence of dosage form and administration route on the pharmacokinetic parameters of cefadroxil. **Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol**, 20: 73-77, 1982.
- MCATEER, J. A., HILTKE, M. F., SILBER, B. M., FAULKNER, R. D. Liquid-chromatographic determination of five orally active cephalosporins – cefixime, cefaclor, cefadroxil, and cephradine in human serum. **Clin Chem**: 33(10): 1788-1790, 1987.
- MANDEL, G. L., SANDE, M. A, Drogas Antimicrobianas. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; **Goodman & Gilman – As bases farmacológicas da terapêutica**. 9. ed., Rio de Janeiro: Mcgraw-Hill Interamericana Editores S.A., 1996. p
- MARSHALL, W. F., BLAIR, J. E., The Cefalosporins. **Mayo Clin Proc**, 74: 187-195, 1999.
- MARZO, A. Open questions on bioequivalence: some problems and some solutions. **Pharm Res**: 40(4): 357-368, 1999.
- MEREDITH, P. A. Generic drugs: therapeutic equivalence. **Drug Saf**, 15(4): 233-242, 1996.
- OLIVEIRA, C. H.; SALMON, J.; SUCUPIRA, M.; ILHA, J.; DE NUCCI, G.; Comparative Bioavailability of two Cefadroxil formulations in healthy human volunteers after a single-dose administration. **Biopharmaceutics & Drug Disposition**, 21: 243-247, 2000.

- OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I.; **Procedimentos básicos em microbiologia clínica**, São Paulo: Ed. Sarvier, 2000.
- ORMSBY, E. Statistical methods in bioequivalence. In: JACKSON, A. J.. *Generics and bioequivalence*. Boca Raton: CRC Press, 1994. 1-27p.
- PANCHANGNULA, R., THOMAS, N. S. Biopharmaceutics and pharmacokinetics in drug research. **Int J Pharm**, 201: 131-150, 2000.
- SHARGEL, L., YU, A.B.C. **Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics**. 3. ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1992. 626p.
- STORPIRTIS, S. MARCOLONGO, R., GASPAROTTO, F., VILANOVAA, C. A equivalência farmacêutica no contexto da intercambiabilidade entre medicamentos genéricos e de referência: bases técnicas e científicas, abril 2004, Brasília. **Anais eletrônicos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília: 2004. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos>>. Acesso em: 06 mai., 2004.
- SUGARMAN, J. Ethics in the Design and Conduct of Clinical Trials. **Epidemiol Rev**, 24 (1): 54-58, 2002.
- TAVARES, W. **Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfeciosos**. 2. ed., São Paulo: Ed. Atheneu, 1996.314-316p.
- UNITED STATES PHARMACOPEIA: **USP 24**. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 1999.
- UNITED STATES. National Archives and Records Service. Office of the Federal Register. **Code of Federal Regulations. Title 21: Food and Drug Administration. Part 320. Bioavailability and bioequivalence requirements, 2001**. 186-200 p.
- WELLING, P.G., SELEN, A., PEARSON, J.G., KWOK, F., ROGGE, M.C., IFAN, A., MARRERO, D., CRAIG, W.A., JOHNSON, C.A. A pharmacokinetic comparison of cephalexin and cefadroxil using HPLC assay procedures. **Biopharm Drug Dispos**, 6 (2): 147-157, 1985.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations**. 34 Report. Geneva: WHO, 1996. 44p.

ANEXO I

Tabela 28: Concentrações referentes ao *Voluntário 1*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	0.41	5.71
1.0	9.43	15.80
1.5	12.94	19.87
2.0	11.99	14.86
2.5	12.34	12.47
3.0	11.91	10.18
3.5	9.35	8.08
4.0	8.00	6.73
6.0	2.86	2.41
8.0	1.20	1.07

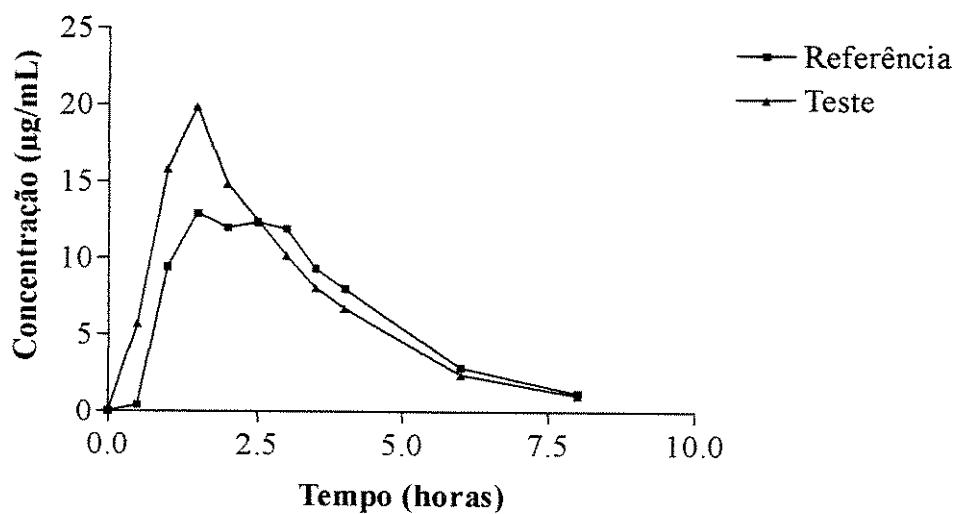
**Figura 5:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 1*.

Tabela 29: Concentrações referentes ao *Voluntário 2*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	2.32	1.64
1.0	9.19	17.44
1.5	14.11	21.99
2.0	18.12	20.16
2.5	18.47	19.30
3.0	15.70	14.91
3.5	13.81	11.30
4.0	10.41	10.36
6.0	3.89	4.36
8.0	1.89	2.17

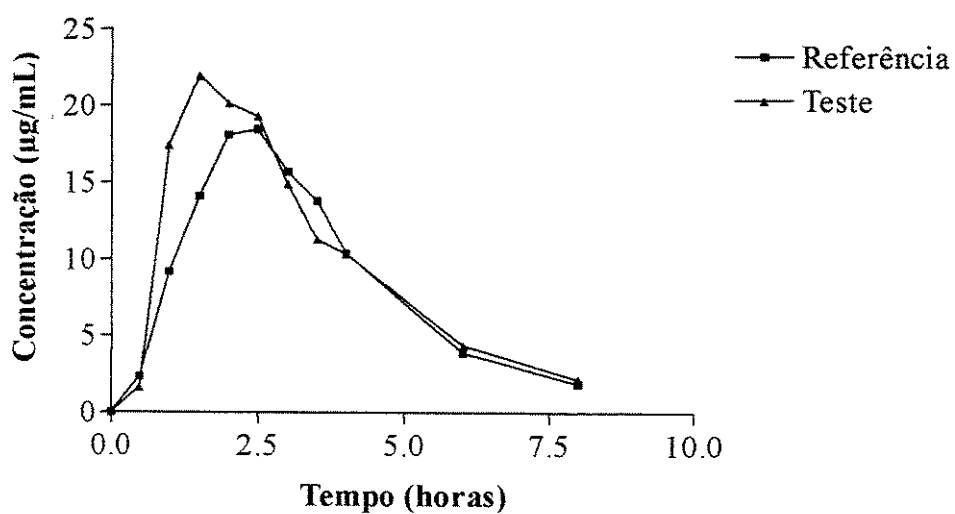
**Figura 6:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 2*.

Tabela 30: Concentrações referentes ao *Voluntário 3*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.00	0.00	0.00
0.50	1.80	4.58
1.00	7.56	9.30
1.50	10.95	13.23
2.00	13.80	16.46
2.50	11.92	13.00
3.00	9.64	9.34
3.50	6.85	7.35
4.00	4.83	5.66
6.00	1.74	1.82
8.00	0.67	0.73

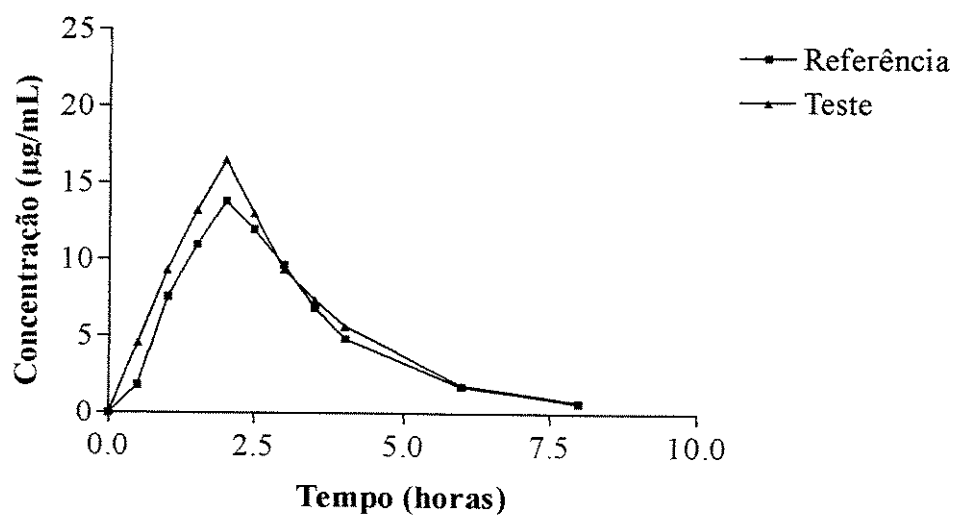
**Figura 7:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 3*.

Tabela 31: Concentrações referentes ao *Voluntário 4*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.00	0.00	0.00
0.50	1.35	0.54
1.00	6.98	7.76
1.50	10.61	11.11
2.00	10.04	11.02
2.50	7.98	8.57
3.00	6.28	6.86
3.50	4.73	4.73
4.00	3.60	3.42
6.00	1.51	1.86
8.00	0.55	0.73

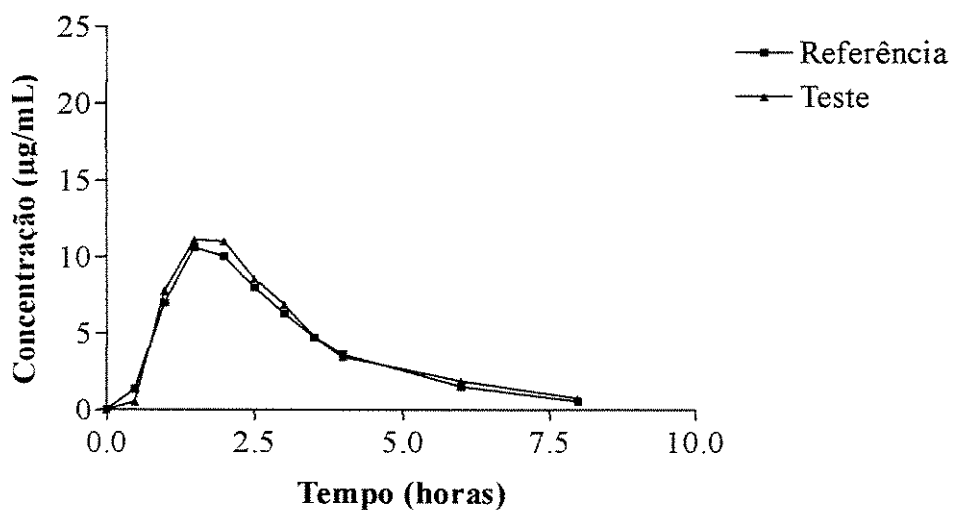
Figura 8: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 4*.

Tabela 32: Concentrações referentes ao *Voluntário 5*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	5.71	6.58
1.0	12.76	18.21
1.5	12.65	18.79
2.0	15.80	17.88
2.5	17.59	13.87
3.0	14.04	10.76
3.5	10.74	8.04
4.0	7.93	5.91
6.0	3.39	1.77
8.0	1.02	0.80

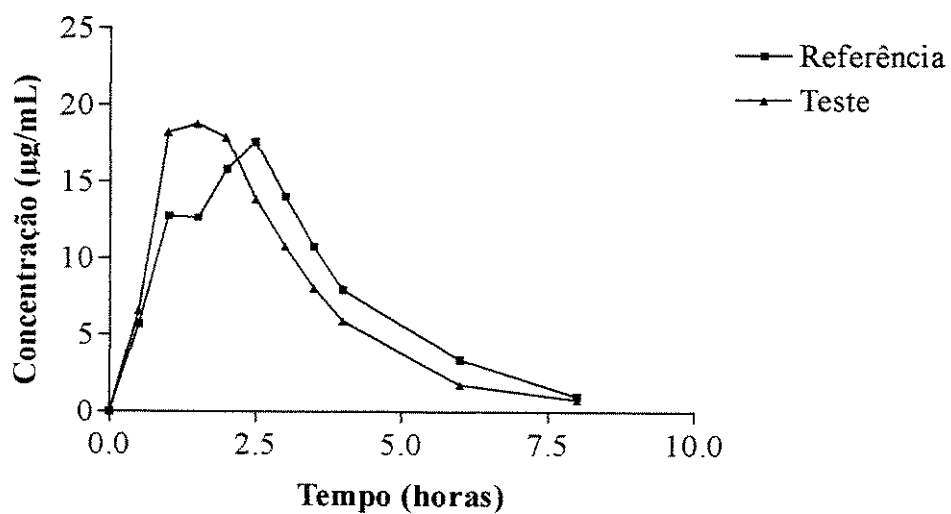
**Figura 9:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 5*.

Tabela 33: Concentrações referentes ao *Voluntário 6*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	0.30	1.31
1.0	3.20	3.84
1.5	5.09	6.16
2.0	8.09	12.88
2.5	13.22	16.30
3.0	15.83	17.79
3.5	17.23	15.36
4.0	17.01	13.28
6.0	7.40	5.17
8.0	2.93	2.07

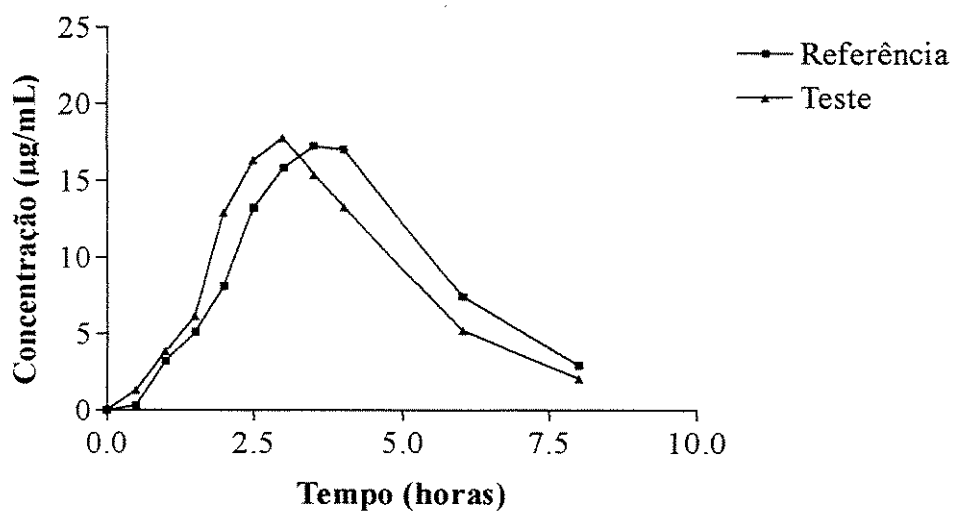
**Figura 10:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 6*.

Tabela 34: Concentrações referentes ao *Voluntário 7*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	0.77	12.28
1.0	7.65	21.71
1.5	17.86	20.75
2.0	21.60	16.32
2.5	16.28	12.81
3.0	14.95	8.92
3.5	11.26	7.43
4.0	9.15	5.68
6.0	3.38	2.51
8.0	2.00	1.22

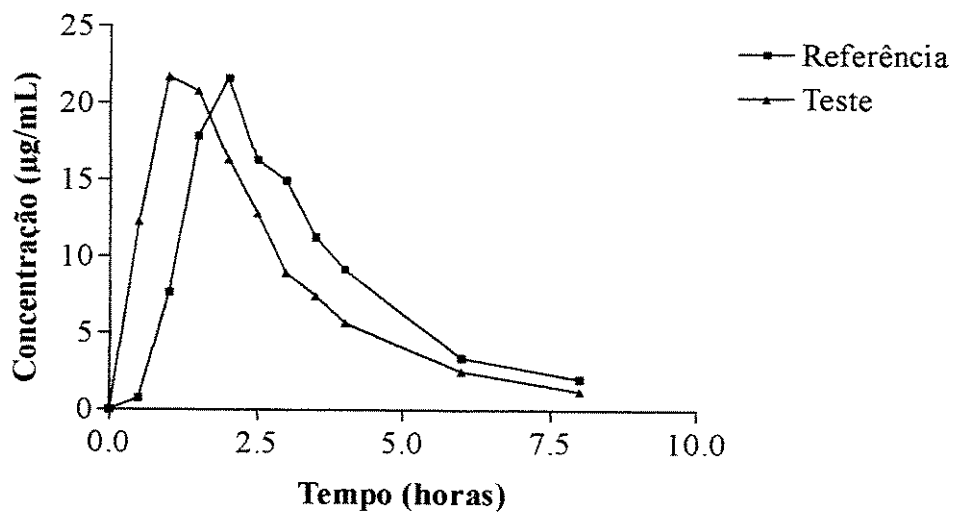
**Figura 11:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 7*.

Tabela 35: Concentrações referentes ao *Voluntário 8*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	0.80	8.94
1.0	2.34	11.37
1.5	5.19	12.06
2.0	9.95	10.04
2.5	10.54	7.04
3.0	9.52	5.72
3.5	7.04	3.85
4.0	5.29	2.68
6.0	1.55	0.82
8.0	0.55	0.36

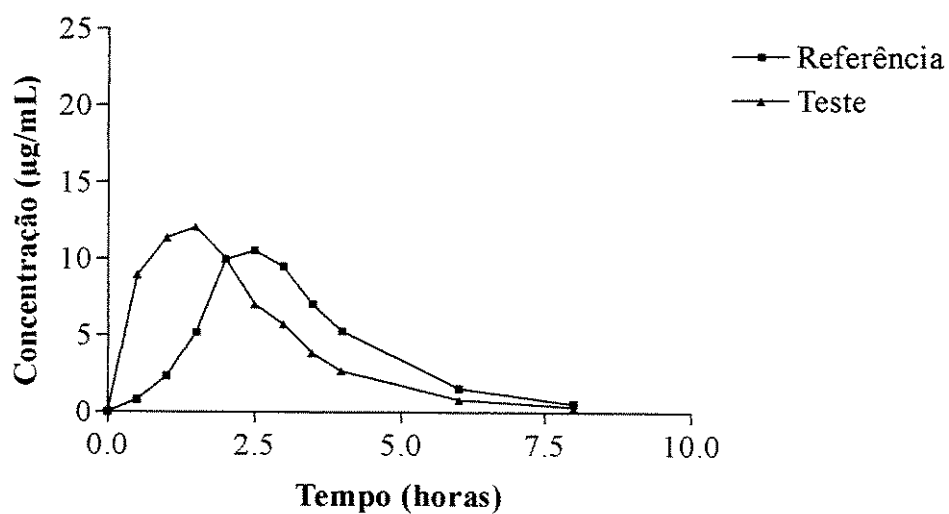
**Figura 12:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 8*.

Tabela 36: Concentrações referentes ao *Voluntário 9*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	0.90	1.11
1.0	5.16	5.00
1.5	8.52	7.04
2.0	10.36	11.19
2.5	11.61	10.83
3.0	9.60	9.70
3.5	7.28	6.62
4.0	5.16	5.33
6.0	1.79	1.42
8.0	0.79	0.54

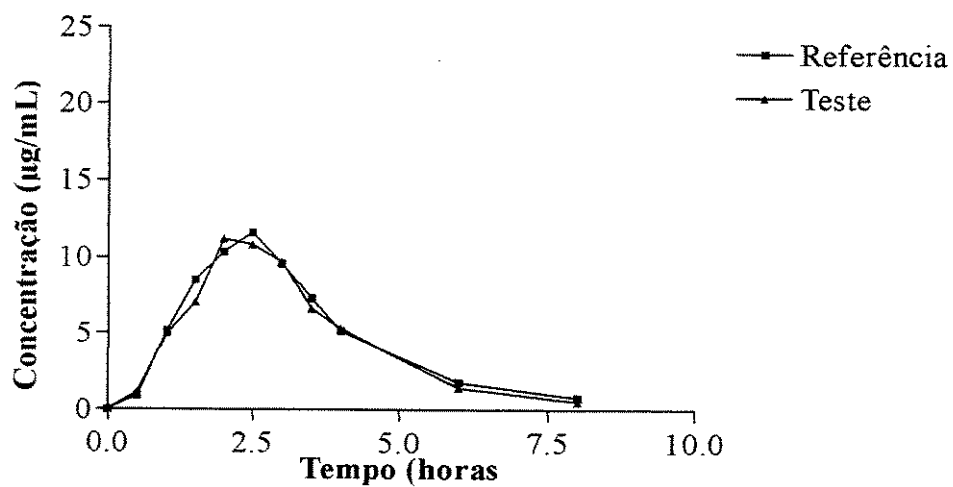
**Figura 13:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 9*.

Tabela 37: Concentrações referentes ao *Voluntário 10*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	0.57	5.90
1.0	7.32	12.08
1.5	11.32	13.21
2.0	10.79	13.13
2.5	11.30	9.11
3.0	9.80	6.90
3.5	7.38	4.64
4.0	5.52	3.84
6.0	1.96	1.51
8.0	0.80	0.80

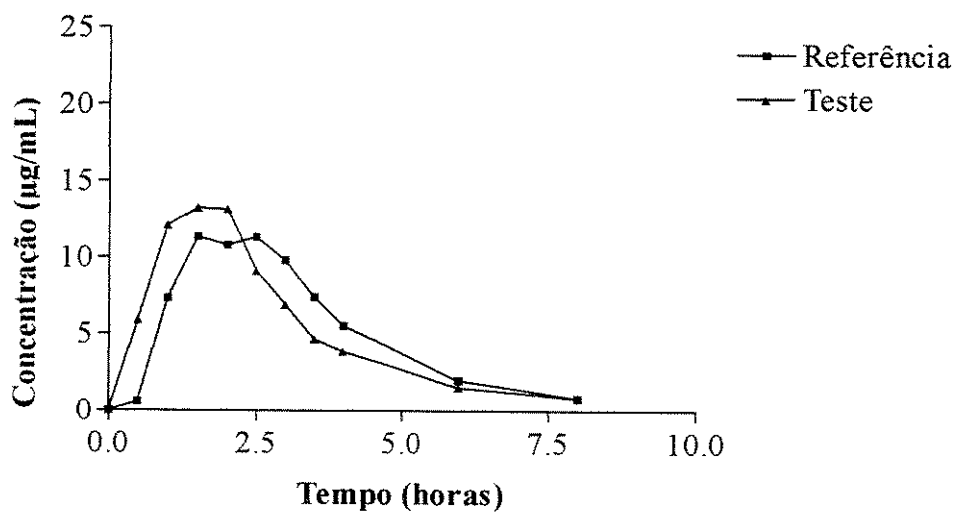
**Figura 14:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 10*.

Tabela 38: Concentrações referentes ao *Voluntário 11*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	7.52	6.51
1.0	13.70	15.55
1.5	12.68	13.68
2.0	9.92	10.28
2.5	7.09	6.28
3.0	4.63	5.73
3.5	3.39	4.40
4.0	2.88	3.11
6.0	1.10	1.23
8.0	0.50	0.52

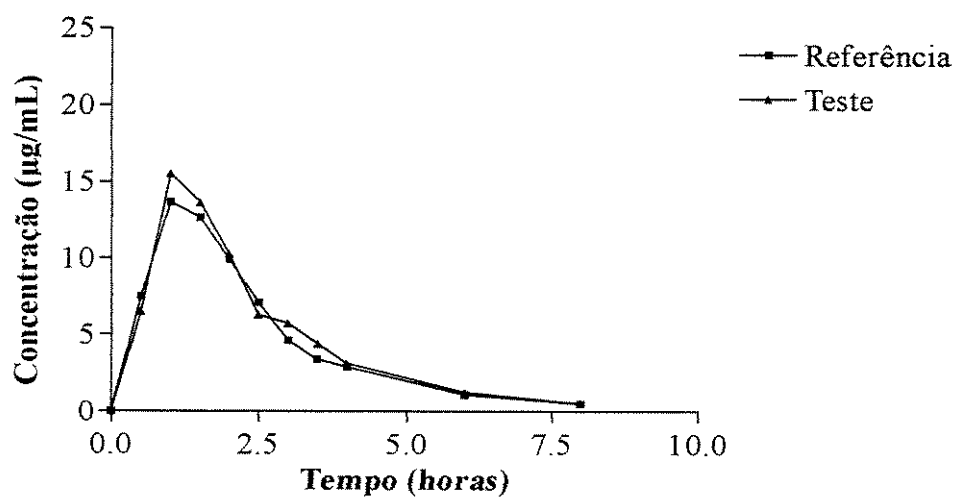
**Figura 15:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 11*.

Tabela 39: Concentrações referentes ao *Voluntário 12*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	7.83	3.36
1.0	9.92	9.17
1.5	9.25	9.63
2.0	10.69	7.70
2.5	5.17	6.87
3.0	4.43	4.74
3.5	3.38	3.95
4.0	2.61	3.00
6.0	1.17	1.22
8.0	0.41	0.60

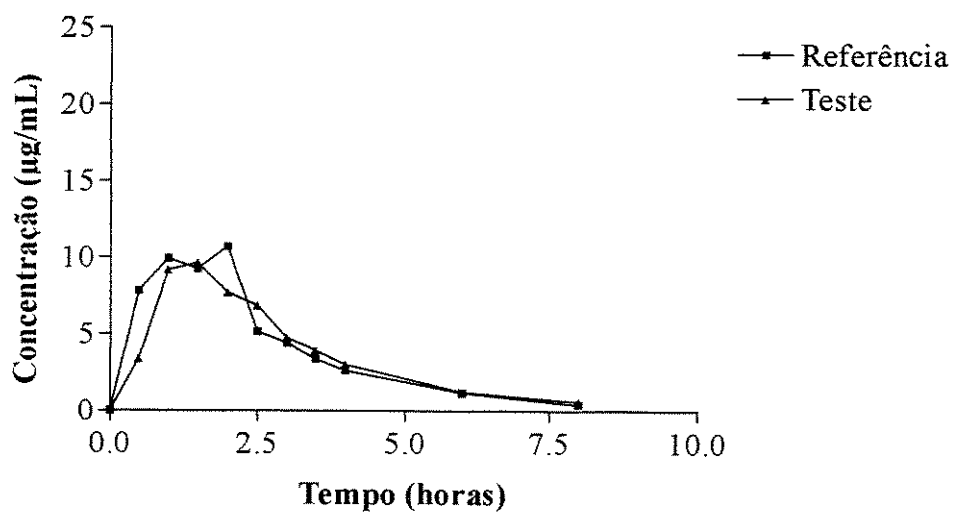
**Figura 16:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 12*.

Tabela 40: Concentrações referentes ao *Voluntário 13*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	1.33	0.76
1.0	8.93	7.35
1.5	10.76	7.54
2.0	9.32	8.54
2.5	8.32	8.89
3.0	5.76	7.09
3.5	5.01	5.90
4.0	3.00	4.98
6.0	1.13	1.58
8.0	0.53	0.76

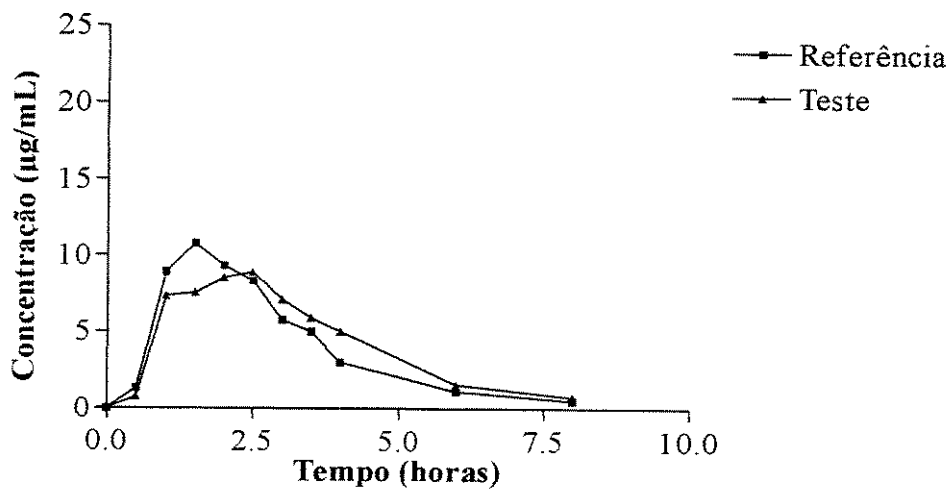
**Figura 17:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 13*.

Tabela 41: Concentrações referentes ao *Voluntário 14*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	4.16	6.47
1.0	11.26	13.36
1.5	11.07	14.76
2.0	11.90	10.94
2.5	11.49	9.37
3.0	9.66	7.17
3.5	6.38	5.94
4.0	4.39	4.72
6.0	2.10	2.94
8.0	1.10	0.84

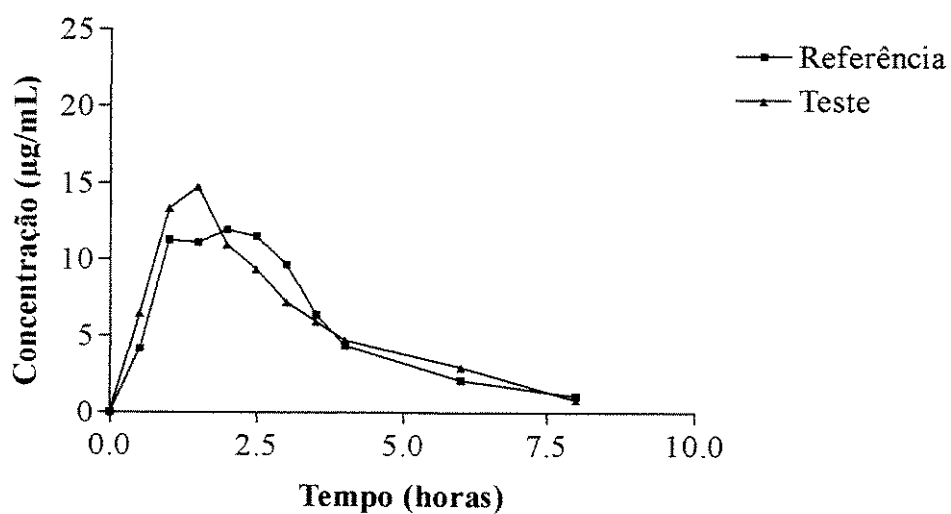
**Figura 18:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 14*.

Tabela 42: Concentrações referentes ao *Voluntário 15*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	5.52	7.87
1.0	14.55	17.79
1.5	14.16	14.54
2.0	14.21	12.80
2.5	11.35	8.85
3.0	8.72	7.13
3.5	6.13	5.60
4.0	4.60	3.62
6.0	1.64	1.65
8.0	0.67	0.66

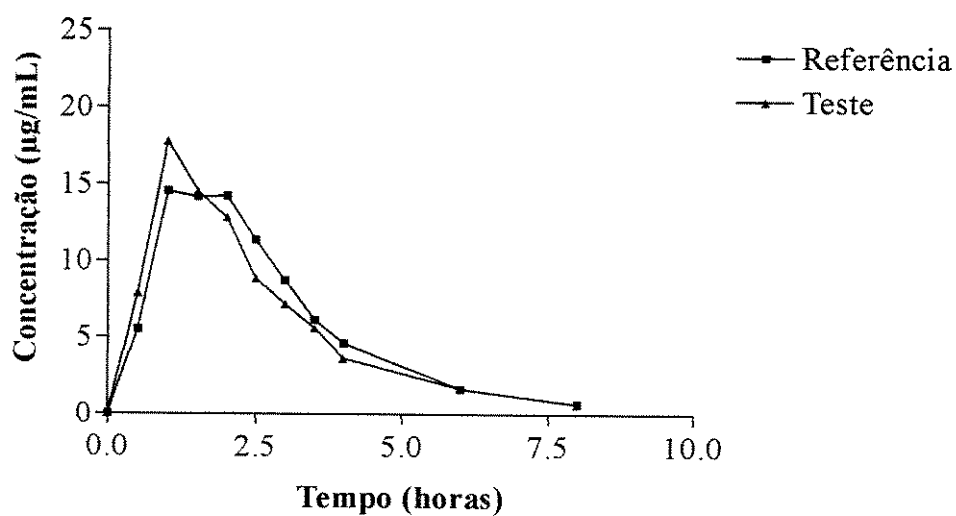
**Figura 19:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 15*.

Tabela 43: Concentrações referentes ao *Voluntário 16*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	0.84	1.56
1.0	6.19	11.39
1.5	8.47	13.84
2.0	8.71	17.79
2.5	15.03	19.05
3.0	15.94	15.81
3.5	14.02	11.13
4.0	10.40	8.91
6.0	4.14	3.53
8.0	1.66	1.62

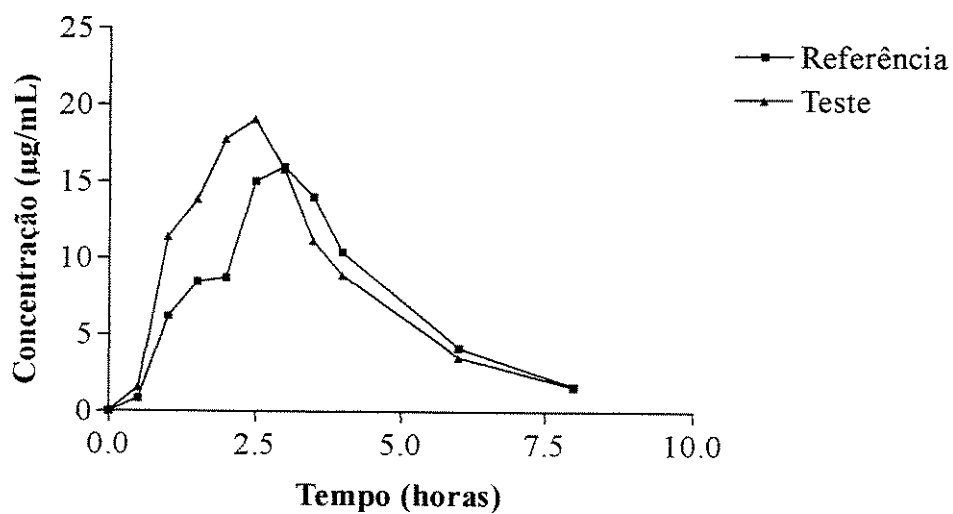
**Figura 20:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 16*.

Tabela 44: Concentrações referentes ao *Voluntário 17*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	3.82	4.40
1.0	15.92	15.25
1.5	13.85	14.54
2.0	12.75	13.20
2.5	9.37	12.50
3.0	7.59	9.76
3.5	6.39	7.72
4.0	4.17	6.88
6.0	1.56	2.18
8.0	0.76	0.81

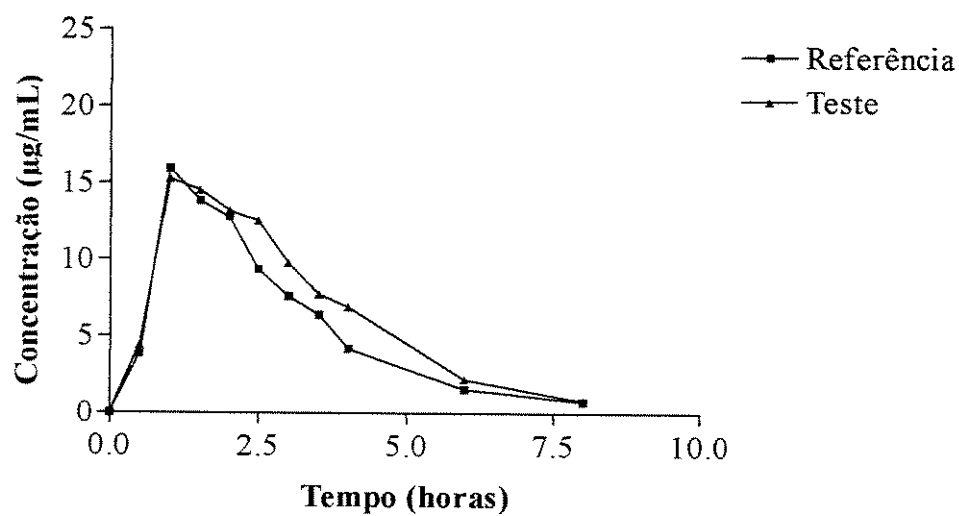
Figura 21: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 17*.

Tabela 45: Concentrações referentes ao *Voluntário 18*:

Tempo(horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	2.34	1.11
1.0	9.40	2.39
1.5	9.68	4.88
2.0	11.93	10.82
2.5	14.07	11.01
3.0	11.37	11.01
3.5	8.62	9.02
4.0	5.84	7.17
6.0	1.89	2.66
8.0	0.73	0.85

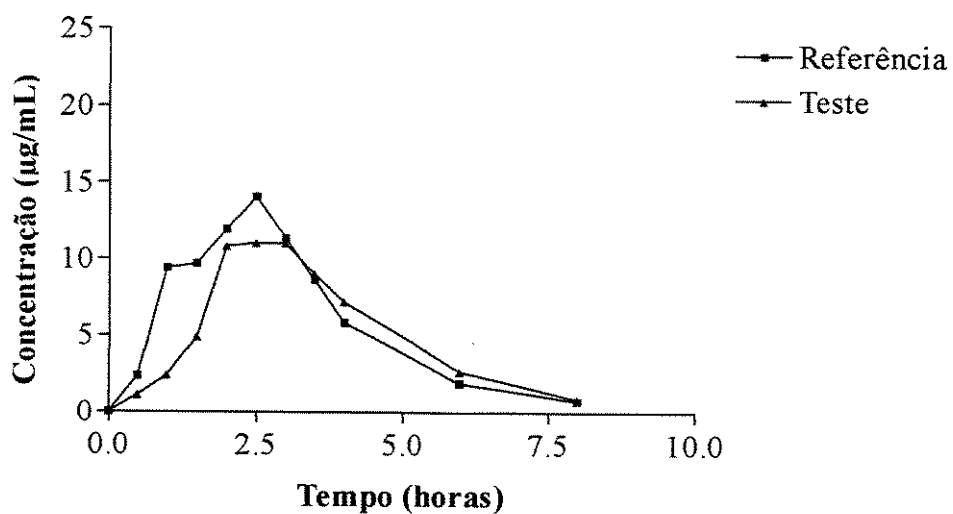
**Figura 22:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 18*.

Tabela 46: Concentrações referentes ao *Voluntário 20*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	7.33	7.49
1.0	15.59	18.15
1.5	14.95	18.17
2.0	14.57	13.66
2.5	10.83	10.95
3.0	8.05	8.78
3.5	5.83	7.91
4.0	4.40	6.69
6.0	1.54	1.74
8.0	0.56	0.69

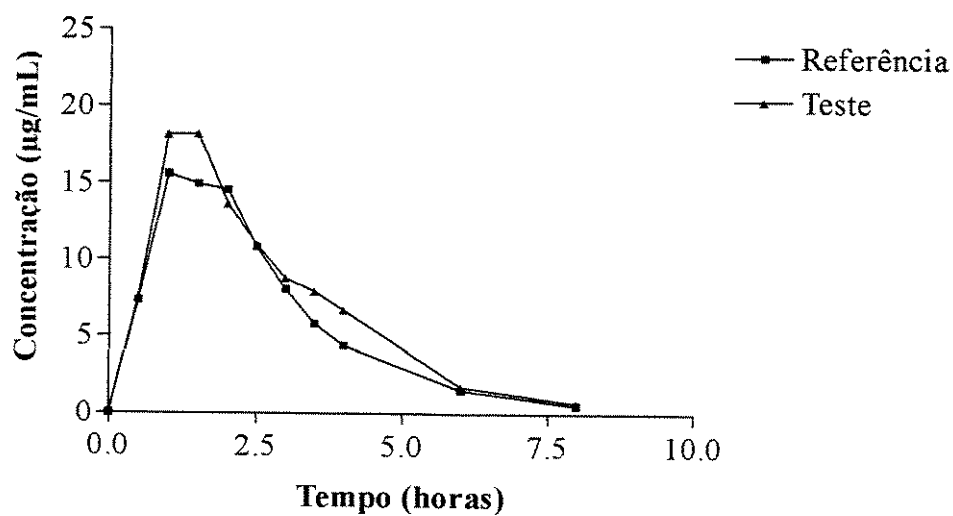
**Figura 23:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 20*.

Tabela 47: Concentrações referentes ao *Voluntário 21*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	0.53	1.38
1.0	5.75	14.11
1.5	8.89	23.13
2.0	9.15	21.16
2.5	19.43	16.98
3.0	20.79	12.73
3.5	17.67	9.51
4.0	12.84	6.68
6.0	4.48	2.62
8.0	1.70	1.09

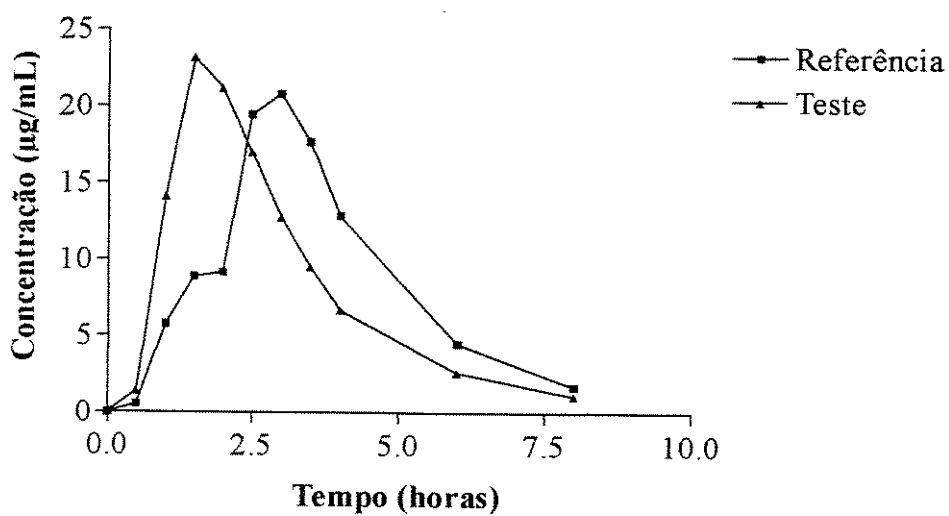
**Figura 24:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 21*.

Tabela 48: Concentrações referentes ao *Voluntário 22*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	3.86	12.90
1.0	11.32	19.35
1.5	12.55	18.37
2.0	16.17	14.95
2.5	15.59	10.58
3.0	12.13	8.34
3.5	9.71	5.28
4.0	7.36	4.77
6.0	2.46	1.76
8.0	0.90	0.60

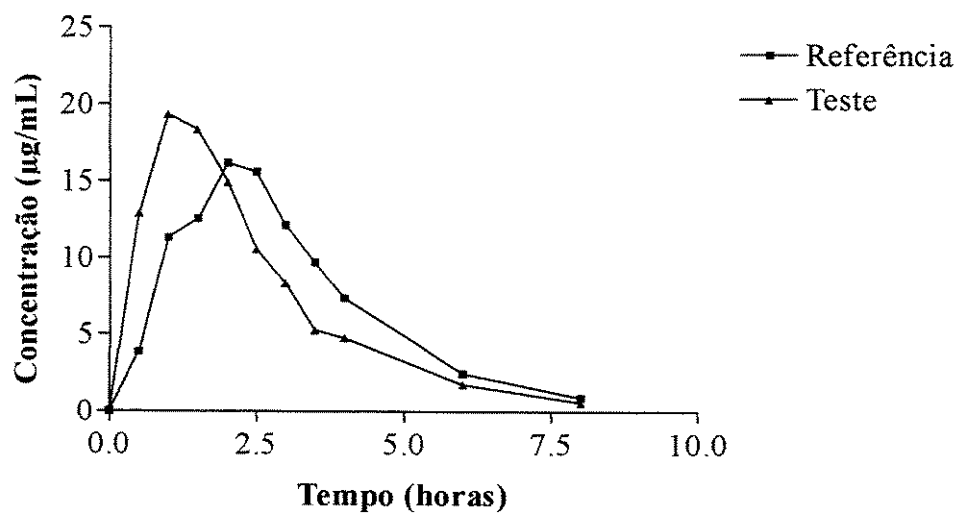
**Figura 25:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 22*.

Tabela 49: Concentrações referentes ao *Voluntário 23*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	0.29	4.53
1.0	0.97	16.26
1.5	0.81	17.59
2.0	0.61	18.13
2.5	0.75	23.39
3.0	5.27	16.99
3.5	10.54	12.56
4.0	13.49	9.27
6.0	11.67	2.54
8.0	4.29	0.88

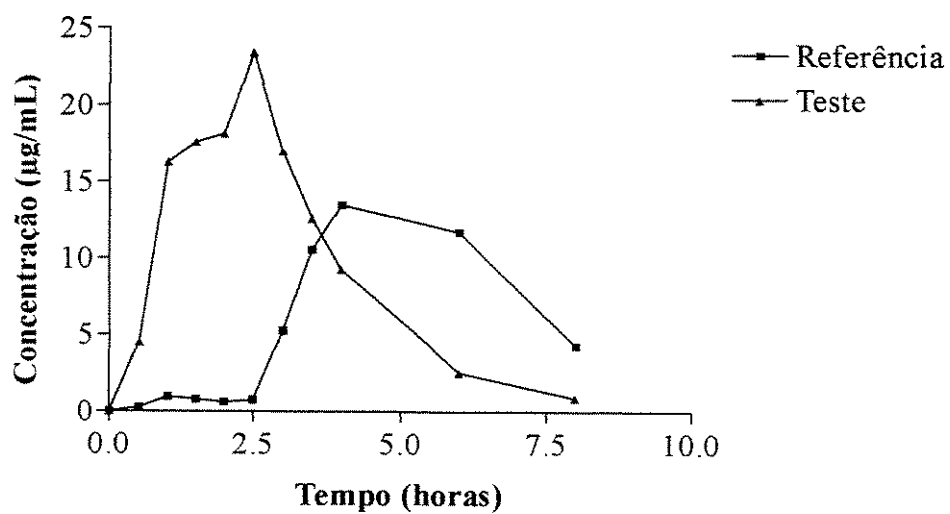
**Figura 26:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 23*.

Tabela 50: Concentrações referentes ao *Voluntário 24*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.00	0.00	0.00
0.50	10.34	1.30
1.00	13.36	9.86
1.50	13.85	15.70
2.00	11.18	15.97
2.50	8.87	14.66
3.00	7.18	12.50
3.50	4.99	9.79
4.00	3.62	7.26
6.00	1.42	2.68
8.00	0.42	1.02

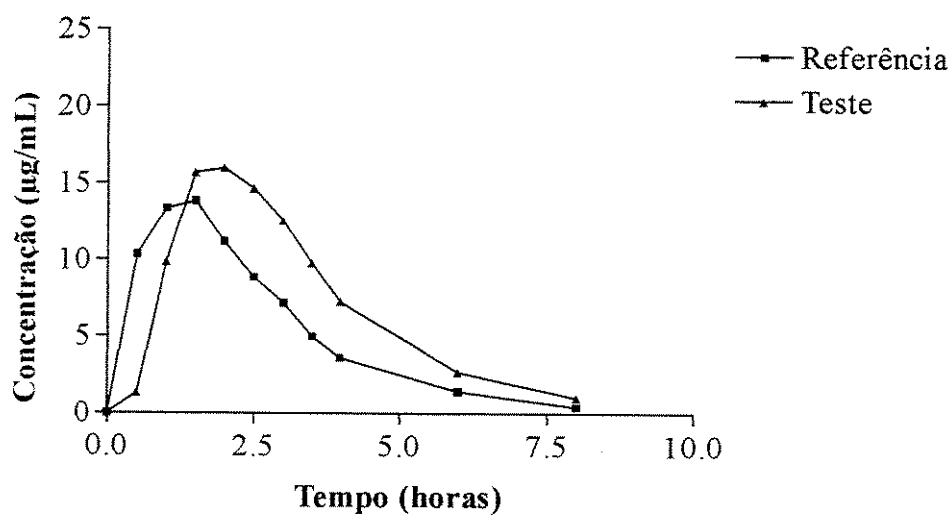
**Figura 27: Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 24*.**

Tabela 51: Concentrações referentes ao *Voluntário 25*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	5.50	1.47
1.0	12.88	9.46
1.5	19.56	22.32
2.0	16.54	17.39
2.5	13.28	14.25
3.0	8.93	10.25
3.5	6.10	7.62
4.0	4.06	5.24
6.0	1.42	1.72
8.0	0.42	0.50

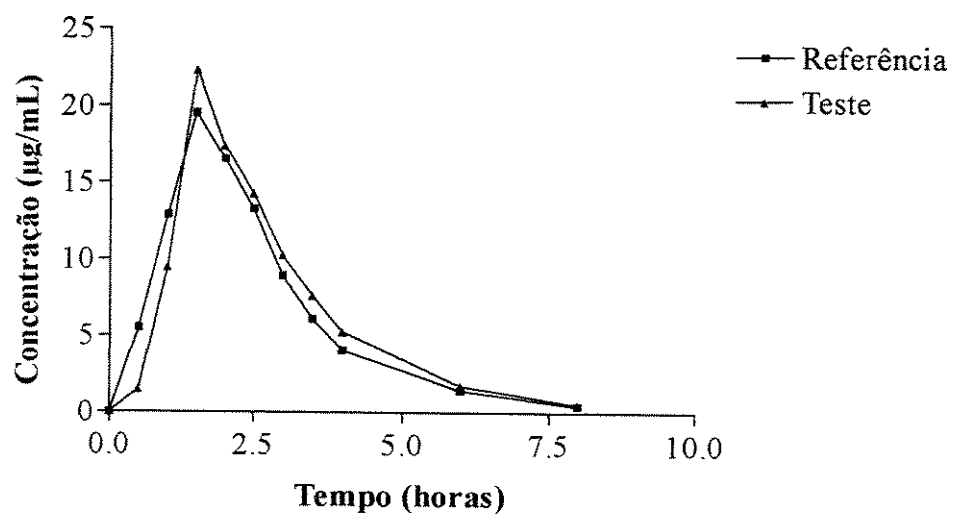
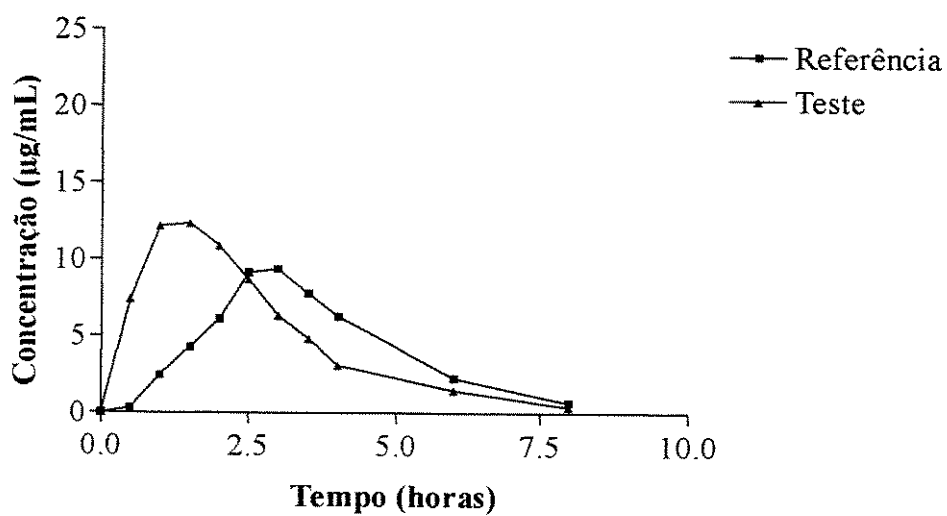
**Figura 28:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 25*.

Tabela 52: Concentrações referentes ao *Voluntário 26*:

Tempo (horas)	Referência	Teste
0.0	0.00	0.00
0.5	0.31	7.38
1.0	2.44	12.15
1.5	4.25	12.33
2.0	6.10	10.87
2.5	9.13	8.67
3.0	9.37	6.32
3.5	7.77	4.82
4.0	6.27	3.07
6.0	2.27	1.47
8.0	0.67	0.40

**Figura 29:** Gráfico da Concentração x Tempo referente ao *Voluntário 26*.

ANEXO II

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

☐ Caixa Postal 6111

13083-970 Campinas, SP

☎ (0__19) 3788-8936

fax (0__19) 3788-8925

☐ cep@head.fcm.unicamp.br

CEP, 12/09/03
(Grupo II)

PARECER PROJETO: Nº 417/2003**I-IDENTIFICAÇÃO:**

PROJETO: "ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA DE DUAS FORMULAÇÕES DE CEFADROXIL CÁPSULA DE 500 MG EM VOLUNTÁRIOS SADIOS DE AMBOS OS SEXOS, SENDO A FORMULAÇÃO TESTE PRODUZIDA PELA APOTEX DO BRASIL LTDA E A FORMULAÇÃO REFERÊNCIA (CEFAMOXL®) PELO LABORATÓRIO BRISTOL-MYERS SQUIBB"

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Eduardo Abib

INSTITUIÇÃO: Clínica São Lucas

APRESENTAÇÃO AO CEP: 12/09/2003

II - OBJETIVOS

Avaliar a biodisponibilidade relativa de dois produtos contendo cefadroxil.

III - SUMÁRIO

Trata-se de um estudo aberto, randomizado, cruzado, sendo 2 tratamentos, 2 períodos, nos qual os voluntários recebem os medicamentos teste e de referência. As formulações são administradas em dose única por via oral seguidos de coletas de sangue de pelo menos 3 meias vidas.

Serão selecionados 26 voluntários sadios (13 do sexo masculino e 13 do sexo feminino), com idade de 18 a 50 anos. Os voluntários efetuarão consulta médica para história médica, exame físico, e para exames cardiológicos e laboratoriais.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

O protocolo é bem estruturado. O termo de consentimento informa os objetivos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as obrigações dos voluntários, possíveis riscos, desconfortos. Assegura a confidencialidade dos dados obtidos, sigilo de identidade. Garante o esclarecimento de quaisquer dúvidas, a qualquer tempo, e a possibilidade de se retirar do estudo.

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 o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

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

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

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

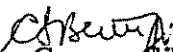
Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também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

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

VII - DATA DA REUNIÃO

Aprovado “ad referendum” em 12 de setembro de 2003.

A ser homologado na IX Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 16 de setembro de 2003.


Prof. Dra. Carmem Silvia Bertuzzo
 PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
 FCM / UNICAMP

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

Caixa Postal 6111
13083-970 Campinas, SP
☎ (0__19) 3788-8936
fax (0__19) 3788-8925
✉ cep@head.fcm.unicamp.br

CEP, 16/09/03
(PARECER PROJETO 417/03)

PARECER**I-IDENTIFICAÇÃO:**

PROJETO: “ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA DE DUAS FORMULAÇÕES DE CEFADROXIL CÁPSULA DE 500 MG EM VOLUNTÁRIOS SADIOS DE AMBOS OS SEXOS, SENDO A FORMULAÇÃO TESTE PRODUZIDA PELA APOTEX DO BRASIL LTDA E A FORMULAÇÃO REFERÊNCIA (CEFAMOX®) PELO LABORATÓRIO BRISTOL-MYERS SQUIBB”

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Eduardo Abib Júnior

II - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP tomou ciência e aprovou a Emenda que altera o horário de internação de 24 para 20 horas, referente ao protocolo de pesquisa supracitado.

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


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

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

☒ Caixa Postal 6111, 13083-970 Campinas, SP

☎ (0_19) 3788-8936

FAX (0_19) 3788-8925

🌐 www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

☒ cep@fcm.unicamp.br

CEP, 16/09/03
(Grupo II)

PARECER PROJETO: N° 417/2003

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA DE DUAS FORMULAÇÕES DE CEFADROXIL CÁPSULA DE 500 MG EM VOLUNTÁRIOS SADIOS DE AMBOS OS SEXOS, SENDO A FORMULAÇÃO TESTE PRODUZIDA PELA APOTEX DO BRASIL LTDA E A FORMULAÇÃO REFERÊNCIA (CEFAMOXL®) PELO LABORATÓRIO BRISTOL-MYERS SQUIBB”

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Eduardo Abib Jr

INSTITUIÇÃO: Clínica São Lucas

APRESENTAÇÃO AO CEP: 12/09/2003

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 16/03/04 e 16/09/04

II - OBJETIVOS

Avaliar a biodisponibilidade relativa de dois produtos contendo cefadroxil.

III - SUMÁRIO

Trata-se de um estudo aberto, randomizado, cruzado, sendo 2 tratamentos, 2 períodos, nos qual os voluntários recebem os medicamentos teste e de referência. As formulações são administradas em dose única por via oral seguidos de coletas de sangue de pelo menos 3 meias vidas.

Serão selecionados 26 voluntários sadios (13 do sexo masculino e 13 do sexo feminino), com idade de 18 a 50 anos. Os voluntários efetuarão consulta médica para história médica, exame físico, e para exames cardiológicos e laboratoriais.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

O protocolo é bem estruturado. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido informa os objetivos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as obrigações dos voluntários, possíveis riscos, desconfortos. Assegura a confidencialidade dos dados obtidos, sigilo de identidade. Garante o esclarecimento de quaisquer dúvidas, a qualquer tempo, e a possibilidade de se retirar do estudo.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após

atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

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

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

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

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

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

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

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

VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na IX Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 16 de setembro de 2003.


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

ANEXO III

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Especificidade

Página: 1 / 1

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Informações gerais da corrida analítica

Série: C:CLASS-VP\DATA\CEFADROXIL SYNCHROFAR\Validação\Linear_Espec_CD

Data de início da corrida analítica: 09/10/03

Data do fim da corrida analítica:

09/11/03

Horário de início da corrida analítica: 13:18

Horário do fim da corrida analítica:

11:10

Resumo da Metodologia:

Fármaco (padrão): cefadroxil

Padrão interno: Acetaminofeno

Matriz biológica: plasma

Volume da matriz biológica: 500 uL

Volume de padrão interno: 30 uL (sol. 100,0ug/mL)

Volume do solvente de purificação: 3 mL

Solvente de purificação: acetonitrila

Tempo de agitação : 1 minuto

Temperatura para secagem do solvente: 40°C

Condições cromatográficas:

Deteção: UV

Identificação do sistema cromatográfico: Shimadzu 1

Comprimento de onda: 230 nm

Fase móvel: Tampão fosfato 20mM: metanol (85:15)

Coluna: Shim-pack CLC-C18 (M) 15 cm

Temperatura do forno: 40°C

Fluxo: 0.8 mL/min

Volume de ressuspensão: 250 uL

Volume de injeção: 25uL

Resumo da metodologia: Analisar quatro amostras de plasma "branco", uma amostra lipêmica e uma hemolisada.
Arquivar os cromatogramas destas amostras no disquete como "figura".

Amostra	Resultado
"branco 1"	OK
"branco 2"	OK
"branco 3"	OK
"branco 4"	OK
lipêmico	OK
hemolisado	OK

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Limite de quantificação (LQ)

Página: 1 / 2

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Informações gerais da corrida analítica

Série: C:CLASS-VP\DATA\CEFADROXIL SYNCHROFAR\Validação\Linear_Espec_CD

Data de início da corrida analítica: 09/10/03

Data do fim da corrida analítica: 09/11/03

Horário de início da corrida analítica: 13:18

Horário do fim da corrida analítica: 11:10

Resumo da Metodologia:

Fármaco (padrão): cefadroxil

Padrão Interno: Acetaminofeno

Matriz biológica: plasma

Volume da matriz biológica: 500 µL

Volume de padrão Interno: 30 µL (sol. 100,0 µg/mL)

Volume do solvente de purificação: 3 mL

Solvente de purificação: acetonitrila

Tempo de agitação: 1 minuto

Temperatura para secagem do solvente: 40°C

Condições cromatográficas:

Deteção: UV

Identificação do sistema cromatográfico: Shimadzu 1

Comprimento de onda: 230 nm

Fase móvel: Tampão fosfato 20mM: metanol (85:15)

Coluna: Shim-pack CLC-C18 (M) 15 cm

Temperatura do forno: 40°C

Fluxo: 0.8 mL/min

Volume de ressuspensão: 250 µL

Volume de injeção: 25 µL

Resumo da metodologia: Analisar quatro amostras de plasma "branco", uma amostra lipêmica e uma hemolisada.

Arquivar os cromatogramas destas amostras no disquete como "figura".

Resumo da metodologia: Determinar a menor concentração quantificável com precisão e exatidão aceitáveis.

Analisar amostras de concentrações decrescentes (no mínimo três) e comparará-las com uma curva de calibração.

Cada concentração analisada deverá ser em réplicas de, no mínimo, cinco.

Disponer os dados em forma de tabela e determinar a precisão (CV%) das réplicas, e a exatidão por determinação da concentração real por interpolação dos valores da razão entre padrão/padrão interno na curva de calibração obtida no dia.

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Limite de quantificação (LQ)

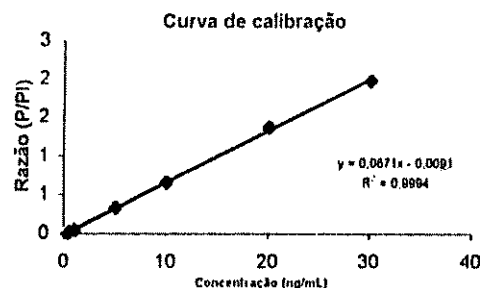
Página: 2 / 2

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Curva de calibração - último ponto de cada concentração da Linearidade

Área P	Área PI	Relação P/PI	Conc. Nominal	Conc. Determ.	Exatidão	Desvio
9144	1025645	0,01	0,3	0,27	89,40	-10,60
15511	1019053	0,02	0,4	0,36	90,54	-9,46
24205	1037235	0,02	0,5	0,48	96,62	-3,38
49604	957558	0,05	1,0	0,91	90,74	-9,26
321675	979985	0,33	5,0	5,03	100,55	0,55
631945	982529	0,66	10,0	9,92	99,21	-0,79
1351175	983326	1,37	20,0	20,61	103,07	3,07
2042516	1032602	1,98	30,0	29,62	98,72	-1,28



Inclinação = a = 0,067095404

Intercepto = b = -0,0091

0,2 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
4660	1014904	0,0046	0,20
0	1003755	0,0000	0,14
6779	998467	0,0068	0,24
4807	1028416	0,0047	0,21
4682	1023701	0,0046	0,20
0	1004128	0,0000	0,14
		Média	0,19
		DP	0,04
		CV (%)	22,34
		Exatidão	93,30

0,3 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
10132	1018405	0,0099	0,28
10913	988278	0,0110	0,30
9204	1054928	0,0087	0,27
9880	1041269	0,0095	0,28
9405	1030407	0,0091	0,27
9144	1025645	0,0089	0,27
		Média	0,28
		DP	0,01
		CV (%)	4,43
		Exatidão	92,43

0,4 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
14007	1052781	0,0133	0,33
15464	1052281	0,0147	0,35
14288	1026528	0,0139	0,34
15056	1063979	0,0142	0,35
14779	1061483	0,0139	0,34
15511	1019053	0,0152	0,36
		Média	0,35
		DP	0,01
		CV (%)	2,88
		Exatidão	86,75

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Recuperação

Página: 1 / 5

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários saudáveis de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Informações gerais da corrida analítica

Série: C:\CLASS-VP\DATA\CEFADROXIL SYNCHROFAR\Validação\Rec_CD2_Inter_Est24h_1

Data de início da corrida analítica: 09/11/03

Data do fim da corrida analítica:

09/12/03

Horário de início da corrida analítica: 19:24

Horário do fim da corrida analítica:

12:18

Resumo da Metodologia:

Fármaco (padrão): cefadroxil

Padrão interno: Acetaminofeno

Matriz biológica: plasma

Volume da matriz biológica: 500 uL

Volume de padrão interno: 30 uL (sol. 100,0ug/mL)

Volume do solvente de purificação: 3 mL

Solvente de purificação: acetonitrila

Tempo de agitação : 1 minuto

Temperatura para secagem do solvente: 40°C

Condições cromatográficas:

Deteção: UV

Identificação do sistema cromatográfico: Shimadzu 1

Comprimento de onda: 230 nm

Fase móvel: Tampão fosfato 20mM: metanol (85:15)

Coluna: Shim-pack CLC-C18 (M) 15 cm

Temperatura do forno: 40°C

Fluxo: 0.8 mL/min

Volume de ressuspensão: 250 uL

Volume de injeção: 25uL

Resumo do procedimento: avaliar recuperação estabelecendo-se relação entre a resposta de uma amostra extraída vs uma amostra não extraída.

Analisar amostras submetidas ao processo de extração com aquelas que não sofreram o processo mas foram adicionadas de padrão ao plasma branco submetido ao processo de extração.

Analisar amostras em três diferentes concentrações (amostras do controle de qualidade) em réplicas de cinco, no mínimo.

Não há necessidade de analisar uma curva de calibração.

OBS:

Amostra extraída: amostra que sofreu o processo de extração conforme metodologia. Corrigir o valor pelo volume exato tomado para secagem e determinar a porcentagem recuperada.

Plasma branco extraído+padrão: plasma branco que sofreu processo de extração conforme metodologia e foi adicionado de padrão e padrão interno ao final. Representa 100% de recuperação.

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Recuperação

Página: 2 / 5

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários saudáveis de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Recuperação para Controle de Qualidade Baixo

0,5 ug/mL

Volume total (mL) = 3,5
Volume para secagem (mL) = 2,4

Padrão

Tipo de Extração	Repl. 1	Repl. 2	Repl. 3	Repl. 4	Repl. 5	Média	Corrigido	D.P.	C.V. (%)
amostra extraída	1968014	2063328	1987479	2082823	2301824	2080693,60	3034344,83	132844,28	4,38
plasma branco extraído + padrão	4701798	4938300	4913388	5349625	5251702	5030962,60	5030962,60	265061,83	5,27

Recuperação (%) = (amostra extraída / plasma branco extraído + padrão) = 60,31

Padrão Interno

Tipo de Extração	Repl. 1	Repl. 2	Repl. 3	Repl. 4	Repl. 5	Média	Corrigido	D.P.	C.V. (%)
amostra extraída	891019	847329	846854	858122	870076	862680,00	1258075,00	18470,86	1,47
plasma branco extraído + PI	1174375	1154167	1176181	1187601	1167715	1172007,80	1172007,80	12276,90	1,05

Recuperação (%) = (amostra extraída / plasma branco extraído + padrão Interno) = 107,34

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Recuperação

Página: 3 / 5

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários saudáveis de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Recuperação para Controle de Qualidade Médio

15 ug/mL

Volume total (mL) = 3
Volume para secagem (mL) = 2,4

Padrão

Tipo de Extração	Repl. 1	Repl. 2	Repl. 3	Repl. 4	Repl. 5	Repl. 6	Média	Corrigido	D.P.	C.V. (%)
amostra extraída	688544	717310	723612	658107	687195	687199	693661,17	1011589,20	23791,49	2,35
plasma branco extraído + padrão	1633378	1640413	1704326	1562134	1595726	1693551	1639588,00	1639500,00	55031,73	3,36

Recuperação (%) = (amostra extraída / plasma branco extraído + padrão) = 61,70

Padrão Interno

Tipo de Extração	Repl. 1	Repl. 2	Repl. 3	Repl. 4	Repl. 5	Repl. 6	Média	Corrigido	D.P.	C.V. (%)
amostra extraída	834684	855951	866649	827353	873827	854460	852154,00	1242724,58	17999,16	1,45
plasma branco extraído + PI	1238431	1122748	1179984	1203119	1179997	1187693	1185328,67	1185328,67	37723,40	3,18

Recuperação (%) = (amostra extraída / plasma branco extraído + padrão Interno) = 104,84

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Recuperação

Página: 4 / 5

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários saudáveis de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Recuperação para Controle de Qualidade Alto

25 ug/mL

Volume total (mL) = 3,5
Volume para secagem (mL) = 2,4

Padrão

Tipo de Extração	Repl. 1	Repl. 2	Repl. 3	Repl. 4	Repl. 5	Repl. 6	Média	Corrigido	D.P.	C.V. (%)
amostra extraída	1468654	1751018	1549199	1682351	1623405	1630395	1617503,67	2358859,51	99049,50	4,20
plasma branco extraído + padrão	3598343	3403487	3323364	3370534	3434288	3470069	3433347,50	3433347,50	95400,65	2,78

Recuperação (%) = (amostra extraída / plasma branco extraído + padrão) = 68,70

Padrão Interno

Tipo de Extração	Repl. 1	Repl. 2	Repl. 3	Repl. 4	Repl. 5	Repl. 6	Média	Corrigido	D.P.	C.V. (%)
amostra extraída	848746	882049	865911	854419	883139	880358	869103,67	1267442,85	15043,27	1,19
plasma branco extraído + PI	1179041	1136304	1151691	1144780	1193691	1145764	1158545,17	1158545,17	22582,28	1,95

Recuperação (%) = (amostra extraída / plasma branco extraído + padrão Interno) = 109,40

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Recuperação

Página:5 / 5

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários saudáveis de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Recuperação Média

Médias	Padrão	PI
CQB	60,31	107,34
CQM	61,70	104,84
CQA	68,70	109,40
Média de recuperação (%)	63,57	107,20
Precisão da recuperação (CV%)	7,08	2,13
DP	4,50	2,28

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Linearidade (Curva de calibração)

Página: 1 / 3

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchronphar

Informações gerais da corrida analítica

Série: C:\CLASS-VP\DATA\CEFADROXIL SYNCHROFAR\Validação\Linear_Espec_CD

Data de início da corrida analítica: 09/10/03

Data do fim da corrida analítica: 09/11/03

Horário de início da corrida analítica: 13:18

Horário do fim da corrida analítica: 11:10

Resumo da Metodologia:

Fármaco (padrão): cefadroxil

Padrão interno: Acetaminofeno

Matriz biológica: plasma

Volume da matriz biológica: 500 uL

Volume de padrão interno: 30 uL (sol. 100,0ug/mL)

Volume do solvente de purificação: 3 mL

Solvente de purificação: acetonitrila

Tempo de agitação : 1 minuto

Temperatura para secagem do solvente: 40°C

Condições cromatográficas:

Deteção: UV

Identificação do sistema cromatográfico: Shimadzu 1

Comprimento de onda: 230 nm

Fase móvel: Tampão fosfato 20mM: metanol (85:15)

Coluna: Shim-pack CLC-C18 (M) 15 cm

Temperatura do forno: 40°C

Fluxo: 0.8 mL/min

Volume de ressuspensão: 250 uL

Volume de injeção: 25uL

Resumo do procedimento: avaliar a precisão (CV%) entre os pontos (de cinco a oito) da curva de calibração por análise de réplicas destes.

Analisar, no mesmo dia, no mínimo, cinco curvas de calibração. Não é preciso analisar amostras de controle de qualidade.

Disponibilizar em forma de tabela e determinar a precisão por comparação das réplicas.

Determinar os parâmetros relativos a Curva de Calibração Média obtida, para comprovar a Linearidade.

OBS: Concentração Nominal = Concentração Teórica

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Linearidade (Curva de calibração)

Página: 2 / 3

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

CC1 0,3 ug/mL			CC2 0,4 ug/mL			CC3 0,5 ug/mL			CC4 1 ug/mL		
Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI
10132	1018405	0,010	14007	1052781	0,013	22412	1009420	0,02220	49772	1015837	0,0490
10913	996278	0,011	15464	1052281	0,015	22744	974340	0,02334	48412	1030803	0,0470
9204	1054928	0,009	14288	1026528	0,014	20557	1013389	0,02029	50420	1007563	0,0500
9880	1041269	0,009	15056	1063979	0,014	21982	1030145	0,02134	49240	1016411	0,0484
9405	1030407	0,009	14779	1061483	0,014	25174	1023841	0,02459	46314	953471	0,0486
9144	1025845	0,009	15511	1019053	0,015	24205	1037235	0,02334	49604	957558	0,0518
	Média	0,01		Média	0,01		Média	0,02252		Média	0,0491
	DP	0,00		DP	0,00		DP	0,00		DP	0,00
	CV (%)	8,65		CV (%)	4,72		CV (%)	6,92		CV (%)	3,34
CC5 5 ug/mL			CC6 10 ug/mL			CC7 20 ug/mL			CC8 30 ug/mL		
Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI
307525	889592	0,354	640005	890328	0,719	1283345	957673	1,340	1990592	974113	2,0435
308457	913623	0,338	589817	920300	0,641	1369664	978896	1,399	1887444	981474	1,9231
301775	908984	0,333	818804	945258	0,655	1266063	921274	1,374	2010681	950674	2,1150
300676	902145	0,333	626004	952164	0,657	1334730	1011640	1,319	2139037	994428	2,1510
292948	871387	0,336	613035	905883	0,677	1331895	1030526	1,292	2000829	958215	2,0881
321875	979985	0,328	631945	962529	0,657	1351175	983326	1,374	2042516	1032602	1,9780
	Média	0,34		Média	0,67		Média	1,35		Média	2,0498
	DP	0,01		DP	0,03		DP	0,04		DP	0,09
	CV (%)	2,61		CV (%)	4,14		CV (%)	2,95		CV (%)	4,21

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Linearidade (Curva de calibração)

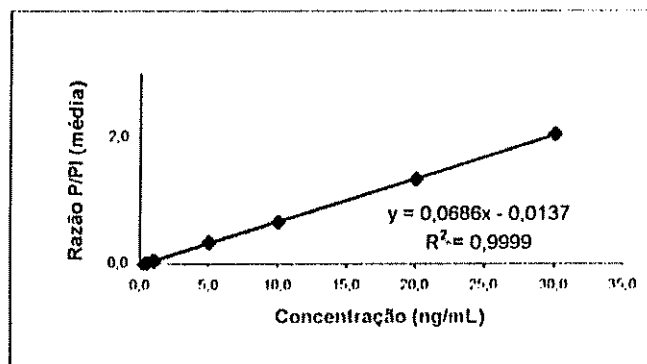
Página:3 / 3

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Curva Linearidade

Concentração Nominal	Média P/PI	Concentração Real	Exatidão	Desvio
0,3	0,01	0,34	112,87	12,87
0,4	0,01	0,41	101,69	1,69
0,5	0,023	0,53	105,60	5,60
1,0	0,05	0,92	91,61	-8,39
5,0	0,34	5,11	102,25	2,25
10,0	0,67	9,93	99,32	-0,68
20,0	1,35	19,88	99,41	-0,59
30,0	2,05	31,20	104,00	4,00



a= 0,06858807

b= -0,0136976

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA**Parâmetro a ser avaliado: Precisão e Exatidão Intra-dia****Página: 1 / 2**

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Informações gerais da corrida analítica

Série: C:\CLASS-VP\DATA\CEFADROXIL SYNCHROFAR\Validação\Linear_Espec_CD

Data de início da corrida analítica: 09/10/03

Data do fim da corrida analítica: 09/11/03

Horário de início da corrida analítica: 13:18

Horário do fim da corrida analítica: 11:10

Resumo da Metodologia:

Fármaco (padrão): cefadroxil

Padrão Interno: Acetaminofeno

Matriz biológica: plasma

Volume da matriz biológica: 500 uL

Volume de padrão interno: 30 uL (sol. 100,0ug/mL)

Volume do solvente de purificação: 3 mL

Solvente de purificação: acetonitrila

Tempo de agitação : 1 minuto

Temperatura para secagem do solvente: 40°C

Condições cromatográficas:

Deteção: UV

Identificação do sistema cromatográfico: Shimadzu 1

Comprimento de onda: 230 nm

Fase móvel: Tampão fosfato 20mM; metanol (85:15)

Coluna: Shim-pack CLC-C18 (M) 15 cm

Temperatura do forno: 40°C

Fluxo: 0.8 mL/min

Volume de ressuspensão: 250 uL

Volume de injeção: 25uL

Resumo do procedimento: avaliar a precisão (CV%) e exatidão do método por análise de amostras de controle de qualidade, em réplicas de, no mínimo, cinco de cada concentração.

Analisar, no mesmo dia, uma curva de calibração com, no mínimo, cinco pontos e as réplicas (cinco) dos controles de qualidade baixo, médio e alto. Dispor em forma de tabela e determinar a precisão (CV%) por comparação das réplicas, e a exatidão por determinação da concentração real por interpolação dos valores da razão entre padrão/padrão interno na curva de calibração obtida no dia.

OBS:
Concentração Nominal = Concentração Teórica
Concentração Real = Concentração Determinada por interpolação na curva de calibração

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Precisão e Exatidão Intra-dia

Página: 2 / 2

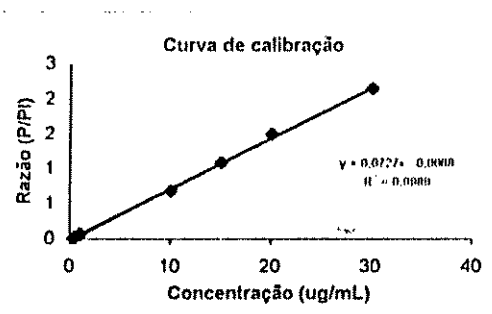
Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários saudáveis de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Curva de calibração: A mesma utilizada para o primeiro ciclo de congela descongela

Curva de calibração

Área P	Área PI	Relação P/PI	Conc. Nominal (ug/mL)	Conc. Determ. (ug/mL)	Exatidão	Desvio
12835	1175948	0,01	0,3	0,27	90,22	-9,78
39072	1229225	0,03	0,5	0,56	111,55	11,55
81702	1229984	0,07	1	1,03	103,42	3,42
829589	1215899	0,68	10	9,51	95,05	-4,95
1327034	1221312	1,09	15,0	15,07	100,44	0,44
1865656	1246496	1,50	20,0	20,71	103,54	3,54
2689950	1252641	2,15	30,0	29,66	98,86	-1,14



a = 0,072701268
b = -0,00876279

Concentração Nominal:

0,5 (ug/mL)

Concentração Nominal:

15 (ug/mL)

Concentração Nominal:

25 (ug/mL)

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real	Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real	Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
30915	1090430	0,03	0,51	1125402	1173055	0,96	13,32	1964597	1176410	1,67	23,09
27387	1123161	0,02	0,46	1151188	1157353	0,99	13,80	2130311	1147888	1,86	25,65
27513	1147180	0,02	0,45	1138473	1109264	1,03	14,24	1881547	1169521	1,61	22,25
27033	1158124	0,02	0,44	1148968	1197905	0,96	13,31	1916641	1148818	1,67	23,07
26561	1150585	0,02	0,44	1123893	1203153	0,93	12,97	1996164	1191397	1,68	23,17
27343	1156177	0,02	0,45	1197530	1194913	1,00	13,91	2042309	1192190	1,71	23,68
		Média	0,46			Média	13,59			Média	23,48
		DP	0,03			DP	0,47			DP	1,16
		CV (%)	5,89			CV (%)	3,45			CV (%)	4,92
		Exatidão	91,41			Exatidão	90,61			Exatidão	93,94

Parâmetro a ser avaliado: Precisão e Exatidão Inter-dias

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchronphar

Informações gerais da corrida analítica

Série:

Data de início da corrida analítica:

Horário de início da corrida analítica:

Data do fim da corrida analítica:

Horário do fim da corrida analítica:

Resumo da Metodologia:

Fármaco (padrão): cefadroxil

Padrão interno: Acetaminofeno

Matriz biológica: plasma

Volume da matriz biológica: 500 uL

Volume de padrão interno: 30 uL (sol. 100,0ug/mL)

Volume do solvente de purificação: 3 mL

Solvente de purificação: acetonitrila

Tempo de agitação: 1 minuto

Temperatura para secagem do solvente: 40°C

Condições cromatográficas:

Detecção: UV

Identificação do sistema cromatográfico: Shimadzu 1

Comprimento de onda: 230 nm

Fase móvel: Tampão fosfato 20mM: metanol (85:15)

Coluna: Shim-pack CLC-C18 (M) 15 cm

Temperatura do forno: 40°C

Fluxo: 0.8 mL/min

Volume de ressuspensão: 250 uL

Volume de injeção: 25uL

Resumo do procedimento: avaliar a precisão (CV%) e exatidão do método por análise de amostras de controle de qualidade, em réplicas de, no mínimo, três de cada concentração no mesmo dia. Este procedimento deverá ser repetido por, no mínimo, três dias.

Analisar, no mesmo dia, uma curva de calibração com, no mínimo, cinco pontos e as réplicas (três) dos controles de qualidade baixo, médio e alto. Repetir este procedimento por no mínimo três dias. (Recomendação: 5 dias, mas não necessariamente consecutivos). Dispor em forma de tabela e determinar a precisão por comparação das réplicas do dia, e a exatidão por determinação da concentração real por interpolação dos valores da razão entre padrão/padrão interno na curva de calibração obtida no dia. Agrupar todos os valores de Concentração Real e determinar a precisão (CV%) e exatidão média.

OBS:

Concentração Nominal = Concentração Teórica

Concentração Real = Concentração Determinada por interpolação na curva de calibração

Parâmetro a ser avaliado: Precisão e Exatidão Inter-dias

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Informações gerais da corrida analítica

Série: C:\CLASS-VP\DATA\CEFADROXIL SYNCHROFAR\Validação\Linear_Espec_CD

Data de início da corrida analítica: 09/10/03

Data do fim da corrida analítica: 09/11/03

Horário de início da corrida analítica: 13:18

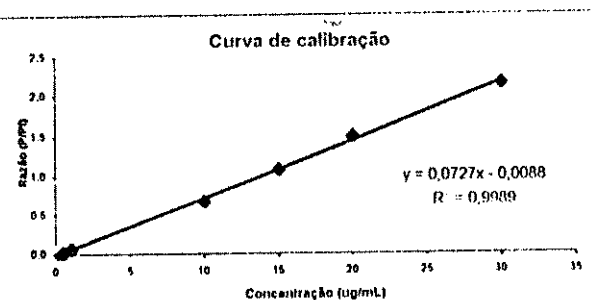
Horário do fim da corrida analítica: 11:10

Primeiro dia

Curva de calibração: A mesma utilizada para o primeiro ciclo de congela descongela

Curva de Calibração do dia

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Nominal (ug/mL)	Concentração Real (ug/mL)	Exatidão	Desvio (%)
12835	1175948	0,01	0,3	0,27	90,22	-9,78
39072	1229225	0,03	0,5	0,56	111,55	11,55
81702	1229984	0,07	1	1,03	103,42	3,42
829589	1215899	0,68	10	9,51	95,05	-4,95
1327034	1221312	1,09	15	15,07	100,44	0,44
1865656	1246496	1,50	20	20,71	103,54	3,54
2689950	1252641	2,15	30	29,66	98,86	-1,14



$$a = 0,07270127$$

$$b = -0,0087628$$

Controle de Qualidade Baixo

Concentração Nominal: 0,5 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
30915	1090430	0,0284	0,51
27387	1123161	0,0244	0,46
27513	1147180	0,0240	0,45
		Média	0,47
		DP	0,03
		CV (%)	7,03
		Exatidão	94,46

Controle de Qualidade Médio

Concentração Nominal: 15 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
1125402	1173055	0,9594	13,32
1151188	1157353	0,9947	13,80
1138473	1109264	1,0263	14,24
		Média	13,79
		DP	0,46
		CV (%)	3,34
		Exatidão	91,90

Controle de Qualidade Alto

Concentração Nominal: 25 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
1964125	1176410	1,6696	23,09
2129189	1147888	1,8549	25,63
1858975	1169521	1,5895	21,98
		Média	23,57
		DP	1,87
		CV (%)	7,94
		Exatidão	94,27

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Precisão e Exatidão inter-dias

Página: 3 /5

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Informações gerais da corrida analítica

Série: C:\CLASS-VP\DATA\CEFADROXIL SYNCHROFAR\Validação\Rec_CD2_Inter_Est24h_1

Data de início da corrida analítica: 09/11/03

Data do fim da corrida analítica: 09/12/03

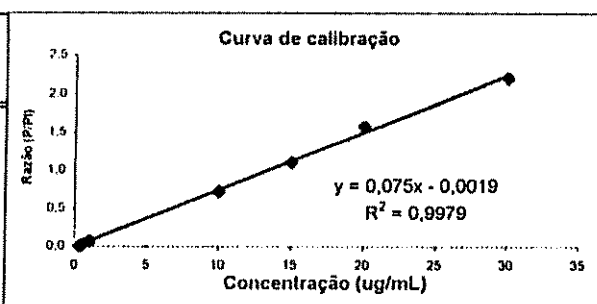
Horário de início da corrida analítica: 19:24

Horário do fim da corrida analítica: 12:18

Segundo dia

Curva de Calibração do dia

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Conc Nominal (ug/mL)	Con Real (ug/mL)	Exatidão	Desvio (%)
18096	1075126	0,02	0,3	0,25	83,16	-16,84
38198	1092926	0,03	0,5	0,49	98,19	-1,81
73160	1042782	0,07	1	0,96	96,01	-3,99
798548	1095582	0,73	10	9,74	97,39	-2,61
1196964	1078938	1,11	15	14,81	98,73	-1,27
1662711	1051363	1,58	20	21,10	105,50	5,50
2395916	1085097	2,21	30	29,45	98,17	-1,83



$$a = 0,0750$$

$$b = -0,0019$$

Controle de Qualidade Baixo

Concentração Nominal: 0,5 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
45885	1067633	0,0429783	0,60
42571	1192915	0,0356865	0,50
44737	1022993	0,0437315	0,61
		Média	0,57
		DP	0,06
		CV (%)	10,41
		Exatidão	113,78

Controle de Qualidade Médio

Concentração Nominal: 15 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
1426182	1076981	1,3242406	17,67
1463712	1111993	1,3162961	17,57
1333886	1167106	1,1429005	15,26
		Média	16,83
		DP	1,37
		CV (%)	8,11
		Exatidão	112,21

Controle de Qualidade Alto

Concentração Nominal: 25 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
2247656	1055247	2,1299809	28,41
2319191	1080934	2,1455436	28,62
2175040	997512	2,180465	29,08
		Média	28,70
		DP	0,34
		CV (%)	1,20
		Exatidão	114,82

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Precisão e Exatidão inter-dias

Página: 4 /5

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Informações gerais da corrida analítica

Série: C:\CLASS-VP\DATA\CEFADROXIL SYNCHROFAR\Validação\Rec_CD3_Inter_Est48h

Data de início da corrida analítica: 09/12/03

Data do fim da corrida analítica: 13/09/2003

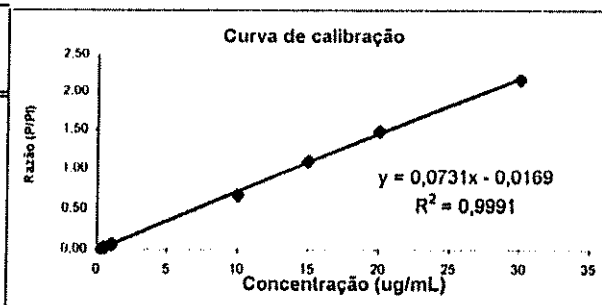
Horário de início da corrida analítica: 17:56

Horário do fim da corrida analítica: 02:46

Terceiro dia

Curva de Calibração do dia

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Nominal (ug/mL)	Concentração Real (ug/mL)	Exatidão (%)	Desvio (%)
160 9780	1127161	0,01	0,3	0,35	116,58	16,58
26033	1126391	0,02	0,5	0,55	109,46	9,46
71893	1148126	0,06	1	1,09	108,79	8,79
763468	1144494	0,67	10	9,36	93,59	-6,41
1247153	1143010	1,09	15	15,16	101,08	1,08
1721776	1162501	1,48	20	20,50	102,49	2,49
2451041	1134385	2,16	30	29,80	99,32	-0,68



a = 0,0731
b = -0,0169

Controle de Qualidade Baixo

Concentração Nominal: 0,5 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
29404	1238659	0,0237386	0,56
30225	1289026	0,0234479	0,55
33624	1203325	0,0279426	0,61
		Média	0,57
		DP	0,03
		CV (%)	6,00
		Exatidão	114,74

Controle de Qualidade Médio

Concentração Nominal: 15 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
1232762	1302631	0,9463632	13,18
1246750	1251279	0,9963805	13,87
1217929	1314368	0,9266271	12,91
		Média	13,32
		DP	0,49
		CV (%)	3,69
		Exatidão	88,79

Controle de Qualidade Alto

Concentração Nominal: 25 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
1993871	1292713	1,5423926	21,34
2050345	1255589	1,6329746	22,58
2044084	1263547	1,6177348	22,37
		Média	22,09
		DP	0,66
		CV (%)	3,00
		Exatidão	88,37

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Precisão e Exatidão inter-dias

Página: 5 / 5

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Precisão e Exatidão inter-dias

	CQB	CQM	CQA
1º dia	0,51	13,32	23,09
	0,46	13,80	25,63
	0,45	14,24	21,98
2º dia	0,60	17,67	28,41
	0,50	17,57	28,62
	0,61	15,26	29,08
3º dia	0,56	13,18	21,34
	0,55	13,87	22,58
	0,61	12,91	22,37
Média	0,54	14,65	24,79
CV(%)	11,61	12,42	12,79
DP	0,06	1,82	3,17
Exatidão	107,66	97,64	99,15

(Precisão)

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Estabilidade em ciclos de descongelamento

Página: 1 / 4

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Informações gerais da corrida analítica

Série:

Data de início da corrida analítica:

Horário de início da corrida analítica:

Data do fim da corrida analítica:

Horário do fim da corrida analítica:

Resumo da Metodologia:

Fármaco (padrão): cefadroxil

Padrão interno: Acetaminofeno

Matriz biológica: plasma

Volume da matriz biológica: 500 uL

Volume de padrão interno: 30 uL (sol. 100,0ug/mL)

Volume do solvente de purificação: 3 mL

Solvente de purificação: acetonitrila

Tempo de agitação : 1 minuto

Temperatura para secagem do solvente: 40°C

Condições cromatográficas:

Deteção: UV

Identificação do sistema cromatográfico: Shimadzu 1

Comprimento de onda: 230 nm

Fase móvel: Tampão fosfato 20mM: metanol (85:15)

Coluna: Shim-pack CLC-C18 (M) 15 cm

Temperatura do forno: 40°C

Fluxo: 0.8 mL/min

Volume de ressuspensão: 250 uL

Volume de injeção: 25uL

Resumo do procedimento: avaliar a estabilidade do padrão na matriz biológica duante, no mínimo, tres ciclos de congelamento e descongelamento, utilizando-se amostras de controle de qualidade.

Analisar amostras que foram submetidas a um, dois e tres ciclos de congelamento e descongelamento. O congelamento deverá ser feito na temperatura adequada que garanta a estabilidade das amostras, por 24 horas. O descongelamento da amostra será considerado quando a amostra estiver a temperatura ambiente.

Dispor em forma de tabela e determinar a precisão por comparação das réplicas do dia, e a exatidão por determinação da concentração real por interpolação dos valores da razão entre padrão/padrão interno na curva de calibração obtida no dia.

OBS: Concentração Nominal = Concentração Teórica

Concentração Real = Concentração Determinada por interpolação na curva de calibração

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Estabilidade em ciclos de descongelamento

Página: 2 / 4

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Informações gerais da corrida analítica

Série: C:\CLASS-VP\DATA\CEFADROXIL SYNCHROFAR\Validação\Linear_Espec_CD

Data de início da corrida analítica: 09/10/03

Data do fim da corrida analítica: 09/11/03

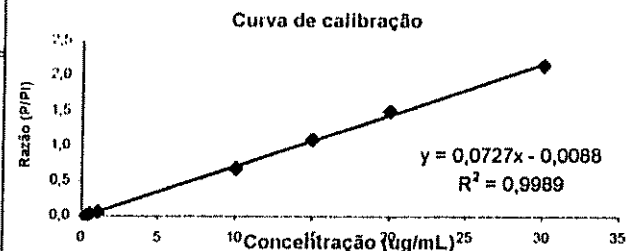
Horário de início da corrida analítica: 13:18

Horário do fim da corrida analítica: 11:10

Ciclo 1 amostra fresca/congelamento/descongelamento/análise

Curva de Calibração do dia

Área P	Área PI	Relação P/PI	Conc. Nominal	Conc. Determ.	Exatidão	Desvio
12835	1175948	0,01	0,3	0,27	90,22	-9,78
39072	1229225	0,03	0,5	0,56	111,55	11,55
81702	1229984	0,07	1	1,03	103,42	3,42
829589	1215899	0,68	10,0	9,51	95,05	-4,95
1327034	1221312	1,09	15,0	15,07	100,44	0,44
1865656	1246496	1,50	20,0	20,71	103,54	3,54
2689950	1252641	2,15	30,0	29,66	98,86	-1,14



$a = 0,0727013$
 $b = -0,008763$

Controle de Qualidade Baixo

Concentração Nominal: 0,5 ug/mL			
Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
28457	1103703	0,0257832	0,48
29195	1176028	0,0248251	0,46
27805	1153368	0,0241077	0,45
Média			0,46
DP			0,01
CV (%)			2,50
Exatidão			92,62

Controle de Qualidade Médio

Concentração Nominal: 15 ug/mL			
Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
1119418	1180200	0,9484986	13,17
1176352	1175506	1,0007197	13,89
1121294	1191901	0,940761	13,06
Média			13,53
DP			0,51
CV (%)			3,76
Exatidão			90,17

Controle de Qualidade Alto

Concentração Nominal: 25 ug/mL			
Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
1859910	1189928	1,5630442	21,62
1923066	1159553	1,6584546	22,93
1947663	1182149	1,6475613	22,78
Média			22,45
DP			0,72
CV (%)			3,20
Exatidão			89,78

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Estabilidade em ciclos de descongelamento

Página: 3 / 4

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Informações gerais da corrida analítica

Série: C:\CLASS-VP\DATA\CEFADROXIL SYNCHROFAR\Validação\Rec_CD2_Inter_Est24h_1

Data de início da corrida analítica: 09/11/03

Data do fim da corrida analítica: 09/12/03

Horário de início da corrida analítica: 19:24

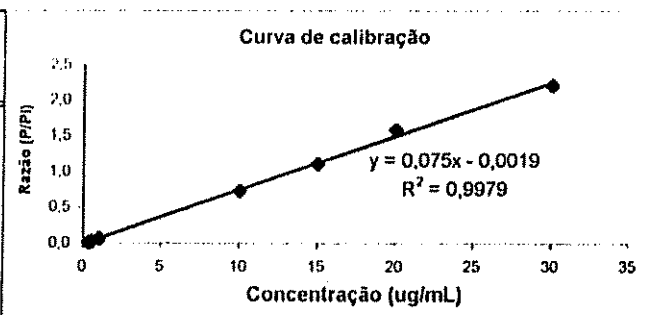
Horário do fim da corrida analítica: 12:18

Ciclo 2 amostra fresca/congelamento/descongelamento/congelamento/descongelamento/análise

Curva de Calibração: A mesma utilizada para o Inter-dias

Curva de Calibração do dia

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Conc Nominal (ug/mL)	Conc Real (ug/mL)	Exatidão	Desvio (%)
18096	1075126	0,02	0,3	0,25	83,16	-16,84
38198	1092926	0,03	0,5	0,49	98,19	-1,81
73160	1042782	0,07	1	0,96	96,01	-3,99
798548	1095582	0,73	10	9,74	97,39	-2,61
1196964	1078938	1,11	15	14,81	98,73	-1,27
1662711	1051363	1,58	20	21,10	105,50	5,50
2395916	1085097	2,21	30	29,45	98,17	-1,83



a = 0,0750
b = -0,0019

Controle de Qualidade Baixo

Concentração Nominal:

0,5 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
35049	1151603	0,030435	0,43
37799	1064394	0,0355122	0,50
37654	1082681	0,0347785	0,49
Média			0,47
DP			0,04
CV (%)			7,74
Exatidão			94,52

Controle de Qualidade Médio

Concentração Nominal:

15 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
1220164	1047392	1,1649545	15,55
1227604	1006693	1,2194423	16,28
1204244	1026643	1,172992	15,66
Média			15,83
DP			0,39
CV (%)			2,48
Exatidão			105,52

Controle de Qualidade Alto

Concentração Nominal:

25 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
2141089	959816	2,2307286	29,75
2151169	1014475	2,1204751	28,28
1837654	1098774	1,6724586	22,31
Média			26,78
DP			3,94
CV (%)			14,71
Exatidão			107,13

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Estabilidade em ciclos de descongelamento

Página: 4 /4

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Informações gerais da corrida analítica

Série: C:CLASS-VPIDATA\CEFADROXIL SYNCHROFAR\Validção\Rec_CD3_Inter_Est48h

Data de início da corrida analítica: 09/12/03

Data do fim da corrida analítica: 13/09/2003

Horário de início da corrida analítica: 17:56

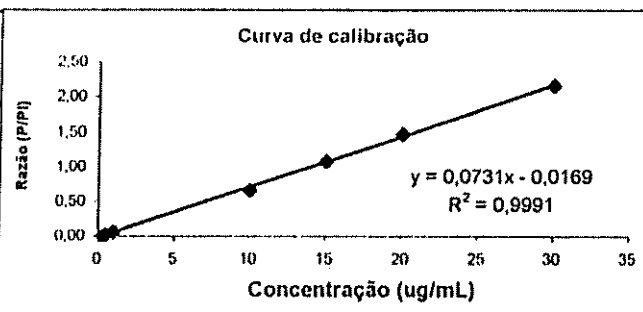
Horário do fim da corrida analítica: 02:46

Ciclo 3 amostra fresca/congelamento/descongelamento/congelamento/descongelamento/congelamento/descongelamento/análise

Curva de Calibração: A mesma utilizada para o Inter-dias

Curva de Calibração do dia

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Nominal (ug/mL)	Concentração Real (ug/mL)	Exatidão	Desvio (%)
9780	1127161	0,01	0,3	0,35	116,58	16,58
26033	1126391	0,02	0,5	0,55	109,46	9,46
71893	1148126	0,06	1	1,09	108,79	8,79
763468	1144494	0,67	10	9,36	93,59	-6,41
1247153	1143010	1,09	15	15,16	101,08	1,08
1721776	1162501	1,48	20	20,50	102,49	2,49
2451041	1134385	2,16	30	29,80	99,32	-0,68



$a = 0,0730801$
 $b = -0,016883$

Controle de Qualidade Baixo

Concentração Nominal: 0,5 ug/mL			
Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
31297	1317800	0,0237494	0,56
40146	1328230	0,0302252	0,64
24431	1216774	0,0200785	0,51
Média			0,57
DP			0,07
CV (%)			12,36
Exatidão			113,76

Controle de Qualidade Médio

Concentração Nominal: 15 ug/mL			
Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
1234033	1301036	0,9485003	13,21
1284509	1368850	0,9383855	13,07
1316118	1321000	0,9963043	13,86
Média			13,38
DP			0,42
CV (%)			3,16
Exatidão			89,21

Controle de Qualidade Alto

Concentração Nominal: 25 ug/mL			
Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
2062534	1252234	1,6470835	22,77
2118571	1286963	1,6461786	22,76
2247462	1341127	1,675801	23,16
Média			22,90
DP			0,23
CV (%)			1,01
Exatidão			91,58

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Estabilidade de curta duração

Página: 1 /3

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Informações gerais da corrida analítica

Série:

Data de início da corrida analítica:

Horário de início da corrida analítica:

Data do fim da corrida analítica:

Horário do fim da corrida analítica:

Resumo da Metodologia:

Fármaco (padrão): cefadroxil

Padrão interno: Acetaminofeno

Matriz biológica: plasma

Volume da matriz biológica: 500 uL

Volume de padrão interno: 30 uL (sol. 100,0ug/mL)

Volume do solvente de purificação: 3 mL

Solvente de purificação: acetonitrila

Tempo de agitação : 1 minuto

Temperatura para secagem do solvente: 40°C

Condições cromatográficas:

Deteção: UV

Identificação do sistema cromatográfico: Shimadzu 1

Comprimento de onda: 230 nm

Fase móvel: Tampão fosfato 20mM; metanol (85:15)

Coluna: Shim-pack CLC-C18 (M) 15 cm

Temperatura do forno: 40°C

Fluxo: 0.8 mL/min

Volume de ressuspensão: 250 uL

Volume de injeção: 25uL

Resumo do procedimento: avaliar a estabilidade pelo cálculo da precisão (CV%) e exatidão das amostras de controle de qualidade, em réplicas de, no mínimo, três de cada concentração.

Analisar, no mesmo dia, uma curva de calibração com, no mínimo, cinco pontos e as réplicas (três) dos controles de qualidade baixo, médio e alto. Estimar o tempo necessário para analisar os voluntários dentro de um dia. As réplicas das amostras de controle de qualidade deverão ser analisadas contemplando este mesmo período.

Disponibilizar em forma de tabela e determinar a precisão (CV%) por comparação das réplicas, e a exatidão por determinação da concentração real por interpolação dos valores da razão entre padrão/padrão interno na curva de calibração obtida no dia.

Avaliar a estabilidade de curta duração por comparação da precisão (CV%) entre três dias de análise e pela exatidão média.

OBS: Concentração Nominal = Concentração Teórica

Concentração Real = Concentração Determinada por interpolação na curva de calibração

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Estabilidade de curta duração

Página: 2 / 3

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Informações gerais da corrida analítica

Série: C:\CLASS-VP\DATA\CEFADROXIL SYNCHROFAR\Validação\Rec_CD2_Inter_Est24h_1

Data de início da corrida analítica: 09/11/03

Data do fim da corrida analítica: 09/12/03

Horário de início da corrida analítica: 19:24

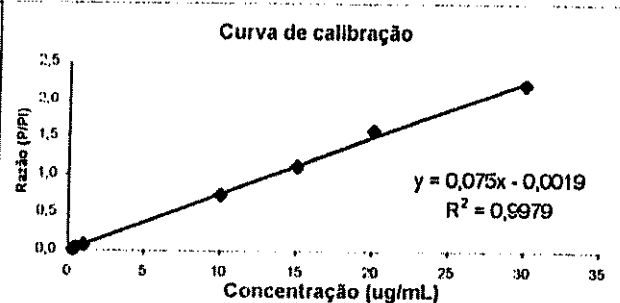
Horário do fim da corrida analítica: 12:18

Curva de Calibração: A mesma utilizada para o Inter-dias

Primeiro dia (24 horas)

Curva de Calibração do dia

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Conc Nominal (ug/mL)	Conc Real (ug/mL)	Exatidão (%)	Desvio (%)
18096	1075126	0.02	0,3	0,25	83,16	-16,84
38198	1092926	0.03	0,5	0,49	98,19	-1,81
73160	1042782	0.07	1	0,96	96,01	-3,99
798548	1095582	0.73	10	9,74	97,39	-2,61
1196964	1078938	1.11	15	14,81	98,73	-1,27
1662711	1051363	1.58	20	21,10	105,50	5,50
2395916	1085097	2.21	30	29,45	98,17	-1,83



$$a = 0,075038$$

$$b = -0,00189$$

Controle de Qualidade Baixo

Concentração Nominal: 0,5 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
50806	1274535	0,0399	0,56
39488	965485	0,0409	0,57
48489	1153047	0,0421	0,59
		Média	0,57
		DP	0,01
		CV (%)	2,56
		Exatidão	114,15

Controle de Qualidade Médio

Concentração Nominal: 15 ng/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
1433362	1090273	1,3147	17,55
1407411	1105374	1,2732	16,99
1319360	1031854	1,2786	17,06
		Média	17,20
		DP	0,30
		CV (%)	1,75
		Exatidão	114,67

Controle de Qualidade Alto

Concentração Nominal: 25 ng/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
2457755	1132411	2,1704	28,95
2345327	1116300	2,1010	28,02
2544313	1184458	2,1481	28,65
		Média	28,54
		DP	0,47
		CV (%)	1,65
		Exatidão	114,17

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Estabilidade de curta duração

Página: 3 / 3

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Informações gerais da corrida analítica

Série: C:CLASS-VP\DATA\CEFADROXIL SYNCHROFAR\Validação\Rec_CD3_Inter_Est48h

Data de início da corrida analítica: 09/12/03

Data do fim da corrida analítica: 13/09/2003

Horário de início da corrida analítica: 17:56

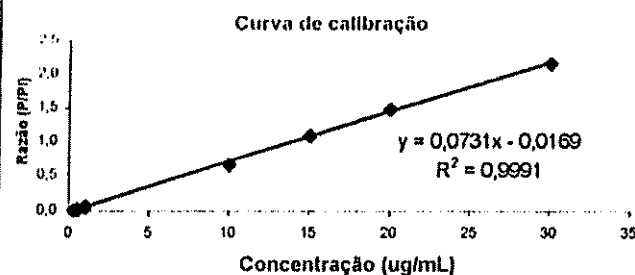
Horário do fim da corrida analítica: 02:46

Segundo dia (48 horas)

Curva de Calibração: A mesma utilizada para o Inter-dias

Curva de Calibração do dia

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Conc Nominal (ug/mL)	Conc Real (ug/mL)	Exatidão (%)	Desvio (%)
9780	1127161	0,01	0,3	0,35	116,58	16,58
26033	1126391	0,02	0,5	0,55	109,46	9,46
71893	1148126	0,06	1	1,09	108,79	8,79
763468	1144494	0,67	10	9,36	93,59	-6,41
1247153	1143010	1,09	15	15,16	101,08	1,08
1721776	1162501	1,48	20	20,50	102,49	2,49
2451041	1134385	2,16	30	29,80	99,32	-0,68



$$a = 0,07308$$

$$b = -0,01688$$

Controle de Qualidade Baixo

Concentração Nominal: 0,5 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
29350	1171242	0,0251	0,57
26421	1278719	0,0207	0,51
26704	1250299	0,0214	0,52
		Média	0,54
		DP	0,03
		CV (%)	6,02
		Exatidão	107,40

Controle de Qualidade Médio

Concentração Nominal: 15 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
1205032	1245381	0,9676	13,47
1264842	1266073	0,9990	13,90
1237975	1224801	1,0108	14,06
		Média	13,81
		DP	0,31
		CV (%)	2,21
		Exatidão	92,08

Controle de Qualidade Alto

Concentração Nominal: 25 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
2161561	1312798	1,6465	22,76
2215914	1198525	1,8489	25,53
1923492	1228411	1,5658	21,66
		Média	23,32
		DP	2,00
		CV (%)	8,56
		Exatidão	93,27

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado : Estabilidade das soluções padrão

Página: 1 /1

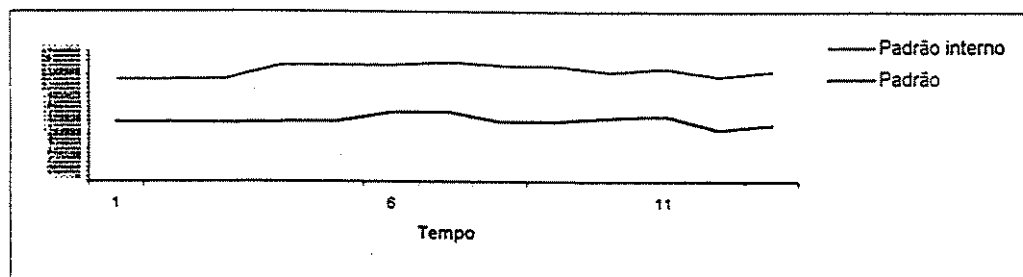
Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Padrão interno = Acetaminofeno

Volume do padrão = 100 uL da solução de 100,0 ug/mL

Volume do padrão interno = 30 uL da solução de 100,0 ug/mL

	Área Padrão	%	Área PI	%
	1278768	96,70	923765	85,22
	1291922	97,70	923351	85,18
	1273576	96,31	960577	88,61
	1292009	97,70	1217363	112,30
	1293638	97,83	1217478	112,31
	1496551	113,17	1020327	94,13
	1515578	114,61	1068336	98,55
	1294410	97,88	1217821	112,35
	1293086	97,78	1215402	112,12
	1374239	103,92	992122	91,52
	1426221	107,85	1024260	94,49
	1129127	85,39	1148679	105,97
	1231808	93,15	1162519	107,24
Média	1322379,46		1084000,00	
DP	106177,45		116958,63	
CV(%)	8,03		10,79	



De acordo com os resultados verifica-se que as soluções estoque de padrão e padrão interno permaneceram estáveis durante todo o período das análises de amostras de voluntários provenientes do estudo clínico uma vez que, não foi observado decaimento (diminuição) gradativo das áreas dos picos das amostras padrão. Desta forma justifica-se a utilização de mesma solução estoque de padrão e padrão interno para preparação diária da curva de calibração.

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Estabilidade de longa duração

Página: 1 / 3

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Informações gerais da corrida analítica

Série: C:\CLASS-VP\DATA\CEFADROXIL SYNCHROFAR\Validação\Estabilidade_longaduração

Data de início da corrida analítica: 10/08/03

Data do fim da corrida analítica: 10/08/03

Horário de início da corrida analítica: 17:20

Horário do fim da corrida analítica: 21:52

Resumo da Metodologia:

Fármaco (padrão): cefadroxil

Padrão interno: Acetaminofeno

Matriz biológica: plasma

Volume da matriz biológica: 500 uL

Volume de padrão interno: 30 uL (sol. 100,0ug/mL)

Volume do solvente de purificação: 3 mL

Solvente de purificação: acetonitrila

Tempo de agitação : 1 minuto

Temperatura para secagem do solvente: 40°C

Condições cromatográficas:

Deteção: UV

Identificação do sistema cromatográfico: Shimadzu 1

Comprimento de onda: 230 nm

Fase móvel: Tampão fosfato 20mM; metanol (85:15)

Coluna: Shim-pack CLC-C18 (M) 15 cm

Temperatura do forno: 40°C

Fluxo: 0.8 mL/min

Volume de ressuspensão: 250 uL

Volume de injeção: 25uL

Resumo do procedimento: avaliar a estabilidade pelo cálculo da precisão (CV%) e exatidão das amostras de controle de qualidade, por um período que compreenda, no mínimo, o tempo em que as amostras ficarão armazenadas.

O tempo para o estudo da estabilidade de longa duração deverá compreender o período em que as amostras são geradas (ensaio de bioequivalência) até o último dia de análise de todas as amostras dos voluntários.

Inicialmente este parâmetro poderá ser estimado por dados encontrados na literatura e depois confirmados pelo estudo da Estabilidade de longa duração.

Comparar as réplicas dos controles avaliados no último dia de análise dos voluntários com uma curva fresca, ou seja, uma curva preparada no dia.

Esta curva deverá ser preparada por adição do padrão em uma matriz biológica considerada "branco".

Disponibilizar em forma de tabela e determinar a precisão (CV%) por comparação das réplicas, e a exatidão por determinação da concentração real por interpolação dos valores da razão entre padrão/padrão interno na curva de calibração obtida no dia.

OBS: Concentração Nominal = Concentração Teórica

Concentração Real = Concentração Determinada por interpolação na curva de calibração

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Estabilidade de longa duração

Página: 2 /3

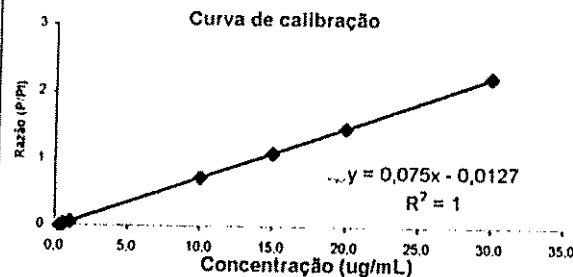
Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Amostras congeladas durante 28 dias (amostras preparadas em 10/09/2003)

Curva de Calibração do dia

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Nominal (ug/mL)	Concentração Real (ug/mL)	Exatidão	Desvio (%)
14252	1094009	0,01	0,3	0,34	114,28	14,28
30704	1053823	0,03	0,5	0,56	111,53	11,53
69782	1084556	0,06	1,0	1,03	102,71	2,71
813911	1119766	0,73	10,0	9,86	98,62	-1,38
1163195	1049997	1,11	15,0	14,94	99,62	-0,38
1602699	1078553	1,49	20,0	19,99	99,93	-0,07
2515998	1121683	2,24	30,0	30,08	100,27	0,27



a = 0,0749865
b = -0,0126802

171

Controle de Qualidade Baixo

Concentração Nominal: 0,5 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
34780	1114378	0,0312102	0,59
32955	1111345	0,0296533	0,56
35345	1122193	0,0314964	0,59
		Média	0,57
		DP	0,01
		CV (%)	2,30
		Exatidão	114,99

Controle de Qualidade Médio

Concentração Nominal: 15 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
1226418	1112886	1,1020158	14,87
1170711	1097055	1,0671398	14,40
1248340	1107438	1,1272324	15,20
		Média	14,82
		DP	0,40
		CV (%)	2,71
		Exatidão	98,82

Controle de Qualidade Alto

Concentração Nominal: 25 ug/mL

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
1909873	1071823	1,7818922	23,93
1994619	1112312	1,793219	24,08
2033620	1110777	1,8308085	24,58
		Média	24,20
		DP	0,34
		CV (%)	1,41
		Exatidão	96,80

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA BIOANALÍTICA

Parâmetro a ser avaliado: Estabilidade de longa duração

Página: 3 /3

Projeto: "Estudo de bioequivalência de duas formulações de cefadroxil cápsula de 500 mg, em voluntários sadios de ambos os sexos, sendo a formulação teste produzida pela Apotex do Brasil Ltda e formulação referência (Cefamox) pelo laboratório Bristol_Myers Squibb."

Empresa solicitante: Synchrophar

Informações gerais da corrida analítica

Série: C:CLASS-VP\DATA\CEFADROXIL SYNCHROFAR\Validação\Linear_Espec_CD

Data de início da corrida analítica: 09/10/03

Data do fim da corrida analítica: 09/11/03

Horário de início da corrida analítica: 13:18

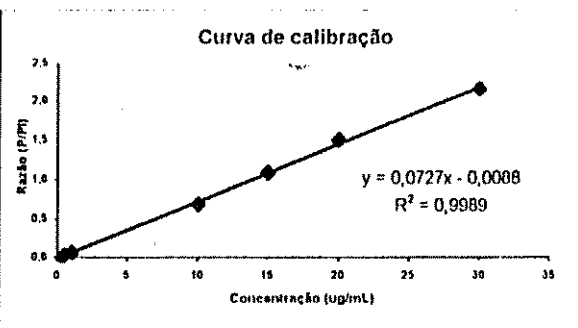
Horário do fim da corrida analítica: 11:10

Primeiro dia da Estabilidade de Longa Duração

Curva de calibração: A mesma utilizada para o primeiro ciclo de congela descongela

Curva de Calibração

Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Nominal (ug/mL)	Concentração Real (ug/mL)	Exatidão	Desvio (%)
12835	1175948	0,01	0,3	0,27	90,22	-9,78
39072	1229225	0,03	0,5	0,56	111,55	11,55
81702	1229984	0,07	1	1,03	103,42	3,42
829589	1215899	0,68	10	9,51	95,05	-4,95
1327034	1221312	1,09	15	15,07	100,44	0,44
1865656	1246496	1,50	20	20,71	103,54	3,54
2689950	1252641	2,15	30	29,66	98,86	-1,14



$$a = 0,072701$$

$$b = -0,008763$$

Controle de Qualidade Baixo

Concentração Nominal: 0,5 ug/mL			
Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
30915	1090430	0,0284	0,51
27387	1123161	0,0244	0,46
27513	1147180	0,0240	0,45
		Média	0,47
		DP	0,03
		CV (%)	7,03
		Exatidão	94,46

Controle de Qualidade Médio

Concentração Nominal: 15 ug/mL			
Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
1125402	1173055	0,9594	13,32
1151188	1157353	0,9947	13,80
1138473	1109264	1,0263	14,24
		Média	13,79
		DP	0,46
		CV (%)	3,34
		Exatidão	91,90

Controle de Qualidade Alto

Concentração Nominal: 25 ug/mL			
Área do Padrão	Área do PI	Relação P/PI	Concentração Real
1964125	1176410	1,6696	23,09
2129189	1147888	1,8549	25,63
1858975	1169521	1,5895	21,98
		Média	23,57
		DP	1,87
		CV (%)	7,94
		Exatidão	94,27